

**Aus dem Department für Frauengesundheit Tübingen
Universitäts-Frauenklinik**

Untersuchung der pränataldiagnostischen Marker prenatal thickness, nasal bone length, prefrontal space ratio und prenatal thickness-nasal bone ratio bei Feten mit einer Trisomie 18, Trisomie 13, Monosomie X und Triploidie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von:
Berg, Xaver Florian

2018

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. Karl Oliver Kagan

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. W. S. Gröschel

Tag der Disputation: 19.03.2018

Widmung

Meinen lieben Eltern, meinem Bruder und seiner Frau, in tiefster Dankbarkeit.

INHALTSVERZEICHNIS

WIDMUNG	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS:.....	V
DIAGRAMMVERZEICHNIS:	VI
TABELLENVERZEICHNIS	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:	VIII
1. EINLEITUNG	1
1.1: BETREUUNGSKONZEPTE IN DER SCHWANGERSCHAFT	1
1.2: CHROMOSOMENSTÖRUNGEN.....	3
1.2.1: DAS MENSCHLICHE KARYOGRAMM	3
1.2.2: NUMERISCHE UND STRUKTURELLE CHROMOSOMENSTÖRUNGEN	4
1.2.3: SOMATISCHE MUTATIONEN UND KEIMBAHNMUTATIONEN	5
1.2.4: FORMEN DER TRISOMIEN	5
1.2.5: TRIPLOIDIEN	6
1.2.6: MONOSOMIEN	7
1.3: NICHTINVASIVE SCREENING UNTERSUCHUNGEN.....	8
1.3.1: RISIKOSTRATIFIZIERUNG VON SCHWANGERSCHAFTEN.....	8
1.3.2: TESTGÜTE VON SCREENINGUNTERSUCHUNGEN ¹⁷	9
1.3.3: MATERNALES ALTERSRISIKO	10
1.3.4: GESTATIONSALTER ALS RISIKOFAKTOR.....	11
1.3.5: SONOGRAPHISCHE MARKER IM ERSTEN TRIMENON.....	11
1.3.6: KOMBINIERTES ERSTTRIMESTERSCREENING (ETS)	12
1.3.7: ERSTTRIMESTERSCREENING AUF TRISOMIE 18 UND 13	13
1.3.8: INTEGRIERTES SCREENING.....	14
1.3.9: SEQUENTIELLES SCREENING	14
1.3.10: BIOCHEMISCHES SCREENING: TRIPLE/QUADRUPLE TEST	14
1.4: NICHTINVASIVE PRÄNATALE TESTS (NIPT).....	15
1.4.1: ZELLFREIE FETALE DNA IM MÜTTERLICHEN BLUT	15
1.4.2: DIE POLYMERASE KETTENREAKTION ALS TECHNISCHE GRUNDLAGE DER NIPT	15
1.4.3: DER ALGORITHMUS DER NIPT.....	17
1.4.4: LIMITIERUNG DES VERFAHRENS	18
1.5: ULTRASCHALLBASIERTES MARKERSCREENING IM ZWEITEN TRIMENON.....	19
1.5.1: SONOGRAPHISCHE MARKER FÜR TRISOMIE 21	19
1.5.2: SONOGRAPHISCHE MARKER FÜR TRISOMIE 18.....	21
1.5.3: SONOGRAPHISCHE MARKER FÜR TRISOMIE 13	22
1.5.4: SONOGRAPHISCHE MARKER FÜR TRIPLOIDIE	23
1.5.5.: SONOGRAPHISCHE MARKER FÜR TURNER-SYNDROM	23
1.6: DAS FETALE PROFIL IM SCREENING AUF CHROMOSOMENSTÖRUNGEN	24
1.7: VORSTELLUNG DER UNTERSUCHTEN PARAMETER	29
1.7.1: DIE NASENBEINLÄNGE	29
1.7.2: PRÄNASALE DICKE (PT).....	31
1.7.3: RATIO AUS PRÄNASALER DICKE UND NASENBEINLÄNGE (PT-NBL-RATIO)	32
1.7.4: PREFRONTAL SPACE RATIO (PFSR)	33
1.8: FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	35

2. MATERIAL UND METHODEN	36
2.1: HERKUNFT DER DATEN	36
2.2: METHODIK DER MESSUNGEN.....	37
2.2.1: DIE NASENBEINLÄNGE	37
2.2.2: DIE PRÄNASALE DICKE	39
2.2.3: DIE PT-NBL-RATIO	40
2.2.4: DIE PFSR	41
2.3: STATISTIK	43
3.: ERGEBNISSE.....	44
3.1: ALTERSVERTEILUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVES.....	44
3.1.1: MÜTTERLICHE ALTERSVERTEILUNG	44
3.1.2: GESTATIONSALTERSVERTEILUNG IM GESAMTPATIENTENKOLLEKTIV	45
3.1.3: GESTATIONSALTERSVERTEILUNG DER FETEN MIT TRISOMIE 18.....	46
3.1.4: GESTATIONSALTERSVERTEILUNG BEI FETEN MIT TRISOMIE 13	47
3.1.4: GESTATIONSALTERSVERTEILUNG BEI FETEN MIT TRIPLOIDIEN	48
3.1.5: GESTATIONSALTERSVERTEILUNG BEI FETEN MIT MONOSOMIE X.....	49
3.2: INTRAOBSERVER VARIABILITÄT UND REPRODUZIERBARKEIT DER DATEN	49
3.2.1: ÜBERPRÜFUNG DER REPRODUZIERBARKEIT DURCH BLAND ALTMANN BLOTS.....	49
3.2.2: DIE NASENBEINLÄNGE	50
3.2.2: DIE PRÄNASALE DICKE.....	51
3.2.3: DIE RATIO AUS PRÄNASALER DICKE UND NASENBEINLÄNGE	52
3.2.4: DIE PREFRONTAL SPACE RATIO.....	53
3.2.5: ZUSAMMENFASSUNG DER MESSERGEBNISSE DER UNTERSUCHTEN PARAMETER	54
3.3: MESSERGEBNISSE.....	55
3.3.1: ERGEBNISSE DER NBL MESSUNGEN	55
3.3.2: ERGEBNISSE DER PT MESSUNGEN	57
3.3.3: ERGEBNISSE DER PT-NBL-RATIO MESSUNGEN	59
3.3.4: ERGEBNISSE DER PFSR MESSUNGEN	61
4. DISKUSSION.....	63
4.1: ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.....	63
4.2: VERGLEICH DER KUMULATIVEN SENSITIVITÄT DER UNTERSUCHTEN MARKER MIT ETABLIERTEN SCREENINGMETHODEN	63
4.2.1: VERGLEICH DER MARKER MIT DEM KOMBINIERTEN ERSTTRIMESTERSCREENING	63
4.2.2.: VERGLEICH DER MARKER MIT DEM „SERUM INTEGRATED SCREENING“	67
4.2.3: DIE UNTERSUCHTEN MARKER ALS TEIL DES „GENETIC SONOGRAM“	68
4.3: RISIKOEINSCHÄTZUNG INVASIVER TESTVERFAHREN.....	70
4.4: EINBINDUNG DER UNTERSUCHTEN MARKER IN BESTEHENDE SCREENINGMETHODEN.....	71
4.4.1: AMPLIFIZIERUNG DER SENSITIVITÄT ETABLIERTER SCREENINGMETHODEN.....	71
4.4.2: DIE UNTERSUCHTEN MARKER ALS ERGÄNZUNG DES GENETIC SONOGRAM	72
4.4.3: EINBINDUNG DER NIPT IN DIE RISIKOSTRATIFIZIERUNG	74
5. ZUSAMMENFASSUNG	76
5.1: ZIELSETZUNG DER ARBEIT.....	76
5.2: METHODIK	76
5.3: ERGEBNISSE	76
5.4: SCHLUSSFOLGERUNG.....	77

6. LITERATURVERZEICHNIS.....	78
ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT VON XAVER BERG	84
DANKSAGUNG	85

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: Profil eines Feten mit Trisomie 21. Zu erkennen ist u.a. ein pränasales Ödem.	25
Abbildung 2: Profil eines Feten mit Trisomie 18. Sichtbar sind u.a. ein pränasales Ödem und eine Retrognathie.	26
Abbildung 3: Profil eines Feten mit Trisomie 13. Zu erkennen sind u.a. eine Glossoptose und eine Gaumenspalte.	27
Abbildung 4: Profil eines Feten mit Triploidie	28
Abbildung 5: Profil eines Feten mit Turner Syndrom. Zu erkennen ist u.a. ein deutliches pränasales Ödem bei zu Grunde liegendem Hydrops.	29
Abbildung 6: Fetales Nasenbein bei Trisomie 18 (grüner Kreis):	30
Abbildung 7: Pränasale Dicke (grüne Linie) bei einem Fet mit pränasalem Ödem .	31
Abbildung 8: Pränasales Dicke („PT“, rote Linie) und Nasenbeinlänge („NBL“, blaue Linie) bei Trisomie).	32
Abbildung 9: Erhöhte PFSR durch deutliche Retrognathie bei pränasalem Ödem bei Fet mit Trisomie 13.	34
Abbildung 10: Nasenbein bei Fet mit Trisomie 18 (rote Linie).	38
Abbildung 11: Nasenbeinaplasie bei Fet mit Trisomie 13.	38
Abbildung 12: Erhöhte PT bei zu Grunde liegendem pränasalem Ödem bei Monosomie X.	39
Abbildung 13: PT und NBL bei Profilaufnahme eines Feten mit Trisomie 18	40
Abbildung 14: PFSR Messung bei einem Feten mit Trisomie 13 bei Retrognathie und pränasalem Ödem.	42

Diagrammverzeichnis:

Diagramm 1: Mütterliche Altersverteilung	44
Diagramm 2: Gestationsaltersverteilung im Gesamtpatientenkollektiv	45
Diagramm 3: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Trisomie 18	46
Diagramm 4: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Trisomie 13	47
Diagramm 5: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Triploidien	48
Diagramm 6: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Monosomie X	49
Diagramm 7: Bland Altmann Plot zu den Messungen der NBL	50
Diagramm 8: Bland Altmann Plot zu den Messungen der PT	51
Diagramm 9: Bland Altmann Plot zu den Messungen der PT-NBL Ratio	52
Diagramm 10: Bland Altmann Plot zu den Messungen der PFSR	53
Diagramm 11: Darstellung der Nasenbeinlänge (in mm) in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW) ⁷²	56
Diagramm 12: Darstellung der Pränasalen Dicke (in mm) in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW) ⁷²	58
Diagramm 13: Darstellung der PT-NBL-Ratio in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW) ⁷²	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Messergebnisse der untersuchten Parameter	54
Tabelle 2: Messergebnisse der NBL	56
Tabelle 3: Messergebnisse der PT	58
Tabelle 4: Messergebnisse der PT-NBL Ratio	60
Tabelle 5: Messergebnisse der PFSR	62

Abkürzungsverzeichnis:

AC	Amniocentese
AMA	Advanced Maternal Age
APD	Anteriposteriorer Durchmesser
ARSA	Fehllangelegte rechte arteria subclavia
ASD	Atriumseptumdefekt
AU	Abdomenumfang
BPD	Biparietaler Durchmesser
cffDNA	Zellfreie fetale DNA
CB	Chorionzottenbiopsie
CH	Zystisches Nackenhygrom
CI	Konfidenzintervall
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DR	Detektionsrate
dRNA	deoxygenierte RNA
ddRNA	Didesoxy RNA
ETS	Ersttrimesterscreening
FOD	Frontookzipitaler Durchmesser
FHR	Fetale Herzfrequenz
FPR	Falschpositiv Rate
GA	Gestationsalter
GIT	Gastrointestinaltrakt
HBV	Hepatitis B Virus
hCG	humanes Choriongonadotropin
ICEF	intrakardialer echogener Fokus
INFT	Erhöhte Nackenfaltendicke
KU	Kopfumfang
LR	Likelihood ratio
LVOT	Linksventrikulärer Ausflusstrakt
MA	Maternal age
MM	Mandibulomaxillarlinie

MPSS	Massively parallel signature sequencing
NB	Nasenbein
NBL	Nasenbeinlänge
NGS	Next generation sequencing
NIPT	Nichtinvasive pränatale Tests
NT	Nackentransparenz
NPW	Negativ prädiktiver Wert
OGGT	Oraler Glucosetoleranztest
PAPP-A	Pregnancy Associated Plasma Protein
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PCZ	Plexus choroideus Zysten
PFSR	Prefrontal Space Ratio
PPW	Positiv prädiktiver Wert
PT	Pränasale Dicke
RCOG	Royal College of Obstetrics and Gynaecologists
RNA	Ribonukleinsäure
SNP	Single nucleotide polymorphisms
SSL	Scheitelsteißlänge
SSW	Schwangerschaftswoche
T(21/18/13)	Trisomie (21/18/13)
UKT/UKB/UKK	Universitätsklinikum Tübingen/Bonn/Köln
VSD	Ventrikelseptumdefekt
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1: Betreuungskonzepte in der Schwangerschaft

Ein engmaschiges Betreuungskonzept während der Schwangerschaft ist von großer Bedeutung für das Wohl der werdenden Mutter und ihres Kindes. Ein solches ist in Deutschland seit dem 10.12.1985 in den „Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung“ (kurz: „Mutterschafts-Richtlinien“) verankert, die regelmäßig aktualisiert werden. Vorrangiges Ziel ist „die frühzeitige Erkennung von Risikoschwangerschaften und Risikogeburten“¹ durch regelmäßige Untersuchungen der Schwangeren. Diese bestehen einerseits aus Routineuntersuchungen, andererseits aus einem dreimaligen Ultraschall-Screening (1.: 8.-12. SSW; 2.: 18.-22. SSW; 3.: 28.-32. SSW) und einem optionalen erweiterten Fehlbildungsultraschall. Alle in den Richtlinien vorgesehenen Untersuchungen inklusive des Screenings werden von gesetzlichen und privaten Krankenkassen finanziert.

Die erste Routineuntersuchung nach Feststellung der Schwangerschaft enthält, neben einer umfangreichen Anamnese und Beratung der Schwangeren über Risikofaktoren und Ernährung während der Gravidität, eine gynäkologische Untersuchung einschließlich serologischer Tests auf Chlamydien, Lues, HBV und Röteln und des Antikörper-Suchtestes zum Ausschluss einer Blutgruppenunverträglichkeit von Mutter und Kind. Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft werden im Rahmen der Kontrollen zahlreiche biophysikalische Parameter wie der Blutdruck und das Gewicht der Patientin überprüft. Zudem wird der Urin regelmäßig auf Eiweiß, Zucker und Sediment untersucht. Die Kontrolle des Fundusstands, der fetalen Lage, Bewegungen und der Herztöne gehört abhängig vom Gestationsalter ebenfalls zur Schwangerschaftsvorsorge. Die Vorsorgeuntersuchungen werden, zunächst alle vier Wochen, ab der 32. SSW 14-tägig und ab der 36. SSW wöchentlich wiederholt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Mutterpass einzutragen. Dieser ist von der Schwangeren zu jeder Untersuchung mitzubringen.¹

Können die meisten der beschriebenen Untersuchungen noch von Hebammen ausgeführt werden, so muss das Ultraschall-Screening durch einen qualifizierten Arzt erfolgen.

In den Mutterschaftsrichtlinien ist definiert, im Rahmen welcher Screeninguntersuchung welche diagnostischen Maßnahmen vorgesehen sind:

In der ersten Untersuchung liegt der Fokus auf dem intrauterinen Sitz und der allgemeinen Darstellbarkeit des Embryos. Mehrlingsschwangerschaften müssen dokumentiert werden, unterteilt in monochorial und dichorial. Zudem sind erste biometrische Daten, die Scheitelsteißlänge (SSL) bzw. der Biparietale Durchmesser (BPD) zu erheben. Es folgen Untersuchungen, die in Screening zwei und drei ebenfalls enthalten sind: Die Überprüfung und Dokumentation Positiver Herzaktionen und der zeitgerechten kindlichen Entwicklung. Ergeben sich Auffälligkeiten, können gegebenenfalls weiterführende Untersuchungen veranlasst werden.

In der zweiten Untersuchung steht einerseits die Sonographie mit Biometrie ohne systematische Untersuchung der fetalen Morphologie im Vordergrund: In einer erweiterten biometrischen Datenerhebung werden neben dem BPD zusätzlich der Frontookzipitale Durchmesser (FOD) bzw. der Kopfumfang (KU), der Abdomen/Thorax-a. p. Durchmesser (APD) bzw. der Abdomen/Thorax-Umfang (AU) und die Femurlänge ausgemessen. Ferner wird auf „Hinweiszeichen für Entwicklungsstörungen hinsichtlich Fruchtwassermenge, körperlicher Entwicklung und Plazentalokalisation und –struktur“ geachtet.¹

Zudem gibt es die Möglichkeit, durch einen besonders qualifizierten Untersucher eine Sonografie mit Biometrie und systematischer Untersuchung der fetalen Morphologie durchzuführen. Diese umfasst, neben den oben beschriebenen „Standardverfahren“ zusätzlich die Überprüfung des Feten auf etwaige Auffälligkeiten: Kopf (Ventrikel, Form, Kleinhirn), Hals und Rücken (dorsale Hautkontur), Thorax (Herz/Thorax-Relation, linksseitige Herzposition, persistierende Arrhythmie im Untersuchungszeitraum, Vier-Kammer-Blick) und Rumpf (Konturunterbrechung an vorderer Bauchwand, Magen im linken Oberbauch, Harnblase).

In der dritten Untersuchung werden erneut die oben genannten biometrische Daten erhoben, sowie Kindslage, Herzaktion, Plazentalokalisation und Struktur, Zeitgerechte Entwicklung und Fruchtwassermenge beurteilt.¹

Die sonographischen Screening-Untersuchungen sollen Fehlentwicklungen wie beispielsweise eine intrauterine Wachstumsretardierung aber auch fetale Fehlbildungen wie einen Herzfehler aufdecken, so dass die vor- und nachgeburtliche Betreuung der Schwangeren und auch des Feten optimiert werden kann. Im Mittelpunkt steht dabei der Schutz der Mutter und des Kindes. Sollten sich fetale Fehlbildungen zeigen, stellt sich häufig die Frage nach übergeordneten syndromalen Erkrankungen und Chromosomenstörungen wie beispielsweise der Trisomie 21, 18 oder 13. Ein gezieltes Screening nach Chromosomenstörungen ist im Rahmen der Mutterschaftsrichtlinien aber nicht vorgesehen. Daher ist es umso wichtiger das Risiko anhand einfacher Schnittebenen wie beispielsweise dem fetalen Profil beurteilen zu können.

Der folgende Abschnitt soll einen Überblick über die typischen Chromosomenstörungen und die möglichen Screening-Untersuchungen geben, die aber nicht Bestandteil der Mutterschaftsrichtlinien sind.

1.2: Chromosomenstörungen

1.2.1: Das menschliche Karyogramm

Die Erbinformation des Menschen ist in Form von Genen auf der DNA gespeichert. Diese liegt, im Verbund mit Proteinen, als Chromosomen im Zellkern. Der Mensch besitzt 46 Chromosomen, 44 Autosomen und 2 Gonosomen, die das Geschlecht des Individuums bestimmen („Geschlechtschromosomen“, XX für Frauen, XY für Männer): Jedes Chromosom besteht aus 2 Schwesterchromatiden, die entweder mittig („metazentrisch“), oder randständig („akrozentrisch“) über bestimmte Proteine („Zentromere“) verbunden sind und liegt, mit Ausnahme des männlichen Y-Chromosoms, in zwei übereinstimmenden Ausführungen in den Zellen vor (homologe Chromosomenpaare). Der Mensch besitzt somit einen doppelten

(„diploiden“) Chromosomensatz. Die Gesamtheit der verschiedenen Chromosomen wird als „Karyotyp“ bezeichnet und kann als „Karyogramm“ dargestellt werden: Im Normalfall ist der weibliche Karyotyp 46XX, der männliche 46XY. Jede Störung („Aberration“) dieses Normsatzes birgt die Gefahr gravierender Entwicklungsstörungen mit zum Teil schwersten körperlichen und geistigen Einschränkungen.²

1.2.2: Numerische und strukturelle Chromosomenstörungen

Grundsätzlich umfassen Chromosomenstörungen (auch -aberrationen/-anomalien genannt) Veränderungen des Chromosomensatzes. Es wird unterschieden zwischen numerischen und strukturellen Anomalien: Zu Ersteren sind die in dieser Arbeit untersuchten Aneuploidien (Monosomie, Trisomien) und Polyploidien (z.B. Triploidie) zu zählen, also Vervielfachungen bzw. Verluste entweder einzelner Chromosomen oder des gesamten chromosomalen Satzes.^{2,3} Die häufigsten Aberrationen des numerischen Typs bei Neugeborenen sind die Trisomien der Chromosomen 21, 18 und 13 sowie die Monosomie X. Die Art der Chromosomenaberration hängt maßgeblich vom Zeitpunkt der Mutation ab:

Bevor eine Befruchtung stattfinden kann, müssen aus den diploiden Keimzellen der Eltern (Oogonien und Spermatogonien) zunächst durch die Reifeteilung („Reduktionsteilung“), der Meiose I & II, haploide Abkömmlinge (Oozyten und Spermatozyten) entstehen. Diese enthalten einen einfachen Chromosomensatz aus den 23 getrennten Schwesterchromatiden, wodurch sichergestellt ist, dass nach erfolgter Konzeption und Reduplikation in der befruchteten Eizelle (Zygote) wieder 46 homologe Chromosomenpaare vorliegen. Nach Abschluss der meiotischen Reifeteilungen ist es nicht mehr nötig, haploide Zellen zu produzieren, da die Vermischung des Erbgutes abgeschlossen ist. Es erfolgen ab diesem Zeitpunkt nur noch mitotische Zellteilungen. Diese haben zur Aufgabe, aus einer diploiden Mutterzelle zwei genetisch identische, diploide Tochterzellen zu erschaffen.

1.2.3: Somatische Mutationen und Keimbahnmutationen

Je nachdem, wann es zu einem fehlerhaften Teilschritt kommt, unterscheidet man zwischen somatischen Mutationen und Keimbahnmutationen. Bei ersteren besitzt eine Zelllinie des Körpers einen pathologischen Karyotyp, die restlichen Zellen sind jedoch gesund. Dies tritt beispielsweise beim sogenannten „Anaphase-Lag“ der Mitose auf, wenn in einem Schritt der Zellteilung ein Chromatid nicht in den neu gebildeten Zellkern aufgenommen wird und somit eine Zelllinie mit monosomem Chromosomensatz entsteht. Im Falle der Keimbahnmutationen ist, hauptsächlich durch Fehler in der Meiose I der Keimzellen bereits die Zygote mutiert und somit die chromosomale Ausstattung aller Zellen betroffen. Ein Beispiel hierfür stellt die meiotische Nondisjunction dar: Entweder trennen sich die homologen Chromosomenpaare während der Meiose I nicht oder die Schwesterchromatiden der Meiose II haften aneinander, wodurch entweder eine trisome oder aber eine monosome Tochterzelle entsteht, die ihre genetische Fehlausstattung nach der Befruchtung an jede Zelle des neu entstehenden Organismus weitergeben wird.^{2,3}

1.2.4: Formen der Trisomien

Bei somatischen Mutationen ist es also innerhalb eines Individuums möglich, verschiedene Zelllinien vorzufinden, die sich in ihrem Karyogramm unterscheiden. Ein solcher Fall wird als „Mosaik“ bezeichnet, da beispielsweise trisome und bisome Zelllinien nebeneinander existieren können. Dadurch kommen einem solchen Individuum mehrere Karyotypen vor ($46,XX/47,XX,+n$ bzw. $46,XY/47,XY,+n$; [für n wird die Nummer des verdoppelten Chromosoms eingesetzt]). Das Ausmaß der physischen und mentalen Einschränkung hängt stark von dem jeweiligen Anteil betroffener Zellen im Organismus ab.²⁻⁴

Ist durch die frühe Mutation einer Keimzelle während der Reduktionsteilung die Gesamtheit aller Zellen betroffen, so wird von einer „freien“ Trisomie gesprochen. In diesem Fall hat jede Körperzelle den Karyotyp $47,XX+n$ bzw. $47,XY+n$, was mit erhöhter pränataler Mortalität bzw. verkürzter Lebenserwartung einhergeht.

Eine weitere Form stellt die „partielle“ Trisomie dar. Zwar ist jedes Chromosom scheinbar normal zweifach vorhanden, doch stellt sich beim Blick auf das Karyogramm ein Größenunterschied des krankhaften homologen Paares dar: Durch die teilweise Verdopplung von Abschnitten des Erbgutes sind manche Gene, statt wie vorhergesehen zwei-, nun dreifach vorhanden (Karyotyp z.B. 46,XXder(21)(q23.2;q22.11) bzw. 46,XYder(21)(q23.2;q22.11)).

Unter „Translokationstrisomien“ versteht man schließlich die Anheftung verdoppelten Materiales des betroffenen Chromosoms auf ein anderes, meist Akrozentrisches (14/15/21/22). Einen Sonderfall dieser Trisomieform stellt die „Robertsonsche Translokation“ dar, bei der das Translokationschromosom aus den zwei längeren Teilen („Armen“) der Schwesterchromatiden des fehlerhaften Chromosoms besteht (Karyotyp z.B. 46,XX,t(21;14) bzw. 46,XY,t(21;14)).

