

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin  
des Zentrums für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. Kurt Hecher

in Kooperation mit der Praxisgemeinschaft für pränatale Diagnostik und Humangenetik Hamburg  
Altona

## **Kulturartefakte und Komplikationen nach transabdominaler Chorionzottenbiopsie**

### **Dissertation**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität  
Hamburg

vorgelegt von  
Kerstin Knauer  
aus Löbau

Hamburg 2012

**Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg am: 26.09.2013**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg**

**Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. med. K. Hecher**

**Prüfungsausschuss: 2. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Gal**

**Prüfungsausschuss: 3. Gutachter: Prof. Dr. med. B.-J. Hackelöer**

<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>3</b>
1.1 Prinzip der CVS.....	4
1.2 Historischer Rückblick.....	7
1.3 Was sind Chromosomenaberrationen?.....	9
1.4 Fragestellung der Arbeit.....	13
<b>2 MATERIAL UND METHODIK.....</b>	<b>15</b>
2.1 Auswahl und Zusammensetzung des Patientenkollektivs.....	15
2.2 Methode.....	16
2.2.1 Fragebogen.....	16
2.2.2 Karyogramme.....	17
2.2.3 Durchführung.....	17
<b>3 ERGEBNISSE.....</b>	<b>20</b>
3.1 Response-Rate.....	20
3.2 Primäre Beweggründe zur Pränataldiagnostik (CVS).....	20
3.3 Altersverteilung.....	21
3.4 Zytogenetische Techniken.....	22
3.5 Chromosomenaberrationen.....	24
3.5. Numerische Chromosomenaberrationen.....	25
3.5. Strukturelle Chromosomenaberrationen.....	27
3.6 Schwangerschaftsverlauf und Komplikationen nach CVS.....	35
3.6.1 Schwangerschaftsabbrüche im Gesamtkollektiv.....	36
3.6.2 Aborthäufigkeit nach CVS.....	37
3.6.3 Komplikationen nach CVS.....	42

<b>4 DISKUSSION</b> .....	<b>45</b>
4.1 Komplikationen nach CVS.....	46
4.1.1 Aborte.....	46
4.1.2 Weitere Komplikationen nach CVS.....	48
4.2 Zuverlässigkeit der Kurz- und Langzeitbefunde bei Chromosomenaberrationen.....	49
4.2.1 Mosaik.....	49
4.2.2 Strukturelle Chromosomenaberrationen.....	51
4.2.3 Numerische Chromosomenaberrationen.....	53
4.3. Schwangerschaftsabbrüche bei autosomalen und gonosomalen Aneuploidien.....	55
4.4 Ein Ausblick in die Zukunft- Next Generation Sequencing.....	56
<b>5 ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>58</b>
<b>6 ANHANG</b> .....	<b>59</b>
6.1 Weitere Verzeichnisse.....	59
6.1.1 Abkürzungsverzeichnis.....	59
6.1.2 Abbildungsverzeichnis / Tabellenverzeichnis.....	60
<b>7 LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>62</b>
<b>8 DANKSAGUNG</b> .....	<b>66</b>
<b>9 LEBENS LAUF</b> .....	<b>67</b>
<b>10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b> .....	<b>68</b>

# 1 Einleitung

Die pränatale Diagnostik nimmt einen wichtigen Platz in der Betreuung Schwangerer und ihrer ungeborenen Kinder ein, da durch sie frühzeitig Fehlbildungen und Erkrankungen des Feten diagnostiziert werden können.

In der pränatalen Diagnostik kann man nichtinvasive von invasiven Verfahren unterscheiden. Zu den nichtinvasiven Verfahren gehören die sonographischen Methoden und die Serum-Biochemie aus mütterlichem Blut. Bei der differenzierten Sonographie in der 12.-14. Schwangerschaftswoche (SSW), inklusive des Nackentransparenz-Screenings, erfolgen eine mütterliche Blutentnahme zur Bestimmung des freien  $\beta$ -HCGs und des PAPP-A sowie eine sonographische Beurteilung des Feten hinsichtlich früher Fehlbildungen und anderen Markern für Chromosomenaberrationen. Diese Parameter können Hinweise auf das Vorliegen einer fetalen Trisomie 13, 18 und 21 geben, und erlauben eine individuelle Risikoeinschätzung insbesondere dieser altersabhängigen Chromosomenstörungen nach den Standards der „Fetalmedicine Foundation UK“. Zu den invasiven Verfahren zählen die Chorionzottenbiopsie, die Amniozentese und die Nabelschnurpunktion.

Unter der Amniozentese versteht man die Punktion der Fruchtblase und die Entnahme von Fruchtwasser und den darin enthaltenen Amnionzellen zur Chromosomenpräparation und Karyotypisierung. Sie wird in der Regel ab der 16. Schwangerschaftswoche (SSW) durchgeführt, da eine frühe Amniozentese eine höhere Komplikationsrate zeigt (Nicolaidis et al. 1994, Tabor et al. 2010).

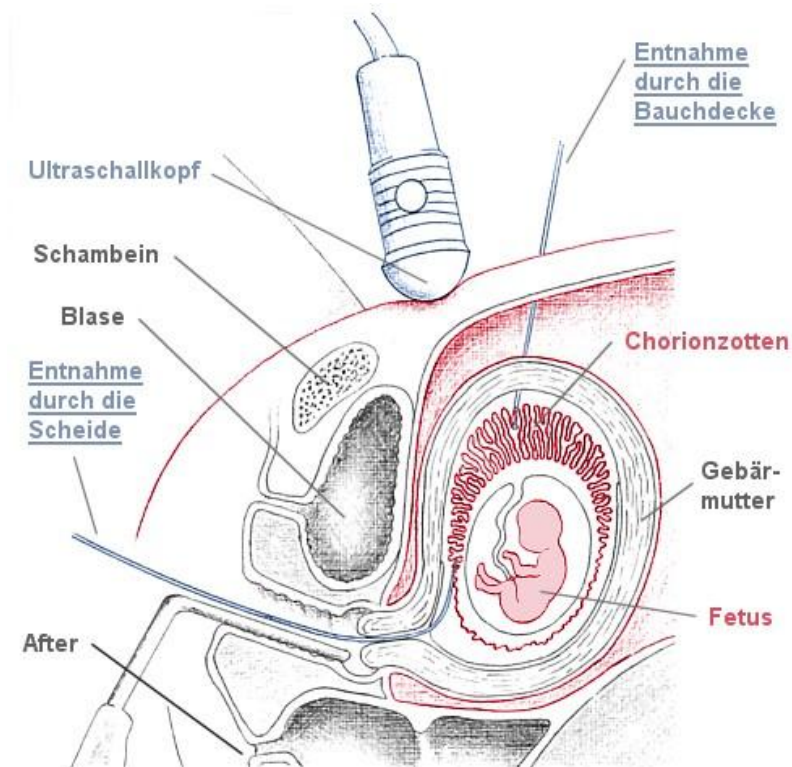
Eine Nabelschnurpunktion kann circa ab der 20. SSW durchgeführt werden und dient beispielsweise der Karyotypisierung, der Infektionsdiagnostik sowie der Abklärung der fetalen Blutgruppe in fortgeschrittenen Schwangerschaften. Bei fetalen Anämien oder Thrombozytopenien wird sie für Transfusionen verwendet.

Unter der Chorionzottenbiopsie, kurz auch CVS (chorionic villus sampling) genannt, versteht man ebenfalls eine invasive Untersuchungsmethode im Rahmen der Pränataldiagnostik. Die Biopsie aus der Plazenta wird in der Regel

zwischen der 11. und 14. SSW durchgeführt und kann damit zu einem früheren Zeitpunkt in der Schwangerschaft als die Amniozentese angewendet werden.

## **1.1 Prinzip der CVS**

Während des ersten Schwangerschaftstrimenons umkleidet extrafetales Gewebe die Außenseite der Amnionhöhle, welches sich im Bereich des Nabelschnuransatzes zum Chorion frondosum verdickt. Die Chorionzottenbiopsie erfolgt mittels einer dünnen Kanüle/Katheter transabdominal oder transzervikal, wobei Chorionzotten gewonnen und anschließend untersucht werden. Um später bestimmte Zusammenhänge besser zu verstehen, hier ein kleiner Exkurs in die Embryologie. Chorionzotten bestehen aus drei verschiedenen Zelltypen: den Synzytiotrophoblasten, den Zytotrophoblasten und dem mesenchymalen Kern. Beide, der Synzytiotrophoblast und der Zytotrophoblast, entwickeln sich ursprünglich aus der äußeren Zellmasse. Der mesenchymale Kern stammt aus der inneren Zellmasse, der mit circa 4 Zellen den Embryo formt. Für die Direktpräparation der Chromosomen werden die sich schnell teilenden Zellen des Zytotrophoblasten verwendet, für die Langzeitkultur hingegen die Zellen des mesenchymalen Kerns (Roland et al. 1994).



**Abbildung 1**

Schematische Darstellung der transzervikalen versus transabdominalen Chorionzottenentnahme (Bildschirmfoto 'Risiko Trisomie 21 im 1. Trimenon' (Programm Viewpoint von GE Healthcare Deutschland))

Das Hauptrisiko einer Chorionzottenbiopsie besteht in der Induktion eines Abortes. Das Risiko eines Abortes konnte durch die transabdominale CVS deutlich verringert werden. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die transzervikale Chorionzottenentnahme deutlich höhere Abortrisiken bedingte (Alfirevic et al. 2003., Scott et al. 2002). Nach den bisher vorliegenden Multicenterstudien liegt das Risiko bei 1-2%. Eine genaue Risikoangabe ist schwierig, da zu diesem Schwangerschaftszeitpunkt noch mit einer relativ hohen Spontanabortrate zu rechnen ist. So beschreibt Jauniaux et al. 2001, dass 20-30% aller Schwangerschaften in einer frühen Fehlgeburt (Early pregnancy loss) enden, wobei diese Rate mit fortschreitender Entwicklung des Feten sinkt, aber auch von anderen Faktoren wie mütterliches Alter,

fetales Alter und der Vorgeschichte von habituellen Aborten beeinflusst wird. Das Risiko für eine frühe Fehlgeburt (bis zur Vollendung der 12. SSW) für eine Erstgebärende liegt im Mittel bei etwa 6-10%; eine 40-jährige hat ein 2-fach erhöhtes Risiko für einen Abort im Vergleich zu einer 20-jährigen.

Indikationen zur Durchführung einer Chorionzottenbiopsie sind heute ein auffälliger sonographischer Befund, eine auffällige Biochemie (d. h. von der Norm abweichende Serumparameter im mütterlichen Blut im First-Trimester-Screening), balancierte Chromosomenstörungen bei den Eltern, anamnestisch Chromosomenstörungen oder multiple Fehlbildungen in vorangegangenen Schwangerschaften, psychische Indikationen, sowie monogen erbliche Erkrankungen wie zum Beispiel Hämoglobinopathien, ein Adrenogenitales Syndrom, Phenylketonurie und viele andere. Früher wurde auch ein erhöhtes mütterliches Alter ( $\geq 35$  Jahre) zu den Indikationen für eine invasive Pränataldiagnostik gezählt, heute hat dieser Parameter allein an Bedeutung verloren.

Die Auseinandersetzung mit der Möglichkeit einer kindlichen Erkrankung oder Fehlbildung während der Schwangerschaft erzeugt häufig eine große Verunsicherung und Ängste um das ungeborene Leben. Mithilfe der Pränataldiagnostik sollen diese reduziert werden. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass ein Eingriff, wie die CVS, als körperliche Bedrohung oder Gefährdung des Kindes von der Schwangeren erlebt wird. Denn das Weiterbestehen der Schwangerschaft ist durch eine mögliche Fehlgeburt oder durch ein pathologisches Ergebnis gefährdet. Deshalb sollte jeder Schwangeren, beziehungsweise jedem Paar, vor und nach dem Eingriff eine humangenetische und/oder psychosoziale Beratung angeboten werden. Ein entscheidender Vorteil der CVS ist der frühe Untersuchungszeitpunkt im Vergleich zur Amniozentese, welche erst ab der 16. SSW durchgeführt werden sollte. Die Wartezeit wird dadurch deutlich verkürzt und die werdende Mutter weiß früher, ob ihr Kind chromosomal gesund ist, oder ob sie mit einem pathologischen Befund konfrontiert ist. Die psychische Belastungszeit der Schwangeren wird in dieser Situation reduziert und zu diesem Zeitpunkt sind noch keine kindlichen Bewegungen zu spüren. Ein weiterer Vorteil ist, dass



die Schwangerschaft in diesem frühen Stadium meist von der Umwelt noch nicht wahrgenommen wird.

## **1.2 Historischer Rückblick**

Erstmals wurde im Jahre 1968 über die Möglichkeit einer Chorionzottenentnahme im 1. Schwangerschaftstrimenon als Alternative zur Amniozentese im 2. Schwangerschaftstrimenon von dem Dänen Jan Mohr (Mohr 1968) berichtet. 1973 erfolgte der erste Versuch anhand transzervikal gewonnenen Chorionzottenmaterials den Karyotyp des Feten mittels Trophoblastkulturen im 1. Schwangerschaftstrimenon zu bestimmen (Kullander und Sandahl 1973). Hierbei wurden 39 Patientinnen untersucht, bei denen ein Schwangerschaftsabbruch zwischen der 8. und 20. Schwangerschaftswoche (SSW) durchgeführt wurde. In 51% konnte eine Chromatinbestimmung durchgeführt werden, der vollständige Chromosomensatz konnte zu diesem Zeitpunkt jedoch noch nicht sicher bestimmt werden.

Nur ein Jahr später versuchte der Däne Hahnemann ebenfalls transzervikal Chorionzottengewebe bei Patientinnen im 1. Schwangerschaftstrimenon zu gewinnen (Hahnemann 1974). Das Kollektiv bestand aus 94 Patientinnen, die unmittelbar vor einem Schwangerschaftsabbruch standen. In 60% der Fälle konnte Choriongewebe erfolgreich gewonnen werden. Eine Kultivierung des Biopsiematerials sowie die anschließende Karyotypisierung waren nur in 38% dieser Fälle erfolgreich. In allen Fällen, in denen eine zytogenetische Nachuntersuchung des Abortmaterials erfolgt war, wurde der Vorbefund der Chorionzottenbiopsie bestätigt.

Im Jahre 1975 wurden in China (Department of Obstetrics and Gynaecology, Tietung Hospital, Ansham Iron and Steel Company 1975) 100 vorher unauffällig verlaufende Schwangerschaften einer transzervikalen Chorionzottenaspiration zwischen dem 47. und 100. Schwangerschaftstag (7.-14. SSW) ohne Ultraschallkontrolle unterzogen. Die Untersuchung diente der Geschlechtsbestimmung, um 'Frauen bei der Familienplanung zu helfen'. In 99 Fällen konnte eine Geschlechtsbestimmung aus Interphasekernen erfolgen. In 6 Fällen kam es zu einer Fehlbestimmung des Geschlechts. Die richtige

Vorhersage der Geschlechter lag bei 93,9%, in 4 Fällen kam es zu einem Spontanabort nach CVS, in 30 Fällen erfolgte ein Schwangerschaftsabbruch, dabei waren 29 Feten weiblich und nur einer männlich. Als bevölkerungsstarkes Land hat China eine staatliche Geburtenplanung, und seit 1971 die Zwei-Kind-Beschränkung, welche 1979 mit der Ein-Kind-Beschränkung noch weiter verschärft wurde. In vielen asiatischen Kulturen zieht man traditionell Söhne Töchtern vor. Zwar untersagt die chinesische Regierung den Einsatz von Medizintechniken zur Geschlechtsbestimmung, doch da diese leicht zugänglich sind, finden viele Paare bestechliche Ärzte, die ihnen das Geschlecht eines Fetus mitteilen. Infolgedessen hat sich das Geschlechterverhältnis bei den Geburten in China immer mehr verschoben (Joas 2007).

1982 wurde erstmals in Europa die Chorionzottenbiopsie bei vorher unauffällig verlaufenden Schwangerschaften durch den Ungarn Kazy und Mitarbeiter angewandt. Die Probeentnahme erfolgte transzervikal und unter direkter Ultraschallkontrolle bei 165 Schwangeren (Kazy et al. 1982). In allen Fällen war die fetale Geschlechtsbestimmung erfolgreich. In 16 Gewebeproben konnte gleichzeitig die Aktivität von einigen Enzymen gemessen werden und mit den Werten von Amnionzellkulturen verglichen werden. Erfreulicherweise stimmten diese überein, sodass ein erster Meilenstein zur erfolgreichen pränatalen Diagnostik von genetisch bedingten Stoffwechselkrankheiten gelegt wurde.

Bis 1983 beschränkte sich die Chorionzotendiagnostik zytogenetisch mit unterschiedlichem Erfolg auf die X- und Y-Chromatinbestimmung in Trophoblastzellen. Die zytogenetischen Erfolge von Kazy und Mitarbeitern sowie von Simoni und Mitarbeitern, native Chorionzotten ohne Kultivierung für eine direkte Chromosomenpräparation zur Diagnostik von chromosomalen Anomalien anzuwenden, trugen dazu bei, die CVS als eine „echte“ Alternative zur Amniozentese im 2. Trimenon zu etablieren.

