

Il dosaggio dell'alfa-fetoproteina nel secondo trimestre di gravidanza

Elisabetta Muccinelli¹, Daniela C. Dall'Amico¹, Carla Bollati¹, Franco Altare¹, Enza Pavanello¹, Varvara Guaraldo¹, Ilaria Dusini¹, Angelina Ricci¹, Alberto Rubino¹, Elsa Viora², Simona Bastonero², Giuseppe Errante², Andrea Sciarrone², Marco Pagliano², Maria Grazia Alemanno², Elena Gullino², Simona Sdei², Roberto Scali², Pietro Gaglioti²

¹Dipartimento Diagnostica e Servizi, SS Screening Anomalie Cromosomiche, ²Dipartimento Ginecologia, SSD Ambulatori Unificati di Ecografia, AO OIRM-Sant'Anna, Torino

RIASSUNTO *Le caratteristiche biologiche dell'alfa-fetoproteina rendono il suo dosaggio nel siero materno uno strumento per lo screening delle malformazioni aperte del tubo neurale fetale, principalmente la spina bifida. Il dosaggio deve essere confrontato con il valore mediano per l'età gestazionale ed espresso in MoM (o Multiplo della Mediana) e devono essere apportate specifiche correzioni per peso. Nella popolazione generale la soglia di 2,5 MoM consente uno screening per la spina bifida molto efficiente (FPR <3%, DR >95%) ma le gestanti diabetiche e quelle di etnie non caucasiche devono essere valutate con livelli di soglia particolari. Nell'esperienza piemontese su oltre 197.000 gravidanze valutate tra il 1990 e il 2007 da un unico laboratorio, l'ecografia per screening malformativo si rivela un esame diagnostico più appropriato dell'amniocentesi. Risultati apparentemente falsi positivi potrebbero identificare le gravidanze a rischio di complicanze materne o fetali e queste donne dovrebbero essere seguite più attivamente.*

Parole chiave: Alfa-fetoproteina; Spina bifida; MoM; Soglia; Esame ecografico per screening malformativo; Complicanze materno-fetali

ABSTRACT *Alpha-Fetoprotein levels in midtrimester pregnancy. The biological features of alpha-fetoprotein make maternal serum estimation the screening tool for foetal open neural tube defects, above all spina bifida. The individual level must be compared with the median level in the corresponding gestational age and must be reported as MoM (Multiple of the Median): MoM is to be weight adjusted. Whilst for insulin dependent diabetic women and for non Caucasian ones different threshold levels must be used. In the general population 2,5 MoM threshold gives very efficient screening results for open neural tube defects (FPR <3%, DR >95%), while the ultrasound scan is more appropriate than amniocentesis for the detection of foetal structural anomalies, as appears in Piedmont experience about more than 197.000 pregnancies who were all evaluated by the same laboratory since 1990 to 2007. Apparently false positive results could be predictive of pregnancies at risk for maternal or foetal complications: therefore, these women should be followed closely.*

Key words: Alpha-fetoprotein; Spina bifida; MoM; Threshold; Ultrasound scan for structural anomalies; Maternal or foetal complications

CARATTERISTICHE DELL'AFP

L'AFP è una glicoproteina di origine fetale¹. Viene sintetizzata precocemente dalle cellule del sacco vitellino embrionale e poi dal fegato fetale: l'apparato gastroenterico e il rene fetali concorrono marginalmente alla sua produzione. È formata da una catena polipeptidica di 590 aminoacidi con un contenuto di carboidrati pari al 3-4%; le percentuali relative di acido sialico, mannosio e residui di galattosio possono variare determinando microeterogeneità elettroforetica ed una eterogeneità di legame con la lectina. La composizione aminoacidica di AFP presenta un'omologia del 40% con quella dell'albumina umana e le due sostanze hanno proprietà chimico-fisiche simili ma proprietà immunochimiche e antigeniche ovviamente differenti. Analoga sembra essere la funzione svolta nel comparto intravascolare per la regolazione della pressione osmotica, ma sono ipotizzabili anche altri ruoli.

È la principale proteina del plasma fetale: le concentrazioni nel siero fetale sono in crescita fino alla fine del I trimestre (quando vengono raggiunti circa 3 g/dL), poi ini-

zia la sintesi dell'albumina ed i livelli di AFP del plasma fetale decrescono progressivamente. Alla nascita si possono dosare livelli medi di 150-200.000 ng/mL; nel lattante, a 2-3 mesi di vita, i livelli scendono fino a circa 1000 ng/mL; solo a dodici-ventiquattro mesi vengono raggiunti i valori inferiori a 5 ng/mL caratteristici dell'adulto normale.