Diese Ausprägungen chromosomaler Aberrationen (Mosaik, frei, partiell und Translokation) finden sich ebenfalls bei der Monosomie X und Triploidien.

1.2.5: Triploidien

Sind statt des normalen diploiden Chromosomensatzes drei komplette Haploide vorhanden, wird von Triploidien gesprochen. Triploidien treten in 1% aller Schwangerschaften auf⁵, doch sterben die meisten betroffenen Feten bereits in frühen Schwangerschaftswochen intrauterin ab: 20% aller in Spontanaborten nachgewiesenen Chromosomenstörungen sind Triploidien³. Die Prävalenz von Triploidien beträgt in der 12. SSW ca. 1:3500 fällt bis zur 16. SSW auf 1:30000 und bis zur 20. SSW auf 1:250000 ab.⁶⁻⁸

Man unterscheidet 3 verschiedene Arten der Triploidien:^{9,10}

Typ I ist die Diandrie oder hyperandrische Triploidie. Bei dieser weniger verbreiteten Form stammen 2 der 3 kompletten Chromosomensätze von der paternalen Seite, entweder durch Fusion zweier haploider Spermien mit einer haploiden Eizelle oder durch die Befruchtung einer haploiden Eizelle mit einem diploiden Spermium. Die Plazenta ist bei diesem Typ vergrößert und teilweise molar verändert, der Fet hingegen nur gering wachstumsretardiert, in manchen Fällen bei leichter Mikrozephalie.⁹

Typ II ist die Digynie oder hypergynische Triploidie. Analog zu Typ I stammen hier nun die zusätzlichen Chromosomensätze von der maternalen Seite. Dies kann unter anderem durch eine unterbliebene Ausstoßung des 2. Polkörperchens verursacht sein. Diese Form ist häufiger zu beobachten und präsentiert sich mit einer kleinen, unauffällig aussehenden Plazenta, doch mit einer deutlichen Wachstumsrestriktion des Feten.^{9,11}

Die letzte Art ist die Mosaik-Triploidie, die durch ein mitotisches Non-disjunction beispielsweise im Blastozystenstadium entstehen kann.³ In Abhängigkeit vom Anteil der betroffenen Zellen am Gesamtorganismus können die Symptome abgemildert ausfallen und die Lebenserwartung kann verbessert sein.

Charakteristisch für Feten mit Triploidie ist die Wachstumsretardierung, ein Missverhältnis der Größe des Rumpfes zum Kopf und diverse Fehlbildungen. Je nach Herkunft des zusätzlichen haploiden Chromosomensatzes variiert der Phänotyp in Hinblick auf die Körpermaße des Kindes:

Bei der Diandrie (Typ I) liegt eine Mikrozephalie bei alterskonkordanter intrauteriner Wachstumsentwicklung vor.

Bei der Digynie (Typ II) kommt es zu einer Wachstumsretardierung mit deutlicher Kopf-Thorax-Diskordanz zugunsten des Kopfes.³

1.2.6: Monosomien

Die Entstehung der Monosomien entspricht der von Trisomien: Bei der meiotischen Nondisjunction entstehen, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Mutation, bei einem Fehler in Meiose I 2 Tochterzellen mit je 2 Kopien des betroffenen Chromosoms und je 2 Tochterzellen ohne Kopie. Kommt nun bei der Befruchtung der haploide Chromosomensatz eines gesunden Spermiums oder einer gesunden Eizelle hinzu, so gibt es folgende mögliche Kombinationen: Wird die gesunde Keimzelle mit der mutierten Keimzelle verbunden, die zu viele Chromatiden hat, so entsteht eine Zygote mit einer triploiden Ausstattung des betroffenen Chromosoms (2 von der mutierten Zelle, 1 von der gesunden), also eine Trisomie. Gibt jedoch die eine der mutierten Zellen, die das Chromatid gar nicht besitzt, ihr Erbgut weiter, so entsteht mit der Befruchtung eine monosome Zygote (1 Chromosom von der gesunden

Keimzelle, 0 von der mutierten). Tritt der Fehler während der Meiose II (Äquationsteilung) auf, so entstehen 2 gesunde Tochterzellen (je ein vollständiger haploider Chromosomensatz) und 2 kranke Tochterzellen: Von den 2 kranken Tochterzellen besitzt die eine eine doppelte Ausstattung des mutierten Chromosoms, die andere hingegen keines. Somit besteht also eine 50% Chance, dass die Mutation nicht weitergegeben wird. Befruchtet aber eine kranke Tochterzelle eine gesunde Keimzelle, so kann, wie auch bei Mutationen der Meiose I, entweder eine monosome, oder eine trisome Zygote entstehen.²⁻⁴

Autosomale Monosomien sind nicht lebensfähig, gonosomale Monosomien, in Gestalt der Monosomie X („Ullrich-Turner-Syndrom“, „Turner-Syndrom“), bei der die betroffenen Mädchen nur ein X-Chromosom aufweisen, hingegen schon. Diese zeigen nach der Geburt zwar häufig Wachstumsretardierungen und ein Flügelfell, sind aber von keinen gravierenden Fehlbildungen betroffen.²⁻⁴

Das Turner-Syndrom ist die häufigste Aberration der Sexualchromosomen bei weiblichen Feten. Eines von 2500 lebend geborenen Mädchen ist an dem Turner-Syndrom erkrankt¹², obwohl nur 1% der betroffenen Feten lebend geboren werden.¹³ Insgesamt sind 15% aller Spontanaborte auf das Turner-Syndrom zurück zu führen.¹⁴

1.3: Nichtinvasive Screening Untersuchungen

1.3.1: Risikostratifizierung von Schwangerschaften

Die schlussendliche Diagnose einer Chromosomenstörung erfolgt durch invasiven Maßnahmen, wie die Amniozentese (AC), die Chorionzottenbiopsie (CB) oder die Fetalblutentnahme. Diese stellen den Goldstandard der Diagnostik dar und zielen darauf ab, Gewebeproben zu gewinnen, die nach entsprechender Aufbereitung auf Chromosomenaberrationen des Feten untersucht werden können.¹⁵ Da jedoch bei allen invasiven Untersuchungsformen eine erhöhte Abortgefahr besteht¹⁶, ist es nicht vertretbar, jeder Schwangeren, die Informationen bezüglich des chromosomalen Status ihres Kindes wünscht, primär diese diagnostischen Eingriffe anzubieten. Daher wird anhand von Screening-Tests basierend auf

maternalen Charakteristika sowie laborchemischen und sonographischen Markern eine für die jeweilige Schwangerschaft individuell berechnete Risikoeinschätzung durchgeführt. Auf der Basis dieser Screening-Tests können die werdenden Eltern entscheiden, ob das Risiko einer invasiven Abklärung gerechtfertigt ist. Die Fetal Medicine Foundation Deutschland empfiehlt als Schwellenwert ein Risiko für Trisomie 21 in Höhe von 1:150. Wird dieser überschritten, ist von einer Risikoschwangerschaft zu sprechen, bei der die Möglichkeit invasiver diagnostischer Maßnahmen zu besprechen ist.¹⁵

1.3.2: Testgüte von Screeninguntersuchungen¹⁷

Die Testgüte von Screeninguntersuchung lässt sich anhand von statistischen Merkmalen vergleichen. Diese sollen nun beschrieben werden, bevor im Weiteren auf die einzelnen Verfahren näher eingegangen wird:

Die Sensitivität, auch Detektionsrate (DR) genannt, gibt an, wie viele Merkmalsträger einer Population durch einen Test als solche erkannt werden. Im Falle des Screenings auf Chromosomenstörungen gibt die DR prozentual an, wie viele der kranken Feten als solche erkannt (a) und nicht fälschlicherweise als gesund eingestuft werden (c). Sie wird errechnet durch den Quotienten $a/(a+c)$.

Die Falsch positiv Rate (FPR) gibt an, wie viele Individuen fälschlicherweise durch einen Test als auffällig eingestuft werden, obwohl sie keine Merkmalsträger sind (b). Dies ist veranschaulicht in Tabelle 1. Im Bereich der pränatalen Screeninguntersuchungen hat eine hohe FPR unter Umständen fatale Folgen, wenn auf Grund dieser Ergebnisse invasive Maßnahmen zur Diagnosesicherung durchgeführt werden und das Kind in der Folge verstirbt. Die FPR sollte in medizinischen Untersuchungen 5% nicht überschreiten.

Die Spezifität beschreibt in der Medizin Fähigkeit eines Tests, Individuen ohne das Merkmal auch als solche zu erkennen (d) und nicht fälschlicherweise als Merkmalsträger einzustufen (b). Sie wird errechnet durch den Quotienten $d/(d+b)$ oder als 1-FPR.

Der positiv prädiktive Wert (PPW) eines Testes gibt den Anteil der Merkmalsträger im Verhältnis zu allen mit einem auffälligen Testergebnis wider. Der PPW wird errechnet durch den Quotienten $a/(a+b)$.

Der negativ prädiktive Wert (NPW) gibt hingegen an, wie viele der Individuen mit einem unauffälligen Testergebnis auch wirklich merkmalsfrei sind $b/(b+c)$.

Die letzten beiden zu klärenden Begriffe stellen die positive (PLR) bzw. die negative (NLR) likelihood ratio (LR) dar:

Die PLR gibt an, um wie viel wahrscheinlicher ein positives Testergebnis bei einem Kranken als bei einem Gesunden ist und wird errechnet durch den Quotienten aus **Detektionsrate / Falsch-Positivrate**.

Die NLR sagt aus, um wie viel Mal häufiger ein negatives Testergebnis bei einem Gesunden als bei einem Kranken ist. Sie wird errechnet mit Hilfe des Bruchs **(1-Detektionsrate)/(1-Falsch-Positivrate)**.

Testergebnis	Krank	Nicht Krank
Auffällig (a+b)	a (richtig positiv)	b (falsch positiv)
Unauffällig (c+d)	c (falsch negativ)	d (richtig negativ)
	a+c (alle Kranken)	b+d (alle Gesunden)

1.3.3: Maternales Altersrisiko

Je älter die Mutter zum Zeitpunkt der Empfängnis ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit des Feten, bestimmte chromosomale Störungen zu erleiden.¹⁸ Gerade in den wohlhabenden Industrienationen gibt es jedoch einen deutlichen Trend dazu, Kinder erst in späteren reproduktiven Jahren zu bekommen: Mathews et al. zeigten 2002 in ihrer Studie, dass in den USA zwischen 1970 und 2000 das durchschnittliche mütterliche Alter von ehemals 24,6 Jahren auf 27,2 Jahre, bei Erstgebärenden sogar von 21,4 auf 24,9 Jahre angestiegen ist. Im gleichen Zeitraum stieg der Anteil von Müttern höheren Alters („AMA“=advanced maternal age) an der Gesamtgeburtenszahl von knapp 5% auf über 15% an.¹⁹ In Norwegen nahmen in den letzten 30 Jahren die altersabhängigen Geburtenraten von Frauen über dem 30. Lebensjahr um mehr

als das Doppelte zu.²⁰ Die Frage nach der körperlichen Unversehrtheit der ungeborenen Kinder rückt somit, unterstützt durch die Möglichkeiten der modernen Medizin in Bildgebung und Labordiagnostik, immer stärker in den Vordergrund. In der Regel wird ein Schwellenwert von 35 Jahren verwendet, um das Risikokollektiv zu definieren. Das alleinige maternale Alter als Screening-Test ist aber aufgrund der schlechten Testgüte im Screening auf Trisomie 21 verlassen worden. Die Detektions- und Falsch-Positivrate liegen bei etwa 50% und 25%. Auch wenn es einen Zusammenhang zwischen dem maternalen Alter und der Häufigkeit an Trisomien 18 und 13 gibt, hat das mütterliche Alter im Screening auf diese Chromosomenstörungen keine Bedeutung.

1.3.4: Gestationsalter als Risikofaktor

Da die meisten Chromosomenaberrationen mit einer hohen Abortrate im Verlauf der Schwangerschaft einhergehen, nimmt mit zunehmendem Gestationsalter (GA) die Wahrscheinlichkeit für eine Chromosomenstörung ab. Für die Trisomie 21 gilt, dass über die Hälfte der Zygoten spontan abortieren.³ Bei Trisomie 18 und Trisomie 13 sind bis zum Erreichen des zweiten Schwangerschaftsmonats bereits deutlich über 50% der Feten verstorben.²⁻⁴

1.3.5: Sonographische Marker im ersten Trimenon

Alle beschriebenen Chromosomenstörungen gehen mit teils sehr typischen Fehlbildungen der Feten einher, die sonographisch erkannt werden können. Im ersten Trimenon sind diese Fehlbildungen allerdings nur durch spezialisierte Untersucher und mit hohem technischen Aufwand erkennbar. Außerdem kommen Feten mit Trisomie 21 auch ohne Fehlbildungen vor. Daher konzentriert sich das Ultraschallscreening im ersten Trimenon auf sonographische Marker, die auch von weniger erfahrenen Untersuchern und mit überschaubarem technischen Aufwand erfassbar sind. Der wichtigste Marker basiert auf einem bereits 1866 von Langdon Down beschriebenen Merkmal der Trisomie 21: Die typische unelastische, für den Körper zu groß erscheinende Haut.²¹ Jenes zunächst bei Erwachsenen mit dem Down Syndrom erkannte

Symptom wird heute bereits vorgeburtlich durch die Messung der Nackentransparenz (NT) erfasst, die integraler Bestandteil des klassischen Ersttrimesterscreenings zwischen der 11 und 13 SSW ist (ETS nach Nicolaides).²² Die NT nimmt in der Schwangerschaft mit steigendem Gestationsalter (GA) bzw. steigender Scheitel-Steiß-Länge stetig zu und liegt im Median zwischen 1,5 und 2,0mm.²² Im Vergleich dazu ist die NT bei Feten mit Trisomie 21, 18 und 13 oftmals stark erhöht.²³ Voraussetzung für die adäquate Messung der NT ist eine korrekte Darstellung des fetalen Profils.

Weitere sonographische Parameter, die zur Risikobeurteilung verwendet werden können sind der Nasenknochen, der Gesichtswinkel, das Flussmuster im Ductus venosus und über der Trikuspidalklappe.

1.3.6: Kombiniertes Ersttrimesterscreening (ETS)

Das kombinierte ETS basiert auf der Kombination des mütterlichen Altersrisikos, welches an das Gestationsalter angepasst wird, der fetalen NT sowie der biochemischen Analyse der Serummarker freies beta-hCG und PAPP-A.

Das freie beta-hCG stellt die spezifische Untereinheit des humanen Choriongonadotropin dar, ein von plazentaren Synzytiotrophoblasten produziertes Peptidhormon. Das PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A) ist ein enzymatisch aktives, zinkbindendes Protein, das einer Metalloprotease ähnelt. Sowohl das freie beta-hCG, als auch PAPP-A sind in euploiden und aneuploiden Schwangerschaften unabhängig von der Nackentransparenz. Somit können die sonographischen und biochemischen Marker ohne gegenseitige Einflussnahme miteinander kombiniert werden.^{23,24}

Eine hohe NT, und ein erhöhtes beta-hCG bzw. erniedrigtes PAPP-A, erhöhen das Risiko für eine Trisomie 21. Bei Feten mit Trisomie 18, 13 und einer digynen Triploidie sind die biochemischen Parameter reduziert, bei einer diandrischen Triploidie ist das beta-hCG stark erhöht.^{6,25,26} Mit dem berechneten Risiko kann die Schwangere das Risiko einer Chromosomenstörung gegenüber dem Fehlgeburtsrisiko einer Punktion abwägen. Grundsätzlich wird ab einem Risiko für Trisomie 21 von 1:150 von

einem erhöhten Risiko gesprochen.²⁷ Überschreitet die Patientin diesen Wert, erscheint eine weiterführende Diagnostik auch in Anbetracht eines erhöhten Abortrisikos durch die invasiven Maßnahmen medizinisch sinnvoll, immer vorausgesetzt, die werdende Mutter wünscht über den Chromosomenstatus ihres Kindes informiert zu werden. Die Detektions- und Falsch-Positivrate im Screening auf Trisomie 21 wird mit 90% und 5% angegeben.

1.3.7: Ersttrimesterscreening auf Trisomie 18 und 13

Neben dem Risiko einer Trisomie 21 kann das ETS auch das Risiko einer Trisomie 18 und 13 beurteilen.²⁵ Diese treten relativ zu Trisomie 21 im Verhältnis 1:3 bzw. 1:7 auf und gehen ebenfalls mit einer erhöhten NT und niedrigen PAPP-A Werten, im Gegensatz zu Trisomie 21 jedoch mit erniedrigtem beta-hCG einher.^{28,29} Zusätzlich wurde bei Trisomie 13-Feten eine erhöhte Herzfrequenz (FHR) beobachtet. So lag die FHR bei 85,2% über der 95. Perzentile und 62,3% oberhalb der 99. Perzentile euploider Feten. Dies könnte durch eine Obstruktion des linksventrikulären Ausflusstraktes (LVOT) beim Trisomie 13 erklärbar sein, die die Aktivierung aortaler Barorezeptoren zur Folge hat und damit einen physiologischen Kompensationsmechanismus darstellt.³⁰ Da diese Ausflusshinderung vor allem bei Trisomie 13 zu finden ist, stellt die FHR eine für Trisomie 13 spezifische Ergänzung des Risiko-Algorithmus dar, die sich merklich in der Sensitivität des Screenings niederschlägt.

Im Rahmen mehrerer prospektiven Studien erstellten Kagan *et al.* 2008 neue, spezifischere Algorithmen für die Erkennung der Trisomie 21, 18 und 13.³⁰⁻³² Die Detektionsrate für Trisomie 21 lag dadurch bei 90% bei einer abgesenkten Falsch-Positivrate von 3%^{30,31}. Durch die neuen Algorithmen für Trisomie 18 und 13 konnte die Detektionsrate auf 95% gesteigert werden bei einer Falsch-Positivrate von 0,2%.^{8,30,32}

1.3.8: Integriertes Screening

Neben dem ETS stehen eine Reihe unterschiedlicher Screeningmethoden zur Auswahl. Die höchste Detektionsrate kommt dabei dem „Integrierten Screening“ zu. Entsprechend der FASTER-Studie lag die Detektionsrate bei 96%.³³ Dabei werden neben der NT zusätzliche Serummarker zu unterschiedlichen Zeitpunkten in der Schwangerschaft berücksichtigt.³⁴ In der 9.-12. SSW wird das PAPP-A bestimmt; einige Wochen erfolgt die Messung des alpha Fetoproteins (AFP), des Estriols, des beta-hCGs und des Inhibin A. Dieser zeitlichen Abfolge liegen Studien zu Grunde, die nahelegen, dass PAPP-A ab der 10. Woche an Aussagekraft verliert, ganz im Gegensatz zu beta-hCG, das erst ab diesem Zeitpunkt gut deutbare Ergebnisse liefert. Zwar ist die Testgüte dieser Methode höher als die des ETS, doch erfahren die Schwangeren das Ergebnis sehr spät (erst im zweiten Trimenon).³¹ Da jedoch bereits eine erhöhte NT das Aneuploidie-Risiko erhöht, ist das Zurückhalten des Befundes und Abwarten bis zur zweiten Blutabnahme ethisch fragwürdig.

1.3.9: Sequentielles Screening

Eine Lösung dieses Dilemmas stellt das „Sequentielle Screening“ dar: Im ersten Trimester werden NT und PAPP-A gemessen und das Ergebnis mitgeteilt. Nur bei unklarem Risiko werden die Tests des zweiten Trimenons (s.o.) angehängt.³⁵

1.3.10: Biochemisches Screening: Triple/Quadruple Test

Neben diesen kombinierten Tests aus Ultraschall und Serologie gibt es auch rein serologische Screeningmethoden:

Der Triple-Test (beta-hCG, AFP, Estriol) und Quadruple-Test (zusätzlich Inhibin A) ermöglichen, genauso wie das „Serum integrated screening“ (integriertes Screening ohne NT Messung), auch ohne sonographische Untersuchung eine Risikoeinschätzung jedoch mit einer reduzierten Detektionsrate.³⁶

1.4: Nichtinvasive pränatale Tests (NIPT)

1.4.1: Zellfreie fetale DNA im mütterlichen Blut

Eine neuere Möglichkeit der Untersuchung auf Genommutationen der Feten stellen schließlich die nicht invasiven pränatalen Tests (NIPT) dar, die seit Sommer 2012 klinisch zur Verfügung stehen. Diese Verfahren machen sich zu Nutze, dass zellfreie fetale DNA (cffDNA) aus dem kindlichen Chorionzottengewebe im Blut der Schwangeren zu finden ist.³⁷ Die Entdeckung von cffDNA im mütterlichen Blut geht auf Lo *et al.* 1997 zurück und löste in der Prüfung der Rhesuskompatibilität von Mutter und Kind die AC ab. Man untersucht also nicht direkt kindliches, sondern plazentares Gewebe, weshalb auch wenige Stunden nach der Geburt keinerlei cffDNA im mütterlichen Blut nachweisbar ist.³⁷

1.4.2: Die Polymerase Kettenreaktion als technische Grundlage der NIPT

Als technische Grundlage dient der NIPT die Polymerase Kettenreaktion (PCR), die 1971 von Kary B. Mullis im Journal of Molecular Biology vorgestellt wurde.³⁸ Die DNA Doppelhelix wird hierbei denaturiert (aufgebrochen), so dass in der Folge 2 Einzelstränge vorliegen. Diese können, im Gegensatz zu der ursprünglichen Doppelform, nun abgelesen und kopiert werden, vergleichbar mit einem Buch, das man öffnen muss, um den Inhalt zu ergründen. Die menschliche Erbinformation setzt sich aus 4 verschiedenen Basen zusammen, die in Form von Desoxyribonucleinsäuren (Zuckermoleküle aus 5 Kohlenstoffatomen, verbunden mit einer Base) in gewisser Weise das Alphabet der Genetik darstellen: Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin sind die Buchstaben, mit denen das Erbgut geschrieben wird, wobei die beiden Einzelstränge der Doppelhelix stets komplementär zueinander verlaufen: Adenin paart sich mit Guanin, Thymin hingegen mit Cytosin. Für den Replikationsprozess wird ein Enzym benötigt, das die DNA abliest und gleichzeitig komplementär zum Originalstrang „abschreibt“. Diese Aufgabe übernimmt die DNA Polymerase. Sie benötigt aber, quasi als Lesezeichen, ein kleines Molekül, an dem sie ansetzt, da sie nicht direkt an den DNA Strang

binden kann. Dieses Molekül nennt man Primer und auch dieser ist komplementär zum ursprünglichen DNA Strang. Die Primer sind je nach gewünschtem DNA Abschnitt, der repliziert werden soll, spezifisch künstlich hergestellt: Ab einer Länge von mindestens 16 Nukleotiden kommt eine bestimmte Kombination der 4 Basen statistisch nur einmal im gesamten menschlichen Genom vor, es sei denn, die Abfolge ist in höchstem Maße redundant.³⁹ Mit Hilfe der Primer kann man also jede beliebige Stelle der menschlichen DNA finden und replizieren. Durch die unabänderliche Komplementarität der Stränge ergibt sich aber noch eine weitere Möglichkeit der Methodik: Das Sequenzieren bestimmter Abschnitte oder des gesamten Genoms eines Individuums. Hierzu bedient man sich einer Technik, die nach ihrem Entdecker benannt wurde: Die Kettenabbruchmethode nach Sanger.⁴⁰ Hierzu werden dem Gemisch aus Primer, Polymerase und Desoxyribonukleinsäuren (dRNA), das man für die Replikation der DNA benötigt, zusätzlich Didesoxyribonukleinsäuren (ddRNA) hinzu gefügt, die zudem, je nach Base, einen bestimmten Farbstoff enthalten. Diese haben, werden sie von der Polymerase an Stelle der dRNA in den neu entstehenden Strang eingesetzt, einen Abbruch des Schreibprozesses zur Folge, da sie durch eine Reduktion (Entfernen eines reaktionsfähigen Sauerstoffatoms) am 3. Kohlenstoffatom der Desoxyribose keine Möglichkeit haben, eine weitere Base nach sich zu binden. Da die Polymerase nicht zwischen dRNA und ddRNA unterscheiden kann, geschehen diese Abbrüche der Reaktion rein zufällig. In der Folge erhält man also ein Gemisch aus dem ursprünglichen, unbekanntem DNA Strang und vielen kleinen neu geschriebenen Fragmenten: Diese Fragmente haben eine Länge von 1 bis x , wobei x für die Anzahl der Basen des zu sequenzierenden Stranges steht. Da nach einer ausreichenden Zeit statistisch nach jeder Base des unbekanntem Stranges mindestens einmal ein Abbruch stattgefunden hat, ist es möglich, nach einer Sortierung nach Gewicht, eine treppenähnliche Auflistung der Fragmente zu erstellen. Durch die farbliche Codierung der ddRNAs, die stets am Ende eines Fragments zu finden, und ja komplementär zu der exakt gleichen Position des Originalstranges sind, kann

man nun die Basenfolge der vollständigen Kopie zusammensetzen und die Abfolge des zu identifizierenden Einzelstranges ableiten.^{39,40}

1.4.3: Der Algorithmus der NIPT

Eine Schwierigkeit dieses Ansatzes stellte lange Zeit das Missverhältnis von zellfreier maternaler und zellfreier „fetaler“ DNA dar: Nur 10% aller cffDNA im mütterlichen Blut sind fetalen Ursprungs und mit steigender Dauer der Schwangerschaft und der damit einhergehenden Gewichtszunahme der Mutter kann dieser Wert noch weiter fallen.⁴¹ Erst mit der neuen Technik des „next generation sequencing“ (NGS) ist es möglich, durch Amplifizierung aller zellfreien DNA im mütterlichen Blut eine ausreichende Menge an DNA zu generieren, um verwertbare Aussagen über den fetalen Chromosomenstatus zu treffen. Da es jedoch zu aufwändig wäre, zwischen fetaler und maternaler DNA zu unterscheiden, betrachtet man die gesamte cffDNA, wodurch der Unterschied zwischen einer euploiden und aneuploiden Schwangerschaft nur gering ausfällt:⁴¹ Der normale Anteil eines Chromosoms 21 am menschlichen Genom beträgt ca. 0,75%. Der Anteil des Chromosoms 21 an einem normalen Karyotyp beträgt somit 1,5%. Dieser Wert erhöht sich im Falle einer Trisomie 21 auf 2,25%. Nimmt man nun an, dass 10% der zellfreien DNA im mütterlichen Serum trisom sind, so ergibt sich folgende Rechnung für den Anteil des Chromosoms 21 in der cffDNA:

$$1,5 \% (\text{Anteil des Chromosoms 21 am maternalen Genom}) \times 0,9 (90 \% \text{ maternale DNA}) + 2,25 (\text{fetaler Anteil des Chromosom 21 bei Trisomie 21 am fetalen Genom}) \times 0,1 (10 \% \text{ fetale DNA}) = 1,575 \% .^{41}$$

Algorithmen für die Auswertung des NIPT Ergebnisses müssen nun also zwischen dem normalen Wert 1,5% und dem krankhaften Wert 1,575% unterscheiden können.