In der Bundesrepublik Deutschland erfolgten 1983 die ersten Chorionzottenbiopsien mittels einer Zytologiebürste hauptsächlich transzervikal durch Holzgreve und Miny an der Ruhr-Universität Bochum im Marienkrankenhaus Herne (Holzgreve und Miny 1987). 1987 wurde dieses Verfahren durch Holzgreve und Mitarbeiter weiterentwickelt, diesmal

verwendeten sie einen echogenen Katheter und führten mit diesem Chorionzottenbiopsien in 501 Fällen durch. In 96% der Fälle konnte durch diese Methode ausreichend Material gewonnen werden. Die Abortrate in diesem Patientenkollektiv betrug bis zur 28. SSW 4,3% und entsprach damit etwa der Hintergrundrate von Spontanaborten in diesem Schwangerschaftszeitraum (Holzgreve und Miny 1987). Daher war es schwierig, ein eingriffsbedingtes Risiko herauszuarbeiten.

In den 80er und 90er Jahren erfolgten zahlreiche Studien weltweit, welche die Chorionzottenbiopsie mit der Amniozentese verglichen, wobei es kaum randomisierte Studien gab. Das Verfahren der Chorionzottenbiopsie an sich wurde parallel dazu optimiert. Tatsächlich haben aufwändige Studien ergeben, dass sich das eingriffsbedingte Risiko bei beiden Verfahren in der Hand eines Erfahrenen, wenn überhaupt, dann allenfalls geringfügig unterscheidet (Tabor et al. 2009). Für Aufsehen hat zeitweise die Diskussion um eine mögliche Verursachung von transversalen Extremitätendefekten durch die CVS geführt, die vor allem sehr frühe Eingriffe betraf (Alfirevic et al. 2000, Miny et al. 2003, Papp et al. 2003). Ein Eingriffszeitpunkt ab der 11. Schwangerschaftswoche gilt heute als sicher (Froster et al. 1996). Es gibt auch die Möglichkeit einer frühen Amniozentese zwischen der 9. und 14. SSW. Alfirevic konnte 2007 jedoch zeigen, dass die frühe Amniozentese ein höheres Spontanabortrisiko (4,4% versus 2,3%), sowie ein höheres Risiko für Fußfehlstellungen hat, als die transabdominale CVS (Alfirevic 2007).

### **1.3 Was sind Chromosomenaberrationen?**

Aus den Kurzzeit- und Langzeitkulturen werden nach sorgfältiger Analyse Karyogramme erstellt, welche man grob in verschiedene Rubriken einteilen kann. Dabei unterscheidet man die Auffälligen von den Unauffälligen. Zu den Auffälligen zählen Chromosomenaberrationen, die mit definierten Krankheitsbildern assoziiert sind und Chromosomenaberrationen, die noch kein eindeutiges klinisches Korrelat haben. In Abhängigkeit der Erscheinungsform

werden die Chromosomenanomalien in numerische und strukturelle unterteilt. Die numerischen Chromosomenaberrationen wiederum teilt man in die Aneuploidien (Abweichung vom Chromosomensatz, bei der einzelne Chromosomen nicht in normaler Anzahl vorhanden sind), die Polyploidien (Vervielfachung des gesamten Chromosomensatzes) und die Mixoploidien (ein genetisches Mosaik). Für die Entstehung von Mosaiken gibt es 5 primäre Mechanismen, die zum Vorhandensein von multiplen / verschiedenen Zelllinien in einer Pränatalprobe führen können. So gibt es die echten Mosaik, Pseudomosaik, Plazenta Confined Mosaik, Mosaikbefunde aufgrund einer maternalen Zellkontamination und die sehr seltenen Chimäre. Ein chromosomales Mosaik ist das Vorhandensein von 2 oder mehr Zelllinien mit unterschiedlichen Karyotypen in einem Individuum. Ein echtes Mosaik ist ein Mosaik, welches im Feten vorliegt; weniger als 0,1% der Neugeborenen weisen ein solches Mosaik auf. Pseudomosaik resultieren aus Aberrationen während der Kultivierung der Zellproben in vitro, d. h. es kommt zu einem Wachstum von abnormen Zelllinien, welche nicht im Fetus vorkommen. Bei Verdacht auf ein Pseudomosaik sollten verschiedene unabhängige Zellkulturen näher betrachtet werden, da ein Vorkommen dieses Befundes in allen Zelllinien sehr unwahrscheinlich ist. Plazenta Confined Mosaik sind das Ergebnis einer Nondisjunktion, welche während der Embryogenese entsteht und zum Vorhandensein von aneuploiden Zelllinien im extraembryonalen Gewebe führt, welche aber nicht im Fetus vorkommen. Das Vorhandensein von Plazenta Confined Mosaiken ist ein Problem der Chorionzottenbiopsie, da bei ihr extraembryonales Gewebe für die Untersuchung gewonnen wird; wahrscheinlich sind sie für viele, wenn nicht sogar für die meisten Diskrepanzen zwischen den Karyogrammen der Kurz- und Langzeitkulturen verantwortlich (Schreck et al. 1990).

Die maternale Zellkontamination beobachtet man bei unerfahrenen Punkteuren häufiger. Dabei werden akzidentiell mütterliche Zellen (z. B. aus Dezidua, Myometrium, etc.) bei der Chorionzottenbiopsie mit den fetalen Zellen vermischt. Dieser Befund ist schwer zu erkennen, falls der Fetus einen weiblichen Karyotyp hat und ein spezieller Test (z. B. Quinacrine Banding) ist

notwendig, um eine Kontamination aufzudecken oder auszuschließen. Im Unterschied zum Mosaik stammen beim Chimär die unterschiedlichen Zellen aus verschiedenen befruchteten Eizellen.

Die häufigsten Krankheitsbilder in unserem Patientenkollektiv sind die Trisomien 21, 18 und 13, sowie das Turner Syndrom. Nachfolgend dazu eine kurze Beschreibung der Krankheitsbilder.

„Die **Trisomie 21** ist die häufigste Chromosomenstörung bei Neugeborenen (etwa 2/3 aller Fälle) und zugleich die häufigste Ursache für geistige Retardierung. Die Inzidenz wird mit etwa 1:650 angegeben, ändert sich allerdings einerseits durch das steigende Durchschnittsalter von Schwangeren, andererseits durch die zunehmend häufigere pränatale Diagnose mit Schwangerschaftsabbruch auch bei jüngeren Schwangeren. Das Risiko für die Geburt eines Kindes mit Trisomie 21 steigt mit dem Alter der Mutter. Während die Wahrscheinlichkeit bis zum 30. Lebensjahr noch unter 1:1.000 liegt, steigt sie im Alter von 35 Jahren (bei Geburt) schon auf 1/350, liegt im Alter von 40 Jahren bei 1:85 und mit 46 Jahren bei 1:30. Die Mehrzahl der Kinder mit Trisomie 21 hat allerdings Mütter im Alter unter 35 Jahren, da jüngere Frauen mehr Kinder bekommen und seltener eine invasive Pränataldiagnostik und ggf. einen Schwangerschaftsabbruch durchführen lassen. Pränatal versterben 75% aller Zygoten mit Trisomie 21, davon viele in der Frühschwangerschaft. Für die genetische Beratung ist bedeutsam, dass auch nach Diagnose einer Trisomie 21 durch Chorionzottenbiopsie (CVS, ab der 11. SSW) die Wahrscheinlichkeit für einen Spontanabort dieser Schwangerschaft noch bei 35% liegt. [...]

Die durchschnittliche Lebenserwartung bei Down-Syndrom stieg von 25 Jahren im Jahr 1983 auf 49 Jahre im Jahr 1997. Aktuell versterben etwa 15% der Kinder mit Down-Syndrom im 1. Lebensjahr. Haupttodesursachen sind schwere Herzfehler und große gastrointestinale Fehlbildungen.“ (Schaaf et al. 2008, S 247-248)

„Die **Trisomie 18** ist mit einer Inzidenz von etwa 1:6.000 bei Lebendgeborenen die zweithäufigste autosomale Trisomie nach dem Down-Syndrom. Wie bei den anderen autosomalen Trisomien besteht eine enge positive Korrelation zwischen der Inzidenz und dem mütterlichen Alter. Die Trisomie 18 ist die häufigste Chromosomenstörung bei Feten, die nach auffälliger Ultraschalluntersuchung (Fehlbildungen oder Wachstumsverzögerung) karyotypisiert werden (50% häufiger als Down-Syndrom). Es wird geschätzt, dass etwa 5% aller Konzeptionen mit Trisomie 18 bis zur Geburt überleben. Die Wahrscheinlichkeit für einen Spontanabort nach Diagnosestellung durch Amniozentese ist immer noch 70%. Unter den Neugeborenen mit Trisomie 18 sind viermal so viele Mädchen wie Knaben. Daraus lässt sich eine deutlich erhöhte Abortrate unter männlichen Feten mit Trisomie 18 ableiten. Die Ursache hierfür ist bislang ungeklärt. Die durchschnittliche Lebenserwartung für Kinder mit

Trisomie 18 beträgt nur 15 Tage. 10% der Patienten erleben ihren 1. Geburtstag, etwa 1% der Kinder erreicht das 10. Lebensjahr.

### Klinische Merkmale

Auch beim Edwards-Syndrom gibt es einige typische klinische Merkmale, die die Diagnose schon vor der Chromosomenanalyse nahelegen. Bereits vorgeburtlich zeigen sich eine in der Regel deutliche intrauterine Wachstumsretardierung sowie morphologische Auffälligkeiten wie eine verdickte Nackenfalte, Fehlbildungen des Gehirns (z. B. Zysten des Plexus choroideus) oder Herzfehler (VSD, Fehlbildungen des kardialen Ausflusstrakts/double outlet right ventricle, Missverhältnis zwischen rechter und linker Herzkammer). Das durchschnittliche Geburtsgewicht liegt bei 2300 g. [...]

Die Patienten mit Trisomie 18, die das erste Jahr überleben, sind psychomotorisch schwerst behindert und die meisten von ihnen werden nie in der Lage sein, selbständig zu laufen oder mehr als ein paar Worte zu erlernen. Dennoch ist eine Interaktion durch Blicke und Gesten möglich, und die Kinder werden von den Eltern meist geliebt.“ (Schaaf et al. 2008, S 252-255)

„Die Inzidenz der **Trisomie 13** liegt bei 1:10.000–1:20.000 aller Lebendgeborenen. Das Risiko für Trisomie 13 steigt mit dem mütterlichen Alter und nur jede 40. Konzeption mit Trisomie 13 überlebt bis zur Geburt. Die durchschnittliche Lebenserwartung ist noch schlechter als bei Trisomie 18 und liegt bei sieben Tagen. Mehr als 90% der Kinder versterben im ersten Lebensjahr. Die überlebenden Kinder haben eine schwere psychomotorische Retardierung, häufig eine Epilepsie (oft Hypsarrhythmie) und meist schwere Gedeihstörungen. [...]

In der Mehrzahl der Fälle lässt sich eine freie Trisomie 13 nachweisen. Das überzählige Chromosom stammt meist (85%) von der Mutter. Bei ca. 25% liegt jedoch eine unbalancierte Robertson-Translokation zugrunde, meist rob(13q;14q). Es handelt sich hierbei um das häufigste chromosomale Rearrangement überhaupt. Sie findet sich als balancierte Translokation mit einer Häufigkeit von 1:1.500 in der Allgemeinbevölkerung. Bei Vorliegen eines Mosaikbefundes (5% der Fälle) ist das klinische Bild sehr variabel. Mehr als 80% der Kinder mit Trisomie 13 versterben im ersten Lebensmonat, 5–10% erleben ihren ersten Geburtstag. Das Überleben ist hierbei vor allem von der Schwere der Herz- und Nierenfehlbildungen abhängig. [...]

Kinder mit Trisomie 13 sind häufig blind und taub. Viele haben eine schwere Epilepsie. Die Ernährung ist aufgrund schwerer Schluckstörungen oft problematisch und muss ggf. mit Hilfe einer Magensonde erfolgen.“ (Schaaf et al. 2008, S 256-258)

„Das **Turner-Syndrom** hat eine Inzidenz von 1:2.500–1.3000 unter weiblichen Neugeborenen, ist aber vorgeburtlich noch viel häufiger. Von allen Fehlgeburten, die durch chromosomale Aberrationen verursacht sind, weisen 20% eine Monosomie X auf. Man kann auf diesem Weg zurückrechnen und stellt fest, dass wohl 99% aller Zygoten mit

Monosomie X in einem Abort enden und nur 1% dieser Schwangerschaften tatsächlich zur Geburt kommt. [...]

Fetal. Die klassische, pränatale Manifestation eines Turner-Syndroms ist gegen Ende des ersten Trimenons der intrauterine Minderwuchs in Kombination mit einem zervikalen Lymphödem (zystisches Hygrom) oder generalisiertem Ödem (Aszites oder Chylothorax bis hin zum Hydrops fetalis) (Abb. 19.9). Später lassen sich dann ggf. Herzfehler und Nierenfehlbildungen im Ultraschall nachweisen. [...]

Frauen mit Turner-Syndrom zeigen in der Regel eine normale Intelligenz, der gemessene IQ ist jedoch durchschnittlich 10–15 Punkte unter dem familiären Durchschnittswert. Teilleistungsschwächen sind häufig und betreffen z. B. das räumliche Vorstellungsvermögen. [...]

Etwa 40% der Frauen haben in den Blutlymphozyten einen durchgängigen Karyotyp 45 X. Diese Frauen zeigen meist ein »Vollbild« mit überschüssiger Nackenhaut und perinatalem Lymphödem. In den meisten Fällen handelt es sich bei dem verbleibenden X-Chromosom um das mütterliche. Das Turner-Syndrom zeigt keine Assoziation zum mütterlichen Alter. Es handelt sich normalerweise um ein rein sporadisches Ereignis und es besteht für nachfolgende Geschwister kein wesentlich erhöhtes Wiederholungsrisiko.“ (Schaaf et al. 2008, S 259-269)

## 1.4 Fragestellung der Arbeit

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden mögliche Kulturartefakte und Komplikationen nach 529 transabdominalen Chorionzottenbiopsien (von 2000 bis 2004) im Pränatalzentrum untersucht. Die transabdominale Chorionzottenentnahme im ersten Trimenon als Alternative zur Amniozentese im zweiten Trimenon gewinnt mit der Einführung des First-Trimester-Screenings in der 12.-14. Schwangerschaftswoche einen immer höheren Stellenwert. In Deutschland ist die CVS mittlerweile zum Standardverfahren für die frühe Karyotypisierung geworden.

Aufgabe dieser Arbeit ist es, zu überprüfen, ob heutzutage die Kulturartefakte und Mosaikbefunde bei der transabdominalen CVS durch verbesserte Kulturbedingungen so gering sind, dass diese Methode standardmäßig allen Schwangeren mit auffälligem Ultraschall zwischen der 12.-14. SSW angeboten werden kann. Als Kulturartefakte in dieser Arbeit gelten: ein fehlendes Wachstum der Chorionzottenkultur, eine Kontamination der Probe beziehungsweise der Kultur durch maternale Zellen, Pseudomosaik, plazentabeschränkte Mosaik (Plazenta Confined Mosaics (PCM)), das

Fehlen des Chorionzottenkurzzeitbefundes durch z. B. zu wenig Material und damit verbunden eine fehlende Chorionzotten-Langzeitkultur.

Zum anderen werden die Komplikationen nach transabdominaler Chorionzottenbiopsie näher dargestellt, um zu prüfen, welche Risiken mit der Durchführung einer CVS für die Mutter und das ungeborene Kind bestehen. Zu den Komplikationen nach Chorionzottenbiopsien werden folgende Punkte gerechnet: Aborte, Blutungen, Fruchtwasserabgang, Fieber, Schmerzen, Hämatome der Plazenta, transversale Extremitätenfehlbildungen durch eine verfrühte Chorionzottenbiopsie (vor der 10. Schwangerschaftswoche).



## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Auswahl und Zusammensetzung des Patientenkollektivs**

In einem Zeitraum von 4 Jahren (2000-2004) werden retrospektiv alle Befunde der Karyogramme nach transabdominaler Chorionzottenbiopsie, in der Kurz- und Langzeitkultur, auf Kulturartefakte, Kulturschwierigkeit und auf Mosaikbefunde untersucht. Bei Mosaikbefunden wurden die Ergebnisse der Chorionzottenbiopsie durch eine nachfolgende Amniozentese überprüft, sofern die Schwangere dieser Kontrolluntersuchung zustimmte.

Die vorliegenden Datenauswertungen, Kommentare und Analysen basieren auf 529 abgeschlossenen diagnostischen CVS-Fällen, die während des Zeitraumes vom 01.01.2000 bis 31.12.2004 in der Praxisgemeinschaft für pränatale Diagnostik und Humangenetik in Hamburg Altona, dokumentiert wurden. Das Untersuchungskollektiv besteht aus allen Schwangerschaften von Patientinnen, die im oben beschriebenen Zeitraum eine Chorionzottenbiopsie haben vornehmen lassen. Insgesamt wurden 577 Chorionzottenbiopsien durchgeführt, jedoch konnte nur für 529 Fälle eine komplette Datenerhebung stattfinden. Die Patientinnen waren von niedergelassenen Gynäkologen aufgrund verschiedener Indikationen überwiesen worden: Ausschluss einer auffälligen Nackentransparenz, bei Verdacht auf eine fetale Pathologie, Z. n. Trisomie oder anderer Chromosomenaberration in einer vorausgegangenen Schwangerschaft, eine familiäre Belastung, ein erhöhtes maternales Alter sowie mütterliche Angst. Jede Patientin die sich einer CVS unterzogen hatte, bekam am Tag ihrer Untersuchung einen Rückmeldeschein in ihren Mutterpass geheftet. Die Patientinnen wurden gebeten, diesen Rückmeldeschein (ein Fragebogen zur Dokumentation des kindlichen Outcomes) am Ende der Schwangerschaft ausgefüllt zurückzusenden.

