

## Valutazione genetica e biochimica in caso di bassissimi livelli di estriolo libero nel siero materno

Valeria Giorgia Naretto<sup>1,2</sup>, Enrico Grosso<sup>1</sup>, Enza Pavanello<sup>3</sup>, Varvara Guaraldo<sup>3</sup>, Riccardo Fiorito<sup>3</sup>, Carla Bollati<sup>3</sup>, Elisabetta Muccinelli<sup>3</sup>, Daniela C. Dall'Amico<sup>3</sup>

<sup>1</sup>SCDU Genetica Medica, AOU S. Giovanni Battista di Torino

<sup>2</sup>Dipartimento di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino

<sup>3</sup>Dipartimento Diagnostica e Servizi, AO OIRM-Sant'Anna, Torino

**RIASSUNTO** *Il dosaggio dell'uE3 nel siero materno viene eseguito di routine nell'ambito delle procedure di screening biochimico prenatale della sindrome di Down durante il secondo trimestre. La presenza di ridotti livelli di uE3 nel siero materno ( $uE3 < 0,35$  MoM) richiede un percorso diagnostico multidisciplinare accompagnato dal counselling alla coppia volti all'identificazione della causa di tale deficit. Il percorso diagnostico richiede in prima istanza di escludere la presenza di exitus fetale; in presenza di feto vivo e vitale, l'evidenza suggerisce l'utilità di eseguire indagini per la diagnosi di patologie cromosomiche, ittiosi X-linked e sindrome da delezione dei geni contigui, sindrome di Smith-Lemli-Opitz (SLO) e difetti della steroidogenesi: alcuni casi di patologia grave potrebbero infatti sfuggire ai controlli ecografici.*

**Parole chiave:** Estriolo non coniugato (uE3); Deficit steroido solfatasi (STS); Ittiosi X-linked, Sindrome di Smith-Lemli-Opitz (SLO)

**ABSTRACT** *Genetic and biochemical evaluation of low maternal serum unconjugated estriol. Maternal unconjugated estriol (uE3) level is usually investigated during second-trimester for prenatal screening of Down syndrome. Women with low uE3 level ( $uE3 < 0,35$  MoM) should be offered to have a second level diagnostic evaluation and genetic counselling. After exclusion of intrauterine fetal death, some clinical conditions should be tested in addition to ultrasonographic evaluation: aneuploidy, X-linked ichthyosis, contiguous gene disorder, Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLO) and other cholesterol biosynthesis errors.*

**Key words:** Unconjugated estriol (uE3); Steroid sulfatase (STS) deficiency; X-linked ichthyosis; Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLOS)

### INTRODUZIONE

Un'attenta valutazione genetica e biochimica delle gravidanze caratterizzate da un bassissimo livello di uE3 nel siero materno può fornire informazioni utili non solo per la diagnosi prenatale di patologie cromosomiche, ma anche di condizioni differenti (ittiosi X-linked, sindrome di Smith-Lemli-Opitz ed altre), per le quali l'approfondimento di laboratorio consente una diagnosi accurata. In presenza di deficit isolato di uE3, è quindi proponibile uno specifico iter diagnostico multidisciplinare, accompagnato dal *counselling* alla coppia.

### TEST DI SCREENING E DEFICIT ISOLATO DI ESTRIOLO

Il dosaggio di uE3 nel siero materno viene eseguito di routine nell'ambito delle procedure di screening biochimico prenatale della sindrome di Down (SD) durante il secondo trimestre.

L'uE3 viene prodotto grazie ad una complessa collaborazione dell'unità feto-placentare. Il suo precursore è rappresentato dal DEAS, prodotto prima dal surrene materno e poi dal surrene fetale. Tale composto subisce una 16 alfa idrossilazione ad opera del fegato fetale ed una desolfatazione ed aromatizzazione ad opera della placenta. Viene

così prodotto uE3, che passa nel circolo materno, dove viene rapidamente coniugato mediante glucuronazione o solfatazione per poi essere escreto con le urine.

Indispensabile per la produzione di uE3 è perciò la presenza dell'enzima responsabile del processo di desolfatazione, denominato steroido solfatasi (STS).

Il gene STS è localizzato nella regione Xp22.3 ed è costituito da 10 esoni. Il suo prodotto proteico viene espresso a livello di testicoli, ovaie, ghiandole surrenali, prostata, cute, cervello, endometrio, linfociti periferici, aorta, reni, ossa, dove svolge un'importante funzione biologica. Un ruolo particolare viene riconosciuto alla STS presente a livello cutaneo, perché il suo difetto è responsabile di una particolare dermatosi, l'ittiosi X-linked.

La prima evidenza di una relazione tra bassissimi livelli di estriolo e deficit dell'enzima STS risale al 1969, quando France e Liggings<sup>1</sup> descrissero alcune caratteristiche peculiari nelle gravidanze di donne appartenenti alla stessa famiglia della Nuova Zelanda, quali livelli di uE3 quasi indosabili, normale sviluppo fetale e travaglio difficoltoso (mancata risposta all'ossitocina).

