

Masterarbeit

NIPT - Anwendungsgebiete abseits der klassischen Trisomien

eingereicht von

Dr. Martin Metzenbauer

Medizinische Universität Graz

Universitätslehrgang Medizinische Genetik

2020/22

Betreuer:

Univ.-Prof. Mag. Dr. Dr. Erwin Petek

Wien, am 19. August 2022

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Wien, am 19. August 2022

Dr. Martin Metzenbauer

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	2
Inhaltsverzeichnis.....	3
Zusammenfassung	5
Abstract (English).....	5
Einleitung	6
Geschichte des NIPT	7
Analysemethoden beim NIPT	9
Whole Genome Sequencing (WGS)	10
Targeted Sequencing	10
Detektion von SNPs	11
Rolling-Circle-Amplifikation von Zielregionen	11
Der NIPT im Trisomie-Screening.....	11
Der NIPT abseits des Trisomie-Screenings	14
Screening für Aneuploidien der Geschlechtschromosomen.....	14
Screening für Triploidie.....	19
Screening für Zygotität bei Zwillingen	21
Spezifisches Mikrodeletions-Screening	22
Allgemeines Mikrodeletions- und Mikroduplikations-Screening..	27
Screening für Einzelgenmutationen.....	29
Kritische Auseinandersetzung	31
Test-Performance	31
Methodische Einschränkungen	33
Ethische Fragen	33
Meinungen der Fachgesellschaften	36
Einzelgenmutationen	37
NIPT-Angebote im medizinischen Alltag.....	38
Künftige Entwicklungen und Anwendungsbereiche	41

Abschließende Überlegungen.....	44
Literaturverzeichnis.....	47

Zusammenfassung

Der "Nicht invasive Pränataltest" (NIPT) ist seit etwas mehr als einem Jahrzehnt ein wichtiger Bestandteil der Pränatalmedizin. Wurde dieser zuerst zum Screening für autosomale Trisomien genutzt, so hat sich das Einsatzgebiet unter anderem auf geschlechtschromosomale Varianten, Zygotität von Zwillingsschwangerschaften, Triploidie, Mikrodeletionen und Einzelgenmutationen ausgedehnt. Diese erweiterten Test-Optionen sind in mehrfacher Hinsicht kritisch zu hinterfragen. So sind beispielsweise die Sensitivität oder der positiv-prädikative Wert teilweise noch niedrig oder können gar nicht verlässlich berechnet werden. Auch mögliche zukünftige NIPT-Entwicklungen - bei denen es beispielsweise um Anlageträgerschaft für spätere Erkrankungen gehen kann - sind vor allem aus ethischen Gesichtspunkten problematisch. Andererseits können die erweiterten NIPT-Methoden in manchen Bereichen durchaus in der Lage sein, die Pränataldiagnostik zu optimieren.

Abstract (English)

The "Non-Invasive Prenatal Test" (NIPT) has been an important part of prenatal medicine for a little more than a decade. While this test was first used to screen for autosomal trisomies, the field of application has expanded to (among others) sex-chromosomal variants, zygosity in twin pregnancies, triploidy, microdeletions and single gene mutations. These extended test options should be critically examined in several respects. For example, the sensitivity or the positive-predicative value are sometimes still low or cannot be reliably calculated at all. Possible future NIPT developments - which may involve, for example, carrier-status of diseases that may occur later in life - are problematic, especially from an ethical point of view. On the other hand, the extended NIPT methods may well be able to optimize prenatal diagnostics in some areas.

Einleitung

Seit dem Jahr 2011 stehen sogenannte "Nicht *invasive Pränataltests*" (NIPT) kommerziell zur Verfügung. Damit haben schwangere Frauen über eine Blutabnahme die Möglichkeit, eine ungefährliche Screeninguntersuchung mit einer hohen Sensitivität und Spezifität für die Entdeckung von Chromosomenstörungen durchführen zu lassen.

Waren diese Tests anfangs noch teuer und eher Nischenprodukte, so haben sie sich in den letzten Jahren weltweit als Ergänzung und teilweise auch als Ersatz zu anderen pränatalen Untersuchungen durchgesetzt. Das zeigt sich nicht zuletzt am Umsatz: Weltweit soll dieser laut einer Analyse von Fortune Business Insights im Jahr 2020 3,5 Milliarden US-Dollar betragen haben - im Jahr 2028 erwartet man bereits 13,2 Milliarden US-Dollar¹.

Wurden zu Beginn in erster Linie die drei häufigsten Trisomien 21, 18 und 13 abgedeckt, so wurde das Spektrum des NIPT in den letzten Jahren deutlich erweitert: Mittlerweile wird unter anderem auf geschlechtschromosomale Varianten, auf die Triploidie, auf Mikrodeletionen und Einzelgenmutationen getestet.

Dabei stellen sich sehr viele Fragen - unter anderem: Wonach zu screenen macht überhaupt Sinn? Welche Inhalte umfassen die einzelnen Tests? Wo gibt es ethische Fragestellungen? Mit diesen Themen setzt sich die vorliegende Masterarbeit unter anderem auseinander.

Daneben soll eine Literaturrecherche einen Überblick über den aktuellen Stand der unterschiedlichen Methoden bieten. Eine Umfrage aus dem eigenen Patientinnenkollektiv soll außerdem Einblicke dahingehend geben, welchen Zugang und welche Erwartungen Anwenderinnen zum Thema NIPT haben.

Und schließlich soll auch noch ein Blick in die Zukunft ausloten, was man sich künftig vom NIPT möglicherweise erwarten darf.

Geschichte des NIPT

Einen der pränatalmedizinischen Schwerpunkte stellt die vorgeburtliche Diagnose numerischer Chromosomenabberationen dar - in erster Linie jene der drei häufigsten Trisomien und davon wiederum (aufgrund der höchsten Fallzahlen) der Trisomie 21. Bekanntlich steigt die Wahrscheinlichkeit, ein Kind mit Down Syndrom zu bekommen, mit dem mütterlichen Alter an² und liegt bei einer 40-jährigen Frau bei etwas mehr als einem Prozent³.