In den meisten Algorithmen wird das Ergebnis als z-score ausgegeben. Der Schwellenwert, ab dem ein erhöhtes Trisomie 21-Risiko angenommen wird,

liegt bei einem z-score von 3. Die Detektions- und Falsch-Positivrate dieses Verfahrens liegt bei 99% und 0,1%.

1.4.4: Limitierung des Verfahrens

Grundvoraussetzung für eine Risikoermittlung mittels cffDNA ist, dass zumindest 4% der zellfreien DNA plazentaren Ursprungs sind.⁴¹ In etwa 2% der Fälle wird der Mindestwert unterschritten. In diesen Fällen ist keine Risikobeurteilung möglich. Problematisch ist, dass in der Regel dann nur eine invasive Diagnostik angeboten werden kann.

Zudem ist trotz der rapiden Preissenkung des Verfahrens in den letzten Jahren die NIPT-Analyse auch heute noch teurer als andere Methoden zur Risikobeurteilung. Daher ist das Screening mittels cffDNA für die meisten Gesundheitssysteme noch zu kostenintensiv, um das Verfahren allen Schwangeren anbieten zu können. Daher wird in der Regel ein zweizeitiges Screening empfohlen.

Zudem fokussiert die Methode heute noch stark auf die Trisomie 21,18 und 13 sowie auf gonosomale Abberationen, obwohl eine Erweiterung der Tests möglich wäre⁴². Das Spektrum möglicher Fehlbildungen umfasst aber bei weitem mehr als nur diese Chromosomenstörungen. Insofern kann dieses Verfahren und als additiv zur sonographischen Beurteilung der Schwangerschaft gesehen werden. Im eigentlichen Screening auf Trisomie 21 ist das Verfahren anderen Screening-Methoden trotz aller Bemühungen um Qualitätssicherung und Standardisierung überlegen.^{43,44}

In Hinblick auf das Screening auf Trisomie 18 und 13 ist die Testgüte schlechter. So liegt Die Detektionsrate für die Trisomie 18 bei 98,6 % bei einer FPR von 0,1%⁴⁵, für Trisomie 13 bei etwa 90% bei einer FPR von 0,2%.⁴⁶ Anzumerken ist, dass sich bei gekoppelten Tests die einzelnen FPRs summieren. Bei jedem einzelnen Test besteht die Chance, ein falsch positives Ergebnis zu erhalten.^{15,43}

Zudem ist der Goldstandard für die Diagnosesicherung nach einem auffälligen Ergebnis der NIPT noch immer die invasive Diagnostik (nahezu 100% Detektionsrate). Somit stellen auch die NIPT, genauso wie die bereits

vorgestellten Screening Untersuchungen, keine diagnostischen Methoden, sondern eine Entscheidungshilfe für werdende Eltern dar, ob eine ergebnissichernde, jedoch mit Risiken behaftete Amniocentese oder Chorionzottenbiopsie durchgeführt werden sollten.

1.5: Ultraschallbasiertes Markerscreening im zweiten Trimenon

Im zweiten Trimenon, zwischen 19 SSW und 22 SSW, ist in den Mutterschaftsrichtlinien das Zweittrimesterscreening vorgesehen. Bei dieser Untersuchung wird unter anderem die fetale Biometrie und die Sonoanatomie erhoben¹. Ziel dieses erweiterten „Fehlbildungsscreenings“ ist es, organische Auffälligkeiten zu entdecken. Wie in Kapitel 2.1 dieser Arbeit beschrieben, können in den allermeisten Fällen bei den hier untersuchten Chromosomenstörungen im zweiten Semester unterschiedlich spezifische organische Fehlbildungen, wie Herzfehler, oder Spaltbildungen erkannt werden.¹⁷ Somit ist es möglich, indirekt von entdeckten organischen Fehlbildungen auf eventuelle Chromosomenstörungen zu schließen oder im Umkehrschluss bei einem unauffälligen Befund das Risiko für eine Chromosomenstörung zu reduzieren.

Neben den eigentlichen Fehlbildungen können auch sogenannte Softmarker in die Risikobeurteilung einbezogen werden. Softmarker stellen sonographische Hinweiszeichen dar, die selbst aber nachgeburtlich keine Bedeutung haben.

Jeder einzelne der in dem Markerscreening benutzten Softmarker des Fehlbildungsscreenings erhöht oder reduziert durch seine An- bzw. Abwesenheit das individuelle Risiko des ungeborenen Kindes, an einer Chromosomenstörung zu leiden. Es ist also lohnenswert, das umfassende Portfolio unterschiedlich aussagekräftiger Marker stetig zu erweitern.

1.5.1: Sonographische Marker für Trisomie 21

In einer großangelegten Metaanalyse von 48 Studien überprüften Agathokleous *et al.* 2013 diverse etablierte ultraschalldiagnostische Marker auf ihre Aussagekraft im Screening auf Trisomie 21.⁴⁷ Diese waren cerebrale

Ventrikulomegalie, ein fehlender bzw. unterentwickelter Nasenknochen, ein verdickte Nackenfalte (INFT), ein echogener intracardialer Fokus (ICEF), eine fehlangelegte rechte Arteria subclavia, ein hyperechogener Darm, Hydronephrose und die Verkürzung von Humerus und Femur. Als Ventrikulomegalie wird ein lateraler Ventrikel mit einem Durchmesser von über 10 mm und als Verdickung der Nackenfalte ein Messwert von über 6 mm festgelegt. Ein hyperechogener Darm muss die gleiche Echogenität wie Knochen aufweisen. Die Hydronephrose war in verschiedenen Studien unterschiedlich definiert als ein anteroposteriorer Durchmesser der Nierenbecken von mindestens 3/4/5mm. Die Grenzwerte für verkürzte Oberschenkel-, Unterschenkel-, und Nasenknochen in Abhängigkeit von mütterlichem Alter bzw. biparietalem Durchmesser variierten von Studie zu Studie. Gemessen an der PLR ist mit 25 die Ventriculomegalie zusammen mit dem unterentwickelten/fehlenden NB der kräftigste Marker, gefolgt von INFT und ARSA, echogenem Darm und Hydronephrose (+10) und schließlich ICEF und verkürzter Humerus/Femur (+5).⁴⁶

Durch die Gegenüberstellung der Auswertung aller 9 Marker war es möglich, die PLR/NLR für Trisomie 21 bei Auftreten/Fehlen einzelner Marker zu bestimmen. Dies erfolgte durch die Multiplikation der PLR des aufgetretenen Markers mit der NLR der fehlenden Marker und vice versa. Dies kann auf gleiche Weise mit einer beliebigen Kombination und Anzahl erfüllter Marker wiederholt werden.

Die Analyse von 12 Studien, die das Fehlen von Markern bei Schwangerschaften mit Chromosomenstörungen untersuchten, ergaben, dass die LR für Trisomie 21 in Abwesenheit sonographischer Marker 0,37 ist, was einer Reduktion des Risikos des Auftretens einer Chromosomenstörung um das 2,7-fache bedeutet. Bei Hochrisikoschwangerschaften sank das Risiko sogar um das 3,1-fache, entsprechend spezialisierte Untersucher vorausgesetzt. Die aufgeführten Studien ließen ARSA und NB in der Kombination unberücksichtigt, inkludiert man jedoch deren -LR, erhält man eine kombinierte -LR von 0,12 (ohne Humerus) bzw 0,13 (ohne Femur). Dies zeigt, dass beim Fehlen bestimmter Marker das Risiko einer chromosomalen Aberration wesentlich

schrumpft. Je mehr Marker in diesem Zusammenhang überprüft werden können und je genauer die Messungen stattfinden, desto sicherer lässt sich eine Schwangerschaft einem Risikolevel zuordnen.

1.5.2: Sonographische Marker für Trisomie 18

Neben einer schweren Wachstumsretardierung kann Trisomie 18 mit einer typischen Kopfform („Strawberry-shaped head“), plexus choroideus Zysten (PCZ), einem fehlenden corpus callosum, Zwerchfellhernien, Spaltbildungen, Mikrognathie, oedema nucha, Ösophagusatresien, Exomphalozelen, singulären Nabelschnurarterien, Nierenfehlbildungen, hyperechogenem Darm, und Myelomeningocele assoziiert sein. Des Weiteren sind Skelettfehlbildungen typisch, wie z.B. Radiusaplasien, Extremitätenverkürzungen, Finger- und Fußfehlstellungen (u.a. Tintenlöscherfüße). Feten mit dieser Chromosomenstörung neigen ferner dazu, eine verdickte Nackenfalte mit cystischem Hygrom und Anomalien der hinteren Schädelgrube (unter anderem Kleinhirn-Missbildungen und Dandy-Walker Anomalien) aufzuweisen. Mehr als 90% der betroffenen Feten haben Herzfehler (v.a. Ventrikelseptumdefekt VSD, Atriumseptumdefekt ASD). Je weiter fortgeschritten die Schwangerschaft ist, desto höher ist die Detektionsrate, da die Wachstumsretardierung und die Polyhydramnie im dritten Trimenon besonders auffällig werden.⁴⁸

Viele der kranken Feten sterben in utero aufgrund einer ausgeprägten Plazentainsuffizienz, doch auch die lebend Geborenen erreichen meist nur ein Alter von wenigen Wochen. Gerade bei Feten, die aufgrund einer Wachstumsretardierung auffallen, ist es wichtig, nach weiteren Zeichen möglicher Chromosomenaberrationen zu suchen. Die singuläre Nabelschnurarterie und die Polyhydramnie sollten den Untersucher alarmieren und eine genauere Untersuchung der Extremitäten und des Herzens zur Folge haben.⁴⁸

Shipp *et al.* haben sich 2002 mit der Frage beschäftigt, ob isolierte PCZ eine Indikation für eine invasive Diagnostik darstellen.⁴⁹ Diese Zysten treten bei ca. einem Drittel aller Trisomie 18 erkrankten Feten auf, gegenüber 1-2% bei euploiden Schwangerschaften.^{50,51} Somit wurde berechnet, dass die

Wahrscheinlichkeit, am Edwards Syndrom erkrankt zu sein, bei Feten mit isolierten PCZ bei ca. 1/477 liegt.⁵² Bei einer durchschnittlichen Verlustrate von 1/200 würden also zwei gesunde Kinder sterben, um einen kranken Feten nachzuweisen. Snijders *et al.*⁵³ bestätigten die niedrige Aussagekraft isolierter PCZ (LR<2), betonten aber eine Steigerung der Risikoerhöhung um das 20-fache bei Auftreten anderer Auffälligkeiten.⁵³ Snijders und mehrere andere Autoren, wie Chitty *et al.*, kommen zu dem Ergebnis, dass das maternale Alter der ausschlaggebende Faktor bei der Frage nach invasiver Diagnostik bei isolierten PCZ sein sollte:⁵⁴ Eine Amniocentese sollte durchgeführt werden, wenn die Mutter das 35. Lebensjahr überschritten hat oder das Risiko für Trisomie 18 aufgrund von Serummarkern über 1:3000 liegt. Diesem schließen sich auch Autoren von Studien an, die den isolierten PCZ teils drastisch höhere LR zuordnen.^{55,56} Der Nachweis isolierter PCZ sollte also die Suche nach weiteren, spezifischeren Markern für Chromosomenstörungen nach sich ziehen, nicht jedoch unmittelbare invasive diagnostische Maßnahmen.

1.5.3: Sonographische Marker für Trisomie 13

In verschiedenen Studien war die Detektionsrate für die Trisomie 13 im zweiten Trimester schon früh sehr hoch (90-100%: Lehman *et al.*, 1995; Benacerraf *et al.*, 1988).^{57,58} Dies ist durch die hohe Assoziation mit schwersten Fehlbildungen bedingt. Zu diesen gehören große zentralnervöse Defekte (alobare Holoprosenzephalie, Neuralrohrdefekte, Dandy-Walker Malformationen⁵⁵), Gesichtsfehlbildungen (Spaltbildungen, Hypotelorismus, Nasenbeinaplasie, Zyklopie) und Polydaktylie. Zu diesen kommen weniger spezifische Missbildungen, wie Omphalozelen, singuläre Nabelschnurarterien, Herzfehler (ca. 40%), polyzystische Nierenerkrankungen (30%) und Klump- oder Tintenlöscherfüße.⁵⁷

Aufgrund der Symptomkonstellation aus Polydaktylie, Herzfehlern, Enzephalozelen (Neuralrohrdefekte) und zystischen Nieren, besteht eine Verwechslungsgefahr mit dem Meckel-Gruber Syndrom, einer autosomal-rezessiven Erbkrankheit. Wie Shipp *et al.* 2002 bereits feststellten, verlaufen beide Erkrankungen letal, doch ist eine korrekte Diagnose nötig für eine

angemessene genetische Beratung:⁴⁹ Das Meckel-Gruber Syndrom, als autosomal-rezessive Erbkrankheit, wird mit einer Chance von eins zu vier weiter gegeben, wohingegen Trisomie 13 eine spontane Mutation darstellt.

1.5.4: Sonographische Marker für Triploidie

Der spezifischste pränatale Marker für eine Triploidie im späten ersten und frühen zweiten Trimenon ist die asymmetrische Wachstumsrestriktion (Jauniaux *et al.*, 1996): Der fetale Kopf ist beinahe normal groß, Körper und Skelett hingegen sind stark wachstumsretardiert. Häufige Assoziationen sind Olygohydramnien und plazentarer Hypotrophie.¹⁰

Shipp *et al.* fanden große, hydropisch erscheinenden Plazentae, teils mit partieller Blasenmole bei ca. 2/3 aller triploiden Schwangerschaften. Diese Veränderungen treten vor allem dann auf, wenn das dritte Chromosomenset paternalen Ursprungs ist.⁴⁹

Die häufigsten sonographisch festgestellten Fehlbildungen sind Ventrikulomegalie, Dandy-Walker Malformationen, Corpus callosum Agenesien, Zwerchfellhernien, Gesichtsfehlbildungen (u.a. Mikrognathie), Nierenfehlbildungen, verdickte Nackenfalte, Neuralrohrdefekte, Klumpfüße und Handfehlbildungen (Polydaktylie, v.a. Finger III&IV).

Wie bei Trisomie 18 ist auch bei Triploidien eine exakte Diagnose wichtig, da auch genetisch gesunde Feten eine Wachstumsretardierung im Rahmen einer uteroplazentaren Dysfunktion aufweisen können.

1.5.5.: Sonographische Marker für Turner-Syndrom

Das Turner Syndrom ist durch ein cystisches Nackenhygrom (CH), einen nicht immunologischen Hydrops und renale bzw. kardiale Defekte charakterisiert.¹²

Papp *et al.* überprüften anhand von 69 Feten mit Monosomie X die Aussagekraft der verschiedenen sonographischen Marker im ersten und zweiten Trimenon: Von den 69 erkrankten Feten hatten 24 den Karyotyp 45,X (somatische Mutation), bei den übrigen 43 wurde per invasiver Diagnostik ein Mosaik festgestellt (45,X/46,XX).¹² 90% der Feten mit der somatischen

Mutation zeigten sonographische Auffälligkeiten, in der Mosaikgruppe waren es 55%. Die häufigste Fehlbildung war das CH (26%), das in der Mehrzahl der Fälle im zweiten Trimester festgestellt wurde. Kardiale Defekte und eine erhöhte NT wurden in 13%, Nierenfehlbildungen (Pyelektasien und Cysten) in 11,5% und verkürzte (<10te Perzentile) Oberschenkelknochen in 10% der Fälle beobachtet. Ventrikulomegalien, ein hyperechogener Darm und EIF waren in je unter 5% der Fälle zu beobachten. In insgesamt 14 Fällen (29%) war es durch abnorme Flüssigkeitsansammlungen im Halsbereich (CH, NT>3mm) möglich, die Diagnose des Turner Syndroms schon im ersten Trimester zu stellen.

1.6: Das fetale Profil im Screening auf Chromosomenstörungen

Von besonderer Bedeutung ist dabei das fetale Profil. Dieses hat insbesondere im Screening auf Trisomie 21 besondere Bedeutung erlangt. Lange galt dabei nur das verkürzte Nasenbein als Indikator für eine Trisomie 21, wobei der Marker alleine nicht über eine ausreichende Testgüte verfügte. In den vergangenen Jahren wurde zudem aber auch das pränasale Ödem und Kombinationen unterschiedlicher Marker als mögliche Hinweiszeichen indiziert. Insbesondere das Verhältnis zwischen Nasenbein und pränasaler Dicke hat sich dabei als sinnvoller Marker im Screening auf Trisomie 21 gezeigt. Um die Mittelgesichtshypoplasie in Kombination mit der pränasalen Dicke objektivieren zu können, wurde von Sonek et al. die „Prefrontal Space Ratio“ (PFSR) vorgeschlagen. Bei diesem Verfahren wird eine Linie, die tangential an die Mandibula- und Maxilla-Spitze angelegt wird, bis zur Stirn verlängert. Aus dem Verhältnis zwischen dem pränasalen Ödem und dem Abstand der Haut zur gezogenen Linie ergibt sich die PFSR. Die Methodik ist ausführlich im kommenden Kapitel beschrieben. Sowohl mit der PFSR als auch mit der Ratio aus Nasenbein und pränasalem Ödem konnte bei einer 5%igen Falsch-Positivrate 80-100% der Feten mit Trisomie 21 erkannt werden.

In Abbildung 1 wird das Profil eines Feten mit Trisomie 21 dargestellt. Unter anderem ist ein pränasales Ödem sichtbar.



Abbildung 1: Profil eines Feten mit Trisomie 21. Zu erkennen ist u.a. ein pränasales Ödem.

Abbildung 2 zeigt einen Feten mit Trisomie 18 bei pränasalem Ödem und Retrognathie.



Abbildung 2: Profil eines Feten mit Trisomie 18. Sichtbar sind u.a. ein pränasales Ödem und eine Retrognathie.

Abbildung 3 zeigt das Profil eines Feten mit Trisomie 13 bei Glossoptose und Gaumenspalte.



Abbildung 3: Profil eines Feten mit Trisomie 13. Zu erkennen sind u.a. eine Glossoptose und eine Gaumenspalte.

Abbildung 4 zeigt das Profil eines Feten mit Triploidie.

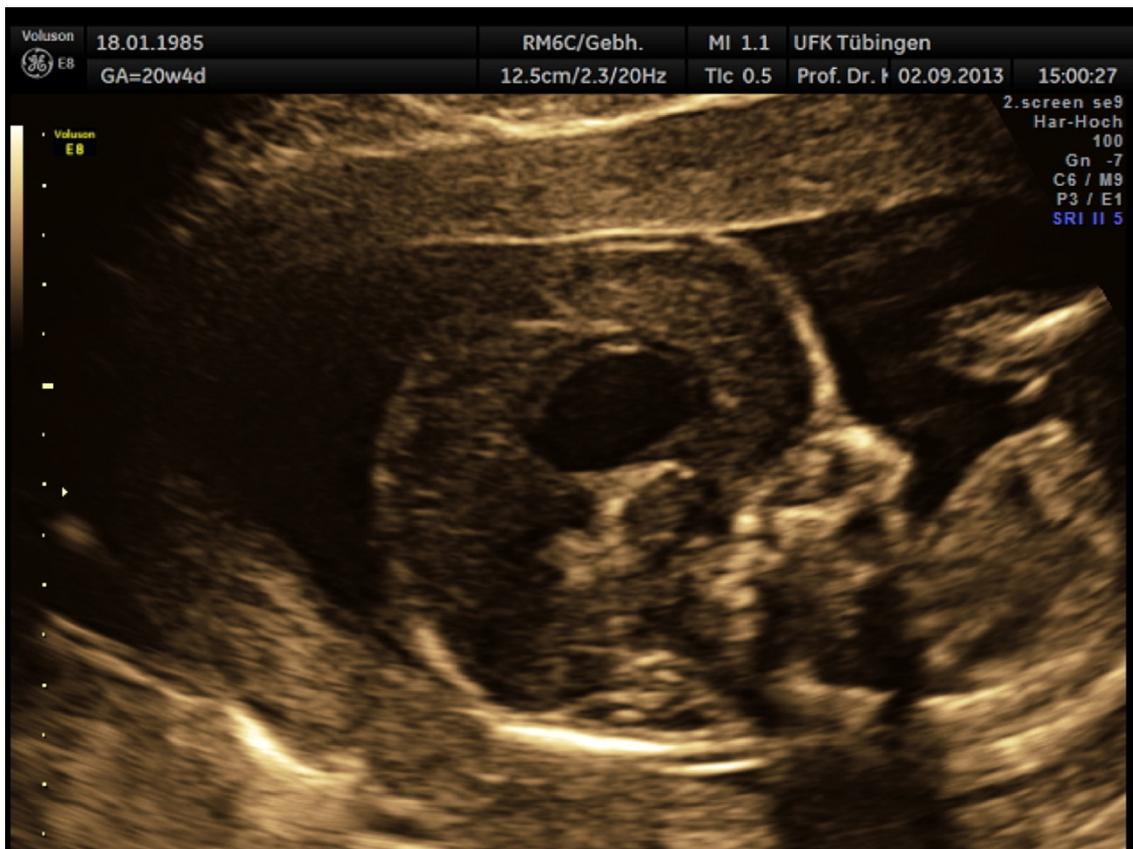


Abbildung 4: Profil eines Feten mit Triploidie

Abbildung 5 zeigt einen Feten mit Turner Syndrom. Es ist ein pränasales Ödem bei zu Grunde liegendem Hydrops zu erkennen.

