

Aus dem Department für Frauengesundheit Tübingen  
Universitäts-Frauenklinik

**Prüfung der Praktikabilität der Erweiterung des cfDNA-  
Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 im Rahmen des  
Ersttrimesterscreenings und dessen mögliche Integration in  
den klinischen Alltag**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Pfaff, Theresa Sophia**

**2021**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. O. Kagan

2. Berichterstatter: Professor Dr. O. Rieß

Tag der Disputation: 18.10.2021

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	i
Einleitung.....	1
1.1 Betreuung während der Schwangerschaft.....	1
1.2 Chromosomenstörungen .....	3
1.2.1 Der menschliche Chromosomensatz .....	3
1.2.2 Numerische und strukturelle Chromosomenstörungen .....	4
1.2.3 Trisomie 21.....	5
1.2.4 Trisomie 18 und Trisomie 13 .....	6
1.2.5 Turner-Syndrom .....	6
1.2.6 Mikrodeletion 22q11.2 .....	7
1.3 Testgüte von Screening-Untersuchungen.....	10
1.4 Nicht-invasive Screening-Untersuchungen auf Chromosomenstörungen .....	11
1.4.1 Mütterliches Alter als Risikofaktor .....	12
1.4.2 Das kombinierte Ersttrimesterscreening .....	12
1.5 Nicht-invasiver pränataler Test (cfDNA-Test) .....	14
1.6 Screening-Methoden im Vergleich .....	18
1.7 Invasive Untersuchungsmethoden.....	19
1.8 Aktuelle Detektionsmöglichkeiten der Mikrodeletion 22q11.2.....	20
1.9 Fragestellung der Arbeit.....	20
Material und Methoden.....	22
2.1 Studiendesign .....	22
2.1.1 Patientenkollektiv und Rekrutierung.....	22
2.1.2 Rekrutierungszeitraum .....	22
2.1.3 Einschlusskriterien .....	22
2.1.4 Ausschlusskriterien .....	23
2.2 Studienaufbau.....	23
2.2.1 Vor der Ultraschalluntersuchung.....	23
2.2.2 Ultraschalluntersuchung .....	25
2.2.3 cfDNA-Probe.....	25
2.2.4 Einschätzung der Zufriedenheit.....	26

2.2.5. Einschätzung des Aufklärungsbedarfs während des Ersttrimesterscreenings .....	29
2.2.6 Überprüfung der Testergebnisse via Outcome .....	29
2.2.7 Testversager.....	30
2.2.8 Management auffälliger Ergebnisse .....	30
2.3 Statistische Analyse .....	31
Ergebnisse.....	32
3.1 Patientenkollektiv.....	32
3.1.1 Einteilung der Gruppen .....	33
3.2 Ergebnisse des cfDNA-Tests: die fetale Fraktion.....	37
3.3 Trisomie 21, 18 und 13 .....	48
3.4 Testversager .....	54
3.5 Fälle mit falsch-positivem Ergebnis.....	55
3.6 Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2.....	58
3.7 Zufriedenheit der Patienten.....	64
3.7.1 Einschätzung der Untersuchung .....	68
3.7.2 Weiterempfehlung der Untersuchung .....	70
3.7.3 Weiterempfehlung des cfDNA-Tests .....	71
3.8 Aufklärungsbedarf der Patienten im Rahmen des Ersttrimesterscreenings .....	74
Diskussion.....	83
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse .....	83
4.2 Vergleich des cfDNA-Tests inklusive Mikrodeletion 22q11.2 mit den herkömmlichen cfDNA-Tests .....	83
4.3 Studienvergleich.....	84
4.4 Gründe für falsch-positive Ergebnisse.....	86
4.5 Gründe für Testversager.....	87
4.6 Vorteile des Screenings auf Mikrodeletion 22q11.2.....	88
4.7 Wissensstand der Bevölkerung und Wunsch nach Aufklärung .....	90
4.8 Akzeptanz des cfDNA-Tests von Seiten der Patienten.....	93
4.9 Eingliederung des erweiterten cfDNA-Tests in das Ersttrimesterscreening.....	94
4.10 Schwächen und Stärken der Studie .....	95
4.11 Schlussfolgerung und Ausblick.....	96
Zusammenfassung .....	98
Literaturverzeichnis .....	CI

Abbildungsverzeichnis.....	CVI
Tabellenverzeichnis .....	CVIII
Erklärung zum Eigenanteil .....	CIX
Danksagung .....	CX
Liste der Veröffentlichungen.....	CXI

## Abkürzungsverzeichnis

AFP	Alpha-Fetoprotein
Ass.	Assistierte/-er/-es
BE	Blutentnahme
β-HCG	Beta-humanes Choriongonadotropin
BPD	Biparietaler Durchmesser
BS	Blasensprung
cfDNA	Cellfree fetal DNA/ zellfreie fetale DNA
CMV	Cytomegalievirus
CVS	Chorionic villous sampling/ Chorionzottenbiopsie
DANSR	Digital analysis of selected regions
DR	Detektionsrate
DVF	Ductus venosus-Fluss
ETS	Ersttrimester-Screening
Fet.	Fetal/-er/-es
Fet. Alk	Alkoholsyndrom, fetales
FISH	Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung
FNR	Falsch-Negativ-Rate
FORTE	Fetal fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation
FPR	Falsch-Positiv-Rate
GDM	Gestationsdiabetes mellitus
HF	Herzfehler
IGeL	Individuelle Gesundheitsleistung

IUGR	Intrauterine growth retardation/ Intrauteriner Kleinwuchs
LCR	Low copy repeats
Mb	Megabasen
MD 22q11.2	Mikrodeletion 22q11.2
MoM	Multiple of median
NB	Nasenbeinlänge
NSB	Nabelschnurblut
NIPT	Non-invasive prenatal testing/ Nicht invasiver pränataler Test
NPW	Negativer prädikativer Wert
NT	Nackentransparenz
PAPP-A	Pregnancy-associated plasma protein A
Parvo	Parvovirus B19
PCR	Polymerase chain reaction/ Polymerase-Kettenreaktion
PPW	Positiver prädikativer Wert
Präek	Präeklampsie
SB	Spina bifida
SNP	Single nucleotide polymorphism
SSL	Schädel-Steiß-Länge
SSW	Schwangerschaftswoche
TF	Trikuspidalklappenfluss
Toxo	Toxoplasmose
T21	Trisomie 21
T18	Trisomie 18

T13	Trisomie 13
VSD	Ventrikelseptumdefekt

# Einleitung

## 1.1 Betreuung während der Schwangerschaft

Ein gutes Betreuungskonzept ist von großer Bedeutung, um für das größtmögliche Wohl für Mutter und Kind während der Schwangerschaft zu sorgen. Dieses wird in Deutschland in Form der „*Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung*“ (Mutterschafts-Richtlinien) seit dem 10. Dezember 1985 festgehalten (1). Das vorrangige Ziel der Mutterschafts-Richtlinien ist die frühe Detektion von Risikoschwangerschaften und schwierigen Geburten durch engmaschige Betreuung und regelmäßige Untersuchungen der Schwangeren. Zur Betreuung gehören ausführliche Beratungen zu schwangerschaftsrelevanten Themen, diverse Untersuchungen jeglicher Art sowie eine besondere gynäkologische Betreuung von Risikoschwangerschaften durch weiterführende Diagnostik (1). Die Untersuchungen während der Schwangerschaft werden in regelmäßigen Abständen durchgeführt, anfangs alle vier Wochen, ab der 32. Schwangerschaftswoche (SSW) alle zwei Wochen und ab der 36. SSW wöchentlich. Außerdem finden drei große Ultraschalluntersuchungen (Screenings) statt. Das erste Screening findet zwischen der 8.-12 SSW statt, das Zweite zwischen der 18.-22. SSW und das dritte Screening zwischen der 28.-32 SSW.

Die erste Routineuntersuchung beim niedergelassenen Frauenarzt nach Feststellung der Schwangerschaft umfasst eine ausführliche Anamnese sowie eine Beratung über Ernährung, Risikofaktoren während der Schwangerschaft und eine gynäkologische Untersuchung. Außerdem werden serologische Bluttests und Urinproben auf Infektionen, wie zum Beispiel Lues, Hepatitis B und Chlamydien sowie ein Antikörper-Suchtest auf Rhesusunverträglichkeiten zwischen Mutter und Kind durchgeführt. Bei Verdacht auf Toxoplasmose (Toxo) kann eine serologische Untersuchung auf diese Infektion angeboten werden. Zudem wird über die Risiken einer HIV-Infektion und der Empfehlung einer Impfung gegen Influenza im zweiten Trimenon aufgeklärt. Nicht nur zur ersten, sondern auch zu jeder darauffolgenden Routineuntersuchung gehört die Messung biophysikalischer Parameter wie Blutdruck, Gewicht und eine Untersuchung des Mittelstrahlurins auf Eiweiß und Zucker. Auch der Fundusstand, kindliche

Herzaktionen und die Kindslage werden regelmäßig überprüft. Alle Ergebnisse werden im Mutterpass niedergeschrieben. Die regelmäßige Erfassung der obig aufgelisteten Parameter kann von Hebammen durchgeführt werden. Die Ultraschallscreenings dagegen sind obligatorisch durch einen qualifizierten Arzt vorzunehmen. In den Mutterschafts-Richtlinien ist genau definiert, welche diagnostischen Maßnahmen während welchem Screening vorgesehen sind. Während des ersten Screenings steht die Überprüfung einer intakten intrauterinen Gravidität im Vordergrund. Wird eine Mehrlingsschwangerschaft festgestellt, muss dokumentiert werden, ob es sich um eine mono- oder dichoriale Mehrlingsschwangerschaft handelt. Erste biometrische Daten werden ausgemessen. Dazu gehören die Schädel-Steiß-Länge (SSL) und der biparietale Durchmesser (BPD).

Im zweiten Screening liegt der Fokus auf der Vermessung biometrischer Daten in Hinblick auf die Entwicklung des Fetus. Hierzu werden erneut der BPD sowie der fronto-okzipitale Durchmesser, der Abdomen-Thorax-Querdurchmesser und die Femurlänge erfasst. Des Weiteren werden die Fruchtwassermenge, körperliche Entwicklung, Plazentalokalisation und -struktur als Anhaltspunkte für Entwicklungsstörungen kontrolliert (1). Eine noch detailliertere sonographische Untersuchung der Organe des Fetus wird als Zusatzuntersuchung von speziell qualifizierten Pränataldiagnostikern angeboten (1). Beurteilt werden hierbei Auffälligkeiten des Kopfes (Ventrikel, Kopfform, Kleinhirn), des Halses und des Rückens (dorsale Hautkontur), des Thorax (Herz-Thorax-Relation, linksseitige Herzposition, persistierende Arrhythmie, Darstellbarkeit des Vier-Kammer-Blicks) und des Rumpfes (Konturen der vorderen Bauchwand, Darstellbarkeit und Lokalisation des Magens und der Harnblase).

Zum dritten und letzten großen Screening gehört die wiederholte Messung der biometrischen Daten sowie die Beurteilung der Kindslage und der fetalen Herzaktion.

Werden bei einer der Ultraschalluntersuchungen Auffälligkeiten detektiert, die auf Chromosomenstörungen oder syndromale Erkrankungen hindeuten, so gibt es nach erneuter sonographischer Kontrolle weiterführende diagnostische Maßnahmen. Dazu gehören je nach Indikation und Gestationswoche die Amniozentese (AC) und die Chorionzottenbiopsie (CVS).

Gehäuft kommen diese Untersuchungen bei Risikoschwangerschaften zum Einsatz. Laut Definition der Mutterschafts-Richtlinien besteht eine Risikoschwangerschaft, wenn *„aufgrund der Vorgeschichte oder erhobener Befunde mit einem erhöhten Risiko für Leben und Gesundheit von Mutter oder Kind zu rechnen ist“* (1). Faktoren, die eine Schwangerschaft in Deutschland zu einer Risikoschwangerschaft machen, sind unter anderem Vorerkrankungen der Schwangeren und familiäre Belastungen, das Alter der Frau (unter 18 Jahren und über 35 Jahren), Infektionen sowie Komplikationen in vorangegangenen Schwangerschaften und Auffälligkeiten bei erhobenen Befunden der aktuellen Schwangerschaft (1, 2).

Die Mutterschaftsrichtlinien sehen kein Screening auf Chromosomenstörungen wie Trisomie 21, 18 und 13 vor. Dennoch werden von vielen Schwangeren Screening-Untersuchungen in Form von individuellen Gesundheitsleistungen (IGeL) in Anspruch genommen, die das persönliche Risiko einer Chromosomenstörung ermitteln sollen. Dazu gehört allen voran das kombinierte Ersttrimester-Screening (ETS). Daneben wird die zellfreie DNA-Analyse (cfDNA-Analyse) zunehmend in Anspruch genommen, die das Risiko für die entsprechenden Trisomien mit höherer Sicherheit ermitteln kann. Zudem kann das Analysespektrum auf andere Chromosomenstörungen erweitert werden. Dazu gehört unter anderem die Mikrodeletion 22q11.2. Im Folgenden werden die genannten Chromosomenstörungen vorgestellt.

## 1.2 Chromosomenstörungen

### 1.2.1 Der menschliche Chromosomensatz

Die menschliche Erbinformation ist auf Genen in der DNA gespeichert. Die DNA liegt im Verbund mit Proteinen in Form von Chromosomen im Zellkern jeder Zelle vor (3). Der Mensch besitzt einen diploiden Chromosomensatz von  $2n=46$ . Das bedeutet, dass 22 verschiedene Autosomen vorliegen, die jeweils doppelt vorhanden sind, und 2 Gonosomen, welche das Geschlecht des Individuums bestimmen. Liegen hier zwei X-Chromosomen vor, so ist das Individuum weiblich (XX). Liegen ein X- und ein Y-Chromosom vor, so ist es männlich (XY). Werden die 46 Chromosomen nach Größe, Lage des Zentromers (Zentrum eines Chromosoms) und Bänderungsmuster geordnet,

so spricht man vom Karyotyp. Der Karyotyp wird im Karyogramm dargestellt. Das Karyogramm zeigt die diploid vorliegenden Chromosomen nach Nummern sortiert. Es bietet eine gute Übersicht über den vorliegenden Chromosomenstatus. Im gesunden Individuum ist der weibliche Karyotyp 46XX und der männliche Karyotyp 46XY. Jede Abweichung in der Anzahl oder der Struktur der Chromosomen gegenüber dem Normsatz birgt die Gefahr der Entwicklungsstörung auf geistiger und körperlicher Ebene.

### **1.2.2 Numerische und strukturelle Chromosomenstörungen**

Während Zellteilungen kann es zu Störungen der Chromosomenverteilung (numerische Chromosomenaberration) oder deren Struktur (strukturelle Chromosomenaberration) kommen.

Bei einer numerischen Chromosomenaberration ist die Anzahl bestimmter Chromosomen oder des gesamten Chromosomensatzes durch eine fehlerhafte Verteilung verändert (3). Durch fehlerhafte Trennung von Chromosomen während der Mitose, der Zellteilung der eukaryontischen Körperzellen, oder der Meiose, der Zellteilung der Keimzellen, kommt es entweder zu einem einzelnen Chromosom (Monosomie) oder zu mehr als zwei homologen Chromosomen (Trisomie) in der Tochterzelle. Geschieht dies während der Mitose, sind die Auswirkungen auf die Tochterzellen beschränkt. Trennen sich die homologen Chromosomenpaare während der Meiose I nicht oder haften die Schwesterchromatide in der Meiose II aneinander, so kommt es zu chromosomalen Aberrationen in allen Körperzellen. Die Fehlverteilung von Autosomen beeinträchtigen das Individuum in Hinblick auf die körperliche und geistige Entwicklung stark. Anders als bei autosomalen Monosomien, die im Normalfall zum Abort während der Schwangerschaft führen, sind Träger von Trisomien durchaus überlebensfähig. Gonosomale Monosomien hingegen, wie zum Beispiel das Turner-Syndrom, bei dem das betroffene Mädchen lediglich ein X-Chromosom besitzt, können überlebensfähig sein. Die häufigsten Trisomie-Formen, welche potenziell lebensfähig sind, sind die Trisomie 21 (Down-Syndrom, z.B. 47XX+21), 18 (Edwards-Syndrom, z.B. 47XX+18) und 13 (Patau-Syndrom, z.B. 47XX+13). Ist der gesamte Chromosomensatz von einer numerischen Chromosomenaberration betroffen, so wird von Triploidie gesprochen (3).

Die strukturelle Chromosomenaberration zeichnet sich durch eine Veränderung im Aufbau eines Chromosoms selbst (intrachromosomal) in Form von Deletion, Duplikation oder Translokation an chromosomalem Material zwischen zwei unterschiedlichen Chromosomen (interchromosomal) aus. Kommt es zu einer unbalancierten Aberration, so wird das Individuum phänotypisch auffällig. Die häufigste submikroskopische Deletion mit auffälligen Entwicklungsstörungen ist die Mikrodeletion 22q11.2 mit einer Inzidenz von 1:1000 Feten (4). Diese strukturelle Chromosomenaberration wird im Folgenden genauer vorgestellt, da die Erweiterung des Screeningtests, welche in unserer Studie auf ihre Praktikabilität geprüft wird, auf die Erkennung dieser Chromosomenstörung abzielt.

### 1.2.3 Trisomie 21

Die Trisomie 21 (Down-Syndrom, T21) ist die häufigste Chromosomenaberration bei Neugeborenen und gleichzeitig die häufigste Ursache für geistige Retardierung (5, 6). Die Inzidenz liegt bei 1:700-600 und korreliert mit dem Alter der Mutter. Je älter die Mutter, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer Trisomie 21 beim Ungeborenen. Ist die Mutter unter 30 Jahre alt, so liegt die Inzidenz bei 1:1000, während sie zehn Jahre später schon 1:85 beträgt (6). Dem Down-Syndrom liegt eine numerische Chromosomenaberration zugrunde, bei der das 21. Chromosom in dreifacher statt zweifacher Ausführung vorliegt. Der Karyotyp ist zum Beispiel 47XX+21. Die häufigste Form der Trisomie ist die freie Trisomie mit 95,0% aller Fälle (3, 5, 6). Hierbei kommt es während der Meiose zu fehlerhaften Chromosomentrennungen. Da hier eine Mutation in der Keimbahn stattfindet, sind später alle Körperzellen des Individuums von der Aberration betroffen. Dieser Umstand bedingt ein erhöhtes Risiko der pränatalen Mortalität, sowie eine verkürzte postnatale Lebenserwartung des betroffenen Kindes (5, 6). Ist die Aberration bei einer somatischen Zellteilung entstanden, kommt es zu einem Mosaik. Das bedeutet, dass nicht alle Körperzellen 47 Chromosomen haben. Der Phänotyp bei einer Mosaikmutation ist potenziell geringer ausgeprägt als bei Keimbahnmutationen, abhängig von der Anzahl der betroffenen Zellen im Organismus. Außerdem kann es zu intra- und interchromosomalen Translokationen kommen. Sie können entweder familiär bedingt sein, wenn bei einem Elternteil bereits eine balancierte Translokation vorhanden ist (familiäre Translokationstrisomie), oder de novo entstehen. Klinisch führen die dreifach

vorkommenden Chromosomen 21 zu typischen Merkmale wie Kleinwuchs, Makroglossie, Epikanthus, schräge Lidachse, Kurzschädel mit breitem Nacken und Anomalien der Ohrmuschel (7). Geistige Retardierung verschiedener Schweregrade kann häufig festgestellt werden (7). Außerdem kommen angeborene Herzfehler sehr häufig vor. Typisch sind ein Atrio-Ventrikular-Kanal und die Fallot-Tetralogie (3). Sie sind zusammen mit einer erhöhten Nackentransparenz (NT) die stärksten visuellen Faktoren im Rahmen der Detektion von Auffälligkeiten während der Ultraschallscreenings in der Schwangerschaft. Je früher eine Trisomie 21 erkannt wird, desto besser können weitere Schritte in Bezug auf Diagnose und postnatale Behandlung geplant werden.

#### **1.2.4 Trisomie 18 und Trisomie 13**

Die Entstehung der Trisomie 18 (Edwards-Syndrom) und der Trisomie 13 (Patau-Syndrom) funktioniert nach dem gleichen Prinzip wie die Zytogenese der Trisomie 21. Allerdings sind die Inzidenzen anders verteilt. Die Trisomie 18 (T18) kommt in 1:2500 und die Trisomie 13 (T13) in 1:6000 Schwangerschaften vor. Auch die Überlebenschancen postnatal sind wesentlich geringer. Gleichzeitig ist die Abort- und Totgeburtenrate hoch. Werden die Inzidenzen der Lebendgeburten angeschaut, so liegen diese für die T18 bei 1:5000 und für die T13 bei 1:15.000-20.000 (6).

#### **1.2.5 Turner-Syndrom**

Bei dem Turner-Syndrom handelt es sich um eine gonosomale Monosomie. Die betroffenen Mädchen haben durch eine fehlerhafte Meiose lediglich ein X-Chromosom vorzuweisen. Außer einigen Symptomen wie Wachstumsretardierung, Flügelfell und eventueller Sterilität haben die Mädchen mit diesem Syndrom in der Regel keine weiteren schwerwiegende Fehlbildungen (5, 6). Das Turner-Syndrom ist die häufigste Störung der Sexualchromosomen im weiblichen Karyotyp. Die Inzidenz von 1:2500 Lebendgeburten entspricht jedoch lediglich 1,0% der insgesamt betroffenen Feten mit dieser gonosomalen Monosomie (8, 9). Die meisten Feten mit Turner-Syndrom versterben im Mutterleib. Insgesamt macht diese gonosomale Monosomie circa 15,0% aller Spontanaborte aus (10). Das Turner-Syndrom lässt sich am besten durch eine sonographische Untersuchung feststellt (8). Verifiziert wird diese Aberrationsdetektion durch invasive Diagnostik und genetische Untersuchung des gewonnenen Materials.

### 1.2.6 Mikrodeletion 22q11.2

Bei der Mikrodeletion 22q11.2 handelt es sich um eine strukturelle Chromosomenaberration, bei der Chromosomensegmente verloren gehen. Da diese Deletion mikroskopisch nicht sichtbar ist, wird von einer Mikrodeletion gesprochen (5). Dem Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 (DiGeorge-Syndrom, Velokardiofaziales Syndrom, Shprintzen-Syndrom(11), MD 22q11.2) liegt eine Deletion auf dem langen Arm des Chromosoms 22 zugrunde. Die Region 11.2 auf diesem Arm wird geprägt durch sequenzielle homologe Segmentduplikationen, auch *low copy repeats* (LCR) genannt. Diese LCRs prädestinieren diesen Bereich für Mikrodeletionen während der Duplikation (12). Die ausschlaggebenden LCRs sind LCR22A bis LCR22H, wobei die ersten vier (LCR-A→LCR-D) für die meisten Fälle einer Mikrodeletion 22q11.2 verantwortlich sind. Generell kann die Region mit den entscheidenden LCRs in eine proximale, zentrale und distale Deletion aufgeteilt werden (12). Über 90% der betroffenen Patienten weisen eine proximale Deletion auf (LCR22A-D, A-C, A-B). 5% haben eine zentrale Deletion, welche die LCR-Region B-D umfasst. Die distale Deletion der LCRs D-H kommt seltener vor (13, 14). In Abb.1. ist eine schematische Darstellung der Struktur der ausschlaggebenden Region des Mikrodeletionsyndroms 22q11.2 dargestellt. Die weißen Balken stehen für die proximale Deletion, die grauen Balken für die zentrale Deletion. Da die distale Deletion sehr selten auftritt, ist sie in diesem Schaubild nicht abgebildet. Die Prozentangabe gibt den Anteil der Patienten mit Mikrodeletion 22q11.2 der jeweiligen Deletion an. Der schwarze Balken zeigt die Abdeckung des Mikroarrays nach DANSR-Technik. Die Positionen der FISH-Proben (D22S75 und RP11-801O20) sind ebenfalls vermerkt. Erschienen ist das Schaubild erstmals in der Publikation der Teilergebnisse dieser Arbeit in *Fetal Diagnosis and Therapy*® am 02.09.20 (15).

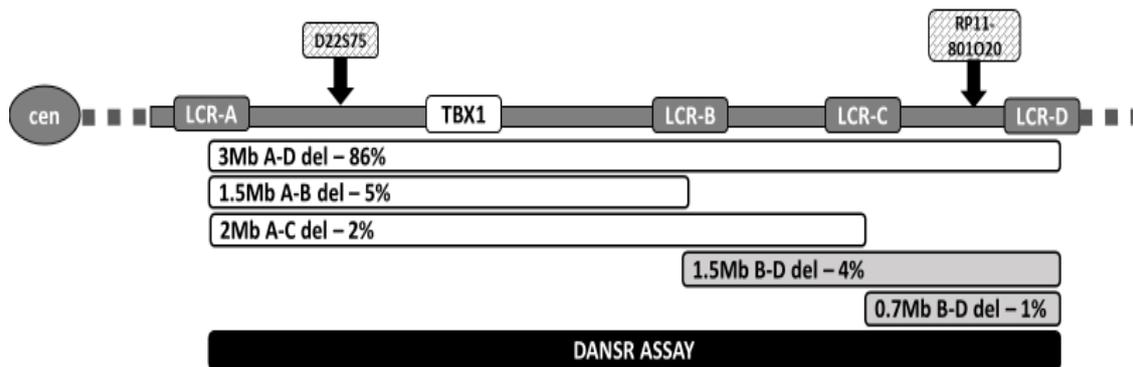


Abb. 1. Darstellung der ausschlaggebenden Region der DNA bei Mikrodeletion 22q11.2 (15)

Die Region 22q11.2 umfasst alles in allem 25-46 Gene, welche im Falle der Absence für die Ausprägung der typischen Symptome verantwortlich sind (6, 16). Bekannt sind circa 200 phänotypische Ausprägungen der Mikrodeletion. Zu den häufigsten Symptomen zählen Herzfehler (HF), Hypoparathyroidismus mit Hypokalzämie, charakteristische Gesichtszüge, T-Zell-Immundefekte, Nierenfehlbildungen, Gaumenspalten, sowie Entwicklungsverzögerung und muskuläre Hypotonien (11, 17-20). In Tab.1. sind die häufigsten Ausprägungen in Hinblick auf das prozentuale Vorkommen aufgelistet (6, 16). Über 90% der Aberrationen entstehen de novo (6, 16, 21). Bei den restlichen Deletionen handelt es sich um vererbte strukturelle Chromosomenstörungen. Der Erbgang ist autosomal-dominant, die Ausprägung allerdings so unterschiedlich, dass bei ebenfalls betroffenen Familienangehörigen z.B. ein isolierter Herzfehler oder lediglich eine Lernschwäche vorliegen kann (6).

Tab. 1. Symptome bei Mikrodeletion 22q11.2

Symptom	Klinisches Vorkommen in %
Herzfehler (HF)	75-84
<i>Fallot-Tetralogie</i>	22
<i>Unterbrochener Aortenbogen</i>	15
<i>Ventrikelseptumdefekt (VSD)</i>	15
Hypoparathyroidismus mit Hypokalzämie	60
Nierenfehlbildung	25
Gaumenspalten	11
Wachstumsretardierung	40
Muskuläre Hypotonie	70-80

Die Mikrodeletion 22q11.2 ist das häufigste Syndrom der Mikrodeletionen mit einer Inzidenz von 1:1000 (4, 12, 16, 21-24) und der zweithäufigste Grund für kongenitale Herzfehler und mentale Retardierung nach dem Down-Syndrom (15, 21, 25). Laut *McDonald-McGinn* (2018) ist die Fallot-Tetralogie sogar häufiger beim Mikrodeletionssyndrom zu finden als bei einer Trisomie 21 (21).

Die Diagnose erfolgt durch Gendiagnostik mittels DNA-Mikroarray-Analyse, welche momentan den Goldstandard darstellt (12), oder FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung). Diese beiden Verfahren arbeiten mit genetischem Material, welches durch invasive Diagnostik gewonnen wird. Daneben gibt es verschiedene nicht-invasive Methoden, um eine Mikrodeletion 22q11.2 zu detektieren. Diese unterschiedlichen Laborverfahren werden in den folgenden Kapiteln näher erläutert.

Bei allen Neugeborenen mit einer Mikrodeletion 22q11.2 sollte das Serumkalzium postnatal überprüft werden, da 60% der Betroffenen unter Hypoparathyroidismus mit einhergehender Hypokalzämie leiden. Diese sollte, ebenso wie vorliegende Herzfehler, so schnell wie möglich erkannt werden, um lebensgefährlichen Risikosituationen vorzubeugen. Da Individuen mit einer Mikrodeletion 22q11.2 auch ein erhöhtes postoperatives Risiko haben, ist es sinnvoll, schon im Vorhinein zu wissen, mit welcher Ausgangssituation postnatal zu rechnen ist, indem man bereits während der Gestation

das Vorliegen eines Mikrodeletionssyndroms mittels zukünftiger Screening-Untersuchungen überprüft. Hierbei ist es wichtig, dass die angewandten Untersuchungen eine ausreichende Testgüte besitzen. Erläuterungen hierzu folgen im nächsten Kapitel.

### 1.3 Testgüte von Screening-Untersuchungen

Die Testgüte von Screening-Untersuchungen wird anhand von verschiedenen statistischen Parametern festgelegt. Nur wenn bestimmte Parameter erfüllt werden, ist ein statistischer Test valide und zum Vergleich mit anderen Tests geeignet.

Ein perfekter Test hätte eine Sensitivität und eine Spezifität von je 100%. Die Sensitivität, auch Detektionsrate (DR) genannt, gibt die Wahrscheinlichkeit  $p$  an, wie viele wirklich erkrankte Personen (a) auch als solche erkannt werden und keinem falsch negativem Testergebnis (c) unterliegen.

$$p(a/a+c) = \text{Sensitivität} = \text{DR}$$

Die Spezifität beschreibt die Wahrscheinlichkeit  $p$ , dass einer gesunden Person (b+d) auch tatsächlich ein richtig unauffälliges (negatives) Testergebnis (d) zuzuordnen ist.

$$p(d/b+d) = \text{Spezifität}$$

Die Falsch-Positiv-Rate (FPR) beschreibt das Phänomen, dass gesunde Patienten ein falsch-positives Testergebnis (b) bekommen und somit als vermeintlich krank gelten, obwohl sie eigentlich gesund sind. Die Spezifität kann deshalb auch durch  $1 - \text{FPR} = \text{Spezifität}$  errechnet werden. Ein falsch-positives Ergebnis eines pränatalen Screeningtests hat mitunter fatale Folgen, da hier ein gesunder Fetus weiteren invasiven Untersuchungen zur Diagnosesicherung und somit dem Risiko eines Abortes ausgesetzt wird. In medizinischen Tests sollte die FPR die 5,0% nicht übersteigen. Eine tabellarische Zusammenfassung der Interpretation von Testergebnissen ist in Tab.2. dargestellt.

Da es in der Medizin keinen perfekten Test gibt, hat ein auffälliger Test nie eine Wahrscheinlichkeit von 100,0%, auch wirklich positiv zu sein. Genauso wenig ist ein unauffälliger Test nie zu 100,0% negativ. Die Testergebnisse haben deshalb jeweils einen positiven oder negativen Prädikationswert.

Ein prädikativer Wert ist eine bedingte Wahrscheinlichkeit, die die FPR oder Falsch-Negativ-Rate (FNR) mitbetrachtet. Der positiv prädikative Wert (PPW) gibt die Wahrscheinlichkeit  $p$  an, tatsächlich erkrankt (a) zu sein, wenn es zu einem auffälligen Testergebnis (a+b) kommt.

$$p(a/a+b) = \text{PPW}$$

Der negative prädikative Wert (NPW) zeigt die Wahrscheinlichkeit  $p$  auf, wie viele gesunde Personen (d) ein unauffälliges Testergebnis (c+d) bekommen.

$$p(d/c+d) = \text{NPW}$$

Die Prädikativwerte verändern sich, je nach Prävalenz der gesuchten Krankheit in der zu testenden Gruppe. Ist die Prävalenz einer gescreenten Erkrankung niedrig, so kann auch der PPW erniedrigt sein, während Sensitivität und Spezifität trotzdem sehr gute Werte aufweisen (26).

Tab. 2. Interpretation von Testergebnissen

Testergebnis	Krank	Nicht krank
Auffällig (a+b)	Richtig positiv (a)	Falsch positiv (b)
Unauffällig (c+d)	Falsch negativ (c)	Richtig negativ (d)
	Alle Erkrankten (a+c)	Alle Gesunden (b+d)

## 1.4 Nicht-invasive Screening-Untersuchungen auf Chromosomenstörungen

In den vergangenen Jahren haben sich die nicht-invasiven Untersuchungsmethoden in der Pränataldiagnostik erheblich geändert. Noch in den 1990er Jahren diente lediglich das mütterliche Alter als Hauptrisikofaktor für eine Chromosomenstörung während der Schwangerschaft. Die Screening-Methode basierend auf dem mütterlichen Alter detektierte nur 50,0% der Trisomie 21-Fällen und etwa 10,0% der Trisomien 18 und 13. In den darauffolgenden Jahren wurde das kombinierte Ersttrimester-Screening (ETS) eingeführt und gilt bis heute noch als Goldstandard in der pränatalen Untersuchung auf Chromosomenstörungen (27-29). Es basiert auf dem mütterlichen Alter, der fetalen NT im Ultraschall und der biochemischen Analyse der Serummarker  $\beta$ -HCG (beta-human

chorion gonadotropin) und PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) im mütterlichen Blut. Mithilfe des ETS werden circa 90,0-95,0% der Feten mit Trisomie 21 und 95,0% der Trisomien 18 und 13 erkannt (30). Seit 2011 hat sich die Testgüte aufgrund der Einführung der zellfreien fetalen DNA-Analyse (cfDNA-Analyse) aus dem mütterlichen Blutserum nochmals verbessert. Mittels dieser Untersuchungsmethode werden etwa 99,0% der Fälle mit Trisomie 21, circa 93,0% der Trisomie 18- und 84,0% der Trisomie 13-Fälle erkannt, während die FPR gleichzeitig nur bei je 0,05% liegt (6, 30). All diese Untersuchungen sind jedoch nur Screeningverfahren. Soll eine eindeutige Diagnose gestellt werden, wird auf invasive diagnostische Testverfahren zurückgegriffen (29). Dazu zählen die Chorionzottenbiopsie (CVS) und die Fruchtwasserpunktion (Amniozentese, AC) (6).

#### **1.4.1 Mütterliches Alter als Risikofaktor**

Je höher das mütterliche Alter, desto größer ist das Risiko einer Chromosomenaberration beim Fetus (31, 32). Da das Durchschnittsalter der Erstgebärenden in den letzten Jahren angestiegen ist, ist das mütterliche Alter als Risikofaktor durchaus von Relevanz. *Mathews et al.* zeigt in seiner Studie *Mean Age of Mothers is on the Rise: United States, 2000-2014*, dass das Alter der Erstgebärenden um 1,4 Jahre anstieg und zwar von 24,9 um die Jahrtausendwende auf 26,3 Jahre im Jahr 2014 (33). Die prozentuale Anzahl der erstmaligen Mütter über 35 Jahren stieg im Zeitraum von 2000-2014 um 23% an (33). Da eine Schwangere ab 35 Jahren laut Mutterschaftsrichtlinien als Risikoschwangerschaft eingestuft wird, ist hier eine engmaschige Überwachung notwendig (1).

#### **1.4.2 Das kombinierte Ersttrimesterscreening**

Das kombinierte ETS ist aktuell der Goldstandard der pränataldiagnostischen Schwangerenbetreuung in Hinblick auf Chromosomenstörungen. Es dient dazu, diese möglichst frühzeitig zu erkennen und die Betreuung während der Schwangerschaft sowie postnatal anpassen zu können (20, 28, 34). Das kombinierte ETS setzt sich neben dem maternalen Altersrisiko aus einem ausführlichen Ultraschall mit Messung der fetalen (fet.) NT und anderen optionalen Screeningparametern, wie dem Nasenbein (NB), dem Ductus venosus-Fluss (DVF) und dem Trikuspidalklappenfluss (TF) und der Messung der Serumproteinmarkern  $\beta$ -HCG und PAPP-A zusammen. Die DR von allgemeinen

Fehlbildungen im Rahmen des ETS liegt momentan bei circa 50%, wobei diese je nach Erfahrung des untersuchenden Arztes stark variieren kann (35). Die DR von Trisomien mittels kombiniertem ETS ist mit circa 95% deutlich höher (30), ist aber ebenfalls von der Erfahrung des Untersuchers abhängig. Im Folgenden werden die einzelnen Messparameter des kombinierten ETS erläutert.