Seit den späten 1960er Jahren wird die Fruchtwasserpunktion (Amniocentese) für die Karyotypisierung⁴ und damit die Diagnostik von Chromosomenanomalien genutzt⁵. Die erste Amniocentese in Österreich wurde im Jahr 1974 in Graz vorgenommen⁶, in den folgenden Jahrzehnten entwickelte sich die Methode zu einer Standarduntersuchung und wurde vor allem Frauen ab 35 Jahren empfohlen⁷. In den 1980er Jahren ist die Plazentapunktion (Chorionzottenbiopsie) als weitere Technik dazugekommen - diese kann bereits in einem früheren Schwangerschaftsstadium durchgeführt werden als die Fruchtwasserpunktion (ab der ca. 12. gegenüber der ca. 16. Schwangerschaftswoche)⁸.

Da diese beiden invasiven Methoden auch Nachteile haben (unter anderem sind sie aufwändig, für die Patientinnen nicht ganz schmerzlos und gehen mit einem gering erhöhten Fehlgeburtsrisiko einher), wurden im Laufe der Zeit Screeninguntersuchungen entwickelt, mit denen Schwangerschaften herausgefunden werden sollen, die eine besonders hohe Wahrscheinlichkeit für eine Trisomie zeigen - und bei denen deshalb eine invasive Methode Sinn machen würde.

Der erste dieser Tests war Ende der 1980er Jahre der sogenannte Triple Test, der mittels eines maternalen Serum-Screenings mit den drei Labor-Parametern humanes Choriongonadotropin (hCG), Östriol (E3) und Alpha-Fetoprotein (AFP) im zweiten Trimester das individuelle Risiko für Trisomie 21 mit einer Sensitivität von 69 Prozent bei einer Falsch-Positiv-Rate (FPR) von 5 Prozent berechnen konnte⁹.

Im Jahr 1992 wurde zum ersten Mal der Begriff Nackentransparenz (Nuchal Translucency, NT, Abbildung 1) publiziert: Dabei wurde beschrieben, dass mehr als 60 Prozent der Feten mit Chromosomenstörungen im Ultraschall eine

erweiterte Nackentransparenz am Ende des ersten Trimesters aufgewiesen haben¹⁰. Später hat sich gezeigt, dass rund drei Viertel aller Feten mit Trisomie 21 bei einer FPR von weniger als fünf Prozent erkannt werden können¹¹. Diese Methode wurde später mit einem Serum-Screening kombiniert (freies beta-hCG und pregnancy-associated plasma protein-A - PAPP-A) wodurch eine Sensitivität für Trisomie 21 von 90%, für Trisomie 18 von 97% und für Trisomie 13 von 92% bei einer FPR von 4% erreicht werden konnte¹².

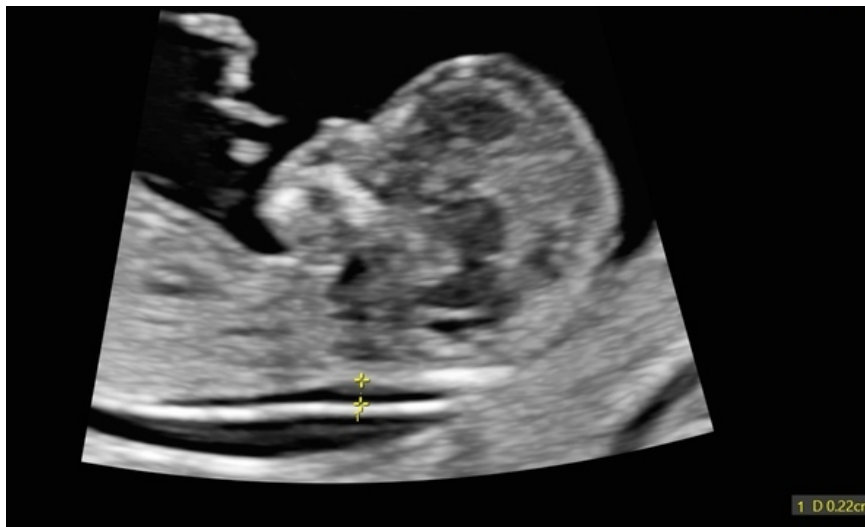


Abbildung 1: Messung der Nackentransparenz (Bild: Autor).

Dieser Test wird als Combined Test bezeichnet und stellt auch heute noch eine Standarduntersuchung dar. Zusätzliche Ultraschall-Marker wie der Blutfluss im Ductus venosus¹³ und über der Trikuspidalklappe¹⁴ sowie das Vorhandensein eines Nasenbeins¹⁵ wurden im Laufe der Zeit ebenfalls in den Algorithmus, der das Risiko für die Trisomien berechnet, aufgenommen. Dadurch konnte die Testperformance weiter erhöht werden.

Im Jahr 1997 haben der Hongkonger Labormediziner Yuk-Ming Dennis Lo und sein Team erstmals das Vorhandensein fetaler DNA im mütterlichen Blut nachgewiesen¹⁶. Damit war einer der Grundsteine für den später entwickelten NIPT gelegt. Es hat danach noch relativ lange - nämlich bis 2008 - gedauert, bis die erste Publikation über die erfolgreiche pränatale Diagnose von Schwangerschaften mit Trisomie 13, 18 und 21 mittels der Bestimmung von fetaler

DNA im mütterlichen Kreislauf gelungen ist (damals mittels Hochdurchsatz-Shotgun-Sequencing)¹⁷.

Im Jahr 2011 wurde der NIPT dann erstmals in Hongkong im Routinebetrieb eingesetzt¹⁸. In den darauf folgenden Jahren folgte ein regelrechter Boom mit einer Reihe von Anbietern, die kommerzielle Tests entwickelten. Die in der Einleitung erwähnten Umsatzschätzungen spiegeln den "Erfolgslauf" dieser Methode wieder. Mittlerweile gehört der NIPT schon klar zu den Standarduntersuchungen und wird entweder als primäres oder sekundäres Screening vornehmlich für die Trisomie 21 genutzt.