## 2.2 Methode


### 2.2.1 Fragebogen

Der Fragebogen beginnt mit der Erhebung persönlicher Daten wie dem Alter der Patientin.

Den Schwerpunkt bilden die Fragen zum Themenkomplex: Geburt und Daten zum Kind. Zur Geburt wurden die folgenden Informationen abgefragt: das Geburtsdatum, die SSW bei der Entbindung, der APGAR-Wert und der Geburtsmodus. Das kindliche Outcome oder auch Daten zum Kind genannt, ergibt sich aus den folgenden Parametern: Geschlecht, Gewicht, Körperlänge, Kopfumfang, Kind gesund: ja/nein, und die Angabe von Besonderheiten bzw. Fehlbildungen.

**Praxisgemeinschaft für pränatale Diagnostik und Humangenetik**  
**Dr. D. Masson · Dr. E. Çetin · A. Scharf · Dr. H. Marschner-Schäfer · Dr. U. Peters**

Pränataldiagnostik      Humangenetik · Psychotherapie      Humangenetik



Wir haben bei Frau \_\_\_\_\_  
geb. \_\_\_\_\_ eine pränatale-diagnostische Untersuchung  
durchgeführt. Zur fortlaufenden Kontrolle unserer Untersuchungen bitten wir  
Sie um Rücksendung dieser Karte oder eines Arztbriefes.

Geburt am: \_\_\_\_\_ SSW: \_\_\_\_\_ normal:  ja  nein  
Besonderheiten: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Kind:      gesund:  ja  nein       männlich  weiblich  
Gewicht: \_\_\_\_\_ Länge: \_\_\_\_\_ KU: \_\_\_\_\_  
Apgar: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ NSA-PH: \_\_\_\_\_  
Besonderheiten: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

20357 Hamburg · Altonaer Straße 63 · Telefon: 040/43 29 26-0 · Fax: 040/43 29 26 20  
e-mail: [info@prae natalzentrum.de](mailto:info@prae natalzentrum.de) · [www.prae natalzentrum.de](http://www.prae natalzentrum.de)

**Abbildung 2**

Darstellung des Fragebogens zur Datenerhebung

### **2.2.2 Karyogramme**

Die Zusammenstellung der Karyogramme (d. h. Darstellung und Beurteilung des Chromosomensatzes) der Kurzzeitkulturen und der Langzeitkulturen erfolgte durch eine befugte MTA sowie einer leitenden Biologin der Praxisgemeinschaft für pränatale Diagnostik und Humangenetik. Nachfolgend wird in Kurzform beschrieben wie man eine Kurz- und Langzeitkultur herstellt.

#### *Kurzzeitkultur-Karyogramme*

Nach der Entnahme von Chorionzotten wird im Labor zunächst eine Gewebekultur aus Zottenstücken angelegt (Kurzzeit-Gewebekultur), an denen nach Inkubation von 6 bis 24 Stunden die sogenannte Kurzzeit-Analyse durchgeführt wird. Analysiert wird der Karyotyp an Zellen aus dem Trophoblast, der die äussere Schicht der Zotten bildet. Ein Ergebnis kann nach 6 bis 48 Stunden erwartet werden.

#### *Langzeitkultur-Karyogramme*

Für eine zweite Karyotypanalyse wird das Choriongewebe mechanisch und enzymatisch in kleine Stücke zerlegt und in eine Zellkultur überführt (Langzeit-Zellkultur). Dort wachsen aus dem inneren Mesenchymkern der Zotten Zellen aus, die ursprünglich aus dem Embryoblast hervorgegangen sind. Die Zellkulturzeit beträgt 6 bis 10 Tage (Genetica-AG 2009).

### **2.2.3 Durchführung**

Zu Beginn der Datenerhebung war lediglich ein Teil der Fragebögen (Rückmeldescheine) von den Patientinnen, ihren betreuenden Gynäkologen beziehungsweise den Krankenhäusern zurückgesandt worden. Ein Teil der Patientinnen konnte telefonisch von mir erreicht und zu den kindlichen Outcome-Daten (Geburtsdatum, Gesund/Nicht Gesund, Entbindungsmodus, Geschlecht, Gewicht, Kopfumfang) sowie Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen befragt werden. Im Laufe der Zeit kamen parallel weitere Rückmeldungen zurück, beziehungsweise die Patientin war anlässlich einer erneuten Schwangerschaft in der Praxis und konnte zu ihrer vorherigen Schwangerschaft befragt werden. Die Daten der verbliebenen

Patientinnen, welche telefonisch nicht erreicht werden konnten, weil die Telefonnummer beispielsweise nicht mehr stimmte, wurden über ihre behandelnden Gynäkologen schriftlich befragt.

Alle Daten wurden in dem Softwareprogramm Viewpoint Version 3.31 erfasst und anschließend in Microsoft Office Excel 2003 transportiert. Alle Befunde der angegebenen Karyotypen wurden aus den humangenetischen Befundberichten des Praxislabors übernommen. Die Daten aus den Fragebögen und die Karyotyp-Ergebnisse wurden dann in einer Excel-Tabelle zusammengeführt, und den Patientinnen wurden Nummern zugeordnet, um den notwendigen Datenschutz zu gewährleisten. Anschließend erfolgte eine EDV-mäßige Datenkontrolle, um einer hohen Fehlerrate sowie einem Datenverlust vorzubeugen.

**Ausgang der Schwangerschaft**

Bei gleichzeitiger Nutzung von FetaDoc werden hier Informationen automatisch bereitgestellt (kursiv gekennzeichnet)

Name  SS-Modus   
Vorname  Information

Entbindung am   
Modus   
Lage   
Blasensprung   
Lebendgeburt

Details Schwangerschaftsverlauf / Geburt...  
Geburtsdauer  Std  
Plazentalösungsstörung   Details...

Outcome (Statistik)  verstorben am   
Blutgruppe  Stat. Aufenthalt von  bis   
Geschlecht   Verlegung Intensivneonatalogie  
 APGAR

Gewicht  g  
Länge  cm  
Kopfumfang  cm  
Pränatale Diagnose

Karyotyp

Arztbrief...  Details Neonatalperiode...  Obduktionsbefund...

Kommentar

Abbildung 3

Darstellung der verwendeten Viewpoint Maske zur Datenspeicherung

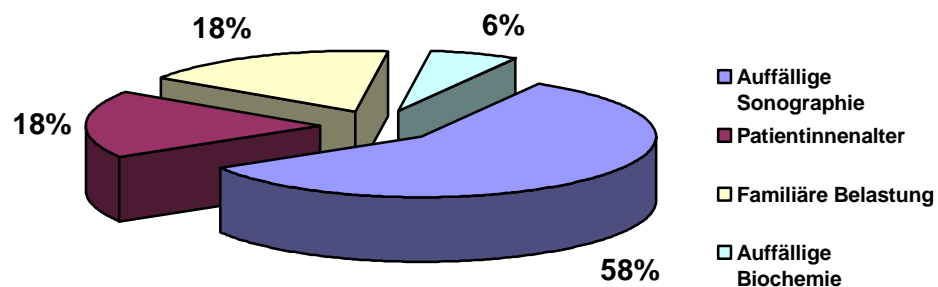
Im Anschluss daran erfolgte schließlich die Analyse, Auswertung und die Interpretation aller Daten. Alle statistischen Berechnungen erfolgten mittels des Excel-Programms.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Response-Rate

Die Gesamtzahl unseres Patientenkollektivs ergab ursprünglich 577, d. h. 577 Chorionzottenbiopsien wurden von 2000 bis 2004 durchgeführt. Von diesen 577 Eingriffen konnten jedoch 529 vollständig dokumentiert werden, da nicht jede Patientin den Fragebogen ausgefüllt hat beziehungsweise nach der Geburt oder dem Schwangerschaftsende nicht mehr erreichbar war. So ergibt sich eine Response-Rate von 91,68%. Die folgenden Auswertungen beziehen sich immer auf die Fallzahl von 529 Chorionzottenbiopsien.

### 3.2 Primäre Beweggründe zur Pränataldiagnostik (CVS)



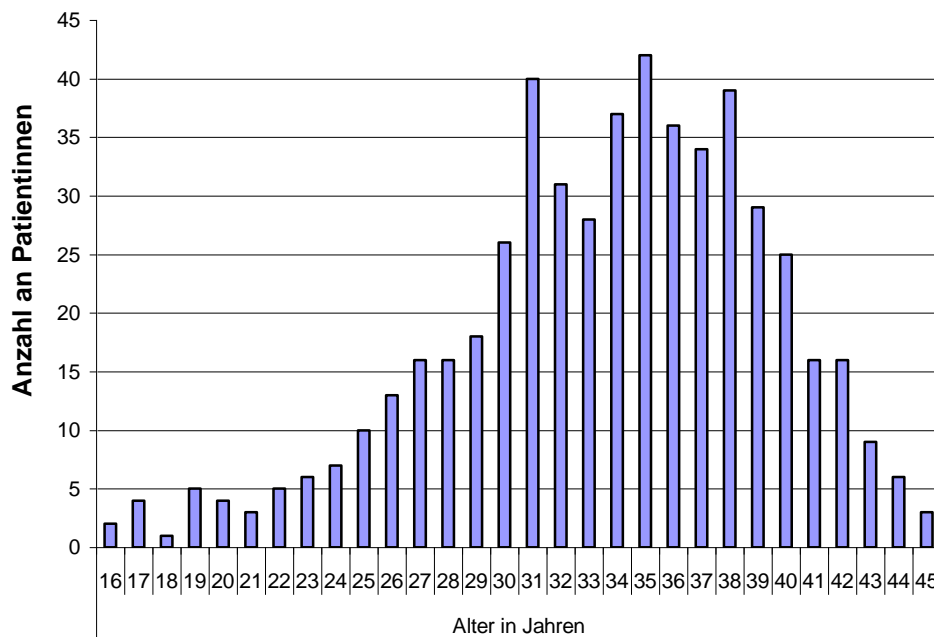
**Abbildung 4**

Prozentuale Verteilung der primären Indikation zur Chorionzottenbiopsie

Abbildung 4 zeigt die primären Beweggründe zur Durchführung einer Chorionzottenbiopsie in unserem Patientenkollektiv. Nach unseren Ergebnissen ergibt sich die Hauptindikation für eine CVS aus einem auffälligen Sonographiebefund mit 58 Prozent. Jeweils 18 Prozent entfallen auf ein erhöhtes Patientinnenalter ( $\geq 35$  Jahre) und familiäre Belastungen wie zum Beispiel ein Kind mit einem Adrenogenitalen Syndrom oder einer

Muskeldystrophie Becker. 6 Prozent der Patientinnen hatten eine auffällige Biochemie, d. h. die mütterlichen Serumparameter PAPP-A und/oder das freie  $\beta$ -HCG waren nicht im Normbereich und erhöhten die Wahrscheinlichkeit für eine Trisomie 13, 18 oder 21 auf 1:300 oder höher.

### 3.3 Altersverteilung



**Abbildung 5**

Prozentuale Verteilung des mütterlichen Alters beim untersuchten Patientenkollektiv (Gesamtanzahl: 529 mit komplett dokumentiertem Outcome)

In unserem Patientenkollektiv sind die Schwangeren zwischen 16 und 45 Jahre alt. Der Median liegt bei 34 Jahren. Die Altersindikation zur vorgeburtlichen Diagnostik besteht ab dem 35. Lebensjahr, da ab diesem Alter das Risiko für eine Trisomie 21 in der 12. SSW größer als 1:300 wird (FMF London Algorithmus 2009).

### 3.4 Zytogenetische Techniken

**Tabelle 1.** Ergebnisse zytogenetischer Techniken

	Anzahl n	%
Totale CVS-Anzahl	529	100
Kurzzeitkulturen	460	87,0
Langzeitkulturen	510	96,4
Kurzzeit- u. Langzeitkulturen	449	84,9
Fehlende Kurzzeitkulturen	69	13,0
Fehlende Langzeitkulturen	19	3,6
<i>Fehlende Kurz- und Langzeitkulturen</i>	4	0,8

In Tabelle 1 werden die Ergebnisse zytogenetischer Techniken zusammengefasst. Es wurden 529 Chorionzottenbiopsien durchgeführt, dabei konnte in 460 Fällen eine Kurzzeitkultur und in 510 Fällen eine Langzeitkultur angelegt werden. In 449 Fällen, d. h. in 84,9% hatte man sowohl eine Kurzzeitkultur als auch eine Langzeitkultur. Daraus folgt, dass in 13% der Fälle keine Kurzzeitkultur erfolgte und in 3,6% der Fälle fehlte die Langzeitkultur. In 4 Fällen konnte weder ein Kurzzeit- oder Langzeitkulturbefund erstellt werden.

In 525 Fällen (99,2%) konnte ein zytogenetisches Ergebnis bestimmt werden. D. h. in 4 Fällen (0,8%) konnte kein zytogenetisches Ergebnis mittels Direktpräparation oder Langzeitkultur ermittelt werden. In 3 dieser Fälle wurde ein fehlendes Wachstum beziehungsweise zu wenig Material als Ursache angegeben, und in einem Fall war das Material kontaminiert. In einem dieser Fälle lag bereits vor CVS eine missed abortion vor, in 2 Fällen kam es zum Spontanabort 13 und 16 Tage nach CVS bei sonographisch nachweisbaren Fehlbildungen und im vierten Fall konnte die Deletion 5p bei einem Frühgeborenen mit multiplen Fehlbildungen postpartal nachgewiesen werden.



Von den 449 Fällen mit einem zytogenetischen Ergebnis in Kurz- und Langzeitkulturen, stimmten in 11 Fällen (2,4%) die Karyotypen in den beiden Kulturtypen nicht überein. Davon wurde in 6 Fällen aus einer unauffälligen Kurzzeitkultur ein auffälliger Langzeitbefund; davon waren 5 Fälle strukturelle Chromosomenaberrationen, welche in den Tabellen 4 und 5 näher betrachtet werden. In einem weiteren Fall handelt es sich um einen Mosaikbefund, welcher zunächst als unauffälliger Chromosomenbefund in der Kurzzeitkultur befundet wurde. Erst in der Langzeitkultur konnte der Mosaikbefund  $\text{mos } 47, \text{XY}, +\text{mar} / 46, \text{XY}$  aufgedeckt werden (Tabelle 6). In 4 Fällen wurde aus einer auffälligen Kurzzeitkultur eine unauffällige Langzeitkultur. Davon sind 3 Fälle zunächst als Mosaikbefunde in der Kurzzeitkultur dokumentiert worden (siehe Tabelle 6), die Karyotypen der Langzeitkulturen waren jedoch unauffällig. Im 4. Fall zeigte der Befund der Kurzzeitkultur  $45, \text{X}$  und in der Langzeitkultur einen unauffälligen männlichen Karyotyp  $46, \text{XY}$ . Bei einer auffälligen Sonographie mit einer erhöhten Nackentransparenz von 3,4 mm, entschied sich die Patientin für einen Abbruch der Schwangerschaft, bevor der Normalbefund in der Langzeitkultur ( $46, \text{XY}$ ) abgewartet wurde. In einem der 11 Fälle gab es numerische Unterschiede bei auffälligen Chromosomenbefunden in beiden Kulturen;  $\text{mos } 47, \text{XX}, +21 / 46, \text{XX}$  in der Kurzzeitkultur versus  $\text{mos } 47, \text{XX}, +21 / \text{mos } 48, \text{XX}, +13, +21$  in der Langzeitkultur (Tabelle 6).

### 3.5 Chromosomenaberrationen

**Tabelle 2.** Autosomale Aneuploidien

<i>Autosomale Aneuploidien</i>	<i>Anzahl</i>	<i>Abbruch</i>	<i>Abort</i>	<i>Fetocid</i>	<i>Lebend-geborenes</i>	<i>Outcome</i>
Trisomie 21	56	49	5	2	0	0
Trisomie 18	24	23	0	0	1	3h †
Trisomie 13	15	13	1	1	0	0
Triploidie						
a) 69,XXX	2	2	0	0	0	0
b) 69,XXY	1	0	1	0	0	0
<b>Gesamtanzahl</b>	98	87	7	3	1	1†

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der autosomalen Aneuploidien. Insgesamt hatten wir 56 Fälle mit einer Trisomie 21, 24 Fälle mit einer Trisomie 18, 15 Fälle mit einer Trisomie 13 und 3 Fälle mit Triploidien. In 89 Fällen (90.8%) der autosomalen Aneuploidien gibt es identische Befunde in den Kurzzeit- und Langzeitkulturen, in 7 Fällen gab es keine Kurzzeitkultur und in 2 Fällen fehlte die Langzeitkultur. Von den 7 fehlenden Kurzzeitkulturen wurden 3 Befunde mittels einer PCR an der Kurzzeitkultur ermittelt und 1 Befund mittels FISH erstellt, die 3 verbliebenden Fälle hatten nur den Befund der Langzeitkultur. Von den 2 fehlenden Ergebnissen der Langzeitkulturen wurde eines durch eine anschließende Amniozentese ermittelt und das andere ohne weiterführende Diagnostik belassen, da die Patientin auf Grund der auffälligen Kurzzeitkultur in Kombination mit einer ausgeprägten fetalen Wachstumsretardierung einen Schwangerschaftsabbruch vornehmen ließ. Die Langzeitkultur zeigte in diesem Fall kein Wachstum.