#### 1.4.2.1 Die Nackentransparenz

Die Messung der Nackentransparenz (NT) dient als sonographischer Marker für strukturelle, chromosomale und syndromale Fehlbildungen (20). Gemessen wird die NT ab der 12. bis zur 14. SSW. Sonographisch dargestellt wird die Flüssigkeitsansammlung zwischen dem Nackengewebe und der Haut des Fetus. Zur Zeit des ersten Trimenons ist dieses Nackenödem bis zu einem Durchschnittswert von circa 2,5 mm physiologisch, da den Fetus ein zu großer Hautmantel umschließt (28). Mit zunehmender SSW und fortgeschrittener Entwicklung der Lymphdrainage verkleinert sich die Flüssigkeitsansammlung und verschwindet zum Ende der Schwangerschaft ganz (6). Dargestellt wird die NT im fetalen Sagittalschnitt. Mit zunehmender NT steigt das Risiko einer Trisomie 21 an (32). *Syngelaki et al.* zeigte 2019, dass die NT von 66,0% aller aneuploiden Feten über der 95. Perzentile liegt, während *Kagan et al.* 2006 schon darstellte, dass die NT der Feten mit Trisomie 21 sogar mit 75,0% über der 95. Perzentile lag (36, 37). In Tab.3. ist die Korrelation der NT mit Trisomie 21 dargestellt (32).

Tab. 3. Korrelation der NT mit T21

NT in mm	Chance auf T21 in %
2,0	<5
Bis 3,4	5
3,5-4,4	30
4,5-5,4	50
>5,5	80

Bleibt die Flüssigkeitsansammlung im Nacken auch während dem zweiten und dritten Schwangerschaftstrimenon bestehen, wird je nach Situation von einem dorsonuchalen Ödem oder einem Hygroma colli gesprochen. Ein Hygroma colli ist zu 75,0% auf eine chromosomale Aberration zurückzuführen und kann ein Hinweis auf das Turner-

Syndrom sein (95,0% der Fälle). Für das dorsonuchale Ödem gibt es einen breiter gefächerten Ursachenkatalog, der allerdings kein Bestandteil dieser Arbeit ist. Mindestens 1/3 der Nackenödeme basieren auf Chromosomenstörungen (32).

#### *1.4.2.2 Weitere Screeningparameter*

Weitere sonographische Parameter, die auf vorliegende chromosomale Fehlbildungen hindeuten, sind unter anderem das Vorhandensein des fet. Nasenbeins (NB), die Schädel-Steiß-Länge (SSL), der Blutfluss im Ductus venosus (DVF) und der Trikuspidalklappenfluss (TF) (32). Werden diese Parameter zusätzlich zum kombinierten ETS erhoben, so erhöht sich die DR auf Chromosomenaberrationen und die FPR wird gesenkt (38-41).

#### *1.4.2.3 Biochemische Parameter*

Die Konzentration verschiedener Serumproteine im Blut der Mutter werden von der fetoplazentaren Einheit während der Schwangerschaft beeinflusst und können bei Abweichungen vom Normalwert Hinweise auf eine fetale Störung geben. Im Rahmen des kombinierten ETS werden die Serumproteinmarker freies  $\beta$ -HCG und PAPP-A bestimmt. Das freie  $\beta$ -HCG ist eine der zwei Untereinheiten des humanen Peptidhormons Choriongonadotropin und wird von der Plazenta gebildet. PAPP-A ist ein zinkbindendes, enzymatisch aktives Protein, welches ebenfalls von der Plazenta gebildet wird. Beide Serumproteine werden in MoM (Multiple of median) angegeben und dienen so der Risikoberechnung einer Aneuploidie. Der Normwert des freien  $\beta$ -HCGs und des PAPP-As ist bei 1,0 MoM. Steigt der Wert des  $\beta$ -HCGs und sinkt der des PAPP-As gleichzeitig, so erhöht sich das Risiko einer Trisomie 21. Das Risiko erhöht sich nochmals, wenn zusätzlich die NT vergrößert ist. Sinkt das freie  $\beta$ -HCG gleichwertig zum PAPP-A bis auf circa 0,3 MoM ab, so ist das ein Hinweis auf eine Trisomie 18 oder 13 (28). Kommt es zu auffälligen Screeningergebnissen, wird der Schwangeren zur Abklärung weiterführende Diagnostik in Form invasiver Eingriffe angeboten.

## **1.5 Nicht-invasiver pränataler Test (cfDNA-Test)**

In den frühen 90er Jahren entstand der Versuch, fet. Zellen im mütterlichen Blut durch eine einfache Blutentnahme zu extrahieren und mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH) zu analysieren (42). Dieses

Verfahren setzte sich nicht durch, da das Verhältnis der Zellen im maternalen Blut lediglich 1:100000 beträgt und sich somit eine genaue Extraktion fetaler Zellen schwierig gestaltet (29). 1997 zeigte *Lo et al.*, dass sich im mütterlichen Plasma stark fragmentierte fet. DNA finden lässt, die eindeutig auf die aktuelle Schwangerschaft zurückzuführen ist, da sie Stunden nach der Entbindung nicht mehr im maternalen Blut vorkommt (43). Durch fortlaufende Forschung in den vergangenen Jahren hat sich das Verfahren der Analyse der fetalen zellfreien DNA (cfDNA) aus dem maternalen Blut soweit fortentwickelt, dass der cfDNA-Test heute das kombinierte ETS als aktuellen Goldstandard in Frage stellt (20). Derzeit wird die Rolle, die der cfDNA-Test bei der Risikobeurteilung in der Schwangerenvorsorge spielen soll, stark diskutiert. Entweder wird der cfDNA-Test in Zukunft als Screening erster Wahl eingesetzt und ersetzt somit das kombinierte ETS oder er dient als Ergänzungs- und zusätzliches Abklärungsscreening nach einem auffälligen kombinierten ETS (20, 28, 29). Der Hauptgrund dieser Diskussion ist die hohe Testgüte des cfDNA-Tests. Mit einer DR von 99% und einer FPR von 0,1-0,05% im Screening für Trisomie 21 ist der cfDNA-Test zuverlässiger als das kombinierte ETS mit einer DR von circa 90% und einer FPR von 3-5% (20, 44-46). In einer prospektiven Studie von *Norton et al.*, die auch als NEXT-Studie bekannt ist, wurde bei circa 16000 Schwangeren sowohl das kombinierte ETS als auch der cfDNA-Test auf Trisomie 21 durchgeführt. Somit wurden die beiden Screeningverfahren direkt verglichen. Die DR des ETS lag bei circa 79%, während der cfDNA-Test 38 von 38 Schwangerschaften mit Trisomie 21 richtig erkannte und somit eine DR von 100% aufwies. Die FPR beim kombinierten ETS lag bei 5,4% und die des cfDNA-Tests bei 0,1% (47).

Die fet. cfDNA ist plazentaren Ursprungs und kommt zu 5-30% im Plasma des mütterlichen Bluts vor (29, 43, 48). Mit zunehmenden Gestationsalter nimmt der Anteil der fet. cfDNA im maternalen Blut stetig ab (29). Um die cfDNA aus dem maternalen Plasma zu filtern, wird die PCR angewendet. 1987 wurde dieses Verfahren erstmalig von *Mullis et al.* vorgestellt (49). Hierbei wird die DNA-Doppelhelix durch Hitze aufgebrochen, sodass zwei Einzelstränge vorliegen. Die Einzelstränge können nun abgelesen und repliziert werden. Abgelesen werden die Basen, welche die Einzelstränge bilden. Insgesamt gibt es vier Basentypen: Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin. Sie liegen stets komplementär zueinander. Aufgrund der molekularen Struktur paart sich

Adenin mit Guanin und Cytosin mit Thymin. Damit der vorliegende Einzelstrang nun kopiert werden kann, wird die DNA-Polymerase benötigt, ein Enzym, welches die Basen ablesen (translatieren) kann und gleichzeitig komplementär zum Originalstrang transkribiert. Als Startmarkierung wird ein Primer benötigt. Dieser setzt sich auf eine spezifische Stelle der zu transkribierenden DNA und dient als Andockstelle für die DNA-Polymerase (50). Zur Kartierung der DNA führt man die chromosomale DNA mit einer Sonden-DNA zusammen. Das Verfahren nennt sich FISH. Der meist mit einem fluoreszierenden Farbstoff markierte DNA-Einzelstrang bindet komplementär an einen chromosomalen denaturierten Einzelstrang. Genspezifische FISH-Sonden können Mikrodeletionen nachweisen, da sie an ganz spezifischen Chromosomenabschnitten hybridisieren. Numerische Chromosomenaberrationen werden meist durch Interphase-FISH identifiziert. Hier lassen sich Chromosomen auch in nicht-mitotischem Stadium darstellen, was Zeit spart. Braucht man aufgrund Anzucht für die klassische Chromosomenanalyse 2-3 Wochen, bis das Ergebnis zu sehen ist, so hat man die Antwort bei Interphase-FISH schon nach circa 24 Stunden, da die Analyse der Zellen sofort möglich ist (6). Dank Hochdurchsatzsequenzierungsgeräten des *Next Generation Sequencings* und des Mikroarrays können Milliarden DNA-Fragmente pro Durchlauf getestet werden (29, 51).

Derzeit gibt es drei verschiedene Laborverfahren, um den cfDNA-Test auszuwerten. Das *genome-wide massively parallel shotgun sequencing* (MPSS) bedient sich der Analyse des gesamten Genoms der Mutter und des Fetus und vergleicht dieses dann miteinander oder mit einem Referenzgenom aus der Datenbank. Die DNA-Bruchstücke werden den Chromosomen zugeordnet. Werden zum Beispiel vermehrt Bruchstücke des 21. Chromosoms gefunden, so deutet dies auf eine fet. Trisomie 21 hin. Mit dieser Analysetechnologie ist es allerdings schwierig, gezielte Regionen von bestimmten Chromosomen zu testen (12). Besser geeignet dafür sind Target-Technologien. Sie zeichnen sich durch selektive Anreicherung und Analyse bestimmter DNA-Fragmente aus. Außerdem können durch die Target-Technologien auch kleinere Genloci analysiert werden. Des Weiteren wird kein Referenzgenom aus einer Datenbank benötigt, da hierfür die Probe selbst dient.

Die SNP-basierte Methode (single nucleotide polymorphism) basiert auf der Auswertung von hochpolymorphen SNP-Markern der betreffenden Chromosomen. SNP-Marker

repräsentieren den genetischen Fingerprint eines jeden Individuums. Sie können gezielt mittels SNP-target-sequencing analysiert werden.

Die dritte angewandte Analysetechnologie ist das DANSR-Verfahren (digital analysis of selected regions). Dieses Verfahren ist nochmals spezifischer, da hier nur ausgewählte Regionen des Genoms sequenziert und analysiert werden. Meist handelt es sich dabei um die Chromosomen 21, 18 und 13, sowie X und Y (52, 53). Es können hierbei nicht nur numerische, sondern auch strukturelle Aberrationen, wie zum Beispiel das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2, detektiert werden. Die DANSR-Methode wurde im Rahmen unserer Studie angewandt.

Ein Problem der Auswertung des cfDNA-Tests kann das Missverhältnis der fetalen plazentaren cfDNA und der DNA-Fragmente der Mutter im maternalen Plasma darstellen. Durch das neue Verfahren der *Next Generation Sequencing* kann die gesamte cfDNA im Blutplasma verwendet werden und durch einen Algorithmus wird der fetale Anteil mit jeweiligem Aberrationsrisiko errechnet. So ist zum Beispiel der Regelanteil des Chromosoms 21 am menschlichen Genom 0,75% und am Karyotyp dementsprechend 1,5%. Liegt eine Trisomie 21 vor, erhöht sich dieser Anteilswert auf 2,25%. Wird nun angenommen, dass 10% der cfDNA im mütterlichen Blut eine Trisomie aufweisen, ergibt sich folgende Rechnung:

$$1,5\% \text{ (Anteil des Chromosoms 21 am maternalen Karyotyp)} \times 0,9 \text{ (90\% maternale DNA)} \\ + 2,25 \text{ (fetaler Anteil des Chromosoms 21 bei Trisomie 21 am fetalen Genom)} \times 0,1 \\ \text{(10\% fetale DNA)} = 1,575\% \text{ (29)}$$

Ein auswertender Algorithmus muss zwischen dem gesunden Wert von 1,5% und dem abweichenden Wert von 1,575% unterscheiden. Diese Bewertung geschieht mittels z-scores. Wird der Schwellenwert, der bei  $z=3,0$  festgelegt ist, überschritten, so liegt erwartungsgemäß eine Trisomie 21 vor. Die DR liegt bei diesem Verfahren bei 99% und die FPR bei 0,1% (29). Oft wird der Algorithmus FORTE (Fetal fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation) verwendet (53).

Der cfDNA-Test findet teilweise heute schon Anwendung in der Schwangerenvorsorge. Momentan wird die Untersuchung der cfDNA als individuelle Gesundheitsleistung (IGeL) angeboten und wird privat abgerechnet. Um in die allgemeine

Schwangerenvorsorge eingeführt zu werden, müsste sich der Kostenaufwand des cfDNA-Tests insofern klären, als dass dieser für die allgemeine Bevölkerung gleichwohl erschwinglich wird.

Ein weiterer Schwachpunkt des cfDNA-Tests ist, dass eine Mindestmenge von 4% fetaler DNA-Fraktion pro Blutprobe notwendig ist, um diesen auswerten zu können. In circa 2% der Fälle kommt es zu keinen auswertbaren Ergebnissen des Tests, unter anderem aufgrund zu geringer fetaler DNA-Fragmenten (20, 28, 29). Auch ist die DR bis jetzt auf wenige Chromosomenstörungen wie Trisomie 21, 18, 13 und Monosomien wie das Turner-Syndrom beschränkt. Zusätzlich kann das Geschlecht des Fetus bestimmt werden. Allerdings wird sich dieses enge Spektrum der zu detektierenden Krankheiten in naher Zukunft erweitern. Schon jetzt ist es möglich, Mikrodeletionen wie das DiGeorge-Syndrom zu identifizieren, wie es auch in dieser Arbeit durchgeführt wurde.

## 1.6 Screening-Methoden im Vergleich

Die nicht-invasiven Screening-Methoden haben sich im Laufe der Jahre stetig weiterentwickelt. Die Testgüte der entwickelten Verfahren wurde ebenfalls fortwährend besser. Würde ausschließlich das maternale Alter als Screening-Methode zum Beispiel auf Trisomie 21 dienen, so wäre die DR bei 50%, die FPR bei 25% und der PPW bei 0,4% (54). Das bedeutet, dass nur die Hälfte der tatsächlich von Trisomie 21 betroffenen Feten entdeckt und gleichzeitig 25% der gesunden Feten als fälschlicherweise krank eingestuft werden würden. Ein Fetus, der als positiv eingestuft wird, wäre also mit einer Wahrscheinlichkeit von  $p=0,4\%$  tatsächlich von einer Trisomie 21 betroffen. Hierbezüglich hat das kombinierte ETS das Schwangeren-Screening auf Trisomie 21 deutlich verbessert. Die DR der Trisomie 21 liegt bei dieser Screening-Methode bei 90-95%, die FPR bei circa 4% und der PPW bei 4,9% (30, 46, 54). Es werden deutlich mehr betroffene Feten richtig gescreent, als wenn man sich nur auf das maternale Alter bezieht. Eine noch höhere Testgüte weist die Screening-Methode mittels cfDNA mit einer DR von 99% und einer FPR von 0,05-0,1% (30, 54). Mit einem PPW von 66,4% übersteigt der cfDNA-Test den PPW des kombinierten ETS circa um das 14-Fache (54). In Tab.4.

sind die DR, die FPR und der PPW der unterschiedlichen Screening-Methoden auf Trisomie 21 im Vergleich dargestellt.

Tab. 4. Testgüte unterschiedlicher Screening-Methoden auf T21(30, 46, 54)

	<b>DR (%)</b>	<b>FPR (%)</b>	<b>PPW (%)</b>
Maternales Alter	50	25	0,4
Kombiniertes ETS	90-95	4	4,9
cfDNA-Analyse	99	0,05-0,1	66,4

## 1.7 Invasive Untersuchungsmethoden

Zum endgültigen Nachweis einer chromosomalen Störung beim Fetus werden invasive Diagnoseverfahren angewendet, um direkt an fetale Zellen zu gelangen, um diese dann gendiagnostisch auszuwerten. Welche Untersuchungsmethode sinnvoll ist, hängt von der Fragestellung, dem Gestationsalter und der Dringlichkeit der Ergebnisse ab. Die Chorionzottenbiopsie (CVS) kann schon ab der 12. SSW durchgeführt werden. Hierbei wird eine Biopsienadel entweder transabdominal oder transzervikal in die Plazenta eingeführt. Entnommen werden circa 15 mg fetales Zottengewebe, welches in einer Kurzzeitkultur von ein bis drei Tagen und einer Langzeitkultur über 14 Tage angezchtet wird. Da es bei der Anzucht von Chorionzottengewebe zu sekundär entstandenen Mosaikbefunden kommen kann, sollte man bei unauffälliger fet. Sonomorphologie die Ergebnisse beider Kulturen abwarten, um ein eindeutiges Ergebnis zu erhalten.

Die Amniozentese (AC) wird ab der Vollendung der 16. SSW empfohlen, da hier die Obliteration der Chorionhöhle und somit die Fusion dieser mit der Amnionhöhle stattfindet. Mit einer dünnen Nadel wird die Amnionhöhle transabdominal punktiert und es werden 15-20 ml Flüssigkeit entnommen. Diese wird erst zentrifugiert und danach ebenfalls angezchtet. Nach zwei Wochen kann eine Chromosomenanalyse durchgeführt werden. Der Vorteil der AC ist, dass ausschließlich fetale Zellen aus dem Fruchtwasser ausgewertet werden, während es bei einer CVS placentare Zellen sind.

Bei jeder invasiv durchgeführten Untersuchung besteht ein Abortrisiko. Lag früher das Risiko des Aborts bei circa 1% für alle invasiven Untersuchungsmethoden, so wird heute davon ausgegangen, dass es viel geringer ist. Das Abortrisiko nach AC liegt laut *Salomon*

*et al.* bei 0,3% (55). Eine aktuellere Studie von *Akolekar et al.* zeigte, dass das Abortrisiko nach AC sogar noch geringer ist und lediglich 0,1% beträgt. Das Risiko eines Fruchtabgangs nach einer CVS liegt bei 0,2% (32, 48, 55-57).

Nichtsdestotrotz sind invasive Untersuchungsmethoden nur bei Schwangerschaften indiziert, die als Hochrisikoschwangerschaften eingestuft werden und bei denen der ausdrückliche Patientenwille vorliegt (32). Es gilt eine gute Aufklärung durchzuführen und Bedenkzeit zu geben, damit sich die Schwangere entscheiden kann, ob sie wissen möchte, ob eine Chromosomenaberration vorliegt oder ob sie von ihrem Recht auf Nichtwissen Gebrauch machen möchte.

## **1.8 Aktuelle Detektionsmöglichkeiten der Mikrodeletion 22q11.2**

Wie in Kapitel 1.2.6 beschrieben, kann eine Mikrodeletion 22q11.2 mittels invasiver Untersuchungsmethoden diagnostiziert werden. Indikationen dazu geben eventuell auftretende sonographisch auffällige Dysmorphien im zweiten Trimenon der Schwangerschaft. Da die Mikrodeletion 22q11.2 allerdings über eine breite Variabilität des Phänotyps verfügt, kann sie auch ohne sonographisch darstellbare Anomalien vorliegen und somit nicht durch Ultraschalluntersuchungen detektierbar sein. Somit wird das aktuelle ETS als Screeningverfahren dieser strukturellen Chromosomenaberration ausgeschlossen, da zusätzlich zu den komplizierten Sonographiebedingungen auch keine spezifischen Serummarker der Mikrodeletion 22q11.2 existieren. Via cfDNA-Test kann eine Mikrodeletion 22q11.2 allerdings detektiert werden. Diese nicht-invasive Testmethode wurde auch in unserer Studie angewandt und auf ihre Praktikabilität im Alltag geprüft, damit zukünftig eine Screeningmöglichkeit auf die Mikrodeletion 22q11.2 besteht und die Diagnostik pränatal vereinfacht wird.

## **1.9 Fragestellung der Arbeit**

Die Mikrodeletion 22q11.2 ist die häufigste vorkommende Deletion mit einer Inzidenz von 1:1000 und gleichzeitig der zweithäufigste Grund für Herzfehler beim Ungeborenen.

Um vermeidbare Risikosituationen prä- und postnatal zu umgehen, ist es sinnvoll, schon während der Schwangerschaft über eine vorliegende Mikrodeletion 22q11.2 in Kenntnis gesetzt zu werden. Durch eine Eingliederung des erweiterten cfDNA-Test auf die Mikrodeletion 22q11.2 in das ETS, könnte ein Mikrodeletionssyndrom frühzeitig detektiert und die postnatale Therapie des Neugeborenen dementsprechend optimiert und vorgeplant werden. Dies ist besonders in Hinblick auf häufig auftretende Herzfehler und Hypokalzämien von großer Bedeutung.

Die Untersuchung der cfDNA im mütterlichen Blut hat sich bereits bezüglich Trisomien durch eine hohe Testgüte ausgezeichnet und wird jetzt schon als individuelle Gesundheitsleistung zum zusätzlichen Screening im Rahmen des ETS angeboten.

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 genügend Praktikabilität im klinischen Alltag besitzt und die FPR sowie die Testversagerrate gleichzeitig so gering sind, dass diese in die Schwangerenvorsorge im Rahmen des ETS aufgenommen werden kann.

Außerdem soll die Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2 unter Schwangeren und die Einstellung der werdenden Mütter zur Testung derselbigen via Fragebögen bestimmt werden. Darüber hinaus soll das Bewusstsein der Studienteilnehmerinnen anderen in der Schwangerschaft relevanten Krankheiten gegenüber mittels Fragebögen herausgefunden und gleichzeitig dessen subjektive Gewichtung bewertet werden.

# Material und Methoden

## 2.1 Studiendesign

Diese Arbeit ist eine monozentrische, prospektive, nicht-randomisierte, klinisch-observierende Studie des pränatalen Diagnosezentrums der Universitätsfrauenklinik Tübingen. Am 18.10.2017 wurde sie von der lokalen Ethikkommission genehmigt (Nr. 644/2017BO1). Unsere Studie wurde unter [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) registriert (NCT03375359).

### 2.1.1 Patientenkollektiv und Rekrutierung

Das Patientenkollektiv beschränkte sich auf alle schwangeren Patientinnen, die aufgrund eines Termins zum ersten Screening oder dem kombinierten Ersttrimesterscreening (ETS) in der Abteilung der pränatalen Diagnostik und Medizin der Universitäts-Frauenklinik Tübingen vorstellig wurden. Die Terminvergabe erfolgte entweder auf Routinebasis oder hinsichtlich maternalen Risikofaktoren oder einer Überweisung des betreuenden Gynäkologen zur Abklärung von Auffälligkeiten im früheren Verlauf der aktuellen Schwangerschaft. Das ETS wird routinemäßig zwischen der 12. und 14. SSW durchgeführt und beinhaltet neben einem Aufklärungsgespräch eine detaillierte sonographische Untersuchung nach ISUOG und DEGUM Richtlinien (58-60), sowie Messung der SSL und NT.

### 2.1.2 Rekrutierungszeitraum

Der Rekrutierungszeitraum beschränkte sich auf 12 Monate von Januar bis Ende Dezember 2018. Während dieser Zeitperiode konnten ausreichend Patientinnen rekrutiert werden. Die weiterführende Betreuung der Studie lief bis Dezember 2019.

### 2.1.3 Einschlusskriterien

- Mütterliches Alter mindestens 18 Jahre
- Vorstellung zum ETS
- Einlingsschwangerschaft
- schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme

### **2.1.4 Ausschlusskriterien**

- SSL <45 mm oder > 84 mm
- Mehrlingsschwangerschaften inklusive vanishing Twin
- Alter
- Keine Einwilligungsfähigkeit

## **2.2 Studienaufbau**

### **2.2.1 Vor der Ultraschalluntersuchung**

Am Tag des ETS wurde den Patientinnen ein Fragebogen ausgehändigt. Dieser zielte darauf ab, die Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2 in der potenziell betroffenen Bevölkerungsgruppe herauszufinden. Um das Ergebnis der Befragung richtig einordnen zu können, wurde zum Vergleich auch der Bekanntheitsgrad der häufigsten Trisomien (T21, T18, T13), die Bekanntheit drei relevanter Infektionen in der Schwangerschaft (Toxoplasmose, Parvovirus B19, Cytomegalie-Virus) und fetaler Fehlbildungen (insbesondere Herzfehler und Spina bifida) sowie der geläufigsten Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie, Gestationsdiabetes, fetales Alkoholsyndrom und fetaler Kleinwuchs (IUGR) abgefragt. Folgende Antwortmöglichkeiten waren gegeben: völlig unbekannt, eher unbekannt, vertraut und sehr vertraut. Zusätzlich wurde der Bildungsstatus erhoben. Der Fragebogen war anonymisiert und nicht auf die jeweilige Patientin zurückzuführen. In Abb.2. ist der anonyme Fragebogen abgebildet.

**Anonymer Fragebogen**

**Bitte kreuzen Sie Ihren höchsten Ausbildungsabschluss an.**

Hauptschule	Realschule	Gymnasium	Lehre	Studium	Promotion
-------------	------------	-----------	-------	---------	-----------

**Sind Ihnen die folgenden Erkrankungen oder Schwangerschaftskomplikationen bekannt?**

Bitte kreuzen Sie jeweils an, ob Ihnen die Erkrankung sehr vertraut, vertraut eher unbekannt oder völlig unbekannt ist.

	Völlig unbekannt	eher unbekannt	vertraut	Sehr vertraut
Trisomie 21 (Down-Syndrom)				
Trisomie 18 (Edwards-Syndrom)				
Trisomie 13 (Patau-Syndrom)				
Microdeletion 22q (DiGeorge-Syndrom)				
CMV (Cytomegalievirusinfektion)				
Toxoplasmose				
Parvo B19-Infektion (Ringelröteln)				
Fetales Alkoholsyndrom				
Gestationsdiabetes				
Fetale Fehlbildungen				
- Insbesondere Herzfehler				
- Insbesondere Spina bifida (offener Rücken)				
Fetale Wachstumsretardierung				
Präeklampsie („Schwangerschaftsvergiftung“, „Gestose“, „Bluthochdruckerkrankung in der Schwangerschaft“)				

Abb. 2. Anonymer Patientenfragebogen

### 2.2.2 Ultraschalluntersuchung

Nach einem ausführlichen Aufklärungsgespräch und der Feststellung einer intakten Schwangerschaft wurde von einem qualifizierten Arzt der Fehlbildungultraschall durchgeführt. Die Qualifizierung des Untersuchers zeichnete sich durch die Zertifizierung der *Fetal Medicine Foundation* (FMF UK) nach ISUOG Leitlinien und DEGUM-Standards aus (58-60). Verwendet wurden die Sonographiegeräte *GE Voluson E10* und *E8*, sowie *Philips Epiq*. Der Fehlbildungultraschall dient dazu, fetale Auffälligkeiten zu detektieren. Hierfür wird die SSL, sowie die NT gemessen. Des Weiteren wurde die Anwesenheit des NB überprüft und der DVF sowie der TF mittels Dopplersonographie vermessen. Auch die fetale Herzfrequenz wird gemessen. Die Dokumentation aller relevanter Werte des Screenings erfolgte in *Viewpoint Database* (GE Healthcare, München). Die Information über die mütterliche Größe sowie deren Gewicht wurde dem Mutterpass entnommen. Weitere Werte wie Ethnie, Raucherstatus und Empfängnismethode wurden mittels Anamnesebogen abgefragt (15).

Durch die erhobenen fet. Marker, dem mütterlichen Alter und den beiden Serumproteinmarkern freies  $\beta$ -HCG und PAPP-A kann das Risiko auf das Vorliegen einer Trisomie berechnet werden. Um die Serumproteinmarker zu messen, wurde im Anschluss an die Ultraschalluntersuchung eine venöse Blutprobe der Schwangeren entnommen. Im Rahmen der Studie wurden zudem zusätzlich zwei weitere Blutröhrchen der Marke *Harmony® Prenatal Test* (Roche/Ariosa Diagnostics, Inc. (San Jose, Ca, USA)) abgenommen und an *TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A., Impact Lab Group* (Busto Arsizio (VA), Italy) geschickt. Bei den zusätzlichen Blutröhrchen handelte es sich um den cfDNA-Test mit der Erweiterung auf die Mikrodeletion 22q11.2.

### 2.2.3 cfDNA-Probe

In unserer Studie wurden die Blutproben der Blutröhrchen des *Harmony® Prenatal Test* von *TOMA® Advanced Biomedical Assays* nach gängigem Verfahren aufbereitet. Der cfDNA-Test unterlief einer gezielte cfDNA-Analyse mit Hilfe des DANSR-Verfahrens, gefolgt von einer simultanen Microarray-basierten Prüfung der nicht-polymorphen (Chromosomen 21, 18, 13, X und Y) und polymorphen (Chromosomen 1-12) Loci. Damit wird das Verhältnis des chromosomalen Anteils der Probe und die fet. Fraktion

berechnet. Zur Berechnung des patientenspezifischen Risikos einer vorliegenden Trisomie wurde der FORTE-Algorithmus angewendet (15, 53).

Ungefähr 500 zusätzliche DANSR-Proben wurden hergestellt, um gezielt die 3,0 Megabasenregion (Mb) des Chromosoms 22q11.2 zwischen LCR-A und LCR-D zu sequenzieren. Die Spezialanfertigungen der DNA-Microarrays, welche die speziellen DANSR-Proben quantifizierten, wurden von *Affymetrix Inc.* (Santa Clara, CA, USA) hergestellt (15).

Zu den Ergebnissen zählten die prozentual angegebene fet. Fraktion der cfDNA und das berechnete Aberrationsrisiko für Trisomie 21, 18 und 13 sowie für Mikrodeletion 22q11.2 (angegeben in „No evidence“ oder „High propability“). Auf Wunsch des Patienten konnte auch das Geschlecht des Ungeborenen bestimmt werden (15).

Bei jeder Probandin wurde ein zusätzliches Serumröhrchen entnommen, welches im Falle eines Testversagens als Reserveprobe diente. Aus dieser konnte das freie  $\beta$ -HCG und PAPP-A gewonnen werden, um so trotzdem eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer Trisomie zu treffen. Das gleiche Verfahren wurde auch schon in früheren Studien von *Kagan et al.* angewandt und hat sich bewährt (61, 62). Die Reserveröhrchen wurden mit 4000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten zentrifugiert und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt (15, 61).

Sobald die cfDNA-Testergebnisse vorlagen, wurden die Patientinnen telefonisch kontaktiert, um Ihnen die Ergebnisse bezüglich der Trisomien und der Mikrodeletion 22q11.2 mitzuteilen. Waren die Ergebnisse auffällig, so wurde mit der Patientin ein erneuter Termin im pränatalen Diagnosezentrum der Universitätsfrauenklinik Tübingen vereinbart, um eine invasive Diagnostik zur Bestätigung des erhaltenen Testergebnisses durchzuführen.

#### **2.2.4 Einschätzung der Zufriedenheit**

Vier Wochen nach dem Vorliegen des Ergebnisses des erweiterten cfDNA-Tests wurden die Studienteilnehmerinnen ein weiteres Mal telefonisch kontaktiert und zu ihrer Zufriedenheit dem ETS und der cfDNA-Analyse gegenüber befragt. Die vorgegebenen Antwortmöglichkeiten waren: sehr unzufrieden, eher unzufrieden, zufrieden und sehr zufrieden. Des Weiteren wurden die Patientinnen zu ihrer Meinung interviewt, ob sie die

Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 für sinnvoll halten. Antwortmöglichkeiten waren hier: Nicht sinnvoll, eher nicht sinnvoll, sinnvoll und sehr sinnvoll. Außerdem wurde ermittelt, ob sie das cfDNA-Screening im Allgemeinen und insbesondere mit dessen Erweiterung auf Mikrodeletion 22q11.2 ihrer besten Freundin empfehlen würden (mögliche Antworten: Nein, eher nein, eher ja, Ja). Der telefonische Fragebogen ist in Abb.3. abgebildet (15).

<b>Fragebogen für die telefonische Besprechung nach 4 Wochen</b>				
	Sehr unzufrieden	eher unzufrieden	zufrieden	Sehr zufrieden
Waren Sie mit dem Ersttrimester-Screening zufrieden?				
Waren Sie mit der Ultraschalluntersuchung und der Beratung zufrieden?				
Waren Sie mit der zellfreien DNA-Analyse zufrieden?				
	Nicht sinnvoll	eher nicht sinnvoll	sinnvoll	Sehr sinnvoll
Halten Sie die Erweiterung des Spektrums der zellfreien DNA-Analyse auf Microdeletion 22q für sinnvoll?				
	Nein	Eher nein	Eher ja	Ja
Würden Sie die durchgeführte Ultraschalluntersuchung beim Spezialisten Ihrer besten Freundin empfehlen?				
Würden Sie die zellfreie DNA-Analyse Ihrer besten Freundin empfehlen?				
Würden Sie die zellfreie DNA-Analyse mit Mikrodeletion 22q Ihrer besten Freundin empfehlen?				
<b>Kommen diesen Erkrankungen oder Schwangerschaftskomplikation eine ausreichende, zu große oder zu geringe Bedeutung im Ersttrimester-Screening zu?</b>				
	Zu große Bedeutung	Ausreichende Bedeutung	Zu wenig Bedeutung	
Trisomie 21 (Down-Syndrom)				
Trisomie 18 (Edwards-Syndrom)				
Trisomie 13 (Patau-Syndrom)				
Microdeletion 22q (DiGeorge-Syndrom)				
CMV (Cytomegalievirusinfektion)				
Toxoplasmose				
Parvo B19-Infektion (Ringelröteln)				
Fetales Alkoholsyndrom				
Gestationsdiabetes				
Fetale Fehlbildungen				
- Insbesondere Herzfehler				
- Insbesondere Spina bifida (offener Rücken)				
Fetale Wachstumsretardierung				

Abb. 3. Telefonischer Patientenfragebogen nach vier Wochen

### **2.2.5. Einschätzung des Aufklärungsbedarfs während des Ersttrimesterscreenings**

Die Aufklärung über mögliche Schwangerschaftskomplikationen oder -infektionen gehört laut Mutterschafts-Richtlinien primär nicht zwingend zum ETS (1). Ausnahmen sind gegeben, falls die jeweilige Komplikation vorliegt oder ein akutes Infektionsrisiko besteht. In diesen Fällen muss laut Schwangerschaftskonfliktgesetz aufgeklärt und beraten werden. Ansonsten findet die allgemeine Aufklärung während den Routineuntersuchungen beim niedergelassenen Frauenarzt statt.

Im Rahmen des telefonischen Fragebogens der Studie, der in Kapitel 2.2.4. beschrieben wurde und in Abb.3. dargestellt ist, wurden die Patientinnen zusätzlich befragt, ob den gängigsten Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen ihrer Meinung nach eine zu geringe, ausreichende oder zu große Bedeutung während dem ETS beigemessen wurde. Es handelte sich dabei um dieselben Punkte, die der anonyme Fragebogen vor der Ultraschalluntersuchung erfasste. Der telefonische Fragebogen wurde so konzipiert, dass herausgefunden werden konnte, inwieweit sich die Patientinnen mehr Aufklärung zu den einzelnen Punkten im Rahmen des ETS wünschen.

### **2.2.6 Überprüfung der Testergebnisse via Outcome**

Nach der Geburt wurden die Mütter ein letztes Mal kontaktiert, um zu erfahren, ob ihr Kind gesund ist oder ob es Komplikationen beziehungsweise Auffälligkeiten bei den Regeluntersuchungen des Kinderarztes gab. Lag im Rahmen der Studie ein positives cfDNA-Testergebnis vor, so wurde nach der Geburt Nabelschnurblut des Kindes entnommen und dieses genetisch untersucht. Optional wurde das genetische Material aus der Plazenta gewonnen und via FISH und/oder Mikroarray analysiert.

Die gesamte Datenerhebung wurde erst sechs Monate nach der Geburt des letzten Kindes abgeschlossen. Dadurch, dass jedes Kind in Deutschland im ersten Lebensjahr sechs Mal durch einen Kinderarzt untersucht werden sollte (U1-U6), kann angenommen werden, dass ein Kind mit einer Mikrodeletion 22q11.2 und klinisch relevanten Auffälligkeiten erkannt wird. Im Rahmen der Studienaufklärung wurde vereinbart, sich bei auffälligen kinderärztlichen Befunden rückzumelden.

### 2.2.7 Testversager

Als Testversager gilt ein Studienteilnehmer, bei dem es zu keinen Testergebnissen kommt, da die Blutprobe nicht ausreichend ausgewertet werden kann. Das kann verschiedene Gründe haben, zum Beispiel kann der Anteil der fet. Fraktion im Blutserum der Mutter zu gering sein. Für den Fall, dass es im Rahmen unserer Studie zu einem Testversagen kam, wurde der *Harmony*®-Test ein weiteres Mal abgenommen und ausgewertet. Führt diese Analyse ebenfalls zu keinem Ergebnis, so wurde auf das Reserveblutröhrchen zurückgegriffen und das Chromosomenaberrationsrisiko anhand der Serummarker und den Daten des kombinierten ETS berechnet.