Darüber, in welchem Setting der NIPT eingesetzt werden soll, scheiden sich noch die Geister bzw. Fachgesellschaften. Klar ist, dass der NIPT dem klassischen Ersttrimesterscreening hinsichtlich Sensitivität und Vorhersagekraft für die Erkennung der Trisomie 21 überlegen ist. Allerdings zeigt ein sogenanntes "Contingent Screening" - also ein primäres Screening mit Ultraschall und Serum-Biochemie - und einem nachfolgenden NIPT (beispielsweise im Falle eines intermediären Risikos) ebenfalls eine gute Performance bei einem insgesamt günstigeren Preis¹⁹.

Mittlerweile wurde der Horizont des NIPT deutlich erweitert - vornehmlich auf die bereits eingangs erwähnten Mikrodeletionen (in erster Linie das 22q11.2 Mikrodeletionssyndrom)²⁰ bis hin zu Einzelgenmutationen²¹. In den rund 25 Jahren seit der erstmaligen Bestimmung zellfreier fetaler DNA aus dem mütterlichen Blut hat sich also - nicht zuletzt aufgrund der technischen Weiterentwicklungen im Bereich der Diagnostik - extrem viel getan.

Analysemethoden beim NIPT

Trotz der großen Menge an NIPT-Anbietern setzen so gut wie alle Labore entweder auf Counting-Methoden mittels Whole Genome Sequencing (z.B. NIFTY von BGI), Targeted Sequencing (z.B. Harmony von Roche) oder auf die Detektion von SNPs (z.B. Panorama von Natera)²². Daneben gibt es eine weitere Methode, die nicht auf Sequenzierung sondern auf eine Rolling-Circle-Amplifikation von

Zielregionen der zellfreien DNA setzt (Vanadis von PerkinElmer)²³. Die einzelnen Methoden werden hier kurz vorgestellt.

Whole Genome Sequencing (WGS)

Der erste kommerzielle NIPT namens NIFTY (*Non Invasive Fetal Trisomy Testing*) wurde vom Biotech-Unternehmen BGI aus Hongkong auf den Markt gebracht. BGI sequenziert maternale und fetale DNA-Abschnitte ungezielt mittels Massive Parallel Sequencing und analysiert diese dann (nach Eigenangaben des Unternehmens) mit vier proprietären Bioinformatik-Tools.

Dabei werden die DNA-Sequenzen mit einer Referenz-DNA verglichen: Wenn vermehrt DNA eines bestimmten Chromosoms (z.B. Chromosom 21) detektiert wird, so besteht der hochgradige Verdacht auf eine Trisomie 21 (da man ja davon ausgeht, dass die Mutter keine Trisomie 21 aufweist).

Als Vorteil dieser Methode gibt das Unternehmen auch an, dass dadurch ein breiterer Bereich als bei Mitbewerbern abgedeckt wird und beispielsweise Mikrodeletionen entdeckt werden können²⁴.

Neben BGI nutzen mittlerweile auch andere Anbieter und Labore ähnliche Methoden. So gibt es nunmehr über die VeriSeq-Plattform von Illumina Tests, die mittels Paired-End WGS arbeiten und ebenfalls Mikrodeletionen erkennen können²⁵.

Mittels WGS können auch Einzelgenmutationen dargestellt werden - dieser werden im entsprechenden Kapitel (siehe unten) im Detail betrachtet.

Targeted Sequencing

Im Gegensatz zu den Analysemethoden mittels Whole Genome Sequencing werden dabei nur bestimmte Regionen sequenziert und wie beim WGS mit Referenzchromosomen verglichen. Der bekannteste Anbieter hierbei ist Roche (früher Ariosa) mit dem Harmony-Test. Der Vorteil davon ist, dass der Sequenzieraufwand niedriger und die Sequenziertiefe dafür höher ist als bei den

erstgenannten Methoden²⁶. Auch Targeted Sequencing kann zum Screening auf Mikrodeletionen genutzt werden²⁷.

Detektion von SNPs

Bei dieser Methode (Panorama-Test von Natera) werden gezielt mehr als 19.000 SNPs der Chromosomen 13, 18, 21, X und Y analysiert. Diese Methode nutzt die Allel-Verteilung und kann daher auf ein Referenzchromosom verzichten²⁸. Mittels SNP-Methode können außerdem Mikrodeletionen dargestellt werden²⁹.

Rolling-Circle-Amplifikation von Zielregionen

Erst seit kurzem wird die Methode, NIPT mittels Rolling Circle Amplifikation durchzuführen, genutzt. Dabei werden Zielregionen (z.B. auf dem Chromosom 21) gezielt amplifiziert, mit fluoreszierenden Markern gelabelt und auf eine Nanowell aufgebracht. Durch die Zählung der farbmarkierten Rolling-Circle-Produkte wird auf das Vorhandensein zusätzlicher DNA einzelner Chromsomen überprüft. Diese Methode hat den Vorteil, relativ einfach durchzuführen und kostengünstig zu sein³⁰.

Der NIPT im Trisomie-Screening

Die erste - und noch immer wichtigste - Indikation für den NIPT ist das Screening auf die häufigsten autosomalen Trisomien - also Trisomie 21 (Down Syndrom), Trisomie 18 (Edwards Syndrom) und Trisomie 13 (Patau Syndrom). Gerade die Trisomie 21 ist angesichts des zunehmenden Durchschnittsalters schwangerer Frauen ein Thema, da die Wahrscheinlichkeit dafür - wie eingangs erwähnt - mit zunehmendem mütterlichen Alter ansteigt: Im Jahr 1984 betrug das durchschnittliche Gebäralter in Österreich 26,1 Jahre und ist bis 2020 auf 31,3 Jahre angestiegen³¹.

Mittlerweile ist hierzulande eine ganze Reihe von Anbietern aktiv. Gerade bei der Trisomie 21 findet man bei den einzelnen Methoden keine wirklich relevanten Unterschiede bei den Erkennungsraten mehr - die Sensitivität liegt durchwegs bei

rund 99 Prozent. Kleinere Unterschiede gibt es hinsichtlich Spezifität und positiv-prädiktivem Wert (positive predictive value, PPV).