Insgesamt hatten wir 56 Fälle mit einer Trisomie 21, davon wurden 49 (87,5%) Schwangerschaften elektiv abgebrochen. 5 Patientinnen hatten einen Abort, 2 Aborte bestanden vor der CVS, 2 Aborte traten innerhalb von 14 Tagen nach

der CVS und 1 Abort 28 Tage nach der CVS auf. Weiterhin erfolgten 2 selektive Fetocide in Zwillingschwangerschaften, bei denen ein Fetus eine Trisomie 21, der andere Fetus einen normalen Chromosomensatz aufwies. Das Edwards-Syndrom oder auch die Trisomie 18 wurde in 24 Fällen nachgewiesen. In 23 Fällen (95,8%) erfolgte ein Schwangerschaftsabbruch, eine Patientin entschied sich die Schwangerschaft auszutragen und wurde in der 38. SSW per Sectio entbunden. Das Kind verstarb 3 Stunden postpartal. Das Patau-Syndrom (die Trisomie 13) konnte in 15 Fällen nachgewiesen werden, es erfolgten 13 Schwangerschaftsabbrüche (86,7%) und in einem Fall kam es zu einem IUFT in der 37. SSW. In einer Zwillingschwangerschaft wurde ein selektiver Fetocid vorgenommen, der zweite Geminus zeigte einen normalen Karyotyp. Insgesamt konnten 3 Triploidien festgestellt werden, in 2 Fällen erfolgte ein Schwangerschaftsabbruch und in einem Fall ein Abort 6 Tage nach der CVS.

**Tabelle 3.** Gonosomale Aneuploidien

<i>Gonosomale Aneuploidien</i>	<i>Anzahl</i>	<i>Abbruch</i>	<i>Abort</i>	<i>Fetocid</i>	<i>Lebend-geborenes</i>	<i>Outcome</i>
Klinefelter Syndrom 47,XXY	1	0	0	0	1	o. B.
XYY-Konstitution 47,XYY	2	0	0	0	2	o. B.
Turner Syndrom 45,X	17	15	2	0	0	0
<b>Gesamtanzahl</b>	20	15	2	0	3	2*

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der gonosomalen Aneuploidien. In 18 Fällen (90%) gibt es identische Befunde in den Kurz- und Langzeitkulturen. In 1 Fall gab es kein Ergebnis in der Kurzzeitkultur und in einem weiteren Fall konnte keine Langzeitkultur angelegt werden, da bei der CVS zu wenig Material gewonnen wurde. Beide Patientinnen ließen einen Schwangerschaftsabbruch vornehmen, da im Ultraschall zusätzlich ein ausgeprägtes Hygroma colli nachgewiesen wurde. Die in Tabelle 3 angegebenen Aborte bei Feten mit Turner Syndrom waren 9 und 14 Tage nach der CVS. Ein Zusammenhang mit der CVS muss noch weiter diskutiert werden. Des Weiteren fällt auf, dass von den 17 Chromosomenbefunden mit einem Turner Syndrom 15 Patientinnen einen Abbruch vornehmen ließen. Alle Feten hatten eine deutlich erhöhte Nackentransparenz (Range: 4,6 mm bis 13,6 mm), der Median lag bei 7,2 mm.

**Tabelle 4.** Strukturelle Chromosomenaberrationen

<i>Strukturelle Chromosomenaberrationen</i>	<i>AC bestätigt</i>	<i>Abbruch</i>	<i>Abort</i>	<i>Fetocid</i>	<i>LB</i>	<i>Outcome</i>	<i>K/L</i>
46,XY,del(3)(p25) de novo	ja (b)	1	0	0	0	0	n/p
46,XX,del(6)(q26)	ja (b)	0	1	0	0	0	n/p
46,XX, ins(16;6)(q13;q21q13)pat	nein	0	0	0	1	* o. B.	p/p
46,XX, der(4)t(4;18)(p14q21.3)mat	ja (b)	1	0	0	0	0	n/p
46,XY, der(15)t(Y;15)(q12;p11)pat	nein	0	0	0	1	* o. B.	p/p
46,XX,+13, der(13;14)(q10;q10)mat	nein	1	0	0	0	0	p/p
46,XY,+13, der(13;14)(q10;q10)pat	nein	1	0	0	0	0	p/p
46,XX, +21,der(21;21)	nein	1	0	0	0	0	p/p
46,XY, inv(12)(q15;q23-24)mat	nein	0	0	0	1	* o. B.	n/p
46,XY,t(2;15)(q35;15)pat	nein	0	0	0	1	* o. B.	p/p
47,XY,+mar	ja (b)	0	0	0	1	* o. B.	p/p
<i>Normvarianten</i>							
46,XX,inv(9)(p11q13)	nein	0	0	0	1	* o. B.	p/p
46,XY,inv(9)(p11q13)	nein	0	0	0	1	* o. B.	p/p
46,XY,inv(9)(p11q13)	nein	0	0	0	1	*	-/p
46,XY, 9qh+	nein	0	0	0	2	* o. B.	p/p
46,XY, 9qh+	nein					* o. B.	p/p
46,XX,14ps+	nein	0	0	0	1	* o. B.	n/p
<b>Gesamtanzahl 17</b>	4	5	1	0	11	11*	

Erklärung der verwendeten Abkürzungen: AC - Amniozentese ja oder nein, falls ja, dann auch b für bestätigter Befund, LB - Lebendgeborenes, \* - lebend, o. B.- ohne äußerlich erkennbare Auffälligkeit/Behinderung, K - Kurzzeitkultur, L - Langzeitkultur, n – Karyotyp 46,XX oder 46,XY; p – vom Karyotyp 46,XX oder 46,XY abweichend; - kein Ergebnis; in blauer Schrift Strukturvarianten, der keine klinische Bedeutung zukommen

In Tabelle 4 werden die strukturellen Chromosomenaberrationen dargestellt. Diese entwickeln sich aufgrund von Chromosomenbrüchen. Je nachdem wie oft Chromosomen brechen, entstehen 2 oder mehrere Bruchstücke aus denen bei deren Reparatur Verluste oder falsche Wiederverbindungen der Bruchenden zu unterschiedlichen strukturellen Chromosomenabweichungen führen. Es gibt eine Vielfalt verschiedener Strukturveränderungen z. B. Deletionen, Duplikationen, Inversionen, Insertionen, Translokationen und Ringchromosomen. In 11 von 17 Fällen (64,7%) sind die Karyotypen der Kurz- und Langzeitkulturen identisch. In 5 Fällen zeigt die Kurzzeitkultur einen normalen Karyotyp und erst in der Langzeitkultur werden die feinstrukturellen Chromosomenaberrationen aufgedeckt, d. h. es kam zu falsch negativen Befunden in der Kurzzeitkultur. In einem Fall gab es keine Kurzzeitkultur. 3 der 6 diskrepanten Befunde wurden mittels Amniozentese bestätigt. Eine weitere Amniozentese erfolgte bei übereinstimmenden Befunden bei Vorliegen eines überzähligen, dicentrischen Markerchromosoms zur weiteren Diagnostik. Der abschließende Befund zeigte ein isodicentrisches Derivat vom Chromosom 15, (47,XY,+idic(15)(q11)), wobei keine klinisch relevanten Bereiche nachweisbar waren. In den restlichen 3 Fällen war keine weitere Amniozentese von den Schwangeren gewünscht; zudem bestanden keine sonographischen Auffälligkeiten. Bei den in blauer Schrift geschriebenen Karyotypen handelt es sich um strukturelle Normvarianten, bei denen in der Regel keine Behinderung/Fehlbildung oder ein negativer Einfluss auf die Gesundheit zu erwarten ist.

**Tabelle 5.** Diskrepante Befunde der strukturellen Chromosomenbefunde

	K	n der MP	Färbung / BÄ	BA	Langzeitkultur	n der MP	Färbung / BÄ	BA
1	46,XY	10	Giemsa	-	46,XY,del(3)(p25) de novo	15	GTG, CBG	300 - 400
2	46,XX	11	Giemsa	-	46,XX,del(6)(q26)	14	GTG, CBG	300 - 400
3	46,XX	9	Giemsa	-	46,XX, der(4)t(4;18)(p14q21.3) mat	14	GTG + FISH- SONDE	300 - 400
4	46,XY	16	Giemsa GTG	max · 300	46,XY, inv(12)(q15;q23-24)mat	25	GTG	300 - 400
5	46,XX	11	Giemsa	-	46,XX,14ps+	11	GTG; CBG; NOR	300 - 400
6	-	-	-	-	46,XY,inv(9)(p11q13)	12	GTG, CBG	350

K- Kurzzeitkultur; BA-Bandenauflösung; BÄ- Bänderung; n der MP- Anzahl der Metaphasen; in blauer Schrift Strukturvarianten, der keine klinische Bedeutung zukommen; - kein Ergebnis

In Tabelle 5 werden die in Kurzzeit- und Langzeitkultur nicht übereinstimmenden Karyotypen noch einmal in Zusammenschau der zytogenetischen Analyseverfahren dargestellt. Dabei wird die Anzahl der analysierten Metaphasen mit der dazugehörigen Färbung bzw. Bänderungstechnik unter Angabe der Bandenauflösung angegeben.

Im Fall 1 ergab die Analyse von 10 standardgefärbten (Giemsa) Metaphasen durchgehend einen unauffälligen (numerisch und grob strukturell) männlichen Karyotyp 46,XY. Es wurden zusätzlich 15 spezialgefärbte (GTG, CBG) Metaphasen analysiert, wobei die Beurteilung der Feinstruktur in allen Metaphasen einen verkürzten p-Arm je eines Chromosoms 3 ergab. In einer anschließenden Amniozentese wurden 19 spezialgefärbte Metaphasen aus drei getrennt angezüchteten Trypsinierungskulturen ausgewertet und durchgehend ein männlicher Karyotyp mit einer terminalen Deletion am p-Arm eines Chromosoms 3 festgestellt. Bei dem zu erwartenden Kind lag somit eine partielle Monosomie für den kurzen Arm des Chromosoms 3 (p25->ter) vor.

Im Fall 2 erfolgte aufgrund eines auffälligen Ultraschalls (hoher Schädel, tiefer Ohrenansatz, erhöhte Nackentransparenz von 5,8 mm, Mikrognathie, ein fehlendes Tentorium, eine fehlende Kleinhirndifferenzierung, verbreiteter Pons) eine Chorionzottenbiopsie. Die Analyse ergab von 11 standardgefärbten (Giemsa) Metaphasen durchgehend einen unauffälligen (numerisch und grob strukturell) weiblichen Karyotyp 46,XX in der Direktpräparation. Aus der Langzeitkultur wurden 14 spezialgefärbte (GTG, CBG) Metaphasen analysiert. Es konnte ein numerisch unauffälliger und strukturell auffälliger weiblicher Karyotyp 46,XX,del(6)(q26) dokumentiert werden. Jeweils ein Chromosom 6 zeigte einen verkürzten langen Arm (q-Arm). In einer anschließenden Amniozentese erfolgte die Analyse von 11 spezialgefärbten (GTG-Bänderung) Metaphasen aus getrennt angelegten Amnionzellkulturen und ergab einen numerisch unauffälligen, strukturell auffälligen weiblichen Karyotyp 46,XX,del(6)(q26). Der q-Arm eines Chromosoms 6 wies jeweils eine terminale Deletion auf. Für diesen Chromosomenabschnitt liegt demnach eine Monosomie vor. Sowohl an Zellen aus Chorionzotten als auch an Amnionzellen wurde ein numerisch unauffälliger, strukturell auffälliger Karyotyp 46,XX,del(6)(q26) aufgezeigt. An je einem Chromosom 6 liegt eine terminale Deletion 6q26->qter vor und damit eine Monosomie für diesen Chromosomenabschnitt. Eine molekularcyto-genetische Analyse an Chorionzottengewebe mittels der reversen in situ-Hybridisierung wurde die o. g. Chromosomenaberration verifiziert. Der zytogenetische Befund wurde bestätigt.



Die Lokalisation des Bruchpunktes wurde in Bande 6q26 gelegt. Der auffällige Ultraschallbefund ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Strukturauffälligkeit zurückzuführen.

Im Fall 3 ergab die Analyse von 9 standardgefärbten (Giemsa) Metaphasen durchgehend einen unauffälligen (numerisch und grob strukturell) weiblichen Karyotyp 46,XX. Es wurden zusätzlich 14 spezialgefärbte (GTG) Metaphasen analysiert, in welchen eine Auffälligkeit in der Chromosomenfeinstruktur des Chromosoms 4 auffiel. Parallel dazu erfolgte eine weiterführende Untersuchung mit einer Sonde für die Wolf-Hirschhorn-Region (WHSC1), welche bei dem derivativen Chromosom 4 fehlt. Zusätzlich wurde eine Amniozentese durchgeführt. Es wurden 4 Metaphasen aus drei Zellklonen ausgewertet und der Befund der Chorionzottenbiopsie bestätigt. Es war durchgehend das derivative Chromosom 4 nachweisbar. Die Chromosomenanalyse bei der Mutter ergab, dass diese Trägerin einer balancierten Translokation zwischen je einem Chromosom 4 und 18 ist. Das bei dem zu erwartenden Kind nachgewiesene derivative Chromosom 4 resultiert aus dieser Translokation. Daraus resultiert bei dem Kind ein unbalancierter Chromosomensatz; eine partielle Monosomie für Chromosom 4 (p14->ter) und eine partielle Trisomie für das Chromosom 18 (q21.3->ter).

Im Fall 4 ergab die Analyse von 16 standardgefärbten (Giemsa) Metaphasen durchgehend einen unauffälligen (numerisch und grob strukturell) weiblichen Karyotyp 46,XX. Es wurden zusätzlich 25 spezialgefärbte (GTG) Metaphasen analysiert, diese ergaben einen numerisch unauffälligen und strukturell auffälligen Chromosomenbefund 46,XY,inv(12)(q15;q23-24)mat. Bei jeweils einem Chromosom 12 war eine paracentrische Inversion am q-Arm nachweisbar. Daraufhin erfolgte eine weiterführende Chromosomenanalyse aus dem peripheren Blut der Eltern. Beim Vater war ein strukturell unauffälliger Karyotyp 46,XY nachweisbar. Bei der Mutter war eine, soweit cytogenetisch beurteilbar (Auflösung >500 Banden), mit dem Feten vergleichbare paracentrische Inversion an einem Chromosom 12 nachweisbar. Die Befunde sprechen dafür, dass es sich hierbei um eine familiäre Chromosomenaberration

handelt, der keine klinische Bedeutung für das zu erwartende Kind zukommen dürfte.

Im Fall 5 ergab die Analyse von 11 standardgefärbten (Giemsa) Metaphasen durchgehend einen unauffälligen (numerisch und grob strukturell) weiblichen Karyotyp 46,XX. Aus der Langzeitkultur wurden 11 spezialgefärbte (GTG, CBG, NOR) Metaphasen analysiert. Das Ergebnis spricht mit hoher Wahrscheinlichkeit für einen normalen Chromosomensatz. Es fand sich kein Hinweis auf eine numerische und strukturelle Chromosomenaberration. Als Nebenbefund wurden an einem der beiden Chromosomen 14 vergrößerte Satelliten nachgewiesen (14ps+). Hierbei handelt es sich um eine Normvariante der keine klinische Bedeutung beigemessen wird.

Fall 6 gab es keine Kurzzeitkultur; sodass der Karyotyp auf der Analyse der Langzeitkultur basiert. Aus der Langzeitkultur wurden 12 spezialgefärbte (GTG, CBG) Metaphasen analysiert. Das Ergebnis spricht mit hoher Wahrscheinlichkeit für einen normalen Chromosomensatz. Es fand sich kein Hinweis auf eine numerische und strukturelle Chromosomenaberration. Als Nebenbefund wurde an einem der beiden Chromosomen 9 eine pericentrische Inversion (inv(9)) nachgewiesen. Hierbei handelt es sich um eine Normvariante (46,XY,inv(9)(p11q13)) der keine klinische Bedeutung beigemessen wird. Nach Geburt wurde eine schwere Hör- und Sehbehinderung festgestellt, welche nicht auf die Inversion im Chromosom 9 zurückzuführen ist.