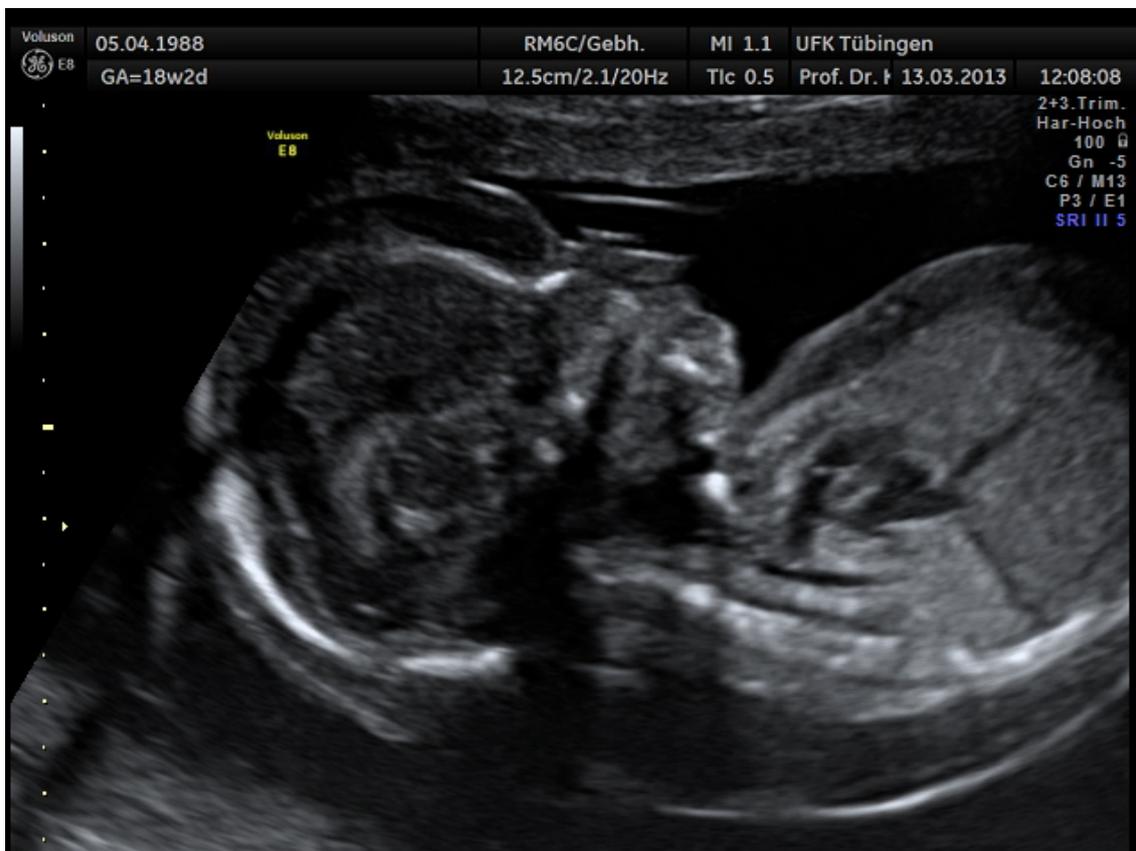


Abbildung 5: Profil eines Feten mit Turner Syndrom. Zu erkennen ist u.a. ein deutliches pränasales Ödem bei zu Grunde liegendem Hydrops.

Im Folgenden werden die untersuchten Einzelparameter genauer beleuchtet:

1.7: Vorstellung der untersuchten Parameter

1.7.1: Die Nasenbeinlänge

Neben der auffälligen Haut erkannte Langdon Down eine weitere Phänotypie des nach ihm benannten chromosomalen Defektes: Die verkürzte Nase.²¹ Da das Nasenbein eine im mitt-sagittalen Ultraschallbild gut darstellbare Struktur des fetalen Gesichts ist, lag die Überlegung nahe, die NBL in der pränatalen Diagnostik als Marker für Trisomie 21 zu untersuchen. Erstmals wurde 1995 durch F. Guis *et al.* hierzu eine retrospektive Studie veröffentlicht. In dieser wurde ein genauer Bereich festgelegt, innerhalb dessen die NL zu bestimmten

Zeitpunkten der Schwangerschaft als altersgerecht einzustufen ist.⁵⁹ Bunduki *et al.* zeigten hierauf 2003 in einer langjährig angelegten prospektiven Studie an fast 2000 Schwangeren über dem 35. Lebensjahr, dass signifikant mehr Kinder mit Trisomie 21 im zweiten Trimenon eine NBL unter der 5. Percentile (59%) hatten als Gesunde (5%).⁶⁰ Die Aplasie des Nasenbeins als isolierter Screeningmarker für Trisomie 21 hatte in dieser Studie eine Sensitivität von 59.1% bei einer 5% FPR. Noch deutlicher wird die Bedeutung des Markers in einer Studie von Cicero *et al.* 2001, die das Fehlen des Nasenbeins im ersten Trimenon untersucht: bei 73% der an Trisomie 21 erkrankten Feten war eine Aplasie festzustellen, wohingegen dies nur bei 0,5% der genetisch Gesunden der Fall war.⁶¹

Abbildung 6 zeigt ein fetales Profil mit deutlich sichtbarem Nasenbein.



Abbildung 6: Fetales Nasenbein bei Trisomie 18 (grüner Kreis):

1.7.2: Pränasale Dicke (PT)

Ein weiterer "isolierter Marker" ist die PT, also die Strecke zwischen der vorderen Grenze des untersten Randes des Stirnbeines und der vorderen Grenze der Vorderstirnhaut. Maymon *et al.* haben gezeigt, dass im zweiten Trimenon 72% der kranken Feten über der 95. Percentile einer Vergleichsgruppe von 500 Gesunden lagen.⁶² Dieses wurde von Persico *et al.* 2008 bestätigt: Die PT von 135 euploiden Feten in dieser Studie nahm von der 16. bis 24. Woche um mehr als das Doppelte zu (2,4mm zu 4,6mm). Die Feten mit Chromosomenstörung hingegen lagen in 73% der Fälle oberhalb der 95. Perzentile dieser Gruppe. Da keine Korrelation zur NT nachgewiesen wurde, kann die PT, genau wie die NL, in einem kombinierten Markerscreening angewandt werden.⁶³

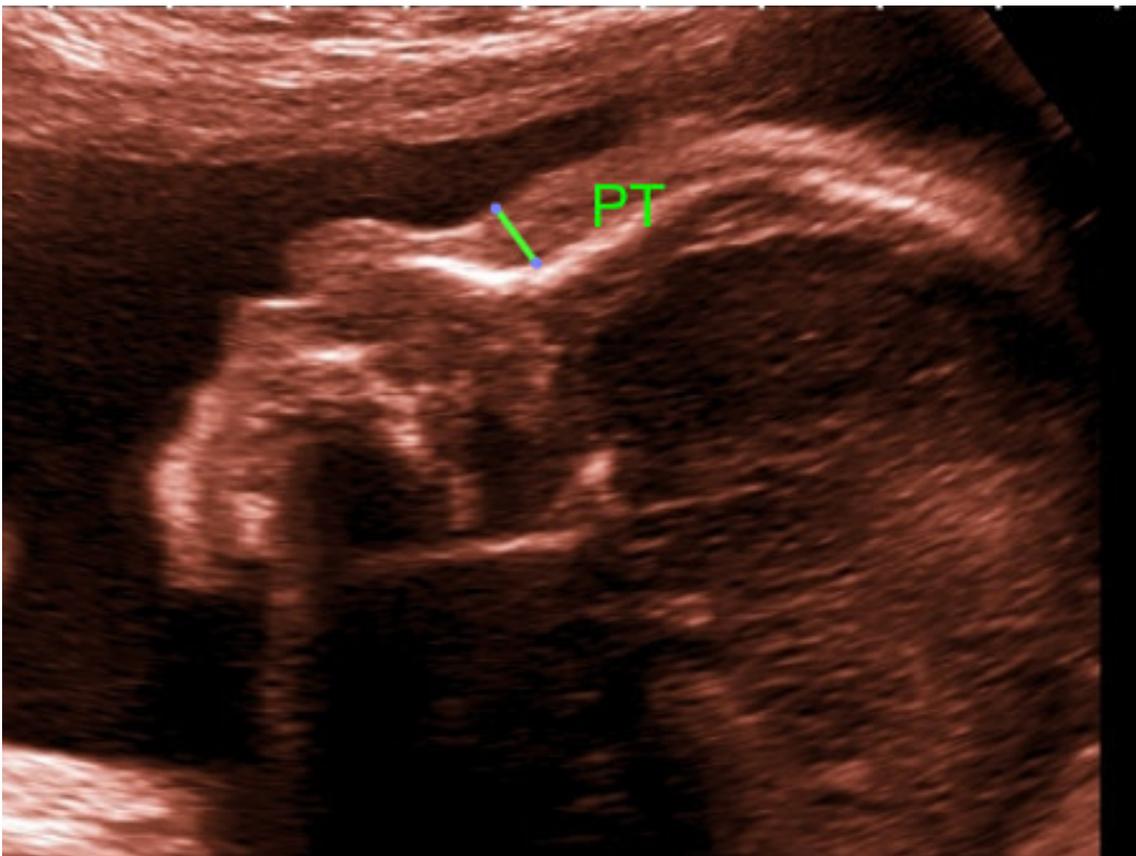


Abbildung 7: Pränasale Dicke (grüne Linie) bei einem Fet mit pränasalem Ödem .

1.7.3: Ratio aus Pränasaler Dicke und Nasenbeinlänge (PT-NBL-Ratio)

Integriert man die PT mit der NL, so erhält man ein Verhältnis, das laut De Jong-Pleij *et al.* einen sehr aussagekräftigen Marker für Trisomie 21 darstellt: Die PT-NBL-Ratio.⁶⁴ Diese ist nicht nur für euploide Feten über die gesamte Schwangerschaft konstant, sie war in dieser retrospektiven Studie auch bei sämtlichen kranken Feten oberhalb der 95. Perzentile der gesunden Kontrollgruppe. Dies impliziert einen hohen prognostischen Wert.

Abbildung 7 zeigt ein fetales Profil bei Trisomie 18 mit pränasalem Ödem und Nasenbeinhypoplasie.

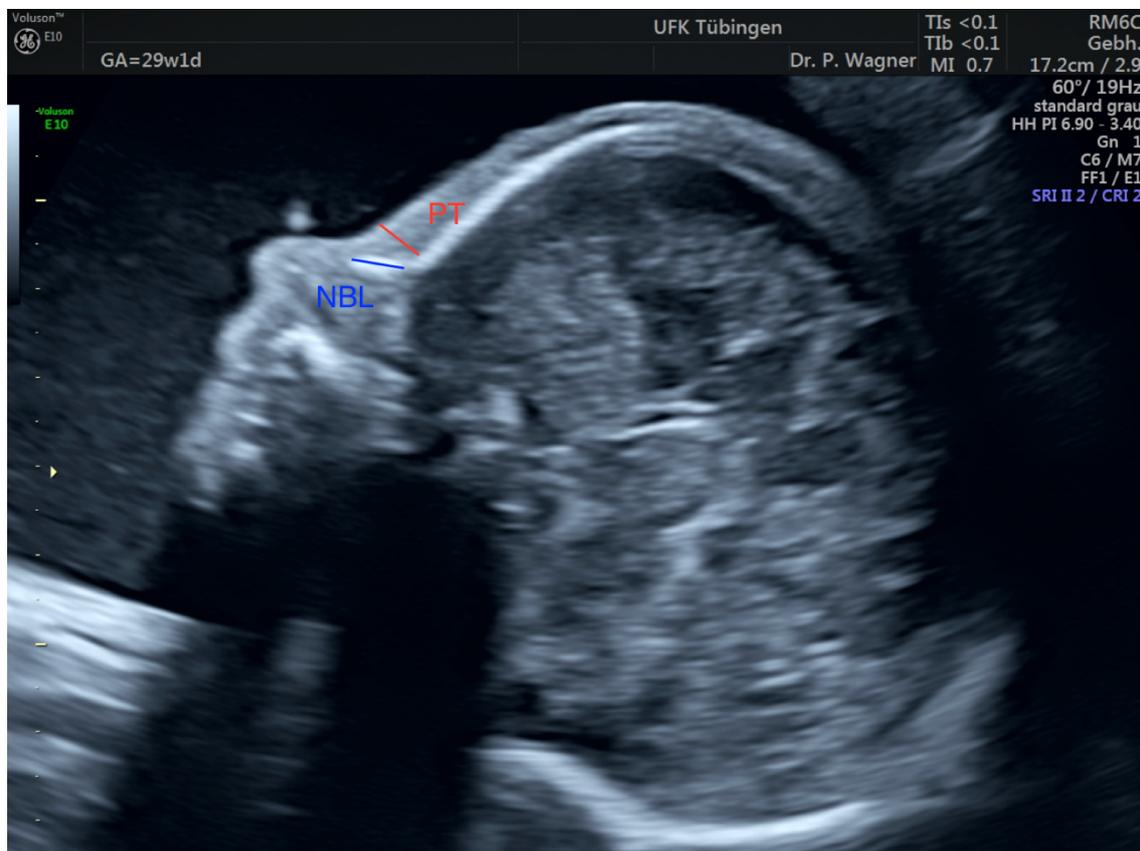


Abbildung 8: Pränasales Dicke („PT“, rote Linie) und Nasenbeinlänge („NBL“, blaue Linie) bei Trisomie).

1.7.4: Prefrontal Space Ratio (PFSR)

Neben den genannten gut etablierten Markern, wurde 2012 von Sonek *et al.* ein weiterer simpler, doch effizienter Marker im Zweit- und Drittsemester Screening für Trisomie 21 vorgestellt: Die „prefrontal space ratio“ (PFSR).⁶⁵ Diese bedient sich, neben der PT, zusätzlich der Oberkiefergröße, die laut einer Studie von Cicero *et al.* in 25% der Fälle unterhalb der 5. Perzentile liegt.⁶⁶ Für die Messung wird ein mittig-sagittaler Schnitt des fetalen Profils gewählt, im Optimalfall mit sichtbarem corpus callosum. Es wird nun zunächst eine Linie zwischen vorderster Kante der Mandibula (protuberantia mentalis) und der Maxilla gezogen (Mandibulomaxillarlinie; MM). Diese wird vor die Stirn verlängert. Hierauf werden zwei Distanzen gemessen: Die Strecke zwischen vorderster Schädelkante und vorderer Hautgrenze (d1), als Parallele zum Oberkieferunterrand, und, als Verlängerung dessen, die Strecke von der Haut zum Schnittpunkt mit der MM. Die PFSR errechnet sich durch die Division von d2 durch d1. Wie sich herausstellte, war die PFSR bei 279 euploiden Feten $0,97 \pm 0,29$ (range 0,2-2,02), bei 91 Feten mit Trisomie 21 hingegen mit $0,21 \pm 0,38$ (-0,56-1,42) signifikant geringer.⁶⁷ Die Ergebnisse korrelieren mit Aneuploidie, NL und PT, nicht hingegen mit mütterlichem Alter, BPD und Kopfumfang. Da in der Studie eine 83% Detektionsrate bei 5% falsch positiven Ergebnissen erreicht werden konnten, lag es nahe, die Brauchbarkeit der PFSR für andere chromosomale Aberrationen zu überprüfen. Das Ziel dieser Arbeit wird es unter anderem sein, den prognostischen Nutzen der PFSR bei Feten mit gesicherter Trisomie 18, Trisomie 13, Monosomie X und Triploidien retrospektiv zu evaluieren.

Abbildung 8 zeigt das Profil eines Feten mit dem Patau Syndrom bei auffälliger PFSR.

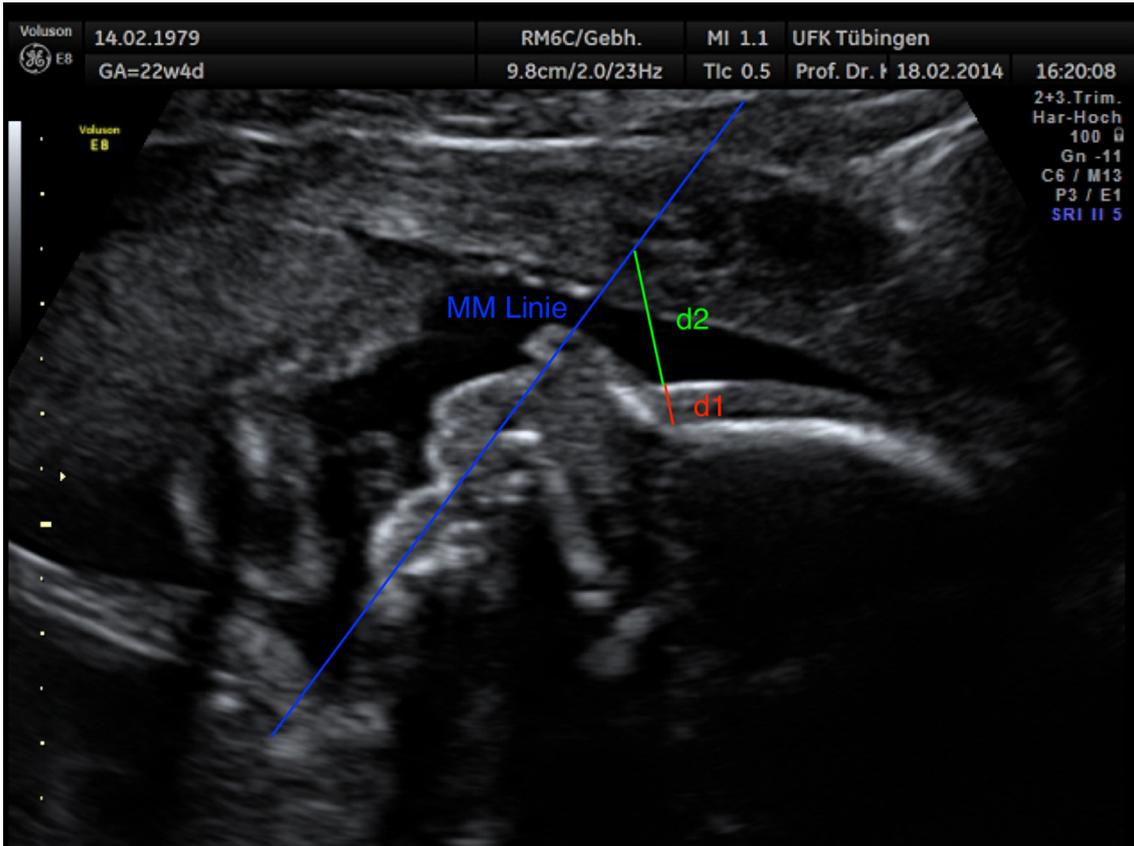


Abbildung 9: Erhöhte PFSR durch deutliche Retrognathie bei pränasalem Ödem bei Fet mit Trisomie 13.

Bisher konzentrierten sich die Studien auf Trisomie 21. Feten mit sonstigen Chromosomenstörungen wurden bis dato nicht untersucht. Dies beruht darauf, dass diese Feten meist zahlreiche Fehlbildungen aufweisen, so dass die Risikobeurteilung anhand des fetalen Gesichts nicht von großer Bedeutung erschien. Jedoch ist auch bei Feten mit einer Trisomie 18, 13, Turner Syndrom oder Triploidie eine Charakterisierung der typischen Profilauffälligkeiten sinnvoll. Insbesondere in der Erstberatung der Patientinnen bevor die Diagnose in den Folgetagen mittels invasiver Diagnostik gesichert wird, ist eine korrekte Einschätzung der Chromosomenstörung von Bedeutung. Dahingehend kann die Beurteilung des fetalen Profils wegweisend sein. Dieses wurde bisher aber nur subjektiv beurteilt. Daten zu der Nasenbeinlänge, zum pränasalen Ödem und zu den Kombinationsmarkern bei Feten mit Trisomie 18, 13, Turner Syndrom und Triploidie fehlen bisher. In dieser Arbeit sollen die entsprechenden

Werte für diese Feten mit Trisomie 18, 13, Turner Syndrom und Triploidie erhoben und mit den Werten euploider Feten verglichen werden.

1.8: Fragestellung der Arbeit

Das fetale Profil ist bei der Beurteilung des Aneuploidie-Risikos von besonderer Bedeutung. Während anfänglich der subjektive Eindruck im Mittelpunkt stand, wird zunehmend versucht, die Gesichtsauffälligkeiten zu objektivieren. Dahingehend haben sich im Screening auf Trisomie 21 die Nasenbeinlänge, die pränasale Dicke, die PT-NBL-Ratio und die PFSR als sinnvolle Marker ergeben.

In dieser Arbeit sollen diese Gesichtsmarker bei Feten mit Trisomie 18, 13, Turner Syndrom und Triploidie untersucht und mit euploiden Feten verglichen werden.

2. Material und Methoden

2.1: Herkunft der Daten

Im Rahmen pränatalmedizinischer Untersuchungen wird als Standard das fetale Profil beurteilt und das entsprechende Bild digital dokumentiert. In dieser Arbeit werden die retrospektiv gewonnenen und archivierten Profilbilder verwendet, um mehrere Gesichtsmarker standardisiert zu erfassen (siehe unten). Verwendet wurden 189 Profilbilder aus dem zweiten und dritten Trimenon. Die Aufnahmen wurden im Rahmen pränataldiagnostischer Ultraschalluntersuchungen an den Universitätskliniken Tübingen (UKT: 2004-2013), Bonn (UKB: 2003-2013) und Köln (UKK: 2008-2013) erstellt. Zunächst wurden die Datenbanken an den drei Zentren nach Schwangerschaften durchsucht, bei denen prä- und postnatal eine Trisomie 18, Trisomie 13, Monosomie X oder eine Triploidie diagnostiziert wurde und bei denen nach der 16. Schwangerschaftswoche Ultraschalluntersuchungen durchgeführt wurden. Es wurden 64 Fälle aus Tübingen, 97 Fälle aus Bonn und 28 Fälle aus Köln gefunden, die den Inklusionskriterien der Studie entsprachen.

Die Ultraschalluntersuchungen wurden fast durchgehend von Untersuchern der DEGUM Stufe II und III durchgeführt.

Wie bereits in einer ähnlichen Studie von Yazdi *et al.* 2013 mussten die Aufnahmen mehreren Kriterien genügen, um als für die Studie zulässig zu gelten: Es sollten eine exakt medial-sagittale Ansicht, im besten Falle mit sichtbarem Corpus callosum, deutlich erkennbare vordere Ränder des Unter-, sowie Oberkiefers, eine klar erkennbare vordere Kante des Stirnbeins und eine hiervon abgrenzbare Vorderstirnhaut vorliegen.⁶⁸ Die Vergrößerung musste so gewählt sein, dass das Profil des Feten den Großteil des Bildes einnahm. Als Exklusionskriterien galten Lippen- bzw. Lippen-Kiefer-Gaumen- Spalten (siehe Abbildung 2), da durch diese eine exakte Bestimmung des vorderen Randes der Maxilla und somit eine eindeutige Vermessung verhindert wird. Im Falle von Mehrfachuntersuchungen wurde die frühest mögliche Aufnahme gewählt, die den Inklusionskriterien entsprach.⁶⁹

Alle Messungen erfolgten offline von einem Untersucher, der im Vorfeld der Studie ausführlich eingewiesen wurde. Der Untersucher hatte keine Kenntnis über den Karyotyp der untersuchten Feten. Die Messungen wurden nach einem gewissen Zeitintervall wiederholt, um die Intraobserver Variabilität zu untersuchen.⁶⁹

Bei jedem Messvorgang wurden folgende Strukturen untersucht: Das Nasenbein, die pränasale Dicke, die Ratio aus PT und NB und die prefrontal space ratio.

Ferner wurden einige spezifische Daten aus den Patientenakten entnommen: Das mütterliche Alter, der fetale Karyotyp und das Gestationsalter (GA).

2.2: Methodik der Messungen

2.2.1: Die Nasenbeinlänge

Die Vermessung des Nasenbeines erfolgte von dessen Ursprung bis zum Ende der weißen Ossifikationslinie. Hierbei wurde das Einbeziehen des Os frontale vermieden.⁷⁰ In Abhängigkeit des Messergebnisses, wurde das Nasenbein als entweder aplastisch (fehlend), größenvermindert (<5. Perzentile), oder als dem Gestationsalter entsprechend eingestuft.

In Abbildung 10 bzw. 11 wird exemplarisch je ein fetales Profil mit bzw. ohne Anlage eines Nasenbeines gezeigt.



Abbildung 10: Nasenbein bei Fet mit Trisomie 18 (rote Linie).



Abbildung 11: Nasenbeinaplasie bei Fet mit Trisomie 13.

2.2.2: Die Pränasale Dicke

Die pränasale Dicke wurde, wie in Abbildung 12 zu sehen, auf einer parallel zur Unterkante der Mandibula verlaufenden Geraden von dem Punkt aus gemessen, der exakt oberhalb der Umschlagstelle des Stirn- zum Nasenbein lag, bis hin zum Schnittpunkt der Geraden mit der Vorderstirnhaut. Als auffällig gelten Werte über der 95. Perzentile.⁶⁹



Abbildung 12: Erhöhte PT (rote Linie) bei zu Grunde liegendem pränasalem Ödem bei Monosomie X.

2.2.3: Die PT-NBL-Ratio

Die Ratio aus PT und NB entspricht dem Quotienten aus PT (Dividend) und NB (Divisor). In jenen Fällen, in denen kein Nasenbein angelegt war, war dieser ungültig (Divisor = 0), wurde jedoch als auffällig eingestuft, ungeachtet des theoretischen Ergebnisses.

In Abbildung 13 wird zur Verdeutlichung die Profilaufnahme eines Feten mit Trisomie 18 präsentiert.



Abbildung 13: PT und NBL bei Profilaufnahme eines Feten mit Trisomie 18

2.2.4: Die PFSR

Die PFSR wurde entsprechend der von Sonek *et al.* 2012 publizierten Methode gemessen.⁶⁵ Der Parameter setzt sich aus mehreren Teilen zusammen: Es wird zunächst eine Gerade durch den vordersten Punkt des Unterkiefers und den vordersten Punkt des Oberkiefers gezogen. Als Orientierungspunkt am Unterkiefer wird hierbei die protuberantia mentalis verwendet, die laminae dentales direkt über dieser werden vermieden, da diese mit dem wachsenden Feten ihre Größe variieren. Die Linie wird vor die Stirn verlängert und „Mandibulomaxillarlinie“ genannt. Es folgt die Messung zweier Distanzen: d1 entspricht der PT, die Verlängerung dieser bis zum Schnittpunkt mit der MM d2. Sollte die MM hinter der d1 Linie liegen, so wird die Messung von d2 dennoch ab der Vorderstirnhaut, also dem Endpunkt der ersten Strecke, durchgeführt, in diesem Falle gegenläufig zu d1. Das Ergebnis wird im Anschluss mit (-1) multipliziert. Der Quotient aus d2 durch d1 stellt die PFSR dar.⁷¹

In Abbildung 14 werden d1, d2 und MM dargestellt.

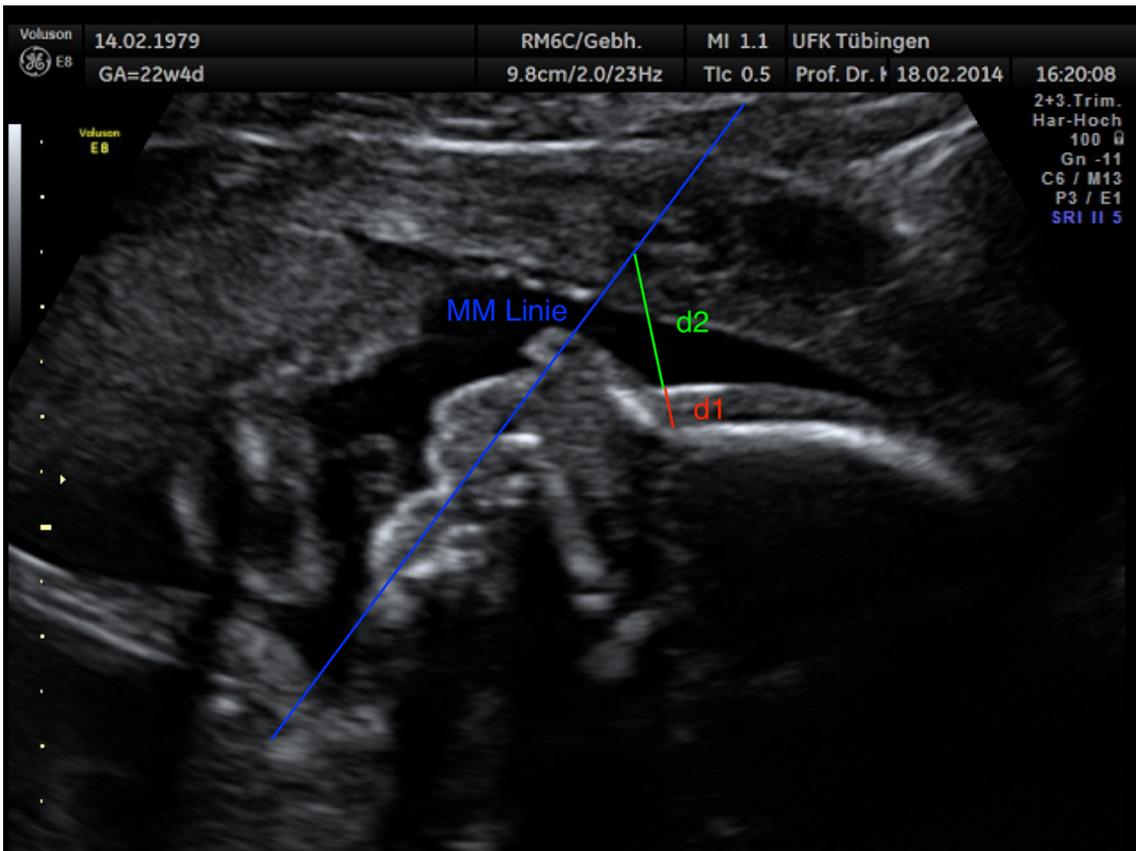


Abbildung 14: PFSSR Messung bei einem Feten mit Trisomie 13 bei Retrognathie und pränasalem Ödem.

2.3: Statistik

Die intraobserver Reproduzierbarkeit wurde anhand des Messunterschiedes zweier Messdurchgänge und innerhalb der 95. prozentigen Übereinstimmungsgrenzen beurteilt.

Jeder Messwert wurde in einen z-Wert umgewandelt, der auf den Messergebnissen euploider Feten in den Publikationen von Vos^{72,70}, de Jong-Pleij⁶⁴ und Yazdi⁶⁸ et al. beruhte.⁶⁹

- $NBL = -6,927 + (0,83 \cdot GA) - (0,01 \cdot GA^2)$
[SD = 0,887; 5. Perzentile = mittlere NBL – 1,463]
- $PT = (0,212 \cdot GA) - 0,873$
[SD = 0,616; 95. Perzentile = mittlere PT + 1,017]
- PTNB ratio = 0,61
[SD = 0,12; 95. Perzentile = 0,80]
- PFSR = 0,97
[SD = 0,29; 5. Perzentile = 0,49; 95. Perzentile = 1,45]

Die Ergebnisse werden in Form des Medians und des Interquartilen Bereiches (25-75 IQR), oder in Form des Mittelwertes und der Standardabweichung (SD) angegeben. Die Abweichung der mittleren z-Werte wurde mit Hilfe des Student's t-Tests überprüft: Hierbei wurde ein p-Wert von weniger als 0,05 als statistisch signifikant angenommen. Die Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel für Macintosh 2011 (Redmond/Washington, US) und IBM SPSS 21 (Armonk/New York, US).⁶⁹

3.: Ergebnisse

3.1: Altersverteilung des Patientenkollektives

3.1.1: Mütterliche Altersverteilung

Es fanden sich in den durchsuchten Datenbanken 189 Feten, deren Bilddokumentation den Inklusionskriterien der Studie genügten: 132 (69,8%) mit Trisomie 18, 40 (21,2%) mit Trisomie 13, 10 (5,3%) mit Triploidien und 7 (3,7%) mit dem Turner Syndrom. Das mütterliche Alter betrug im Mittel 34,5 Jahre (IQR 29,1-38,8) und das mediane Gestationsalter zum Zeitpunkt der Untersuchung war 22,9 Wochen (IQR 20,1-27,4).⁶⁹

In Diagramm 1 ist die mütterliche Altersverteilung zu betrachten: Ein Drittel aller untersuchten Mütter war zwischen 36 und 40 Jahre alt. Die Altersgruppen 26-30 Jahre und 31-35 Jahre machten jeweils ca. 20% aus, wohingegen knapp 18% aller Mütter das 40. Lebensjahr überschritten hatten. Ca. 10% aller Mütter waren unter 25 Jahre alt.

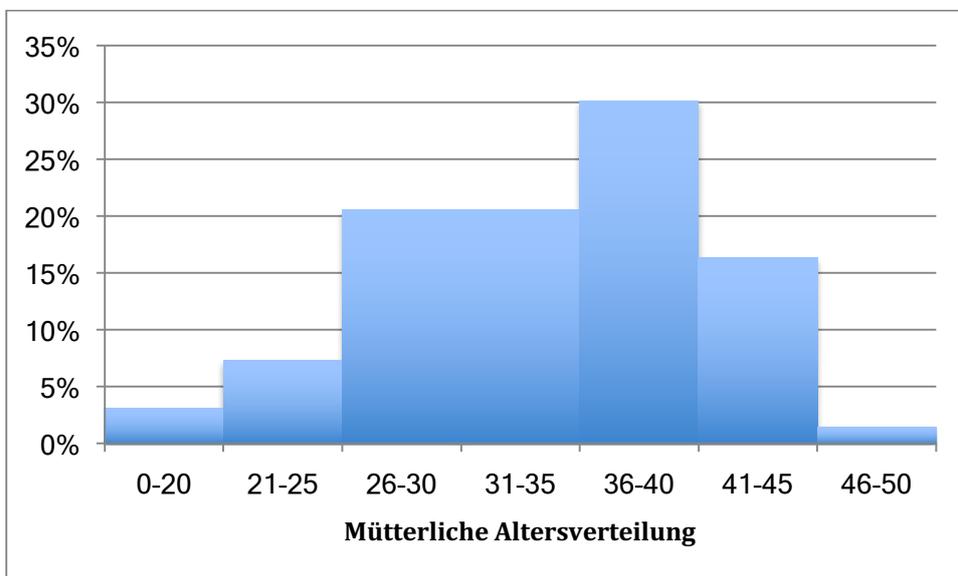


Diagramm 1: Mütterliche Altersverteilung

3.1.2: Gestationsaltersverteilung im Gesamtpatientenkollektiv

In Diagramm 2 ist die Verteilung des Gestationsalters im Gesamtpatientenkollektiv zu sehen. Wie hieraus hervorgeht, waren knapp über 40% aller untersuchten Schwangeren in der GW 21-25. Jede vierte Schwangere wurde vor der 20. SSW untersucht, ein Drittel aller Schwangeren hingegen befand sich oberhalb der 26. SSW zum Zeitpunkt der Ultraschalluntersuchung.

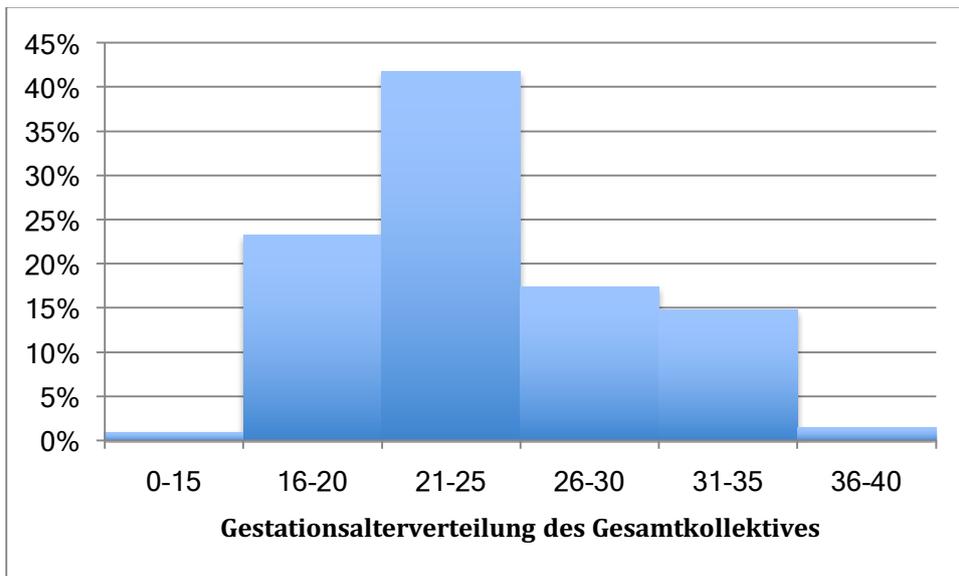


Diagramm 2: Gestationsaltersverteilung im Gesamtpatientenkollektiv

3.1.3: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Trisomie 18

In Diagramm 3 ist die Verteilung des Gestationsalters der Feten mit Trisomie 18 zu sehen. Wie der Grafik zu entnehmen ist, wurde fast die Hälfte aller Feten zwischen der 21. und 25. SSW untersucht, zwischen der 16. und 20. SSW knapp jeder fünfte Fet und je ca. 15% zwischen der 26. und 30. bzw. 31. bis 35. SSW.

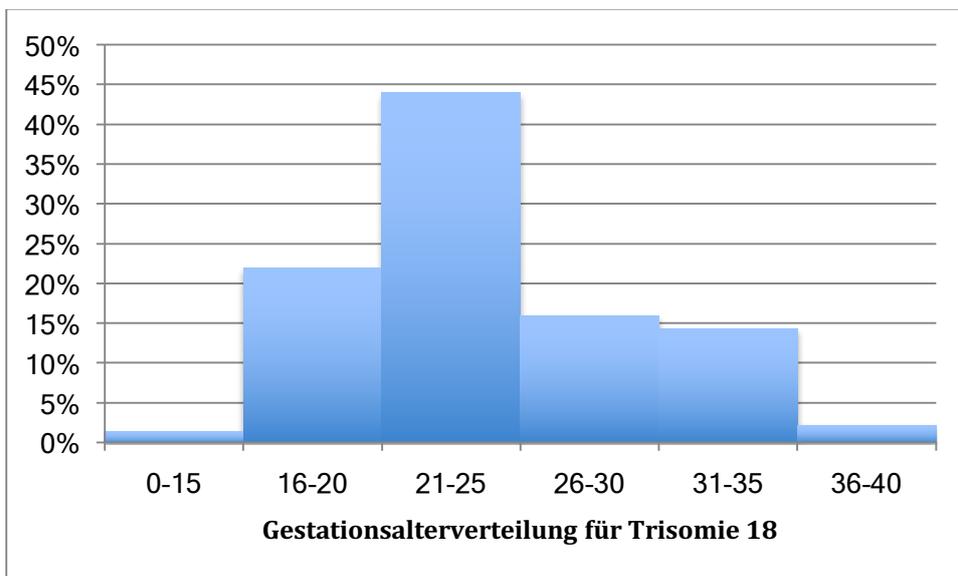


Diagramm 3: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Trisomie 18

3.1.4: Gestationsaltersverteilung bei Feten mit Trisomie 13

In Diagramm 4 ist zu erkennen, dass knapp Hälfte aller Feten mit Trisomie 13 zwischen der 21. und 25. SSW untersucht wurden. Die restlichen untersuchten Feten waren zwischen der 16. und 35. SSW.

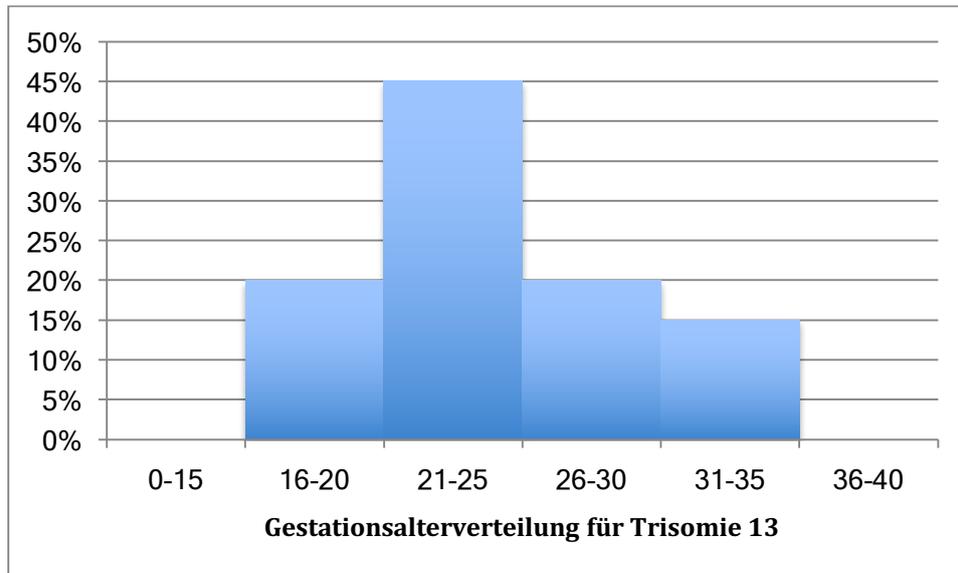


Diagramm 4: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Trisomie 13

3.1.4: Gestationsaltersverteilung bei Feten mit Triploidien

In Diagramm 5 wird ersichtlich, dass jeder zweite untersuchte Fet mit Triploidie zwischen der 16. und 20. SSW war. Die übrigen Feten befanden sich zwischen der 21. und 35. SSW.

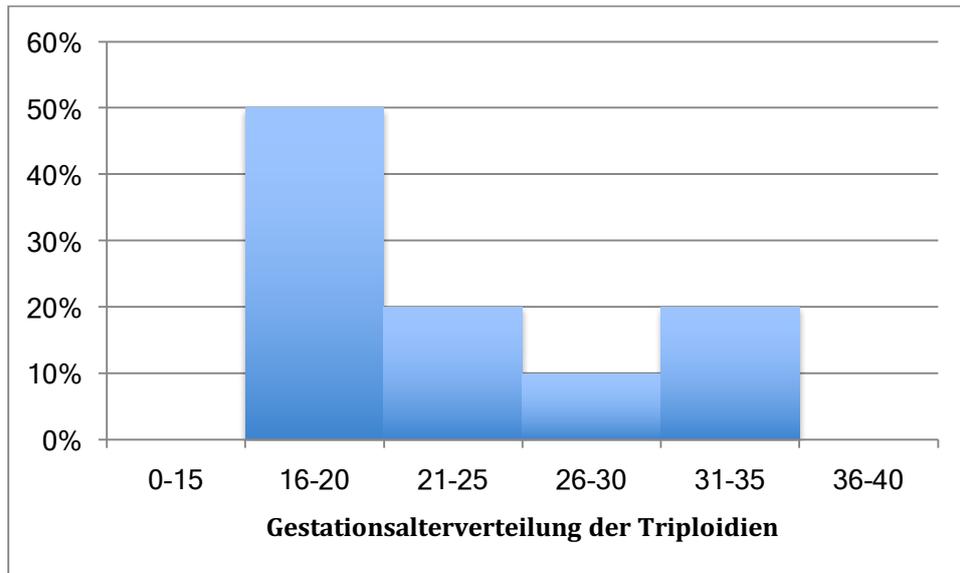


Diagramm 5: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Triploidien

3.1.5: Gestationsaltersverteilung bei Feten mit Monosomie X

In Diagramm 6 ist die Gestationsaltersverteilung der Feten mit Monosomie X dargestellt. Die meisten Feten befanden sich zwischen der 26 und 30. SSW, die übrigen zwischen der 16 und 35. SSW.

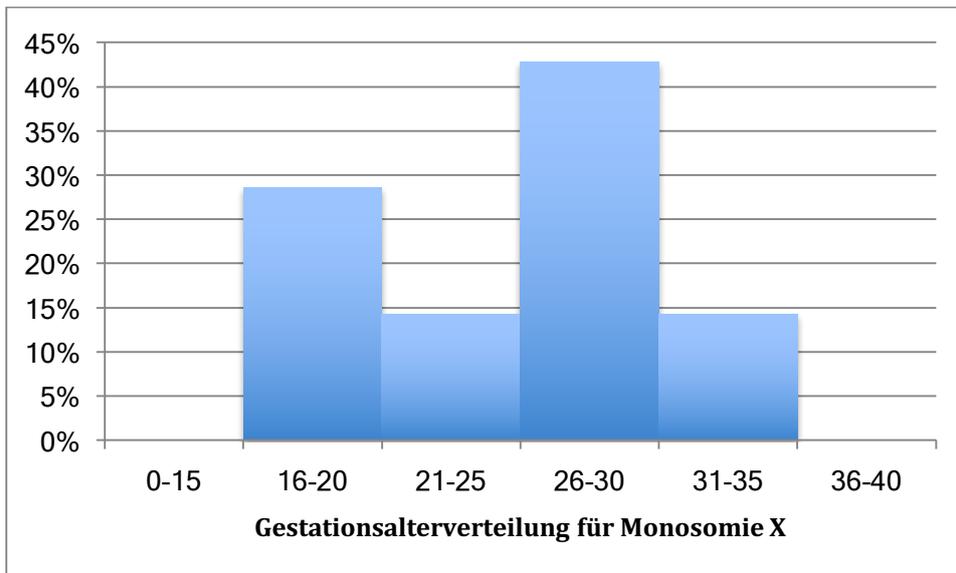


Diagramm 6: Gestationsaltersverteilung der Feten mit Monosomie X

3.2: Intraobserver Variabilität und Reproduzierbarkeit der Daten

3.2.1: Überprüfung der Reproduzierbarkeit durch Bland Altman Blots

Die für diese Arbeit vorgenommenen Messungen wurden jeweils 2 Mal durchgeführt, um Messfehler und Zufallsergebnisse auszuschließen. Zwischen den beiden Testdurchläufen lag genug Zeit, um Verfälschungen zu vermeiden. Im Folgenden werden Bland Altman Plots für jeden untersuchten Parameter dargestellt.

Jeder einzelne gibt Aufschluss über die Reproduzierbarkeit der Daten. Diese ist für jede erfolgte Messung gegeben.

3.2.2: Die Nasenbeinlänge

Bei den erfolgten Messungen der Nasenbeinlänge betrug die mittlere Differenz der Messwerte 0,55mm, bei einem 95% Konfidenzintervall von 0,65mm.

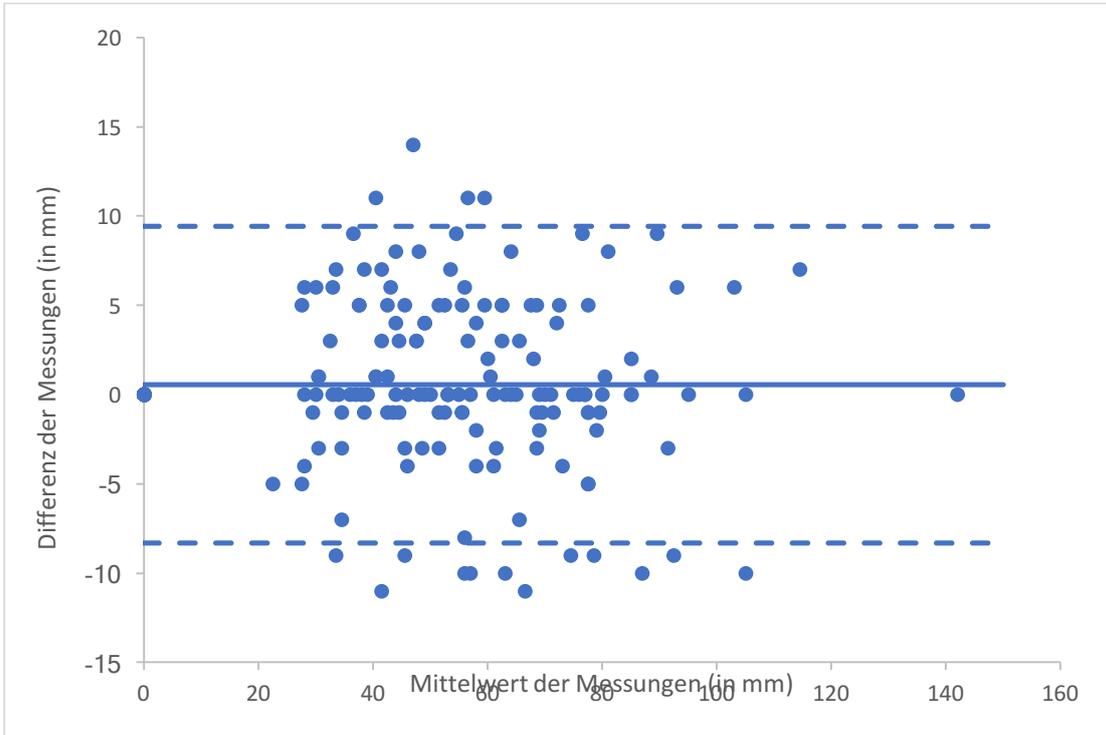


Diagramm 7: Bland Altman Plot zu den Messungen der NBL

3.2.2: Die pränasale Dicke

Bei den erfolgten Messungen der PT betrug die mittlere Differenz der Messwerte 0,1mm, bei einem 95% Konfidenzintervall von 0,71mm.

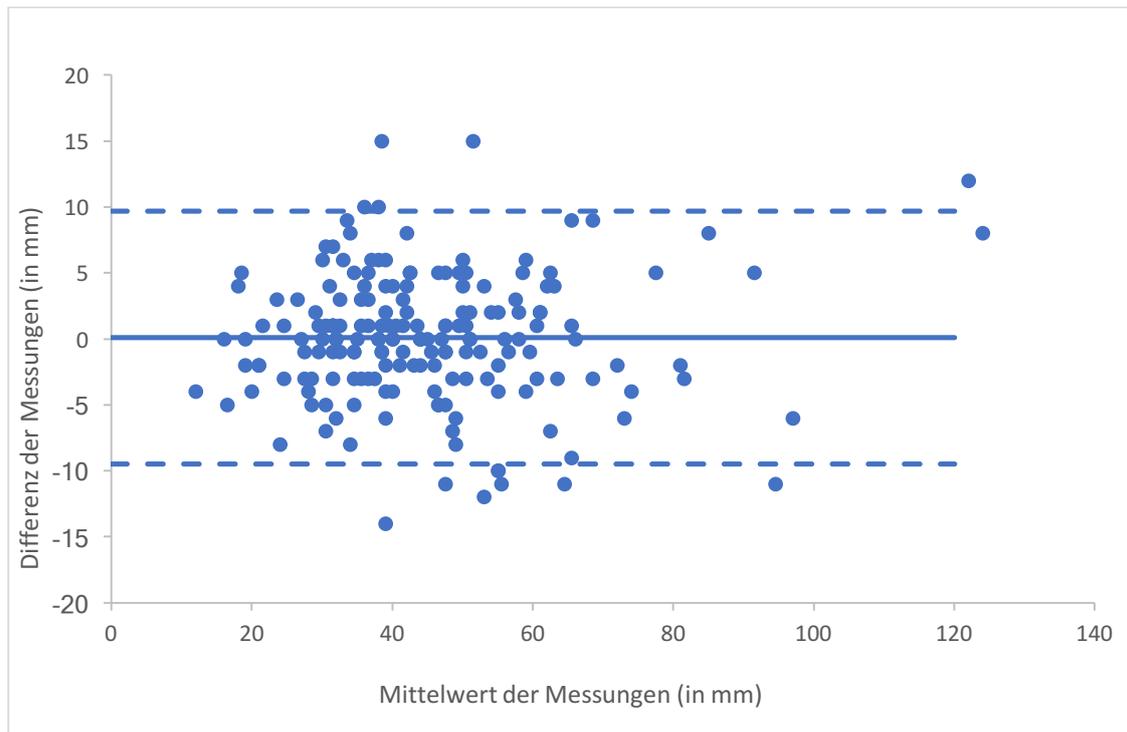


Diagramm 8: Bland Altman Plot zu den Messungen der PT

3.2.3: Die Ratio aus pränasaler Dicke und Nasenbeinlänge

Bei den erfolgten Messungen der PTNBL betrug die mittlere Differenz der Messwerte $-0,02$, bei einem 95% Konfidenzintervall von $0,02$.

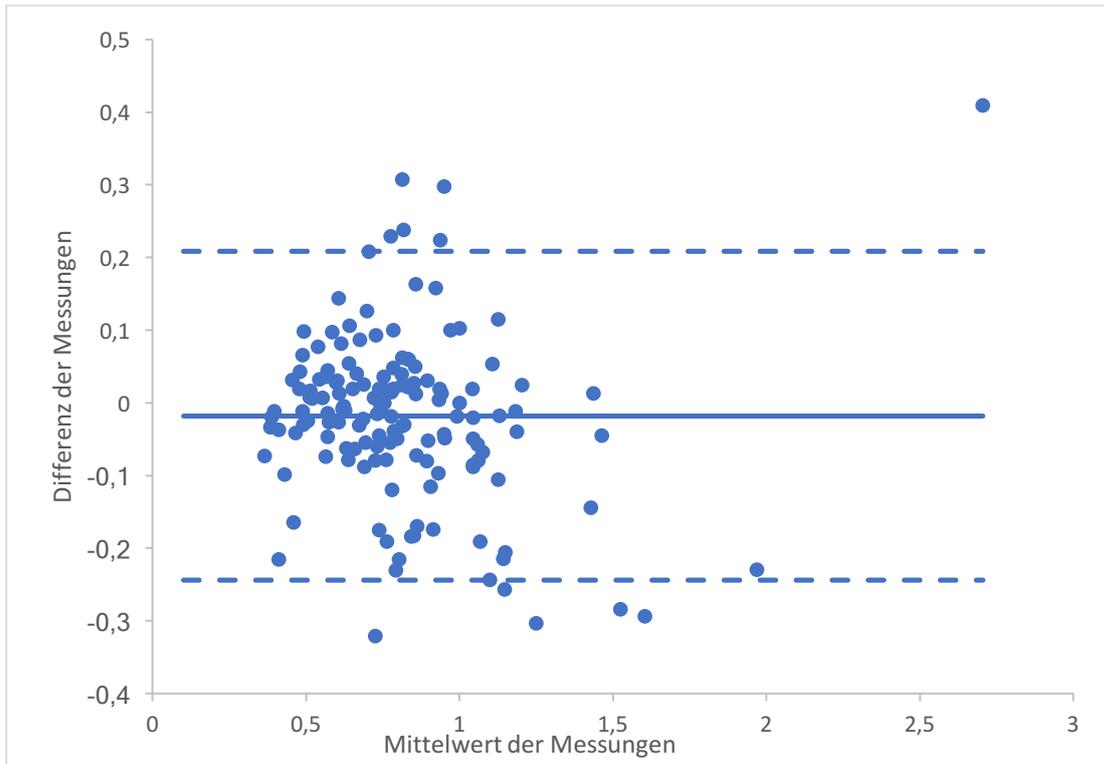


Diagramm 9: Bland Altman Plot zu den Messungen der PT-NBL Ratio

3.2.4: Die prefrontal space ratio

Bei den erfolgten Messungen der PFSR betrug die mittlere Differenz der Messwerte $-0,012$, bei einem 95% Konfidenzintervall von $0,03$.

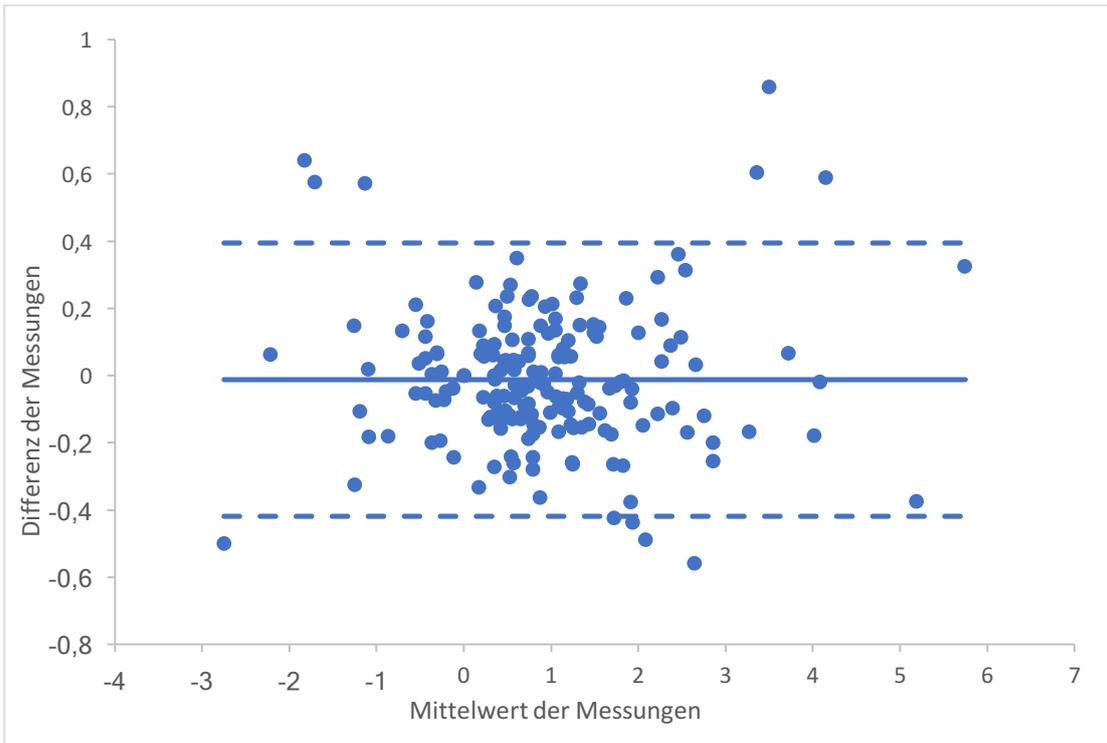


Diagramm 10: Bland Altman Plot zu den Messungen der PFSR

3.2.5: Zusammenfassung der Messergebnisse der untersuchten Parameter

In Tabelle 1 sind die Messergebnisse der erhobenen Parameter zusammenfassend dargestellt. Von NBL, PT, PTNBL und PFSR sind jeweils der Mittelwert, die mittlere Differenz der Messwerte, sowie das 95% Konfidenzintervall angegeben.

Tabelle 1: Messergebnisse der untersuchten Parameter

	Mittelwert	Mittlere Differenz	95% Konfidenz
NBL	57,6 mm	0,55 mm	0,65 mm
PT	44,8 mm	0,1 mm	0,71 mm
PTNBL	0,81	-0,02	0,02
PFSR	0,93	-0,012	0,03

3.3: Messergebnisse

3.3.1: Ergebnisse der NBL Messungen

Das Nasenbein war in 21 Fällen mit Trisomie 18 (15,9%), in 12 Fällen mit Trisomie 13 (30%) und in je einem Fall bei Triploidie (10%) und Turner Syndrom (14,3%) nicht angelegt. In 46 (34,8%) Fällen mit Trisomie 18 war das Nasenbein hypoplastisch (<5. Perzentile), sowie in 8 (20%) mit Trisomie 13, 4 (40%) mit Triploidie und bei einem (14,2%) der Fälle mit Turner Syndrom. Somit lagen auffällige Messergebnisse (entweder aplastisches NB oder $NBL < 5$. Perzentile) in 67 Fällen mit Trisomie 18 (50,8%), 20 Fällen mit Trisomie 13 (50,0%), 5 Fällen mit Triploidien (50,0%) und 2 der Feten mit Turner Syndrom (28,6%) vor (Diagramm 7). In den Fällen, in denen ein Nasenknochen sonographisch festgestellt werden konnte, unterschied sich die in den z-Wert umgewandelte Länge in der Gruppe der Feten mit Trisomie 18 ($p < 0,0001$) signifikant von 0, nicht jedoch bei denjenigen mit Trisomie 13 ($p = 0,206$), Triploidien ($p = 0,305$) oder dem Turner Syndrom ($p = 0,114$).⁶⁹

Diagramm 7 stellt die Verteilung der Ergebnisse der Messung der NBL in Abhängigkeit des GA dar.

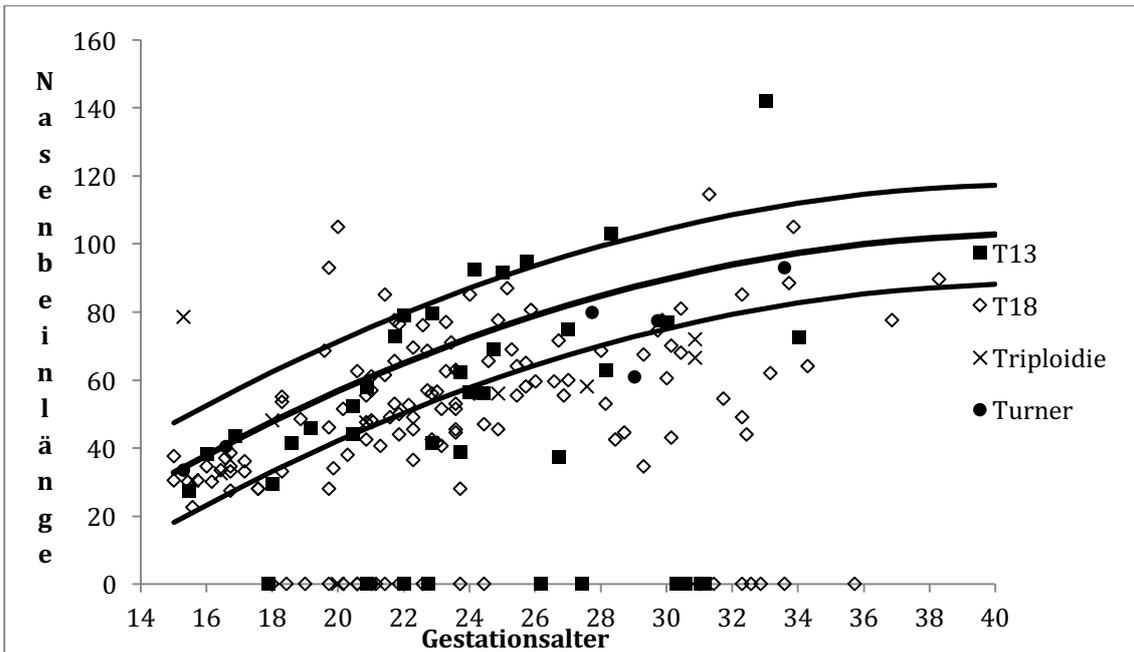


Diagramm 11: Darstellung der Nasenbeinlänge (in mm) in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW)⁶⁹

Tabelle 2: Messergebnisse der NBL

Karyotyp	Gesamt (n)	NB<5.Perz n (%)	NB normal N (%)	Mittelwert (mm)	SD (mm)
Trisomie 18	132	67 (51%)	65 (49%)	55,8	18,8
Trisomie 13	40	20 (50%)	20 (50%)	63,8	25,4
Monosomie x	7	2 (29%)	5 (71%)	64,3	15,6
Triploidie	10	5 (50%)	5 (50%)	54,4	21,5

3.3.2: Ergebnisse der PT Messungen

Die pränasalen Dicke lag in 24 (18,2%) der Fälle mit Trisomie 18, 6 (15,0%) der Fälle mit Trisomie 13 und je einem der Feten mit Triploidien und dem Turner Syndrom 1 (10,0% bzw. 14,3%) oberhalb der 95. Perzentile (Diagramm 8). Die z-Werte unterschieden sich nur bei den Feten mit dem Edwards Syndrom signifikant von 0 ($p < 0,001$), nicht jedoch bei den Fällen mit Patau-Syndrom ($p = 0,484$), den Triploidien ($p = 0,151$) und denjenigen Fällen mit Turner Syndrom ($p = 0,096$).⁶⁹

Diagramm 8 stellt die Verteilung der Ergebnisse der Messung der PT in Abhängigkeit des GA dar.

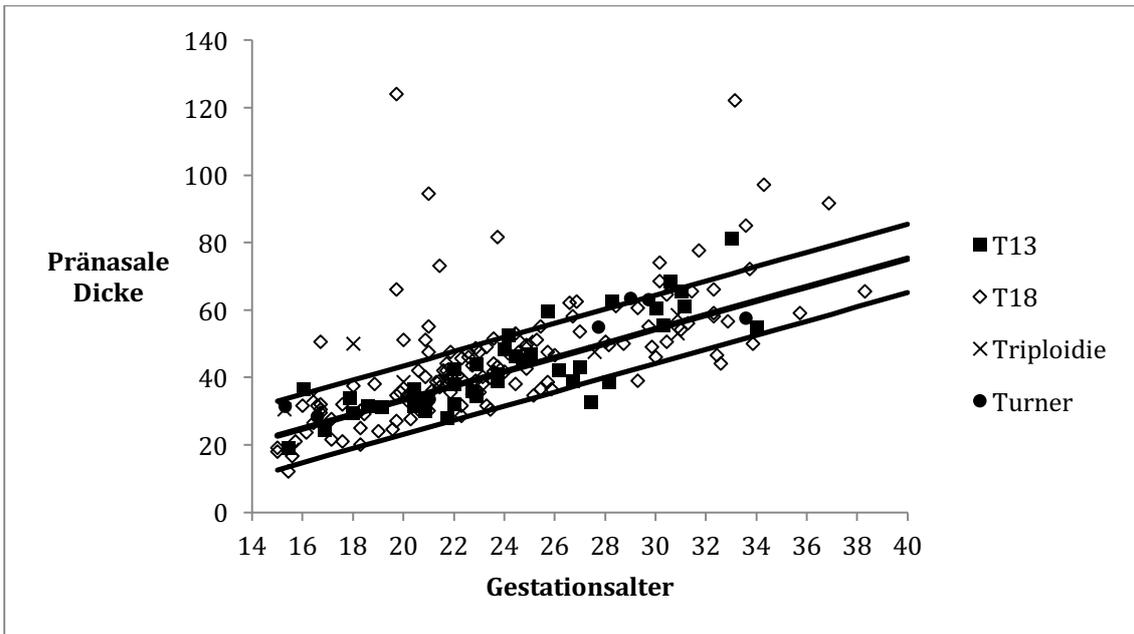


Diagramm 12: Darstellung der Pränasalen Dicke (in mm) in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW)⁶⁹

Tabelle 3: Messergebnisse der PT

Karyotyp	Gesamt (n)	PT erhöht n (%)	PT normal n (%)	Mittelwert	SD
Trisomie 18	132	24 (18%)	108 (82%)	45,6	18,5
Trisomie 13	40	6 (15%)	34 (85%)	42,3	13,8
Monosomie x	7	1 (14%)	6 (86%)	47,5	14,5
Triploidie	10	1 (10%)	9 (90%)	41,4	11,8

3.3.3: Ergebnisse der PT-NBL-Ratio Messungen

Da sich die PT-NBL-Ratio aus dem Quotienten von Pränasaler Dicke (Dividend) und Nasenbeinlänge (Divisor) zusammensetzt, nimmt dieser Marker stets dann auffällige Werte an, wenn entweder die PT abnorm hoch oder die NBL abnorm niedrig bzw. ein Nasenbein nicht angelegt ist. Wie bereits oben beschrieben, war die PT in 24 (18,2%) der Fälle mit Trisomie 18, 6 (15,0%) der Fälle mit Trisomie 13 und je einem (10,0% bzw. 14,3%) der Feten mit Triploidie und Turner Syndrom oberhalb der 95. Perzentile. Die NBL war in 67 Fällen mit Trisomie 18 (50,8%), 20 Fällen mit Trisomie 13 (50,0%), 5 Fällen mit Triploidie (50,0%) und 2 der Feten mit Turner Syndrom (28,6%) pathologisch. Somit war die PT-NBL-Ratio in 72 (54,6%) der Fälle des Edwards Syndroms, 20 (50,0%) der Fälle des Patau Syndroms, 6 (60,0%) der Fälle mit Triploidie und 4 (57,1%) der Feten mit Turner Syndrom oberhalb der 95. Perzentile oder nicht bestimmbar (im Falle der Nasenbeinaplasien müsste durch 0 geteilt werden) (Diagramm 10). Die z-Werte der Messungen, in denen ein Nasenbein festgestellt werden konnte, waren für alle untersuchten Chromosomenaberrationen signifikant höher als im Normalkollektiv (Trisomie 18 $p < 0,0001$, Trisomie 13 $p = 0,008$, Triploidien $p = 0,034$, Turner Syndrom $p = 0,035$).⁶⁹

Diagramm 9 stellt die Verteilung der Ergebnisse der Messung der PT-NBL-Ratio in Abhängigkeit des GA dar.

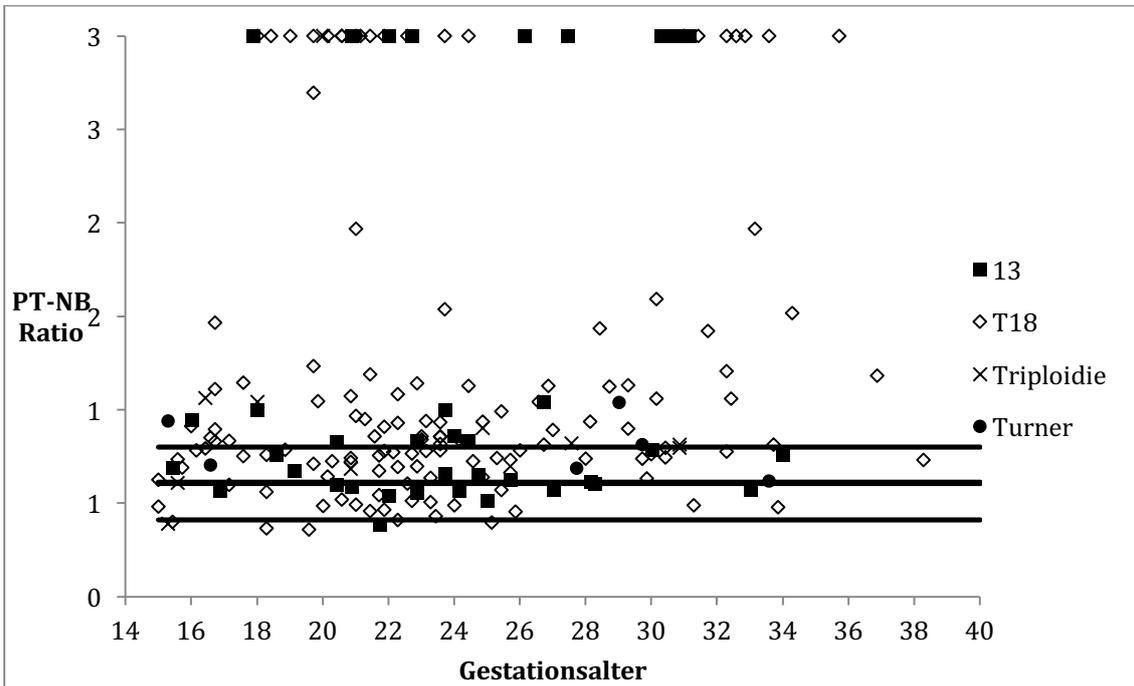


Diagramm 13: Darstellung der PT-NBL-Ratio in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW)⁶⁹

Tabelle 4: Messergebnisse der PT-NBL Ratio

Karyotyp	Gesamt n	PT- NBL>95.P	PT-NBL normal	Mittelwert	SD
Trisomie 18	132	72 (55%)	60 (45%)	0,85	0,35
Trisomie 13	40	20 (50%)	20 (50%)	0,7	0,16
Monosomie x	7	4 (57%)	3 (43%)	0,8	0,15
Triploidie	10	6 (60%)	4 (40%)	0,79	0,2

3.3.4: Ergebnisse der PFSR Messungen

Die PFSR gilt als auffällig, wenn entweder Werte unter der 5. Perzentile, oder oberhalb der 95. Perzentile gemessen werden. In unseren Messungen waren 40 (30,3%) Feten mit Trisomie 18, 15 (37,5%) mit Trisomie 13, 6 (60,0%) mit Triploidien und 3 (42,9%) der Feten mit Turner Syndrom unterhalb der 5. Perzentile, wohingegen 32 (24,2%) der Feten mit Trisomie 18, 14 (35,0%) mit Trisomie 13 und je einer (10,0% bzw. 14,3%) mit Triploidie und Turner Syndrom oberhalb der 95. Perzentile lag.

Somit fand sich eine auffällige PFSR bei 72 (54,5%) Feten mit Edwards Syndrom, 29 (72,5%) mit Patau Syndrom, 7 (70%) mit Triploidie und 4 (57,2%) der am Turner Syndrom Erkrankten (Diagramm 9).

In keiner der Gruppen unterschieden sich die z-Werte signifikant von 0 (Trisomie 18 $p=0,753$, Trisomie 13 $p=0,938$; Triploidien $p=0,103$; Turner $p=0,331$).⁶⁹

Diagramm 10 stellt die Verteilung der Ergebnisse der Messung der PFSR in Abhängigkeit des GA dar.

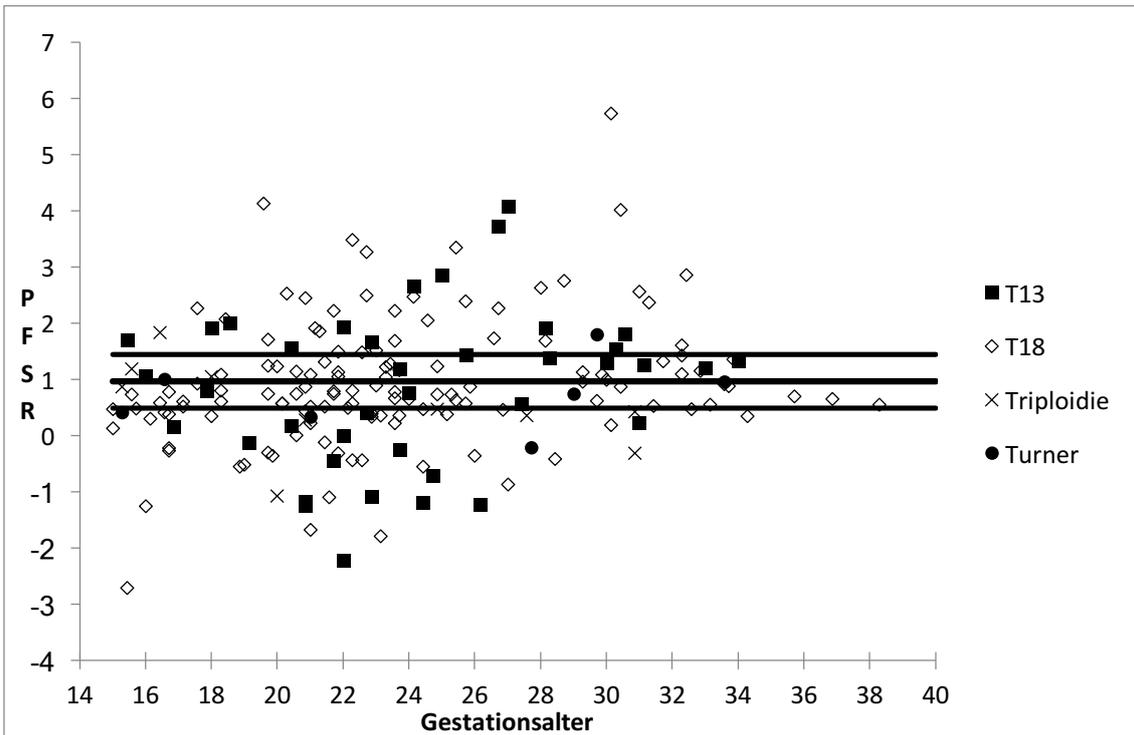


Diagramm 10: Darstellung der Prefrontal Space Ratio in Abhängigkeit des Gestationsalters (in SSW)⁶⁹

Tabelle 5: Messergebnisse der PFSR

Karyotyp	Gesamt n	PFSR<5.Perz n (%)	PFSR>95.Perz n (%)	PFSR normal n (%)	MW	SD
Trisomie 18	132	40 (30%)	32 (24%)	60 (45%)	0,94	1,15
Trisomie 13	40	15 (36%)	14 (35%)	11 (28%)	0,95	1,52
Monosomie X	7	3 (43%)	1 (14%)	3 (43%)	0,72	0,59
Triploidie	10	6 (60%)	1 (10%)	3 (30%)	0,51	0,77

4. Diskussion

4.1: Zusammenfassung der Ergebnisse

In dem für diese Arbeit untersuchten Kollektiv von 189 Feten waren im Bezug auf die Nasenbeinlänge knapp 50% der Feten auffällig, mit Ausnahme der Feten mit Turner Syndrom. Von diesen wies nur ein Drittel auffällige Werte auf. Die pränasale Dicke war der schwächste Marker, mit einer durchschnittlichen Sensitivität von knapp über 15%.

Sowohl die PT-NBL-Ratio als auch die PFSR wiesen eine jeweils gute Sensitivität auf mit durchschnittlichen Erkennungsraten von über 60%.

4.2: Vergleich der kumulativen Sensitivität der untersuchten Marker mit etablierten Screeningmethoden

4.2.1: Vergleich der Marker mit dem kombinierten Ersttrimesterscreening

Kombiniert man die 4 untersuchten pränatalen Marker, wird eine kumulative Erkennungsrate für die untersuchten Chromosomenstörungen Trisomie 18, Trisomie 13, Triploidie und Monosomie X von 85% erreicht. Es stellt sich die Frage, wie die Performance dieser kombinierten vier Marker im Vergleich zu klassischen pränatalen Screeningkonzepten ist.

Grundlage des kombinierten Ersttrimesterscreenings bildet die sonographisch ermittelte Nackentransparenz, die in einem spezifischen Algorithmus mit 2 serologischen Markern und dem Altersrisiko der Mutter verrechnet wird: Die Nackentransparenz ist bei Feten mit trisomen und monosomen Chromosomenaberrationen sowie der diandrischen Triploidie erhöht, bei der digynen Triploidie jedoch im Referenzbereich euploider Feten.^{6,25,28,29} Die beiden zusätzlichen serologischen Marker sind das freie beta-hCG, das vom plazentaren Synzytiotrophoblasten stammt und das PAPP-A, das einer Metalloprotease ähnelt, also ein Enzym darstellt. Das PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A) ist, ebenso wie das freie beta-hCG in euploiden und aneuploiden Schwangerschaften unabhängig von der Nackentransparenz.

Eine Kombination beider biochemischer Marker mit dem sonographischen Marker ist also ohne gegenseitige Einflussnahme möglich.^{23,24} Eine hohe NT und ein erhöhtes beta-hCG bzw. erniedrigtes PAPP-A, erhöhen das Risiko für eine Trisomie 21. Bei Feten mit Trisomie 18, 13 und einer digyner Triploidie sind die biochemischen Parameter reduziert, bei einer diandrischen Triploidie ist das beta-hCG stark erhöht.^{6,25,26} Das freie beta-hCG ist demnach erhöht bei Schwangerschaften mit Feten, die an Trisomie 21 oder der diandrischen Triploidie erkrankt sind, erniedrigt bei solchen mit Trisomie 18, Trisomie 13 und digyner Triploidien und im Normbereich bei Monosomie X.^{6,25,28,29,48} PAPP-A hingegen ist erniedrigt bei Schwangerschaften mit Trisomie 21, 18, 13 und bei Triploidien sowohl diandrischer, als auch digyner Art.^{6,25,26}

In der ursprünglichen Form des Ersttrimesterscreenings wurden Detektionsraten von 70% bzw. 89% bei einer FPR von 1% bzw. 5% für Trisomie 21²⁵, 89% bei einer FPR von 1% für Trisomie 18²⁸, 84% bzw. 90% bei einer FPR von 0,1% bzw. 0,5% für Trisomie 13²⁹ und Detektionsraten von ca. 88% für Triploidien⁶ angegeben.

Nach einer Revision des Algorithmus durch Kagan et al. 2008 erhöhte sich die Sensitivität des ETS aus MA, NT, beta-hCG und PAPP-A durch die Einbeziehung zusätzlicher Parameter (u.a. Gewicht der Schwangeren und Konzeptionsform) teils deutlich: Mit Hilfe der neuen Algorithmen erhöhte sich die Sensitivität für Trisomie 21 auf 90% bei einer FPR von 3%³⁰, für Trisomie 18 auf 93% bei einer FPR von 0,3%^{30,32} und für Trisomie 13 auf 87% bei einer FPR von 0,2%.³⁰

Vergleicht man die Sensitivität dieser kombinierten Screening-Untersuchungen mit den kumulativen Detektionsraten der in dieser Arbeit untersuchten Marker, so ergibt sich folgendes Bild: Von den 189 für diese Arbeit untersuchten Feten waren nur 29 in keinem der 4 Marker auffällig. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass 170 Feten mindestens einen pathologischen Marker hatten. Also hatten 85% der Feten durch die Kombination der Marker NBL, PD, PFSR und PTNB Ratio einen Hinweis auf eine Chromosomenstörung. Von den Feten mit Trisomie 18 waren 107 (80%) in mindestens einem Marker auffällig,

bei Trisomie 13 39 (97%), bei den Triploidien 8 (80%) und bei Monosomie X 6 (70%).

Auf Grund der hohen Fallzahlen bei Trisomie 18 und Trisomie 13 kann davon ausgegangen werden, dass diese Erkennungsraten repräsentativ sind. Gerade die gute Detektionsrate des noch jungen Markers PFSR, aber auch die Sensitivität der PT-NBL-Ratio sind hervorzuheben: Beide sind in gut zwei Dritteln der jeweiligen Chromosomenstörung auffällig und tragen somit in großem Maße zu der kumulativen Sensitivität der untersuchten Marker bei.

Mit einer Sensitivität von 85% für die untersuchten Chromosomenstörungen liefert die Kombination der in dieser Arbeit untersuchten Marker im Vergleich mit dem etablierten kombinierten ETS aus MA, NT, beta-hCG und PAPP-A gut belastbare Ergebnisse.

Ein zentraler Wert, an dem sich jeder Marker messen lassen muss, ist die sogenannte „likelihood ratio“ (LR), also um wie viel Mal häufiger entweder ein positives Testresultat bei Personen mit Erkrankung im Vergleich zu Personen ohne Erkrankung vorkommt (PLR), oder eben ein negatives Testergebnis bei Personen ohne Erkrankung im Vergleich zu Personen mit Erkrankung (NLR) erreicht wird. Im Allgemeinen versteht man unter einer „guten“ PLR einen Wert >10 , unter einer „guten“ NLR einen Wert $<0,1$. Die NT, mit einer LR von 62 bei Trisomie 21, stellt den der deutlichsten Softmarker für Chromosomenstörungen dar⁷³. Im Vergleich haben die in dieser Arbeit benutzten Marker LRs von 14 (hypoplastisches NB)⁴⁷, 21 (erhöhte PT-NBL-Ratio)⁶⁴ und 16 (erniedrigte PFSR)⁶⁸.

Eine weitere Limitierung des in hier untersuchten Tests ist der strikte Fokus auf sonographische Bildgebung, im Gegensatz zu der zusätzlichen serologischen Komponente des combined Screenings:

Tul *et al.* publizierten 1999 eine Studie, nach der beim ETS auf Trisomie 18 das allein mit der PAPP-A Konzentration im mütterlichen Blut verrechnete MA eine DR von 70% erreicht.²⁸ Das gleiche Ergebnis liefert die Kombination aus Nackentransparenz und MA. Die alleinige Kombination von freiem beta-hCG und MA erreicht immerhin eine Sensitivität von 58% und liegt damit im Bereich der einzelnen Ergebnisse dieser Arbeit für die PFSR und die PT-NBL-Ratio,

sowie 8% über den Ergebnissen der NBL. Die Hinzunahme der freien beta-hCG Konzentration im maternalen Blut erreicht nur marginal bessere Ergebnisse bei der Kombination von NT und MA (73%), erst bei der weiteren Verrechnung mit dem PAPP-A Wert wird die allgemein erwartete DR des combined ETS von 89% bei einer FPR von 5% erreicht.²⁸ Diese liegt knapp über dem Ergebnis der Kombination der DRs dieser Arbeit für die Marker NBL, PT, PT-NBL-Ratio und PFSR. Ein Vorteil der dieser Arbeit zu Grunde liegenden Studie ist jedoch die deutlich höhere Fallzahl (132 im Vergleich zu 50 bei Tul *et al.*).

Die Ergebnisse des ETS für die Detektion des Patau Syndroms stellen sich anders dar: Nach einer Publikation von Spencer *et al.* im Jahr 2000 ergibt die Kombination von MA und freier beta-hCG Konzentration eine DR von 32% bei einer sehr niedrigen FPR von 0,1%.²⁹ Deutlich besser schneidet die Verrechnung von MA und PAPP-A ab (52%), die sensitivste Methode der Kombination eines zusätzlichen Markers mit dem maternalen Alter stellt jedoch die Nackentransparenz dar mit einer DR von 68% bei einer FPR von 0,1%. Die alleinige Hinzunahme der freien beta-hCG Konzentration zu dieser Kombination erreicht wiederum nur geringfügig bessere Ergebnisse (70% DR). Erst die Kombination von MA, NT, beta-hCG und PAPP-A ergab eine Sensitivität von 84%, bei einer FPR von 0,1%.²⁹ Vergleicht man diese Ergebnisse mit der Sensitivität der in dieser Arbeit untersuchten Markern NBL, PFSR und PTNB Ratio, so wird deutlich, dass die isolierte NBL und die PTNB Ratio eine ebenso hohe Sensitivität erreicht wie die Kombination aus MA und PAPP-A im ETS und deutlich höher liegt als die Kombination aus MA und freiem beta-HCG. Das beste Ergebnis liefert jedoch die PFSR: Von den in dieser Arbeit untersuchten 40 Feten mit Trisomie 13 waren 29 (72%) in diesem Marker auffällig. In Kombination ergeben die Marker NBL, PT, PT-NBL-Ratio und PFSR mit 97% eine deutlich höhere Sensitivität als das ETS (84% bei einer FPR von 0,1% bzw. 90% bei einer FPR von 0,5%).

Die hohe DR der PFSR liegt mutmaßlich an der Besonderheit der Zusammensetzung des Markers: Liegt eine erhöhte PT vor, so nimmt der Marker einen gegenüber eines Normkollektives deutlich geringeren Wert an. Dies erklärt unter anderem die hohe DR der PFSR für Trisomie 21 (79%)⁶⁸, da

bei dieser Erkrankung ein pränasales Ödem relativ gehäuft vorkommt, was sich auch in der guten DR der PD bei Trisomie 21 (73%)⁶³ widerspiegelt. Bei Trisomie 13 tritt zudem häufiger einer Retrognathie auf.^{2,3,39} Das führt im Bezug auf die PFSR zu deutlich höheren Werten, da die umschriebene Mandibulomaxillarlinie (gezogen vom vordersten Punkt der Mandibula hin zum vordersten Punkt der Maxilla) quasi von der Stirn „wegkippt“. Hierdurch nahm die PFSR in dieser Arbeit bei 37% der Feten mit Trisomie 13 Werte unter der 95. Perzentile an, zusätzlich lagen 35% der Feten mit dem Patau Syndrom über der 95. Perzentile, was insgesamt zu einer DR von 72% führte.

Im Vergleich zum klassischen ETS schneidet von allen untersuchten Markern die PFSR mit Ergebnissen von teils über 70% am besten ab. Doch auch die PT-NBL-Ratio und die NBL liefern als isolierte Marker, vor allem aber in Kombination erfreuliche Sensitivitätswerte, die mit einer kumulativen DR von 85% auch im Vergleich zu dem herkömmlichen ETS Bestand haben.

4.2.2.: Vergleich der Marker mit dem „serum integrated screening“

Neben dem klassischen ETS Screening wurden in den vergangenen Jahren eine Reihe weiterer Screeningmethoden eingeführt, die sich in den Parametern ihrer Algorithmen unterscheiden:

Die Screeningmethode der höchsten Sensitivität für Trisomie 21 stellt laut FASTER Studie das Integrierte Screening mit einer DR von 96% bei einer FPR von 5% dar.³³ In diesem werden, neben den aus dem ETS bekannten Markern NT, freies beta-hCG und PAPP-A 3 weitere serologische Marker hinzugezogen: Das Alfa Fetoprotein (AFP), Estriol und Inhibin A. Eine Besonderheit des Integrierten Screenings stellt der zeitliche Ablauf des Testverfahrens dar: Es wurde festgestellt, dass den Markern zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft eine unterschiedliche Aussagekraft zukommt. Im ersten Trimester (ca. 10. SSW) wird das PAPP-A gemessen, da dieser Marker zu diesem Zeitpunkt eine höhere Sensitivität hat.^{31,74} Es folgt daraufhin im späten ersten Trimenon (12-13. SSW) ein weiterer Termin der Schwangeren zur Messung der NT und der Erfassung der restlichen Blutwerte. Die letzteren

werden optimalerweise sogar noch später im Rahmen einer dritten Untersuchung erhoben.

Das „serum integrated screening“ hingegen setzt den Fokus auf rein serologische Untersuchungen: Ohne die Messung der NT werden für Trisomie 18 alleinig durch die Messung von PAPP-A (10. SSW), beta-hCG, AFP und Inhibin A (14. SSW) Detektionsraten von 90% bei einer sehr geringen FPR von 0,1%.⁷⁵ Vergleicht man die Sensitivität des serum integrated Screenings für Trisomie 18 mit den der dieser Arbeit zu Grunde liegenden Messungen, so wird deutlich, dass auch durch die reine Verwendung sonographischer Marker mit Erkennungsraten von 88% (von 132 Feten mit Trisomie 18 waren nur 25 unauffällig) gute Ergebnisse erzielt werden, wenn auch die FPR höher liegt.

4.2.3: Die untersuchten Marker als Teil des „genetic sonogram“

Im Gegensatz zum „serum integrated screening“, das nur serologische Marker enthält, verwendet das Marker-Screening ausschließlich sonographische „soft marker“: Diese können, müssen aber nicht auf Trisomien hinweisen. Zwar treten sie gehäuft bei Feten mit Trisomien auf, oftmals findet man sie jedoch auch bei gesunden Kindern. Neben der INFT stellen vor allem ein verkürzter Humerus oder Femur, ein hyperechogener Darm, ein echogener intrakardialer Focus (EIF: Heller Fleck im US des Herzens, u.a. durch Kalk) und Pyelektasien Auffälligkeiten dar, die das statistische Risiko einer Aneuploidie erhöhen können.^{48,73}

Auf diesen „Softmarker“ beruht das „genetic sonogram“, eine rein bildgebende Diagnostik, die zwar bei Vorliegen einzelner Marker kein erhöhtes Risiko für Aneuploidien bedeuten muss, im Falle eines Clusters an Markern jedoch in einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für chromosomale Defekte des Feten resultiert.⁷³ So untersuchten Bromley *et al.* 2002 in einer prospektiven Studie die Möglichkeit der Risikostratifizierung Schwangerer im zweiten Trimenon an Hand der oben beschriebenen soft Marker für Trisomie 21.⁷³ Es wurden in der besagten Studie 164 Feten mit T21 mit einer Kontrollgruppe 656 euploider Feten verglichen. Die Anwesenheit auch nur eines isolierten Markers resultierte in einer Sensitivität von 80,5% für die Detektion von Trisomie 21 bei einer FPR

von 12,4%, sowie einer LR von 6,5. Im Umkehrschluss bedeutete die Abwesenheit jeglicher sonografischer Marker eine negative LR von 0,2, was das grundsätzliche Risiko des Feten für das T21 um 80% sinken lässt. Die Marker mit der höchsten Sensitivität waren die INFT (42% Sensitivität, LR 62), verkürzte Extremitäten (Humerus 48% Sensitivität, Femur 53%) und der EIF (34% Sensitivität). Die höchste FPR wurde jedoch ebenfalls für verkürzte Oberschenkelknochen und den EIF festgestellt, wodurch deren LR deutlich sank (LR 10 bzw 8). Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit den Publikationen von Nyberg *et al.* und Smith-Bindman *et al.* des Jahres 2001 und 2007 überein.^{48,76,77} Bromley *et al.* bedienen sich des Bayes' Theorems, um das Ausgangsrisiko („a priori“ Risiko) einer genetischen Störung der Feten, berechnet aus mütterlichem Alter oder serologischem Screening, durch Multiplikation mit der LR sonografischer Marker in ein „posteriores“ Risiko umzuwandeln. Gerade Marker mit einer hohen Sensitivität, die jedoch zugleich eine hohe FPR und damit eine niedrigere LR besitzen, sind in der Praxis schwierig zu deuten, da diese sowohl bei gesunden als auch bei kranken Feten gehäuft in Erscheinung treten: Es wird durch diese Marker weder ein hohes a priori Risiko gesenkt, noch ein geringes Risiko maßgeblich erhöht. Umso wichtiger sind Marker wie die Nackenfalte und der verkürzte Humerus, die nur in seltenen Fällen bei gesunden Feten auftreten und somit eine hohe LR gewährleisten. Mütter erhalten durch die Anwesenheit oder das Fehlen dieser Marker eine wichtige Entscheidungshilfe, ob sie das Risiko einer Amniocentese oder Chorionzottenbiopsie eingehen wollen. Die in dieser Arbeit verwendeten Softmarker haben, wie beschrieben positive LR von 14 (hypoplastisches NB)⁴⁷, 21 (erhöhte PT-NBL-Ratio)⁶⁴ und 16 (erniedrigte PFSR)⁶⁸, sind also zwar deutlich schwächer als beispielsweise eine pathologische Nackenfalte, liegen aber dennoch weit über den ebenfalls als prägnant einzuschätzenden LRs verkürzter Extremitäten. Diese hohen positiven likelihood ratios spiegeln sich in den hohen Sensitivitäten gerade dieser 3 Marker wieder: Die PFSR und die PT-NBL-Ratio haben in den dieser Arbeit zu Grunde liegenden Messungen je ca. zwei Drittel der Aneuploidien erkannt, die NBL ungefähr die Hälfte (mit

Ausnahme der Fälle von Monosomie X, dort ist jedoch die geringe Fallzahl zu beachten).

4.3: Risikoeinschätzung invasiver Testverfahren

Der Goldstandard zur Diagnosesicherung von Chromosomenaberrationen bei Feten sind die invasiven Verfahren der Amniocentese (AC) und Chorionzottenbiopsie (CVS).⁴³ Bei der AC wird ab der 16. SSW eine Nadel unter Ultraschallkontrolle durch die Bauchdecke der Mutter und die Plazentawand in die Fruchtblase eingeführt, um Fruchtwasser zu aspirieren. Im Fruchtwasser sind fetale Zellen enthalten, die kultiviert und auf das Geschlecht des Kindes, Rhesusinkompatibilität und Chromosomenstörungen hin untersucht werden können. Bei der CVS wird, meist zwischen der 11. und 14. SSW und ebenfalls unter sonographischer Lagekontrolle, eine Biopsie (Gewebeentnahme) der Plazenta durchgeführt. Diese Gewebeprobe kann entweder transabdominell (durch die Bauchdecke), oder transvaginal entnommen werden. Da der Plazenta und das heranwachsende Kind von derselben Ursprungszelle abstammen, sind sie, von wenigen Ausnahmen abgesehen, genetisch identisch: Es können somit die gleichen Zelluntersuchungen durchgeführt werden wie bei der AC.

Sowohl AC, als auch CVS bergen das Risiko einer Fehlgeburt. Da die offiziellen Häufigkeitsangaben hierfür jedoch stark schwanken, untersuchten Akolekar *et al.* 2015 in einer groß angelegten Metaanalyse insgesamt 14 Studien zur AC und 7 Studien zur CB.¹⁶ Von 42716 Frauen, die sich einer AC unterzogen, kam es bei 324 zu einem Verlust der Schwangerschaft. Bei der CVS waren es 207 Fehlgeburten auf 8899 durchgeführte Eingriffe. Die Autoren errechneten als Risiko für eine Fehlgeburt vor der 24. SSW bei AC und CB einen Wert von 0,81% (95% CI, 0,58%-1,08%) bzw. 2,18% (95% CI, 1,61%-2,82%). Die Kontrollgruppen der AC bzw. CVS Gruppen, also die Schwangerschaften ohne invasive Diagnostik, kamen auf Werte von 0,67% (95% CI, 0,46-0,91%) bzw. 1,79% (95% CI, 0,61-3,58%). Die gepoolten und gewichteten Risiken hinsichtlich einer Fehlgeburt vor der 24. SSW in Folge der Verfahren AC und

CB im Vergleich zu Schwangeren, die keine invasive Diagnostik in Anspruch nahmen, lagen demnach bei 0,11% (95% CI, -0,04-0,26%) und 0,22% (95% CI, -0,71-1,16%).¹⁶ Diese Werte unterschreiten signifikant die Zahlen, die beispielsweise vom UK National Health Service Fetal Anomaly Screening Programme, oder dem Royal College of Obstetrics and Gynaecologists (RCOG) angegeben werden (AC 1%, CB 1-2%). Es steht also zur Diskussion, ob, gerade in hochspezialisierten Zentren, in denen die Verfahren ganzjährig in hoher Frequenz erfolgen, die Risiken einer invasiven pränatalen Diagnostik nicht weit niedriger liegen als bisher vermutet.

Dennoch ist es wünschenswert, durch möglichst sensitive nichtinvasive pränatale Screeningverfahren der Schwangeren eine genaue Risikoevaluation anzubieten, um die Entscheidung für oder gegen potentiell schädliche invasive Maßnahmen zu erleichtern. Neben der Weiterentwicklung serologischer pränataler Screeningverfahren ist somit die Suche nach zusätzlichen sensitiven pränataldiagnostischen Markern weiterhin lohnend.

4.4: Einbindung der untersuchten Marker in bestehende Screeningmethoden

4.4.1: Amplifizierung der Sensitivität etablierter Screeningmethoden

Zur Diagnosesicherung einer Chromosomenstörung gelten CVS oder AC mit Sensitivitäten von nahezu 100% als Goldstandard. Da diese jedoch mit einem Fehlgeburtsrisiko für den Feten verbunden sind¹⁶, ist es Aufgabe der pränatalen Ultraschalluntersuchungen, unnötige Eingriffe durch eine Risikostratifizierung zu vermeiden. Viele neue Studien fokussieren sich, angefeuert durch die noch jungen Erfolge der NIPT, daher eher auf das Ersttrimesterscreening und die cfDNA, als auf die Risikostratifizierung im zweiten Trimester. Die meisten Schwangeren weltweit haben jedoch noch keinen Zugang zu diesen Technologien. Für diese Frauen ist die Ultraschalluntersuchung von nicht zu unterschätzender Bedeutung.⁶⁹

Die meisten Feten mit anderen Chromosomenaberrationen als Trisomie 21 weisen im zweiten und dritten Trimenon mindestens eine Anomalie auf, die

pränatal erkannt werden kann.¹⁷ Diese Defekte erfuhren jedoch seit ihrer Erstbeschreibung in den späten 1980er und 1990er Jahren nur wenige jüngere Ergänzungen.¹⁵ Dies verwundert, da sowohl die genauere Betrachtung bereits etablierter Marker auf Verbesserungsmöglichkeiten als auch die Suche nach neuen Markern auch heute noch lohnenswert ist: So zeigten Kagan et al 2008 für das FTS, dass durch das Ergänzen des klassischen Algorithmus (bestehend aus MA, NT, PAPP-A und beta-HCG) durch die fetale Herzrate und eine genauere Spezifizierung der Umstände der Schwangerschaft (u.a. Art der Konzeption, etwaiger Nikotinabusus während der Gravidität und Ethnie der werdenden Mutter) die Detektionsraten von Trisomie 21, Trisomie 18 und Trisomie 13 deutlich stiegen. Ebenso verhält es sich mit der Nasenbeinlänge und der pränasalen Dicke in der hier vorliegenden Studie: Waren in Bezug auf das Nasenbein noch 50% der Feten mit Trisomie 18, Trisomie 13 und Triploidien und 28% der Feten mit dem Monosomie X auffällig, konnten die Detektionsrate von Trisomie 18, den Triploidien und vor allem der Feten mit Monosomie X unter Einbezug der PT auf fast 60% und somit klar gesteigert werden. Am deutlichsten wird die Amplifizierung der Markersensitivität anhand der Ergebnisse der PFSR: Als integraler Teil des Algorithmus, der die PFSR ergibt, steht als Divident die PT, die durch den Divisor d2 dividiert wird. Mit Detektionsraten von über 70% bei Trisomie 13 und Triploidien und deutlich über 50% bei den Monosomien und Trisomie 18 stellte die prefrontal space ratio den Marker der höchsten Sensitivität dar. Aus dem eigentlich wenig sensitiven Marker PT (DR für alle untersuchten Chromosomenstörungen deutlich unter 20%) wird unter dem Einbezug neuer Parameter somit eine nützliche Ergänzung des Portfolios an soft Markern.

4.4.2: Die untersuchten Marker als Ergänzung des genetic sonogram

Die Aufgabe des FTS ist die Erkennung chromosomaler Störungen in Risikoschwangerschaften, sollte die werdende Mutter dies wünschen. Durch die Kombination sonografischer und serologischer Marker werden hierbei, wie beschrieben gute Detektionsraten erzielt.

Im zweiten Trimester bestehen bei den meisten Feten mit Chromosomenaberrationen deutliche körperliche Fehlbildungen wie Herzfehler oder Spaltbildungen¹⁷. Diese können im Zuge des Fehlbildungsscreenings im zweiten Trimenon auf Wunsch der Schwangeren durch eine systematische Untersuchung der Morphologie des Feten durch einen qualifizierten Untersucher überprüft werden. Die verschiedenen Chromosomenaberrationen weisen unterschiedlich häufig Fehlbildungen auf: Bei Trisomie 21 weisen ca. ein Drittel der Feten Fehlbildungen u.a. im kardiovaskulären System, zentralen Nervensystem (ZNS) oder Gastrointestinaltrakt (GIT) auf.^{78,79} Die prozentualen Angaben für das Auftreten majorer Fehlbildungen bei Trisomie 18 variieren, je nach SSW von 53% bis zur 18. SSW und 67% von der 18. SSW bis zur 24. SSW.⁸⁰ Trisomie 13 und die Triploidien haben von allen in dieser Arbeit beschriebenen Chromosomenaberrationen die meisten und häufigsten Fehlbildungen, mit Häufigkeitsangaben von über 90%.^{10,57,81} Feten mit der Monosomie X hingegen weisen in rund 60% der Fälle einen Hydrops auf.⁸² Abgesehen von den in diesen Zahlen enthaltenen schwerwiegenden Fehlbildungen weisen die Chromosomenaberrationen jedoch auch Normabweichungen auf, die ebenfalls bei gesunden Kindern auftreten können. Diese „Softmarker“ sind einzeln nicht als signifikant risikosteigernd zu werten, können jedoch, treten sie in Verbindung auf, einen wichtigen Beitrag zur Risikostratifizierung leisten, gerade wenn in Risikoschwangerschaften die häufigen für die jeweiligen Chromosomenstörungen typischen Fehlbildungen ausbleiben. In genau dieser Weise verhält es sich mit den in dieser Arbeit untersuchten Markern NBL, PT, PT-NBL-Ratio und PFSR:

Kombiniert man die hier untersuchten vier Marker, wurden 85% aller kranken Feten erkannt, was bedeutet, dass von 189 Feten mit Chromosomenaberrationen nur 29 durch das Screeningraster gefallen wären. Diese gute Detektionsrate, die fast an diejenige des ETS herankommt, wird hierbei durch 4 Marker erreicht, die einzeln wesentlich weniger sensitiv sind und deren LR deutlich unter derer der „typischen“ Auffälligkeiten wie der erhöhten Nackenfalte (LR 62) liegen.

Durch die genauere Betrachtung und gegebenenfalls die Anpassung und Kombination bereits etablierter Marker ist es also oftmals möglich, deren Leistungsfähigkeit im Hinblick auf die Detektion von Fehlbildungen signifikant zu steigern. Die hier gezeigte Erhöhung der DR der NBL durch die PTNB Ratio und der PT sowohl durch die PFSR, als auch die PTNB Ratio zeigt, dass das Feld sonografischer Marker noch nicht brachliegt. Zumindest bis die Techniken der NIPT weltweit und für den Großteil der Schwangeren verfügbar bzw. erschwinglich sind, ist es lohnend, die sonografische Risikostratifizierung weiterzuentwickeln und zu verfeinern.

4.4.3: Einbindung der NIPT in die Risikostratifizierung

Trotz der hohen Sensitivität und geringen FPR bei Trisomie 21 eignen sich die NIPTs auf Grund der hohen Kosten noch nicht als reguläres Screeningverfahren in Deutschland. Kagan *et al.* stellten daher 2012 einen neuen Screeningalgorithmus vor, bei dem der klassischen Risikoerhebung des kombinierten Ersttrimesterscreenings (MA, GA, NT, bHCG, PAPP-A) bei unklarem Ergebnis die NIPT folgt: Zunächst sind die Schwangeren, je nach Screening Befund, in Gruppen hohen, mittleren und niedrigen Risikos einzuteilen. Die Foetal Medicine Foundation London empfiehlt hierfür Richtwerte von 1:50 (high risk) und 1:1000 (low risk). Dazwischen befindet sich die Gruppe des intermediären Risikos. In der Hochrisikogruppe finden sich 83% Feten mit Trisomie 21, in der Niedrigrisikogruppe 3% und in der intermediären Gruppe 14%. Im Gegensatz finden sich euploide Feten in 1,2% (Hochrisiko), 87% (Niedrigrisiko) und 11,8% (intermediäres Risiko) der Fälle. In den Gruppen hohen und niedrigen Risikos ist eine dem Ultraschall folgende NIPT nicht sinnvoll, da keine signifikante Änderung der Gefahr auf Chromosomenaberrationen zu erwarten ist. In der Gruppe mittleren Risikos jedoch, in der sich das Risiko für Trisomie 21 zwischen 1:51 und 1:999 befindet, kann die NIPT eine signifikante Verbesserung des Ergebnisses erbringen. Folgt man diesem Algorithmus, ist es möglich, die Screeningsensitivität für Trisomie 21 von 89% auf über 95% zu erhöhen, bei einer FPR von 1,2%, obwohl in nur 15% der Fälle die cffDNA überhaupt getestet wurde.⁴³

Das Ultraschallscreening dient hierbei also nicht nur der über lange Jahre bewährten und validierten Ersteinschätzung, sondern hilft auch, unnötige Kosten durch die überflüssige Verwendung der teuren NIPT zu verhindern. Des Weiteren darf nicht vergessen werden, dass man die cfDNA stets nur auf bestimmte Krankheiten, die in den Algorithmen des Labors vorgesehen sind, testen kann. Ultraschallspezialisten hingegen unterliegen keiner solchen Einschränkung und sind somit in der Lage, auch seltene Fehlbildungen abseits des Üblichen festzustellen.

Gerade im Hinblick darauf stellen die in dieser Arbeit untersuchten Parameter eine nützliche Ergänzung des Repertoires an soft Markern dar und eignen sich, vor allem in Kombination entweder miteinander oder in Verbindung mit seit längerem etablierten Markern, gut zur Risikostratifizierung chromosomaler Störungen in der Pränataldiagnostik.

5. Zusammenfassung

5.1: Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, die Sensitivität der vier ultraschalldiagnostischen Marker Nasenbeinlänge (NBL), pränasale Dicke (PT), die Ratio aus PT und NBL (PT-NBL-Ratio) und die prefrontal space ratio (PFSR) für die Detektion der Chromosomenstörungen Trisomie 18, Trisomie 13, Triploidien und Monosomie X zu untersuchen.

5.2: Methodik

Grundlage der Arbeit war eine retrospektive Studie bei der archivierte zweidimensionale Ultraschallaufnahmen verwendet wurden, die das fetale Profil in einem medial-sagittal-Schnitt zeigten. Die Messung der NBL und der PT erfolgte in üblicher Weise. Für die PFSR wurde eine Linie zwischen dem ventralen Rand der Mandibula und der Maxilla angelegt und diese nach kranial weitergezogen. Das Verhältnis zwischen der PT und dem Abstand zwischen der Haut des Feten und der Linie ergab die PFSR. Die Messergebnisse der untersuchten Marker wurden mit den Daten eines Kollektives gesunder Feten verglichen.

5.3: Ergebnisse

Es wurden die Daten von 189 Feten ausgewertet: 132 (69,8%) mit Trisomie 18, 40 (21,2%) mit Trisomie 13, 10 (5,3%) mit Triploidien und sieben (3,7%) mit dem Monosomie X. Das Nasenbein war entweder nicht angelegt oder unterhalb der 5. Perzentile in 67 (50,8%) Fällen mit Trisomie 18, bei Trisomie 13, Triploidien und Monosomie X traf dies für 20 (50%), fünf (50%) und zwei (28,6%) Fälle zu. Die Ergebnisse der PT Messungen waren über der 95. Perzentile in 24 (18,2%), sechs (15%) und je einem (10% bzw. 14,3%) Fall der beschriebenen Chromosomenaberrationen. Die PFSR war auffällig bei 72 (54,5%), 29 (72,5%), sieben (70%) und vier (57,1%) Feten. Die PT-NBL-Ratio war pathologisch in 72 (54,5%), 20 (50%), sechs (60%) und vier (57,1%) der betroffenen Feten.

5.4: Schlussfolgerung

Die PFSR zeigte eine gute Sensitivität für die untersuchten Chromosomenstörungen, ebenso wie die PT-NBL-Ratio und die NBL. Allein die PT als einzelner Marker wies eine niedrige Detektionsrate auf, erhöhte jedoch ebenfalls in Kombination mit den übrigen Markern gebracht, die kumulative Sensitivität.

6. 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 . Vol 1985.; 2015.*
2. Strachan T, Read A. *Molekulare Humangenetik*. 3rd ed. München: Elsevier; 2005.
3. Buselmeier W, Tariverdian G. *Humangenetik*. 4th ed. Heidelberg: Springer; 2007.
4. Schaaf C, Zschoke J. *Basiswissen Humangenetik*. 2nd ed. Heidelberg: Springer; 2013.
5. Jacobs PA, Angell RR, Buchanan IM, Hassold TJ, Matsuyama AM, Manuel B. The origin of human triploids. *Ann Hum Genet*. 1978;42(1):49-57. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/686684>.
6. Spencer K, Liao A, Skentou H, Cicero S, Nicolaides K. Screening for triploidy by fetal nuchal translucency and maternal free beta-hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn*. 2000;20(5):495-499.
7. Snijders RJ, Sebire NJ, Nicolaides KH. Maternal age and gestational age-specific risk for chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther*. 1995;10(6):356-367. doi:10.1159/000264259.
8. Kagan KO, Anderson JM, Anwandter G, Neksasova K, Nicolaides KH. Screening for triploidy by the risk algorithms for trisomies 21, 18 and 13 at 11 weeks to 13 weeks and 6 days of gestation. *Prenat Diagn*. 2008;28(13):1209-1213. doi:10.1002/pd.
9. McFadden DE, Kwong LC, Yam IY, Langlois S. Parental origin of triploidy in human fetuses: evidence for genomic imprinting. *Hum Genet*. 1993;92(5):465-469. doi:10.1007/BF00216452.
10. Jauniaux E, Brown R, Snijders RJ, Noble P, Nicolaides KH. Early prenatal diagnosis of triploidy. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;176(3):550-554. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9077605>.
11. Dietzsch E, Ramsay M, Christianson A. Maternal origin of extra haploid set of chromosomes in third trimester triploid fetuses. *Am J Med Genet*. 1995;58:360-364.
12. Papp C, Beke A, Mezei G, Szigeti Z, Papp Z. Prenatal Diagnosis of Turner Syndrome: A Report 69 Cases. 2006:711-717.
13. Cockwell A, Mackenzie M, Youngs S, Jacobs P. A cytogenetic and molecular study of a series of 45,X fetuses and their parents. 1991:151-155.
14. Hook EB. Spontaneous deaths of fetuses with chromosomal abnormalities diagnosed prenatally. *N Engl J Med*. 1978;299(19):1036-1038. doi:10.1097/00006254-197906000-00008.
15. Eiben B, Glaubitz R, Kagan KO. Nichtinvasive Pränataldiagnostik. *Medizinische Genet*. 2014;26(4):382-390. doi:10.1007/s11825-014-0021-3.
16. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, Antonio FD. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus

- sampling : a systematic review and meta-analysis. 2015;(July 2014):16-26. doi:10.1002/uog.14636.
17. Rath W, Gembruch U, Schmidt S. *Geburtshilfe Und Perinatalmedizin*. 2nd ed. Thieme; 2010.
 18. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. 1999:167-170.
 19. Mathews TJ, Hamilton BE, Ph D. Mean Age of Mother , 1970 – 2000. 2002;51(1):1-14.
 20. Wang Y, Tanbo T, Åbyholm T, Henriksen T. The impact of advanced maternal age and parity on obstetric and perinatal outcomes in singleton gestations. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284(1):31-37. doi:10.1007/s00404-010-1587-x.
 21. Down JL. Observations on an ethnic classification of idiots. 1866. *Ment Retard*. 1995;33(1):54-56. doi:10.1192/bjp.13.61.121.
 22. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn*. 2011;31:7-15. doi:10.1002/pd.
 23. Sun L, Wang X, Wu Q, Ruan Y, Yao L. Value of nuchal translucency thickening in the fetal chromosome abnormality screening. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2013;48.
 24. Nicolaides KH. Three-dimensional sonography of the posterior fossa in fetuses with open spina bifida at 11 – 13 weeks ' gestation. 2011;(November):625-629. doi:10.1002/uog.9067.
 25. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10 – 14 weeks using fetal nuchal translucency , maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. 1999:231-237.
 26. Cicero S, Sacchini C, Rembouskos G, Nicolaides KH. Sonographic markers of fetal aneuploidy--a review. *Placenta*. 2003;24 Suppl B:S88-98. doi:10.1016/S0143-4004(03)00141-3.
 27. Eiben B, Hall M, Ludwig M, Kozlowski P, Merz E, Ersttrimesterscree- DE. Ein neuer nichtinvasiver Pränataltest. 2013;54(8):768-770.
 28. Tul N, Spencer K, Noble P, Chan C, Nicolaides KH. Screening for Trisomy 18 by Fetal Nuchal Translucency and Maternal Serum Free -hCG and PAPP-A at 10–14 Weeks of Gestation. *Prenat Diagn*. 1999;19.
 29. Spencer K, Ong C, Skentou H, Liao a W, H Nicolaides K. Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn*. 2000;20(5):411-416.
 30. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod*. 2008;23(9):1968-1975. doi:10.1093/humrep/den224.
 31. Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A : impact of maternal and pregnancy characteristics. 2008;(March):493-502. doi:10.1002/uog.5332.
 32. Kagan KO, Wright D, Maiz N, Pandeva I, Nicolaides KH. Screening for

- trisomy 18 by maternal age , fetal nuchal translucency , free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. 2008;(April):488-492. doi:10.1002/uog.6123.
33. D'Alton M, Cleary-Goldman J. First and second trimester evaluation of risk for fetal aneuploidy: the secondary outcomes of the FASTER Trial. *Semin Perinatol.* 2005;29(4):240-246. doi:10.1053/j.semperi.2005.06.006.
 34. England TN. Integrated s performed during thecreening for Down´s Syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. 2015:461-467.
 35. Wald NJ, Rudnicka A, Bestwick J. Sequential and contingent prenatal screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2006;26(10):769-777. doi:10.1002/pd.
 36. Reynolds T. The triple test as a screening technique for Down syndrome: reliability and relevance. *Int J Womens Health.* 2010:83-88. doi:10.2147/IJWH.S8548.
 37. Dennis Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076):485-487. doi:10.1016/S0140-6736(97)02174-0.
 38. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987;155:335-350. doi:10.1016/0076-6879(87)55023-6.
 39. Alberts B, Bray D, Hopkin K, et al. *Lehrbuch Der Molekularen Zellbiologie.* 4th ed. Weinheim; 2012.
 40. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(12):5463-5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463.
 41. Kagan KO, Eiben B, Kozlowski P. [Combined first trimester screening and cell-free fetal DNA - “next generation screening”]. *Ultraschall Med.* 2014;35(3):229-236. doi:10.1055/s-0034-1366353.
 42. Allyse M, Minear MA, Berson E, et al. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. *Int J Womens Health.* 2015;7:113-126. doi:10.2147/IJWH.S67124.
 43. Kagan KO, Hoopmann M, Kozlowski P. Assessment of Foetal DNA in Maternal Blood - A Useful Tool in the Hands of Prenatal Specialists. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2012;72(11):998-1003. doi:10.1055/s-0032-1327960.
 44. Abele H, Hoopmann M, Huettelmaier M, Wallwiener D, Kagan KO. Intra- and interoperator reliability of manual and semi-automated measurement of fetal nuchal translucency by sonographers with different levels of experience. 2010. doi:10.1002/uog.8809.
 45. Norton ME, Brar H, Weiss J, et al. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;207(2):137.e1-137.e8. doi:10.1016/j.ajog.2012.05.021.
 46. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med.* 2012;14(3):296-305. doi:10.1038/gim.2011.73.

47. Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LCY, Kosinski P, Nicolaidis KH. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. 2013;(February):247-261. doi:10.1002/uog.12364.
48. Souter VL, Nyberg D a. Sonographic screening for fetal aneuploidy: first trimester. *J Ultrasound Med.* 2001;20(7):775-790.
49. Shipp TD, Benacerraf BR. Second trimester ultrasound screening for chromosomal abnormalities. 2002;(Figure 1):296-307.
50. Chan L, Hixson JL, Laifer SA, Marchese SG, Martin JG, Hill LM. A sonographic and karyotypic study of second-trimester fetal choroid plexus cysts. *Obstet Gynecol.* 1989;73(5 Pt 1):703-706.
51. Chinn D, Miller E, Worthy L, Towers C. Sonographically Detected Fetal Choroid Plexus Cysts: Frequency and Association with Aneuploidy. *J Ultrasound Med.* 1991;10(255).
52. Benacerraf BR, Harlow B, Frigoletto FDJ. Are choroid plexus cysts an indication for second-trimester amniocentesis? *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(4):1001-1006.
53. Snijders RJ, Shawa L, Nicolaidis KH. Fetal choroid plexus cysts and trisomy 18: assessment of risk based on ultrasound findings and maternal age. *Prenat Diagn.* 1994;14(12):1119-1127.
54. Chitty LS, Chudleigh P, Wright E, Campbell S, Pembrey M. The significance of choroid plexus cysts in an unselected population : results of a multicenter study. 1998:391-397.
55. Yoder PR, Sabbagha RE, Gross SJ, Zelop CM. The second-trimester fetus with isolated choroid plexus cysts: a meta-analysis of risk of trisomies 18 and 21. *Obstet Gynecol.* 1999;93(5 Pt 2):869-872.
56. Ghidini A, Strobelt N, Locatelli A, Mariani E, Piccoli MG, Vergani P. Isolated fetal choroid plexus cysts: role of ultrasonography in establishment of the risk of trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(4):972-977.
57. Lehman CD, Nyberg DA, T C Winter 3rd, Kapur RP, Resta RG, Luthy DA. Trisomy 13 syndrome: prenatal US findings in a review of 33 cases. *Radiology.* 1995;194(1):217-222. doi:10.1148/radiology.194.1.7997556.
58. Benacerraf BR, Miller WA, Frigoletto FDJ. Sonographic detection of fetuses with trisomies 13 and 18: accuracy and limitations. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;158(2):404-409.
59. Guis F, Ville Y, Vincent Y, Doumerc S, Pons JC, Frydman R. Ultrasound evaluation of the length of the fetal nasal bones throughout gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;5(5):304-307. doi:10.1046/j.1469-0705.1995.05050304.x.
60. Bunduki V, Ruano R, Miguelez J, Yoshizaki CT, Kahhale S, Zugaib M. Fetal nasal bone length: reference range and clinical application in ultrasound screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21(2):156-160. doi:10.1002/uog.31.
61. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaidis K. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11–14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet.* 2001;358(9294):1665-1667. doi:10.1016/S0140-6736(01)06709-5.
62. Maymon R, Levinsohn-Tavor O, Cuckle H, et al. Second trimester

- ultrasound prenatal thickness combined with nasal bone length: a new method of Down syndrome screening. *Prenat Diagn.* 2005;25(10):906-911. doi:10.1002/pd.1207.
63. Persico N, Borenstein M, Molina F, Azumendi G, Nicolaides KH. Prenasal thickness in trisomy-21 fetuses at 16 – 24 weeks of gestation. 2008;(July):751-754. doi:10.1002/uog.5404.
 64. De Jong-Pleij EAP, Vos FI, Ribbert LSM, Pistorius LR, Tromp E, Bilardo CM. Prenasal thickness-to-nasal bone length ratio: a strong and simple second- and third-trimester marker for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(2):185-190. doi:10.1002/uog.9047.
 65. Sonek J, Molina F, Hiatt a K, Glover M, McKenna D, Nicolaides KH. Prefrontal space ratio: comparison between trisomy 21 and euploid fetuses in the second trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;40(3):293-296. doi:10.1002/uog.11120.
 66. Cicero S, Curcio P, Rembouskos G, Sonek J, Nicolaides KH. Maxillary length at 11 – 14 weeks of gestation in fetuses with. 2004;(May):19-22. doi:10.1002/uog.1077.
 67. Yazdi B, Sonek J, Oettling C, et al. Prefrontal space ratio in second- and third-trimester screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(3):262-266. doi:10.1002/uog.12261.
 68. Yazdi B, Sonek J, Oettling C, Hoopmann M, Abele H, Schaelike M. Prefrontal space ratio in second- and third-trimester screening for trisomy 21. 2013;(July 2012):262-266. doi:10.1002/uog.12261.
 69. Kagan KO, Sonek J, Berg X, et al. Facial markers in second and third trimester fetuses with trisomies 18 and 13, Triploidy and Turner syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014. doi:10.1002/uog.14655.
 70. Vos FI, Ribbert LSM, Tromp E, Bilardo CM. Three-dimensional ultrasound imaging and measurement of nasal bone length , prenasal thickness and frontomaxillary facial angle in normal second- and third-trimester fetuses. 2012;(June 2011):636-641. doi:10.1002/uog.10058.
 71. Yazdi B, Riefler P, Fischmüller K, Sonek J, Hoopmann M, Kagan KO. The frontal space measurement in euploid and aneuploid pregnancies at 11-13 weeks' gestation. *Prenat Diagn.* 2013;33(12):1124-1130. doi:10.1002/pd.4205.
 72. Vos FI, Ribbert LSM, Pistorius LR, Tromp E. Prenasal thickness-to-nasal bone length ratio : a strong and simple second- and third-trimester marker for trisomy 21. 2012;(May 2011):185-190. doi:10.1002/uog.9047.
 73. Bromley B, Lieberman E. The Genetic Sonogram. 2002:1087-1096.
 74. Wald N, Rodeck C, Hackshaw A, Walters J, Chitty L. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess (Rockv).* 2003;7(11):88. doi:10.3310/hta7110.
 75. Palomaki GE, Neveux LM, Knight GJ, Haddow JE. Maternal serum-integrated screening for trisomy 18 using both first- and second-trimester markers. *Prenat Diagn.* 2003;23(3):243-247. doi:10.1002/pd.572.
 76. Smith-Bindman R, Chu P, Goldberg JD. Second trimester prenatal ultrasound for the detection of pregnancies at increased risk of Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2007;27(6):535-544. doi:10.1002/pd.1725.

77. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein V a, Deeks JJ, Goldberg JD. Second-trimester ultrasound to detect fetuses with Down syndrome: a meta-analysis. *JAMA*. 2001;285(8):1044-1055. doi:10.1001/jama.285.8.1044.
78. Spicer RL. Cardiovascular disease in Down syndrome. *Pediatr Clin North Am*. 1984;31(6):1331-1343.
79. Papp C, Szigeti Z, Toth-Pal E, Hajdu J, Joo JG, Papp Z. Ultrasonographic findings of fetal aneuploidies in the second trimester--our experiences. *Fetal Diagn Ther*. 2008;23(2):105-113. doi:10.1159/000111588.
80. Bahado-singh R a YO, Jodicke C. Uterine Artery Doppler in Pregnancy Screening. *Clin Obstet Gynecol*. 2010;53(4):879-887.
81. Watson W, Miller R, Wax J, Hansen W, Yamamura Y, Polzin W. Sonographic detection of trisomy 13 in the first and second trimesters of pregnancy. *J Ultrasound Med*. 2007;26(9):1209-1214. papers3://publication/uuid/31A4BEA7-B52B-46E1-8670-8E3037FABADB.
82. Brumfield CG, Wenstrom KD, Davis RO, Owen J, Cosper P. Second-trimester cystic hygroma: prognosis of septated and nonseptated lesions. *Obstet Gynecol*. 1996;88(6):979-982.

Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift von Xaver Berg

Die Arbeit wurde in der Universitäts-Frauenklinik Tübingen, Abteilung pränatale Diagnostik und Medizin, unter Betreuung von Prof. Dr. Karl Oliver Kagan durchgeführt.

Die Messungen wurden, nach Einarbeitung durch meinen Betreuer, von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte, nach Anleitung durch meinen Betreuer, durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch meinen Betreuer verfasst zu haben und keine weiteren, als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 24. Juli 2017

(Xaver Berg)

Danksagung

Herzlichen Dank an Prof. Dr. med. Diethelm Wallwiener für die Möglichkeit, diese Arbeit während meines Studiums an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen zu erstellen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Karl Oliver Kagan für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas, für die Anregungen bei der Anfertigung, sowie für die Beratung und Unterstützung bei der Datenauswertung.

Meiner Schwägerin Anne danke ich ganz besonders für viele hilfreiche Ratschläge und die durchgehende Unterstützung in den Jahren der Entstehung der Arbeit.

Meinem Bruder Christoph danke ich für die erste Durchsicht des Manuskripts, sowie für die Unterstützung und Hilfestellung während des Entstehungsprozesses der Arbeit.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich für die Möglichkeit des Medizinstudiums und die volle Unterstützung, die ich in den letzten Jahren von ihnen erhalten habe.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Freunden für die große Unterstützung in allen Phasen der Erstellung der Dissertationsschrift und ganz besonders für die stetige Motivation, ohne die diese Arbeit nicht vollendet worden wäre.