Hier eine Auswahl an in Österreich häufig genutzten NIPT und ihren Performance-Daten (jeweils laut im Mai 2022 verfügbaren Firmeninformationen für Trisomie 21):

	Sensitivität	Spezifität	PPV*
Harmony	99,64 %	99,96 %	55,39-99,64 %**
Panorama	98,98 %	99,96 %	95,10 %
NIFTY	99,17 %	99,95 %	92,19 %

**Positive predictive value; **abhängig von der Vor-Test-Wahrscheinlichkeit*

Bei Trisomie 18 und 13 zeigen die Daten etwas größere Unterschiede. So wird die Sensitivität für die Trisomie 18 bei den genannten drei Anbietern von 94,1 bis 98,2 und bei der Trisomie 13 von 93,8 bis 100% angegeben. In der klinischen Praxis sind diese beiden Chromosomenstörungen in Bezug auf den NIPT allerdings weniger relevant, da betroffene Feten in vielen Fällen schon im ersten Trimester deutliche sonografische Auffälligkeiten im qualifizierten Ultraschallscreening zeigen³².

In welchen Fällen der NIPT angewendet werden soll, ist seit seiner Einführung Gegenstand von Diskussionen. Auf der einen Seite kann er als primäre Screeninguntersuchung, auf der anderen Seite auch nach einem Combined Test im Sinne des bereits erwähnten "Contingent Screening" durchgeführt werden. Letzteres bedeutet, dass der NIPT ab einer bestimmten Schwelle als Ergänzung zum Combined Test empfohlen wird. Ein Beispiel für einen solchen Cut-Off-Wert wäre 1 in 1.000: Der NIPT wird also Patientinnen dann empfohlen, wenn ihr Combined-Test-Ergebnis höher als ein Promille beträgt. Darunter fallen mehr als 96 Prozent aller Fälle von Trisomie 21³³.

Der NIPT als primäre Untersuchungsmethode hat den Vorteil, dass die Erkennungsrate für Trisomie 21 höher liegt als beim Combined Test. Wenn eine Patientin also diesbezüglich eine möglichst hohe Sicherheit haben möchte, so ist diese Variante sinnvoll.

Das Contingent Screening hat allerdings auch einige weitere Vorteile: So empfiehlt man nach aktuellen Leitlinien bei hohen Risiken im Combined Test ausdrücklich die Durchführung einer invasiven Diagnostik - nicht zuletzt vor dem Hintergrund, dass solche Befunde auch Hinweise für Chromosomenstörungen sein können, die nicht vom NIPT abgebildet werden³⁴. In diesen Fällen wäre also ein NIPT als primäre Screeningmethode nicht sinnvoll.

Es gibt aber auch Befundkonstellationen bei einem unauffälligem Combined-Test-Ergebnis, die ebenfalls zur Beratung in Richtung invasiver Diagnostik führen - beispielsweise, wenn das PAPP-A oder das freie beta-hCG sehr niedrig (<0,20 MoM - Multiples of Median) sind. Auch in solchen Fällen kommen "atypische" Chromosomenstörungen häufiger vor³⁵.

Beim NIPT ist außerdem zu bedenken, dass er in manchen Situationen nicht durchgeführt werden oder falsch-negative bzw. positive Ergebnisse zeigen kann. Recht häufig ist z.B. der Vanishing Twin - also das Vorhandensein eines zweiten Fruchtsackes, der entweder leer ist oder einen Embryo mit fehlender Herzaktion zeigt.

In solchen Fällen kann durch die mitunter noch immer in den Kreislauf der Mutter freigegebene plazentare DNA des Vanishing Twin ein ungültiges Ergebnis herauskommen³⁶. Manchmal ist auch die fetale Fraktion so niedrig, dass es ebenfalls zu keinem verwertbaren Ergebnis kommt. Dies kann beispielsweise bei korpulenten Patientinnen der Fall sein³⁷.

	"No Call" nach 1. Blutabnahme	"No Call" nach 2. Blutabnahme
Harmony	1,3 %	0,9 %
Panorama	1,4 %	0,5 %
NIFTY	2,8 %*	0,07 %**

Aktuelle "No Call"-Rate von häufigen in Österreich verwendeten NIPT

** "re-sampling rate, ** no call rate*

(Quellen: Firmenwebsites der Anbieter).

Abgesehen davon wurden auch andere Faktoren ermittelt, bei denen es zu einem divergierenden oder gar keinem Ergebnis kommt - darunter Mosaik (mütterlich oder Plazenta), Transfusionen, Autoimmunerkrankungen, Heparin-Gabe oder maternale Neoplasien³⁸.

Besonders wichtig ist auch, dass ein NIPT das Ersttrimesterscreening und den Ultraschall samt Nackenfaltenmessung nicht ersetzt, sondern lediglich den Aspekt des Trisomie-Screenings abdeckt. Ein frühes Fehlbildungsscreening, die Berechnung hinsichtlich des Präeklampsierisikos oder die Beurteilung von Hinweiszeichen für andere chromosomale Auffälligkeiten werden vom NIPT klarerweise nicht abgedeckt. Dieser Test erfüllt also nur für einen relativ kleinen Teil des Ersttrimesterscreenings.

Zusammengefasst ist der NIPT also eine sehr gute Screening-Methode, die mit rund 99 Prozent eine hohe Erkennungsrate für Trisomie 21 bietet. Allerdings ist zu bedenken, dass es zu falschen oder inkonklusiven Resultaten kommen kann - laut einer Metaanalyse sind dies bis zu 5,3 Prozent³⁹. Einen Ersatz für ein umfassendes und gezieltes Ultraschall-Ersttrimesterscreening bietet der NIPT nicht.