**Tabelle 6.** Mosaikbefunde

Mosaikbefund	Kurzzeit	Langzeit	AC	Abbruch	Abort	LB	Outcome
mos 45,X, inv(9) / 46,XX,inv(9)	-	mos 45, X,inv(9) / 46,XX,inv(9)	-	Ja Hygro- ma colli, NT 11,6mm	Nein	Nein	-
mos 47,XX, +21 / 46,XX	-	mos 47, XX,+21 / 46,XX	Ja, 46,XX	Nein NT 3,7mm	Nein	Ja	Gesund
mos 47, XX,+21 / 46,XX	mos 47, XX,+21 / 46,XX	mos 47, XX,+21 / 46, XX	Ja, Trisomie 21 bestätigt	Ja NT 4,2mm	Nein	Nein	-
mos 47, XX,+21 / mos 48, XX,+13, +21	mos 47, XX,+21 / 46,XX	mos 47, XX,+21 / mos 48, XX,+13, +21	-	Ja NT 5,4mm	Nein	Nein	-
mos 47,XY, +mar / 46,XY	46,XY	mos 47, XY,+mar / 46,XY	-	Nein Kardio- megalie, Ascites, NT normal	Ja	Nein	-

## Ergebnisse

Mosaikbefund	Kurzzeit	Langzeit	AC	Abbruch	Abort	LB	Outcome
mos 92, XXYY / 46,XY	mos 92, XXYY / 46,XY	46,XY	Nein, da in LZ kein Hinweis auf Tetraploi- diemosaik	Nein	Nein	Früh- geburt, jedoch Zwilling- SSW	Gesund
mos 92, XXXX / 46,XX	mos 92, XXXX / 46,XX	46,XX	Ja, 46,XX; damit Ausschluss des Mosaiks	Nein	Nein	Ja	Gesund
mos 92, XXXX / 46,XX	mos 92, XXXX / 46,XX	46,XX	Nein, da in LZ kein Hinweis mehr auf Tetraploi- diemosaik	Nein	Nein	Ja	Gesund

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der 8 Mosaikbefunde, welche in unserem Patientenkollektiv diagnostiziert wurden. Nur ein Befund stimmt in der Kurzzeit- und Langzeitkultur überein und wurde zusätzlich mit einer Amniozentese bestätigt. Von den 2 auffälligen Langzeitkulturbefunden, welche keine Kurzzeitbefunde haben, konnte bei einem durch eine Kontrollamniozentese ein gesunder weiblicher Chromosomensatz befundet werden. Der auffällige Chromosomenbefund in der Langzeitkultur ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf ein Plazenta beschränktes Mosaik zurückzuführen und konnte somit durch die folgende Amniozentese nicht bestätigt werden. Bei dem Turnermosaik (mos 45,X,inv(9) / 46,XX,inv(9)) erfolgte keine weitere Kontrollamniozentese. Da der Fetus ein ausgeprägtes Hygroma colli aufwies, entschied sich die Patientin für einen zeitnahen Abbruch der Schwangerschaft. Weitere 5 Fälle stimmten in Kurz- und Langzeitkultur nicht überein, davon war

in 3 Fällen eine auffällige Kurzzeitkultur, welche in der Langzeitkultur nicht bestätigt werden konnte, d. h. es handelt sich im Hinblick auf den kindlichen Chromosomenstatus um falsch positive Befunde. In einem weiteren Fall war ein unauffälliger Chromosomenbefund in der Kurzzeitkultur und erst in der Langzeitkultur konnte der Mosaikbefund mos 47, XY,+mar / 46,XY nachgewiesen werden, d. h. es handelt sich um einen falsch negativen Befund. Und in einem Fall gab es numerische Unterschiede zwischen Kurzzeit- und Langzeitbefund (mos 47,XX,+21 / 46,XX im Vergleich zu mos 47, XX,+21 / mos 48,XX,+13,+21).

Insgesamt traten 143 Fälle mit Chromosomenaberrationen auf, dass entspricht 27% unseres Patientenkollektivs. Davon entschieden sich 79% (n=113) der Patientinnen für einen Schwangerschaftsabbruch, 7,7% (n=11) erlitten einen Abort und 13,3% (n=19) der Kinder wurden lebend geboren.

### 3.6 Schwangerschaftsverlauf und Komplikationen nach CVS

**Tabelle 7.** Schwangerschaftsverlauf

<b>Fälle insg. mit Outcome</b>	<b>Schwangerschafts-Abbrüche</b>	<b>Fortlaufende Schwangerschaften</b>	<b>Aborte vor CVS</b>	<b>Aborte nach CVS</b>	<b>Entbunden</b>	<b>Perinatal Verstorben (3h - 1 Woche)</b>
529	161	364	4	40	324	7

Tabelle 7 stellt eine Zusammenfassung der Schwangerschaftsverläufe im Patientenkollektiv dar. Es erfolgten 161 Schwangerschaftsabbrüche, 44 Aborte und 324 Kinder wurden entbunden, 7 Kinder verstarben in der ersten Lebenswoche( $\Sigma = 529$ ).

### 3.6.1 Schwangerschaftsabbrüche im Gesamtkollektiv

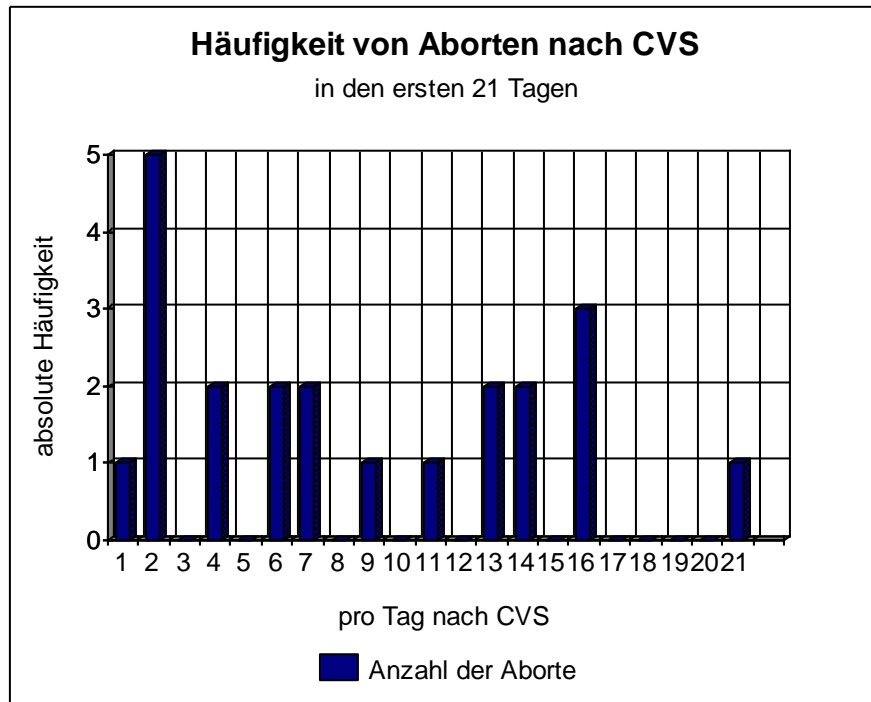
**Tabelle 8.** Übersicht für Schwangerschaftsabbrüche für Gesamtkollektiv (n= 529)

<b>Ursachen</b>	<b>Schwangerschaftsabbrüche</b>
<b>Autosomale Aneuploidien</b>	<b>90 (55,9%)</b>
a) Trisomie 21	51
b) Trisomie 18	23
c) Trisomie 13	14
d) 69,XXX	2
<b>Gonosomale Aneuploidien</b>	<b>15 (9,3%)</b>
Turner Syndrom	15
<b>Strukturelle Chromosomenaberrationen</b>	<b>5 (3,2%)</b>
<b>Mosaikbefunde</b>	<b>3 (1,9%)</b>
<b>Schwere Fehlbildungen / monogen erbliche Erkrankungen</b>	<b>46 (28,5%)</b>
<b>Andere</b>	<b>2 (1,2%)</b>
<b>Gesamt</b>	<b>161 (100%)</b>

Tabelle 8 zeigt eine detaillierte Aufschlüsselung der Ursachen für die 161 Schwangerschaftsabbrüche, welche bei 30,4% des Patientenkollektivs auf Wunsch der Patientinnen erfolgten. In 55,9% der Schwangerschaftsabbrüche lag eine autosomale Aneuploidie und in 28,5% lagen schwere Fehlbildungen oder monogen erbliche Erkrankungen vor. Die drittgrößte Gruppe betrifft das Turner Syndrom mit 9,3% der Schwangerschaftsabbrüche. Warum sich so viele Schwangere für einen Abbruch entschieden, ist in der nachfolgenden

Diskussion noch näher zu betrachten, insbesondere die sehr hohen Fallzahlen bei der Trisomie 21 und dem Turner Syndrom.

### 3.6.2 Aborthäufigkeit nach CVS



**Abbildung 6:**

Dargestellt wird die absolute Häufigkeit von Aborten pro Tag nach CVS innerhalb der ersten 21 Tage.

In unserem Patientenkollektiv ist es in den ersten 21 Tagen nach CVS zu 22 Aborten gekommen. Dies entspricht einer Häufigkeit von 4,2%, in 8 der 22 Fälle wurde eine Chromosomenaberration nachgewiesen. Die restlichen 14 Fälle (2,6%) zeigten einen unauffälligen Karyotyp. In der Literatur werden verschiedene Nachbeobachtungszeiträume für Spontanaborte nach CVS angegeben und diskutiert, sodass direkte Vergleiche der Ergebnisse schwierig sind. Häufig bezieht man sich auf eine Nachbeobachtungszeit von 3 Wochen nach CVS, wie z. B. Papp et al. 2002.

**Tabelle 9.** Kumulative Abortrate nach CVS (2000-2004) bei 529 Fällen

<b>CVS in SSW</b>	<b>Fälle</b>	<b>W 0</b>	<b>W 1</b>	<b>W 2</b>	<b>W 3</b>	<b>W 4</b>	<b>W 5</b>	<b>W 6</b>	<b>W 7</b>	<b>W 8</b>	<b>W 9</b>	<b>W 10</b>	<b>W ≥11</b>	<b>Total</b>	<b>Aborte 0-3 W</b>
10	4													0	0
11	26												1	1	0
12	162		1	2	2	2	1	1	1				4	14	5
13	181		6	2	1	1			2				2	14	9
14	108		5	2										7	7
15	27												2	2	0
16	7													0	0
17	2													0	0
18	2													0	0
19	2				1									1	1
20	1													0	0
21	2													0	0
22	2													0	0
23	1													0	0
<b>Total</b>	<b>528</b>	0	12	6	4	3	1	1	3	0	0	0	9	39	22
														(7,4%)	(4,2%)
> 24	1					1								1	0
<b>Total</b>	<b>529</b>	0	12	6	4	4	1	1	3	0	0	0	9	<b>40</b>	<b>22</b>
														<b>(7,6%)</b>	<b>(4,2%)</b>

Tabelle 9 stellt die kumulative Abortanzahl bezogen auf die Schwangerschaftswoche zum Zeitpunkt der CVS und den Zeitpunkt des Aborts nach CVS dar. In 40 Fällen (7,6%) kommt es zum Abort, davon sind 22 Fälle (4,2%) innerhalb von 21 Tagen nach der CVS.



**Tabelle 10.** Kumulative Abortrate nach CVS und Gegenüberstellung zur allgemeinen Spontanabortrate nach Hoesli et al. 2001, Harlap et al. 1980 und Tabor et al. 2009 bezogen auf die Schwangerschaftswoche

<i>CVS in SSW</i>	<i>Aborte 0-14 Tage nach CVS</i>	<i>Aborte 15-21 Tage nach CVS</i>	<i>Aborte 0-21 Tage nach CVS</i>	<i>Aborte Gesamt 0 bis ≥11 Wochen nach CVS</i>	<i>Spontan- abortrate nach Hoesli *</i>	<i>Spontan- abortrate nach Harlap*</i>	<i>Spontan- abortrate nach Tabor*</i>
10	0	0	0	0	k. A.	k. A.	k. A.
11	0	0	0	1 (0,2%)	3,4%	6,0%	} 3,1%
12	3 (0,6%)	2 (0,4%)	5 (1,0%)	14 (2,6%)	3,0%	4,8%	
13	8 (1,5%)	1 (0,2%)	9 (1,7%)	14 (2,6%)	2,3%	3,9%	
14	7 (1,3%)	0	7 (1,3%)	7 (1,3%)	1,9%	3,2%	
15	0	0	0	2 (0,4%)	1,6%	2,8%	
16	0	0	0	0	1,2%	2,4%	} 0,9%
17	0	0	0	0	1,0%	2,1%	
18	0	0	0	0	0,8%	1,8%	
19	0	1 (0,2%)	1 (0,2%)	1 (0,2%)	0,7%	1,6%	
20	0	0	0	0	0,6%	1,4%	
21	0	0	0	0	k. A.	k. A.	} 0,9%
22	0	0	0	0	k. A.	k. A.	
23	0	0	0	0	k. A.	k. A.	
Total	18 (3,4%)	4 (0,8%)	22 (4,2%)	39 (7,4%)			
> 24	0	0	0	1 (0,2%)			
<b>Total ∑</b>	<b>18 (3,4%)</b>	<b>4 (0,8%)</b>	<b>22 (4,2%)</b>	<b>40 (7,6%)</b>	16,5%	30%	4,0%

Tabelle 10 stellt eine Zusammenfassung der Aborte 2 und 3 Wochen nach CVS, bzw. die Gesamtanzahl der Aborte in der jeweiligen

Schwangerschaftswoche zum Zeitpunkt der CVS in unserem Patientenkollektiv dar. Zusätzlich erfolgt in den letzten 3 Spalten (Spontanabortrate nach Hoesli\* Harlap\*, und Tabor\*) eine Gegenüberstellung der Zahlen von Spontanaborten aus nicht selektierten Populationen.

In unserem Patientenkollektiv wurden 90,2% aller Chorionzottenbiopsien in der 11.-14. Schwangerschaftswoche durchgeführt. Das Abortrisiko in unserem Patientenkollektiv liegt in der 11. Schwangerschaftswoche bei 0,2%, in der 12. und 13. Schwangerschaftswoche bei jeweils 2,6% und in der 14. SSW bei 1,7% bezogen auf die Gesamtzeit der Schwangerschaft. Bezogen auf eine Nachbeobachtungszeit von bis zu 3 Wochen nach CVS in der 11. Schwangerschaftswoche bei 0%, in der 12. Schwangerschaftswoche bei 1,0% und 13. Schwangerschaftswoche bei 1,7% und in der 14. SSW bei 1,3%.

Das Abortrisiko für eine Nachbeobachtungszeit von 3 Wochen nach CVS beträgt 4,2% und für die gesamte Nachbeobachtungszeit 7,6%. Es handelt sich um ein Hoch-Risiko-Kollektiv, da es sich um ein Einweiserzentrum mit schwierigen sonographischen Fragestellungen handelt. Demgegenüber stehen die Zahlen von Hoesli und Harlap, welche wesentlich höhere Spontanabortzahlen angeben, ohne dass die Patientinnen einen invasiven Eingriff hatten.

Im Kollektiv von Hoesli et al. lag das mütterliche Alter der Patientinnen zwischen 16 und 46 Jahren. 76,6% der Schwangeren waren jünger als 30 Jahre und 94,8% jünger als 35 Jahre. Das mittlere Alter der Schwangeren mit Abort lag bei 28,3 ( $\pm 5,9$ ) Jahren, ohne Abort bei 26,4 ( $\pm 4,4$ ) Jahren. Dabei handelte es sich um Patientinnen kaukasischer Herkunft aus 2 Praxen, welche von einem Arzt untersucht wurden. Eingeschlossen wurden alle Patientinnen mit einer intakten intrauterinen Schwangerschaft vor der 12. Schwangerschaftswoche, welche durch eine Sonographie bestätigt wurde, ohne erhöhtes Risiko für einen Abort. Ausgeschlossen wurden Patientinnen mit multiplen Schwangerschaften, nicht vitale oder ektipe Schwangerschaften, welche bei der sonographischen Erstuntersuchung dokumentiert wurden, und/oder Schwangerschaften, welche die 1. Sonographie nach der 12.

Schwangerschaftswoche hatten. Es handelt sich um ein niedrig-Risiko-Kollektiv, welches bis zur Geburt oder dem Abort nachverfolgt wurde.

Das Kollektiv von Harlap setzt sich aus allen Schwangeren zusammen, die Mitglied des Kaiser Health Plans in Northern California waren. Diese stellten sich zur 1. Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchung vor und wurden nach Ausbleiben von 2 Perioden eingeschlossen. Ausgeschlossen wurden Patientinnen, mit unklarem Datum der letzten Periode, und Patientinnen, welche sich erst im 3. Trimester vorstellten. Das mittlere mütterliche Alter lag bei  $26,5 \pm 4,8$ . Es handelte sich um 68,4% Kaukasier, 10,1% hispanischer Herkunft, 9,3% Afroamerikaner, 6,8% asiatischer Herkunft und 5,4% unklarer Rasse. Es handelte sich um ein nicht selektiertes Kollektiv.

In der letzten Spalte sind Ergebnisse aus einer 11-jährigen nationalen Registry Study aus Dänemark dargestellt. Tabor et al. hatten die Daten von 633308 Schwangeren analysiert, welche keine invasive Diagnostik zwischen 1996 und 2006 hatten. Zwischen der 11. und 24. SSW kam es zu 25063 Aborten, das entspricht einer Abortrate von 4%, davon waren im Zeitraum von der 15. bis zur 24. SSW nur 0,9% der Aborte. Weitere Angaben zu diesem Kollektiv bezüglich mütterlichem Alter, Rasse, etc. wurden nicht gemacht. Es wurden jedoch auch die Abortraten nach CVS bei 31355 Schwangeren dokumentiert. In diesem Kollektiv war das mütterliche Alter zwischen 16 und 50 Jahren. Die Altersgruppenverteilung war wie folgt: eine CVS für die Altersgruppe 31-35 Jahre wurde bei 29,2% und für die Altersgruppe 36-40-jährigen bei 51% durchgeführt. Das Abortrisiko nach CVS lag bei 1,9% und zeigte keinen direkten Zusammenhang zum Alter der Schwangeren.

### 3.6.3 Komplikationen nach CVS

#### 3.6.3.1 Aborte

**Tabelle 11.** Anzahl der Aborte bei und ohne Chromosomenaberration nach CVS in Bezug auf 529 dokumentierte Fälle

<b>Komplikationen</b>	<b>Anzahl n</b>	<b>Aborte bei Chromosomen- aberration (n=143)</b>	<b>Aborte ohne Chromosomen- aberration (n=382)</b>
Gesamtzahl der Aborte nach CVS	40	11 (7,7%)	29 (7,6%)
Aborte ≤ 21 Tage nach CVS ( <i>Range: 1-21 Tage</i> ), Median: 7	22	8 (5,6%)	14 (3,7%)
Aborte > 21Tage nach CVS ( <i>Range: 22-90 Tage</i> ), Median: 37	18	3 (2,1%)	15 (3,9%)

Tabelle 11 stellt eine weitere Aufschlüsselung der Aborte dar. Insgesamt kam es zu 11 Aborten (27%) bei Vorliegen einer Chromosomenaberration und 29 Aborten (73%) bei Feten ohne Chromosomenaberration. In der nachfolgenden Tabelle 12 sind mögliche Ursachen für die Aborte in der Gruppe ohne Chromosomenaberration genauer dargestellt.