### 2.2.8 Management auffälliger Ergebnisse

In Fällen, bei denen das Ergebnis des cfDNA-Tests ein hohes Risiko für eine Mikrodeletion 22q11.2 ergeben hatte, wurden den betroffenen Patientinnen weiterführende invasive Untersuchungsmethoden zur Abklärung des Testergebnisses angeboten. Zur Verfügung standen entweder AC oder CVS, bei welchen die Analysen durch Mikroarray der DNA aus frischen Gewebeproben erfolgen. Eine Alternative ist die Langzeitkultur in Kombination mit einer FISH-Analyse auf spontane Metaphasen des Zytotrophoblasten mittels BAC-Proben (bacterial artificial chromosome). Diese greifen in der proximalen (LCR A-B; D22S75 (*Abbott Molecular* (Des Plaines, IL, USA))) und der zentralen Region (LCR C-D; RP11-801020 (gestellt von *Thomas Liehr*, Jena/Deutschland)) des kritischen Bereichs des Chromosoms 22 an. Ergab die Mikroarray-Analyse ein unauffälliges Ergebnis, wurde anschließend abermals eine FISH-Probe durchgeführt, um ein seltenes plazentares Mosaik des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 auszuschließen (15, 63). Postnatal wurde bei diesen Neugeborenen eine ausführliche klinische Untersuchung sowie eine Abnahme von NSB oder Plazentaprobe für eine erneute genetische Untersuchung durchgeführt (15).

Die genetische Untersuchung der Elternteile erfolgte mithilfe von parentalen T-Lymphozyten. Ein Karyogramm wurde nach national- und molekularzytogenetischen Leitlinien erstellt (64). Es wurden Chromosomen nach Standardverfahren aus kultivierten Zellen

gewonnen und mittels molekularer Karyotypisierung und Bänderungstechnik aufgearbeitet. Mindestens 15 Metaphasen wurden pro Probe mit der GTG-Band-

Methode (*G-bands by Trypsin using Giemsa*, (65)) analysiert und mindestens zehn mittels FISH (15).

### 2.3 Statistische Analyse

Die Studienkohorte wurde in zwei Gruppen aufgeteilt: die Niedrigrisikogruppe und die Hochrisikogruppe. Die Einteilung in die jeweiligen Gruppen hing von der gemessenen NT und fetalen Fehlbildungen ab. War die NT-Messung  $>3,5$  mm und wurde eine fetale Anomalie pränatal detektiert, so wurde die Studienteilnehmerin der Hochrisikogruppe zugeordnet. War dies nicht der Fall, gehörte sie zur Niedrigrisikogruppe (15).

Die zusätzlich mittels Ultraschalles gemessenen Risikomarker NB, TF sowie DVF wurden im Rahmen unserer Studie nicht zu fet. Anomalien gezählt (15).

Primäre Endpunkte waren der Anteil an falsch-positiven und an ergebnislosen cfDNA-Tests auf Mikrodeletion 22q11.2. Die Antworten der Fragebögen wurden in positive und negative Rückmeldungen aufgeteilt. Alle Ergebnisse wurden den beiden Risikogruppen zugeteilt (15).

Die Ergebnisse werden als Median mit 25. und 75. Interquartil oder in Form des Prozentranges im 95. Konfidenzintervall nach Clopper-Pearson-Methode angegeben. Gesammelt und ausgewertet wurden die Daten mit Hilfe von *Microsoft® Excel®* für Office 365 MSO, *RStudio®, Inc.* Version 1.2.5042. und SPSS 24.0 (15).

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in *Fetal Diagnosis and Therapy®* am 02.09.20 veröffentlicht (15).

# Ergebnisse

## 3.1 Patientenkollektiv

Innerhalb des Rekrutierungszeitraums wurden 1278 schwangere Frauen in der pränataldiagnostischen Ambulanz der Universitäts-Frauenklinik Tübingen vorgestellt. Davon erwarteten 90 Patientinnen (7,0%) schwanger mit Gemini oder andere Mehrlinge inklusive vanishing Twin. Bei 1188 Frauen lag eine Einlingsschwangerschaft vor. Von dieser Gruppe entschieden sich 43 (3,6%) gegen eine Teilnahme an der Studie. Zu Beginn nahmen 1145 Frauen an der Studie teil, von denen neun Fälle (0,9%) im Laufe der Schwangerschaft nicht weiterverfolgt werden konnten (loss of follow-up). Weitere neun Frauen (0,9%) verloren ihr Ungeborenes im weiteren Verlauf der Schwangerschaft. In diesen Fällen lag weder ein auffälliges kombiniertes ETS noch ein auffälliges cfDNA-Testergebnis vor. Außerdem verzichteten die Frauen auf eine Autopsie oder eine genetische Testung nach dem Versterben des Fetus. Sie wurden aus weiteren Analysen ausgeschlossen. Letztendlich wurden 1127 schwangere Frauen in unsere Studie eingeschlossen. Die schematische Beschreibung des Patientenkollektivs ist in Abb.4. dargestellt. Die Beschreibung der Einteilung in die Risikogruppen erfolgt in Kapitel 3.1.1. Der Studienaufbau wurde ebenfalls in der Teilveröffentlichung der Ergebnisse in *Fetal Diagnosis and Therapy*® am 02.09.20 beschrieben (15).

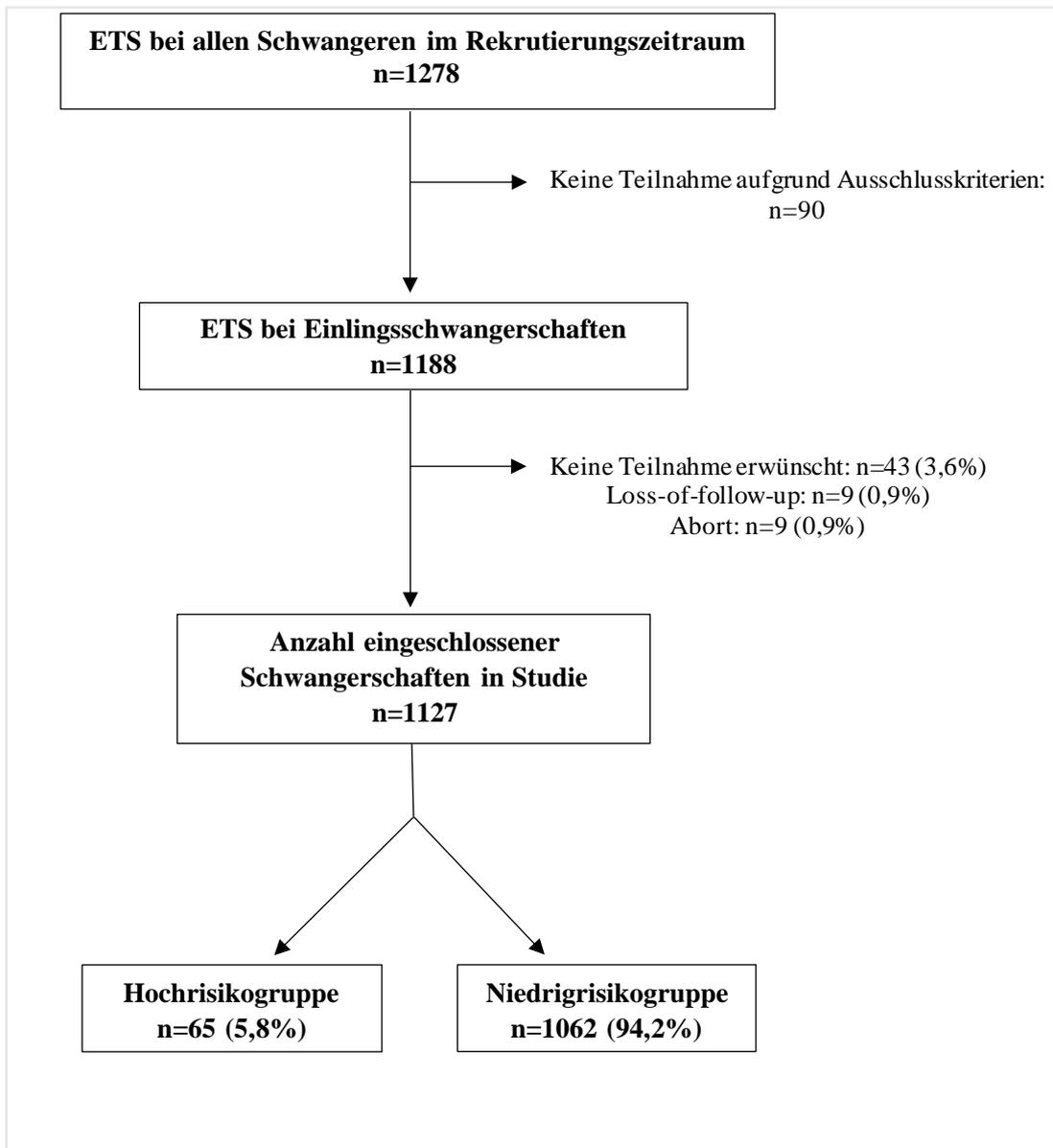


Abb. 4. Beschreibung des Patientenkollektivs

### 3.1.1 Einteilung der Gruppen

Die Schwangerschaften wurden in zwei Gruppen eingeteilt: die Hochrisiko- und die Niedrigrisikogruppe. In der Hochrisikogruppe waren 65 Feten. Entweder konnte ihnen eine fet. Anomalie (n=44) oder eine erhöhte NT-Messung über 3,5 mm (n=21) zugeordnet werden. Die übrigen 1062 Studienteilnehmerinnen wurden als

Schwangerschaften mit einem niedrigen Risiko klassifiziert, da sie weder eine Anomalie noch eine erhöhte NT aufwiesen, und somit der Niedrigrisikogruppe zugeordnet.

Abb.5. zeigt die Einteilung des Patientenkollektivs in die jeweilige Risikogruppe. Der Balken der Hochrisikogruppe ist nochmals unterteilt in die zwei Faktoren, aus denen sie sich zusammensetzt. Der prozentuale Anteil der Gruppen wird über den Balken angezeigt.

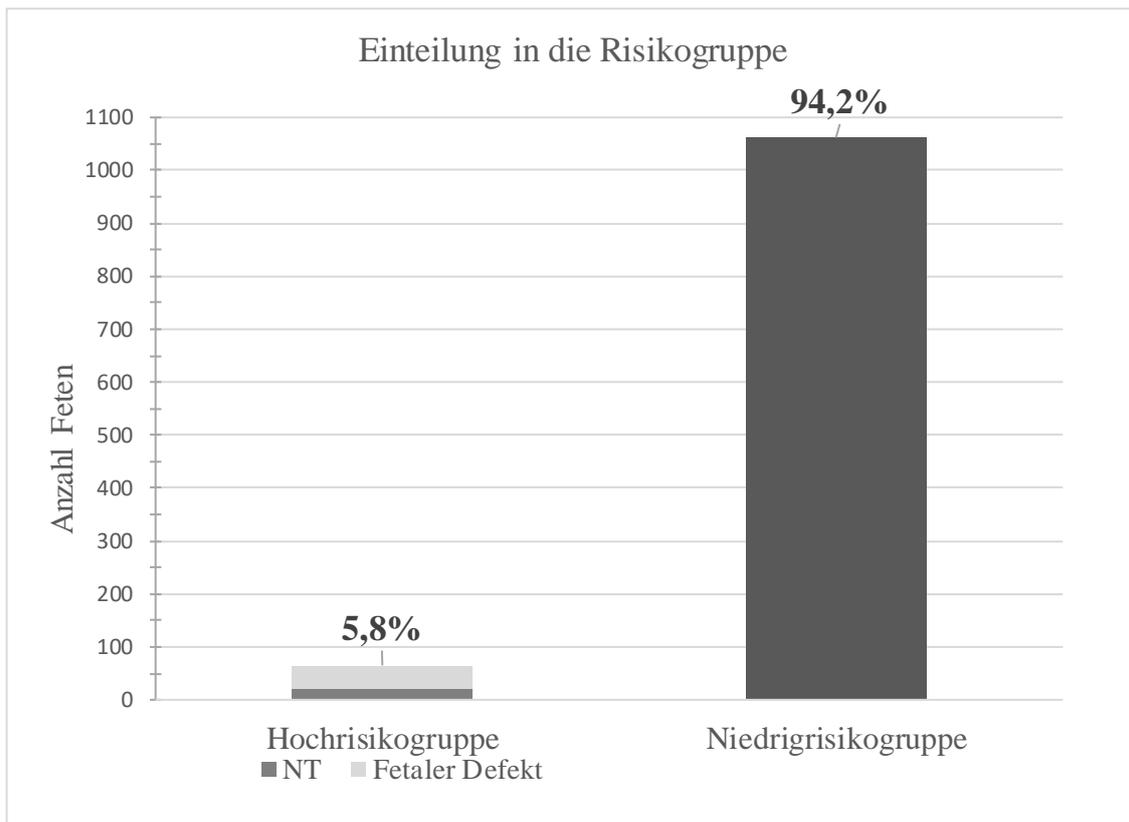


Abb. 5. Einteilung in die Risikogruppen

Die Charakteristika des Patientenkollektivs werden in Tab.5.A.+B. dargestellt. Neben den Einteilungskriterien der Gruppen (fetale Fehlbildung und NT) wurden zusätzlich weitere maternale wie fetale Parameter erhoben. Maternale Daten zum Alter, Gewicht, Raucherstatus, Ethnie, sowie Empfängnisstatus und Gestationswoche wurden aufgezeichnet. Das Durchschnittsalter der Mütter der Hochrisikogruppe liegt bei 34,3 Jahren, während das der Niedrigrisikogruppe mit 33,8 Jahren etwas darunter liegt. Beim Gewicht verhält es sich umgekehrt. Hier liegt der Mittelwert der Hochrisikogruppe mit

68,3 kg etwas unter dem der Niedrigrisikogruppe mit 68,8 kg. Wird der Median betrachtet, ist die Hochrisikogruppe mit 66,2 kg wieder über dem Wert der Niedrigrisikogruppe mit 65,5 kg. In der Hochrisikogruppe sind 98,5% kaukasischer Herkunft, was ungefähr dem Wert der Niedrigrisikogruppe mit 97,3% entspricht. Es rauchen 1,1% mehr Frauen in der Hochrisikogruppe als in der Niedrigrisikogruppe. Außerdem wurden fast doppelt so viele Frauen in der Hochrisikogruppe durch assistierte Reproduktion schwanger. 4,6% der Frauen in der Hochrisikogruppe haben bereits vorher ein erkranktes Kind zur Welt gebracht. In der Niedrigrisikogruppe sind 3,5% der Frauen betroffen. Von den schon geborenen erkrankten Kindern der Frauen der Niedrigrisikogruppe haben 10,8% ein Down-Syndrom und 2,7% eine Trisomie 13. Ein Fall weist eine Mikrodeletion 22q11.2 auf. Alle anderen Kinder leiden entweder an einem Herzfehler, anderen Anomalien oder weiteren Syndromen. Alle Frauen befinden sich zwischen der 13. und 14. SSW. Alle maternalen Parameter der Studiencharakteristika sind in Tab.5.A. aufgelistet.

An fetalen bzw. schwangerschaftsspezifischen Parametern wurden neben den fetalen Fehlbildungen und der NT zusätzlich die SSL und die Serumproteinmarker gemessen. Im Durchschnitt waren die Feten der Hochrisikogruppe mit 66,5 mm etwas kleiner als die der Niedrigrisikogruppe mit 68,4 mm. Der mittlere Wert des freien  $\beta$ -HCGs ist bei der Hochrisikogruppe mit 1,70 MoM etwas erhöht, während der Mittelwert des PAPP-As mit 0,93 MoM etwas erniedrigt ist. Diese Wertekonstellation lässt darauf schließen, dass das Aberrationsrisiko in dieser Patientengruppe erhöht ist. In der Niedrigrisikogruppe sind beide Serumproteinmarker im Schnitt etwas erhöht mit den Mittelwerten von 1,31 MoM für das freie  $\beta$ -HCG und 1,33 MoM für PAPP-A. Alle fetalen Parameter der Studiencharakteristika sind in Tab.5.B. aufgelistet.

Tab. 5.A.+B. Zusammenfassung der Studiencharakteristika

Tab.5.A.

	<b>Hochrisikogruppe n=65</b>	<b>Niedrigrisikogruppe n=1062</b>
Maternales Alter in Jahren Median (25.-75. Perzentile)	35,8 (30,4-38,3)	33,9 (31,0-36,7)
Gestationsalter in Wochen Median (25.-75. Perzentile)	12,9 (12,4-13,2)	12,9 (12,5-13,3)
Maternales Gewicht in Kg Median (25.-75. Perzentile)	66,2 (60,0-73,7)	65,5 (59,0-74,5)
Krankes Kind in Vorgeschichte n (%)	3 (4,6)	37 (3,5)
<i>Krankheitsbild des Kindes:</i>		
<i>T21</i>	0 (0)	4 (10,8)
<i>T13</i>	0 (0)	1 (2,7)
<i>MD22q11.2</i>	0 (0)	1 (2,7)
<i>HF</i>	0 (0)	3 (8,1)
<i>Andere</i>	3 (100)	28 (75,7)
Raucher n (%)	2 (3,1)	21 (2,0)
Kaukasische Herkunft n (%)	64 (98,5)	1027 (97,3)
Ass. Reproduktion n (%)	4 (6,2)	35 (3,3)

Tab.5.B.

	<b>Hochrisikogruppe n=65</b>	<b>Niedrigrisikogruppe n=1062</b>
SSL in mm Median (25.-75. Perzentile)	67,8 (58,5-73,8)	68,5 (63,6-73,3)
NT in mm Median (25.-75. Perzentile)	3,7 (1,9-5,0)	1,8 (1,6-2,1)
$\beta$ -HCG MoM Median (25.-75. Perzentile)	1,24 (0,57-2,26)	1,10 (0,77-1,65)
PAPP-A MoM Median (25.-75. Perzentile)	0,86 (0,44-1,22)	1,19 (0,84-1,59)
Fet. Anomalien n (%)	44 (67,9)	0 (0)

## 3.2 Ergebnisse des cfDNA-Tests: die fetale Fraktion

Der erweiterte cfDNA-Test ergab 1098 unauffällige (97,4%), 26 auffällige (2,3%) und zehn Testversager (0,9%) ohne Ergebnismitteilung. Von allen eingegangenen Testergebnissen war die mediane fetale Fraktion (fet. Fraktion) der zellfreien DNA der Blutproben bei 11,0%. Der höchste prozentuale Wert, der gemessen wurde, lag bei 31,0% und der niedrigste Wert bei 5,0%. Werte  $\leq 4,0\%$  konnten nicht ausgewertet werden, da hier zu wenig fetaler Anteil in der Blutprobe vorhanden war. Dies führte zu einem Testversagen und der cfDNA-Test musste wiederholt werden. Die prozentuale Verteilung der fet. Fraktion wird in Abb.7. durch ein Boxplot-Diagramm veranschaulicht. Im linken Boxplot sind alle Ergebnisse (n=1127) zusammengefasst abgebildet. Im rechten Boxplot sind isoliert die auffälligen Ergebnisse (n=26) dargestellt. Der Maximalwert der fet. Fraktion ist als Ausreißer bei 31,0% gekennzeichnet, der Maximalwert der auffälligen Ergebnisse liegt ebenfalls als Ausreißer vor, allerdings bei 26,0%. Der allgemeine Minimalwert der fet. Fraktion liegt bei 5,0% und der Minimalwert der auffälligen Ergebnisse bei 8,0%. Der Median liegt bei 11,0% im linken und bei 11,5% im rechten Boxplot. Der Interquartilsbereich (25.-75. Perzentile) geht im Allgemeinen von 9,0%-14,0% und von 8,0%-14,25% bei den auffälligen Ergebnissen.

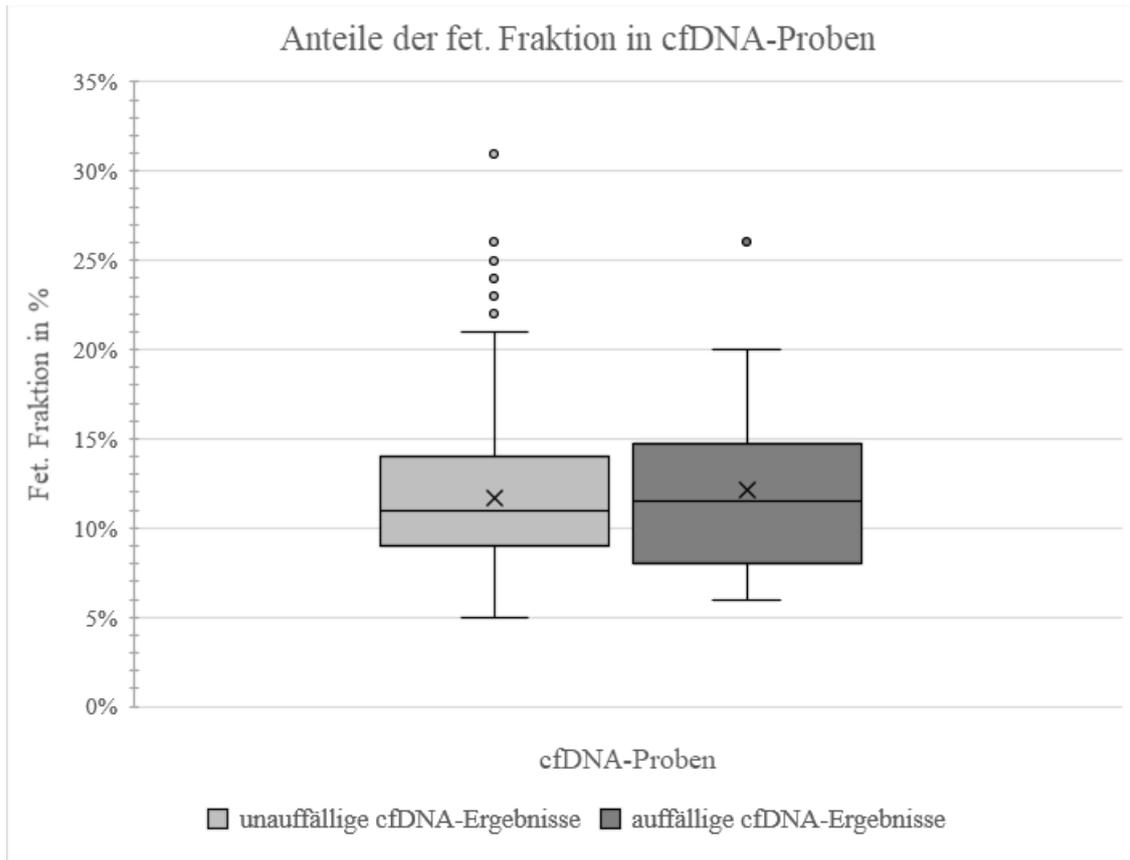


Abb. 6. Prozentualer Anteil der fet. Fraktion in den cfDNA-Blutproben

Bei beiden Risikogruppen der Studie ist der durchschnittliche Anteil von 11,0% fet. Fraktion in den Blutproben identisch. Bei Schwangerschaften mit Fehlbildungen ergibt sich ein differenzierteres Bild. Bei den Fällen mit Trisomie 21 war der mediane Wert mit 13,0% höher als alle anderen Mediane. Dagegen sind die medianen Werte für Trisomie 18 und 13 niedriger als bei der Gesamtgruppe. Schwangerschaften mit einer Trisomie 18 weisen einen medianen Wert von 9,3% und Fälle von Trisomie 13 von 8,0% auf. Die fet. Fraktion im Blut der Mutter ist bei einer vorliegenden Trisomie 21 höher und bei vorliegenden Trisomien 18 und 13 geringer als beim Durchschnitt.

Wie hoch die fet. Fraktion insgesamt in der maternalen Blutprobe ausfällt, kann von verschiedenen Faktoren abhängen. In den folgenden Punktdiagrammen sind Korrelationen zwischen prozentual vorliegender fet. Fraktion und maternalen Faktoren aufgezeigt.

Ein Faktor ist das mütterliche Alter (Abb.7.A+B). Das Alter ist in einer Spanne von 20-45 Jahren angegeben und die fet. Fraktion von 0,0%-40,0%. Die 90%-Vorhersagebänder sind mit roten bzw. gestrichelten Linien eingezeichnet. Sie geben die 95. Und die 5. Perzentile an.

Abb.7.A sind alle Testergebnisse (n=1127) dargestellt. Der Minimalwert ist 5,0% und der Maximalwert 31,0%. Der Mittelwert liegt bei 11,6% fet. Fraktion in den Blutproben bei einem 95%-Konfidenzintervall von 11,4%-11,8%. Die 5. Und 95. Perzentile sind mit roten Linien gekennzeichnet. Die Trendlinie hat einen minimalen Anstieg von  $9E-0,5x$ . Der Korrelationskoeffizient ist 0,01. Da  $p=0,73$  ist, besteht keine Signifikanz und es kann daraus geschlossen werden, dass zwischen dem Anteil der cfDNA und dem maternalen Alter kein signifikanter Zusammenhang besteht.

Abb.7.B. zeigt die auffälligen Ergebnisse (n=26). Der Minimalwert liegt hier bei 6,0% und der Maximalwert bei 26,0%. Die Ergebnisse wurden unterteilt in Trisomie 21 (T21, n=16), Trisomie 18 (T18, n=6) und Trisomie 13 (T13, n=2). Der Mittelwert liegt bei 12,1% bei einem 95%-Konfidenzintervall von 10,2%-14,1%. Die 5. Und 95. Perzentile sind durch gestrichelte Linien eingezeichnet. Es ist erkennbar, dass die Mehrheit der Fälle mit auffälligem Ergebnis innerhalb der 90%-Vorhersagebänder liegt. Des Weiteren ist erkennbar, dass das Durchschnittsalter mit 37,85 Jahren hier höher liegt als das Durchschnittsalter des Gesamtkollektivs mit 34 Jahren.

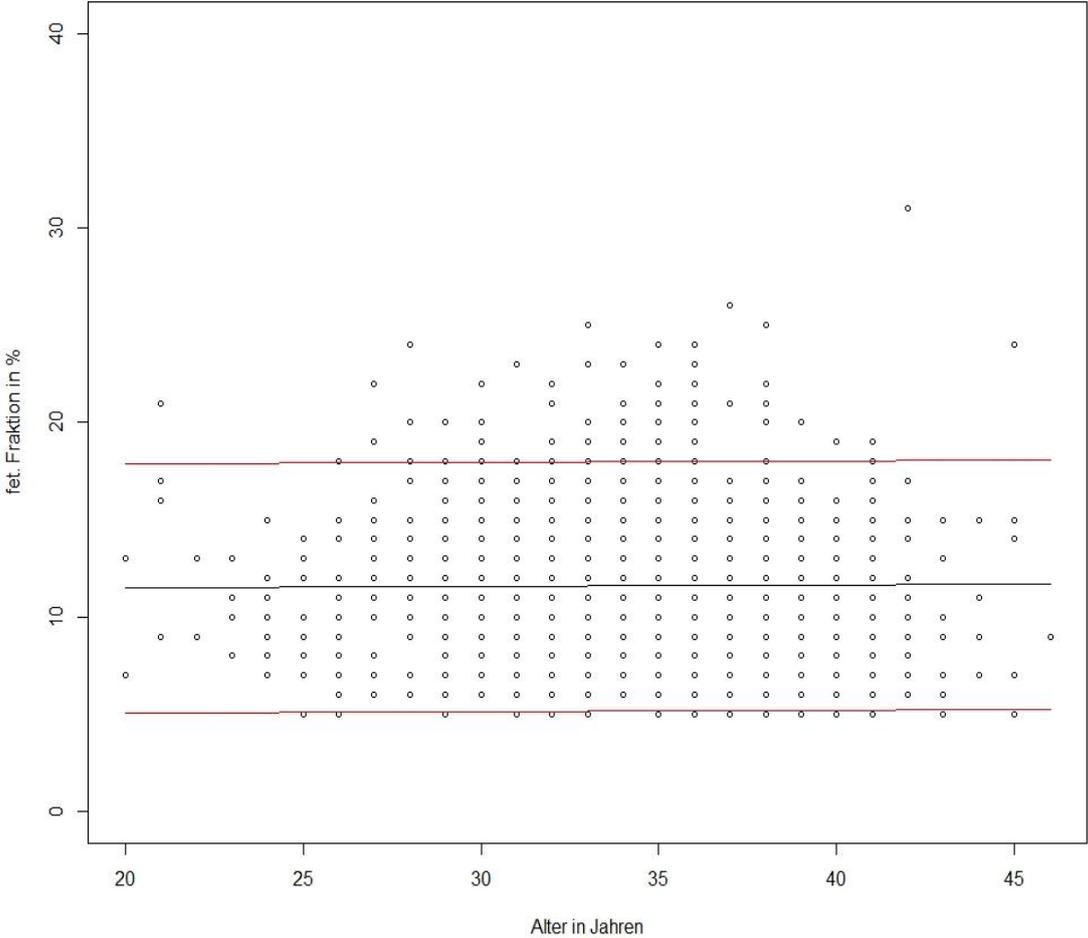


Abb. 7.A.

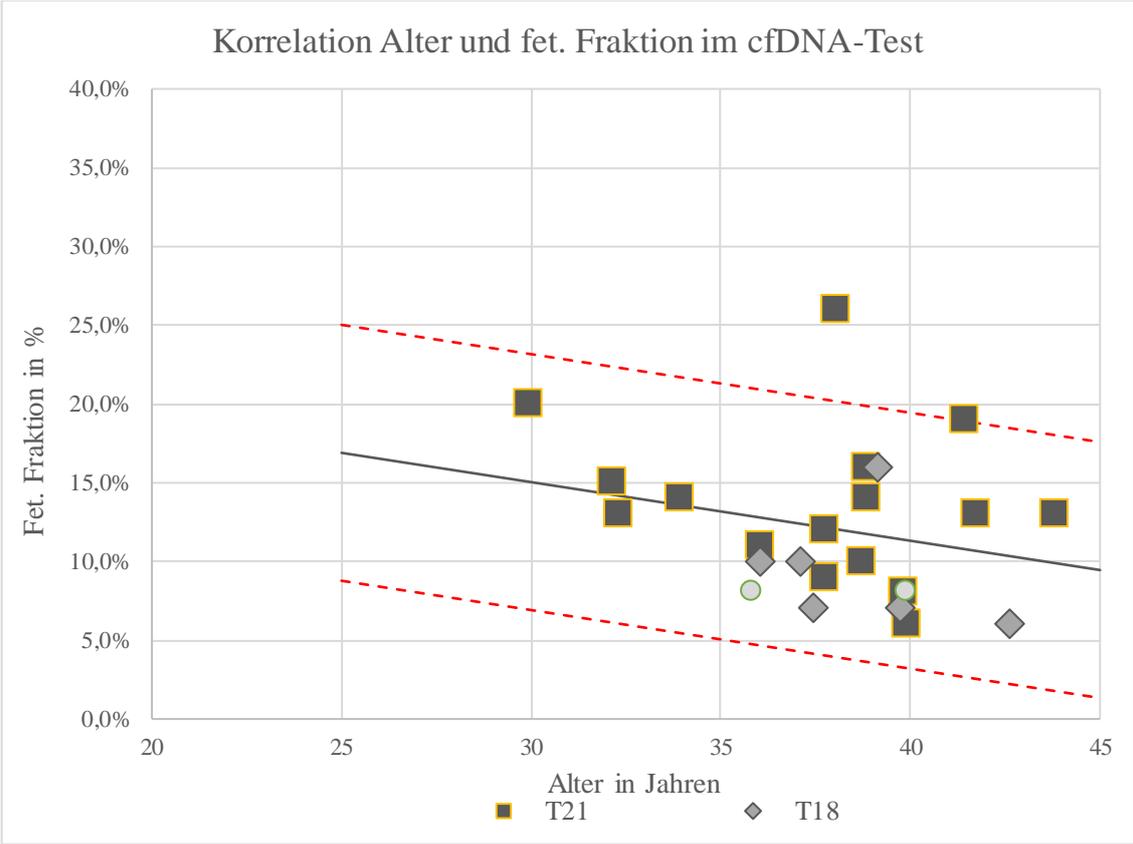


Abb. 7.B.

Abb. 7.A+B Korrelation von mat. Alter und fet. Fraktion

Die Korrelation zwischen fet. Fraktion und mütterlichem Gewicht ist in Abb.8.A+B dargestellt. Das Gewicht ist in einer Spanne von 0-180 kg und die fet. Fraktion von 0,0%-40,0% angegeben. Die 90%-Vorhersagebänder sind mit roten Linien eingezeichnet. Sie geben die 95. Und die 5. Perzentile an.

Die Abb.8.A. zeigt die fet. Fraktion aller Testergebnisse (n=1127) in Relation mit dem maternalen Gewicht in kg. Der Minimalwert ist 5,0% und der Maximalwert 31,0%. Die 5. Und 95. Perzentile sind mit roten Linien eingezeichnet. Es ist eine absteigende Trendlinie von  $-0,0009x$  erkennbar. Der Korrelationskoeffizient ist negativ und liegt bei  $-0,34$ . Das bedeutet, dass mit zunehmendem Gewicht das prozentuale Vorkommen der fet. DNA im cfDNA-Test abnimmt. Je höher also das maternale Gewicht, desto weniger fet. cfDNA ist in der Blutprobe vorhanden. Der Interpretation von  $r$  nach Cohen nach, liegt bei  $|r| = 0,34$  ein mittlerer Effekt vor. Da  $p=2,95E-32$  ergibt, ist hier eine hohe Signifikanz gegeben.

Die Abb.8.B. zeigt die fet. Fraktion der auffälligen Ergebnisse (n=26) des cfDNA-Tests im Zusammenhang mit dem maternalen Gewicht in kg. Der Minimalwert liegt bei 6,0% und der Maximalwert bei 26,0%. Die Ergebnisse wurden unterteilt in Trisomie 21 (T21, n=16), Trisomie 18 (T18, n=6) und Trisomie 13 (T13, n=2). Das mittlere Gewicht liegt bei 69,1 kg und damit 0,4 kg über dem Durchschnittsgewicht des Gesamtkollektivs. Die 5. Und 95. Perzentile sind durch gestrichelte Linien eingezeichnet. Es ist erkennbar, dass die Mehrheit der Fälle mit auffälligem Ergebnis innerhalb der 90% -Vorhersagebänder liegt.

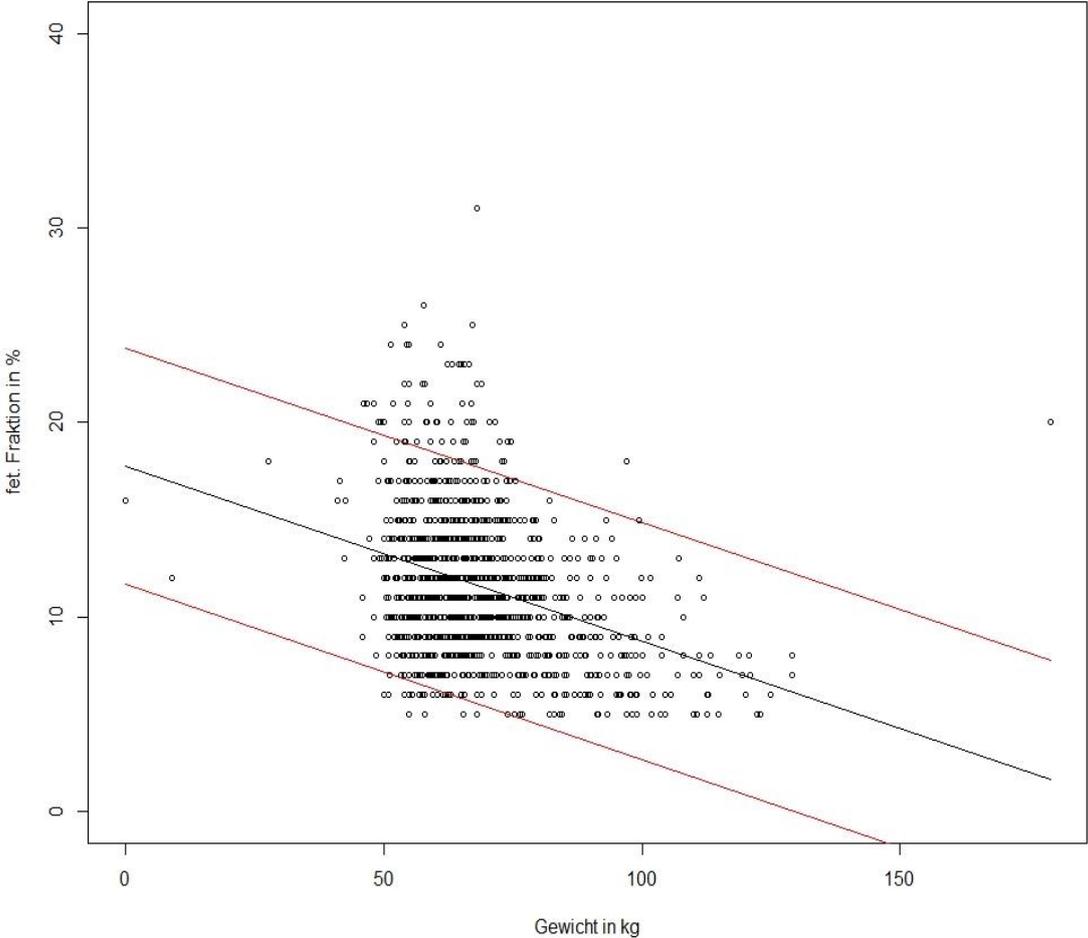


Abb.8.A.

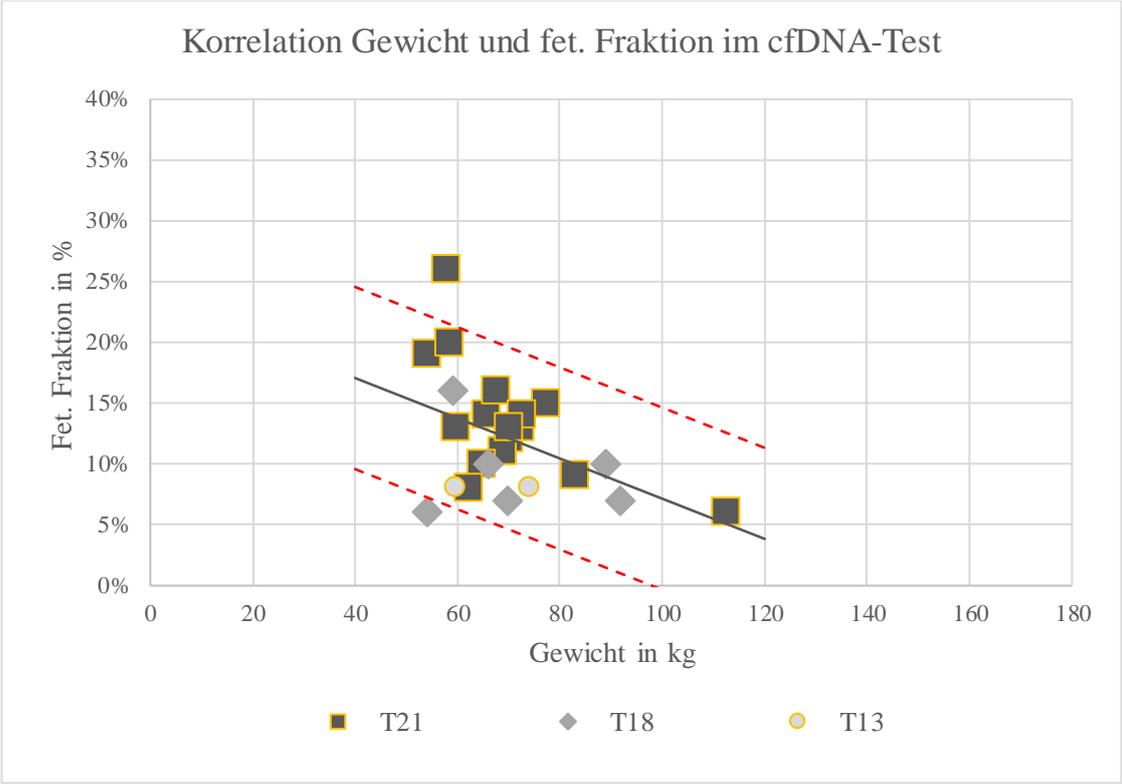


Abb.8.B.

Abb. 8.A+B Korrelation von mat. Gewicht und fet. Fraktion im cfDNA-Test

Der Zusammenhang zwischen prozentuaem Vorkommen der fet. cfDNA und der Gestationswoche ist in Abb.9.A+B aufgeföhrt. Das Gestationsalter ist in einer Spanne von 11-14 SSW angegeben und die fet. Fraktion von 0,0%-40,0%. Die 90%-Vorhersagebänder sind durch rote bzw. gestrichelte Linien gekennzeichnet.

Abb.9.A. zeigt die fet. Fraktion des Gesamtkollektivs ( $n=1127$ ) in Relation zur Gestationswoche. Da die Trendlinie mit  $0,0035x$  leicht ansteigt, kann festgestellt werden, dass mit fortschreitender SSW mehr fet. DNA im maternalen Blut vorliegt. Da diese Studie nur Patientinnen bis zur maximal 14. SSW eingeschlossen hat, ist nicht vorauszusagen, ob die fet. Fraktion mit weiter fortschreitender SSW weiterhin linear ansteigt oder gegebenenfalls wieder absinkt. Der Korrelationskoeffizient liegt bei 0,05, was darauf schließen lässt, dass der Zusammenhang der beiden Variablen einen unbedeutenden Effekt aufweist. Auch der  $p$ -Wert von  $p=0,12$  spricht dafür, dass keine Signifikanz vorliegt.

Abb.9.B. zeigt die fet. Fraktion der auffälligen Ergebnisse ( $n=26$ ) in Abhängigkeit von der SSW, in welcher der cfDNA-Test durchgeführt wurde. Der Minimalwert liegt hier bei 6,0% und der Maximalwert bei 26,0%. Die Ergebnisse wurden unterteilt in Trisomie 21 (T21,  $n=16$ ), Trisomie 18 (T18,  $n=6$ ) und Trisomie 13 (T13,  $n=2$ ). Der Mittelwert liegt bei 12,1% bei einem 95%-Konfidenzintervall von 10,2%-14,1%. Die 5. Und 95. Perzentile sind durch gestrichelte Linien eingezeichnet. Es wird deutlich, dass die Mehrheit der Fälle innerhalb der 90%-Vorhersagebänder liegt. Durch die positive Trendlinie wird sichtbar, dass die fet. Fraktion mit zunehmender SSW ansteigt. Allerdings ist kein signifikanter Zusammenhang festzustellen, da  $p=0,13$  ist.

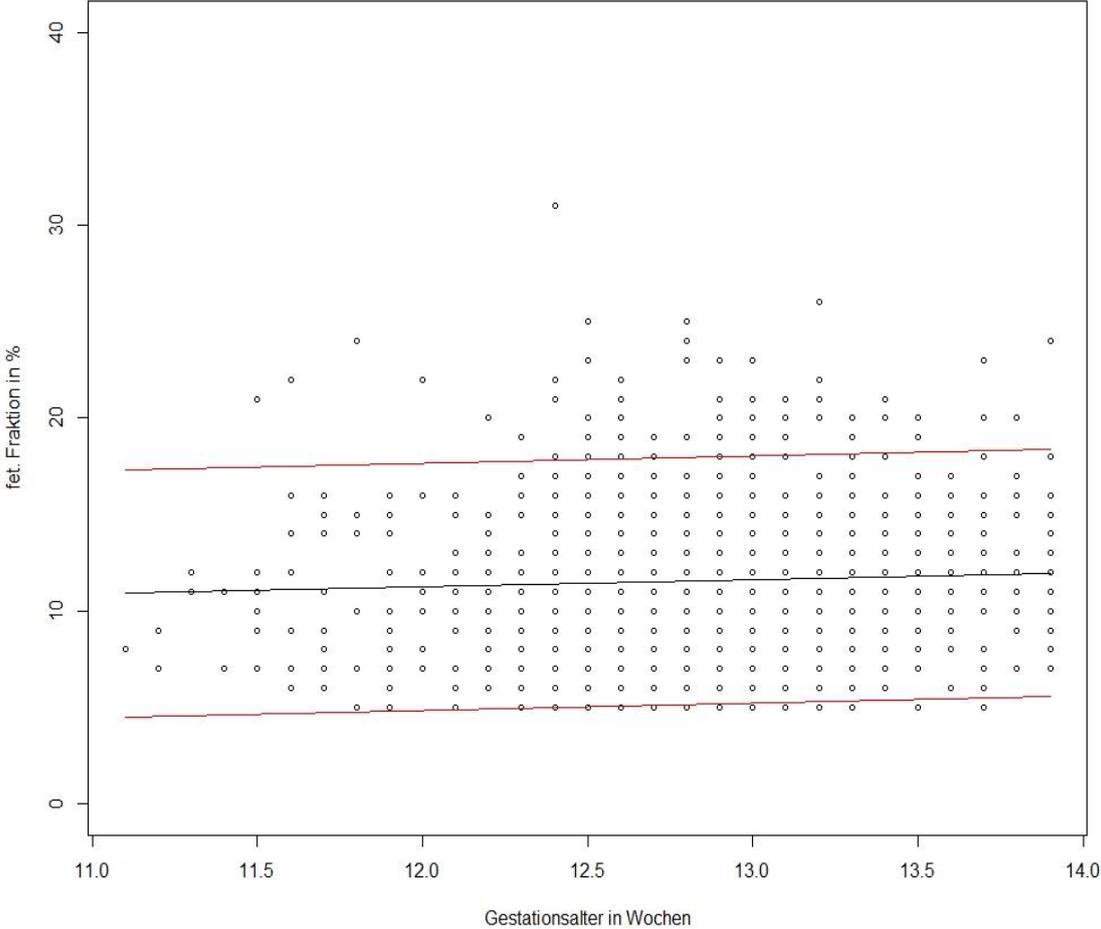


Abb.9.A.

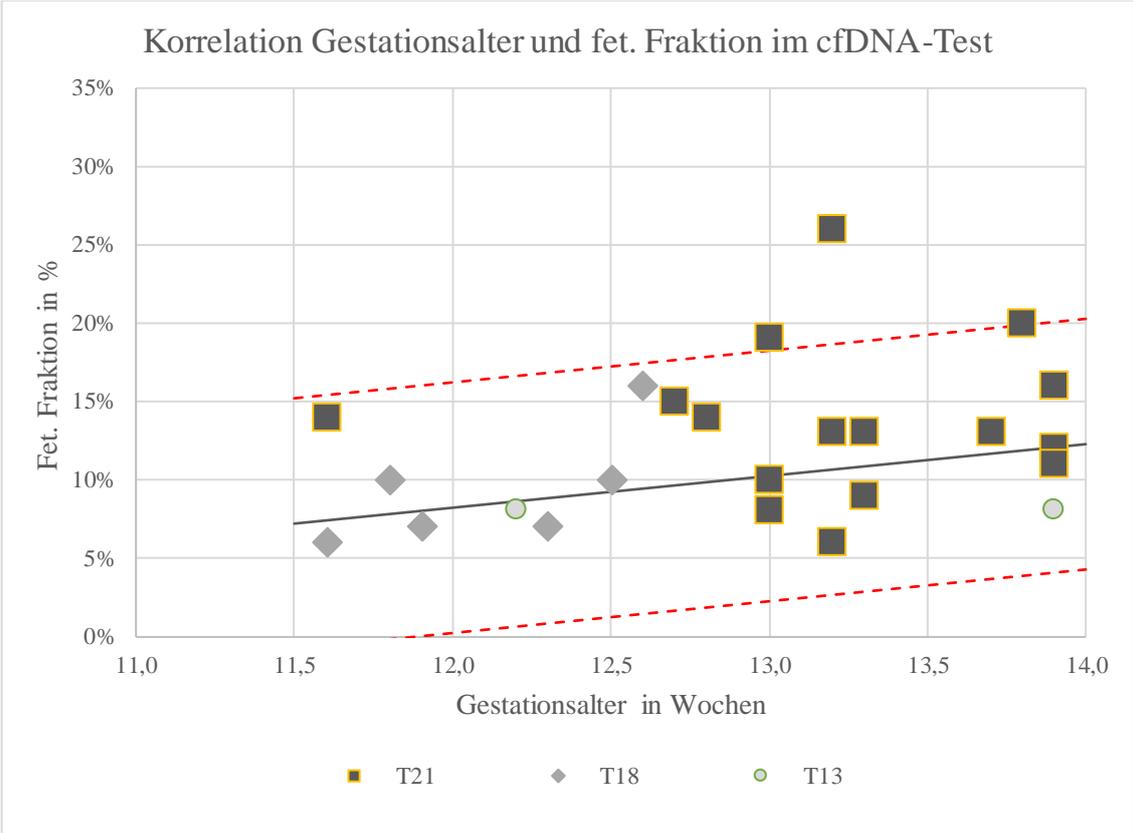


Abb.9.B.

Abb. 9.A+B Korrelation von SSW und fet. Fraktion im cfDNA-Test

### 3.3 Trisomie 21, 18 und 13

Insgesamt gab es im Studienteilnehmerkollektiv 26 Feten, die entweder eine Trisomie 21 (n=16, 62,0%), eine Trisomie 18 (n=8, 31,0%) oder 13 (n=2, 8,0%) aufwiesen. Die Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung, sowie die Serumproteinmarkerlevel und zusätzliche Risikoparameter sind in Tab. 6. aufgelistet. Eine ähnliche Tabelle wurde bereits in der Teilveröffentlichung der Ergebnisse in *Fetal Diagnosis and Therapy*® am 02.09.20 veröffentlicht (15). Auch das Ergebnis des cfDNA-Tests wird in folgender Tabelle in Form des ausgewerteten Karyotyps beschrieben. Unter Tab.6. ist die Legende der verwendeten Abkürzungen zu finden. In zwei Fällen kam es zu nicht auswertbaren Ergebnissen des cfDNA-Tests (Fall 18, Fall 23), wobei beide Feten letztendlich eine Trisomie 18 hatten. Beide Fälle wiesen jedoch sonographisch Auffälligkeiten hinsichtlich multipler fet. Fehlbildungen auf, sodass der Verdacht auf die Chromosomenstörung frühzeitig gestellt werden konnte. Die möglichen Gründe der fehlenden Auswertbarkeit werden in Kapitel 4.5 diskutiert. In allen anderen auffälligen Fällen mit einem Testergebnis erbrachte die cfDNA-Testung ein Hochrisikoergebnis für die jeweilige Trisomie. Die FPR liegt bei 0,0%.

Tab. 6. Untersuchungs- und Testergebnisse der Schwangerschaften mit T21, T18 und T13

Fall-Nr	Mat. Alter (Jahre)	SSL (mm)	NT (mm)	NB /TF /DVF	$\beta$ -HCG/PAPP-A (MoM)	Fet. Anomalie	Karyotyp
1	32,1	65,7	2,9	n/a/a	2,28/0,26	HF	47,XX,+21
2	38,0	72,4	3,9	a/n/n	5,57/1,20	Megazyste	47,XY,+21
3	37,7	74,7	6,0	a/n/a	2,60/1,00	Exomphalos	47,XX,+21
4	37,7	82,7	3,9	a/a/n	-/-	Keine	47,XY,+21
5	38,8	66,7	6,8	n/n/a	4,86/1,22	Keine	47,XX,+21
6	43,8	80,8	4,4	n/n/a	0,80/0,38	Keine	47,XY,+21
7	41,4	70,1	5,9	a/a/n	3,31/0,73	HF	47,XX,+21
8	39,9	73,1	8,4	a/n/n	1,48/0,67	HF	47,XX,+21
9	36,0	82,7	3,7	a/n/n	4,22/1,15	Keine	47,XX,+21
10	38,8	83,0	5,1	n/n/a	1,44/2,01	Keine	47,XY,+21
11	29,9	81,9	4,3	a/a/a	3,44/0,67	Keine	47,XY,+21
12	38,7	69,4	2,9	a/a/a	2,43/0,40	Keine	47,XX,+21
13	41,7	73,3	2,8	n/n/n	1,81/0,74	Keine	47,XY,+21
14	39,8	69,7	3,0	n/a/a	2,84/0,25	Keine	47,XX,+21
15	33,9	51,0	1,0	n/n/n	2,89/1,07	Keine	47,XX,+21
16	32,3	73,5	3,4	a/n/a	1,16/0,59	Keine	47,XY,+21
17	37,4	59,7	3,7	a/n/n	0,23/0,18	Keine	47,XX,+18
18*	39,6	49,7	2,5	a/n/a	0,19/0,37	Multiple	47,XY,+18*
19	37,1	53,2	7,7	a/a/n	0,34/0,32	Multiple	47,XY,+18
20	42,6	50,8	1,5	a/a/a	0,04/0,09	Omphalocele	47,XY,+18
21	36,0	63,2	4,1	n/a/a	0,43/0,19	HF	47,XX,+18
22	39,7	54,1	3,9	a/n/a	0,44/0,30	Multiple	47,XX,+18
23*	36,4	47,3	7,5	a/a/a	0,31/0,10	Multiple	47,XY,+18*
24	39,1	63,5	1,6	n/n/n	0,32/0,52	Keine	47,XX,+18
25	39,9	58,5	1,1	n/n/a	0,32/0,35	Multiple	47,XX,+13
26	35,8	83,4	1,8	a/n/n	0,40/0,31	Multiple	47,XY,+13

a= abnormal, n= normal, \*=kein auswertbares Ergebnis des cfDNA-Tests

Von den 26 auffälligen Schwangerschaften können 20 (77,0%) der Hochrisikogruppe zugeordnet werden. 13 (65,0%) davon weisen eine fet. Anomalie auf und bei 15 (75,0%) ist die NT mit mehr als 3,5 mm erhöht. Mindestens ein anderer Risikomarker (NB, TF und DVF) war bei allen Fällen der Hochrisikogruppe auffällig. Das Durchschnittsalter der Mütter beträgt in dieser Gruppe 37,9 Jahre. Die durchschnittliche SSL des Fetus ist 67,7 mm.

Die anderen sechs Fälle (23,0%) sind Teil der Niedrigrisikogruppe, da sie weder eine fet. Anomalie noch eine NT-Erhöhung aufzeigen. Bei drei (50,0%) davon lassen sich lediglich vereinzelt Risikomarker (NB, TF und DVF) auffällig darstellen. Außerdem zeigen drei (50,0%) typische Veränderungen der Serumproteinmarkerlevel. Das maternale Durchschnittsalter beträgt hier 37,6 Jahre und die durchschnittliche SSL des Fetus 66,7 mm.

In Abb.10. ist die gemessene NT der auffälligen Feten in Relation mit der jeweiligen SSL dargestellt. Die 16 Fälle von Trisomie 21 sind mit Rechtecken gekennzeichnet, die acht Fälle von Trisomie 18 mit einer Raute und die zwei Fälle von Trisomie 13 mit einem Kreis. Zusätzlich zu den Daten der auffälligen Feten sind die 5., die 50., die 95. sowie die 99. Perzentile der Durchschnittswerte gesunder Feten als schwarze Linien eingezeichnet. Dabei wird deutlich, dass die NT-Maße der Feten mit Trisomie mehrheitlich über der 95. Perzentile liegen. Die Fälle mit Trisomie 13 allerdings liegen ausschließlich unter der durchschnittlichen Nackentransparenzdicke der 50. Perzentile.

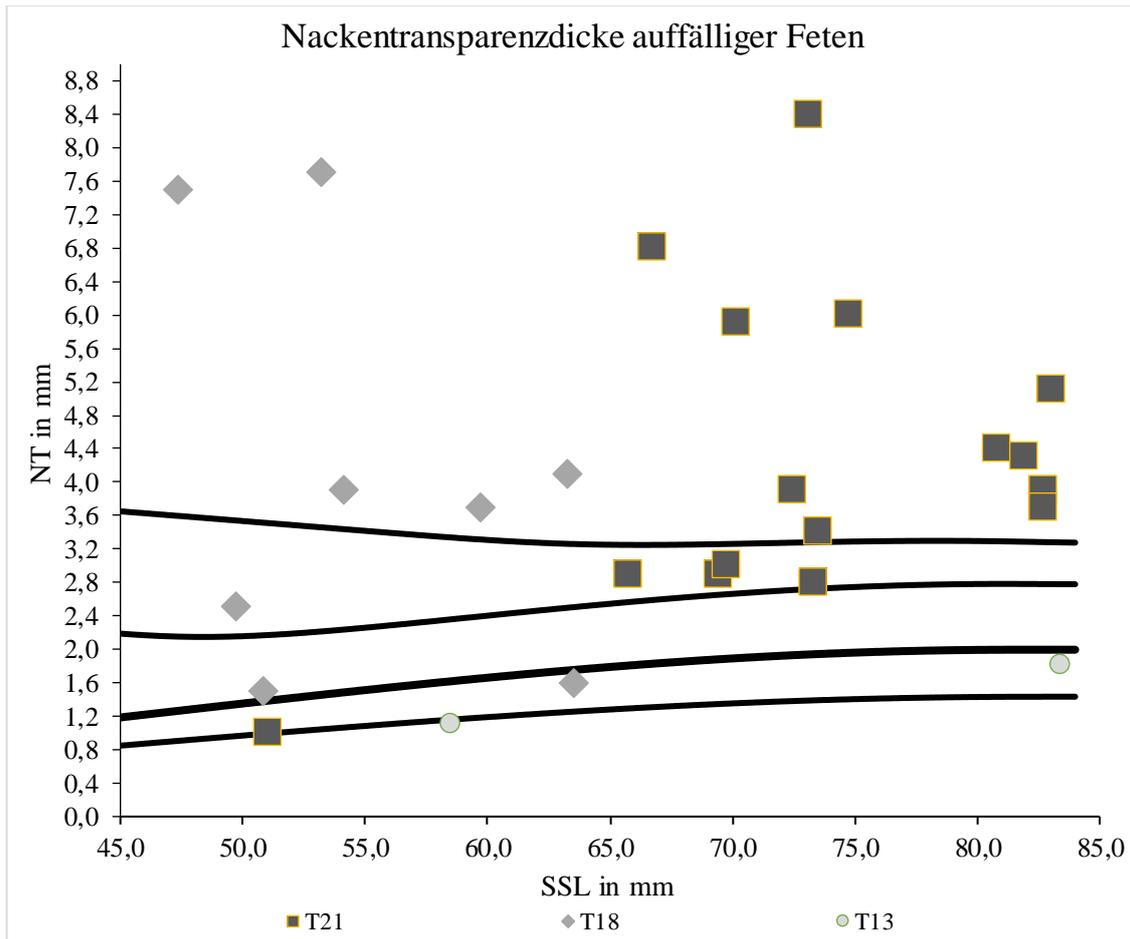


Abb. 10. Nackentransparenzdicke auffälliger Feten

Die von Trisomie betroffenen Chromosomen haben variierende Serumproteinmarkerlevel. Bei einer Trisomie 21 ist es typisch, dass  $\beta$ -HCG erhöht und PAPP-A erniedrigt ist. Somit sind die MoM-Werte für  $\beta$ -HCG zwischen 2,0 und 2,5 und für PAPP-A bei 0,5 zu finden. In der Hochrisikogruppe trifft das bei drei Fällen (27,0%) zu, wobei bei insgesamt sieben Fällen (64,0%) das  $\beta$ -HCG isoliert erhöht ist. In der Niedrigrisikogruppe weisen zwei von fünf Fällen (40,0%) die typischen MoM-Wertveränderungen auf, wobei hier ebenfalls drei Fälle isoliert betrachtet eine  $\beta$ -HCG-Erhöhung zeigen.

Für die Trisomien 18 und 13 ist es typisch, dass  $\beta$ -HCG ebenso wie PAPP-A erniedrigt sind. Die MoM-Werte beider Serumproteinmarker liegen bei etwa 0,3. Dies trat bei allen neun Fällen (100,0%) der Hochrisikogruppe auf.

Die einzige Schwangerschaft mit einer Trisomie 18, die der Niedrigrisikogruppe zugeordnet werden kann, hat  $\beta$ -HCG-Werte von 0,32 MoM und 0,52 MoM für PAPP-A.

Abb.11. und Abb. 12. zeigen die Werte der Serumproteinmarker  $\beta$ -HCG (Abb.11.) und PAPP-A (Abb.12.) von den unauffälligen Schwangerschaften unserer Studie (n=1101) im Vergleich zu den auffälligen Schwangerschaften, unterteilt in Trisomie 21 (n=16) und Trisomie 18/13 (n=10), in mehreren Boxplots. Die Serumproteinmarkerwerte werden in MoM angegeben.

In Abb.11. ist die Messung des  $\beta$ -HCGs abgebildet. Der Median der unauffälligen Schwangerschaften liegt bei 1,10 MoM. Der Interquartilsabstand ist 0,90 MoM und geht von 0,76 MoM bis 1,66 MoM. Das Minimum liegt bei 0,15 MoM und das Maximum bei 7,13 MoM. Der Median der auffälligen Schwangerschaften ist 2,60 MoM für Trisomie 21 und 0,32 MoM für Trisomie 18/13. Somit liegt der Median für Trisomie 21 über und der Median für Trisomie 18/13 unter dem Median der unauffälligen Schwangerschaften. Der Interquartilsabstand des Boxplots für Trisomie 21 geht von 1,65 MoM bis 3,38 MoM. Das Minimum liegt bei 0,80 MoM und das Maximum bei 5,57 MoM. Der Interquartilsabstand des Boxplots für Trisomie 18/13 geht von 0,25 MoM bis 0,39 MoM und ist mit 0,14 MoM viel enger als die der anderen Schwangerschaften. Das Minimum liegt für Trisomie 18/13 bei 0,04 MoM und das Maximum bei 0,44 MoM.

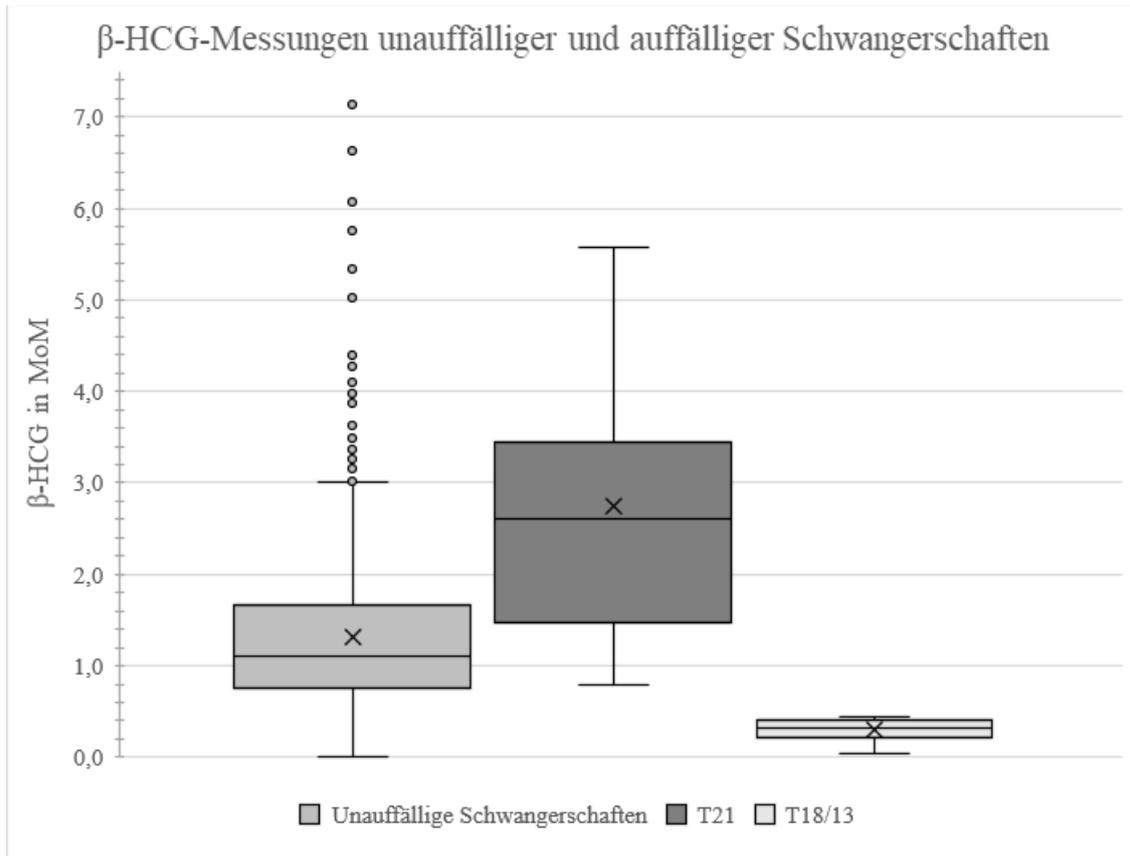


Abb. 11.  $\beta$ -HCG-Messungen unauffälliger und auffälliger Schwangerschaften

In Abb.12. ist die Messung des PAPP-As abgebildet. Der Median der unauffälligen Schwangerschaften liegt bei 1,19 MoM. Der Interquartilsabstand ist 0,74 MoM und geht von 0,85 MoM bis 1,59 MoM. Das Minimum liegt bei 0,16 MoM und das Maximum bei 5,98 MoM. Der Median der auffälligen Schwangerschaften ist 0,73 MoM für Trisomie 21 und 0,31 MoM für Trisomie 18/13. Somit liegen beide Mediane der auffälligen Schwangerschaften unter dem der unauffälligen Schwangerschaften. Der Interquartilsabstand des Boxplots für Trisomie 21 geht von 0,50 MoM bis 1,11 MoM. Das Minimum liegt bei 0,25 MoM und das Maximum bei 2,01 MoM. Der Interquartilsabstand des Boxplots für Trisomie 18/13 geht von 0,18 MoM bis 0,34 MoM und ist, wie in Abb.11., mit 0,16 MoM viel enger als die der anderen Schwangerschaften. Das Minimum liegt für Trisomie 18/13 bei 0,09 MoM und das Maximum bei 0,52 MoM.

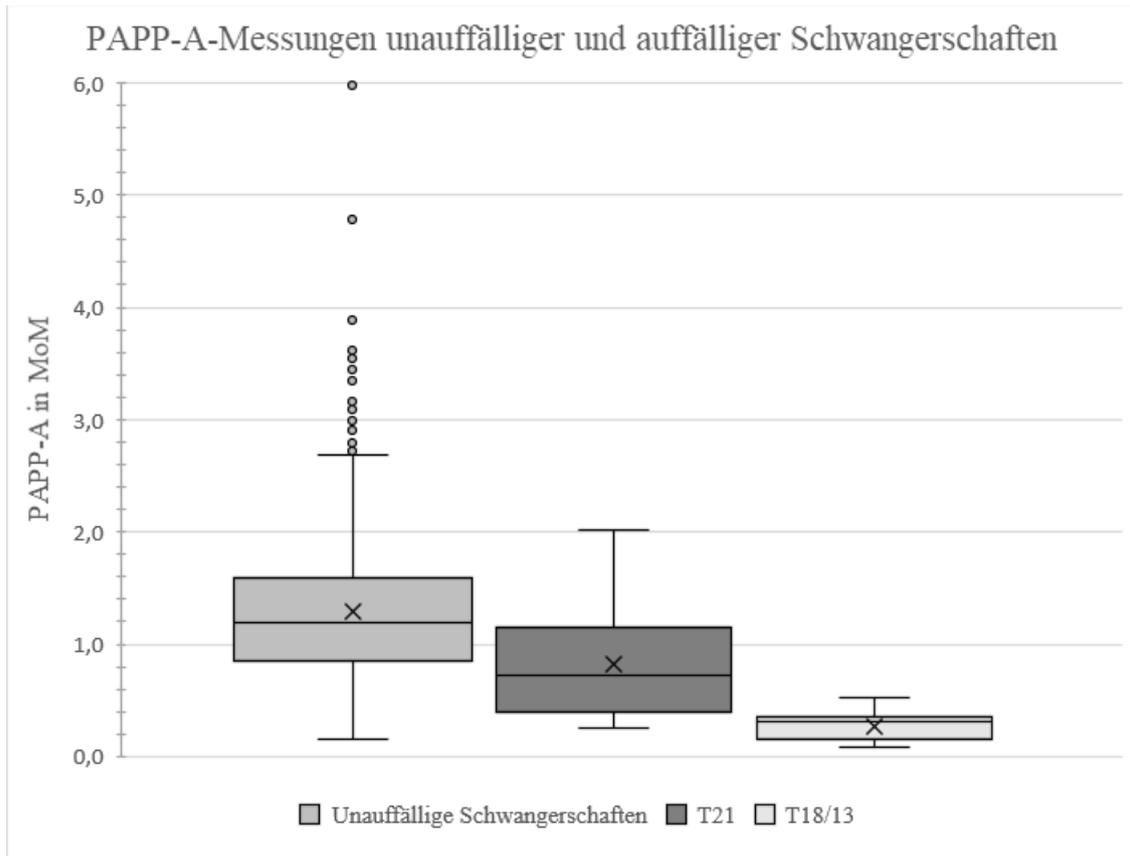


Abb. 12. PAPP-A-Messungen unauffälliger und auffälliger Schwangerschaften

### 3.4 Testversager

Innerhalb des gesamten Studienkollektivs kam es während der ersten Abnahme des cfDNA-Tests zu 15 Testversagern (1,33%, 95%-Konfidenzintervall 0,75%-2,19%). Diese wurden erneut vorgeladen, um ein zweites Mal Blut abgenommen zu bekommen, damit der cfDNA-Test nochmals durchgeführt werden konnte. Beim zweiten Durchlauf erbrachten fünf Proben auswertbare Ergebnisse und zehn Fälle (0,89%) erbrachten weiterhin kein Ergebnis. Von diesen zehn Fällen konnten drei (4,6%) der Hochrisiko- und sieben (0,66%) der Niedrigrisikogruppe zugeordnet werden. Alle drei Kinder der Testversager der Hochrisikogruppe kamen mit einer fet. Fehlbildung bzw. einem Syndrom auf die Welt. Zwei hatten Trisomie 18 und ein Kind wies eine Omphalocele auf. Die sieben Kinder der Niedrigrisikogruppentestversager kamen gesund zur Welt.

Tab. 7. Charakteristika der Studienteilnehmer, bei denen die 1. Blutentnahme (BE) unerfolgreich war und der kompletten Testversager mit 2 unerfolgreichen BEs

	<b>1.BE unerfolgreich n=15</b>	<b>2.BE unerfolgreich (komplette Testversager) n=10</b>
Maternales Alter in Jahren Median (25.-75. Perzentile)	34,3 (32,5-36,2)	34,3 (29,3-36,3)
Gestationsalter in Wochen Median (25.-75. Perzentile)	12,5 (11,9-12,8)	12,2 (11,6-12,7)
Maternales Gewicht in kg Median (25.-75. Perzentile)	69,5 (64,2-87,3)	67,2 (61,6-69,4)
Raucher n (%)	0 (0)	0 (0)
Kaukasische Herkunft n (%)	15 (100)	10 (100)
Ass. Reproduktion n (%)	2 (13,3)	1 (10)
SSL in mm Median (25.-75. Perzentile)	62,8 (54,3-66,7)	58,4 (50,7-66,2)
NT in mm Median (25.-75. Perzentile)	1,8 (1,6-2,1)	1,8 (1,5-2,1)
Fet. Anomalien n (%)	3 (20)	0 (0)

### 3.5 Fälle mit falsch-positivem Ergebnis

Insgesamt gab es drei Fälle (0,27%, 95%-Konfidenzintervall 0%-0,78%) mit einem positiven cfDNA-Test auf Mikrodeletion 22q11.2, von denen alle drei Frauen der Niedrigrisikogruppe zugeteilt waren. Es gab weder Auffälligkeiten im kombinierten ETS noch waren kranke Kinder in der Vorgeschichte bekannt. Die fet. Fraktion betrug 6,0%, 7,0% und 9,0%. In der Hochrisikogruppe kam es zu keinem positivem Testergebnis auf das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2. Die Charakteristika der drei Studienteilnehmerinnen sind in Tab. 8. aufgelistet.

Als Kontrolle wurden allen drei Schwangeren ein weiterer cfDNA-Test abgenommen. In zwei Fällen fiel dieser negativ aus. Bei einer Probandin (Fall 3) bestätigte sich das positive Ergebnis auf Mikrodeletion 22q11.2. Trotz der variierenden Ergebnisse des zweiten Bluttests, wurde allen drei Frauen eine weiterführende invasive Diagnostik

angeboten und auch von jeder einzelnen wahrgenommen. Zwei Frauen entschieden sich für eine CVS, eine Frau für eine AC. Alle drei Ergebnisse der invasiven Diagnostik waren unauffällig. Die postnatale Testung mittels Plazentaanalyse oder Nabelschnurblutuntersuchung (NSB) ergab ebenfalls keinen Verdacht auf das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2. Die Plazentaanalyse wurde in zwei Fällen (darunter auch der zweifach positive Bluttest-Fall 3) und die Nabelschnurblutuntersuchung in einem Fall durchgeführt. Die Untersuchung der Neugeborenen durch den Kinderarzt, sowie die Chromosomenanalyse der Eltern, waren ebenfalls unauffällig. Folglich gab es keinen Anhaltspunkt auf eine Mikrodeletion 22q11.2. Somit liegt die FPR bei 0,27%.

Tab. 8. Charakteristika der drei Fälle mit falsch-positivem cfDNA-Testergebnis auf Mikrodeletion 22q11.2

	<b>Fall 1</b>	<b>Fall 2</b>	<b>Fall 3</b>
Maternales Alter in Jahren	35,2	41,3	29,7
Gestationsalter in Wochen	12,4	13,4	12,9
Maternales Gewicht in kg	63,5	129,0	56,8
Ethnie	Kaukasisch	Kaukasisch	Afro-Karibisch
Raucher	Nein	Nein	Nein
Ass. Reproduktion	Nein	Nein	Nein
Med. Vorgeschichte	Nein	Nein	Drepanozytose
SSL in mm	61,5	76,1	67,7
NT in mm	1,5	2,0	1,9
NB/TF/DVF	n/n/n	n/n/n	n/n/n
Fet. Anomalien	Nein	Nein	Nein
$\beta$ -HCG in MoM	1,19	1,74	0,06
PAPP-A in MoM	1,82	1,38	0,80
Gruppe	Niedrigrisiko	Niedrigrisiko	Niedrigrisiko
Fet. Fraktion in %	9,0	7,0	6,0
SS-Komplikationen	BS in SSW 36	Nein	Nein
2. cfDNA-Testergebnis	No evidence	No evidence	High probability
Invasive Diagnostik	CVS	Amniozentese	CVS
SSW bei Geburt	36,3	37,3	37,0
Postnatale Analyse	NSB	Plazenta	Plazenta
Auffälligkeiten Kind	Nein	Nein	Nein

### 3.6 Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2

Vor der Ultraschalluntersuchung wurde der Fragebogen zur Einschätzung der Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2 im Vergleich zu anderen Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen sowie Syndromen ausgehändigt. 983 Frauen (87,2%) füllten diesen aus und gaben ihn anonymisiert zurück. Alle gaben ihren höchsten Bildungsabschluss an. Von den 983 Patientinnen, die den Fragebogen zurückgaben, haben 42 (4,3%) die Hauptschule besucht, 123 (12,5%) die Realschule und 51 (5,2%) das Gymnasium. 228 (23,2%) Studienteilnehmerinnen haben eine abgeschlossene Lehre, 453 (46,1%) ein Studium absolviert und 86 (8,7%) promoviert.

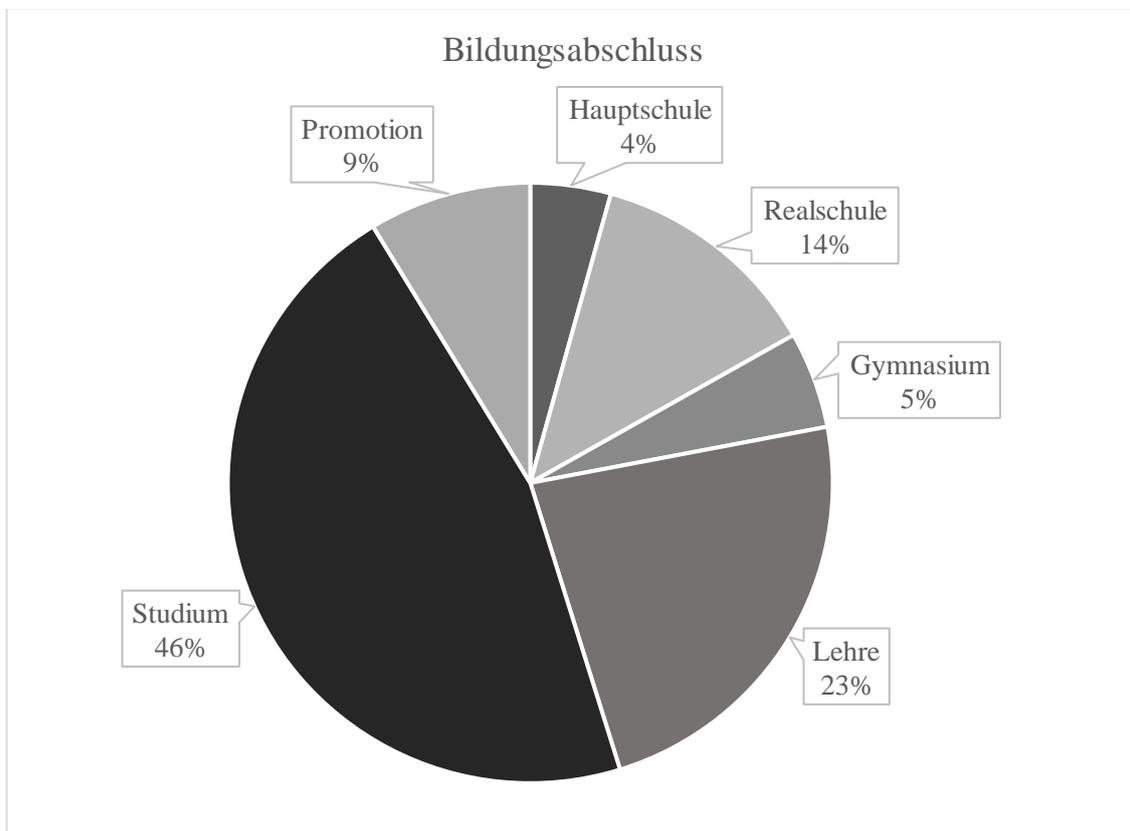


Abb. 13. Prozentuale Angabe des höchsten erlangten Bildungsabschlusses

Nur 80 Frauen (8,1%, 95%-Konfidenzintervall 6,5%-10,0%) geben an, das Mikrodeletionssyndrom gut (5,8%) oder sehr gut (2,3%) zu kennen. 91,9% (95%-Konfidenzintervall 90,0%-93,5%) ist die Mikrodeletion 22q11.2 eher bis völlig unbekannt.

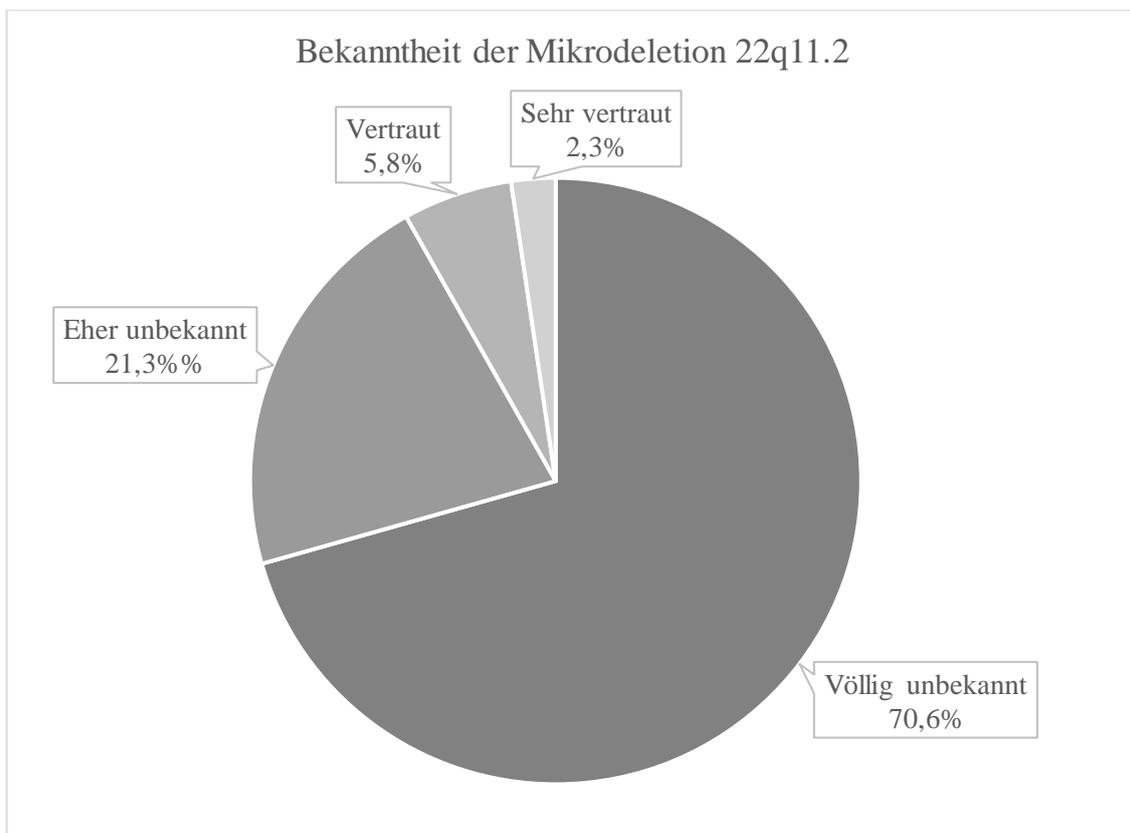


Abb. 14. Prozentuale Darstellung der Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2

Dagegen geben 800 der Frauen (81,4%) an, Trisomie 21 sei ihnen vertraut oder sogar sehr vertraut. Nur 183 Patientinnen (18,6%) ist das Syndrom eher bis völlig unbekannt. Der Unterschied wird gut sichtbar, wenn Abb.14. und Abb.15. verglichen werden.

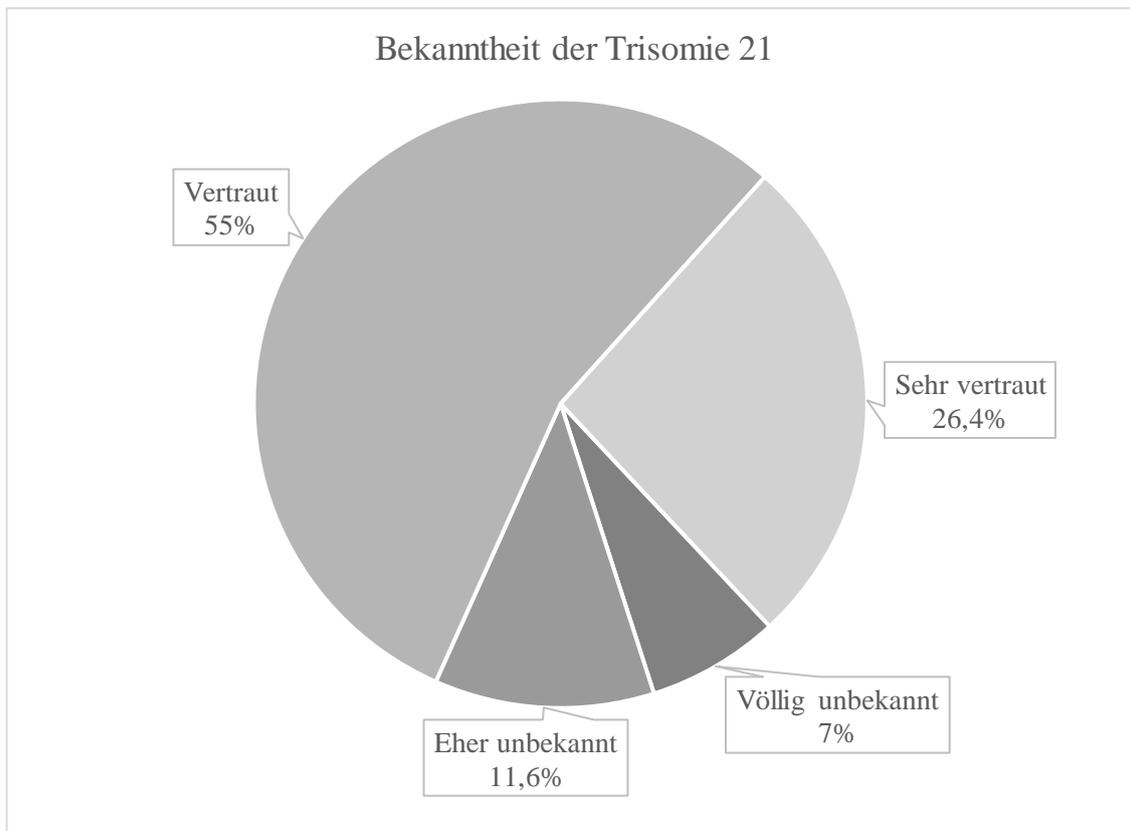


Abb. 15. Prozentuale Darstellung der Bekanntheit der T21

Für keine andere Schwangerschaftskomplikation war die Bekanntheit unter den Studienteilnehmerinnen so niedrig, wie für das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2. Wie vertraut die Frauen mit den anderen Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen, sowie Syndromen im Vergleich dazu sind, wird in Abb.16. aufgeführt. Hierfür wurden die Antwortmöglichkeiten „vertraut“ und „sehr vertraut“ zusammengefasst. Es ist zu erkennen, dass neben der Mikrodeletion 22q11.2 (MD22q11.2) auch die Trisomien 18 (T18, 26,1%) und 13 (T13, 22,6%) eher unbekannt sind. Ebenso scheint der intrauterine Kleinwuchs (IUGR) Schwangeren mit lediglich 24,4% nicht besonders bekannt zu sein. Am bekanntesten ist mit 81,4% die Trisomie 21 (T21). Auch häufigere Komplikationen wie Präeklampsie (Präek., 54,3%) und Gestationsdiabetes (GDM, 47,9%) sind den

Frauen vertrauter als das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2. Unter den Infektionen ist die Ansteckung mit Toxoplasmose (Toxo) am geläufigsten (63,5%). Die fet. Fehlbildungen wie Herzfehler (HF, 56,0%) und Spina bifida (SB, 53,9%) sind ungefähr der Hälfte der befragten Patientinnen ein Begriff.

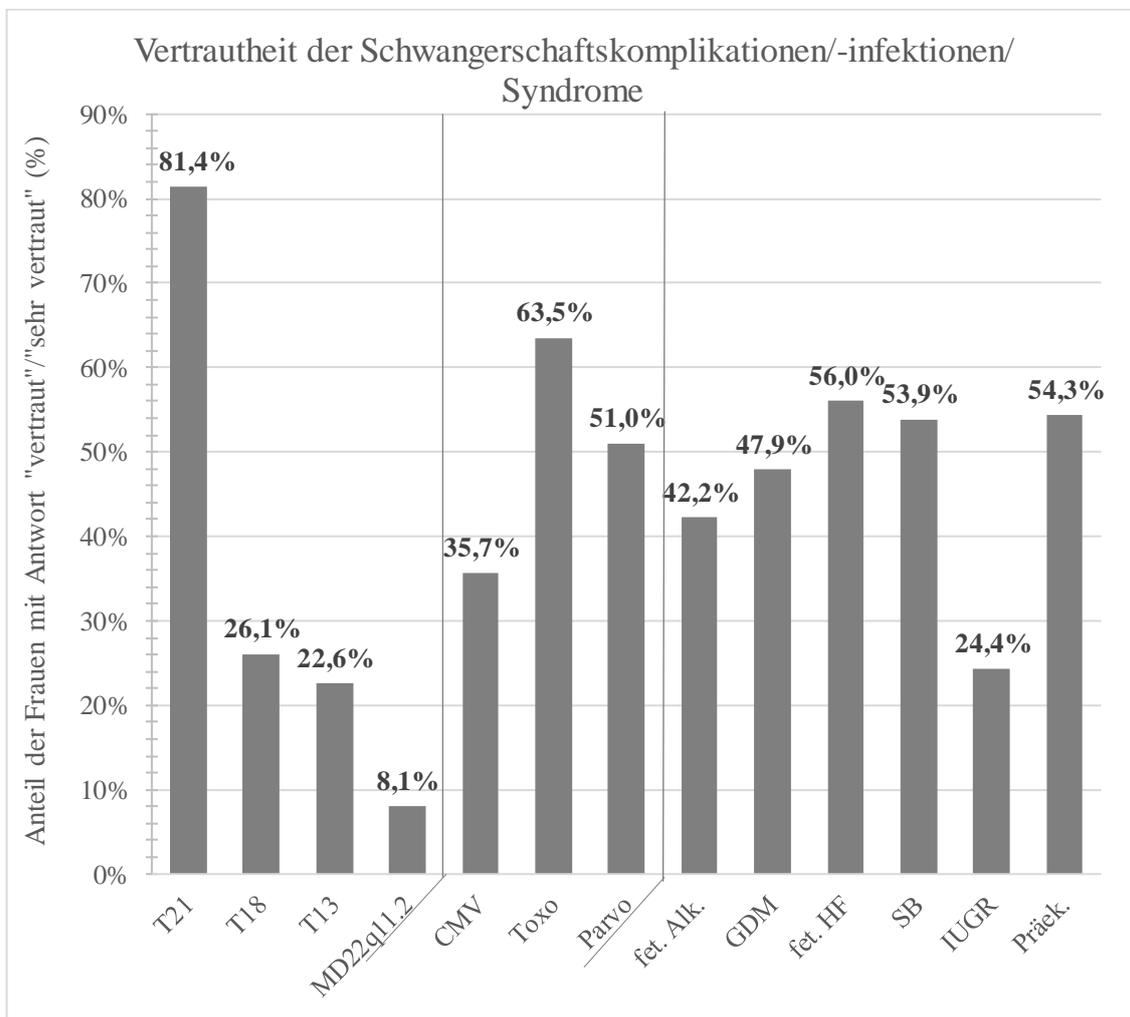


Abb. 16. Vertrautheit der Patientinnen gegenüber Schwangerschaftskomplikationen, -infektionen und Syndromen

Je höher der zuletzt erlangte Bildungsabschluss, desto bekannter wird die Mikrodeletion 22q11.2. Am bekanntesten ist die Mikrodeletion unter den promovierten Studienteilnehmerinnen. 27,0% geben an, dass ihnen die Chromosomenaberration vertraut sei und weiteren 11,6% sei sie sogar sehr vertraut. Im Vergleich zu anderen Abschlussgruppen ist dieser Prozentanteil mehr als doppelt so hoch. Danach folgen mit

6,8% die Studienteilnehmerinnen mit einem Hochschulabschluss. 3,5 % der Studienteilnehmerinnen mit abgeschlossener Lehre ist die Deletion vertraut, allerdings keiner sehr vertraut. Studienteilnehmerinnen, die einen Hauptschulabschluss erlangt haben, ist das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 eher unbekannt bis völlig unbekannt. Völlig unbekannt ist die Mikrodeletion 22q11.2 bei mehr als der Hälfte der Studienteilnehmerinnen, mit Ausnahme der Promovierten. Am höchsten ist der Anteil der Stimmen mit „völlig unbekannt“ bei den Studienteilnehmerinnen, die das Abitur erlangt haben (80,4%). Dafür ist der Stimmanteil der Antwortmöglichkeit „eher unbekannt“ bei eben dieser Gruppe mit 15,7% am geringsten von allen Gruppen. Alles in allem haben alle Schwangeren zu keiner Schwangerschaftskomplikation oder -infektion so wenig Wissen, wie über die Mikrodeletion 22q11.2. Das Balkendiagramm in Abb.17. zeigt die Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2 in Prozent verteilt auf den jeweilig höchsten Bildungsabschluss der Studienteilnehmerin (Hauptschule: n=42; Realschule: n=123, Gymnasium: n=51, Lehre: n=228, Studium: n=453, Promotion: n=86). Die Antwortmöglichkeiten sind im jeweiligen Balken aufsteigend beginnend mit völlig unbekannt über eher unbekannt zu vertraut und zuletzt sehr vertraut. Fehlen Prozentangaben eines Balkens, so sind diese 0,0%. Dies ist bei „vertraut“, sowie „sehr vertraut“ des Hauptschulabschluss-Balkens und bei „sehr vertraut“ des Lehre-Balkens der Fall. Die absoluten Zahlen der Antworten aufgeteilt nach Bildungsabschluss finden sich in Tab.9. wieder.

Tab. 9. Bekanntheitsgrad der Mikrodeletion 22q11.2 nach Bildungsabschluss

	<b>Völlig unbekannt</b>	<b>Eher unbekannt</b>	<b>Vertraut</b>	<b>Sehr vertraut</b>
Hauptschule (n=42) n (%)	30 (71,4)	12 (28,6)	0 (0,0)	0 (0,0)
Realschule (n=123) n (%)	88 (71,5)	29 (33,6)	4 (3,3)	2 (1,6)
Gymnasium (n=51) n (%)	41 (80,4)	8 (15,7)	1 (2,0)	1 (2,0)
Lehre (n=228) n (%)	165 (72,4)	55 (24,1)	8 (3,5)	0 (0,0)
Studium (n=453) n (%)	340 (75,1)	82 (18,1)	21 (4,6)	10 (2,2)
Promotion n=86 n (%)	30 (34,9)	23 (26,7)	23 (26,7)	10 (11,6)

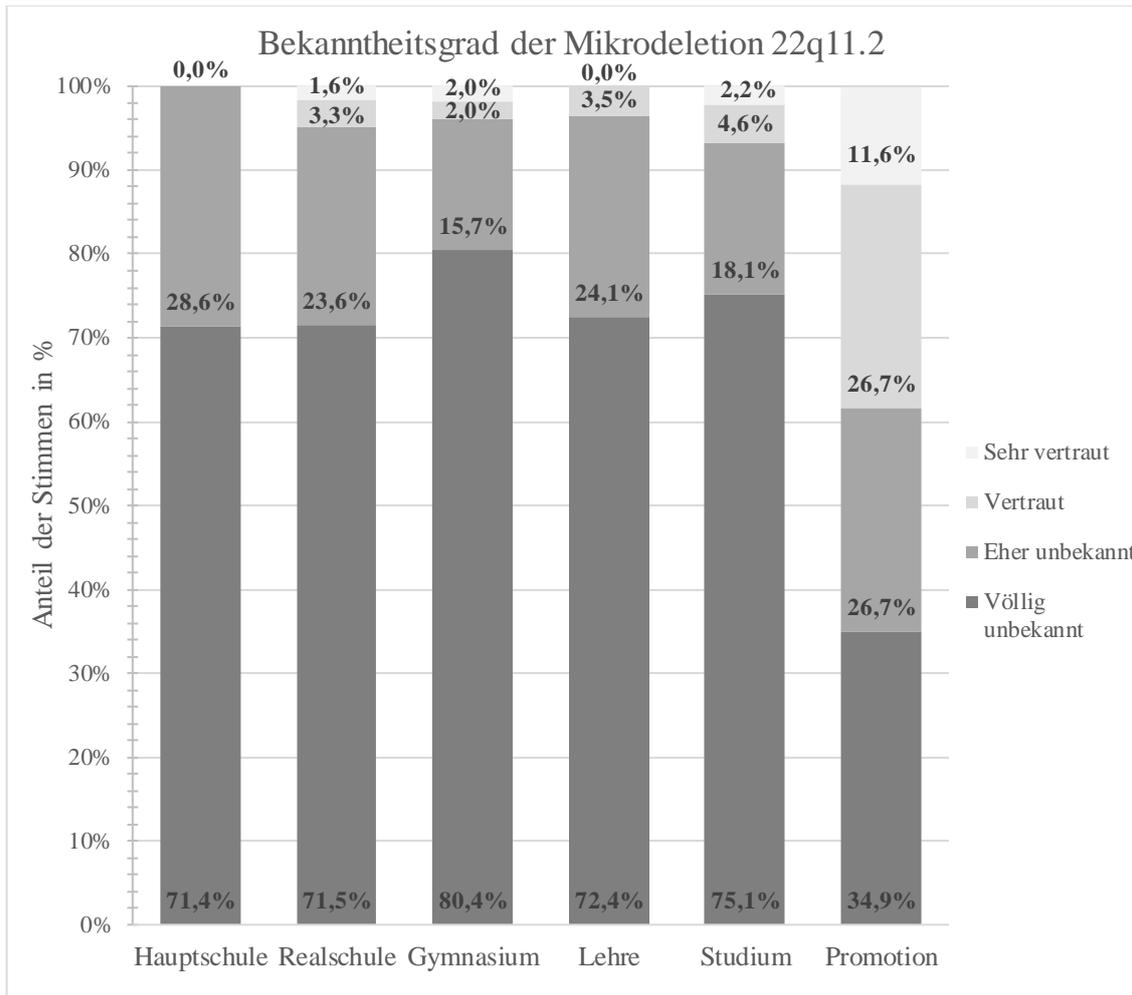


Abb. 17. Bekanntheitsgrad der Mikrodeletion 22q11.2 nach Bildungsabschluss

### 3.7 Zufriedenheit der Patienten

Der zweite Fragebogen vier Wochen nach der Untersuchung wurde von 1067 Studienteilnehmerinnen (94,7%) erfolgreich beantwortet. Hierbei wurde die Aufmerksamkeit auf die Zufriedenheit der Patientinnen mit dem kombinierten ETS und dem cfDNA-Test gelegt.

Von den 1067 Frauen, die Rückmeldung via Fragebogen über ihre subjektive Zufriedenheit gaben, waren 1049 (98,3%, 95%-Konfidenzintervall 97,4%-99,0%) zufrieden bis sehr zufrieden mit dem kombinierten ETS im Allgemeinen. Wird dieses Ergebnis nochmal in zwei Teile aufgliedert (Erster Teil: Ultraschalluntersuchung und Beratung, Zweiter Teil; cfDNA-Test), so waren es beim ersten Teil 98,4% (95%-Konfidenzintervall 97,5%-99,0%) und beim zweiten Teil 97,9% (95%-

Konfidenzintervall 96,9%-98,7%). Unzufrieden bis sehr unzufrieden mit dem kombinierten ETS inklusive cfDNA-Testung waren 1,7% der Schwangeren (95%-Konfidenzintervall 1,0%-2,7%). Lediglich sechs Frauen (0,6%, 95%-Konfidenzintervall 0,2%-1,2%) bzw. neun Frauen (0,8%, 95%-Konfidenzintervall 0,4%-1,6%) gaben an, mit dem ersten Teil bzw. dem zweiten Teil sehr unzufrieden gewesen zu sein. Abb.18. zeigt die Zufriedenheit der Studienteilnehmerinnen als gruppiertes Balkendiagramm mit den jeweils zu bewertenden Untersuchungsschritten. Die Studienteilnehmerinnen konnten das kombinierte ETS im Allgemeinen, die Ultraschalluntersuchung und die Beratung, ebenso wie den cfDNA-Test im Speziellen mittels der Antwortmöglichkeiten sehr unzufrieden, unzufrieden, zufrieden und sehr zufrieden bewerten. Die Antwortmöglichkeiten sind auf der y-Achse zu finden. Auf der x-Achse sind die absoluten Stimmen aufgeführt.

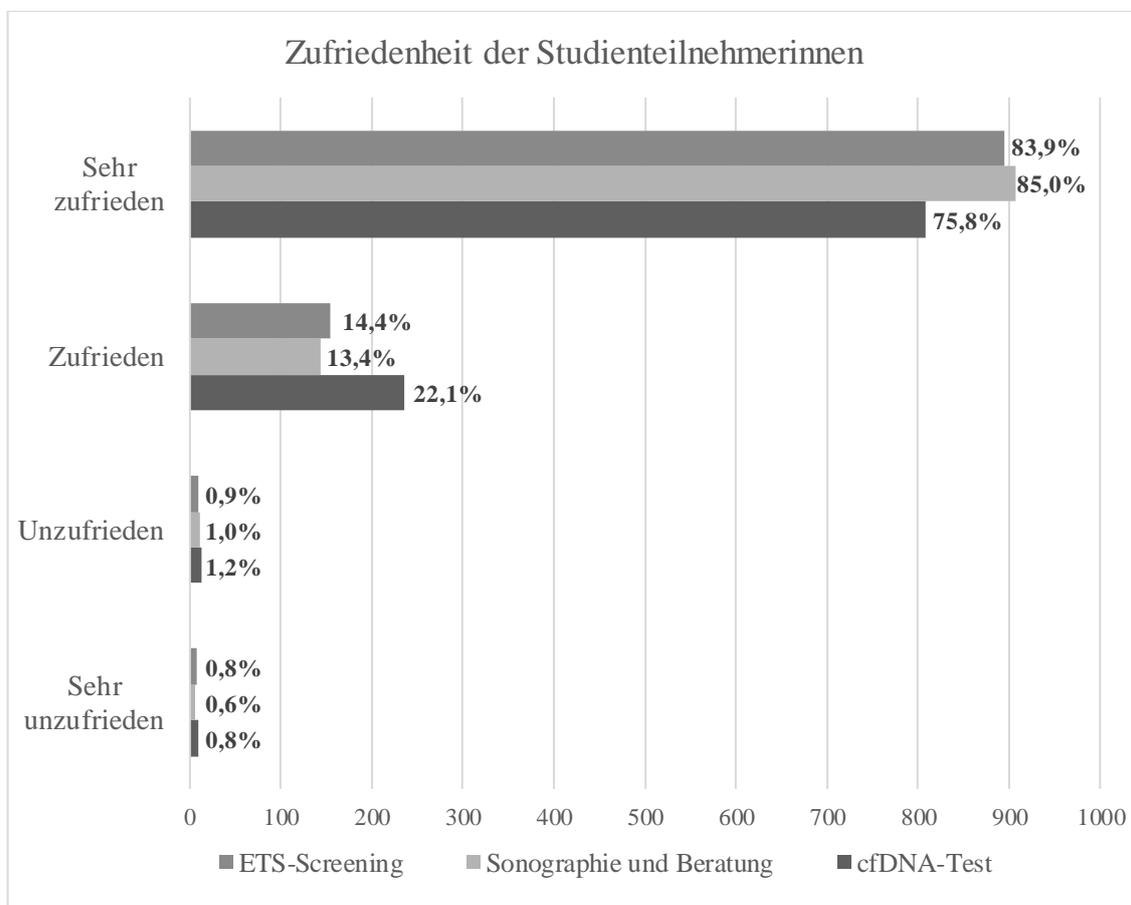


Abb. 18. Zufriedenheit der Studienteilnehmerinnen über das kombinierte ETS-Screening, die Ultraschalluntersuchung und Beratung, sowie über den cfDNA-Test

Aus der Hochrisikogruppe nahmen 40 Schwangere (61,5%) an dem Fragebogen teil. Davon waren 97,5% (95%-Konfidenzintervall 86,8%-99,9%) insgesamt zufrieden bis sehr zufrieden. In der Niedrigrisikogruppe, von denen 1027 Frauen (96,7%) den Fragebogen bearbeiteten, lag die allgemeine Zufriedenheit mit 98,3% (95%-Konfidenzintervall 97,4%-99,0%) etwas höher. Nur eine Person (2,5%) aus der Hochrisikogruppe war mit dem kombinierten ETS und der cfDNA-Testung unzufrieden bis sehr unzufrieden. In der Niedrigrisikogruppe waren es prozentual gesehen noch weniger mit durchschnittlich 1,8% (95%-Konfidenzintervall 1,0%-2,6%). Die Einteilung der gegebenen Antworten in die einzelnen Risikogruppen sind in Abb.19. dargestellt. Der dunkel gefärbte Balken ist der Hochrisikogruppe zugeordnet, der Helle der Niedrigrisikogruppe. Über den Balken steht die jeweilige Gesamtprozentzahl.

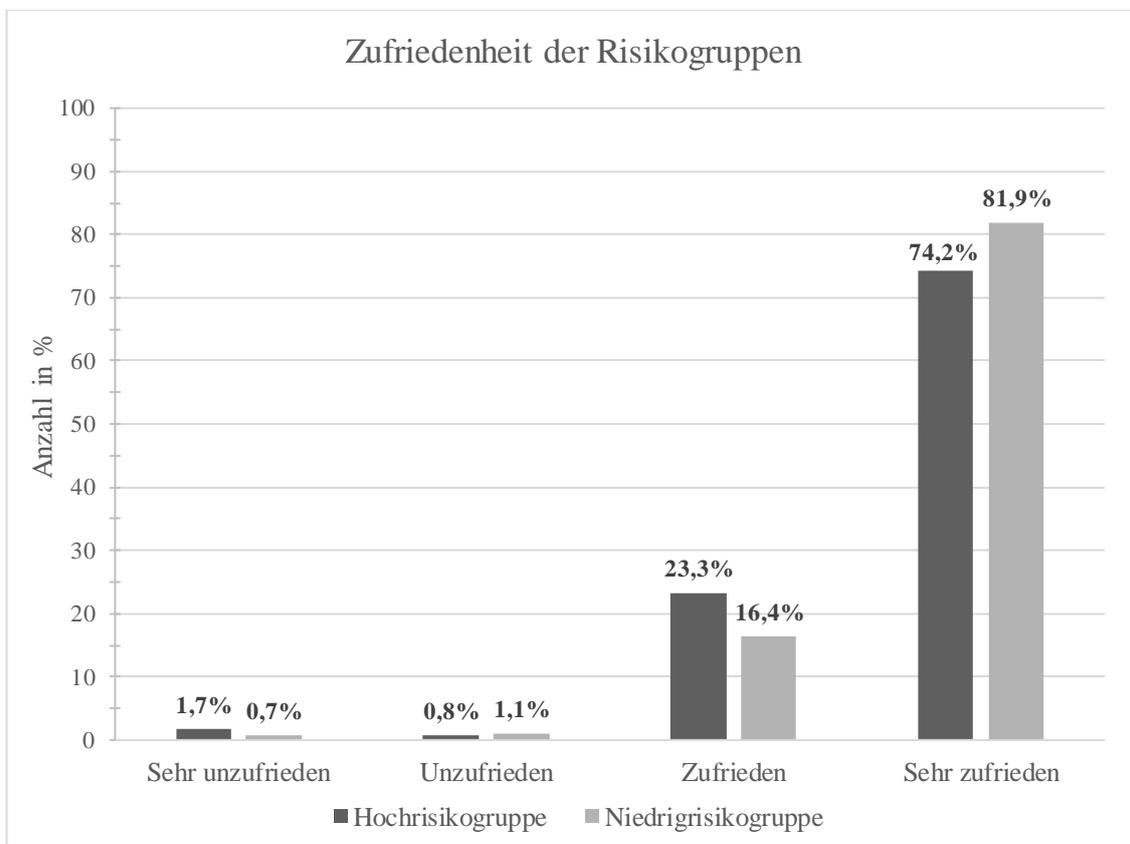


Abb. 19. Zufriedenheit der Risikogruppen mit dem kombinierten ETS

Der cfDNA-Test wurde von beiden Risikogruppen überwiegend positiv bewertet. 97,5% der Studienteilnehmerinnen (95%-Konfidenzintervall 86,8%-99,9%) der Hochrisikogruppe gaben an, zufrieden bis sehr zufrieden mit dem Test gewesen zu sein. Die Frauen der Niedrigrisikogruppe waren mit 97,9% (95%-Konfidenzintervall 96,9%-98,7%) noch etwas zufriedener. Wird innerhalb der positiven Bewertungen ein Unterschied zwischen „zufrieden“ und „sehr zufrieden“ gemacht, so wird deutlich, dass die Schwangeren der Niedrigrisikogruppe mit 76,1% (95%-Konfidenzintervall 73,4%-78,7%) für „sehr zufrieden“ deutlich über der Angabe der gleichen Antwortmöglichkeit der Frauen der Hochrisikogruppe lagen. Diese gaben zu 67,5% (95%-Konfidenzintervall 50,9%-81,4%) an, mit dem cfDNA-Test sehr zufrieden gewesen zu sein. Die umfassenden Angaben der Zufriedenheit des einzelnen Risikogruppen sind in Tab. 10. und Tab.11. dargelegt.

Tab. 10. Zufriedenheit der Hochrisikogruppe

<b>Hochrisikogruppe n=40</b>	<b>Kombiniertes ETS</b>	<b>Sonographie und Beratung</b>	<b>cfDNA-Test</b>
Sehr unzufrieden n (%)	1 (2,5)	1 (2,5)	0 (0)
Unzufrieden n (%)	0 (0)	0 (0)	1 (2,5)
Zufrieden n (%)	10 (25)	6 (15)	12 (30)
Sehr zufrieden n (%)	29 (72,5)	33 (82,5)	27 (67,5)

Tab. 11. Zufriedenheit der Niedrigrisikogruppe

<b>Niedrigrisikogruppe n=1027</b>	<b>Kombiniertes ETS</b>	<b>Sonographie und Beratung</b>	<b>cfDNA-Test</b>
Sehr unzufrieden n (%)	7 (0,7)	5 (0,5)	9 (0,9)
Unzufrieden n (%)	10 (1)	11 (1,1)	12 (1,2)
Zufrieden n (%)	144 (14)	137 (13,3)	224 (21,8)
Sehr zufrieden n (%)	866 (84,3)	874 (85,1)	782 (76,1)

Die drei Frauen mit dem falsch-positiven Testergebnis waren alle (100,0%) sehr zufrieden mit der Ultraschalluntersuchung und der Beratung. Allerdings waren auch alle drei (100,0%) sehr unzufrieden mit dem cfDNA-Test.

Von den Frauen, bei deren Kindern eine Trisomie festgestellt wurde, nahmen lediglich drei (11,5%) an der Umfrage teil. Mit der Ultraschalluntersuchung und der Beratung waren alle drei (100,0%) zufrieden. Eine Frau gab an, mit dem cfDNA-Test unzufrieden gewesen zu sein, die anderen zwei waren zufrieden und sogar sehr zufrieden.

### **3.7.1 Einschätzung der Untersuchung**

Von den 1067 Schwangeren, die bei der zweiten Umfrage teilnahmen und die nach der Ultraschalluntersuchung den cfDNA-Test abgenommen bekommen haben, sind 1023 Frauen (95,9%, 95%-Konfidenzintervall 94,5%-97,0%) der Meinung, dass die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 sinnvoll bis sehr sinnvoll ist. Davon gehörten 39 der Hochrisikogruppe (3,8%) und 984 der Niedrigrisikogruppe (96,2%) an. Betrachtet man die Hochrisikogruppe (n=40) separat, so wird deutlich, dass die Mehrheit der Studienteilnehmerinnen mit Risikofaktoren (97,5%, 95%-Konfidenzintervall 86,8%-99,9%) der erweiterten Untersuchung Sinn beimessen. In der Niedrigrisikogruppe (n=1027) sind es mit 95,8% (95%-Konfidenzintervall 94,4%-97,0%) etwas weniger.

Nur 13 Frauen (1,2%, 95%-Konfidenzintervall 0,7%-2,1%) finden die Erweiterung des cfDNA-Tests absolut sinnfrei, wobei alle der Niedrigrisikogruppe angehören. Die prozentuale Verteilung der Antworten aller Studienteilnehmerinnen ist in Abb.20. als Kreisdiagramm dargestellt. Die Zuteilung der Antworten in die einzelnen Risikogruppen ist in Tab.12. aufgeführt.

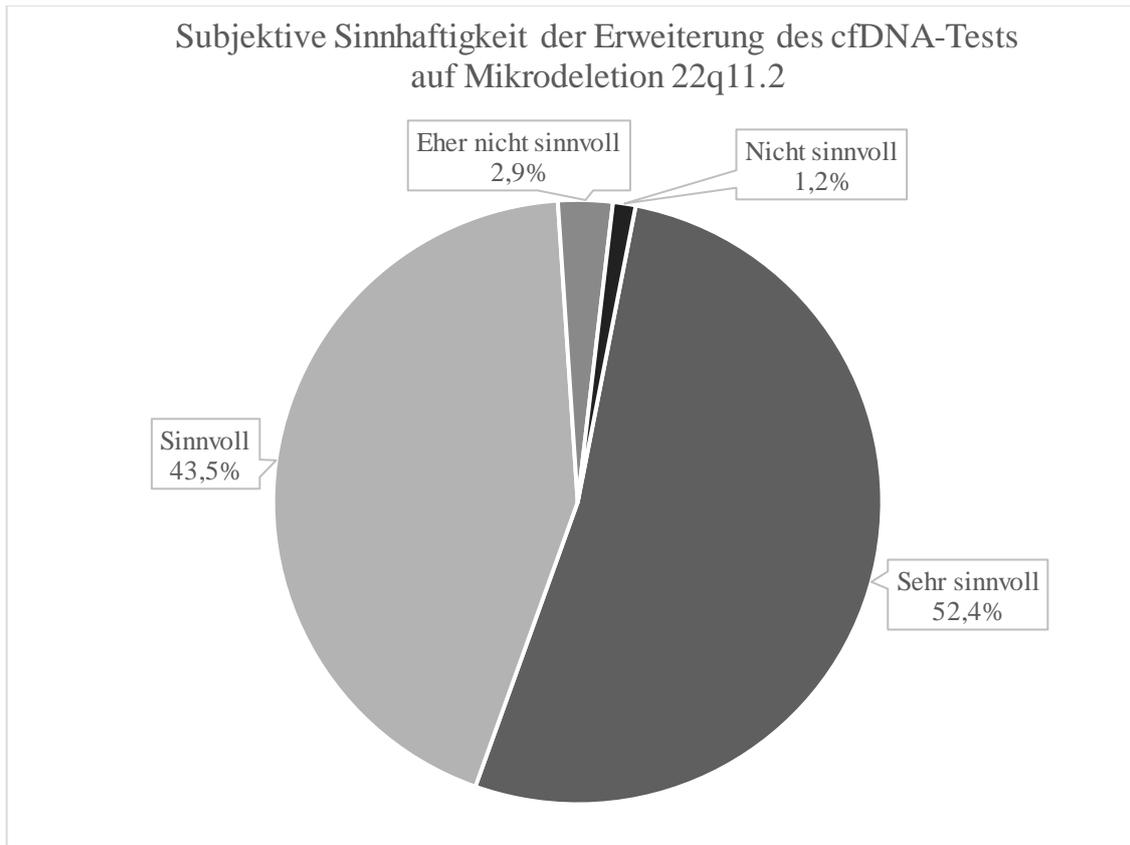


Abb. 20. Subjektive Einschätzung zur Sinnhaftigkeit der Erweiterung des Spektrums des cfDNA-Tests auf Mikrodeletion 22q11.2

Tab. 12. Zuteilung der Angaben zur subjektiven Sinnhaftigkeit in die Hoch- und die Niedrigrisikogruppe

	Hochrisikogruppe n=40	Niedrigrisikogruppe n=1027
Nicht sinnvoll n (%)	0 (0)	13 (1,3)
Eher nicht sinnvoll n (%)	1 (2,5)	30 (2,9)
Sinnvoll n (%)	23 (57,5)	536 (52,2)
Sehr sinnvoll n (%)	16 (40,0)	448 (43,6)

Bei den falsch-positiven Fällen gehen die Meinungen über die Sinnhaftigkeit der Testung der Mikrodeletion 22q11.2 im Rahmen des ETS stark auseinander. Eine der drei Frauen erachtet die Ergänzung des cfDNA-Tests als nicht sinnvoll. Eine andere findet die Erweiterung des cfDNA-Tests eher nicht sinnvoll und die dritte Frau ist der Meinung,

dass die Erweiterung sinnvoll ist. Sie war die Einzige, die zweimal ein positives Ergebnis beim cfDNA-Test erhielt. Alle drei Schwangeren waren allerdings, wie in Kapitel 3.7 beschrieben, sehr unzufrieden mit dem Test an sich.

Die drei Frauen, deren Kinder eine Trisomie aufwiesen und die den zweiten Fragebogen komplett vervollständigten, sind der Meinung, dass die Erweiterung des Spektrums des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 sinnvoll ist.

### 3.7.2 Weiterempfehlung der Untersuchung

Im Rahmen des zweiten Fragebogens wurden die Patientinnen dazu befragt, ob sie die Untersuchung, den cfDNA-Test im Allgemeinen und inklusive der Mikrodeletion 22q11.2 ihrer besten Freundin weiterempfehlen würden. 1055 Patientinnen (98,9%, 95%-Konfidenzintervall 98,0%-99,4%) würden die Untersuchung beim Spezialisten ihrer besten Freundin empfehlen. Von den Studienteilnehmerinnen, die die Untersuchung weiterempfehlen würden, waren 99,4% (95%-Konfidenzintervall 98,8%-99,8%) auch an erster Stelle mit dem kombinierten ETS zufrieden bis sehr zufrieden. Aus der Hochrisikogruppe würden 38 Patientinnen (95,0%, 95%-Konfidenzintervall 83,1%-99,4%) die Untersuchung weiterempfehlen und lediglich zwei (0,5%, 95%-Konfidenzintervall 0,6%-16,9%) nicht. Dagegen geben nur 92,9% aus der Niedrigrisikogruppe (95%-Konfidenzintervall 91,2%-94,4%) an, das ETS beim Spezialisten weiterzuempfehlen. 84,8% (95%-Konfidenzintervall 81,9%-86,6%) davon aber mit einem klaren ja. Eher oder gar nicht weiterempfehlen würden es aus dieser Risikogruppe 7,1% der Patientinnen (95%-Konfidenzintervall 5,6%-8,9%).

Die drei Fälle des falsch-positiven cfDNA-Tests auf Mikrodeletion 22q11.2 würden die Vorsorgeuntersuchung beim Spezialisten allesamt ihrer besten Freundin empfehlen. Zwei der drei Mütter eines Kindes mit Trisomie, würden die Untersuchung weiterempfehlen. Nur eine dieser Frauen würde ihrer besten Freundin nicht raten, diese Untersuchung durchzuführen. In Abb.22. wird die prozentuale Verteilung der Angaben, wie viele Frauen die Untersuchung beim Spezialisten ihrer besten Freundin weiterempfehlen würden, dargestellt. Der Balken „Insgesamt“ bezieht sich auf die komplette Anzahl der Frauen, die bei der zweiten Umfrage teilnahmen (n=1067). Die Risikogruppen haben die gleiche Studienteilnehmerzahl, wie in den Abbildungen davor (Hochrisikogruppe: n=40, Niedrigrisikogruppe: n=1027). Genauso verhält es sich mit

den falsch-positiven Fällen (Falsch-pos.: n=3), sowie mit den Müttern, die Kinder mit Trisomien bekommen haben (Trisomie: n=3). Die absolute Prozentzahl der einzelnen Gruppen befindet sich über den Balken.

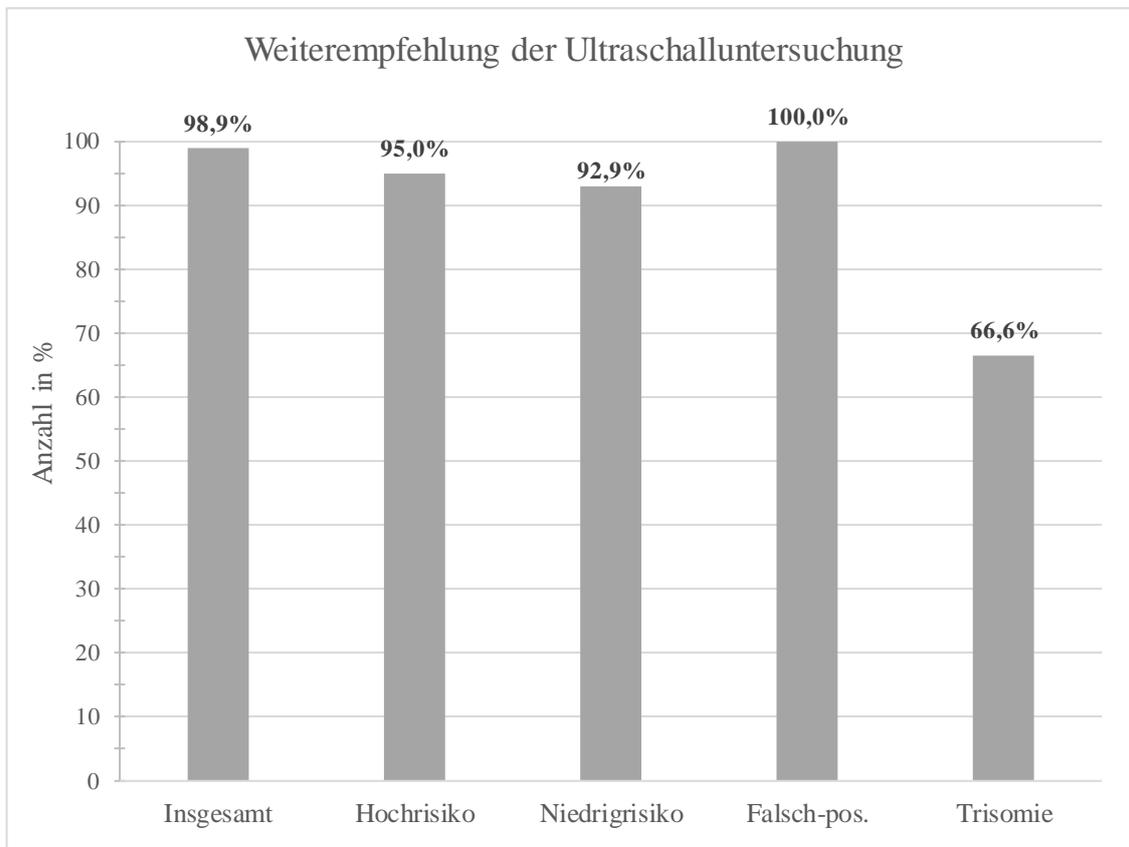


Abb. 21. Weiterempfehlung der Ultraschalluntersuchung beim Spezialisten

### 3.7.3 Weiterempfehlung des cfDNA-Tests

1013 der Patientinnen (94,9%, 95%-Konfidenzintervall 93,5%-96,2%) würden den cfDNA-Test im Allgemeinen ihrer besten Freundin empfehlen. Gemeint ist der cfDNA-Test, der die Trisomien 21,18 und 13, sowie das Geschlecht des Fötus bestimmt und bereits auf dem Markt vorhanden ist. Den Test inklusive der Mikrodeletion 22q11.2 würden hingegen nur 982 Frauen (92,0%, 95%-Konfidenzintervall 90,2%-93,6%) ihrer besten Freundin weiterempfehlen. Es würden ausschließlich 50 Frauen (4,7%, 95%-Konfidenzintervall 3,5%-6,2%) das kombinierte ETS ohne cfDNA-Test und 42 (4,0%, 95%-Konfidenzintervall 2,9%-5,3%) mit dem cfDNA-Test aber ohne die Erweiterung auf Mikrodeletion 22q11.2 empfehlen. 963 der Studienteilnehmerinnen (91,3%, 95%-

Konfidenzintervall 89,4%-92,9%) würden zu kombiniertem ETS und cfDNA-Test inklusive Testung auf Mikrodeletion 22q11.2 raten.

Aus der Hochrisikogruppe (n=40) gaben sieben Frauen (17,5%, 95%-Konfidenzintervall 7,3%-32,8%) an, ihrer Freundin eher zur cfDNA-Testung ohne Mikrodeletion 22q11.2 zu raten und acht (20,0%, 95%-Konfidenzintervall 9,1%-35,7%) zum Test inklusive des Mikrodeletionssyndroms. 27 Frauen (67,5%, 95%-Konfidenzintervall 50,9%-81,4%) dieser Gruppe würden auf alle Fälle ihre Empfehlung für den cfDNA-Test aussprechen und 24 (60,0%, 95%-Konfidenzintervall 43,3%-75,1%) für den erweiterten Test. Insgesamt würden also 85,0% der Hochrisikogruppe (95%-Konfidenzintervall 70,2%-94,3%) den cfDNA-Test ohne und 80,0% (95%-Konfidenzintervall 64,4%-91,0%) mit der Erweiterung auf die Mikrodeletion 22q11.2 ihrer besten Freundin empfehlen. Bei der Niedrigrisikogruppe sind es 95,3% (95%-Konfidenzintervall 93,9%-96,5%), die den Standardtest empfehlen würden und 92,5% (95%-Konfidenzintervall 90,7%-94,0%), die für die Empfehlung der Erweiterung stehen.

Alle drei Frauen mit falsch-positivem Testergebnis (100,0%) würden den cfDNA-Test trotzdem ihrer besten Freundin weiterempfehlen und zwei von ihnen (66,7%, 95%-Konfidenzintervall 9,4%-99,2%) inklusive dem Mikrodeletionssyndrom 22q11.2.

Bei den Frauen, bei deren Kindern eine Trisomie sicher diagnostiziert wurde, würden zwei von drei (66,7%, 95%-Konfidenzintervall 9,4%-99,2%) den cfDNA-Test eher bis gar nicht ihrer Freundin empfehlen und nur eine (33,3%, 95%-Konfidenzintervall 0,8%-90,6%) auf jeden Fall. Genauso verhält es sich mit dem cfDNA-Test inklusive dem Mikrodeletionssyndrom 22q11.2.

Die prozentuellen Angaben zur Weiterempfehlung des cfDNA-Tests und zum Test inklusive Mikrodeletion 22q11.2 sind in Abb.23. und Abb.24. abgebildet. Die Strukturierung und die Bedingungen der Abbildungen sind dieselben, wie in Abb. 22.

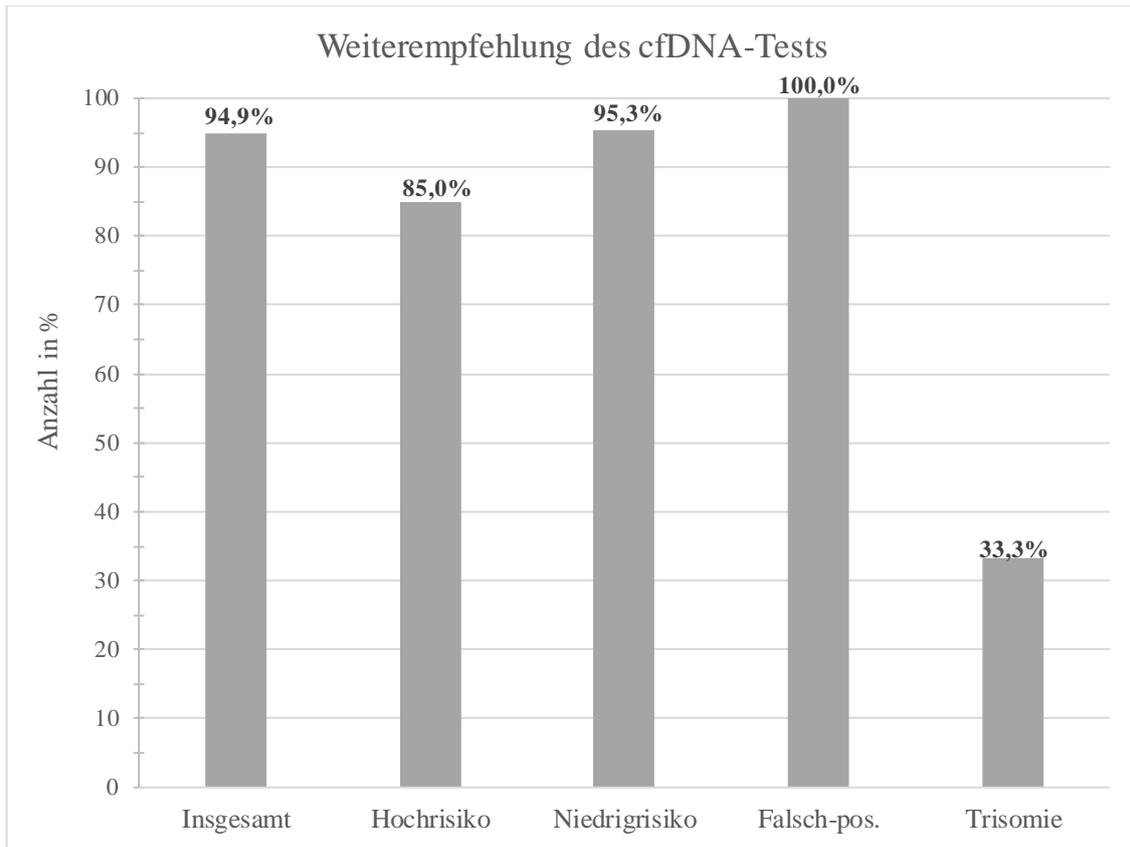


Abb. 22. Weiterempfehlung des cfDNA-Tests

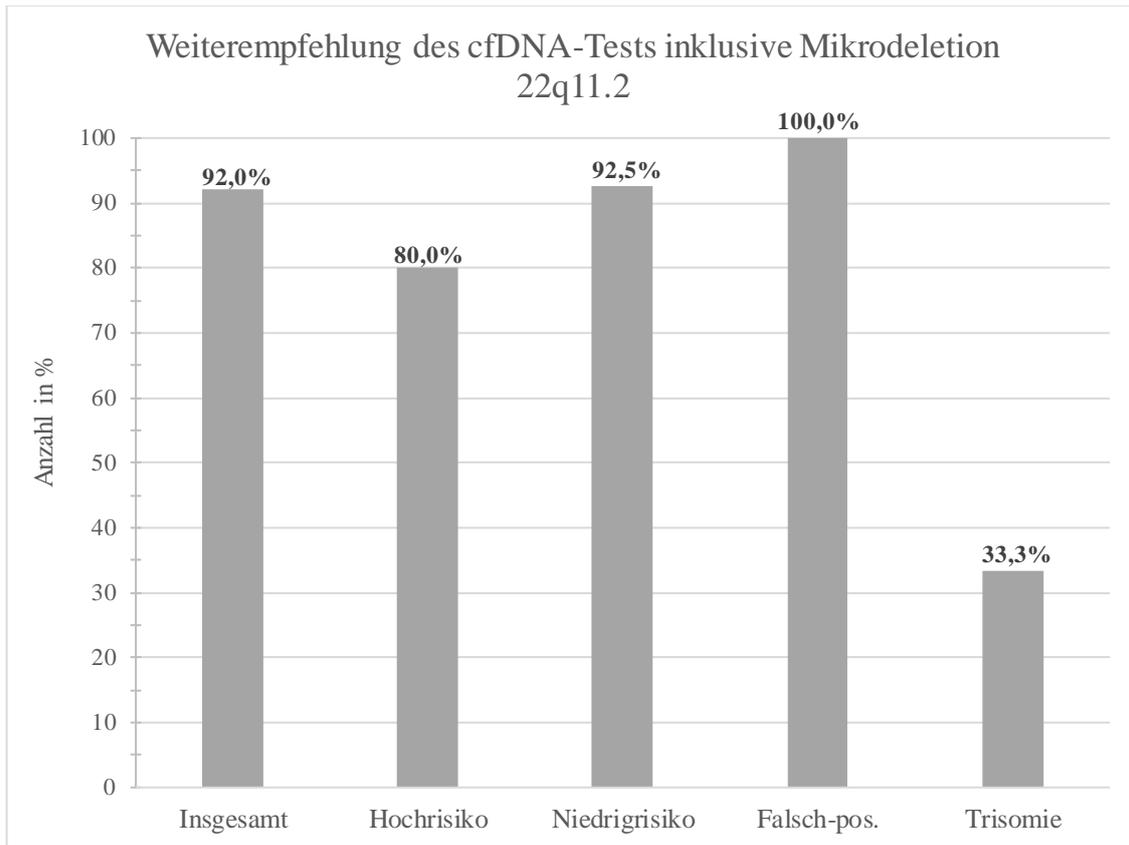


Abb. 23. Weiterempfehlung des cfDNA-Tests inklusive Mikrodeletion 22q11.2

### 3.8 Aufklärungsbedarf der Patienten im Rahmen des Ersttrimesterscreenings

Zu deren Bekanntheit abgefragt wurden vier Syndrome (T21, T18, T13, MD22q11.2), drei Infektionen (CMV, Toxo, Parvo), zwei Fehlbildungen (fet. HF, SB) und vier Schwangerschaftskomplikationen (fet. Alk, GDM, IUGR, Präek). Da dies innerhalb des zweiten Fragebogens geschah, nahmen auch hier 1067 Studienteilnehmerinnen an der Umfrage teil. In Tab.13. sind die Antworten der Studienteilnehmerinnen in Bezug auf die jeweiligen Komplikationen und Infektionen aufgelistet. Sie werden eingeteilt in „zu große Bedeutung“, „ausreichende Bedeutung“ und „zu wenig Bedeutung“. Die Antwortmöglichkeiten beziehen sich auf die Aufmerksamkeit, die den genannten Krankheiten während des ETS subjektiv gesehen zukommt. Wählen die Frauen die Antwortmöglichkeit „zu große Bedeutung“, so wünschen sie sich, den Schwerpunkt während dem ETS etwas weniger auf dieses Thema zu setzen. Geben sie an, dass der Komplikation ausreichend Bedeutung zukam, so sind sie mit dem Aufklärungsausmaß

zufrieden. Geben die Schwangeren an, der Krankheit werde zu wenig Bedeutung zugesprochen, so herrscht hier subjektiver Aufklärungsbedarf von Seiten der Patientinnen.

Tab. 13. *Bedeutungsbeimessung der Schwangerschaftskomplikationen, -infektionen und Syndromen im Rahmen des ETS*

	<b>Zu große Bedeutung</b>	<b>Ausreichende Bedeutung</b>	<b>Zu geringe Bedeutung</b>
T21 n (%)	15 (1,4)	991 (92,9)	61 (5,7)
T18 n (%)	11 (1,0)	844 (79,1)	212 (19,9)
T13 n (%)	9 (0,8)	794 (74,4)	264 (24,7)
MD22q11.2 n (%)	15 (1,4)	711 (66,6)	341 (32,0)
CMV n (%)	11 (1,0)	667 (62,5)	389 (36,5)
Toxo n (%)	15 (1,4)	824 (77,2)	228 (21,4)
Parvo n (%)	9 (0,8)	741 (69,4)	317 (29,7)
Fet. HF n (%)	9 (0,8)	876 (82,1)	182 (17,1)
SB n (%)	9 (0,8)	881 (82,3)	177 (16,6)
Fet. Alk n (%)	17 (1,6)	894 (83,8)	156 (14,6)
GDM n (%)	13 (1,2)	795 (74,5)	259 (24,3)
IUGR n (%)	11 (1,0)	678 (63,5)	377 (35,3)
Präek n (%)	7 (0,7)	760 (71,2)	298 (27,9)

Um die einzelnen Komplikationen und Infektionen besser vergleichen zu können, werden sie in Abb.25. in Form eines gestapelten Balkendiagramms dargestellt. Der unterste Balken gibt an, wie viel Prozent der Befragten der Meinung sind, dieser Krankheit kommt eine zu große Bedeutung während dem ETS zu. Der mittlere Abschnitt des Balkens gibt an, wie viel Prozent finden, es kommt der Komplikation ausreichend Bedeutung zu und der Oberste zeigt, wie viel Prozent der Befragten sich jeweils mehr

Bedeutung zu diesem Thema gewünscht hätten. Die Prozentangabe steht im, bzw. über dem dazugehörigen Balkenabschnitt.

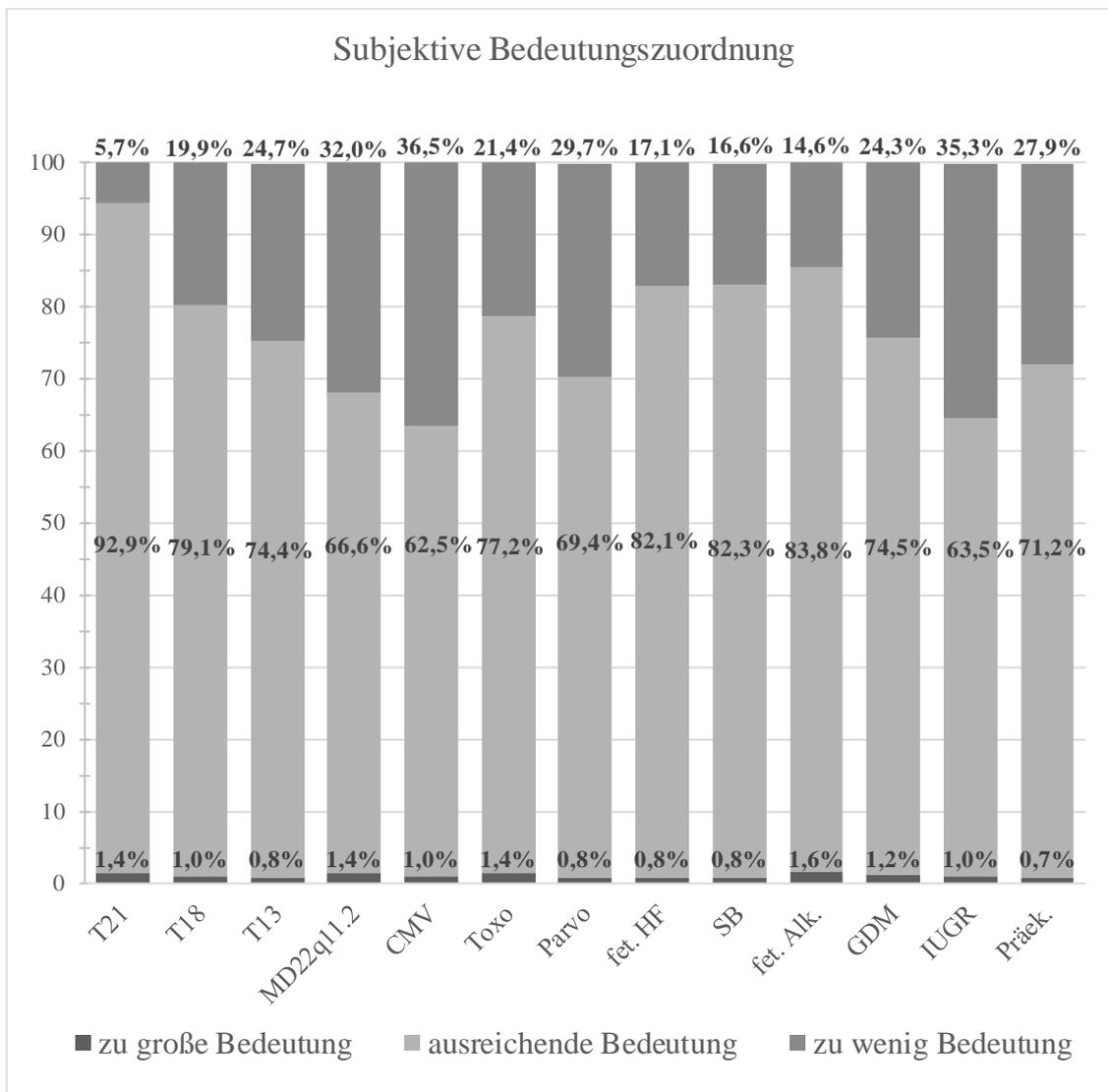


Abb. 24. subjektiven Bedeutungszuordnung der einzelnen Komplikationen und Infektionen

In Abb.25. ist gut erkennbar, dass die Mehrheit der Frauen (75,4%, 95%-Konfidenzintervall 72,7% -77,9%) mit dem aktuellen Aufklärungsstatus auf alle Themen bezogen zufrieden ist. Besonders der Trisomie 21 kommt laut den Patientinnen (92,9%, 95%-Konfidenzintervall 91,2% -94,4%) ausreichend Bedeutung im ETS zuteil.

1,1% der Schwangeren (95%-Konfidenzintervall 0,6% -2,0%) wünscht sich insgesamt etwas weniger Information zu bestimmten Themen. Die Meisten (1,6%, 95%-Konfidenzintervall 0,9% -2,5%) sind der Meinung, dass dem fet. Alkoholsyndrom zu viel

Bedeutung während des ETS zukommt. Darauf folgen mit 1,4% (95%-Konfidenzintervall 0,8%-2,3%) die Bedeutung der Trisomie 21, der Infektion mit Toxoplasmose, sowie des Mikrodeletionssyndrom 22q11.2.

Zu wenig Bedeutung kommen laut den Schwangeren vor allem der CMV-Infektion (36,5%, 95%-Konfidenzintervall 33,6%-39,4%), der intrauterinen Wachstumsretardierung (35,3%, 95%-Konfidenzintervall 32,5%-38,3%) und erneut der Mikrodeletion 22q11.2 (32,0%, 95%-Konfidenzintervall 29,2%-34,9%) zu. Darauf folgen die Infektion mit dem Parvovirus B19 (29,7%, 95%-Konfidenzintervall 27,0%-32,6%), die Präeklampsie (27,9%, 95%-Konfidenzintervall 25,3%-30,7%), die Trisomie 13 (24,7%, 95%-Konfidenzintervall 22,2%-27,5%) und der Gestationsdiabetes mellitus (24,3%, 95%-Konfidenzintervall 21,7%-27,0%). Die Infektion mit Toxoplasmose (21,4%, 95%-Konfidenzintervall 18,9%-24,0%) wird noch vor der Trisomie 18 (19,9%, 95%-Konfidenzintervall 17,5%-22,4%) genannt. Dann folgen die fet. Fehlbildungen wie Herzfehler (17,1%, 95%-Konfidenzintervall 14,9%-19,5%) und Spina bifida (16,6%, 95%-Konfidenzintervall 14,4%-19,0%) und das fet. Alkoholsyndrom (14,6%, 95%-Konfidenzintervall 12,6%-17,0%). Die Trisomie 21 wird nur von 61 Frauen (5,7%, 95%-Konfidenzintervall 4,4%-7,3%) als zu wenig besprochen empfunden.

Um besser visualisieren zu können, bei welchen Themen sich die Frauen (n=1067) mehr Aufklärung während des ETS wünschen, wird die Kategorie „zu wenig Bedeutung“ in Abb. 26. in Form eines absteigenden Balkendiagramms dargestellt. Die Prozentangaben stehen über den Balken.

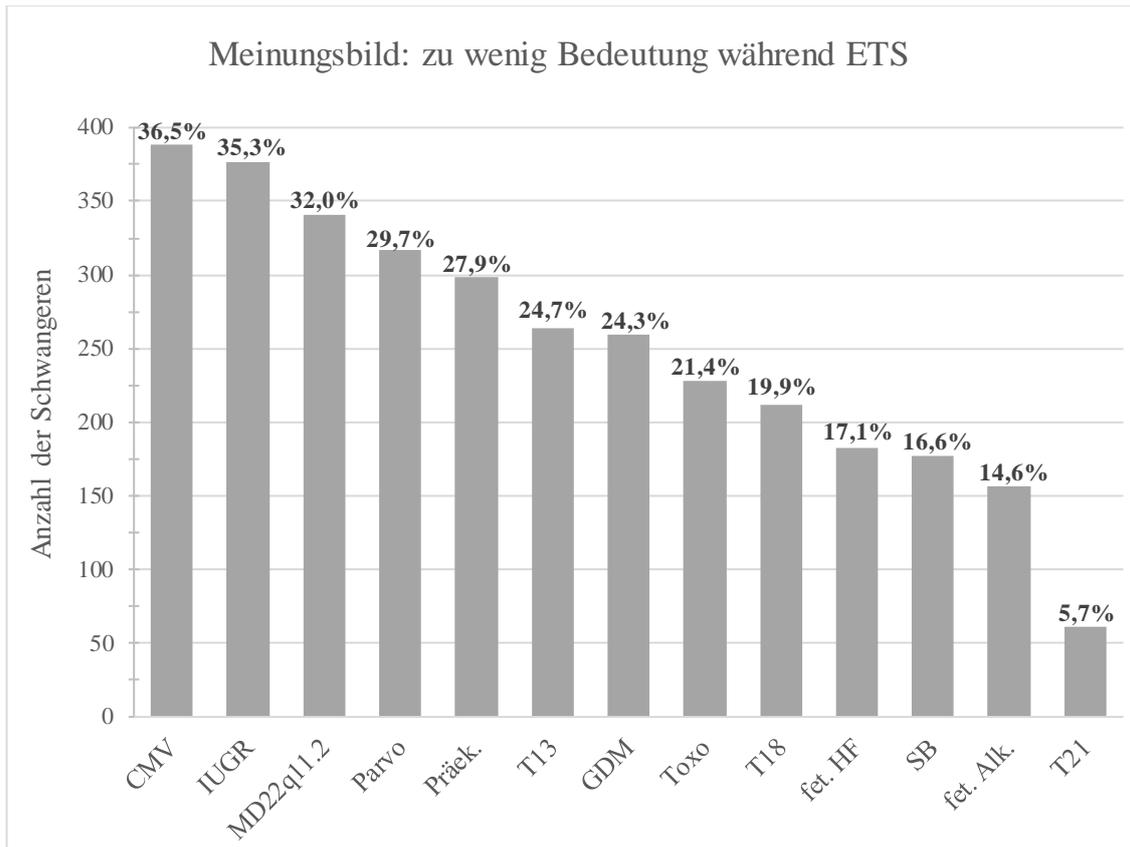


Abb. 25. Meinungsbild: Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen, denen zu wenig Bedeutung während des ETS zukommt.

Teilt man die Gesamtpopulation der Studienteilnehmerinnen in ihre Risikogruppen auf, so kann festgestellt werden, dass 76,4% der Hochrisikogruppe (95%-Konfidenzintervall 72,5%-79,9%) und 75,4% der Niedrigrisikogruppe (95%-Konfidenzintervall 74,6%-76,1%) mit dem derzeitigen Aufklärungsstand im Rahmen des ETS zufrieden sind. Lediglich 1,0% bzw. 1,1% der beiden Gruppen wünschen sich insgesamt etwas weniger Aufmerksamkeit zu den abgefragten Themen. 22,7% der Frauen der Hoch- (95%-Konfidenzintervall 19,2%-26,5%) und 23,5% der Frauen der Niedrigrisikogruppe (95%-Konfidenzintervall 22,8%-24,3%) sind der Meinung, dass den genannten Komplikationen zu wenig Bedeutung zukommt. Es kann geschlussfolgert werden, dass der allgemeine Bedarf an Aufklärung zu Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen, während dem ETS unabhängig von der Einteilung in Risikogruppen ist.

Werden die Risikogruppen unter dem Aspekt, bei welchen Themen sie sich mehr Aufklärung wünschen, separat betrachtet, kann festgestellt werden, dass die Patientinnen

der Hochrisikogruppe den Chromosomenaberrationen gerne mehr Bedeutung im ETS zukommen lassen würden. Allen voran der Mikrodeletion 22q11.2 (35,0%, 95%-Konfidenzintervall 20,6%-51,7%). Aber auch zur Trisomie 18 und 13 wünschen sich 25,0% bzw. 27,5% (95%-Konfidenzintervall 12,7%-41,2% bzw. 95%-Konfidenzintervall 14,6%-43,9%) mehr Aufklärung. Bei der Trisomie 21 geben lediglich 15,0% (95%-Konfidenzintervall 5,7%-29,8%) an, dass sie hier mehr Aufklärungsbedarf haben. Allerdings sind das in dem Punkt 10% mehr als in der Niedrigrisikogruppe. Außer den Chromosomenaberrationen sind die Schwangeren der Hochrisikogruppe der Meinung, dass den Infektionen mit dem Cytomegalievirus (32,5%, 95%-Konfidenzintervall 18,6%-49,1%) und dem Parvovirus B19 (30,0%, 95%-Konfidenzintervall 16,6%-46,5%) zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt wird. Hier herrscht laut Patientinnenumfrage mehr Aufklärungsbedarf.

Das gleiche gilt für die Niedrigrisikogruppe. Auch sie wünschen sich, dass der CMV-Infektion (36,6%, 95%-Konfidenzintervall 33,7%-39,6%) und dem Parvovirus (29,7%, 95%-Konfidenzintervall 26,9%-32,6%) mehr Bedeutung während des ETS zukommt. Auch der Mikrodeletion 22q11.2 (31,8%, 95%-Konfidenzintervall 29,0%-34,8%) wollen sie mehr Bedeutung zugewiesen sehen. In dieser Risikogruppe gibt es eine Schwangerschaftskomplikation, deren Aufklärung den Frauen mit erhöhtem Risiko während des ETS nicht so sehr fehlt und das ist der intrauterine Kleinwuchs. 35,8% der Schwangeren (95%-Konfidenzintervall 32,9%-38,9%) ohne erhöhtes Risiko wünschen sich mehr Aufklärung über IUGR, während es in der Hochrisikogruppe nur 22,5% (95%-Konfidenzintervall 10,8%-38,5%) sind. Zur Veranschaulichung der Kategorie „zu wenig Bedeutung“ der zweiten Umfrage sind die gegebenen Antworten der Risikogruppen in Abb.27. und Abb.28. in einem Balkendiagramm dargestellt. Die Komplikationen sind nach erlangter Prozentangabe geordnet.

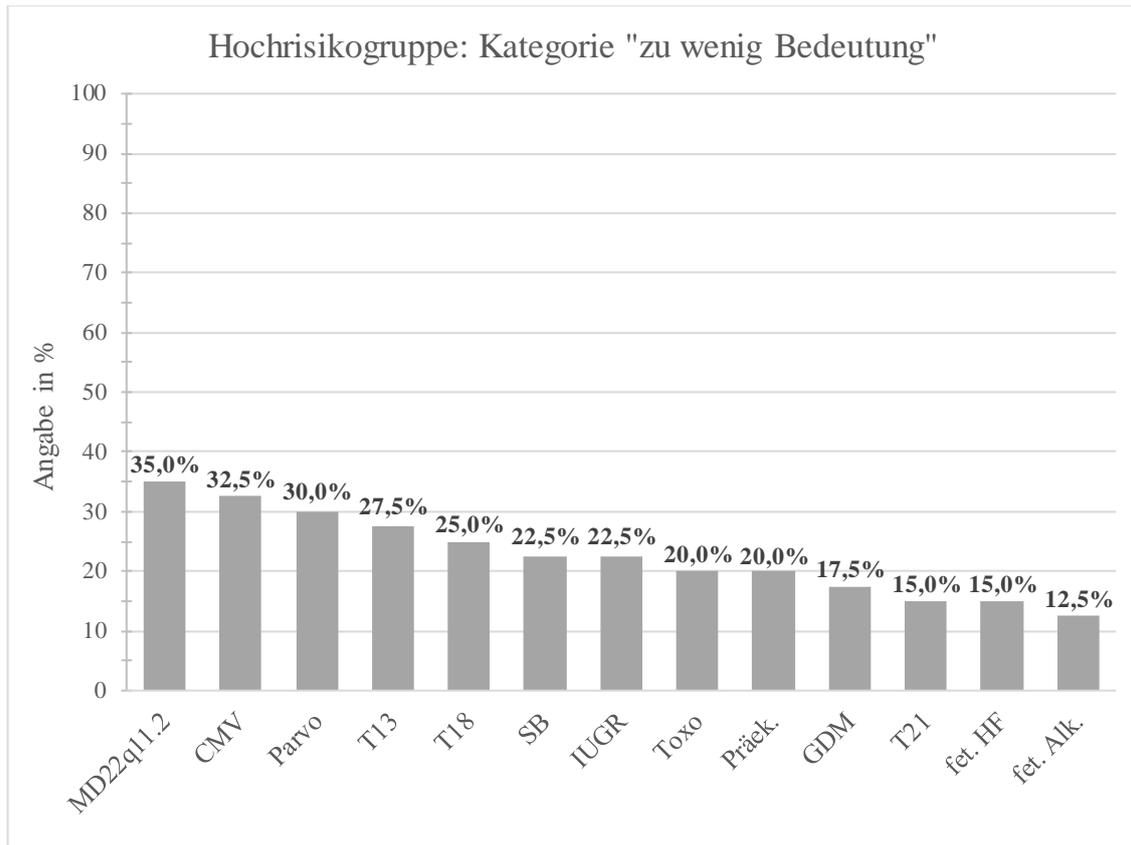


Abb. 26. Prozentuale Angaben der Antworten zur Kategorie "zu wenig Bedeutung" der Hochrisikogruppe

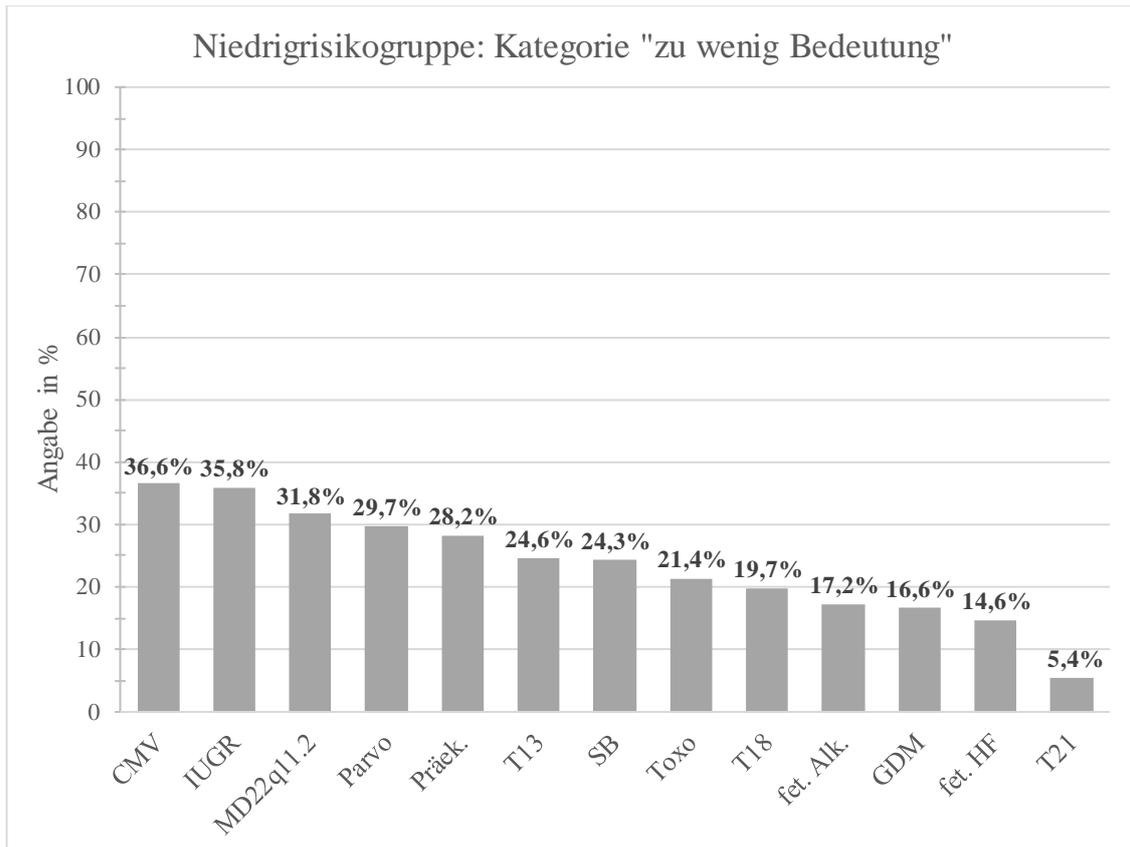


Abb. 27. Prozentuale Angaben der Antworten zur Kategorie "zu wenig Bedeutung" der Niedrigrisikogruppe

Durch Abb.27. und Abb.28. wird deutlich, dass der Bedarf an mehr Aufklärung bei dem fet. Alkoholsyndrom, dem fet. Herzfehler, dem Gestationsdiabetes und der Trisomie 21 in beiden Risikogruppen eher gering ist. Wie in Abb.16. zu sehen ist, sind diese Komplikationen in der Allgemeinbevölkerung gleichzeitig eher bekannt.

Bei den drei falsch-positiven Fällen gehen die Meinungen vor allem über die Bedeutung des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 im Rahmen des ETS stark auseinander. Fall 1 ist zufrieden mit der Aufklärung über die Mikrodeletion 22q11.2, Fall 2 wünscht sich etwas mehr Fokus auf diese Chromosomenaberration und Fall 3 etwas weniger Bedeutungszuschreibung innerhalb des ETS. Die Antworten der Schwangeren mit falsch-positivem Testergebnis zu den Kategorien „zu große Bedeutung“ und „zu wenig Bedeutung“ der restlichen Komplikationen und Infektionen sind in Tab.14. abgebildet. Die Komplikationen, die nicht in Tab.14. aufgelistet sind, wurden der Kategorie „ausreichend Bedeutung“ zugeordnet.

Tab. 14. Zuordnung der Schwangerschaftskomplikationen, -infektionen und Syndrome in die Kategorien „zu große Bedeutung“ und „zu wenig Bedeutung“ von den drei Falsch-positiv-Fällen

	<b>Fall 1</b>	<b>Fall 2</b>	<b>Fall 3</b>
Zu große Bedeutung	-	-	MD22q11.2
Zu wenig Bedeutung	T13 CMV IUGR	MD22q11.2 Präek	IUGR fet. Alk GDM

Bei den drei Müttern, deren Kinder eine Trisomie 21 haben, wünschen sich zwei von drei (66,7%, 95%-Konfidenzintervall 9,4%-99,2%) mehr Aufklärung über die Mikrodeletion 22q11.2 und die Trisomie 13, sowie über die Toxoplasmose. Der Trisomie 21 und 18 würde nur eine Frau (33,3%, 95%-Konfidenzintervall 0,8%-90,6%) mehr Bedeutung im Rahmen des ETS beimessen. Diese Frau war zwar laut Umfrage zufrieden mit der Beratung des ETS, wünscht sich allerdings zu allen Komplikationen außer dem fet. Alkoholsyndrom mehr Aufklärung.

## Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser prospektiven klinischen Studie wurde untersucht, ob die Erweiterung des cfDNA-Tests, der bereits im Rahmen des ETS zur Detektion unter anderem von Trisomie 21, 18 und 13 eingesetzt wird, auf das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 genügend Praktikabilität besitzt, um ebenfalls in die Routineuntersuchung aufgenommen zu werden. Parallel dazu wurde im Patientenkollektiv ein Meinungsbild erhoben, um die klinische Relevanz zu evaluieren. Es konnte gezeigt werden, dass der cfDNA-Test auf die Trisomien 21, 18 und 13, sowie die Mikrodeletion 22q11.2 eine Testversagerrate von 0,9% (kein Ergebnis konnte nur partiell auf die Mikrodeletion 22q11.2 bezogen nicht ausgewertet werden) und eine FPR von 0,27% aufweist. Des Weiteren zeigte sich, dass in der betroffenen Bevölkerungsgruppe das Mikrodeletionssyndrom kaum bis gar nicht bekannt ist. Weniger als 10% der Frauen gaben an, die Mikrodeletion gut oder sehr gut zu kennen. Gleichzeitig wünschen sich mehr als 30% der Frauen eine ausführlichere Aufklärung über diese Chromosomenaberration im Rahmen des ETS.

Unsere Studie wurde nicht dazu konzipiert, die Detektionsrate (DR) zu bestimmen.

### 4.2 Vergleich des cfDNA-Tests inklusive Mikrodeletion 22q11.2 mit den herkömmlichen cfDNA-Tests

Seit 2012 ist der klassische cfDNA-Test auf die Trisomien 21, 18 und 13 kommerziell erwerblich und wurde in einigen pränataldiagnostischen Zentren auf Selbstzahlerbasis zur Risikostratifizierung der genannten Chromosomenaberrationen angeboten (30, 52). Im Jahr 2018 untersuchte *Kagan et al.* mittels einer prospektiven Studie, die der unsrigen im Studienaufbau sehr ähnelt, die Risikoeinschätzung von unauffälligen Schwangerschaften im ersten Schwangerschaftsdrittel durch Ultraschall und dem konventionellen cfDNA-Test. Anders als in unserer Studie wurden damals keine falsch-positiven Testergebnisse festgestellt. Dafür war die Testversagerrate mit 1,5% höher als bei unserer Studie mit 0,9% (66). In der Summe erhöhten sich FPR und Testversagerrate allerdings nicht durch die Erweiterung des Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2.

Ähnlich verhält es sich mit einer anderen Studie von *Gil et al.*, die ebenfalls die Testvalidität des klassischen cfDNA-Tests untersuchte. Sie stellten eine FPR von 0,13% und eine Testversagerrate von 5,9% fest (67).

Durch die Erweiterung des Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 wurde die Sensitivität und Spezifität des cfDNA-Tests weitgehend nicht negativ beeinflusst.

### 4.3 Studienvergleich

Die Mikrodeletion 22q11.2 kann auf verschiedene Weise im Labor nachgewiesen werden. Mögliche Auswertungsmethoden des cfDNA-Tests sind die Single-nucleotide-polymorphism-Technologie (SNP), das Whole Genome Sequencing und das DANSR-Verfahren. *Wapner et al.* verwendeten in ihrer Studie 2015 die SNP-Methode. Hierfür testeten sie zuallererst die verwendeten SNP-Targets im Labor, bevor sie sie einsetzten, um 108 künstlich hergestellte und 335 maternale Serumproben zu testen. Von den künstlich aufgearbeiteten Proben waren 43 von auffälligen und 65 von unauffälligen Schwangerschaften. Sie wurden im Rahmen der Testung alle richtig identifiziert. Bei den maternalen Proben detektierte der cfDNA-Test zwei von drei auffälligen Proben. Bei den unauffälligen Schwangerschaften kam es zu drei falsch-positiven Ergebnissen. Somit erreichte die Studie von *Wapner et al.* mittels SNP-Targets eine DR von 97,8% mit einer FPR von 0,76%. Ein Nachteil der Studie ist die geringe Anzahl von lediglich 335 klinisch erhobenen maternalen Proben (68). *Ravi et al.* führte 2018 eine ähnliche Studie mit einem Studienumfang von 400 maternale Proben durch. Verwendet wurde ein überarbeitetes Studienprotokoll, bei dem zum Beispiel die Anzahl der SNP-Targets von 672 auf 1351 erhöht wurde. Dadurch erlangten sie eine geringere FPR. Sie betrug 0,26% durch nur einen falsch-positiven Fall bei 390 unauffälligen Schwangerschaften. Von den auffällige Proben wurden neun von zehn richtig-positiv erkannt (69). Eine retrospektive, klinische Studie mit einem viel größeren Patientenkollektiv von circa 75000 Schwangeren wurde 2018 von *Martin et al.* durchgeführt. Von 283 als Hochrisikogruppe eingestuften Proben wurden 129 als sicher falsch-positiv identifiziert. 130 weitere Proben mit uninformativem Testergebnis wurden dazugerechnet, da angenommen wurde, sie seien potenziell falsch-positiv gewesen. Somit ergab sich eine FPR von 0,2-0,4%. Nach einer

Überarbeitung des Studienprotokolls reduzierte sich die FPR auf 0,07%. Allerdings sank auch die DR um 4,2%. Ein großer Nachteil dieser Studie ist das Fehlen ausreichender Information über den verifizierten Gesundheitszustand der Neugeborenen, denn in nur circa 54% der Fälle konnte eine Kontaktaufnahme zu den Studienteilnehmern nach Testerhebung erfolgen (70). In unserer Studie erreichten wir hingegen eine Nachbeobachtungsquote von 100,0% und waren somit die erste prospektiv klinische Studie mit einem vollständigen Follow-up. Somit sind unsere Studienergebnisse klinisch valide. Eine weitere Studie bediente sich 2015 der Methode des Whole Genome Sequencing und einer Algorithmus-Analyse von 175393 cfDNA-Testproben auffälliger Schwangerschaften. Von den 32 Verdachtsfällen auf Mikrodeletion 22q11.2 wurden 23 Fälle mittels CVS, AC oder NSB bestätigt und acht weitere via klinischer Auffälligkeiten im Ultraschall oder postnatal. Bestätigte positive Testergebnisse auf Mikrodeletion 22q11.2 wurden entweder auf maternale oder fetale cfDNA zurückgeführt. Auffällig ist, dass der positive Befund öfter der maternalen DNA zugeordnet werden konnte. *Helgeson et al.* vermuten, dass es daran liegen könnte, dass 90% der DNA-Fragmente der Serumprobe maternalen Ursprungs sind. Ein weiterer limitierender Faktor der angewandten Auswertungsmethode des cfDNA-Tests in dieser Studie ist die Größe der Deletion. Eine Deletion <7Mb wurde mit einer Sensitivität von 60-85% nur schwer erkannt (71). Leider weist die Mikrodeletion 22q11.2 meist eine Deletion von 3Mb auf. Dieser Umstand würde erklären, warum die Inzidenz des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 bei Anwendung von Whole Genome Sequencing drei Mal niedriger ist, als bei der Anwendung der SNP-Target-Technik (12). *Schmid et al.* testete 2018 die Labormethode der DANSR-Technik. Hierfür wurden 1736 künstliche und 217 maternale Plasmaproben ausgewertet. Insgesamt wurden acht Proben unter „falsch-positiv“ gelistet, wobei weder der aktuelle maternale Mikrodeletionsstatus noch das postnatale Outcome der Schwangerschaft bekannt waren und die Proben somit auch richtig-positiv gewesen sein könnten. Beachtet man diesen Umstand, so liegt die FPR zwischen 0,0-0,5% (72). In unserer Studie verwendeten wir ebenfalls das DANSR-Verfahren, um 1127 cfDNA-Testproben auszuwerten. Ein großer Vorteil der DANSR- wie auch der SNP-Target-Technik ist das Auswerten gezielter DNA-Bereiche. Folglich muss im Vorhinein insgesamt weniger DNA-Material angereichert werden. Diese Tatsache macht die Methoden wesentlich kostengünstiger als das Whole Genome Sequencing. Ein weiterer

Vorteil der genannten Techniken ist, dass sie ohne ein Referenzgenom aus einer Datenbank auskommen. Als Referenz dienen hierfür Teile der Probe selbst. Außerdem lassen die DANSR-Methode sowie die Testauswertung durch SNP eine bessere Unterscheidung zwischen maternal und fetal vorliegender Mikrodeletion 22q11.2 zu.

Unsere Studie ist die Erste, die das Outcome, sowie die Praktikabilität der Untersuchung auf Mikrodeletion 22q11.2 gleichzeitig beleuchtet. Unser Schwerpunkt liegt auf dem klinischen Teil des erweiterten cfDNA-Tests. Wir haben die Handhabung im Alltag der großen Schwangerschaftscreenings beim Spezialisten getestet, die falsch-positiven, sowie die uninformativen Ergebnisse intensiv betrachtet und ein komplettes Outcome erhoben, um die eingegangenen Ergebnisse zu bestätigen. All diese Punkte haben eine klinische Relevanz für die Beurteilung der Praktikabilität zur alltäglichen Anwendung eines Screeningtests der Schwangerenvorsorge. Außerdem wurde die Probeentnahme unseres cfDNA-Tests unter realen Bedingungen im Rahmen des ETS zwischen der SSW 11-14 durchgeführt, während andere Studien eine Gestationswochenspanne von SSW 10 bis einschließlich SSW 37,6 umfassten (68, 69, 72).

#### **4.4 Gründe für falsch-positive Ergebnisse**

Bei allen drei Fällen, in denen es zu einem falsch-positiven cfDNA-Testergebnis innerhalb unserer Studie kam, wurde FISH und eine Mikroarray-Analyse prä- und postnatal durchgeführt. Diese führten insgesamt zu einem unauffälligen Ergebnis. Auch wurden postnatal keine phänotypischen Auffälligkeiten in Bezug auf die Mikrodeletion 22q11.2 bei den Neugeborenen entdeckt. Warum es zu diesen falsch-positiven Ergebnissen kam, kann mehrere Gründe gehabt haben. Zum einem kann ein Fehler in der technischen Handhabung entweder bei Abnahme des Blutes, Transport oder Bearbeitung im Labor stattgefunden haben. Zum anderen kann eine unentdeckte mütterliche Mikrodeletion 22q11.2 zu falsch-positiven Testergebnissen führen (16). Allerdings wäre diese im Rahmen der genetischen Untersuchung der Eltern, welche ebenfalls in allen drei Fällen durchgeführt wurde, festgestellt worden. Auch ein fetales-plazentares Mosaik kann zu Diskordanzen zwischen cfDNA-Testergebnis und Ergebnissen der genetischen Untersuchung des Fetus führen. Bei einem Mosaikbefund

unterscheidet sich die DNA der plazentaren Zellen von der DNA der fetalen Zellen. Dies betrifft ungefähr 1,0% aller Schwangerschaften (73). Kommt es zu einer partiellen Mikrodeletion in der Plazenta, können falsch-positive cfDNA-Testergebnisse festgestellt werden, da der Test eben diese Zellen im Blut der Mutter misst (43, 63, 74). Eine frühere dichorionische Zwillingsschwangerschaft mit einem vanishing Twin kann ebenfalls zu einem falsch-positiven Testergebnis führen. Normalerweise wurden Schwangerschaften mit vanishing Twin a priori von der Studie ausgeschlossen. War der leere Fruchtblattsack im Ultraschall während des ETS nicht mehr erkennbar, so ist es möglich, dass die Patientin fälschlicherweise in die Studie aufgenommen wurde (12, 29, 75, 76).

Um eine FPR zu erlangen, die gegen null geht, muss die Stichprobe einen ausreichend großen Umfang haben. Je größer die Studienkohorte ist, desto präziser wird die Angabe zur FPR. Mit 1127 Studienteilnehmern war unser Patientenkollektiv größer als das von *Wapner et al.* mit 397 Studienteilnehmern und das von *Ravi et al.* mit 400 Studienteilnehmern (68, 69). Die FPRs lagen hier bei 0,76% bzw. 0,26%. *Martin et al.* führte eine klinische Studie mit 70000 Studienteilnehmern durch und kam zu einer geringeren FPR von 0,1%.

## 4.5 Gründe für Testversager

Im Rahmen unserer Studie kam es insgesamt zu 15 (1,33%) Testversagern, von denen 10 (0,89%) Proben bei der zweiten cfDNA-Testanalyse noch immer ein uninformatives Testergebnis lieferten. Zu einem uninformativen Testergebnis bzw. zu einem Testversagen kommt es, wenn die Blutprobe nicht ausgewertet werden kann. Dieser Umstand kann zum Einen von technischen Fehlern bei Entnahme, Transport oder Laboranalyse verursacht werden. Zum anderen kann es am Anteil der fetalen Fraktion im Blut der Probe liegen (74). Ist dieser zu niedrig, können die freien Zellen des Fetus nicht ausgewertet werden. Die bekannte Grenze liegt zwischen 4,0-5,0% fetaler cfDNA pro Probe (20, 28, 77). Liegt der Anteil darunter, kommt es zu einem nicht auswertbaren Test und die Abnahme muss erneut erfolgen.

Ein Grund, warum bei manchen Proben zu wenig fet. cfDNA im Blutserum vorkommt, ist ein hohes maternales Gewicht. Unsere Ergebnisse zeigten eine Korrelation zwischen

Anstieg des Gewichts der Mutter und gleichzeitigem Abfall des Anteils der cfDNA des Feten im Blutserum. Das mediane Gewicht der Mütter, die ein uninformatives Testergebnis bekamen, lag über dem der Studienkohorte. Ein erhöhtes maternales Gewicht kann zu einem Verdünnungseffekt und somit zu einer insgesamt reduzierten fet. Fraktion führen (77).

Ein weiterer Grund, der zu einem geringen Anteil der fet. Fraktion im Blut der Mutter führen kann, ist die afro-karibische Herkunft der Studienteilnehmerin (77). Diese Annahme können wir nicht bestätigen, da unsere zehn finalen Testversager alle kaukasischer Herkunft waren.

Laut *Ashoor et al.* kann ein Testversagen außerdem mit einer erhöhten SSL, ansteigenden  $\beta$ -HCG- und PAPP-A-Werten, sowie einer T21 in Verbindung gebracht werden (77, 78).

Die fet. Fraktion und das Gestationsalter korrelieren positiv (69). Wird der cfDNA-Test in einer sehr frühen SSW vor dem ETS durchgeführt, kann es somit ebenfalls zu einer geringen fet. Fraktion der cfDNA im Blut der Mutter kommen.

Das maternale Alter spielt beim Anteil der fet. Fraktion im Blut keine Rolle (77). Ob ein Zusammenhang zwischen IUGR, Größe der Plazenta und Höhe der fet. Fraktion, die zu einem uninformativen Testergebnis führt, besteht, muss in zukünftigen Studien eingehender untersucht werden (12).

## **4.6 Vorteile des Screenings auf Mikrodeletion 22q11.2**

Das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 ist die häufigste Mikrodeletion mit einer Inzidenz von 1:3000 bis 1:6000 aller Lebendgeburten (22, 24). Ein frühzeitiges Erkennen des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 kann die schnellere Therapieeinleitung sicherstellen und damit die Prognose des Neugeborenen verbessern (17, 79-81). Gleichzeitig können emotionale und soziale Ausnahmezustände abgefedert und medizinische Kosten gesenkt werden (16, 22). Da das DiGeorge-Syndrom zu >90,0% de novo auftritt und nicht primär mit dem maternalen Alter korreliert, ist es wichtig, ein spezifisches Screeningverfahren

anzuwenden, um diese Chromosomenaberration zu entdecken (17, 22, 28, 68, 70, 72). Hierfür dient zum einen der Ultraschall, der vor allem Herzfehler detektiert, und zum anderen der cfDNA-Test, welcher auch sonographisch unauffällige, potenziell betroffene Feten identifizieren kann. Der Bluttest ist im Gegensatz zur Sonographie unabhängig von der Expertise des Untersuchenden.

Der Herzfehler ist das häufigste Symptom der Mikrodeletion 22q11.2. Gleichzeitig ist dieser aktuell auch der häufigste Grund für das Versterben der Patienten mit Mikrodeletionssyndrom, sofern die Organfehlbildung nicht oder zu spät erkannt und behandelt wird (16, 22). Ist eine Mikrodeletion 22q11.2 mit Herzfehler präpartal bekannt, kann frühzeitig Kontakt zu einem Kinderchirurgen aufgenommen und eine postnatale Therapie geplant werden. Ähnlich verhält es sich mit der zu erwartenden Hypokalzämie, welche bei circa 50,0% der Neugeborenen mit Mikrodeletion 22q11.2 auftritt (79). Eine schnelle postpartale Intervention kann eine geistige Retardierung, welche als Folge von Kalziummangel im Neugeborenen auftreten kann, auf lange Sicht lindern (79, 81). Die Hypokalzämie, sowie einige weitere Symptome wie Immunschwäche und Dysphagie, können pränatal via Sonographie nicht sicher festgestellt werden. Durch die pränatale Diagnostik einer Mikrodeletion 22q11.2 via cfDNA kann dieses Risiko rechtzeitig eingeschätzt werden (82).

Ein potenzieller Nachteil, der in Betracht gezogen werden muss, ist der unterschiedliche Umgang mit einem positiven Testergebnis. Es wird diskutiert, ob die präzise und frühzeitige Erkennung der Mikrodeletion 22q11.2 zu einer erhöhten Schwangerschaftsabbruchrate führt. Hier ist der betreuende Gynäkologe aufgefordert, qualitative Aufklärungsarbeit zu leisten und medizinische, emotionale, sowie soziale Unterstützung und Perspektiven anzubieten. Dabei muss unbedingt bedacht werden, dass das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 eine weite Expressionsrate hat und der Schweregrad der phänotypischen Ausprägung variieren kann. Allerdings zeigt das Syndrom eine volle Penetranz, was bedeutet, dass alle Patienten mit einem DiGeorge-Syndrom klinische Symptome ad libitum aufweisen. Aktuell empfiehlt die „*International Society for Prenatal Diagnosis*“ daher, dass das zellfreie DNA-Screening limitiert auf klinisch relevante Störungen und nur unter sicheren Bedingungen Anwendung im Alltag finden soll (74). Da die meisten Symptome der Mikrodeletion 22q11.2 postnatal behandelt werden und dadurch schwerwiegende Nachteile für das

Neugeborene vermieden werden können, ist das Mikrodeletionssyndrom als klinisch relevant einzustufen. Auch hat unsere Studie bewiesen, dass durch die Erweiterung des cfDNA-Tests, der momentan schon in der Schwangerenvorsorge durchgeführt wird, keine signifikanten Unterschiede der FPR oder der uninformativen Testergebnisse entstehen und die Bedingungen der Version inklusive Mikrodeletion 22q11.2 somit ebenfalls sicher sind.

#### **4.7 Wissensstand der Bevölkerung und Wunsch nach Aufklärung**

Circa 92,0% der Befragten gaben an, wenig bis sehr wenig über das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 zu wissen. Hierbei ist die Varianz zwischen Bevölkerungsgruppen mit unterschiedlichem Bildungsstand gering. Dennoch kann eine größere Bekanntheit des Syndroms mit steigendem Bildungsabschluss festgestellt werden. Dies zeigt die Relevanz von Bildung in Zusammenhang mit diesem Thema. In unserer Studie konnten wir zeigen, dass die Studienteilnehmer, die der Mikrodeletion 22q11.2 ausreichende oder sogar zu große Bedeutung während dem ETS beimessen, den erweiterten cfDNA-Test tendenziell als sinnvoller erachten, als diejenigen, die der Meinung sind, dass der Mikrodeletion 22q11.2 zu wenig Bedeutung während dem ETS zukommt. Wenn angenommen wird, dass die Schwangeren, die der Mikrodeletion 22q11.2 eine zu große Bedeutung während dem ETS beimessen, dies tun, da sie derzeit genügend Vorkenntnisse zu diesem Syndrom haben und diejenigen Patienten, die dem Mikrodeletionssyndrom zu wenig Bedeutung beimessen sehen, wiederum zu wenig Wissen über das Syndrom besitzen, so sieht man einen Zusammenhang zwischen der Bedeutungsbeimessung während des ETS, welche mit dieser Annahme den aktuellen Wissensstand der Patienten über das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 widerspiegelt, und der Zuschreibung von Sinnhaftigkeit der Testung auf eben dieses. Je mehr Schwangere an Wissen über die Mikrodeletion 22q11.2 verfügen, desto sinnvoller erachten sie somit die Erweiterung des cfDNA-Test. Um diese These zu untermauern, braucht es zukünftige Studien, die gezielt abfragen, ob mit größerer Bekanntheit der Chromosomenaberration auch ihre Gewichtung in der Bevölkerung stärker wird.

Unsere Studie fragte auch die Bekanntheit anderer in der Schwangerschaft relevanter Syndrome und Infektionen ab. Die Auflistung der abgefragten Punkte sind in Kapitel 3.6. nachzulesen. Hierbei wurde deutlich, dass das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 die unter den Studienteilnehmern am wenigsten bekannte Schwangerschaftskomplikation ist. Obwohl die Inzidenz des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 mit 1:1000 Feten höher ist als zum Beispiel die der Trisomie 18 und 13 mit 1:2500 und 1:6000 (6), ist die Bekanntheit der Mikrodeletion deutlich geringer als die der numerischen Chromosomenaberrationen. Dies könnte daran liegen, dass obgleich 1/3 der Auffälligkeiten in einer Schwangerschaft keine Trisomien sind (75), das Wissen über diese aufgrund der Popularität der Trisomie 21 in der Bevölkerung dennoch größer und allgemein weiter verbreitet ist. Aufgrund dessen ist es wichtig, mehr Aufklärung für mehr Bewusstsein in der Bevölkerung über die Mikrodeletion 22q11.2 in der Schwangerenvorsorge zu leisten, um auch dieses häufigere Syndrom ins Bewusstsein der Bevölkerung zu rufen.

Der Umfang der Themen, deren Aufklärung im Rahmen des ETS stattfindet, ist bislang noch nicht vollständig definiert (83). Wenn der cfDNA-Test inklusive Erweiterung auf die Mikrodeletion 22q11.2 in die klinische Vorsorgeroutine aufgenommen werden soll, ist es von höchster Relevanz, die Schwangeren von vornherein ausreichend über das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 sowie den cfDNA-Test zu informieren. Eine nachträgliche Aufklärung nach Erhalt des Ergebnisses des schon durchgeführten cfDNA-Tests ist nicht zielführend. Die Frauen müssen das Syndrom sowie den Zweck des Tests verstehen, um eine fundierte Entscheidung zur Durchführung zu treffen. Auch müssen ihnen die positiven, wie auch die negativen Konsequenzen eines positiven Testergebnisses bewusst sein. Liegt ein positives Ergebnis vor, so folgt die Notwendigkeit der Auseinandersetzung mit der Situation. Hier ist es wichtig, dass die Frauen wissen, dass ein positives Testergebnis Vorteile in der prä- wie postnatalen Organisation und Versorgung des Kindes darstellt. Gleichzeitig muss ihnen bekannt sein, dass ein positives Testergebnis zu weiterer invasiver Diagnostik führt und eine eventuelle psychische wie physische Belastung darstellen kann. Geht der Testung allerdings eine fundierte Aufklärung über die Fakten und möglichen Folgen voraus, so kann den Schwangeren die Angst im Vorhinein genommen werden.

Unsere Studie zeigte, dass die Mikrodeletion 22q11.2 aktuell auf Platz drei der Komplikationen liegt, denen laut Patientenkollektiv zu wenig Bedeutung während der Vorsorgeuntersuchung zukommt. Gleichzeitig ist es im Rahmen der Umfrage auch eines der meistgenannten Syndrome, denen zu viel Aufmerksamkeit während des ETS zukommt. Diese Diskrepanz könnte durch eine generelle Unwissenheit bezüglich des DiGeorge-Syndroms in der Bevölkerung erklärt werden. Manche könnten somit meinen, dass der Grund der Unbekanntheit des Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 darin liege, dass es zu selten vorkomme, um Aufmerksamkeit im Rahmen des ETS zugeteilt zu bekommen. Diese Annahme kann allerdings widerlegt werden, wenn man sich die Inzidenz der Feten mit diesem Syndrom anschaut. Andere wünschen sich, gerade weil das DiGeorge-Syndrom noch kein gängiger Begriff unter Schwangeren ist, mehr und intensivere Aufklärung zu der Chromosomenaberration.

Zu beachten ist außerdem, dass verschieden mit Wissen umgegangen wird. Den einen nimmt Wissen und Gewissheit die Angst und gibt Ihnen die Möglichkeit, Situationen besser einschätzen zu können. Andere finden es beängstigend und verunsichernd, zu wissen, was es potenziell für Komplikationen geben könnte. Hier ist der aufzuklärende Arzt angehalten, sich durch empathische Beratung den Bedürfnissen der Schwangeren anzupassen, ohne auf ausreichende Aufklärung zu verzichten.

Werden die beiden einzelnen Studiengruppen genauer betrachtet, so wird deutlich, dass sich die Hochrisikogruppe mehr Aufklärung zu den Chromosomenaberrationen im Allgemeinen wünscht. Inbegriffen sind hier laut Umfrage die Trisomien sowie auch die Mikrodeletion 22q11.2. Dieser Wunsch lässt vermuten, dass bei allen Schwangeren dieser Gruppe eine erhöhte NT gemessen wurde. Diese deutet auf ein erhöhtes Risiko einer bestehenden Chromosomenaberration beim Kind hin. Somit sind alle Schwangeren dieser Risikogruppe mehr oder weniger direkt von dem Thema Chromosomenanomalien betroffen und zeigen großes Interesse in diesem Bereich. Dagegen wurde bei den Schwangeren der Niedrigrisikogruppe keine erhöhte NT gemessen und das Risiko auf eine Chromosomenaberration war somit erstmal nicht erhöht. Es kann angenommen werden, dass dies der Grund ist, weshalb die Schwangeren dieser Risikogruppe den Fokus lieber auf andere Krankheitsbilder, wie zum Beispiel IUGR, setzten. Gleichzeitig ist den Schwangeren mit niedrigem Risiko die Aufklärung über das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 genauso wichtig, wie den Schwangeren der

Hochrisikogruppe. Ebenso möchten beide Risikogruppen mehr über die Infektionen mit CMV und Parvovirus B19 während der Schwangerschaft erfahren. Dies könnte damit zusammenhängen, dass diese Infektionen in den letzten Jahren immer populärer wurden und den Frauen durch die Ansteckungsgefahr im Alltag Angst machen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich Schwangere mehr Aufklärung zu den Krankheiten und Komplikationen wünschen, von denen ihre eigene Schwangerschaft betroffen sein könnte. Damit die Schwangeren allerdings einen grundlegenden Überblick haben und eventuelle Risiken während der Schwangerschaft einschätzen können, ist eine fundierte Aufklärung über alle häufig auftretenden Risiken, Syndrome und Krankheiten notwendig. Dies schließt alle in der Umfrage abgefragten Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen mit ein. Eine intensivere Beratung kann es in Zukunft zur Mikrodeletion 22q11.2, CMV, Parvovirus B19 und IUGR aufgrund der Studienergebnisse geben.

#### **4.8 Akzeptanz des cfDNA-Tests von Seiten der Patienten**

Zusätzlich zum aktuellen Wissensstand und dem Wunsch nach Aufklärung der Schwangeren haben wir im Rahmen unserer Studie die Zufriedenheit der Studienteilnehmerinnen mit dem kombinierten ETS, bestehend aus Ultraschalluntersuchung und Aufklärung, und dem cfDNA-Test untersucht. Circa 98,0% der Befragten gaben an, zufrieden bis sehr zufrieden gewesen zu sein. Dies galt für die Hochrisiko-, als auch für die Niedrigrisikogruppe. Speziell die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 erachteten circa 96,0% als sinnvoll. Es fühlten sich somit nahezu alle partizipierenden Schwangere gut betreut und sinnvoll behandelt.

Um die Zufriedenheit mit dem cfDNA-Test nochmals zu untermauern, fragten wir die Studienteilnehmerinnen, ob sie den cfDNA-Test ihrer besten Freundin weiterempfehlen würden. 95,0% der Frauen, die nicht von einem (falsch-)positiven Testergebnis betroffen waren, würden den originalen Test ohne Mikrodeletion 22q11.2 weiterempfehlen und 92,3% die Testversion inklusive der Erweiterung des Testspektrums. Von der Gruppe der Frauen mit falsch-positivem Testergebnis auf Mikrodeletion 22q11.2 und gesunden

Kindern würden alle den originalen Test weiterempfehlen und zwei von drei Betroffenen auch mit dem Zusatz der Testung auf die Mikrodeletion 22q11.2.

Durch die erhobenen Antworten wurde deutlich, dass der Test den Schwangeren zur Bestätigung eines gesunden Fötus wichtig ist. Von den Müttern mit positivem Testergebnis und tatsächlich von Trisomie 21 betroffenen Kindern würde lediglich eine von drei den cfDNA-Test mit oder auch ohne Erweiterung weiterempfehlen. Es zeigt sich die Tendenz, dass der cfDNA-Test keinen guten Anklang findet, sobald wirklich eine Chromosomenaberration vorliegt. Aufgrund der geringen Fallzahl von jeweils drei Frauen mit (falsch-)positivem Ergebnis ist diese Aussage allerdings nicht statistisch auswertbar. Hierzu müssten zukünftige Studien mit größerer Fallzahl durchgeführt werden.

#### **4.9 Eingliederung des erweiterten cfDNA-Tests in das Ersttrimesterscreening**

Um einen erweiterten cfDNA-Test im klinischen Alltag im Rahmen des ETS anbieten zu können, müssen einige Faktoren gesichert sein (84). Zum einen muss der Test eine gewisse Testgüte mit hoher DR, hohem PPW und niedriger FPR bieten. Laut eines Berichts des *Instituts für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen* liegt die DR des originalen cfDNA-Tests momentan bei 99,1% und die FPR bei 0,05% (44). Für den cfDNA-Test inklusive der Erweiterung auf die Mikrodeletion 22q11.2 schwankt die DR aktuell noch zwischen circa 90,0%-97,8% (68, 69). Die FPR liegt laut unserer Studie bei 0,27%. Die Testgüte ist somit etwas geringer als die des Originaltests. Trotzdem erscheint eine Einführung in das Routinescreening der Schwangerschaftsvorsorge sinnvoll und ausreichend sicher.

Zum anderen ist eine einfache Handhabung des Screenings von großer Bedeutung. Diese ist beim erweiterten cfDNA-Testscreening in Form der maternalen Blutentnahme gegeben (28). Da es sich bei dem cfDNA-Test allerdings nur um ein Screeningverfahren und keine eindeutige Diagnostik handelt, ist bei einem auffälligen Ergebnis eine CVS oder eine AC durchzuführen (74, 85).

Ein weiterer wichtiger Faktor, der erfüllt werden muss, damit der erweiterte cfDNA-Test in das Ersttrimesterscreening integriert werden kann, ist eine gesichert ausreichende Aufklärung der Schwangeren. Ein Screeningtest wird klinisch erst sinnvoll, wenn die Schwangeren die Krankheit kennen und die Gründe für die Durchführung des Tests verstehen.

Schlussendlich ist ausschlaggebend, ob der erweiterte cfDNA-Test für alle Schwangeren zur Verfügung stehen kann. Dies hängt einmal mit der Möglichkeit einer ausreichenden Versorgung der Kliniken mit Testmaterial zusammen sowie der Finanzierung des cfDNA-Tests. Die momentan angebotenen Tests sind, bis auf einige Sonderregelungen, individuelle Gesundheitsleistungen und müssen somit vom Patienten selbst gezahlt werden. Dies müsste sich in Zukunft ändern, damit allen Schwangeren gleichwertigen Zugriff auf den cfDNA-Test ermöglicht wird.

#### **4.10 Schwächen und Stärken der Studie**

Eine große Stärke dieser Studie war der prospektive klinische Aufbau, der direkte Kontakt zu den Patientinnen und die detaillierte Nachverfolgung der Schwangerschaft bis hin zur postnatalen pädiatrischen Untersuchung des Kindes. Die Nachverfolgungsrate war sehr groß, da direkter Kontakt zu den Studienteilnehmerinnen bestand.

Der monozentrische Aufbau der Studie kann als ihre größte Schwäche gedeutet werden. Diese Schwäche kann in zukünftigen, weiterführenden Aufbaustudien durch eine Randomisierung ausgeglichen werden. Auch kann der Studienumfang erhöht werden, um unter anderem eine noch präzisere FPR aufstellen zu können.

## 4.11 Schlussfolgerung und Ausblick

Unsere Studie bestätigt die Annahme, dass die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 genügend Praktikabilität besitzt, um im Rahmen des ETS in die Routineuntersuchung der Schwangerenvorsorge aufgenommen zu werden. Der cfDNA-Test inklusive der Mikrodeletion 22q11.2 weist unter anderem eine niedrige FPR von 0,27% auf und ist somit nur unwesentlich schlechter als der schon angewendete cfDNA-Test auf Trisomien. Ähnlich verhält es sich mit der Sensitivität und der Spezifität des erweiterten cfDNA-Tests. Auch hier besteht im Großen und Ganzen kein Nachteil gegenüber dem originalen cfDNA-Test (29, 44, 68, 69).

Damit ein Screeningtest zur Routineuntersuchung hinzugefügt werden kann, muss die Durchführung dessen möglichst simpel sein. Unsere Studie zeigte, dass dies beim erweiterten cfDNA-Test der Fall ist, da es sich klinisch gesehen einfacherweise um eine maternale Blutentnahme handelt. Eine Ultraschalluntersuchung und eine ausführliche Aufklärung über die zu testende Krankheit als auch über den Test selbst sind vor Testdurchführung unabdingbar. Durch eine möglichst einfache Handhabung des erweiterten cfDNA-Tests ist nicht nur eine bessere Integration in den klinischen Alltag möglich, sondern auch eine Senkung der Testversagerrate durch technische Fehler. Unsere Studie zeigte eine Testversagerrate von lediglich 0,9% auf.

Zusätzlich kann eine klinische Relevanz des erweiterten cfDNA-Tests bestätigt werden, da das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 zum einen eine höhere Inzidenz aufzeigt als manch andere Chromosomenaberrationen, auf welche bereits regelmäßig getestet wird. Zum anderen bringt die pränatale Bestätigung des Vorliegens eines Mikrodeletionssyndroms 22q11.2 eine Verbesserungsmöglichkeit der Schwangerenbetreuung sowie eine optimierte und zeitnahe postnatale Therapiemöglichkeit für das Kind.

Um die Einführung des erweiterten cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 in Zukunft zu realisieren, muss mehr Aufklärung zu dieser strukturellen Chromosomenaberration geboten werden. Unsere Studie zeigt, dass die Mikrodeletion 22q11.2 noch weitgehend unbekannt unter Schwangeren ist. Durch Umfragen im Rahmen der Studie wurde deutlich, dass der Wille um mehr Wissen von Seiten der werdenden Mütter über dieses Syndrom vorhanden ist und dass eine Testung auch als

sinnvoll erachtet wird. Gleichzeitig zu größerer Bedeutsamkeit während des ETS muss dafür gesorgt sein, dass der erweiterte cfDNA-Test für Schwangere gleichwertig zur Verfügung steht. Dies bezieht sich auf die Verfügbarkeit sowie den Kostenpunkt.

Um die FPR fortlaufend zu optimieren, ist es notwendig, dass in Zukunft weitere Studien mit einem größeren Studienkollektiv aber gleichwertigem Studienprotokoll zu unserem in Hinblick auf die Nachverfolgung des Gestationsverlaufs der Studienteilnehmerinnen durchgeführt werden.

## Zusammenfassung

Die Mikrodeletion 22q11.2 ist mit einer Inzidenz von 1:1000 betroffenen Feten eine der häufigsten strukturellen Chromosomenaberrationen. Bei diesem Syndrom kommt es zu einer Deletion von circa drei Megabasen an Genen. Prädestiniert für eine Mikrodeletion während der Zellteilung sind die Low-copy-repeats-A (LCR-A) bis LCR-H auf dem langen Arm des Chromosoms 22. Hier befinden sich die Gene, die für die Ausprägung der typischen Symptome verantwortlich sind. Je nach betroffenen LCRs der Mikrodeletion kommt es zu verschiedenen Phänotypen. Unter den häufigsten Symptomen finden sich kardiale Defekte, Hypoparathyroidismus mit Hypokalzämie und physische wie geistige Entwicklungsverzögerung. Bei vielen Symptomen wäre es hilfreich, wenn bereits pränatal eine Diagnose vorliegen würde. Dadurch kann die postnatale Therapie des Kindes zeitnah eingeleitet und optimiert werden. Momentan gibt es die Möglichkeit, die Mikrodeletion 22q11.2 mittels Mikroarray-Analyse oder FISH (Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung) zu diagnostizieren. Auch wurde bereits ein zellfreier DNA-Screeningtest (cfDNA-Test) entwickelt, der das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 detektieren kann.

Bei einem cfDNA-Test werden die fetalen DNA-Fragmente aus dem maternalen Blut gefiltert und ausgewertet. Um die fetale DNA auszuwerten, gibt es verschiedene Laborverfahren. Zum Beispiel bediente sich *Helgeson et al.* des Whole Genome Sequencings, *Wapner et al.* und *Ravi et al.* verwendeten Single nucleotide polymorphism-targets (SNP-Targets) und *Schmid et al.* werteten die DNA-Fragmente mittels Digital Analysis of Selected Regions (DANSR-Analyse) aus. Dieses Laborverfahren wurde auch in unserer Studie angewandt. Seit 2012 wird der cfDNA-Test auf Trisomien als individuelle Gesundheitsleistung in der Schwangerenvorsorge angeboten. Die Vorteile dieses nicht-invasiven Screeningtests sind die hohe Testgüte und die leichte Handhabung in Form einer maternalen Blutentnahme. Es stellt sich die Frage, ob die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 ebenso genügend Praktikabilität besitzt, um in die Schwangerenvorsorge im Rahmen des Ersttrimesterscreenings (ETS) aufgenommen zu werden. Um dies zu testen, wurde unsere prospektive klinische Studie mit 1127 schwangeren Studienteilnehmerinnen durchgeführt. Bei allen wurde der erweiterte cfDNA-Test nach einer eingehenden

Ultraschalluntersuchung und einer ausführlichen Aufklärung während des ETS abgenommen und ausgewertet. Die Analyse der fetalen DNA-Fragmente ergab 97,4% unauffällige, 2,6% auffällige und 0,9% ohne Testergebnisse. Von den auffälligen Ergebnissen waren lediglich drei positiv auf Mikrodeletion 22q11.2, die restlichen positiven Testergebnisse bezogen sich auf vorliegende Trisomien. Alle drei Schwangerschaften, die positiv auf die Mikrodeletion 22q11.2 getestet wurden, stellten sich nach invasiver Diagnostik als Falsch-Positiv-Fälle heraus. Dies ergibt eine Falsch-Positiv-Rate (FPR) von 0,27%. Eine Detektionsrate (DR) zu ermitteln war jedoch nicht Ziel unserer Studie, da hierfür unser Studienkollektiv zu klein war. Im Wesentlichen konnte gezeigt werden, dass die Testgüte und die Praktikabilität der erweiterten Version des cfDNA-Tests inklusive der Mikrodeletion 22q11.2 nicht schlechter ist als die der schon eingeführten Version des Tests ohne das Mikrodeletionssyndrom. Somit erscheint der erweiterte cfDNA-Test ausreichend sicher, um in das ETS aufgenommen zu werden.

Zusätzlich zur Analyse des erweiterten cfDNA-Tests gab es eine Umfrage unter den Studienteilnehmerinnen zur Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2. Dabei gaben weniger als 10,0% der Schwangeren an, das Mikrodeletionssyndrom gut zu kennen. Es war somit die unbekannteste Schwangerschaftskomplikation von Seiten der Patientinnen. Gleichzeitig ergab die Umfrage, dass ein Wunsch nach mehr Aufklärung zu diesem noch reichlich unbekanntem Syndrom in der betreffenden Patientengruppe vorhanden ist. Diesem sollte in Zukunft Rechnung getragen werden, um das insgesamt häufig vorkommende Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 in das Bewusstsein der Bevölkerung zu rufen.

Außerdem wurde nach der Meinung der Studienteilnehmerinnen zur Sinnhaftigkeit einer Erweiterung des cfDNA-Tests und nach ihrer Zufriedenheit gefragt. Eine Einführung des erweiterten Tests ergibt bekanntermaßen nur Sinn, wenn dieser auch auf Verständnis und Akzeptanz in der betreffenden Bevölkerungsgruppe trifft. Es zeigte sich, dass mit mehr Wissen über das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 auch die zugeschriebene Sinnhaftigkeit der Testung auf diese steigt. Es konnte nachgewiesen werden, dass sich die Mehrheit der Schwangeren durch ein ETS mit entsprechender Aufklärung und inklusive des erweiterten cfDNA-Tests gut betreut und sinnvoll behandelt gefühlt hat. Die Zufriedenheit war im Allgemeinen hoch.

Zusammengenommen kann unsere Studie zeigen, dass die Erweiterung des cfDNA-Tests auf die Mikrodeletion 22q11.2 praktikabel und klinisch relevant genug ist, um in die Schwangerenvorsorge im Rahmen des ETS aufgenommen zu werden. Des Weiteren besteht großes Interesse an der Erweiterung des cfDNA-Tests auf das Mikrodeletionssyndrom 22q11.2 von Seiten der Schwangeren nach entsprechender Aufklärung. Um die Einführung dieses Tests in die Schwangerenvorsorge zu realisieren, muss eine ausreichende Aufklärung zu der strukturellen Chromosomenaberration, die Disponibilität des Testmaterials, sowie die Kostenübernahme gesichert sein.

## Literaturverzeichnis

1. Richtlinien Des Gemeinsamen Bundesausschusses Über Die Ärztliche Betreuung Während Der Schwangerschaft Und Nach Der Entbindung ("Mutterschafts-Richtlinien") In Der Fassung Vom 10. Dezember 1985 (Veröffentlicht Im Bundesanzeiger Nr. 60 a Vom 27. März 1986); 2019.
2. Coco L, Giannone TT, Zarbo G. Management of high-risk pregnancy. *Minerva Ginecol.* 2014;66(4):383-9.
3. Murken J GT, Holinski-Feder E, Zerres K. Taschenlehrbuch Humangenetik. 8 ed. Stuttgart: Thieme; 2011.
4. Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, Dupont C, Alesi V, Gouas L, et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenat Diagn.* 2015;35(8):801-9.
5. Buselmaier W TG. Humangenetik. 4 ed. Heidelberg: Springer; 2007.
6. Schaaf CP ZJ. Basiswissen Humangenetik. 3 ed. Köln: Springer; 2018.
7. Witkowski R PO, Ullrich E, Thiel G. Lexikon der Syndrome und Fehlbildungen. Heidelberg: Springer; 2003.
8. Papp C, Beke A, Mezei G, Szigeti Z, Ban Z, Papp Z. Prenatal diagnosis of Turner syndrome: report on 69 cases. *J Ultrasound Med.* 2006;25(6):711-7; quiz 8-20.
9. Cockwell A, MacKenzie M, Youings S, Jacobs P. A cytogenetic and molecular study of a series of 45,X fetuses and their parents. *J Med Genet.* 1991;28(3):151-5.
10. Hook EB. Spontaneous deaths of fetuses with chromosomal abnormalities diagnosed prenatally. *N Engl J Med.* 1978;299(19):1036-8.
11. Cuturilo G, Drakulic D, Jovanovic I, Ilic S, Kalanj J, Vulicevic I, et al. The Impact of 22q11.2 Microdeletion on Cardiac Surgery Postoperative Outcome. *Pediatr Cardiol.* 2017;38(8):1680-5.
12. Grati FR, Gross SJ. Noninvasive screening by cell-free DNA for 22q11.2 deletion: Benefits, limitations, and challenges. *Prenat Diagn.* 2019;39(2):70-80.
13. Morrow BE, McDonald-McGinn DM, Emanuel BS, Vermeesch JR, Scambler PJ. Molecular genetics of 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A.* 2018;176(10):2070-81.
14. Burnside RD. 22q11.21 Deletion Syndromes: A Review of Proximal, Central, and Distal Deletions and Their Associated Features. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146(2):89-99.
15. Kagan KO, Hoopmann M, Pfaff T, Prodan N, Wagner P, Schmid M, et al. First Trimester Screening for Common Trisomies and Microdeletion 22q11.2 Syndrome Using Cell-Free DNA: A Prospective Clinical Study. *Fetal Diagn Ther.* 2020;47(11):841-52.
16. Dugoff L, Mennuti MT, McDonald-McGinn DM. The benefits and limitations of cell-free DNA screening for 22q11.2 deletion syndrome. *Prenat Diagn.* 2017;37(1):53-60.
17. McDonald-McGinn DM, Tonnesen MK, Laufer-Cahana A, Finucane B, Driscoll DA, Emanuel BS, et al. Phenotype of the 22q11.2 deletion in individuals identified through an affected relative: cast a wide FISHing net! *Genet Med.* 2001;3(1):23-9.
18. Kruszka P, Addissie YA, McGinn DE, Porras AR, Biggs E, Share M, et al. 22q11.2 deletion syndrome in diverse populations. *Am J Med Genet A.* 2017;173(4):879-88.

19. Schindewolf E, Khalek N, Johnson MP, Gebb J, Coleman B, Crowley TB, et al. Expanding the fetal phenotype: Prenatal sonographic findings and perinatal outcomes in a cohort of patients with a confirmed 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2018;176(8):1735-41.
20. Kagan KO. Fehlbildungsdiagnostik im Ersten Trimenon. *Gynupdate*. 2020.
21. McDonald-McGinn DM. 22q11.2 deletion syndrome: A tiny piece leading to a big picture. *Am J Med Genet A*. 2018;176(10):2055-7.
22. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE, Marino B, Philip N, Swillen A, Vorstman JA, et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15071.
23. Tramontana A, Hartmann B, Hafner E. DiGeorge syndrome chromosome region deletion and duplication: Prenatal genotype-phenotype variability in fetal ultrasound and MRI. *Prenat Diagn*. 2019;39(13):1225-34.
24. Hou HT, Chen HX, Wang XL, Yuan C, Yang Q, Liu ZG, et al. Genetic characterisation of 22q11.2 variations and prevalence in patients with congenital heart disease. *Arch Dis Child*. 2019.
25. Rauch A, Hoyer J, Guth S, Zweier C, Kraus C, Becker C, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2006;140(19):2063-74.
26. Schneider H HP, Schneider KTM. *Die Geburtshilfe*. 5 ed. Heidelberg: Springer; 2016.
27. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet*. 1998;352(9125):343-6.
28. Kagan KO, Sonek J, Wagner P, Hoopmann M. Principles of first trimester screening in the age of non-invasive prenatal diagnosis: screening for chromosomal abnormalities. *Arch Gynecol Obstet*. 2017;296(4):645-51.
29. Kagan KO, Eiben B, Kozlowski P. [Combined first trimester screening and cell-free fetal DNA - "next generation screening"]. *Ultraschall Med*. 2014;35(3):229-36.
30. Prodan N, Hoopmann M, Abele H, Wagner P, Wallwiener D, Brucker S, et al. Changes in the Detection and Management of Foetal Trisomies over Time. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2018;78(9):853-8.
31. Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999;13(3):167-70.
32. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(1):45-67.
33. Mathews TJ, Hamilton BE. Mean Age of Mothers is on the Rise: United States, 2000-2014. *NCHS Data Brief*. 2016(232):1-8.
34. Kagan KO, Sonek J, Wagner P, Hoopmann M. Principles of first trimester screening in the age of non-invasive prenatal diagnosis: screening for other major defects and pregnancy complications. *Arch Gynecol Obstet*. 2017;296(4):635-43.
35. Rossi AC, Prefumo F. Accuracy of ultrasonography at 11-14 weeks of gestation for detection of fetal structural anomalies: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2013;122(6):1160-7.
36. Syngelaki A, Hammami A, Bower S, Zidere V, Akolekar R, Nicolaides KH. Diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities on routine ultrasound examination at 11-13 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019;54(4):468-76.

37. Kagan KO, Avgidou K, Molina FS, Gajewska K, Nicolaides KH. Relation between increased fetal nuchal translucency thickness and chromosomal defects. *Obstet Gynecol.* 2006;107(1):6-10.
38. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther.* 2014;35(2):118-26.
39. Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11+0 to 13+6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33(1):18-22.
40. Kagan KO, Cicero S, Staboulidou I, Wright D, Nicolaides KH. Fetal nasal bone in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33(3):259-64.
41. Maiz N, Wright D, Ferreira AF, Syngelaki A, Nicolaides KH. A mixture model of ductus venosus pulsatility index in screening for aneuploidies at 11-13 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(4):221-9.
42. Holzgreve W, Garritsen HS, Ganshirt-Ahlert D. Fetal cells in the maternal circulation. *J Reprod Med.* 1992;37(5):410-8.
43. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076):485-7.
44. IFQUWIG I. Nicht invasive Pränataldiagnostik (NIPD) zur Bestimmung des Risikos autosomaler Trisomien 13, 18 und 21 bei Risikoschwangerschaften. 2017;1-118.
45. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(6):618-24.
46. Santorum M, Wright D, Syngelaki A, Karagioti N, Nicolaides KH. Accuracy of first-trimester combined test in screening for trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49(6):714-20.
47. Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, Laurent LC, Ranzini AC, Brar H, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med.* 2015;372(17):1589-97.
48. Krstic N, Obican SG. Current landscape of prenatal genetic screening and testing. *Birth Defects Res.* 2019.
49. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987;155:335-50.
50. Alberts B BD, Hopkin K, et al. *Lehrbuch der molekularen Zellbiologie.* 4 ed. Weinheim 2012.
51. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010;11(1):31-46.
52. Juneau K, Bogard PE, Huang S, Mohseni M, Wang ET, Ryvkin P, et al. Microarray-based cell-free DNA analysis improves noninvasive prenatal testing. *Fetal Diagn Ther.* 2014;36(4):282-6.
53. Sparks AB, Struble CA, Wang ET, Song K, Oliphant A. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(4):319.e1-9.
54. Eiben B, Glaubitz R, Kagan KO. Nichtinvasive Pränataldiagnostik: ETS und NGS-basierte Tests. *medgen.* 2014.

55. Salomon LJ, Sotiriadis A, Wulff CB, Odibo A, Akolekar R. Risk of miscarriage following amniocentesis or chorionic villus sampling: systematic review of literature and updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019;54(4):442-51.
56. Sundberg K, Bang J, Smidt-Jensen S, Brocks V, Lundsteen C, Parner J, et al. Randomised study of risk of fetal loss related to early amniocentesis versus chorionic villus sampling. *Lancet.* 1997;350(9079):697-703.
57. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(1):16-26.
58. Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM, Chalouhi GE, Ghi T, Kagan KO, et al. ISUOG practice guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):102-13.
59. Kozłowski P, Burkhardt T, Gembruch U, Gonser M, Kähler C, Kagan KO, et al. DEGUM, ÖGUM, SGUM and FMF Germany Recommendations for the Implementation of First-Trimester Screening, Detailed Ultrasound, Cell-Free DNA Screening and Diagnostic Procedures. *Ultraschall Med.* 2019;40(2):176-93.
60. von Kaisenberg C, Chaoui R, Häusler M, Kagan KO, Kozłowski P, Merz E, et al. Quality Requirements for the early Fetal Ultrasound Assessment at 11-13+6 Weeks of Gestation (DEGUM Levels II and III). *Ultraschall Med.* 2016;37(3):297-302.
61. Kagan KO, Hoopmann M, Abele H, Alkier R, Lüthgens K. First-trimester combined screening for trisomy 21 with different combinations of placental growth factor, free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;40(5):530-5.
62. Kagan KO, Sroka F, Sonek J, Abele H, Lüthgens K, Schmid M, et al. First-trimester risk assessment based on ultrasound and cell-free DNA vs combined screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(4):437-44.
63. Bunnell M, Zhang C, Lee C, Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Confined placental mosaicism for 22q11.2 deletion as the etiology for discordant positive NIPT results. *Prenat Diagn.* 2017;37(4):416-9.
64. S2K guideline. Genetic diagnosis and counseling. AWMF registry number 78-015. *medgen* 2018;30:469.
65. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet.* 1971;2(7731):971-2.
66. Kagan KO, Sroka F, Sonek J, Abele H, Lüthgens K, Schmid M, et al. First-trimester risk assessment based on ultrasound and cell-free DNA vs combined screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(4):437-44.
67. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50(3):302-14.
68. Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B, Stosic M, Zimmermann B, Sigurjonsson S, et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(3):332.e1-9.
69. Ravi H, McNeill G, Goel S, Meltzer SD, Hunkapiller N, Ryan A, et al. Validation of a SNP-based non-invasive prenatal test to detect the fetal 22q11.2 deletion in maternal plasma samples. *PLoS One.* 2018;13(2):e0193476.
70. Martin K, Iyengar S, Kalyan A, Lan C, Simon AL, Stosic M, et al. Clinical experience with a single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal test for five clinically significant microdeletions. *Clin Genet.* 2018;93(2):293-300.

71. Helgeson J, Wardrop J, Boomer T, Almasri E, Paxton WB, Saldivar JS, et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):999-1004.
72. Schmid M, Wang E, Bogard PE, Bevilacqua E, Hacker C, Wang S, et al. Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Using a Targeted Microarray-Based Cell-Free DNA Test. *Fetal Diagn Ther.* 2018;44(4):299-304.
73. Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, Pompili E, Izzi C, Martinoni L, et al. Interpreting mosaicism in chorionic villi: results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis. *Prenat Diagn.* 2015;35(11):1117-27.
74. Benn P, Borrell A, Chiu RW, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn.* 2015;35(8):725-34.
75. Van Opstal D, van Maarle MC, Lichtenbelt K, Weiss MM, Schuring-Blom H, Bhola SL, et al. Origin and clinical relevance of chromosomal aberrations other than the common trisomies detected by genome-wide NIPS: results of the TRIDENT study. *Genet Med.* 2018;20(5):480-5.
76. Pescia G, Guex N, Iseli C, Brennan L, Osteras M, Xenarios I, et al. Cell-free DNA testing of an extended range of chromosomal anomalies: clinical experience with 6,388 consecutive cases. *Genet Med.* 2017;19(2):169-75.
77. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):26-32.
78. Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, Mosimann B, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: effect of maternal and fetal factors. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(4):237-43.
79. Grand K, Levitt Katz LE, Crowley TB, Moss E, Lessig M, Bamba V, et al. The impact of hypocalcemia on full scale IQ in patients with 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A.* 2018;176(10):2167-71.
80. Bassett AS, McDonald-McGinn DM, Devriendt K, Digilio MC, Goldenberg P, Habel A, et al. Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J Pediatr.* 2011;159(2):332-9.e1.
81. Cheung EN, George SR, Andrade DM, Chow EW, Silversides CK, Bassett AS. Neonatal hypocalcemia, neonatal seizures, and intellectual disability in 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med.* 2014;16(1):40-4.
82. Eicher PS, McDonald-McGinn DM, Fox CA, Driscoll DA, Emanuel BS, Zackai EH. Dysphagia in children with a 22q11.2 deletion: unusual pattern found on modified barium swallow. *J Pediatr.* 2000;137(2):158-64.
83. Kozłowski P, Burkhardt T, Gembruch U, Gonser M, Kahler C, Kagan KO, et al. DEGUM, OGUM, SGUM and FMF Germany Recommendations for the Implementation of First-Trimester Screening, Detailed Ultrasound, Cell-Free DNA Screening and Diagnostic Procedures. *Ultraschall Med.* 2019;40(2):176-93.
84. Wilson J, Jungner G, Organisation WH. Principles and practice of screening for disease *Public Health Papers.* 1968;34.
85. Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F, Kagan KO, Paladini D, Yeo G, et al. ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2014;218(6):242-3.

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abb. 1. Darstellung der ausschlaggebenden Region der DNA bei Mikrodeletion 22q11.2 (15).....</i>	8
<i>Abb. 2. Anonymer Patientenfragebogen.....</i>	24
<i>Abb. 3. Telefonischer Patientenfragebogen nach vier Wochen.....</i>	28
<i>Abb. 4. Beschreibung des Patientenkollektivs .....</i>	33
<i>Abb. 5. Einteilung in die Risikogruppen.....</i>	34
<i>Abb. 6. Prozentualer Anteil der fet. Fraktion in den cfDNA-Blutproben.....</i>	38
<i>Abb. 7.A+B Korrelation von mat. Alter und fet. Fraktion.....</i>	41
<i>Abb. 8.A+B Korrelation von mat. Gewicht und fet. Fraktion im cfDNA-Test.....</i>	44
<i>Abb. 9.A+B Korrelation von SSW und fet. Fraktion im cfDNA-Test.....</i>	47
<i>Abb. 10. Nackentransparenzdicke auffälliger Feten .....</i>	51
<i>Abb. 11. <math>\beta</math>-HCG-Messungen unauffälliger und auffälliger Schwangerschaften.....</i>	53
<i>Abb. 12. PAPP-A-Messungen unauffälliger und auffälliger Schwangerschaften .....</i>	54
<i>Abb. 13. Prozentuale Angabe des höchsten erlangten Bildungsabschlusses .....</i>	58
<i>Abb. 14. Prozentuale Darstellung der Bekanntheit der Mikrodeletion 22q11.2 .....</i>	59
<i>Abb. 15. Prozentuale Darstellung der Bekanntheit der T21.....</i>	60
<i>Abb. 16. Vertrautheit der Patientinnen gegenüber Schwangerschaftskomplikationen, - infektionen und Syndromen.....</i>	61
<i>Abb. 17. Bekanntheitsgrad der Mikrodeletion 22q11.2 nach Bildungsabschluss .....</i>	64
<i>Abb. 18. Zufriedenheit der Studienteilnehmerinnen über das kombinierte ETS- Screening, die Ultraschalluntersuchung und Beratung, sowie über den cfDNA- Test.....</i>	65
<i>Abb. 19. Zufriedenheit der Risikogruppen mit dem kombinierten ETS .....</i>	66
<i>Abb. 20. Subjektive Einschätzung zur Sinnhaftigkeit der Erweiterung des Spektrums des cfDNA-Tests auf Mikrodeletion 22q11.2 .....</i>	69
<i>Abb. 21. Weiterempfehlung der Ultraschalluntersuchung beim Spezialisten .....</i>	71
<i>Abb. 22. Weiterempfehlung des cfDNA-Tests.....</i>	73
<i>Abb. 23. Weiterempfehlung des cfDNA-Tests inklusive Mikrodeletion 22q11.2.....</i>	74
<i>Abb. 24. subjektiven Bedeutungszuordnung der einzelnen Komplikationen und Infektionen.....</i>	76

<i>Abb. 25. Meinungsbild: Schwangerschaftskomplikationen und -infektionen, denen zu wenig Bedeutung während des ETS zukommt.....</i>	<i>78</i>
<i>Abb. 26. Prozentuale Angaben der Antworten zur Kategorie "zu wenig Bedeutung" der Hochrisikogruppe.....</i>	<i>80</i>
<i>Abb. 27. Prozentuale Angaben der Antworten zur Kategorie "zu wenig Bedeutung" der Niedrigrisikogruppe.....</i>	<i>81</i>

## Tabellenverzeichnis

<i>Tab. 1. Symptome bei Mikrodeletion 22q11.2</i> .....	9
<i>Tab. 2. Interpretation von Testergebnissen</i> .....	11
<i>Tab. 3. Korrelation der NT mit T21</i> .....	13
<i>Tab. 4. Testgüte unterschiedlicher Screening-Methoden auf T21(30, 46, 54)</i> .....	19
<i>Tab. 5.A.+B. Zusammenfassung der Studiencharakteristika</i> .....	36
<i>Tab. 6. Untersuchungs- und Testergebnisse der Schwangerschaften mit T21, T18 und T13</i> .....	49
<i>Tab. 7. Charakteristika der Studienteilnehmer, bei denen die 1. Blutentnahme (BE) unerfolgreich war und der kompletten Testversager mit 2 unerfolgreichen BEs</i> .....	55
<i>Tab. 8. Charakteristika der drei Fälle mit falsch-positivem cfDNA-Testergebnis auf Mikrodeletion 22q11.2</i> .....	57
<i>Tab. 9. Bekanntheitsgrad der Mikrodeletion 22q11.2 nach Bildungsabschluss</i> .....	63
<i>Tab. 10. Zufriedenheit der Hochrisikogruppe</i> .....	67
<i>Tab. 11. Zufriedenheit der Niedrigrisikogruppe</i> .....	67
<i>Tab. 12. Zuteilung der Angaben zur subjektiven Sinnhaftigkeit in die Hoch- und die Niedrigrisikogruppe</i> .....	69
<i>Tab. 13. Bedeutungsbeimessung der Schwangerschaftskomplikationen, -infektionen und Syndromen im Rahmen des ETS</i> .....	75
<i>Tab. 14. Zuordnung der Schwangerschaftskomplikationen, -infektionen und Syndrome in die Kategorien „zu große Bedeutung“ und „zu wenig Bedeutung“ von den drei Falsch-positiv-Fällen</i> .....	82

## **Erklärung zum Eigenanteil**

Die Arbeit wurde unter Betreuung von Herr Prof. Dr. med. K. O. Kagan an der Universitätsfrauenklinik Tübingen in der Abteilung für pränatale Diagnostik und Medizin durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. K. O. Kagan (Doktorvater).

Die Datenerhebung wurde von mir eigenständig mit Unterstützung durch F. Sroka und N. Schwingenstein durchgeführt. Die sonographischen Daten wurden mit Unterstützung von Prof. Dr. med. M. Hoopmann, Prof. Dr. med. P. Wagner und Dr. med. N. Prodan erhoben.

Die statistische Auswertung wurde eigenständig mit Hilfe von Prof. Dr. med. K. O. Kagan und einmalige Beratung durch Herr P. Reiter durchgeführt.

Die Abb. 1. wurde aus oben genannter Quelle entnommen und von mir modifiziert.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Das Manuskript wurde durch Prof. Dr. med. K. O. Kagan korrigiert.

Tübingen, den

---

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während meiner Arbeit unterstützten und mir zur Vollendung meiner Promotion verholfen haben.

Mein Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. K. O. Kagan, der mir das Thema meiner Promotion ermöglichte. Auch die hervorragende Betreuung, der konstruktive Austausch und die regelmäßigen Gespräche auf fachlicher, sowie persönlicher Ebene waren mir eine große Hilfe und haben mich stets positiv beeinflusst.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. M. Hoopmann, Prof. Dr. P. Wagner und Dr. N. Prodan für die große Unterstützung bei der Erfassung von Patientendaten und die stetige Hilfsbereitschaft.

Außerdem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern von *TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A.*, *Impact Lab Group* in Italien für die laboratorische Auswertung der Blutproben und die reibungslose Übermittlung der Testergebnisse.

Auch möchte ich mich beim Team der Pränataldiagnostik der Universitätsfrauenklinik Tübingen für die Unterstützung und die angenehme und herzliche Atmosphäre bedanken.

F. Sroka und N. Schwingenstein danke ich für die tatkräftige Mitarbeit bei der Datenerhebung und die vielen Telefonate.

An dieser Stelle möchte ich auch Herr P. Reiter für die großartige Hilfe bei der Erstellung einiger Schaubilder mit *RStudio*® danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden für die seelische und emotionale Unterstützung während der Zeit meiner Promotion. Sie haben mich stets ermutigt und motiviert, sodass ich meine Arbeit gut abschließen konnte. Auch möchte ich meinen Eltern und meiner Schwester für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens danken sowie L. Flaig für die vielen gemeinsamen produktiven Schreibstunden.

## Liste der Veröffentlichungen

Kagan KO, Hoopmann M, Pfaff T, Prodan N, Wagner P, Schmid M, Dufke A, Mau-Holzmann U, Brucker S, Marcato L, Malvestiti B, Grati FR. First Trimester Screening for Common Trisomies and Microdeletion 22q11.2 Syndrome Using Cell-Free DNA: A Prospective Clinical Study. *Fetal Diagn Ther.* 2020;47(11):841-852. doi: 10.1159/000510069 . Epub 2020 Sep 2. PMID: 32877902 .