Der NIPT abseits des Trisomie-Screenings

Neben dem Screening auf Trisomien kann der NIPT mittlerweile auch andere Bereiche abdecken - angefangen von der Bestimmung des Geschlechts und von Geschlechtschromosomenvarianten (z.B. Turner-Syndrom) spannt sich nunmehr das Spektrum über Mikrodeletionen bis hin zu Einzelgenmutationen. Abgesehen davon kann der NIPT auch die Zygotität von Zwillingen oder die Triploidie darstellen. Diese Erweiterungen des Testfeldes abseits des Trisomie-Screenings sind teilweise nur bei speziellen NIPT-Methoden möglich - die Bestimmung der Triploidie beispielsweise nur bei den SNP-basierten Techniken.

Screening für Aneuploidien der Geschlechtschromosomen

Aneuploidien der Geschlechtschromosomenvarianten kommen neben den klassischen Trisomien relativ häufig vor: Sie finden sich etwa in einem von 400

Neugeborenen⁴⁰. Die bekanntesten sind Turner- und Klinefelter-Syndrom (45,X bzw. 47,XXY) - daneben existieren aber noch weitere Varianten wie beispielsweise 47,XXX oder 47,XXY.

Die klinischen Erscheinungsbilder können dabei sehr unterschiedlich sein - sie sind allerdings von der Schwere der Auswirkungen in der Regel in keinsten Weise mit Trisomien der Autosomen vergleichbar. Beim "typischen" Turner-Syndrom (ca. 1 in 2.500 Lebendgeborenen) beispielsweise findet man unter anderem Kleinwuchs und eine gestörte Ovarialfunktion, mitunter auch Auswirkungen auf nonverbale Fähigkeiten - die durchschnittliche Intelligenz insgesamt ist aber normal.

Neben diesen relativ milden Zeichen kann das Turner-Syndrom allerdings auch mit schweren Problemen einhergehen - und hier sind vor allem die Herzfehler zu nennen. Im Ersttrimesterultraschall weisen viele betroffene Feten Hydropszeichen und Herzfehler auf⁴¹. Gerade diese im Ultraschall auffälligen Feten zeigen eine insgesamt schlechte Prognose - ganz im Gegensatz zum postnatalen Leben. In einer Studie heißt es: *"Das typische intrauterine Bild des Turner-Syndroms mit deutlich erhöhter NT oder mit Hydrops und einem typischen 45X-Karyotyp besitzt eine extrem schlechte Prognose für das intrauterine Überleben."*⁴²

Generell dürften die wenigsten Embryonen und Feten mit einem 45,X-Karyotypen die Schwangerschaft überleben: Rund 1 bis 1,5% der Frühgraviditäten weisen einen solchen auf - rund 99% davon dürften die Schwangerschaft nicht überstehen. Möglicherweise spielen bei den überlebenden Feten Mosaikbildungen eine Rolle⁴³.

Das Klinefelter-Syndrom (bis zu 1 bei 750 Lebendgeborenen) zeichnet sich unter anderem durch Großwuchs und Infertilität aus - außerdem kann die Sprachfähigkeit sowie die soziale Kompetenz beeinträchtigt sein - wobei hier die Variabilität sehr hoch ist⁴⁴.

Die Trisomie X (47,XXX, Triple-X-Syndrom) ist die häufigste der geschlechtschromosomalen Aneuploidien bei Frauen und dürfte in rund einer von 1.000 Lebendgeburten vorkommen. Die Zahl der nicht diagnostizierten Fälle dürfte allerdings hoch sein, da die Betroffenen oft keine groben klinischen Auffälligkeiten aufweisen.

Sie können eine eher große Statur oder spezielle Gesichtszüge mit Hypertelorismus oder Epikanthusfalten aufweisen. Mitunter findet man motorische oder sprachliche Entwicklungsverzögerungen, manchmal können zum Beispiel auch Aufmerksamkeitsdefizite oder Angstzustände auftreten. Die Intelligenz bewegt sich oft im normalen Bereich mit einer weiten Streuung und einer leichten Versetzung der Normalkurve nach links⁴⁵.

Das XYY-Syndrom (Jacobs-Syndrom) kommt in einer Häufigkeit von rund 1 in 850 Lebendgeburten vor⁴⁶. Die Betroffenen sind mitunter größer gewachsen und weisen oft einen Hypertelorismus, eine Makrocephalie und andere leichte morphologische Varianten auf. Die Häufigkeit von Asthma aber auch Erkrankungen aus dem Autismus-Spektrum (ASD, autistic spectrum disorders) sind im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöht. Laut einer Studie zeigt die pränatale Diagnose Vorteile: *"Die vorgeburtliche Diagnose war mit einer höheren kognitiven Funktion und einer geringeren Wahrscheinlichkeit einer ASD-Diagnose verbunden."*⁴⁷

Derzeit können die Sequenzierungs- und SNP-Methoden (nicht aber die Rolling-Circle-Methode) Aneuploidien der Geschlechtschromosomen darstellen. Die Sensitivität liegt beispielsweise beim Panorama-Test (SNP-Methode) laut Herstellerangaben für die Monosomie X bei 94,7% (95%-Konfidenzintervall [KI] 74,0 - 99,9%) und für XXX, XXY sowie XYY bei 73,1% (95%-Konfidenzintervall 61,0 - 85,1%). Damit ist die Entdeckungsrate im Vergleich zur Trisomie 21 geringer - ebenso wie der positiv-prädikative Wert, der beispielsweise in einer rezenten Studie, bei der eine Sequenzierungsmethode benutzt worden ist, rund 45% betragen hat⁴⁸.

Macht das Screening für geschlechtschromosomale Aneuploidien Sinn? Diese Frage kann weder mit einem klaren Ja noch mit einem Nein beantwortet werden. Auf der einen Seite besitzen Menschen mit solchen Varianten oft keine schweren Fehlbildungen oder sonstige medizinische Probleme (abgesehen natürlich von Ausnahmen wie den häufigen Herzfehlern bei manchen Feten mit Turner-Syndrom).