**Tabelle 12.** Aborte ohne Chromosomenaberration (Anzahl n=29)

	<b>Anzahl n</b>	<b>%</b>
<b>Pränataldiagnostische Befunde</b>	<b>19</b>	<b>65,5</b>
Erhöhte Nackentransparenz (Range: 3-7,4 mm) ohne pathologischen Chromosomenbefund	7	24,1
Schwere Fehlbildungen in Kombination mit einer erhöhten Nackentransparenz	6	20,7
Schwere Fehlbildungen ohne erhöhte Nackentransparenz	6	20,7
<b>Befunde unklarer Relevanz</b>	<b>10</b>	<b>34,5</b>
Sichelzellanämie (familiäre Belastung)	1	3,5
Thalassämie minor (heterozygot/homozygot), familiäre Belastung	2	6,8
Septale Granulomatose (familiäre Belastung)	1	3,5
Unklare Bradykardie nach CVS	1	3,5
Keine Angabe	5	17,2
<b>Gesamt</b>	<b>29</b>	<b>100</b>

Tabelle 12 stellt eine Zusammenfassung der 29 Aborte ohne Chromosomenaberration dar. In 13 Fällen war eine erhöhte Nackentransparenzmessung dokumentiert. In 6 der 13 Fälle war die erhöhte Nackentransparenz mit einer schweren Fehlbildung kombiniert. Des Weiteren gab es familiäre Belastungen wie die Sichelzellanämie, Thalassämie minor und eine septale Granulomatose ohne direkten kausalen Zusammenhang für einen Abort. In einem Fall kam es zur unklaren Bradykardie nach CVS und in 5 Fällen wurden keine Auffälligkeiten dokumentiert.

### 3.6.3.2 Weitere Komplikationen nach CVS

**Tabelle 13.** Weitere Komplikationen in Bezug auf 529 dokumentierte Fälle

Komplikationen	Anzahl n	Outcome	%
Fruchtwasserabgang	2	1 Abort 41d nach CVS; 1 LB gesund	0,4
Blutung	1	1 LB gesund	0,2
Extremitätenfehlbildung	0	0	0
Plazentahämatom	0	0	0

LB – Lebendgeborenes

Tabelle 13 stellt weitere Komplikationen nach CVS dar. In unserem Patientenkollektiv kam es zu einer Blutung, welche für die nachfolgende Entwicklung des Fetus keine Bedeutung hatte. Des Weiteren kam es zu 2 Fruchtwasserabgängen, wobei es in einem Fall 41 Tage nach CVS zu einem Abort kam. Zum Zeitpunkt der CVS bestand eine erhöhte Nackentransparenz beim Fetus (3,3 mm in 11+4 SSW) und ein Uterus myomatosus bei der Schwangeren, welcher das Fortbestehen der Schwangerschaft zunehmend beeinträchtigte und im Verlauf häufig zu Blutungen und schließlich zum Abort führte. Im zweiten Fall mit Fruchtwasserabgang normalisierte sich die Fruchtwassermenge nach einer Woche und der Fet wurde gesund geboren.

## 4 Diskussion

Die pränatale Diagnostik nimmt einen immer größer werdenden Stellenwert in der Betreuung Schwangerer und ihrer ungeborenen Kinder ein, da durch sie frühzeitig Fehlbildungen und Erkrankungen diagnostiziert werden können.

Das Patientenkollektiv besteht aus Schwangeren zwischen dem 16. und 45. Lebensjahr und liegt im Mittel bei 34 Jahren. Das erhöhte mütterliche Alter stellte früher in vielen Pränatalzentren die häufigste Indikation für eine Chorionzottenbiopsie dar (Papp et al. 2003, Sohn und Holzgreve 1995, Ammala et al. 1993). In unserem Patientenkollektiv war die Hauptindikation für eine CVS ein auffälliger Sonographiebefund (58%). Jeweils 18 Prozent entfielen auf ein erhöhtes maternales Alter ( $\geq 35$  Jahre) und familiäre Belastungen wie zum Beispiel ein vorangegangenes Kind mit einer Chromosomenstörung, elterliche balancierte Chromosomenstörungen und Erbkrankheiten wie Thalassämien, Muskeldystrophien, Chondrodysplasien, Adrenogenitales Syndrom und Morbus Krabbe. Circa 6 Prozent der Patientinnen hatten eine auffällige Biochemie, d. h. die mütterlichen Serumparameter PAPP-A und/oder das freie  $\beta$ -HCG waren nicht im Normbereich und erhöhten die Wahrscheinlichkeit für ein fetale Trisomie auf 1:300 oder höher. Beobachtet man die Ultraschallindikation und die Altersindikation im zeitlichen Verlauf, so wird deutlich, dass die Ultraschallindikation einen immer wichtigeren Stellenwert einnimmt. Dies mag an einer Verbesserung der Ultraschallgerätequalität liegen, aber maßgeblich erscheint die zunehmende Erfahrung der Untersucher hinsichtlich der differenzierten Sonographie in der 12.-14. SSW. Durch die nun mögliche frühe Erkennung von fetalen Fehlbildungen und Erkrankungen kommt der Möglichkeit der Chorionzottenbiopsie zur Abklärung des fetalen Chromosomensatzes eine große Bedeutung zu.

Die Amniozentese und die Chorionzottenbiopsie, welche im Laufe der Jahre immer weiter optimiert wurden, unterscheiden sich neben der unterschiedlichen Methodik hauptsächlich darin, dass sie zu verschiedenen Zeitpunkten in der Schwangerschaft angewendet werden. Die Chorionzottenbiopsie wird in der Regel zwischen der 11. und 14. Schwangerschaftswoche durchgeführt,

während die Amniozentese erst ab der 16. Schwangerschaftswoche empfohlen wird. Zahlreiche Studien haben diese beiden Methoden immer wieder verglichen und deren Vor- und Nachteile aufgezeigt. Und so konnten Mujezinovic et al. 2007 und Tabor et al. 2010 zeigen, dass es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der eingriffsbedingten Abortrate (0,5-1%) nach CVS und Amniozentese gibt. Beide Methoden sind daher etwa gleich sicher in der Hand eines erfahrenen Untersuchers. Entscheidende Vorteile der CVS liegen im frühen Untersuchungszeitpunkt, so kann ein aus medizinischer Indikation eingeleiteter Schwangerschaftsabbruch zu einem früheren Zeitpunkt weniger risikoreich für die Schwangere sein (Fletcher 1986), und die psychischen Folgen nach einem Schwangerschaftsabbruch bei fortgeschrittener Schwangerschaft können schwerwiegender sein, als in der Frühschwangerschaft (Blumberg et al. 1975, Brambati et al. 2002).

### 4.1 Komplikationen nach CVS

#### 4.1.1 Aborte

Das Risiko eines Abortes konnte durch die ultraschallkontrollierte transabdominale Entnahme deutlich verringert werden. Zahlreiche Pilotstudien hatten gezeigt, dass die transzervikale Entnahme deutlich höhere Abortrisiken bedingt als die transabdominale Punktion (Alfirevic et al. 2003, Scott et al. 2002). In einer Kohortenstudie konnten Tabor et al. 2009 zeigen, dass das eingriffsbedingte Abortrisiko nach einer CVS bis zur 24. SSW bei 1,9% liegt. In dieser Studie waren jedoch die Indikationen für eine CVS deutlich andere als in unserem Kollektiv. So waren die Hauptindikationen mit 58% das mütterliche Alter, zu 25% eine familiäre Belastung und nur zu 10,8% ein auffälliger Ultraschall maßgeblich. Im Vergleich dazu war unsere Hauptindikation zu 58% der auffällige Ultraschall, gefolgt von 6% auffälliger Biochemie und zu jeweils 18% das erhöhte mütterliche Alter und eine familiäre Belastung. Da Feten mit einem auffälligen Ultraschall und/oder einer pathologischen maternalen Biochemie ein höheres Risiko für Erkrankungen aufweisen, kann dies die Gesamtabortrate von 7,6% in unserem Kollektiv erklären. Ein auffälliger



Ultraschall wird im Pränatalzentrum sehr streng definiert: das sind nicht nur Patientinnen mit einer erhöhten Nackentransparenz und/oder einer auffälligen Biochemie. Bei allen Patientinnen wird eine ausführliche Sonographie einschließlich aller Zusatzmarker (Nasenbein, Trikuspidalklappe, Ductus venosus) und der Beurteilung struktureller Fehlbildungen durchgeführt. Und das ermöglicht eine Beschränkung der invasiven Diagnostik mittels Chorionzottenbiopsie, auf Schwangerschaften mit deutlich erhöhtem Erkrankungsrisiko des Feten.

Eine randomisierte Studie zur Abortrate nach CVS, welche aus einer Kontrollgruppe ohne invasive Diagnostik und einer Gruppe mit invasiver Diagnostik (CVS) besteht, ist bislang nicht durchgeführt worden, da die Randomisierung in den Arm der Studie ohne invasiven Test für Patientinnen mit einem auffälligen Befund oder einer auffälligen Anamnese ethisch nicht akzeptabel wäre. Eine Cochrane Analyse von Amniozentese und CVS zeigt, dass die Gesamtabortrate (0,5-1%) nach transabdominaler CVS vergleichbar mit einer Amniozentese im 2. Trimester ist (Tabor et al. 2010). Zusätzlich ist es schwierig, die spontane Abortrate in der Normalbevölkerung zu erheben, da die Definition des Beginns einer vitalen Schwangerschaft, die Definition des Abortes und der Zeitraum der Untersuchung in den Studien variieren (Hoesli et al. 2001). In Dänemark wurde 2009 von Tabor und Kollegen anhand von 633308 Schwangerschaften ohne invasive Testung, versucht eine Spontanabortrate zu erheben. Obwohl der Beginn der Schwangerschaft nicht genau definiert werden konnte, traten bei 25063 Schwangerschaften, in denen theoretisch eine CVS indiziert gewesen wäre, zwischen der 11. und 24. Schwangerschaftswoche, Fehlgeburten auf. Dies entsprach einer Fehlgeburtsrate von 4%. Bei den Schwangeren, die in der 15. Schwangerschaftswoche eine intakte Gravidität aufwiesen und eine Amniozentese hätten durchführen können, traten 5692 Fehlgeburten auf (0,9%). Aus diesen Daten könnte eine Spontanabortrate von 3,1% in der 11. - 15. SSW, die unserem Kollektiv entsprechen, abgeleitet werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Hoesli et al. und Harlap et al.. So beschreibt z. B. Hoesli et al. 2001, die Spontanabortrate zwischen der 11.-14. SSW,

jeweils zwischen 3,4 und 1,9%, Harlap et al. zwischen 4,8 und 3,2% ohne dass ein invasiver Eingriff erfolgte. In unserem Patientenkollektiv lag die Abortrate zwischen 0,2 und 2,6% zum vergleichbaren Zeitpunkt. Dennoch ist ein Direktvergleich der Kollektive kritisch zu bewerten, da es sich um nicht selektierte beziehungsweise niedrig-Risiko-Kollektive handelt, welche sich v. a. in den Altersgruppen der Kollektive unterscheiden. Die Vergleichsgruppen ohne invasiven Eingriff waren etwas jünger als die Patientinnen mit CVS in unserem Kollektiv.

Es fällt auf, dass etwa 73% der Aborte nicht mit den viel beschriebenen Chromosomenaberrationen vergesellschaftet sind. Tabelle 12 fasst diese Gruppe und ihre Begleiterkrankungen und Auffälligkeiten noch einmal zusammen. Hierbei handelt es sich um andere schwerwiegende Erkrankungen, welche nicht mit einem auffälligen Karyotyp einhergehen. Dazu gehören verschiedene Erbkrankheiten und Fehlbildungen wie z. B. Herzfehler, Hydrocephali, Hirnfehlbildungen und andere schwere Organfehlbildungen, welche auf Dauer nicht mit dem Leben vereinbar waren. Die große Anzahl in unserem Kollektiv ist damit zu erklären, dass es sich bei unserem Institut um ein Einweiserzentrum handelt, welches sich mit schwierigen sonographischen Fragestellungen und unter anderem mit Erbkrankheiten beschäftigt.

### 4.1.2 Weitere Komplikationen nach CVS

Neben dem Abort gibt es noch weitere eingriffsbedingte Komplikationen nach einer CVS. Die häufigsten in der Literatur beschriebenen sind Fruchtwasserabgang, Blutungen, Plazentahämatome und Extremitätenfehlbildungen. Anfang der 90er Jahre wurden einige Studien veröffentlicht, welche Extremitätenfehlbildungen nach CVS beschrieben (Burton et al., Firth et al. 1994). Firth et al. 1997 kam schließlich zu der Erkenntnis, dass je eher in der Schwangerschaft eine CVS durchgeführt wird, umso größer ist die Wahrscheinlichkeit für eine Extremitätenfehlbildung. Eine CVS ab der 11. SSW gilt heute als sicher, da zu diesem Zeitpunkt bereits die Extremitätenentwicklung abgeschlossen ist, so Papp et al. 2003. In dem hier

untersuchten Patientenkollektiv wurden alle Chorionzottenbiopsien nach der 10. SSW durchgeführt, dabei sind keine Extremitätenfehlbildungen aufgetreten. Papp et al. beschreibt einen weiteren Faktor, der eingriffsbedingte Komplikationen beeinflusst, die Erfahrung des Untersuchers. Sind die Untersucher gut ausgebildet und führen diese Eingriffe regelmäßig durch, so ist auch die Komplikationsrate geringer.

In unserem Patientenkollektiv gab es, abgesehen von der Abortrate, keine gravierenden Komplikationen nach der CVS, die das Fortbestehen der Schwangerschaft beeinträchtigt hätten (siehe Tabelle 13).

## 4.2 Zuverlässigkeit der Kurz- und Langzeitkulturbefunde bei Chromosomenaberrationen

### 4.2.1 Mosaik

Miny et al. 1991b geben an, dass nach ihrer Erfahrung eine Chromosendiagnostik mittels CVS ein höheres Risiko für Mosaikbefunde darstellt, als die Diagnostik aus Amnionzellen (1% vs. 0,1-0,3%). Diese Mosaikbefunde seien als überwiegende Ursache aller diskrepanten Befunde (sogenannte falsch-negativer bzw. falsch-positiver Befunde) anzusehen. Wobei sich die falsch-negativen Befunde, d. h. eine beim Kind vorhandene Chromosomenstörung konnte nicht aufgedeckt werden, lediglich auf die Analyse nach der so genannten Direktpräparation stützten, so Miny et al. 1991b, Kalousek et al. 1989 und Schlesinger et al. 1990. Simoni et al. 1987 geben das verbleibende Aneuploidierisiko bei normalen Chromosomenbefund nach ausschließlicher Direktpräparation mit 0,01% an. Und auch die amerikanische Kollaborativ-Studie (Ledbetter et al. 1990) bestätigte, dass sich in Chorionzellkulturen keine falsch-negativen Befunde finden lassen. Unsere Ergebnisse stimmen mit den oben genannten Ergebnissen überein. In einem Fall fiel ein falsch-negativer Befund nicht in der Direktpräparation, sondern erst in der Langzeitkultur auf (mos 47,XY,+mar / 46,XY). Hierbei handelte es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um ein sehr seltenes echtes Mosaik, da der Marker in 12 von 18 untersuchten Zelllinien in der Langzeitkultur nachweisbar war. Im

Ultraschall konnte eine Kardiomegalie sowie ausgeprägte fetale Ascites festgestellt werden, circa 43 Tage nach der CVS kam es schließlich zum Abort. Roland et al. geben an, dass Mosaikbefunde in Langzeitkulturen mit größerer Wahrscheinlichkeit echte Mosaikzellen sind, da sie aus fetalen bzw. mesenchymalen Zellen entstehen (dem inneren Kern), demgegenüber handelt es sich bei Mosaikbefunden in der Direktpräparation mit großer Wahrscheinlichkeit um auf die Plazenta beschränkte Mosaikzellen, da die Direktpräparation aus Zellen des Zytotrophoblasten gewonnen wird. Von einem falsch-positiven Chromosomenbefund sprechen wir, wenn eine diagnostizierte Chromosomenstörung durch eine andere Untersuchung wie z. B. eine Amniozentese, Chordozentese oder nach Abort/Geburt an fetalem Gewebe nicht bestätigt werden kann. Häufig, aber nicht immer sind diese Mosaikbefunde auf die Plazenta beschränkt, so genannte Plazenta beschränkte Mosaikzellen (Placenta confined mosaicism). In unserem Patientenkollektiv gab es auch 4 PCMs, dabei ist es wichtig, sich in der Beratungssituation nicht nur auf die Direktpräparation zu verlassen, sondern den Kulturbefund abzuwarten, um nicht fälschlicherweise einen nicht indizierten Schwangerschaftsabbruch bei Mosaikbefunden zu befürworten. Unsere Ergebnisse stützen die Darlegung der Vorgehensweise von Miny et al. 1991b bezüglich von Mosaikbefunden. Die prognostische Beurteilung von Mosaikbefunden kann durchaus schwierig sein. Im Interesse der diagnostischen Sicherheit ist unbedingt die gleichzeitige Chromosomenanalyse von Direktpräparation und Langzeitkultur erforderlich, um das Risiko für falsch-negative Ergebnisse zu minimieren und Plazenta beschränkte Mosaikzellen zuverlässiger zu entdecken.

Miny et al. 1991a fanden in ihrem Kollektiv Tetraploidien, welche einen beträchtlichen Anteil der unbestätigten Mosaikbefunde ausmachten, dieses Ergebnis ließ sich auch in unserem Kollektiv finden. In der Direktpräparation konnten 3 Tetraploidiemosaikzellen nachgewiesen werden, welche durch die folgenden Kulturbefunde nicht bestätigt werden konnten. In einem Fall erfolgte eine Kontrollamniozentese, welche den unauffälligen Chromosomenbefund bestätigte, und in den beiden anderen Fällen hatte man sich auf den unauffälligen Langzeitkulturbefund verlassen. Da bei allen 3 Feten auch ein

unauffälliger Sonographiebefund vorlag, handelte es sich in unserem Kollektiv mit sehr großer Wahrscheinlichkeit um Tetraploidiemosaik in der Direktpräparation, welche auf die Plazenta beschränkt waren. Tetraploidien in lebend geborenen Kindern sind extrem selten. Bisher sind in der Literatur 9 Fälle mit einer Tetraploidie beschrieben worden, Stefanova et al. 2010. Schluth et al. 2004 beschäftigten sich mit der Frage, wie sicher man zwischen plazentaren Tetraploidiemosaiken und sehr seltenen echten Tetraploidiemosaikbefunden unterscheiden kann. Schluth et al. geben an, dass alle bisher diagnostizierten Tetraploidien aus Amnionzellen oder fetalen Lymphozyten stammen, keine jedoch durch eine Chorionzottenbiopsie festgestellt wurde. Eine mögliche Ursache könnte in der generellen Annahme eines falsch-positiven Ergebnisses liegen, wie z. B. durch ein Plazenta beschränktes Mosaik oder auch andere Kulturartefakte der Plazenta. Schluth et al. entwickelten einen Algorithmus für eine höhere diagnostische Sicherheit beim Umgang mit Tetraploidiebefunden. Wird eine Tetraploidie nach CVS befundet, sollte in Betracht gezogen werden, dass es sich um eine seltene echte Tetraploidie handelt. Hierzu sind engmaschige Ultraschalluntersuchungen notwendig, welche unspezifische Fehlbildungen des Feten zeigen können und der zytogenetische Nachweis der Tetraploidie in anderen Geweben wie z. B. in kultivierten Amnionzellen oder fetalen Lymphozyten. Sind diese zytogenetischen Befunde ebenfalls unauffällig, sollte ein FISH aus unkultivierten Zellen durchgeführt werden, um die endgültige Diagnose zu sichern. In unserem Labor erfolgen zur Abklärung eines eventuellen Mosaikbefundes sofort ein FISH aus unkultivierten Zellen und dann die zytogenetische Analyse aus kultivierten Zellen.

### 4.2.2 Strukturelle Chromosomenaberrationen

Bei den strukturellen Chromosomenaberrationen gab es die größte Diskrepanz zwischen den Befunden der Direktpräparation und den Befunden der Langzeitkulturen. In 64,7% der Fälle, d. h. in 11 von 17 Fällen, stimmten Kurz- und Langzeitkulturbefunde überein. Die übrigen 5 Fälle zeigten jeweils unauffällige Befunde in den Direktpräparationen beziehungsweise einen

fehlenden Befund der Kurzzeitkultur und Auffälligkeiten in den Langzeitkulturbefunden. Mögliche Ursachen liegen darin, dass in der Direktpräparation in der Regel nur numerische und grobstrukturelle Chromosomenaberrationen erkannt werden können, sehr kleine strukturelle Veränderungen der Chromosomen hingegen können unter Umständen nicht erkannt werden. Gemäß der S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik und genetische Beratung“ (06/2011) wurde im Modul zytogenetische Labordiagnostik eine Bandenauflösung von 300 Banden/haploiden Chromosomensatz als Mindeststandard festgelegt und die Anforderung an die Chromosomenqualität zur Befundung aufgeführt. Wegner und Stumm 2011 geben an, dass die Chromosomenqualität aus präparierten Zellen der Direktpräparation gewebespezifisch und methodisch erheblich begrenzt sei, und häufig bei  $\leq 300$  Banden/haploiden Chromosomensatz liege, und damit nur grobstrukturelle Aberrationen erkennbar seien. Des Weiteren weisen erst die Metaphasechromosomen der Langzeitkultur, mit einer Bandenauflösung/haploiden Chromosomensatz  $\geq 400$ , eine ausreichende Qualität für eine strukturelle Chromosomenanalyse auf, so Wegner und Stumm 2011. Zusätzlich hängt das Ergebnis der Bänderungsanalyse und der Erstellung der Karyogramme entscheidend von den Kenntnissen des entsprechend geschulten Personals ab (Murken et al. 2011, S 153). Die sonst so hohe diagnostische Zuverlässigkeit der konventionellen Chromosomenanalyse wird auch durch das Auflösungsvermögen des Mikroskops begrenzt, Strukturveränderungen im Grenzbereich oder unterhalb des Auflösungsvermögens wie z. B. bei Mikrodeletionssyndromen können nur bei gezieltem Verdacht durch FISH mit locus-spezifischen Sonden oder molekulargenetischen Techniken diagnostiziert werden so Kasoulek et al. 2000. Besteht dieser Verdacht, werden ausführliche sonographische Fehlbildungsuntersuchungen und eine weiterführende molekularzytogenetische Untersuchung von unserem Labor empfohlen / veranlasst. Eine begrenzte Anzahl der häufigsten Aneuploidien kann innerhalb von 24 Stunden mittels FISH-Analyse mit chromosomenspezifischen Sonden (für Chromosomen 13, 18, 21, X und Y) an Chorionzotten diagnostiziert werden (Pergament 2000). Vergleichbare Informationen liefert die molekulargenetische Untersuchung

hochpolymorpher Marker dieser Chromosomen nach Amplifikation mit einer quantitativen Fluoreszenz-Polymerasekettenreaktion (QF-PCR) (Schmidt et al. 2000).

In allen 6 Fällen mit diskrepanten Befunden (siehe Tabelle 5) erfolgte eine weiterführende zytogenetische Diagnostik, um die genaue strukturelle Chromosomenaberration zu bestimmen und damit prognostische Aussagen für die Entwicklung der Kinder zu treffen. Die Interpretation dieser komplizierten Befunde erfolgte in ausführlichen humangenetischen Beratungsgesprächen.

Nicht jeder von der Norm abweichende Chromosomenbefund ist mit schwerwiegenden Fehlbildungen vergesellschaftet. Jedoch kann auch nur eine kleine Abweichung vom Normbefund zu schweren Fehlbildungen und/oder mentaler Retardierung führen. Eine humangenetische Beratung ist also unabdingbar.

### 4.2.3 Numerische Chromosomenaberrationen

Miny et al. 2003 weisen darauf hin, dass die pränatale Chromosomenuntersuchung vor allem zum Ausschluss von numerischen Chromosomenanomalien durchgeführt wird, die bevorzugt während der Meiose entstehen und deren Häufigkeit mit dem mütterlichen Alter zunimmt. Zur Risikoberechnung für eine Chromosomenanomalie spielt das Ersttrimesterscreening eine entscheidende Rolle so Miny et al. 2003. Das Screening beinhaltet eine sonographische Nackentransparenzmessung zwischen der 11+0 bis 13+6 SSW, die Einbeziehung des mütterlichen Alters, sowie die Bestimmung der Serumparameter (freies beta-HCG, PAPP-A). Ist das individuelle Risiko erhöht, ist eine invasive Pränataldiagnostik zu erwägen. In unserem Patientenkollektiv wurden 98 autosomale und 20 gonosomale Chromosomenaberrationen diagnostiziert, in 91 bzw. 90% der Fälle stimmten die Kurz- und Langzeitkulturbefunde überein. D. h. in 8 Fällen konnte kein Befund aus der Direktpräparation und in 3 Fällen kein Befund aus der Langzeitkultur gewonnen werden. Ursachen für die fehlenden Befunde lagen in einem fehlenden Wachstum der Kulturen, oder der Entnahme von zu wenig

Material, um beide Kulturen anzulegen. Bei der Mehrzahl der fehlenden Ergebnisse der Direktpräparation erfolgte eine PCR-Analyse zur Bestimmung des Chromosomenbefundes. In Zusammenschau mit den Auffälligkeiten im Ultraschall verzichteten die meisten Schwangeren auf eine angebotene Folgeuntersuchung, wie z. B. die Amniozentese, und ließen einen Schwangerschaftsabbruch vornehmen oder erlitten einen Abort. Nach unserer Erfahrung kann die Chromosomenanalyse aus Chorionzotten als zuverlässige Methode zur Bestimmung numerischer Chromosomenbefunde eingesetzt werden. Alle numerischen Chromosomenaberrationen konnten diagnostiziert werden, jedoch waren in ca. 9-10% der Fälle nicht beide Ergebnisse aus Direktpräparation und Langzeitkultur verfügbar. Zum einen gab es Kulturartefakte, nämlich ein fehlendes Wachstum der Kulturen, zum anderen wurde vom Untersucher zu wenig Material für die nachfolgende Analyse entnommen. Möglicherweise sind erschwerte Entnahmebedingungen in den 2 Fällen mit zu geringer Materialentnahme in Betracht zu ziehen.

Van Den Berg et al. 2006 empfehlen bei einer zu geringen Menge an Chorionzotten sich für eine der beiden Analysen zu entscheiden. Dabei sollte man auf bestimmte Konstellationen achten, um die in der Literatur beschriebenen falsch-negativen Befunde nicht zu übersehen. Liegt ein auffälliger Ultraschallbefund vor und/oder eine erhöhte Nackentransparenz von  $\geq 3,5$  mm, sollte die Anlage einer Langzeitkultur favorisiert werden, um das erhöhte Risiko für falsch-negative Befunde aus Direktpräparationen zu minimieren. Sind keine Auffälligkeiten bekannt, kann man das Material für die Direktpräparation nutzen, hat schnell einen Chromosomenbefund, was bei einem auffälligen Karyotyp von Vorteil wäre, und minimiert das Risiko für eine Kontamination mit maternalen Zellen in der Langzeitkultur. In unserem Labor empfehlen wir bei wenig Material in der CVS eine PCR oder FISH zum Ausschluss von Trisomien durchzuführen und legen vornehmlich eine Langzeitkultur an. Wegner und Stumm 2011 geben das Risiko für eine maternale Zellkontamination in Langzeitkulturen mit bis zu 1,5% an. Eine Kontamination mit maternalen Zellen in der Langzeitkultur konnte in unserem Labor nur sehr selten beobachtet werden. Entscheidend dafür ist die sorgfältige



Aufreinigung der Chorionzotten. So werden die Zotten unter dem Binokular sorgfältig von Blut und Dezidua frei präpariert und erst dann weiter verarbeitet.

### 4.3 Schwangerschaftsabbrüche bei autosomalen und gonosomalen Aneuploidien

Die Nachfrage nach pränataler Diagnostik wird immer größer, parallel dazu verbessern sich soziale Standards in unserer Gesellschaft und die Erwartungen, ein gesundes Kind zu bekommen steigen (Papp et al. 2003). Zusätzlich werden durch verbesserte technische Bedingungen wie z. B. moderne Ultraschallgeräte und die immer sicherer werdende invasive Pränatalmedizin, genauere Untersuchungen vorgenommen. In unserem Patientenkollektiv konnten 56 Fälle mit einer Trisomie 21 diagnostiziert werden, es erfolgten 51 Schwangerschaftsabbrüche und 5 Aborte, kein Baby mit einem Down Syndrom wurde geboren.

In Tabelle 7 fällt eine weitere Gruppe auf, die Gruppe mit dem Turner Syndrom 45,X. Hier erfolgten bei 15 diagnostizierten Fällen 15 Abbrüche, das entspricht einer Abbruchrate von 100%. Die gemessenen Nackentransparenzen bei allen Feten waren außerhalb des Normbereichs und lagen zwischen 5,7 und 13,6 mm. Alle zeigten ein ausgeprägtes z. T. zystisches Hygroma colli, teilweise Herzfehler und / oder einen generalisierten Hydrops fetalis. Papp et al. 2006 beschreibt das Turner Syndrom als häufigste gonosomale Chromosomenaberration, nur circa 1% aller Feten mit dem Karyotyp 45,X überleben die Schwangerschaft. Demnach haben Feten mit einer deutlich erhöhten Nackentransparenz, und / oder einen Hydrops bei einem bekannten Karyotyp von 45,X, eine extrem schlechte Prognose für ein intrauterines Überleben, so Surerus et al. 2003. Die frühe sonographische und zytogenetische Diagnostik nimmt in vielen Fällen durch den gezielten frühen Abbruch die hohe Wahrscheinlichkeit für das spontane spätere Abortgeschehen dieser Erkrankung vorweg.

Es ist wichtig, immer die Gesamtkonstellation zu betrachten, dabei ist eine genetische Beratung vor und nach Pränataldiagnostik unabdingbar und seit

dem 01.02.2010 durch das Gendiagnostikgesetz (GenDG 2009) gefordert. Letztendlich wird die Entscheidung der Schwangeren, für oder gegen das Fortsetzen der Schwangerschaft, von der Schwangeren selbst getroffen. Eine solche Entscheidung wird meistens durch weitere Faktoren beeinflusst, wie z. B. der familiären Situation, der Religion und der Gesellschaft. Die frühe Detektion von fetalen Anomalien mittels Ultraschall und einer Karyotypisierung nach CVS, gibt den Schwangeren bei einem abnormalen Karyotyp die Möglichkeit, für einen weniger risikoreichen Schwangerschaftsabbruch, verbunden mit einer reduzierten physischen und psychischen Morbidität, im Vergleich zu Zweit-Trimester-Abbrüchen, so Katorza und Achiron 2012 und Brambati et al. 2002.

Die Chorionzottenbiopsie, beziehungsweise Ergebnisse und deren Konsequenz, beinhaltet wie jede andere Pränataldiagnostik Risiken, aber letztlich stellt sie eine sichere und zuverlässige Diagnostik zu einem frühen Zeitpunkt in der Schwangerschaft dar. Über die Aussagekraft und mögliche Risiken sollte die Schwangere im Vergleich mit anderen vorgeburtlichen Untersuchungsmöglichkeiten ausführlich aufgeklärt werden.

#### 4.4 Ein Ausblick in die Zukunft – Next Generation Sequencing

Die fetale Karyotypisierung aus maternalem Blut wurde in den 90er Jahren durch Analyse fetaler Zellen aus maternalem Blut versucht. Limitierend dabei war die lange Persistenz der fetalen Zellen über mehrere Jahre in der maternalen Zirkulation (Holzgreve et al. 1992).

Mit dem Nachweis zellfreier fetaler DNA im Blut der Schwangeren ist man der nichtinvasiven fetalen Karyotypisierung näher gekommen. Die Lebensdauer der einzelnen Fragmente liegt unter 2 Stunden und bereits innerhalb weniger Stunden nach der Geburt sind die DNA-Fragmente im mütterlichen Blut nicht mehr nachweisbar. Mit dem Einsatz von next generation sequencing-Technologien sind die jetzt kommerziell erhältlichen Tests (z. B. Praena-Test®, lifecodexx) in der Lage aus mütterlichem Blut die Trisomien 13, 18 und 21 des Feten mit einer Sensitivität von bis zu 98,1% bei einer falsch-positiv Rate von

etwa 0,2% nachzuweisen (lifecodexx 2013). Es können jedoch keine Aussagen zu strukturellen Chromosomenveränderungen getroffen werden, ebenso wenig können Mosaik- oder fetoplazentare Diskrepanzen der Trisomien 13, 18 und 21 erkannt werden. Der Praena-Test® ist bislang nicht geeignet für Mehrlingsschwangerschaften, andere Chromosomenstörungen oder andere genetische Erkrankungen.

Der Test wird ab der 12. SSW angeboten und kann bei einem erhöhten Risiko für die Trisomien 13, 18 und 21, oder bei Vorlage eines auffälligen Ultraschallbefundes, und/oder nach einem auffälligen First Trimester Screening angeboten werden (lifecodexx 2013). Die Untersuchung erfolgt aus 20 ml maternalem Vollblut, dauert etwa 10 Arbeitstage und wird von den Krankenkassen nicht übernommen (circa 1400 EUR). Die Firma empfiehlt die Validierung eines auffälligen Ergebnisses durch eine folgende Amniozentese.

Zum jetzigen Zeitpunkt ist der Praena-Test® ein ergänzender nichtinvasiver Screeningtest. Der Stellenwert der invasiven Diagnostik bleibt davon unberührt, da er für spezielle Fragestellungen und andere Chromosomenaberrationen noch nicht einsetzbar ist. Die Chorionzottenbiopsie und die Amniozentese werden auch in der Zukunft eine tragende Rolle in der Pränataldiagnostik spielen.