Circa 10 anni dopo, nel 1978 Shapiro e colleghi<sup>2,3</sup> riportarono la presenza di ittiosi in alcuni individui, tutti maschi, delle famiglie con deficit placentare di STS. Nel medesimo anno gli stessi autori, mediante uno studio su fibroblasti, dimostrarono che la causa metabolica dell'ittio-

si risiede nel difetto di STS, risultata marcatamente ridotta in 4 pazienti affetti da ittiosi legata al cromosoma X e normale nei controlli sani e in pazienti affetti da altre forme di ittiosi.

L'ittiosi *X-linked* (OMIM, #308100) appartiene alla famiglia delle ittiosi, distrofie cutanee caratterizzate da un'alterazione del processo di cheratinizzazione.

Il termine ittiosi prende origine dalla parola greca *ιχθυος*, in quanto la caratteristica desquamazione cutanea di questi pazienti ricorda le squame dei pesci.

La prevalenza dell'ittiosi *X-linked* nella popolazione generale è 1/2.000-6.000 maschi. È caratterizzata clinicamente da desquamazione cutanea a livello della superficie estensoria e flessoria degli arti, del tronco, del collo e della parte laterale del viso. Il quadro istologico è caratterizzato da ispessimento dello strato corneo e assottigliamento dello strato granuloso. Un meccanismo patogenetico che spieghi come il difetto enzimatico sia responsabile della caratteristica desquamazione cutanea non è stato al momento completamente chiarito. Un ruolo chiave sembra essere rappresentato dalla presenza di una elevata concentrazione di colesterolo solfato in plasma e strato corneo, che potrebbe alterare il normale processo di cheratinizzazione. La terapia consigliata si basa sull'utilizzo di farmaci topici (cheratolitici).

Alle lesioni cutanee possono essere associati ectopia del testicolo (criptorchidismo) ed opacità della cornea, che non ha effetti apprezzabili sull'acuità visiva.

In circa l'85% dei casi l'ittiosi *X-linked* è dovuta a perdita (delezione) totale o parziale del gene STS; nel 15% dei casi sono presenti mutazioni puntiformi all'interno del gene STS.

Raramente la delezione può interessare geni contigui e causare quindi una sintomatologia più grave e complessa caratterizzata dall'associazione di differenti patologie monogeniche a trasmissione *X-linked* (sindrome da delezione dei geni contigui). I singoli fenotipi comprendono bassa statura (gene SHOX), condrodisplasia punctata (gene ARSE), ritardo mentale *X-linked* (gene MRX1), ittiosi *X-linked* (gene STS), sindrome di Kallmann (gene KAL1), albinismo oculare *X-linked* (gene OA1). I soggetti che presentano una delezione della regione Xq22.3 comprendente il gene STS possono presentare una o più delle patologie sopraelencate.

Durante la gravidanza, l'assenza di attività steroido solfatasi nella placenta limita la sintesi di uE3 e predispone a difficoltà ad espletare il parto fisiologico, richiedendo generalmente l'esecuzione di un parto cesareo.

La casistica più numerosa di gravidanze caratterizzate da riduzione di uE3 viene riportata da Schoen e collaboratori<sup>4</sup> in un lavoro del 2003: questo descrive l'andamento di 103 gravidanze caratterizzate da bassissimi livelli di uE3, selezionate sul totale di 120.071 gravidanze sottoposte a test di screening prenatale per la valutazione del rischio di anomalie cromosomiche mediante marcatori del secondo trimestre nel periodo 1995-2000.

Gli autori distinguono tra gravidanze con test di screening negativo e gravidanze con test di screening positivo. Al primo gruppo appartengono 33 gravidanze, che hanno avuto i seguenti risultati: 2 casi di morte endouterina, 1 caso di Sindrome di Smith-Lemli-Opitz (SLOS)<sup>a</sup>, 1 caso di malformazioni congenite multiple, 1 caso di trisomia 18, 1 caso di trisomia 13 e 27 casi di soggetti clinicamente sani alla nascita (3 femmine e 24 maschi, di cui 6 affetti da ittiosi e 9 da altre dermatosi). Al secondo gruppo appartengono 68 gravidanze, che hanno avuto i seguenti risultati: 39 casi di morte endouterina, 10 casi di interruzioni elettive di gravidanza (in seguito alla diagnosi prenatale di SLOS, malformazioni, triploidie) e 19 casi di soggetti a cariotipo normale e clinicamente sani alla nascita (1 femmina e 18 maschi di cui 6 affetti da ittiosi e 7 affetti da altre dermatosi).

### ITER DIAGNOSTICO DEL DEFICIT ISOLATO DI uE3

Presso la SCU Genetic Medica (AOU San Giovanni Battista di Torino), in collaborazione con il Laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna (AO OIRM-Sant'Anna, Torino) ed i Centri di Ecografia e Diagnosi Prenatale di buona parte dell'area piemontese, viene offerto a tutte le donne che presentano livelli di uE3 < 0,35 MoM un iter diagnostico multidisciplinare volto all'identificazione della causa di tale deficit.

Il riscontro di livelli di uE3 molto bassi richiede come primo accertamento una valutazione ecografica al fine di stabilire la vitalità del feto. L'*exitus* fetale è infatti la prima condizione da escludere: l'estriolo libero ha un'emivita molto breve ed è il più precoce segno biochimico di morte fetale imminente o di *exitus*.

In presenza di un feto vivo e vitale, l'iter diagnostico prevede un prelievo di liquido amniotico per l'esecuzione delle seguenti indagini:

- valutazione del cariotipo fetale, per la diagnosi di patologie cromosomiche;
- ricerca della microdelezione Xp22.3 (STS), per la diagnosi di ittiosi *X-linked*;
- estensione della ricerca di delezioni ai geni contigui, per la diagnosi di sindrome da delezione dei geni contigui;
- dosaggio del 7-deidrocolesterolo (7-DHC), per la diagnosi di sindrome di SLOS;
- analisi del profilo degli steroidi (su liquido amniotico e urine materne), per la diagnosi di difetti nella steroidogenesi;
- valutazione ecografica, per la visualizzazione del sesso fenotipico e di eventuali malformazioni multiple o isolate.

È opportuno che la proposta di un percorso diagnostico così complesso avvenga mediante una formale consulenza genetica. La consulenza genetica è l'atto medico tramite il quale i consultandi vengono resi edotti sulle pos-

<sup>a</sup>La SLOS<sup>5</sup> è una patologia metabolica rara, trasmessa come carattere autosomico recessivo, caratterizzata da dismorfismi facciali, alterazioni del sistema nervoso centrale (difetti di mielinizzazione, agenesia del corpo calloso, oloprosencefalia), ritardo di crescita e ritardo psicomotorio, sviluppo incompleto dei genitali maschili, sindattilia e polidattilia, malformazioni a livello cardiaco, renale e pancreatico. La SLOS è determinata dalla presenza di un difetto nel gene della 7-deidrocolesterolo reduttasi (7DHC), che catalizza l'ultima tappa della biosintesi del colesterolo, cioè la riduzione del 7-deidrocolesterolo in colesterolo.

sibili evoluzioni della gravidanza e sui diversi quadri clinici prospettabili: vengono anche informati che hanno la possibilità di discutere la loro scelta di proseguire o meno il percorso diagnostico.

Soltanto un'informazione corretta e completa consente alle famiglie di prendere una decisione consapevole in merito alla prosecuzione degli approfondimenti diagnostici e di elaborare una maggior capacità di comprensione dei risultati al termine delle indagini. La consulenza genetica non è soltanto un atto informativo ma anche la sede di raccolta dei dati anamnestici ostetrici e familiari: in questo caso vanno indagate familiarità per patologie cutanee, consanguineità, segnalazione di parti difficoltosi. Ricordiamo che cause iatrogene vanno sempre prese in considerazione (ad esempio, l'assunzione materna di farmaci corticosteroidi può inibire l'asse ipotalamo-ipofisurrene anche a livello fetale).

Il processo si conclude con un secondo colloquio, durante il quale vengono comunicati i risultati delle indagini e vengono discusse le caratteristiche della condizione diagnosticata. In presenza di negatività di tutte le indagini sopra elencate, il riscontro di bassi livelli di estriolo può essere attribuito ad altre cause (la presenza di mutazioni puntiformi all'interno del gene STS che potrebbero determinare comunque l'ittiosi; la presenza di un deficit isolato della STS placentare; uno stato di sofferenza fetale) che vanno comunque discusse con la coppia.

In conclusione, in caso di riscontro di livelli molto bassi

di uE3 è consigliabile intraprendere un processo complesso e multidisciplinare, che si avvale della collaborazione di genetisti, ostetrici, ecografisti, biologi molecolari, medici e chimici di laboratorio. Un incremento della casistica pubblicata potrà fornire più precise indicazioni per implementare l'iter diagnostico e dare un'informazione più accurata alla coppia.

### BIBLIOGRAFIA

1. **France JT, Liggins GC.** Placental sulfatase deficiency. *J Clin Endoc* 1969;29:138-41
2. **Shapiro LJ, Weiss R, Buxman MM et al.** Enzymatic basis of typical X-linked ichthyosis. *Lancet* II 1978;756-7
3. **Shapiro LJ, Weiss R, Webster D et al.** X-linked ichthyosis due to steroid-sulphatase deficiency. *Lancet* I 1978;70-2
4. **Schoen E, Norem C, O'Keefe J et al.** Maternal serum unconjugated estriol as a predictor for Smith-Lemli-Opitz and other fetal conditions. *Obstet. Ginecol.* 2003;102:167-72
5. **Sriver CR, Beudet AL, Sly WS et al.** The metabolic and molecular bases of inherited disease, 8th edition, 2001. Vol III: 4241-62

*Per corrispondenza:*

Dott.ssa Valeria Giorgia Naretto  
SCDU Genetica Medica  
AOU S. Giovanni Battista di Torino  
Via Santena 19 - 10126 Torino  
Tel.: 011 6336771 - Fax: 011 6335181  
e-mail: [valeriagiorgia.naretto@unito.it](mailto:valeriagiorgia.naretto@unito.it)