Die pränatale Diagnose von Aneuploidien der Geschlechtschromosomen kann bei den werdenden Eltern zu Unsicherheiten führen, die überstürzte Handlungen nach sich ziehen können: *"Die meisten Paare entschieden sich bei pathologischen Gonosomenanomalien zunächst für einen Schwangerschaftsabbruch, auch wenn nur geringfügige Entwicklungsmerkmale verändert sind"* heißt es in einer Studie⁴⁹. Deren Autorinnen und Autoren erscheint daher auch Diskussionen mit den Eltern wichtig, *"damit sie die Bedeutung der Diagnose verstehen und eine fundierte Entscheidung über die Schwangerschaft treffen können."*

In der Tat dürften sich werdende Eltern relativ oft für den Abbruch der Schwangerschaft nach einer solchen Diagnose entscheiden. In einer retrospektiven Studie aus Schottland wurde beschrieben, dass bei 43% der pränatal diagnostizierten Fälle eine Interruptio durchgeführt wurde. Insgesamt 53% der betroffenen Kinder wurden lebend geboren, 4% sind intrauterin verstorben⁵⁰.

Für ein Screening auf Aneuploidien der Geschlechtschromosomen mittels NIPT spricht hingegen unter anderem die Tatsache, dass durch eine frühzeitige Entdeckung eine optimierte Betreuung nach der Geburt ermöglicht werden kann. Wie bereits erwähnt, weist rund eines von rund 400 Neugeborenen eine Aneuploidie der Geschlechtschromosomen auf⁵¹. Damit zählt diese Gruppe zu den häufigsten Chromosomenstörungen überhaupt und liegt damit leicht über der Prävalenz der Trisomie 21⁵². Das macht sie demnach auch zu einer epidemiologisch wichtigen Klasse - und daher kann man zumindest darüber diskutieren, ob ein solches Screening rein prinzipiell Sinn macht.

Der Ultraschall eignet sich nur sehr eingeschränkt für die Detektion der Aneuploidien von Geschlechtschromosomen. In einer Analyse hat die Arbeitsgruppe um Nicolaides errechnet, dass durch die Nackenfaltenmessung nur rund 20% der potenziellen Lebendgeburten mit Turner-Syndrom und 9% von jenen mit 47,XXY, 47,XYY und 47,XXX im ersten Trimester erkannt werden können⁵³. Durch das erweiterte Ersttrimesterscreening können diese Zahlen erhöht werden - in einer dänischen Studie waren 42% der erwarteten Turner-Syndrom-Fälle und 27% der restlichen Geschlechtschromosomenanomalien beim Combined Test auffällig⁵⁴.

Wie erwähnt, weisen manche Feten mit Turner-Syndrom Herzfehler auf, die bei einem erweiterten Ersttrimesterscreening oder späteren Ultraschall mitunter erkannt werden könnten. Konkret handelt es sich beispielsweise um Anomalien des Aortenbogens, Auffälligkeiten an den Nieren (vor allem Hufeisennieren) oder Wachstumsstörungen⁵⁵.

Beim Klinefelter-Syndrom wurden in einer Studie neben einer erhöhten Nackentransparenz in 7 von 24 Fällen beim (im zweiten Trimester durchgeführten) Organscreening sonographische Auffälligkeiten erkannt (Gehirn, Extremitäten, Herz und Darm)⁵⁶. Bei der Trisomie X wurden ebenfalls Fehlbildungen beschrieben, die potentiell bereits im pränatalen Ultraschall erkannt werden können, darunter diverse Herzfehler oder Nierenfehlbildungen⁵⁷. Bei der 47,XXY-Variante wurden im vorgeburtlichen Ultraschall in Einzelfällen Gehirnauffälligkeiten dargestellt⁵⁸.

Der Ultraschall ist also eine nicht sehr sensitive Methode, um diese Art der Chromosomenstörungen zu erkennen - andererseits ist sie auch nicht spezifisch, da diese erwähnten Auffälligkeiten bei einer Vielzahl anderer Entitäten vorkommen können. Der NIPT ist - trotz der schlechteren Testperformance gegenüber der Trisomie 21 - deutlich überlegen.

Bei geschlechtschromosomalen Aneuploidien wäre eine frühe Diagnose und gegebenenfalls Therapie grundsätzlich wichtig. So ist es beispielsweise beim Turner-Syndrom maßgeblich, schon frühzeitig eine Behandlung mit Wachstumshormon zu beginnen. Aber auch Vorkehrungen in Bezug auf andere Problemfelder (beispielsweise Strabismus, kardiale Erkrankungen, Hypothyreoidismus oder Lernschwierigkeiten) sollten früh beginnen⁵⁹. Aufgrund ihrer dezenten oder fehlenden Stigmata werden die geschlechtschromosomalen Anomalien nach der Geburt oft gar nicht oder sehr spät erkannt.

Wichtig ist zu erwähnen, dass ein NIPT-Befund, der ein hohes Risiko für eine geschlechtschromosomale Trisomie zeigt, auch bei höhergradigen Tetra- oder Pentasomien der X- und Y-Chromosomen vorkommen kann (ohne dass diese ja im eigentlichen Umfang des Tests vorhanden sind). So wurde in einem Case Report über zwei Fälle berichtet, die vom NIPT als Klinefelter-Syndrom klassifiziert

worden sind - letztlich aber einen 49,XXXXY- sowie einen 48,XXYY-Karyotypen (samt zusätzlichen Auffälligkeiten im Karyogramm) aufgewiesen haben⁶⁰.

Das ist insofern wichtig, als Träger von höhergradigen Aneuploidien (die in 1 von 18.000 bis 1 von 100.000 Geburten männlicher Neugeborener vorkommen) mitunter ein anderes klinisches Spektrum zeigen als dies bei Buben und Männern mit Klinefelter-Syndrom der Fall ist - allerdings auch mit einer sehr starken Variabilität.

Schwangere Patientinnen, die einen für Klinefelter-Syndrom auffälligen NIPT-Befund erhalten haben, sind darauf aufmerksam zu machen. Ihnen sollte auch aus diesem Grund eine invasive Diagnostik angeboten werden.

Die Durchführung eines NIPT für geschlechtschromosomale Varianten macht also einerseits durchaus Sinn - andererseits ist es aber wichtig, die Limitationen der Methode zu kennen und den Patientinnen auch zu kommunizieren. Und noch wichtiger ist es, im Falle einer positiven Diagnose eine entsprechende ausführliche Beratung durchzuführen, um unbedachte Schwangerschaftsabbrüche zu vermeiden.

Screening für Triploidie

Die Triploidie bezeichnet das Vorhandensein eines dreifachen Chromosomensatzes. Die Prävalenz beträgt in der 7. Schwangerschaftswoche rund 2% und in der 11. Schwangerschaftswoche nur noch etwa 0,1%⁶¹. Laut EUROCAT wurde im Jahr 2019 nur bei 0,9 von 10.000 Geburten eine Triploidie oder Polyploidie diagnostiziert⁶².

Grundsätzlich unterscheidet man - je nach Herkunft des zusätzlichen Chromosomensätze - zwei Arten, die im Ultraschall ein teils unterschiedliches Bild zeigen^{63,64}:

Digynie (Befruchtung einer diploiden Eizelle durch ein Spermium)

- Schwere fetale Wachstumsretardierung (meist asymmetrisch)
- Kleine Plazenta
- Meist normale Nackentransparenz

- Sehr niedrige Combined-Test-Serumparameter (PAPP-A und freies beta-hCG)
- Schwere Fehlbildungen

Diandrie (Befruchtung einer Eizelle durch zwei Spermien)

- Wachstumsretardierung weniger stark (meist symmetrisch)
- Vergrößerte Plazenta mit partieller Mole
- Oft verdickte Nackentransparenz
- Freies beta-hCG oft massiv erhöht
- Häufig Präeklampsie
- Trophoblastpersistenz
- Schwere Fehlbildungen

Die Triploidie kann nicht durch Whole Genome oder Targeted Sequencing erkannt werden, da keine Veränderung der Verhältnisse der untersuchten DNA-Abschnitte auftritt. SNP-basierte NIPT hingegen können den zusätzlichen haploiden Chromosomensatz detektieren. Wenn allerdings ein solcher erkannt wird, können auch andere Ursachen der Grund für einen positiven Test sein - in der Mehrzahl der Fälle der bereits erwähnte Vanishing Twin oder eine nicht erkannte Zwillingsschwangerschaft. In einer aktuellen Studie wurde bei 10% keine Ursache für den zusätzlichen Haplotypen im NIPT gefunden⁶⁵.

Obwohl die Triploidie insgesamt eher selten vorkommt, so kann sie mitunter doch bis ins zweite Trimester bestehen bleiben und unter Umständen auch nicht erkannt werden (obwohl sie meist schwere Auffälligkeiten im Ultraschall zeigt). Aus diesem Grund kann ein NIPT, der die Triploidie einschließt, durchaus Sinn machen. Insbesondere auch deswegen, weil die Rate an Präeklampsien oder Trophoblastpersistenzen erhöht ist. Problematisch kann die weitere Beratung beim Auftreten eines zusätzlichen Haplotypen sein, der eben neben der Triploidie auch für andere Ursachen stehen kann.

Screening für Zygotität bei Zwillingen

In Österreich wurden im Jahr 2020 rund 2,8 Prozent aller Lebendgeburten von der Statistik Austria als "Mehrlingsgeburten" definiert⁶⁶. Bei den allermeisten Mehrlingsschwangerschaften handelt es sich um solche mit Zwillingen. Diese können mono- oder dizygot angelegt sein - und (was klinisch wichtig ist) mono- oder dichoriot sowie mono- oder diamniot.

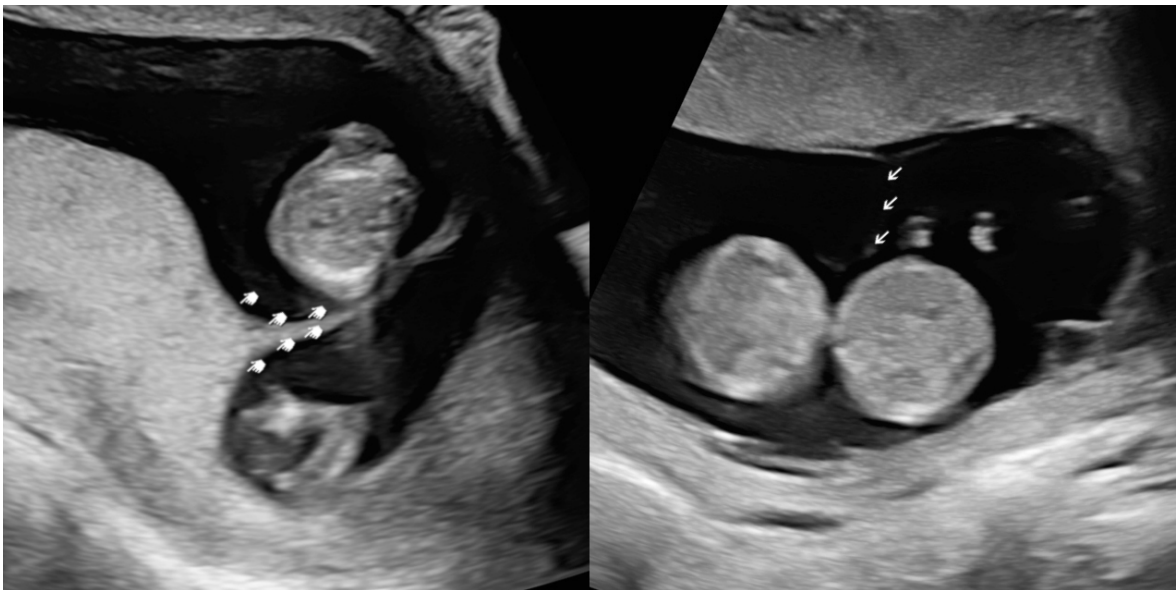


Abbildung 2: Meistens können dichoriote (links) und monochoriote Zwillinge (rechts) im Ultraschall unter anderem über die Form der Amnionhaut gut unterschieden werden - manchmal gelingt dies aber nicht (Bilder: Autor).

Mittels Ultraschall kann lediglich die Chorionizität (Anzahl der funktionell getrennten Plazenten) und die Amnionizität (Anzahl der Fruchthöhlen) bestimmt werden. Die Zygotie kann nur dann mit Sicherheit als monozygot bestimmt werden, wenn es sich um eine monochoriote Plazentaanlage handelt. Und sie kann nur dann als sicher dizygot definiert werden, wenn die Geschlechter unterschiedlich sind. Bei dichorioten Schwangerschaften mit gleichem Geschlecht kann es sich beispielsweise sowohl um eine mono- als auch um eine dizygoten Schwangerschaft handeln.

Die Zygotität kann mittels SNP-basiertem NIPT mit hoher Sicherheit bestimmt werden: In einer Validierungsstudie mit 95 Zwillingspaaren waren alle Resultate korrekt⁶⁷. Der Sinn könnte vor allem daran liegen, die Wahrscheinlichkeit für eine monochoriale Schwangerschaft abzustecken, wenn dies vom Ultraschall her beispielsweise unklar oder kein Ersttrimesterscreening durchgeführt worden ist.

Bei dizygoten handelt es sich in aller Regel auch um dichoriote Schwangerschaften - bei monozygoten besteht hingegen eine Wahrscheinlichkeit von rund 75 Prozent für eine monochoriote Gravidität mit einer intensiveren Schwangerschaftsbetreuung. Aber auch bei speziellen Fragestellungen im Zuge der Fehlbildungsdiagnostik kann die Zygotität von Interesse sein⁶⁸.

Das Screening für die Zygotität von Zwillingen gehört zwar eher zu den Randthemen des NIPT - allerdings kann dieses in Einzelfällen mitunter Sinn machen.

Spezifisches Mikrodeletions-Screening

Neben den klassischen numerischen sind sowohl in der Pränatalmedizin als auch in der Pädiatrie die strukturellen Chromosomenstörungen von zunehmend großer Bedeutung. Nicht zuletzt ist dies durch den immer stärkeren Routineeinsatz von Mikroarray-Tests in der prä- und postnatalen Diagnostik bedingt, der die Erkennung von Mikrodeletionen und -duplikationen immens erleichtert.

Dabei handelt es sich um kleine und in der klassischen Chromosomenbänderung in der Regel nicht sichtbare Stückverluste oder -gewinne. Diese sind typischerweise weniger als 5 Megabasen groß und führen zu einer segmentalen Monosomie (bei der Deletion) oder Trisomie (bei der Duplikation)⁶⁹. Pathologische oder potenziell pathologische Veränderungen (CNV, Copy Number Variations) können in rund 1,7% aller strukturell unauffälligen Schwangerschaften gefunden werden⁷⁰.

Vor dem Aufkommen der Array-CGH wurden bei umschriebenen klinischen Verdachtsmomenten spezifische FISH (Fluoreszenz in-situ Hybridisierung) -Sonden im Rahmen diagnostischer, invasiver Untersuchungen genutzt. Nunmehr werden dabei durch die Mikroarrays oftmals Chromosomenveränderungen

gefunden, nach denen man früher gar nicht gesucht hätte. Problematisch ist, dass die klinische Bedeutung mancher chromosomaler Modifikationen (noch) nicht bekannt ist.

Das häufigste dieser Mikrodeletionssyndrome ist das 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom (DiGeorge-Syndrom). Weitere bekannte Syndrome sind beispielsweise das Angelman-, das Prader-Willi-, das Cri-du-Chat oder das 1p36 Deletionssyndrom. Daneben gibt es aber eine Vielzahl anderer Mikrodeletions- und -duplikationssyndrome, deren Liste aus den genannten Gründen immer länger wird.

Seit einigen Jahren wird das Screening auf spezifische Mikrodeletionen mittels NIPT kommerziell angeboten - seit 2016 mittels SNP-Technologie⁷¹ und seit 2018 mittels Targeted Sequencing. Die erste Methode (Panorama Test von Natera) screent auf das 22q11.2-, das 1p36-, das Angelman-, das Cri-du-Chat- und das Prader-Willi-Syndrom. Die zweite Technologie (Harmony Test von Roche) bietet nur das 22q11.2-Syndrom an⁷². Neben diesen beiden Methoden wird mittlerweile auch mittels NIPT per Whole Genome Sequencing nach Mikrodeletionen gesucht - mehr dazu im eigenen Kapitel weiter unten.

Die Testperformance für das 22q11.2-Syndrom ist bei beiden Methoden schlechter als jene für die Erkennung der Trisomie 21: Beim SNP-basierten Test wird die Sensitivität mit 83,3% und die Spezifität mit >99% angegeben⁷³, bei der Targeted-Sequencing-Methode sind es 69,6% bzw. 100%⁷⁴. Der positiv-prädikative Wert wird dabei zwischen 12,2% und 53% angegeben und ist damit ebenfalls deutlich niedriger als beispielsweise beim Screening auf Trisomie 21.

Bei den anderen Mikrodeletionssyndromen, die mit dem SNP-basierten Test abgebildet werden, wird die Sensitivität laut Herstellerangaben mit 93,8% bis >99% angegeben - allerdings mit teilweise sehr hohen 95%-Konfidenzintervallen (im Extremfall beim 1p36 Deletionssyndrom 2,5 bis 100%). Als PPVs werden zwischen 2% und 17% genannt.

Um die Frage, ob ein Screening in Richtung der genannten Mikrodeletionssyndrome Sinn macht, zu beantworten, muss man sich zuerst mit deren epidemiologischen und klinischen Hintergrund beschäftigen. Für sich genommen, sind diese Syndrome relativ selten - wobei das 22q11.2-Syndrom die

höchste Prävalenz besitzt. Laut neueren Studien dürfte diese bei rund 1:1.000 liegen⁷⁵, die anderen vier im SNP-Test gescreenten selteneren Mikrodeletionen sind in einer Studie auf eine kombinierte Prävalenz von rund 1 zu 1.464 gekommen⁷⁶.

Im pränatalen Ultraschall kann man beim 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom Herzfehler (z.B. