

Amniocentesi. Le analisi che individuano il Dna del nascituro nel sangue della mamma vengono già impiegate in altri paesi come screening limitato alle donne a rischio. Ma da sole non possono fornire risposte definitive

Diagnosi prenatale la certezza passa per l'invasività

ELVIRA NASELLI

CHE cosa chiede una donna incinta ad un'indagine prenatale? Due cose: che non sia rischiosa e il risultato sia certo. Certezza oggi fornita solo dagli esami invasivi che, però, hanno un rischio di aborto che va dallo 0,3% in mani esperte fino all'1%. Per questo, da anni, lo sforzo della scienza è di mettere a punto un test non invasivo. Il più promettente, il Nipt (non invasive prenatal test) si basa sulla ricerca del Dna fetale nel sangue materno, ma i risultati sono considerati ancora parziali dalle maggiori società scientifiche, che ne sconsigliano l'utilizzo come test generalizzato.

«Il test sul Dna fetale si fa da tempo — premette Claudio Giorlandino, segretario Sidi e direttore sanitario di una realtà privata — noi stessi lo offriamo, pur senza consigliarlo. Perché ha ancora troppi errori, visto che il Dna esaminato è quello placentare, e i risultati non sono certi. C'è anche un rischio etico: nonostante il test dia molti falsi positivi, può accadere che una donna con risultato positivo per trisomia 21 decida di abortire senza confermare la diagnosi con amniocentesi, come previsto dalla consulenza genetica. E poi, che senso ha un esame che individua al massimo le trisomie, quando am-

nio e villocentesi identificano migliaia di patologie genetiche e cromosomiche?».

Concorda Giovanni Monni, responsabile diagnosi prenatale e preimpianto dell'ospedale Microcitemico di Cagliari. «Già con il B test — premette — ovvero translucenza nucleare e dosaggio di alcuni ormoni nel sangue materno, c'è un'attendibilità di oltre il 90% nell'individuazione di cromosomopatie. Con l'amniocentesi a 16 settimane o la villocentesi a 11, in mani esperte, si ha la certezza assoluta e un rischio bassissimo di aborto, una donna su 300, almeno nei centri che, come il nostro, fanno oltre 4000 esami all'anno. Il test sul Dna fetale nel sangue materno, inoltre, ha ancora troppi limiti: se il risultato è positivo va comunque effettuato un esame invasivo per la conferma e poi, mentre ha un'attendibilità elevata, anche del 98%, per la trisomia 21, per altre trisomie, come 13 e 18, la sensibilità scende all'80-90%. Insomma, allo stato attuale delle conoscenze non è un esame alternativo ed è invece un bel business. Ne è prova che non è consigliato come test diagnostico da nessuna società scientifica internazionale».

Come test di screening, però, viene utilizzato in alcuni paesi. «Negli Stati Uniti — premette Anna Locatelli, direttore Ostetricia e Ginecologia all'ospedale Vimercate-Desio presidio di Carate Giussano — viene offerto

a donne ad alto rischio, over 35 o con precedenti bambini con trisomie, o con altri test positivi. Due studi recenti, uno inglese e un altro americano, supportano l'ipotesi di offrirlo anche a donne a basso rischio, mentre in Olanda si è deciso di proporlo in 8 centri pubblici, in una graduatoria crescente di invasività, che vede alla base translucenza nucleare ed esame del siero materno e il Nipt, infine villo e amniocentesi. La donna positiva al Nipt deve fare l'amniocentesi, che resta il gold standard».

Più ottimista il genetista Antonio Novelli, coordinatore nazionale citogenetisti Sigu e responsabile Citogenetica dell'istituto Ciss Mendel. «Il Nipt ha mostrato grande precisione, il 99% nel valutare il rischio di trisomia 21 - spiega - e poco meno (98) per la trisomia 18. Tale imprecisione è dovuta al fatto che il Dna di origine placentare espone il test a rischi di falso positivo e negativo per discordanze fetoplacentari. Il test è validato da società scientifiche internazionali e al meeting Acmg americano di questi giorni è stato dimostrato che falsi positivi e negativi sono inferiori che nel Bi test. Il test però non è diagnostico poiché è basato su elaborazione matematica e deve essere offerto con criterio, utilmente affiancato dall'ecografia, e dopo una consulenza genetica che ne esplicita limiti e potenzialità».

**Il problema dei falsi positivi
e negativi che costringono
comunque ad altri esami**

LA RICERCA.

Nella Biopolis asiatica dove un mega laboratorio con tecnologia italiana lavora sulle cellule fetali

DAL NOSTRO INVIATO
MAURIZIO PAGANELLI

BSINGAPORE
BREAKTHROUGH, cioè scoperta fondamentale, svolta: così ripete, quasi come un mantra qui in terra d'Oriente, la ricercatrice Paola Castagnoli, da sei anni capo del Singapore Immunology Network (SIGN), laboratorio con 200 scienziati a Biopolis, città della Scienza nella Città-Stato del Leone. Parla di alternativa "definitiva" all'amicocentesi e di cure "a misura di paziente" nei tumori, di vaccini personalizzati. La mission di SIGN, che la Castagnoli è stata chiamata a creare e dirigere dall'ex direttore dell'istituto Pasteur di Parigi, l'immunopatologo Philippe Kourilsky, è "trasferire al meglio le scoperte della ricerca in applicazioni cliniche". La coppia vincente? Lei, "super-

cervello" italiano (centinaia di pubblicazioni, tra cui un lavoro su Science nel 1989 sull'attivazione dell'immunità innata che portò allo statunitense Bruce Beutler il Nobel per la medicina nel 2011) e il suo partner (di lavoro ed vita), Luigi Ricciardi, ingegnere nucleare, "mago" degli studi di fattibilità nella farmaceutica (Biosearch, Novus Pharma, Pharmacia, BioXell): idea, progetto, ricerca, tecnologia, pratica clinica, business. Il breakthrough consiste nella capacità di sequenziare e quindi di conoscere tutte le molecole che, per la prima volta, una singola cellula esprime in una certa condizione. La collaborazione tra i laboratori SIGN e la tecnologia in mano a Silicon Biosystem, start up acquisita da Menarini, riguarda questo breakthrough tecnologico. Un accordo (da firmare tra la più grande multinazionale italiana e SIGN) bienna-

le: dal semplice prelievo di sangue si dovrebbe potere identificare le cellule fetali nelle gestanti e con certezza la diagnosi prenatale. La tecnologia DeParray della Silicon Biosystem sarebbe il passo decisivo: si basa sul principio elettrocinetico della dielettroforesi che, con la forza dei campi elettrici, agisce sulle cellule sospese nel liquido, isolandole.

La piattaforma, già validata, è come una gabbia visibile al microscopio che intrappola singole cellule vive: quelle individuate con la fluorescenza e specifici marker si possono spostare e analizzare in automatico. «Sui tumori e proteine codificate, come nel cancro della mammella il recettore Her2 o in altre neoplasie le mutazioni Egfr e K-Ras racconta Giuseppe Giorgini, presidente di Silicon Biosystem - siamo già agli studi su pazienti. Ora dar scacco all'amicocentesi è un

ulteriore progresso. Sui test prenatali ci proviamo a Singapore ma anche al Mendel di Roma e nei laboratori di Houston».

«La tecnica di sequenziamento ed amplificazione del DNA (PRC) ha rivoluzionato la diagnostica - sostiene l'immunologa Castagnoli - potremmo essere ad un'ulteriore svolta. Siamo alla ricerca di cellule rare (una su un miliardo!) sia nei tumori, che nelle cellule fetali. Nei nostri laboratori possiamo incrociare gli studi di espressione genica delle singole cellule con la bioinformatica che analizza i dati: un vantaggio. Dobbiamo identificare biomarker specifici per le cellule fetali per differenziarle con una sensibilità sufficiente nei test di routine, validare la procedura su un grande numero di pazienti, creare protocolli e poi il chip da utilizzare nella pratica clinica». La svolta, il breakthrough.

© RIPRODUZIONE RISERVATA



Sindrome di Down

«Negli ultimi sei o sette anni ci sono state vere e proprie scoperte nella sindrome di Down - ha di recente scritto sulla rivista *Science Translational*

il genetista Roger Reeves della Johns Hopkins University che ha sede a Baltimora - da cui stanno fiorendo alcune promesse terapeutiche». Come quella su cui lavorano Reeves e il suo gruppo. Generati topi trans-genici con la

stessa anomalia della trisomia 21 ora stanno cercando di curarla. L'anomalia è il minore sviluppo del 40 per cento del cervello, organo dell'apprendimento e del controllo delle funzioni motorie e dell'equilibrio. Poi è stata somministrata

una sostanza nota che stimola lo sviluppo nervoso e coordina la crescita del cervello. «È tornato normale, come ci aspettavamo, nonostante le modifiche genetiche - dice Reeves - La sorpresa tre mesi dopo il trattamento,

quando i topi hanno superato un test di apprendimento pensato per verificare la funzionalità di un'altra parte del cervello, l'ippocampo». La sostanza ha riparato anche l'ippocampo? O il cervello è coinvolto nelle

funzioni di apprendimento e di memoria molto più di quanto saputo? Non si sa. «Però intanto si può provare a mettere a punto un farmaco che dia a chi ha la sindrome di Down una vita più indipendente» conclude Reeves.

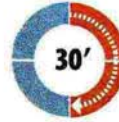
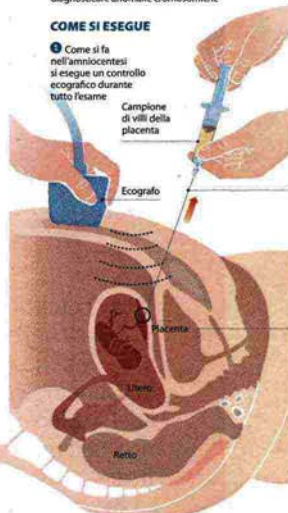
© RIPRODUZIONE RISERVATA

La villocentesi

È un prelievo dei villi della placenta per diagnosticare anomalie cromosomiche

COME SI ESEGUE

1 Come si fa nell'amniocentesi si esegue un controllo ecografico durante tutto l'esame



QUANTO DURA
30 minuti circa

QUANDO SI EFFETTUA
Dalla 10ª settimana

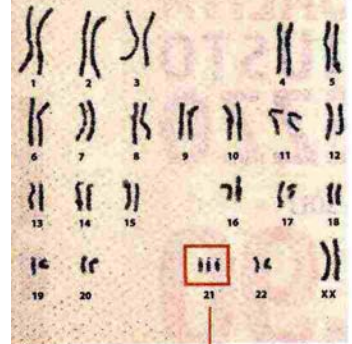
A CHI SI CONSIGLIA
Donne over 35 o a rischio di anomalie genetiche e cromosomiche

RISCHIO DI ABORTO
1%

2 Si introduce un ago attraverso la parete addominale per prelevare dei piccoli frammenti placentari

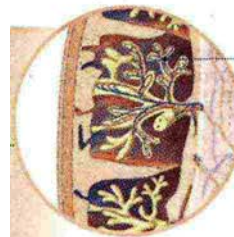
RISULTATO AMNIOCENTESI E VILLOCENTESI

MAPPATURA CROMOSOMICA DEL FETO



Il cromosoma 21
è in 3 copie anziché 2

NORMALE



Villi della placenta

DETTAGLIO DELLA PLACENTA

3 I frammenti placentari (villi coriali) vengono inviati al laboratorio per l'analisi



5 Si aspira una piccola quantità di liquido amniotico. Dopo l'estrazione dell'ago, si effettua ecografia di controllo per visualizzare il battito cardiaco fetale

4 Il liquido amniotico viene inviato al laboratorio per l'analisi genetica. Le cellule vengono fatte crescere su un apposito terreno di coltura prima di essere analizzate



L'amniocentesi

È un prelievo di liquido amniotico per diagnosticare anomalie cromosomiche

QUANDO SI EFFETTUA
Dalla 15ª alla 16ª sett.

QUANTO DURA
15 minuti in media

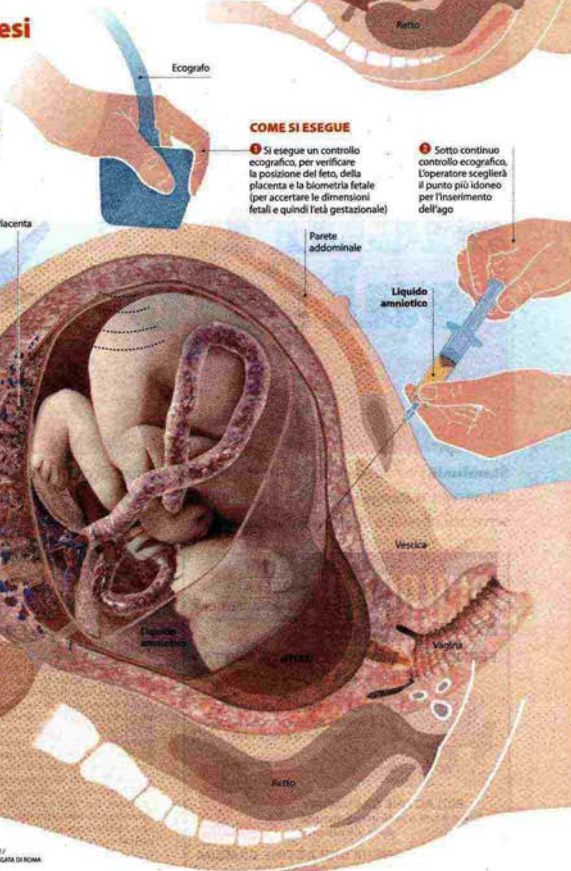
RISCHIO DI ABORTO
0,3%-1%

A CHI SI CONSIGLIA
Donne over 35 o a rischio di anomalie cromosomiche e genetiche

COME SI ESEGUE

1 Si esegue un controllo ecografico, per verificare la posizione del feto, della placenta e la biometria fetale (per accertare le dimensioni fetali e quindi l'età gestazionale)

2 Sotto continuo controllo ecografico, l'operatore sceglierà il punto più idoneo per l'inserimento dell'ago



FONTE: RIELABORAZIONE DELLA REPUBBLICA SALUTE / CENTRO DI GENETICA MEDICA ALL'UNIVERSITÀ TOR VERGATA DI ROMA

Tecniche sul sangue

Non sono raccomandate dalle principali società scientifiche. Si esegue nella donna dopo la 13ª settimana

1 Si preleva il sangue della madre dove sono presenti cellule del Dna fetale

Estrazione del sangue

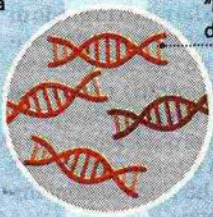


2 Dal sangue si estrae il Dna e si avvia ai sistemi di amplificazione che ne producono più copie per facilitare la decodificazione



Sangue della madre

3 Un sistema di analisi automatico decodifica i tre miliardi di "lettere" contenuti in ogni Dna



"Lettere" del Dna

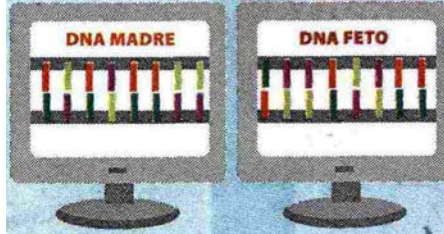
Decodificazione

4 I dati sono elaborati da un computer che li confronta via Internet con le banche dati internazionali di Dna umano



"Lettere" del Dna

Individuazione del Dna



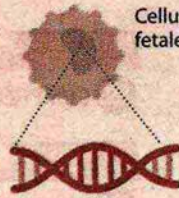
5 Dal confronto si ottengono i geni di madre e feto. Se i geni che appartengono al cromosoma 21 del feto sono un terzo in più vuol dire che vi sono tre cromosomi 21 anziché i due normali

NUOVA TECNICA ALLO STUDIO

Si individuano singole cellule fetali grazie alla piattaforma Deparray e a specifici biomarker

Cellula fetale

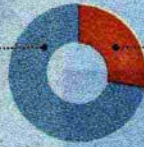
Si amplifica il Dna e si analizzano eventuali mutazioni genetiche



VALIDAZIONE DEL TEST

7mila

circa sono le malattie genetiche oggi conosciute



1139

sono le malattie genetiche recessive di cui è disponibile il test

INFOGRAFICA PAULA SIMONETTI

