

**ALTAMEDICA
UNEXPLAINED RECURRENT
SPONTANEOUS ABORTION SCREENING**

ALTAMEDICA URSA SCREEN®

TEST GENETICO PER STUDIO POLIABORTIVITA'
o ABORTIVITA' INSPIEGATA

Test di predisposizione genetica sulle cause dell'aborto abituale: dalla
citogenetica fino alla bioinformatica applicata Next Generation
Sequencing



**Panel di test di predisposizione genetica
all'aborto abituale:
dalla citogenetica fino alla bioinformatica applicata Next Generation Sequencing**

Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion (URSA)

L'aborto ha sempre accompagnato la storia riproduttiva del genere umano destando nelle donne sconforto, tristezza e dubbi sulla sua natura.

Fin dai tempi più antichi vi sono testimonianze di quanto questa evenienza fosse presente come elemento immanente sulla riproduzione femminile. Platone, nel Fedro, lo considerava un evento naturale necessario acciocché l'anima entrasse poi in un corpo. Ippocrate vi dedica gran parte del suo libro sulle malattie delle donne.

Nei secoli successivi i medici si sono occupati dell'aborto ricorrendo ai rimedi più bizzarri. Recentemente, dalla metà del secolo scorso, l'attenzione degli ostetrici ha ricercato basi più razionali e scientifiche per la comprensione e possibile soluzione di questa che è, forse, la patologia più frequente che affligge una donna in età riproduttiva. Dalla metà del secolo scorso parrebbe che gli ostetrici abbiano iniziato ad occuparsi di questa problematica inquadrandola e trattandola sotto la spinta delle "mode scientifiche" in auge nel susseguirsi dei decenni. Tra gli anni 50/ 60 si iniziò a sospettare che gli aborti avessero una causa che poteva essere trattata dal punto di vista medico. Si pensò alle cause infettive (la tubercolosi e la sifilide ad esempio). Dopo più di un decennio gli aborti si ritennero tutti conseguenti a causa di carenza ormonale. Successivamente si abbandonò in gran parte questa idea e si ritenne possibile quasi esclusivamente un meccanismo autoimmune. Più



avanti l'attenzione si concentrò sulla compatibilità tissutale di coppia fino ad arrivare a, circa 20 anni orsono, dove si cominciò a ritenere di particolare importanza la predisposizione alla trombosi, spesso su base genetica. Ancora in seguito e più recentemente, una serie innumerevoli di condizioni cliniche, dai distiroidismi alle più comuni malattie metaboliche. Man mano che la cultura cresceva emersero cause molto precise ed inconfutabili, come ad esempio le malformazioni uterine. Tutto questo però non è sempre sufficiente a spiegare l'enorme numero di aborti che a secondo delle casistiche, sembrerebbero affliggere dal 20 al 30 % delle gravidanze. In realtà, fortunatamente, la maggior parte di questi sono aborti occasionali che, in genere, non si ripetono se non "occasionalmente".



Che la maggior parte degli aborti sia occasionale, e che non vi è nessun modo e non esiste alcuna terapia per verificare l'insorgenza, ne sia prova il modo con cui, nell'antico Egitto, le donne che cercavano un figlio che tardava o che svaniva nell'aborto, vi cercavano rimedio.

Le enormi colonne del tempio di File ad Assuan, sono state consumate da centinaia di generazioni di coloro che vi si recavano in pellegrinaggio e ne grattavano l'arenaria per poi berne la polvere ricavata mescolandola nell'acqua del Sacro Fiume. Credete che, se questa ingenua pratica magica, non avesse fatto felici migliaia di madri, l'usanza sarebbe continuata per secoli? Per i suoi effetti benefici la ritennero evidentemente efficace, miracolosa! Ricordiamocene quando ci illudiamo di aver portato avanti una gravidanza grazie ad una delle terapie in uso. (8,9,10,11,12,13,14)

Oggi dagli studi di genetica molecolare e sequenziamento dei geni è oramai certo che **la causa degli aborti è da ricercare, in oltre l'80% dei casi, in alterazioni genetiche** (1,2,3,4,5,6,7,8). Questa percentuale è destinata a salire mano a mano che lo studio dell'Esoma umano individuerà, nei feti abortiti, anomalie via via più profonde e diversificate.

Perdono quindi sempre più importanza, soprattutto in percentuale, le cause fino ad oggi ritenute capaci di interrompere una gravidanza. (8,9,10,11,12,13,14)

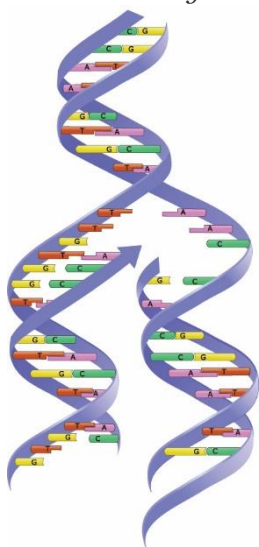
Gli aborti genetici sono, nella maggior parte dei casi, come detto, occasionali. Dipendono cioè da mutazioni o errori incorsi nel processo di formazione di quel

singolo embrione. In un numero inferiore, ma non trascurabile, di casi, invece, uno o entrambi i genitori sono portatori di mutazioni che aumentano significativamente il rischio di aborto anche nella gravidanza successiva.

La domanda alla quale bisognerà quindi rispondere sarà solo questa: ***l'anomalia genetica che ha portato questa gravidanza ad interrompersi, è occasionale, occorsa casualmente in questa gravidanza, o tenderà a ripetersi?***

In altri termini ci si deve domandare se la causa risiede, o meno, in *errori genetici* che, sia in forma dominante, che recessiva, sono presenti nel DNA di uno o di entrambi i genitori.

Per rispondere a queste domande si dovrà esplorare il *DNA della madre, o meglio di entrambi i genitori*, non solo su quelle poche e controverse mutazioni che finora sono state sospettate essere causative di aborto, ma sarà necessario indagare su centinaia di geni e di mutazioni che, in continuazione, la ricerca genetica va individuando come responsabili di una alterazione dell'attecchimento e della corretta embriogenesi. In altri termini di quegli aborti che, oggi, definiamo ancora "*sine causa nota*".

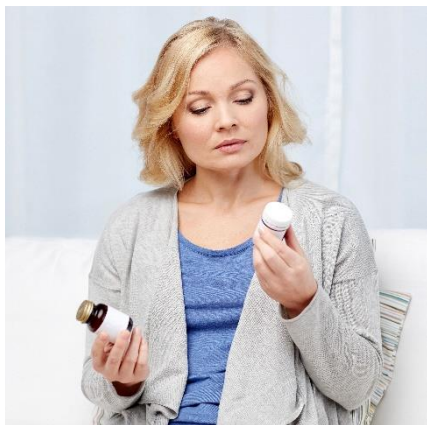


In queste occasioni, purtroppo, il medico non può dare risposta. Anche negli specialisti più attenti traspare dubbio o incertezza. Costoro, pur sentendosi felici o lusingati osservando progredire positivo di una gravidanza, dopo un primo aborto, prescrivendo una terapia, ben sanno che non vi è mai assoluta certezza che sia stato l'intervento medico ad essere efficace. I più attenti ed esperti sono colti sempre dal legittimo dubbio che, in tali casi, la terapia prescritta fosse in realtà del tutto inutile perché il pregresso aborto era dipeso da diverse e ignote cause genetiche, magari occasionali e non si può mai escludere che la gestazione sarebbe comunque

progredita anche senza alcun intervento.

E' infatti esperienza comune che, in moltissime occasioni, le gravidanze si interrompono nonostante si siano somministrate le più diverse e "apparentemente" appropriate terapie (8,9,10,11,12,13,14).

Capita poi di osservare spesso come, le stesse madri che erano state curate senza successo per questa o quella presunta patologia, portino poi avanti eccellenti gestazioni senza alcuna cura. Evidentemente solo perché quella gravidanza era stata concepita all'interno di un corretto progetto genetico.



In effetti ben poco sappiamo e possiamo sull'aborto. Come già detto sopra accade che la stessa paziente porti avanti una successiva gravidanza senza alcuna terapia. Capita poi di incontrare donne portatrici di problematiche che riteniamo essere causa di aborto e che, al contrario, non ne hanno avuto mai nessuno.

Visti quindi i continui insuccessi diagnostici, le frustrazioni e talvolta addirittura l'imbarazzo, che lo specialista prova al cospetto di una coppia che non riesce, malgrado ogni sforzo terapeutico, a portare avanti una gravidanza, sarà necessario ricorrere a questa meticolosa indagine del DNA che potrà analizzare ogni più recondito segreto della genetica della riproduzione, fino a stabilire la causa, ed il rischio di ricorrenza, dell'insuccesso gestazionale.

D'altra parte la realtà è che i soggetti che sono affetti da ***unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA)*** presentano spesso cause diverse e molto più profonde di quelle che riteniamo essere importanti.

La presente ricerca diagnostica prevede un iter estremamente più sofisticato dei comuni test commerciali che valutano solo informazioni iniziali, come la semplice trombofilia ereditaria.

Rimangono fuori solo lo studio delle cause "locali" come l'esame del fondo uterino e della sua vascolarizzazione, la trombofilia secondaria (o autoimmune) e le

gravi patologie generali quali neoplasie, tireotossicosi, infezioni, dismetabolismi severi ecc.

Tabella 1: Cause riconosciute di aborto.

CAUSA	% DI INCIDENZA	RISCHIO DI RICORRENZA
Aborti genetici (cromosomici e genici)	> 85% (per lo più occasionali)	10-15% (check genitori)
Malformazioni uterine	Dall'1 al 5 % a seconda delle casistiche	> 50% (utero setto)
Patologie autoimmunitarie	Dall'1 al 3 % a seconda delle casistiche	Circa 50%
Infezioni in atto	Dal 1 al 5 % a seconda delle casistiche	Occasionale
Gravi patologie materne in atto	Circa 1 % a seconda delle casistiche	Rischio elevato
Traumi / avvelenamenti / radiazioni ecc	Riscontri occasionali	Contingente

Riassumendo, esclusi i comuni aborti genetici occasionali (*selezione naturale*), gli aborti da causa autoimmunitaria (*trombofilia secondaria da autoanticorpi Anticardiolipina o antifosfolipidi*), quelli da malformazione uterina (*utero setto o sub-setto*), e quelli determinati da infezioni in atto (*cmv, rosolia, zika, ecc*), tutti gli altri dipendono da motivazioni genetiche preesistenti, non occasionali. Ovviamente questi ultimi hanno la tendenza a ripetersi.

E' necessario quindi, soprattutto se gli aborti si ripetessero (oltre il 3° si parla di "aborto abituale"), indagare sulla predisposizione genetica mediante un panel completo come previsto dallo studio Bioinformatico del DNA dei genitori.



***NB:** Non tutti i difetti genetici che determinano URSA sono conosciuti. Ogni singola proteina coinvolta nel processo di meiosi, singamia ed impianto potrebbe essere danneggiata dalla mutazione del, o dei, geni che la codificano, e determinare mancata fertilizzazione, mancato impianto, microaborto o aborto perché il suo gene codificante è mutato. Per fortuna questi meccanismi genetici sono molto "robusti" e collaudati nei milioni di anni di evoluzione. Altresì, va detto, che diverse proteine concorrono al medesimo meccanismo pertanto il processo può autocorreggersi.*

Nel test URSA SCREEN vengono esaminate, le alterazioni genetiche che oggi risultano più frequenti e probabili nel determinismo dell'aborto. Queste sono state raccolte, sulla base dei dati della letteratura, e dall'esperienza dei clinici e dei genetisti. Inoltre l'analisi bioinformatica è stata studiata per esaminare l'integrità dei geni che presiedono ai processi biologici della formazione e sviluppo del prodotto del concepimento.

(Claudio Giorlandino)

Con questo, che è il test più approfondito per la Poliabortività “sine causa nota” cioè quando non si riesce a capire perché ciò avvenga, si ricercheranno tutte le alterazioni cromosomiche e genetiche che presentino un significato patogenetico. Queste sono sempre più chiare e numerose a causa del continuo evolversi delle conoscenze ^(1,2,3,4,5,6,7).



*Tali ricerche vengono condotte mediante specifica ed esclusiva
analisi bioinformatica su
Whole Genome Sequencing:*

“Altamedica URSA screen®”
(Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion Screening)

*Si tratta della indagine più accurata, estesa e completa sull'esoma umano, eseguita con la tecnica **Next Generation Sequencing** (NGS). Tale tecnica, eseguita da noi su sequenziatori di ultima generazione (Illumina / Thermo Fischer) va a ricercare, su oltre 5.000 geni, tutte quelle mutazioni che dai più recenti, accreditati ed aggiornati database (OMIM; Human Genetic Mapping Disease; Variant Studio ecc) possono essere responsabili di errori nella meiosi, singamia, impianto e sviluppo dell'ovulo fecondato. Si tratta di una analisi attenta e minuziosa che il genetista esegue sulle informazioni derivantigli dal sequenziamento multiplo di migliaia di geni. Questa analisi è oggi resa possibile, presso il nostro istituto, grazie ad un sofisticato programma bioinformatico dei dati che, se osservati in forma bruta, sarebbero indecifrabili ed ininterpretabili.*

NB:

Il panel dei test genetici di Poliabortività, e l'**analisi bioinformatica** dell'Esoma* mediante NGS, sarà corredato di tutte le informazioni necessarie relative alla comprensione dello stesso ed alla gestione del risultato definitivo. **Una accurata e completa relazione genetica e/o clinica sarà allegata ad analisi ultimata** e potrà essere discussa nell'ambito di una consulenza genetica.

Il Servizio di Genetica Medica di Altamedica-Artemisia sarà sempre disponibile a fornire qualsiasi tipo di delucidazione e colloquio in sede.

* ALTAMEDICA Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion Screening ®

Per informazioni:**ALTAMEDICA ROMA****Viale Liegi 45**

Centralino n. tel. 06 8505

Segreteria Reparto di Genetica medica n. tel. 06 8505841

ALTAMEDICA MILANO**L.go Schuster,1**

Centralino n. tel. 02 86996054

SCHEMA RIASSUNTIVO

Panel di test da predisposizione genetica all'aborto abituale

ALTAMEDICA URSA SCREEN®

Ricerca	Uomo/donna entrambi	Materiale biologico
Cariotipo	Entrambi	Sangue periferico eparinizzato
Cariotipo molecolare	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Aneuploidie spermatiche	Uomo	Liquido seminale 3/5 gg astinenza
Test frammentazione DNA	Uomo	Liquido seminale 3/5 gg astinenza
Analisi mutazioni gene NALP7	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Analisi SYCP3	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Analisi del gene HLA-G	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene WNT6	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene CEP250	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene CGB	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene NLRP10	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene PROKR1	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene FOXP3	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Mutazioni del gene OSBPL5	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Analisi gene HLA-E	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Analisi MTHFR, fattore 5 e 2 di Leiden ed altri geni trombofilici	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
Analisi bioinformatica completa dell'Esoma mediante NGS per la ricerca di mutazioni specifiche	Donna	Sangue in EDTA o tampone buccale
<i>Tutte le informazioni verranno analizzate mediante specifico ed esclusivo programma bioinformatico: Altamedica URSA SCREEN™</i>		

Richiami bibliografici

1. Recurrent Pregnancy loss, causes, controversies and treatment. ed By Taylor and Francis Group 2015
2. Array comparative genomic hybridization in patients with congenital diaphragmatic hernia: mapping of four CDH-critical regions and sequencing of candidate genes at 15q26.1-15q26.2. Slavotinek AM, Moshrefi A, Davis R, Leeth E, Schaeffer GB, Burchard GE, Shaw GM, James B, Patack L, Pennacchio LA. *Eur J Hum Genet.* 2006 Sep;14(9):999-1008.
3. Comparison of cytogenetics and molecular karyotyping for chromosome testing of miscarriage specimens. Shah MS, et al. *Fertil Steril.* 2017.
4. Informatics enhanced SNP microarray analysis of 30 miscarriage samples compared to routine cytogenetics. Lathi RB, et al. *PLoS One.* 2012. Authors Lathi RB1, Massie JA, Loring M, Demko ZP, Johnson D, Sigurjonsson S, Gemelos G, Rabinowitz M.
5. Diagnostic utility of microarray testing in pregnancy loss. Rosenfeld JA, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015. Authors Rosenfeld JA1,2, Tucker ME3, Escobar LF3, Neill NJ1,2, Torchia BS1, McDaniel LD1, Schultz RA1, Chong K4, Chitayat D4.
6. Traditional karyotyping vs copy number variation sequencing for detection of chromosomal abnormalities associated with spontaneous miscarriage. Liu S, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015. Authors Liu S1, Song L1, Cram DS2, Xiong L1, Wang K1, Wu R1, Liu J3, Deng K1, Jia B1, Zhong M1, Yang F1.
7. Additional information from chromosomal microarray analysis (CMA) over conventional karyotyping when diagnosing chromosomal abnormalities in miscarriage: a systematic review and meta-analysis. Review article Dhillon RK, et al. *BJOG.* 2014. Authors Dhillon RK1, Hillman SC, Morris RK, McMullan D, Williams D, Coomarasamy A, Kilby MD.
8. Meta-analysis of aspirin-heparin therapy for un-explained recurrent miscarriage. Ling T1, Xian-Jiang W2. *Chin Med Sci J.* 2016 Nov 20;31(4):239-246.
9. Aspirin and/or heparin for women with unexplained recurrent miscarriage with or without inherited thrombophilia. de Jong PG1, Kaandorp S, Di Nisio M, Goddijn M, Middeldorp S. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Jul 4;(7):CD004734. doi: 10.1002/14651858.CD004734.pub4.
10. Anticoagulants for the treatment of recurrent pregnancy loss in women without antiphospholipid syndrome. Di Nisio M, Peters L, Middeldorp S. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005 Apr 18;(2):CD004734.
11. Subclinical Hypothyroidism in Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. Maraka S1,2, Ospina NM1,2, O'Keeffe DT1, Espinosa De Ycaza AE1, Gionfriddo MR2,3, Erwin PJ4, Coddington CC 3rd5, Stan MN1, Murad MH2,6, Montori VM1,2. *Thyroid.* 2016 Apr;26(4):580-90.
12. Progesterone for preventing miscarriage. Haas DM1, Ramsey PS. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Oct 31;(10):CD003511.
13. Vitamin supplementation for preventing miscarriage. Balogun OO1, da Silva Lopes K, Ota E, Takemoto Y, Rumbold A, Takegata M, Mori R. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 May 6;(5):CD004073.
14. Bed rest during pregnancy for preventing miscarriage. Aleman A, Althabe F, Belizán J, Bergel E. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005 Apr 18;(2):CD003576



Laboratorio di Genetica Medica

ALTAMEDICA ROMA

Viale Liegi 45 – 00198 Roma

Centralino **068505** Laboratorio **068505841**

www.testpoliabortivita.it – www.altamedica.it

e-mail: genetica.medica@artemisia.it

(Brochure informativa)