Nelle fasi precocissime della gravidanza l'AFP sembra diffondere dal circolo fetale al liquido amniotico attraverso l'epidermide non cheratinizzata dell'embrione, ma verso la fine del I trimestre, quando i reni fetali iniziano a funzionare, il passaggio avviene attraverso il filtro renale fetale immaturo.

L'AFP presente nel liquido amniotico non è quindi altro che la proteinuria fetale: nel liquido amniotico raggiunge la massima concentrazione a 14-15 settimane di gestazione (15-20.000 ng/mL), avendo appunto come fonte principale l'urina fetale. Esiste anche un ricircolo della sostanza poiché il feto deglutisce il liquido amniotico e digerisce l'AFP recuperandone gli aminoacidi.

L'AFP raggiunge il circolo materno per un terzo superando le membrane fetali e la decidua uterina attraverso la

via transamniotica e per due terzi attraverso la via transplacentare: il passaggio dalla circolazione fetale a quella materna sembra essere mediato da un meccanismo recettoriale attraverso il quale l'AFP supera l'endotelio e la tonaca muscolare dei vasi fetali, poi lo stroma dei villi e quindi, attraversando il sinciziotrofoblasto raggiunge il compartimento materno negli spazi intervillosi (Fig. 1).

L'aumento di concentrazione sierica dell'AFP che si osserva nella gestante (MS-AFP) fin dalle 6-8 settimane è esclusivamente di origine fetale; le membrane che si frappongono fra i tre compartimenti (sangue fetale-liquido amniotico-sangue materno) fanno sì che solo una minima frazione della proteina le attraversi in condizioni fisiologiche: il progressivo incremento di AFP nel siero materno è dovuto all'aumento dell'estensione delle superfici di scambio. La concentrazione aumenta del 15% alla settimana fino a 32 settimane, quando può raggiungere e superare i 250-300 ng/mL².

All'epoca delle indagini prenatali tra le 15 e le 18 settimane di gravidanza il rapporto tra le concentrazioni che si osservano nei tre compartimenti è grossolanamente di 1:300 tra sangue fetale e liquido amniotico e di 1:300 tra liquido

amniotico e sangue materno: risulta tuttavia molto arduo definire degli intervalli di "valori normali" per il dosaggio dell'AFP in gravidanza, sia nel siero materno che nel liquido amniotico, poiché di giorno in giorno la concentrazione si riduce nel plasma fetale e parallelamente nel liquido amniotico, ma aumenta nel siero materno. (Fig. 2).

DOSAGGIO DELL'AFP

Quasi tutti i laboratori sono in grado di dosare AFP come marcatore oncologico e generalmente la concentrazione è espressa in ng/mL o in UI/mL; in assenza di standard di riferimento il fattore di conversione tra le due unità di misura non è definibile e varia con le metodiche. Bisogna notare che i valori in ambito di normalità possono arrivare, a seconda delle metodiche, fino a 5 ng/mL, mentre in ambito oncologico possono variare ampiamente e giungere fino a qualche migliaio.

La refertazione dei dosaggi di AFP in gravidanza rappresenta un compito di una certa complessità per il laboratorio che voglia gestirli correttamente: infatti esprimere il valore assoluto del dosaggio senza riferirlo al valore

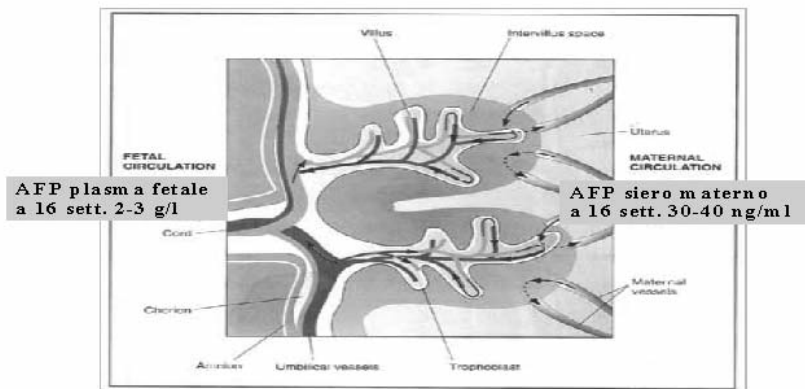


Figura 1
Il passaggio transplacentare di AFP dal circolo fetale e quello materno

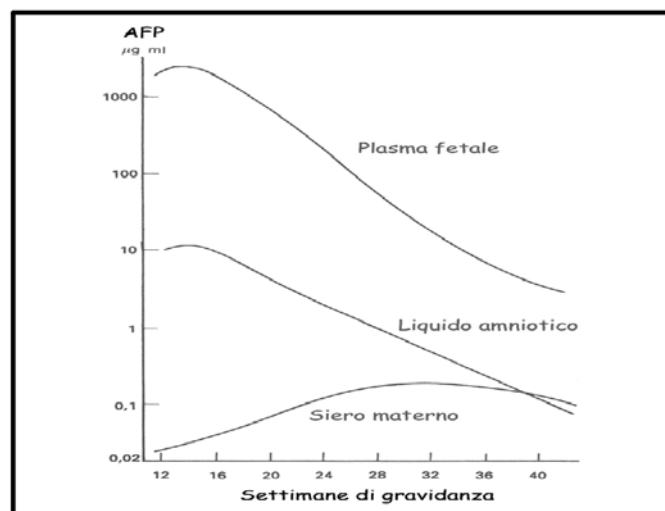


Figura 2
Differenti concentrazioni di AFP nei compartimenti fetale, amniotico e materno nelle diverse epoche di gravidanza

mediano atteso per quella determinata settimana di gravidanza susciterebbe allarmi e rimarrebbe privo di utilità clinica per l'ostetrico³.

Se però si selezionano con cura, mediante datazione ecografica, cinque o sei gruppi di gestanti, uno per ciascuna delle settimane comprese tra le 15 e le 19-20, sarà possibile stabilire il valore mediano della distribuzione dei valori trovati all'interno di ciascun gruppo, cioè "la mediana" di MS-AFP a 15 settimane, quella a 16 settimane, e così via. Tale valore assumerà il significato di valore ottimale per quella settimana di gestazione. Sarà quindi possibile esprimere il dosaggio di AFP della gestante non come appartenente, o meno, ad un intervallo di valori normali, ma come valore vicino alla mediana, o scostato da essa. Un valore uguale a quello della mediana verrà espresso come pari a 1,0 MoM e 1,0 MoM indicherà la perfetta corrispondenza tra il valore trovato e il valore atteso nella popolazione normale; un valore di 2,0 o 2,5 MoM, cioè doppio, o più che doppio, del valore mediano sarà ovviamente un valore di non comune riscontro e quindi da considerare con cautela o come valore soglia per ulteriori accertamenti⁴.

La datazione ecografica della gravidanza consente di ottenere una maggiore precisione nella definizione dell'epoca gestazionale rispetto alla datazione anamnestica in base alla data dell'ultima mestruazione; inoltre permette l'accertamento del numero dei feti, e, in caso di gemellarità, la definizione del numero dei sacchi amniotici e delle placentate, che può spiegare alcuni riscontri biochimici anormali: data la descritta fisiologia dell'AFP, va da sé che due sacchi vitellini e poi due fegati e due sistemi emuntori fetali rappresentano un raddoppio delle fonti di AFP per il siero della gestante⁵.

Un importante fattore interpretativo è costituito dal peso materno, in quanto tutti i prodotti di origine fetale e placentare si diluiscono nella massa ematica materna; di conseguenza il valore assoluto di AFP è molto influenzato dai pesi estremi: la AFP è concentrata nel circolo delle gestanti minute e più diluita nelle gestanti soprappeso. Bisogna pertanto valutare il peso mediano della popolazione da esaminare e determinare il fattore di correzione da utilizzare per il calcolo del MoM corretto per il peso⁶.

L'espressione in MoM è indispensabile anche per rendere confrontabili i risultati espressi in diverse unità di misura o ottenuti con metodi differenti da laboratori diversi e soprattutto per dare significato clinico al dosaggio. A questo riguardo è molto importante che ciascun laboratorio lavori con mediane ricavate dalla propria popolazione, ovvero dalle gravide che afferiscono a quel determinato servizio: è bene ricordare che le donne di colore e le donne asiatiche⁷ hanno geneticamente livelli più elevati di AFP e che quindi la presenza di una certa quota di gestanti africane tra le donne che afferiscono ad un determinato servizio alzerà il livello mediano di MS-AFP oppure che, anche per donne della stessa etnia, un peso corporeo materno medio particolarmente elevato in una certa area geografica, può ridurre il livello mediano di MS-AFP. È anche evidente che le mediane di riferimento assumono significato solo se ricavate da gruppi di pazienti sufficientemente ampi, ovvero da un numero di campioni statisticamente significativo.

L'AFP COME MARCATORE

Le modificazioni nella concentrazione attesa di MS-AFP durante la gravidanza sono spesso indicatori di complicanze gestazionali. Nella maggior parte della gravidanze con feto affetto da SD il livello di AFP sia nel siero materno che nel liquido amniotico all'inizio del secondo trimestre risulta ridotto del 25-30% circa rispetto al valore mediano delle gravidanze con feto normale di pari età gestazionale e, al contrario, elevati livelli di MS-AFP sono associati ad un certo numero di complicazioni che possono riguardare il versante materno, il versante fetale o l'unità feto-placentare⁸.

Schematicamente possiamo individuare cause materne di aumento, che sono rappresentate da neoplasie epatiche o ovariche, o, più frequentemente, da contaminazione con liquido amniotico. Le prime due sono evenienze molto rare, quasi eccezionali, mentre più facilmente si può osservare una MS-AFP aumentata se la gestante è stata sottoposta ad amniocentesi o a prelievo dei villi coriali, e solo successivamente a prelievo ematico per la determinazione plasmatica di AFP.

I Difetti del Tubo Neurale (DTN) sono la più importante e grave causa di elevata MS-AFP per cause fetali⁷. Con il termine DTN si indica un gruppo eterogeneo di malformazioni del sistema nervoso centrale, secondarie ad una anomala chiusura del tubo neurale durante la quarta settimana di sviluppo embrionale, le cui espressioni principali sono l'anencefalia e la spina bifida aperte (*Open Spina Bifida*, OSB). In presenza di queste malformazioni, la soluzione di continuo della barriera cutanea provoca un'esposizione diretta dei capillari fetali nella cavità amniotica e questo consente un aumentato passaggio dal comparto fetale a quello amniotico: la diffusione transamniotica è maggiore e MS-AFP aumenta. Nel liquido amniotico la presenza di anencefalia determina un incremento di AFP di circa venti volte mentre la OSB provoca un aumento di circa sette volte rispetto al valore medio atteso. Nel siero materno questi aumenti sono di minore entità ma pur sempre di notevole impatto: circa sette volte per l'anencefalia e quattro volte per la OSB. Il dosaggio di AFP nel siero materno è quindi utilizzabile come test per identificare le gestanti più a rischio per DTN aperti, a cui consigliare specifici test diagnostici¹⁻⁹.

Nel Regno Unito negli anni '70 la OSB e l'anencefalia si presentavano con prevalenze altissime (1 caso ogni 600 nati vivi) per motivi di carattere etnico e nutrizionale. Un dosaggio sierico dell'AFP superiore a 2-2,5 MoM consentiva di selezionare un gruppo di gestanti ad alto rischio a cui riservare l'amniocentesi, data l'invasività della metodica; inoltre il dosaggio di AFP nel liquido amniotico si presentava con le caratteristiche del marcatore "ideale", cioè diagnostico, poiché la curva di distribuzione dei dosaggi espressi in MoM nella popolazione degli affetti presenta solo una minima sovrapposizione con la curva dei dosaggi della popolazione non affetta. La scelta del livello di MS-AFP da adottare come soglia (o *cut-off*) per passare a procedure diagnostiche è condizionata dal grado di sensibilità e di specificità che si intende raggiungere. Nel 1979 in base alla prevalenza dei DTN in Inghilterra e Galles venne dimostrato che, adottando come *cut-off* un livello di MS-AFP di 2,5 MoM, il tasso delle gestanti con test di scree-

ning positivo sarebbe risultato del 3,3%: la sensibilità sarebbe stata dell'88% per l'anencefalia e del 79% per la OSB poiché la sovrapposizione tra le curve di distribuzione delle concentrazioni della MS-AFP ottenute nelle gestanti con feto sano ed in quelle con feto affetto da anencefalia è minima, mentre nel caso della OSB è presente un'area di parziale sovrapposizione (Fig. 3). Questo fu il razionale del primo screening prenatale della storia della medicina, attuato con un percorso che prevedeva prima di tutto l'informazione ed il consenso della gestante, poi il dosaggio di MS-AFP e il calcolo del MoM, la diagnosi prenatale invasiva finalizzata al dosaggio di AFP sul liquido amniotico se le gestanti erano risultate positive allo screening, uno specifico *counselling* con l'offerta dell'intervento di prevenzione secondaria se il test diagnostico risultava anch'esso positivo. In un decennio la prevalenza dei neonati con OSB si ridusse a 0,5‰ e si azzerarono le nascite di feti con anencefalia. Concorsero a questo risultato sia la diffusione dell'ecografia ostetrica, sia la profilassi preconcezionale con acido folico, che è la vera, efficace forma di prevenzione primaria^{11,12}.

La prevalenza dei DTN mostra ampie variazioni nei diversi paesi; i motivi di tali differenze non sono ancora completamente chiariti e probabilmente riflettono la diversa distribuzione di fattori genetici, ambientali e nutrizionali.

In Italia, l'incidenza dei DTN tra i nati vivi in epoca precografica era circa 0,68‰ e si stima un'incidenza fetale attorno all'1‰ (l'anencefalia contribuisce con circa il 50% dei casi, la OSB con il 40% e l'encefalocele ed il mielomeningocele con il restante 10%). Circa il 95% delle gravidanze affette viene diagnosticato in coppie prive di precedenti anamnestici.

Data la bassa prevalenza della patologia uno screening di popolazione per i DTN non sarebbe giustificato nel nostro paese; dove però esiste un programma di screening per la sindrome di Down (SD) che comprende i marcatori del secondo trimestre AFP, uE3 e hCG, il dosaggio di MS-AFP fornirà uno screening per la OSB senza costi aggiuntivi e lo farà con qualche settimana di anticipo rispetto all'esame ecografico per screening malformativo, previsto per tutte le gestanti a 19-21 settimane^{10,11}. Inoltre, l'esecuzione corretta dello screening per la SD prevede

un'ecografia per datazione che rivestirà un ruolo essenziale anche in questo caso in quanto la valutazione dell'età gestazionale mediante la misura ecografica del Diametro Bi-Parietale (BPD) fetale aumenta la sensibilità dello screening in modo significativo poiché il BPD, nel caso di feto affetto da OSB, tende ad essere inferiore all'atteso; questo si traduce nella sottostima di almeno una settimana dell'età gestazionale con conseguente sovrastima del valore dei MoM di MS-AFP¹⁴.

Quando si adotta il metodo di datazione ecografico prima di procedere alla esecuzione del test biochimico ovviamente si diagnosticano in anticipo tutti i casi di anencefalia: pertanto il valore di rischio trovato deve essere riferito solo a quello per la OSB.

Il riscontro di livelli di MS-AFP pari o superiori a 2,5 MoM ($\geq 2,00$ MoM nelle gestanti con diabete insulino-dipendente e $\geq 3,00$ MoM nelle gestanti di etnia africana) in occasione dell'esecuzione dei test di screening del II trimestre rappresenta un fattore di aumentato rischio per i difetti del tubo neurale ed anche per i difetti di chiusura della parete addominale. In questi casi è perciò indicato un attento esame ecografico, che non significa necessariamente l'invio a centri di secondo livello ma semplicemente l'esecuzione di quella che gli ecografisti ostetrici definiscono "ecografia per screening malformativo"¹⁵ la quale, nella quasi totalità dei casi sarà diagnostica, in quanto potrà escludere la presenza delle predette malformazioni.

I segni più precoci di OSB, individuabili a 16-17 settimane di gestazione, sono l'alterazione del profilo cranico anteriore, il cosiddetto "segno del limone", e la mancata visualizzazione del cervelletto o una modificazione della sua morfologia, il cosiddetto "segno della banana"; può essere invece necessario arrivare a 19-21 settimane per evidenziare la presenza della schisi dei processi vertebrali nella zona interessata dalla mancata fusione^{16,17}.

I DTN e i difetti della parete addominale potrebbero anche venire esclusi mediante diagnosi prenatale invasiva nel caso in cui il dosaggio dell'AFP nel liquido amniotico risultasse normale, cioè inferiore a 2,0 MoM.

Una volta escluse le malformazioni, condizioni gravi ma effettivamente rare, un elevato livello di MS-AFP può spesso essere legato ad episodi emorragici in atto o pre-

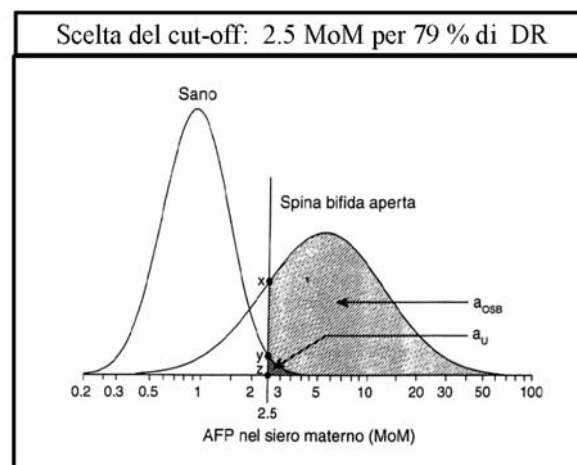


Figura 3
Curve di distribuzione dei MoM nella popolazione delle gravidanze con feto sano o con feto affetto da OSB

gressi che realizzino condizioni di trasfusione fetomaterna.

Tuttavia elevati livelli di MS-AFP non riconducibili a difetti di chiusura o a sanguinamenti pregressi sono un riscontro non raro nel secondo trimestre di gravidanza e sono significativamente associabili a numerose complicanze ostetriche tra cui la sindrome pre-eclamptica, il parto pretermine, la rottura prematura delle membrane, oppure la restrizione di crescita endouterina, il peso basso per l'età gestazionale e la morte endouterina, e quindi rappresentano un fattore di rischio a sé stante per il decorso complicato e l'*outcome* non fisiologico della gravidanza.¹⁸⁻²²

L'esperienza dell'équipe multidisciplinare piemontese

A partire dal 1990 il laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna di Torino ha cominciato ad offrire ai ginecologi ed alle gestanti il test di screening prenatale per la SD mediante l'esecuzione del Tritest che prevede la datazione ecografica della gravidanza mediante la misura del BPD e la determinazione su siero materno di AFP, uE3 e hCG. Il razionale dello screening per la SD è l'individuazione di un sottogruppo di gestanti a rischio aumentato a cui proporre i test diagnostici, sebbene questi non siano del tutto privi di rischi: è infatti noto che l'amniocentesi può provocare l'aborto di un feto sano nell'1% dei casi.

Il software utilizzato per il calcolo del rischio di SD, Alpha (*Logical Medical System*, Londra, UK) prevede anche l'espressione del rischio di DTN correlato al livello di MS-AFP_{MoM}. Tra il 1990 ed il 1994 circa 1% delle oltre 14.000 gravidanze sottoposte a screening è risultata a rischio aumentato di DTN a causa di un livello di MS-AFP $\geq 2,50$ MoM. Tali gestanti hanno ricevuto uno specifico *counselling* post screening: è stata data loro la possibilità di scegliere se eseguire l'amniocentesi per dosare AFP su liquido amniotico oppure se programmare due esami ecografici, uno tra le 16 e le 18 settimane, l'altro a 20-21 settimane. Circa una su tre ha scelto di sottoporsi ad amniocentesi: il dosaggio di AFP su liquido amniotico è stato quasi sempre normale, cioè $< 2,00$ MoM, ed ha escluso la presenza di OSB; qualche rara volta invece AFP nel liquido amniotico è stata $> 2,00$ MoM, ma ripetuti esami ecografici non hanno messo in evidenza né i segni cranici né quelli vertebrali della OSB e nemmeno quelli dei difetti della parete addominale. Tra le gestanti con MS-AFP $\geq 2,50$ MoM alcune hanno avuto diagnosi ecografica di morte endouterina, una la diagnosi di una voluminosa cisti dermoide dell'ovaio materno, una, ecograficamente negativa, ha partorito un neonato con estesi angiomi del viso e del palato molle, mentre i 4 casi di OSB sono stati tutti identificati in epoca prenatale mediante l'esame ecografico.

Tra il 1995 ed il 1999 oltre 63.000 gestanti hanno avuto una valutazione del rischio di DTN contestualmente a quello per la SD: il tasso di test positivi è rimasto costante, ma solo sporadicamente sono state eseguite amniocentesi per MS-AFP aumentata e l'esame ecografico a 19 settimane ha diagnosticato due casi di anencefalia sfuggiti all'ecografia per datazione e 17 su 18 casi di OSB. In questo caso era stata proprio l'ecografia a non identificare la malformazione perché la gestante fu sottoposta anche ad amniocentesi e il dosaggio di AFP su liquido amniotico era risultato pari a 5,1 MoM.

Complessivamente tra il 1990 ed il 1999 sono stati individuati 21 su 22 casi di OSB; la prevalenza trovata è stata di un caso ogni 3500 gravidanze al secondo trimestre¹³; le OAPR (*Odds of being Affected with a Positive Result*): 1 su 35.

Dal 2000 al 2007 sono state valutate per la SD al secondo trimestre 120.071 gestanti; poiché in questi otto anni sono costantemente aumentate le richieste di test integrato, c'è stata una progressiva riduzione del numero delle gravidanze datate mediante la misurazione del BPD a 15-16 settimane. L'ecografia per datazione a 11-13 settimane, quasi sempre eseguita da operatori esperti e prevalentemente accreditati per la determinazione della traslucenza nucale, produce due effetti di segno positivo sullo screening dei DTN: anticipa la diagnosi dell'anencefalia e migliora la precisione della datazione. Infatti la diagnosi precoce dell'anencefalia consente alla gestante di ricorrere ad un intervento di interruzione entro la fine del primo trimestre, cioè prima di intraprendere qualunque percorso di screening prenatale; la miglior precisione nella datazione porta ad un calcolo più preciso dei MoM di MS-AFP ed il calcolo più preciso porta ad una riduzione del tasso di gestanti con MS-AFP $\geq 2,50$ MoM. Dal 2000 al 2007 infatti le gestanti ad alto rischio di DTN sono state lo 0,8% e tale tasso è rimasto costante anche nel 2008. L'anticipazione dell'ecografia ha anche un altro effetto: alcuni casi di OSB che potevano essere sospettati in base a segni cranici evidenziati nel corso dell'ecografia per datazione mediante BPD a 16 settimane, e che quindi uscivano dal percorso dello screening prenatale per la SD, ora arrivano normalmente al secondo prelievo del test integrato poiché l'esame ecografico cui sono stati sottoposti per datazione a 11-13 settimane non poteva rilevare nulla di particolare. Questo si traduce in un modesto aumento della prevalenza dell'OSB registrato negli ultimi anni.

Tra il 2000 ed il 2007 le ecografie diagnostiche per le gestanti con MS-AFP aumentata, offerte come indicato nel "protocollo MS-AFP aumentata" illustrato di seguito, sono state circa 3360 ed hanno consentito di diagnosticare 3 casi di anencefalia sfuggiti all'ecografia per datazione e 44 casi di OSB, la cui prevalenza è quindi risultata pari a 1/2727. La OAPR è meno brillante (1:72) perché si è scelto di aumentare l'offerta di esami ecografici, proponendoli anche alle donne con MS-AFP $\geq 2,00$ MoM.

Il "protocollo MS-AFP aumentata"

A partire dal 2000 è stato proposto, ed adottato da tutte le ASL/ASO afferenti per i test di screening prenatale al laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna, un protocollo comune che non prevede più l'offerta dell'amniocentesi ma solo di esami diagnostici non invasivi che vengono proposti ad una parte più ampia della popolazione secondo i seguenti criteri:

- a) se MS-AFP $\geq 2,00$ MoM, ma inferiore a 2,50 MoM (2% dell'intera popolazione di gestanti)
 - prenotazione di ecografia per screening malformativo a 18⁺⁰ settimane;
 - ulteriore controllo ecografico a 20-21 settimane;
- b) se MS-AFP $\geq 2,50$ MoM (0,8% della popolazione)
 - prenotazione di ecografia per screening malformativo a 18⁺⁰ settimane;
 - ripetizione della valutazione di MS-AFP a 18 settimane;

- ulteriore controllo ecografico a 20-21 settimane, conoscendo il risultato del secondo prelievo per MS-AFP, e valutazione della flussimetria placentare.

In caso di fenomeni macro o micro-emorragici intervenuti durante il primo trimestre di gravidanza, che abbiano o meno configurato clinicamente episodi di perdite ematiche vaginali, si possono creare condizioni di trasfusione feto-materna e quindi di aumentato passaggio di AFP dal comparto fetale. Una volta eseguito, con esito negativo, l'esame ecografico di screening malformativo, se un secondo prelievo di controllo a distanza di almeno una settimana dal primo mostra valori di MS-AFP_{MoM} in diminuzione (perché il sanguinamento è finito da tempo e l'emivita della molecola è di 4-6 giorni), si potrà considerare rientrato l'allarme di *outcome* non fisiologico. Si sottolinea a questo proposito l'importanza di un'accurata anamnesi, soprattutto in merito alla gravidanza in corso, al fine di acquisire notizie utili per interpretare i dati biochimici e non procurare inutili ansie.

Se invece i livelli di MS-AFP_{MoM} tendono ad aumentare, possono essere ipotizzate alterazioni nelle funzioni e/o nella struttura della placenta e la gravidanza andrebbe seguita con un monitoraggio delle condizioni fetali che includa la flussimetria placentare^{22,23} ed uno scrupoloso controllo della pressione arteriosa materna.

Un cenno a parte merita l'aumento di MS-AFP nel quadro di una sospetta morte endouterina. Questo incremento, associato a bassi livelli di estriolo libero e all'aumento del hCG, può essere segno di forte sofferenza fetale e anche di morte fetale, che deve sempre essere confermata da un esame ecografico da eseguirsi il più presto possibile. In questi casi l'aumento di MS-AFP potrebbe essere correlato alla lisi delle strutture fetali, e, quindi, alla compromissione delle barriere che fisiologicamente limitano il passaggio delle sostanze prodotte dal comparto fetale a quello materno.

Un aumento di AFP analogo al precedente, seppure di minore entità, si verifica anche nel caso del "gemello svanito", ovvero quando la gravidanza comincia con più di un embrione ma uno si spegne durante le prime settimane. Il dissolvimento/riassorbimento dei tessuti di tale embrione si traduce nella diffusione della sua AFP nel circolo materno con aumento di MS-AFP: l'accurata anamnesi raccolta prima del test e l'esame ecografico giustificano il reperto biochimico ed evitano inutili allarmi.

Se si riconsiderano le quasi 200.000 gravidanze valutate dal 1990 al 2007 con strategie sempre meno aggressive devono essere sottolineati l'appropriatezza del percorso e l'elevatissima sensibilità dell'esame ecografico (98,5% cioè 65 casi su 66) sulla popolazione selezionata per MS-AFP aumentata.

Tuttavia il 10% di casi di DTN (per esempio il mielomeningocele cistico o la spina bifida chiusa, cioè ricoperta dalla cute fetale), è negativo al test di screening perché non ci sono le condizioni anatomiche che causano l'aumentato passaggio di AFP dal comparto fetale a quello amniotico: è quindi possibile esclusivamente la diagnosi ecografica. Anche da questo punto di vista gli ecografisti ostetrici piemontesi si sono rivelati capaci di ottime prestazioni poiché nel periodo in esame sono stati individuati 12 casi di tali malformazioni "chiuse" nella popolazione pas-

sata attraverso il percorso dello screening e valutata a basso rischio di DTN, poiché MS-AFP era inferiore a 2,00 MoM. Non sono noti casi di neonati affetti da tali anomalie tra la popolazione sottoposta a screening prenatale per la SD ed i DTN a cura del laboratorio Sant'Anna.

BIBLIOGRAFIA

1. **Brock DJ, Sutcliffe RG.** Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1972;2:197
2. **Haddow JE.** Prenatal screening for open neural tube defects, Down's syndrome and other major fetal disorders. *Seminars in perinatology* 1990;14:488-504
3. **Bernstein RE.** Diagnosis of open neural tube defects. *Med J Aust* 1979;2:200
4. **Wald NJ, Brock DJ, Bonnar J.** Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly by maternal serum alpha-fetoprotein measurement. *Lancet* 1974;1:765
5. **Wald NJ, Cuckle HS.** Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of the UK Collaborative Study on alpha-fetoprotein relation to neural tube defects. *Lancet* 1977; 1:1323
6. **Wald NJ, Cuckle H, Boreham J.** The effect of maternal weight on serum alpha-fetoprotein levels. *Br J Obstet Gynaecol* 1981;88:1094-6
7. **Cuckle HS, Nanchahal K, Wald NJ.** Maternal serum alpha-fetoprotein and ethnic origin. *Br J Obstet Gynaecol* 1987;94:1111
8. **Thomas RL, Blakemore KJ.** Evaluation of elevations in maternal serum alpha-fetoprotein: a review. *Obstetri Gynecol Surv* 1990;45:269-83
9. **Cohen FL.** Neural tube defects: epidemiology, detection, and prevention. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 1987; 16:105-15
10. **Wald NJ, Cuckle H.** Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Second Report of the UK Collaborative Study on alpha-fetoprotein relation to neural tube defects. *Lancet* 1979;651
11. **Vintzileos AM, Ananth CV, Fisher AJ et al.** Cost-benefit analysis of targeted ultrasonography for prenatal detection of spina bifida in patients with an elevated concentration of second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180:1227-33
12. **Bell KN, Oakley GP Jr.** Tracking the prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2006; 76:654-7
13. **Calzolari E, Cocchi G, Garani GP et al.** L'indagine IMER sulle malformazioni congenite in Emilia-romagna. Rapporto annuale IMER 1992 *Acta Paediatrica Lat* 1994; 47:303-9
14. **Roberts AB, Campbell S.** Small biparietal diameter of fetuses with spina bifida: implication for antenatal screening *Br J Obstet Gynaecol* 1980; 87:927-8

Screening e diagnosi prenatale

15. Linee Guida SIEOG edizione 2006
16. **Nicolaides KH, Gabbe SG, Campbell S.** Ultrasound screening for spina bifida: cranial and cerebellar signes. *Lancet* 1986;72
17. **Chan A, Robertson EF, Haan EA et al.** The sensitivity of ultrasound and serum alpha-fetoprotein in population-based antenatal screening for neural tube defects. South Australia 1986-1991. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995; 102:370-6
18. **Simpson JL, Palomaki GE, Mercer B et al.** Association between perinatal outcome and serially obtained second and third-trimester maternal serum alpha-fetoprotein measurement. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1742-8
19. **Yaron Y, Kramer R, O' Brien J et al.** Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-fetoprotein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:968-74
20. **Ramus RM, Martin L, Dowd T et al.** Elevated maternal serum alpha-fetoprotein and placenta sonolucencies. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:423
21. **Krause TG, Christens P, Wohlfahrt J et al.** Second Trimester maternal serum alpha-fetoprotein and risk of adverse pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001;97:277-82
22. **Gagnon A, Douglas Wilson R.** Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *JOGC* 2008; 918-32
23. **Whittle W, Chaddha V. et al.** Ultrasound detection of placental insufficiency in women with "unexplained" abnormal maternal serum screening results. *Clin Genet* 2006; 6:97-104.

Per corrispondenza:

Dott.ssa Elisabetta Muccinelli
AO OIRM-Sant'Anna
C.so Spezia 60 - 10126 Torino
Tel.: 011 3131655 - Fax: 011 3134470
e-mail: elisabetta.muccinelli@oirmsantanna.piemonte.it