## 5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden mögliche Kulturartefakte und Komplikationen nach 529 transabdominalen Chorionzottenbiopsien (2000 bis 2004) in Beziehung zum Ergebnis der Karyotypisierung betrachtet. Die Daten wurden retrospektiv erhoben, die Mehrzahl der Schwangeren hatte zwischen der 11. und 14. SSW eine Chorionzottenbiopsie, das mütterliche Alter lag im Median bei 34 Jahren. Die Indikationsverteilung für eine Pränataldiagnostik war wie folgt verteilt: 6% abnorme Werte für PAPP-A, freies  $\beta$ -HCG, jeweils 18% für ein erhöhtes mütterliche Alter ( $\geq 35$  Jahre) und familiäre Belastungen und in 58% lag ein auffälliger Ultraschallbefund vor. Ergebnisse: In 524 Fällen, d. h. in 99% der Fälle war eine Karyotypbestimmung erfolgreich, in 84,9% stimmten Kurzzeit- und Langzeitbefunde überein, fehlende Kulturbefunde gab es aufgrund fehlenden Zellwachstums oder Kontamination der Kulturen sowie dem Mangel an Zottengewebe bei der CVS. Autosomale und gonosomale Aneuploidien wurden mit einer Zuverlässigkeit von 90 bzw. 91% in beiden Kulturtechniken bestimmt. Strukturelle Chromosomenaberrationen und Mosaik waren in 64,7% bzw. 12,5% der Fälle in Kurzzeit- und Langzeitkultur identisch. Die Abortrate von Tag 1 bis 21 nach der CVS lag bei 4,2%. Die Spontanabortrate in einem vergleichbaren Kontrollkollektiv (11.-15. SSW) lag bei Tabor et al. 2009 bei 3,1%. 27% der Aborte hatten eine nachweisbare Chromosomenaberration, 73% hatten einen unauffälligen Karyotyp, aber 79,3% hatten sonographische oder maternale Pathologien, in 20,7% der Fälle keine Ursache. Weitere eingriffsbedingte Komplikationen waren 2 Fruchtwasserabgänge und 1 Blutung, jeweils ohne Folgen für die betroffenen Kinder; Extremitätenfehlbildungen und Plazentahämatome konnten nicht dokumentiert werden. Im Interesse der diagnostischen Sicherheit sollte unbedingt die gleichzeitige Chromosomenanalyse von Direktpräparation und Langzeitkultur erfolgen, um das Risiko für falsch-negative Ergebnisse zu minimieren und die Chance zu erhöhen, Plazenta beschränkte Mosaik und echte fetale Mosaik zu entdecken. Strukturelle Chromosomenaberrationen unterhalb einer Bandenauflösung von 300, sind mit der konventionellen Zytogenetik nach CVS nicht abschließend diagnostizierbar. Bei begründetem Verdacht sollten molekularzytogenetische Verfahren wie z. B. FISH-Analyse oder QF-PCR nachgeschaltet werden. Das Abortrisiko in unserem Kollektiv ist vergleichbar mit dem in der Literatur angegebenen Spontanabortrate ohne invasive Diagnostik. Die CVS ist ein sicheres Verfahren der Pränatalmedizin und kann bei geeigneter Indikation ab der 11. SSW eingesetzt werden.

## 6 Anhang

### 6.1 Weitere Verzeichnisse

#### 6.1.1 Abkürzungsverzeichnis

AC	Amniozentese
AGS	Adrenogenitales Syndrom
APGAR	Score aus: Aussehen, Puls, Grundtonus, Atmung, Reflexe
$\beta$ -HCG	Freies humanes Choriongonadotropin mit $\beta$ -Untereinheit
CBG	Constitutive Heterochromatin Bänderung
CVS	Chorionzottenbiopsie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GTG	G-Bänder, durch Behandlung mit Trypsin und Färbung mit Giemsa
IUFT	Intrauteriner Fruchttod
K	Kurzzeitkultur
L	Langzeitkultur
LB	Lebendgeborenes
MP	Metaphase
n	Anzahl
NOR	Nucleolus organisierende Regionen-Färbung
NT	Nackentransparenz
PAPP-A	Pregnancy-associated plasma protein A
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
SSW	Schwangerschaftswoche
W	Woche

---

## 6.1.2 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b>	Schematische Darstellung der transzervikalen versus transabdominaler Chorionzottenentnahme.....	5
<b>Abbildung 2</b>	Darstellung des Fragebogens zur Datenerhebung .....	16
<b>Abbildung 3</b>	Darstellung der verwendeten Viewpoint Maske zur Datenspeicherung.....	18
<b>Abbildung 4</b>	Prozentuale Verteilung der primären Indikation zur Chorionzottenbiopsie .....	20
<b>Abbildung 5</b>	Prozentuale Verteilung des mütterlichen Alters beim untersuchten Patientenkollektiv.....	21
<b>Abbildung 6</b>	Dargestellt wird die absolute Häufigkeit von Aborten pro Tag nach CVS innerhalb der ersten 21 Tag.....	37

## 6.1.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b>	Ergebnisse zytogenetischer Techniken.....	22
<b>Tabelle 2</b>	Autosomale Aneuploidien.....	24
<b>Tabelle 3</b>	Gonosomale Aneuploidien.....	25
<b>Tabelle 4</b>	Strukturelle Chromosomenaberrationen.....	27
<b>Tabelle 5</b>	Diskrepante Befunde struktureller Chromosomenaberrationen.....	29
<b>Tabelle 6</b>	Mosaikbefunde.....	33
<b>Tabelle 7</b>	Schwangerschaftsverlauf.....	35
<b>Tabelle 8</b>	Übersicht für Schwangerschaftsabbrüche für Gesamtkollektiv..	36
<b>Tabelle 9</b>	Kumulative Abortrate nach CVS (2000-2004) bei 529 Fällen ...	38

---

<b>Tabelle 10</b>	Kumulative Abortrate nach CVS und Gegenüberstellung zur allgemeinen Spontanabortrate nach Hoesli et al. 2001, Harlap et al. 1980 und Tabor et al. 2009 bezogen auf die Schwangerschaftswoche.....	39
<b>Tabelle 11</b>	Anzahl der Aborte bei und ohne Chromosomenaberration nach CVS in Bezug auf 529 dokumentierte Fälle.....	42
<b>Tabelle 12</b>	Aborte ohne Chromosomenaberration.....	43
<b>Tabelle 13</b>	Weitere Komplikationen in Bezug auf 529 dokumentierte Fälle..	44

## 7 Literaturverzeichnis

Alfirevic Z, Gosden CM, Neilson JP (2000) Chorionic villus sampling versus amniocentesis for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* (2):CD000055.

Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S (2003) Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* (3):CD003252.

Alfirevic Z (2007) Early amniocentesis versus transabdominal chorion villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* (3):CD000077.

Ammala P, Hiilesmaa VK, Liukkonen S, Saisto T, Teramo K, von Koskull H (1993) Randomized trial comparing first-trimester transcervical chorionic villus sampling and second-trimester amniocentesis. *Prenatal Diagnosis* 13; 10:919-27.

Barch MJ, Knutsen T, Spurbeck JL (1997) *The AGT Cytogenetic Laboratory Manual*, 3<sup>rd</sup> edn. Lippincott-Raven.

Blumberg B, Golbus M, Hanson K (1975) The psychological sequelae of abortion performed for a genetic indication. *Am J Obstet Gynecol* 122:799.

Brambati B, Tului L, Camurri L, Guercilena S (2002) Early second trimester (13 to 20 weeks) transabdominal villus sampling (TA-CVS): a safe and alternative method for both high and low risk populations. *Prenatal Diagnosis* 22:907-913.

Burton B, Schultz C, Burd L (1992) Limb abnormalities associated with chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 79:726-730.

Firth H, Boyd P, Chamberlain P et al. (1994) Analysis of limb-reduction defects in babies exposed to chorionic villus sampling. *Lancet* 343:1069-1071.

Firth H (1997) Chorion villus sampling and limb deficiency- cause or coincidence? *Prenatal Diagnosis* 17:1313-1320.

Fletcher JC (1986) Ethical issues in clinical trials of first trimester prenatal diagnosis. In: Brambati B, Simoni G (eds) *Chorionic villus sampling*. Basel, p2.

Froster UG, Jackson L (1996) Limb defects and chorionic villus sampling: Results from an international registry, 1992-94. *Lancet* 347:489-94.

Genetica AG: Pränatale Chromosomendiagnostik. Zürich. Online im Internet: URL: <http://www.genetica-ag.ch/zytogenetik/zytogenetik.html> [Stand 20.03.2009,20:10].

Gesellschaft für Humangenetik (GfH), Berufsverband Deutscher Humangenetiker (BVDH) (2011) S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“. *Med Genet* 23:281-322.

(o A) (2009) Gesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen (Gendiagnostikgesetz – GenDG). *Bundesgesetzblatt Teil I* 2009 Nr. 50, ausgegeben zu Bonn am 4. August 2009. BGBl 1 2009:2529-2538.

Hahnemann N (1974) Early prenatal diagnosis: a study of biopsy technique and cell culturing from extraembryonic membranes. *Clinical Genetics* 6:296-306.



Han A, Zhon B, Wang H (1984) Longterm follow-up results after aspiration of chorionic villi during early pregnancy. In: Fraccaro M, Simoni G, Brambati B (Hrsg) First trimester fetal diagnosis 1-6.

Harlap S, Shiono P, Ramcharan S (1980) A life table of spontaneous abortions and the effects of age, parity and other variables. Human embryonic and fetal death: proceeding of the 10<sup>th</sup> annual birth defects, New York, Academic Press, 10:145-158.

Hoesli I, Walter-Göbel I, Tercanli S, Holzgreve W (2001) Spontaneous fetal loss rates in a non-selected population. American Journal of Medical Genetics 100:106-109.

Holzgreve W, Miny P (1987) Chorionzotendiagnostik. Edition Medizin, VCH, New York, 7, 12, 137.

Holzgreve W, Garritsen HS, Ganshirt-Ahlert D (1992) Fetal cells in the maternal circulation. J Reprod Med May 37(5):410-8.

Jauniaux et al. (2001) Early pregnancy loss. In: Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics, 3<sup>rd</sup> edn (ed. Rimoin D), Chapter 63, Churchill Livingstone, Edinburgh.

Joas H (2007) Lehrbuch der Soziologie, 3. Aufl., Campus, Frankfurt/Main, 12-13.

Kalousek D, Barrett I, McGillivray B (1989) Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18. Am J Hum Genet 44:338-343.

Kalousek D, Vekemans M (2000) Confined placental mosaicism and genomic imprinting. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 14:723-740.

Katorza E, Achiron R (2012) Early pregnancy scanning for fetal anomalies- the new standard? Clinical Obstetrics and Gynecology 55(1):199-216.

Kazy Z, Rozovsky JS, Bakharev VA (1982) Chorion biopsy in early pregnancy: a method of early prenatal diagnosis for inherited disorders. Prenatal Diagnosis 2:39-45.

Kullander S, Sandahl B (1973) Fetal chromosome analysis after transcervical placental biopsies during early pregnancy. Acta Obstetrics Gynecology Scandinavia 52:355-359.

Ledbetter D, Martin A, Verlinsky Y, Pergament E, Jackson L, Yang-Feng T, Schonberg T, Hilbert J, Zachary J, Simpson J, Barr M, Copeland L, DiMaio M (1990) Cytogenetic results of chorionic villus sampling: high success rate and diagnostic accuracy in the United States collaborative study, Am J Obstet Gynecol 162:495-501.

Lifecodexx AG: PraenaTest®. Konstanz. Online im Internet:  
URL:<http://lifecodexx.com/lifecodexx-praenatest.html> [Stand 17.02.2013, 15:35].

Miny P, Hammer P, Gerlach B, Tercanli S, Horst J, Holzgreve W (1991) Mosaicism and accuracy of prenatal cytogenetic diagnosis after chorionic villus sampling and placental biopsies. Prenatal Diagnosis 9:223-226.

Miny P, Hammer P, Schloo R, Horst J, Tercanli S, Gerlach B, Holzgreve W (1991) Pränatale Diagnostik an Chorionzotten und Plazentapunktaten vom ersten bis zum dritten Schwangerschaftstrimenon: Diagnostische Zuverlässigkeit von Chromosomenuntersuchungen. *Geburtsh. und Frauenheilk.* 51: 694-703.

Miny P, Heinimann K, Tercanli S, Holzgreve W (2003) Genetic testing in Pregnancy. *Therapeutische Umschau*, Bd 60/8:455-460.

Mohr J (1968) Fetal genetic diagnosis: development of techniques for early sampling of fetal cells. *Acta of Pathological and Microbiological, Scandinavia* 73:73-77.

Mujezinovic F, Alfirevic Z (2007) Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 110:687–694.

Murken J, Cleve H (1996) *Humangenetik*, 6. Aufl., Enke, Stuttgart, 170-171.

Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E, Zerres K (2011) *Humangenetik*, 8. Aufl., Thieme, Stuttgart, 153.

Nicolaidis K, Brizot M de L, Patel F, Snijders R (1994) Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for fetal karyotyping at 10–13 weeks' gestation. *Lancet* 344:435–439.

No authors listed (1975) Fetal sex prediction by sex chromatin of chorionic villi cells during early pregnancy. *Chinese Medical Journal*, 1(2):117-126.

Papp C, Beke A, Mezei G, Toth-Pal E, Papp Z. Chorionic villus sampling: a 15-year experience. *Fetal Diagn Ther* 2002;17:218–27.

Papp C, Papp Z (2003) Chorionic villus sampling and amniocentesis: what are the risks in current practice? *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 15:159-165.

Papp C, Beke A, Mezei G, Szigeti Z, Bán Z, Papp Z (2006) Prenatal Diagnosis of Turner Syndrome. *J Ultrasound Med* 25:711-717.

Pergament E (2000) The application of fluorescence in-situ hybridization to prenatal diagnosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 12:296-307.

Roland B, Lynch L, Berkowitz G, Zinberg R (1994) Confined placental mosaicism in cvs and pregnancy outcome. *Prenatal Diagnosis* 14:589-593.

Schaaf, C P Zschocke J (2008) *Basiswissen Humangenetik*. Springer, Berlin Heidelberg New York, Aufl. XVI, 247-269.

Schlesinger C, Raabe G, Ngo T, Miller K (1990) Discordant findings in chorionic villus direct preparation and long term culture mosaicism in the fetus. *Prenatal Diagnosis* 10:609-612.

Schluth C , Doray B, Girard-Lemaire F, Favre R, Flori J, Gasser B, Rudolf G, Flori E (2004) Prenatal Diagnosis of true fetal tetraploidy in direct and cultured chorionic villi. *Genetic Counseling* 15/4:429-436.

Schmidt W, Jenderny J, Hecher K et al. (2000) Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk. *Mol Hum Reprod* 6:855-60.

Schreck R, Falik-Borenstein Z, Hirata G (1990) Chromosomal mosaicism in chorionic villus sampling. *Clinics in Perinatology* 17/4:867-887.

Scott F, Peters H, Boogert T, Robertson R, Anderson J, McLennan A, Kesby G, Edelman D (2002) The loss rates of prenatal invasive testing in a specialised obstetric ultrasound practice. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 42/1:55-58.

Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rosella F, Terzoli C, Ferrari M, Fracccaro M (1983) Efficient direct chromosome analysis and enzyme determination from chorionic villi sampling in the first trimester of pregnancy. *Human Genetics* 63:349-357.

Simoni G, Fracccaro M, Gimelli G, Maggi F, Dagna Bricarelli F (1987) False-positive and false-negative findings on chorionic villus sampling. *Prenatal Diagnosis* 7:671-672.

Sohn C, Holzgreve W (1995) *Ultraschall in Gynäkologie und Geburtshilfe*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.

Stefanova I, Jenderny J, Kaminsky E, Mannhardt A, Meinecke P, Grozdanova L, Gillessen-Kaesbach G (2010) Mosaic and complete tetraploidy in live-born infants: two new patients and review of the literature. *Clinical Dysmorphology* 19:123-127.

Surerus E, Huggon I, Allan L (2003) Turner's syndrome in fetal life. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 22:264-267.

Tabor A, Vestergaard C, Lidegaard Ø (2009) Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 34:19-24.

Tabor A, Alfirevic Z (2010) Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther* 27:1-7.

Van den Berg C, Van Opstal D, Polak-Knook J, Galjaard R (2006) (Potential) false-negative diagnoses in chorionic villi and a review of the literature. *Prenatal Diagnosis* 26: 401-408.

Wegner R, Stumm M (2011) Zytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik. *Med Genet* 23:457-462.

## 8 Danksagung

Hiermit möchte ich allen Personen danken, die mich im Rahmen meiner Dissertation begleitet und unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Frau Dr. med. Emine Çetin für die konstruktive und ausdauernde Unterstützung. Die Zusammenarbeit war sehr effektiv und sie verstand es in bezeichnender Weise mich immer wieder zu motivieren und meine Begeisterung für meine Arbeit zu unterhalten.

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Kurt Hecher für die Überlassung des interessanten Themas herzlich bedanken.

Für die überaus konstruktive Kritik und der herausragenden Unterstützung bei den Korrekturarbeiten von humangenetischer Seite, möchte ich Frau Dr. med. Usha Peters ganz herzlich danken.

Für die Bereitstellung eines Computerarbeitsplatzes möchte ich den Mitarbeitern des Pränatalzentrums Hamburg und Humangenetik im Gynaekologicum, Praxisgemeinschaft für pränatale Diagnostik und Humangenetik, sehr danken. Sie machten es stets möglich während des Praxisbetriebes einen Platz für mich zu organisieren und hatten immer ein offenes Ohr für mich, insbesondere wenn Probleme mit dem Computerprogramm auftraten.

Mein Dank gilt ebenso Frau Angelika Schiersch, welche mich bei der Erstellung meiner Excel-Tabellen in herausragender Weise unterstützte.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern für die stets rückhaltlose Unterstützung meines Werdeganges und dem andauernden Interesse am Fertigstellen meiner Arbeit.

Ganz besonderer Dank gilt meiner lieben Schwester Astrid, welche mich großartig bei den Korrekturarbeiten des Manuskriptes unterstützt hat und immer an mich geglaubt hat

.

## **9 Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen entfällt der Lebenslauf in der Online-Ausgabe der Dissertation.

## **10 Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: