

La gemellarità: rischio malformativo e patologie concomitanti

Mario Giuffrè

Dipartimento Materno Infantile Università degli Studi di Palermo

Nei Paesi occidentali, l'innalzamento dell'età materna al concepimento, l'impiego di induttori farmacologici dell'ovulazione e l'aumento del ricorso alla riproduzione medicalmente assistita (*Assisted Reproduction Techniques*, ART) stanno determinando un progressivo aumento dei neonati da gravidanze multiple, attualmente stimati nell'ordine del 2,6% dei nati vivi.

I problemi clinici che debbono essere affrontati nelle gravidanze multiple, di tipo emergenziale e/o organizzativo, abbracciano quasi tutte le aree della neonatologia [TABELLA 1] e l'intersecarsi dei vari problemi rende necessarie modalità specifiche di assistenza nel *follow-up* prenatale e postnatale, con l'impiego di strumenti idonei per la valutazione del benessere fetale.

Solo nel 1999 un'analisi sistematica di registri di Paesi europei e dell'America latina ha permesso di confermare l'ipotesi emersa da studi precedenti di un aumentato rischio relativo di malformazioni congenite (MC) nei gemelli rispetto ai nati da gravidanze singole [1]. Tuttavia, il rischio di malfor-

mazioni non è costante in tutti i gemelli: nei mono- zigoti (MZ) [20-30% delle gravidanze multiple] il rischio di malformazioni è infatti circa tre volte più elevato rispetto a quello dei gemelli dizigoti (DZ). Tra i fattori che possono determinare tali differenze, la placentazione svolge un ruolo determinante [FIGURA 1], con rischi crescenti a partire dai gemelli dicorionici diamniotici fino ai monocorionici monoamniotici, che possono essere addirittura congiunti quando la divisione del primitivo ammasso cellulare che forma il nuovo embrione si verifica dopo 14 giorni dall'ovulazione [2].

I criteri di classificazione clinici, eziologici e patogenetici applicati alle MC sono insufficienti per cogliere l'aspetto peculiare delle malformazioni dei neonati da gravidanze multiple, riconducibili a quattro diverse tipologie. Una prima classe è rappresentata dalle malformazioni con cause genetiche, generalmente concordanti nei MZ anche se differenze ambientali e possibili eterocariotipie possono determinare lo sviluppo di malformazioni in un solo gemello (es: sindrome di Turner). Una se-

Tabella 1. Principali problematiche clinico-assistenziali nei nati da gravidanze multiple.

Prenatale	Perinatale	Postnatale
Affollamento intrauterino	Asfissia perinatale	Basso peso alla nascita
Malformazioni	Danno ischemico cerebrale	Prematurità
Anastomosi vascolari placentari	Parto pretermine	RDS e patologie correlate
IUGR		
Discordanza di crescita		

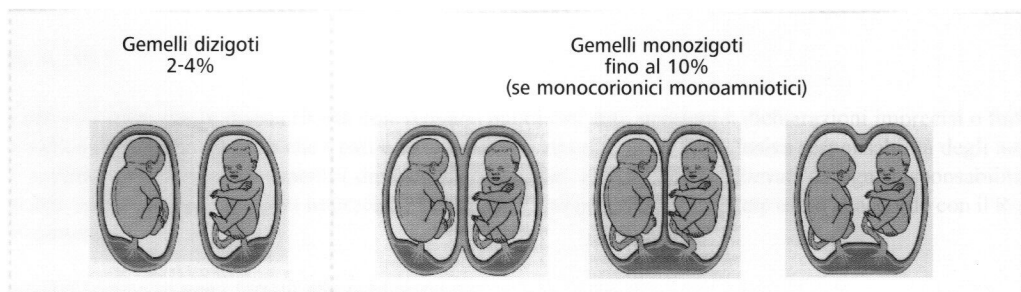


Figura 1. Incidenza delle malformazioni congenite nelle diverse categorie di gemelli.

conda classe è rappresentata dalle malformazioni dovute a un difetto della blastogenesi, la fase critica che interessa le 4 settimane successive al concepimento. L'alterazione dei processi di placentazione, neurulazione, gastrulazione e identificazione degli assi corporei che si verificano in questa fase possono dar luogo a quadri di associazioni malformative che interessano distretti diversi, con anencefalia, difetti del tubo neurale, oloprosencefalia, cardiopatie, difetti vertebrali, sirenomelia, agenesia renale, teratoma sacrale, atresia anale, fino al prototipo di turba della blastogenesi, i gemelli congiunti. La terza classe è quella delle disruptions vascolari, legate alla presenza di anastomosi vascolari a livello placentare e più frequenti nei MZ. La disruption con morte fetale di un gemello che va incontro a involuzione e può diventare fonte di patologia tromboembolica nell'altro gemello si verifica circa in 1/200 gravidanze gemellari. La *twin reversed arterial perfusion sequence* (TRAP) [circa 1% delle gravidanze MZ] è un quadro complesso dove anastomosi vascolari determinano inversione del flusso ematico nei vasi ombelicali e soppressione della morfogenesi del cuore (gemello acardico) e dei distretti superiori del corpo (gemello amorfo), mentre l'altro gemello si comporta da pompa per entrambi ed è a rischio di scompenso cardiaco, prematurità, polidramnios. Nella *twin-twin transfusion syndrome*, che interessa circa il 15% delle gravidanze MZ, anastomosi vascolari placentari determinano shunt ematico dal gemello donatore al ricevente, con discordanza di crescita e prognosi severa in caso di esordio acuto nel II trimestre. Si riconoscono, infine, malformazioni dovute a fenomeni meccanici compressivi o deformativi, come le briglie amniotiche, dovute a interruzioni di continuità del foglietto coriale che ricopre la superficie interna della camera gestazionale. Esse determinano difetti asimmetrici con riduzione degli arti, costrizioni ad anello, anomalie dello sviluppo della regione mediana del cranio e del tronco (schisi palatine e difetti di chiusura addominale), encefalocele e altre alterazioni strutturali craniche, complesso *limb body wall*.

In una gravidanza gemellare si può osservare concordanza o discordanza fenotipica malformativa. Nel primo caso entrambi i gemelli presentano la stessa malformazione, nel secondo, o uno solo presenta difetti morfogenetici oppure entrambi presentano MC ma distinguibili sotto il profilo clinico ed embriologico o per il grado di espressività. La concordanza è stimata nell'ordine del 10-20% circa dei casi e, com'è facilmente comprensibile, è superiore nei gemelli MZ rispetto ai DZ. In presenza di MC, occorre studiare con la massima attenzione entrambi i gemelli per individuare l'eventuale concordanza e stabilire se si tratta di una

concordanza piena o parziale. Una discordanza nell'espressività fenotipica, infatti, può modificare l'approccio clinico/terapeutico, considerando che ogni scelta rivolta a uno dei gemelli si ripercuote anche sull'altro. Le decisioni che scaturiscono da una possibile discordanza di una patologia malformativa nei gemelli necessitano quindi di un'adeguata consulenza genetica, spesso già in sede prenatale, di un'assistenza psicologica alla coppia e, se possibile, dell'ottimizzazione del management della gravidanza che diventa particolarmente importante nell'ipotesi di una riduzione selettiva. L'approccio multidisciplinare, auspicabile in tutte le gravidanze a rischio, è particolarmente importante laddove ci sia un'evidenza di patologia malformativa a carico di uno o di entrambi i gemelli. Infatti, solo una buona rete di comunicazione ostetrico-neonatologica consente di decidere l'iter terapeutico più conveniente, stabilendo un opportuno timing del parto con il trasporto in utero in centri di terzo livello.

L'avvento delle tecniche ART ha rivoluzionato il trattamento della infertilità, modificando anche il panorama delle gravidanze gemellari (passate dall'1 al 27%) e delle malformazioni associate. L'aumento di incidenza riguarda sia le gravidanze DZ sia quelle MZ, secondo la tecnica utilizzata. La **TABELLA 2** riporta le possibili cause delle MC osservabili nelle gravidanze da ART.

Dopo che uno studio svedese pubblicato nel 2001 aveva attribuito un aumento di circa 1,5 volte del rischio di malformazioni nel caso di fecondazione *in vitro* (*in vitro fertilization*, IVF) alle

Tabella 2. Possibili cause dei difetti congeniti nelle gravidanze da tecniche ART

Infertilità di base

- Età avanzata delle coppie infertili
- Causa stessa dell'infertilità di coppia
- Farmaci per tutelare la gravidanza negli stadi precoci

Farmaci e procedure di ART

- Farmaci per stimolare l'ovulazione
- Assenza di selezione naturale dei gameti
- Ritardata fecondazione dell'ovocita
- Congelamento degli embrioni
- Congelamento dei gameti
- Microambiente delle colture embrionali (pH, elettroliti, AA, ...)

caratteristiche delle donne che si sottopongono a questa tecnica (età, parità e patologia di base) [3], uno studio più ampio australiano ha confermato che il rischio di difetti congeniti dopo ART è circa il doppio rispetto a quello osservabile dopo concepimento naturale (CN) [iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi (*intracytoplasmic sperm injection*) ICSI 8,6%; IVF 9%, CN 4,2%], con l'aumento del rischio che rimane significativo anche dopo correzione per età materna, parità materna, nati singoli *vs* gemelli, durata della gravidanza e sesso del neonato [4]. Un'indagine successiva, sempre condotta in Australia, ha permesso di valutare in maggiore dettaglio il contributo delle diverse metodiche di riproduzione assistita all'aumento del rischio di MC osservando, dopo aggiustamento per i fattori parentali, come l'ICSI ma non l'IVF risulti significativamente associata a un aumento del rischio [5].

Tra i potenziali fattori di rischio associati all'ICSI, ricordiamo la trasmissione di anomalie genetiche associate all'infertilità, l'assenza di pre-selezione dello spermatozoo, il timing dell'ICSI rispetto alla maturazione dell'ovocita, la possibile attivazione meccanica dell'ovocita, la possibile interferenza con la separazione dei cromosomi nella seconda divisione meiotica e i difetti dell'*imprinting* genico. Questi ultimi sono i fenomeni di modificazione della metilazione del DNA e/o della struttura della cromatina che determinano modificazioni nella espressione genica e nelle caratteristiche fenotipiche in base ai quali per alcuni geni solo uno dei due alleli viene espresso in base all'origine parentale. Trattandosi di fenomeni epigenetici che si verificano durante lo sviluppo delle cellule germinali e lo stadio preimpianto (entrambi interessati dalle ART) che possono interferire sia con il corretto stabilirsi del meccanismo di *imprinting* (colture dei gameti) sia con il suo mantenimento (colture embrionali), essi si prestano a interessanti speculazioni sull'influenza delle ART nella comparsa di malformazioni. Ricordiamo che molti geni soggetti a *imprinting* sono espressi durante lo stadio preimpianto e che, in studi su animali, è stato osservato come lo stato di metilazione e l'espressione genica possano variare modificando le condizioni di coltura. Inoltre, le colture di embrioni e le tecniche di clonazione nelle pecore hanno fatto registrare un elevato rischio di eccesso di crescita, morbilità e mortalità per perdita dell'*imprinting* del gene per IGF2-R, con analogie rispetto all'aumento nei nati da ART dei casi con sindrome di Beckwith-Wiedemann (SBW), che riconosce tra le sue cause un complesso equilibrio tra geni promotori e geni repressori della crescita che dipende dal grado di metilazione di alcune regioni

cromosomiche specifiche. È interessante sottolineare come la perdita di metilazione dell'allele materno (una delle cause di SBW) si verifichi nel 50% dei casi nella popolazione generale e rappresenti invece il 95% dei nati da ART, a dimostrazione dell'alterazione dei meccanismi di *imprinting* genico associati a queste tecniche. Studi su larga scala potranno fornire informazioni fondamentali sugli *outcomes* di ART e, in particolare, sulla relazione tra errori epigenetici, specifiche metodiche ART e cause di infertilità.

Alla luce delle evidenze disponibili, la *European Society of Human Reproduction and Embryology* raccomanda di includere la consulenza genetica e gli esami genetici prima di intraprendere metodiche di procreazione medicalmente assistita. Inoltre, al secondo trimestre di gravidanza è raccomandato uno *screening* ecografico per MC e un'amniocentesi per l'analisi citogenetica.

Nell'ambito del counselling è indispensabile che le coppie vengano informate del fatto che l'incidenza di anomalie cromosomiche e MC sembra essere più elevata dopo IVF e ICSI, in modo che il rischio assoluto di *outcome* sfavorevole possa essere adeguatamente valutato dagli interessati. Occorre però considerare che, nonostante le ART siano ormai applicate su ampia scala, rischi e complicanze restano ancora scarsamente documentati in Europa. Sarebbe quindi importante poter disporre di registri completi ed aggiornati su temi fondamentali quali i dati di morbilità e mortalità materna e fetale, le complicazioni della gravidanza, la zigosità nelle gravidanze gemellari, le MC, la riduzione selettiva degli embrioni ed eventuali procedure speciali. In Italia, questo obiettivo potrebbe essere raggiunto, almeno in parte, integrando con informazioni relative a patologie malformative e metodiche per ART lo studio di coorte progettato nel 2009 dall'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con alcune Neonatologie italiane, tra cui quella del Policlinico di Palermo per costituire un Registro dei gemelli.

Bibliografia

1. Mastroiacovo P, et al. Congenital malformations in twins: an international study. *Am J Med Genet* 1999;83:117-24
2. Bajoria R, Kingdom J. The case for routine determination of chorionicity and zygosity in multiple pregnancy. *Prenat Diagn* 1997;17:1207-25
3. Ericson A, Källén B. Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study. *Hum Reprod* 2001;16:504-9
4. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, et al. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002;346:725-30
5. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, et al. Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med* 2012;366:1803-13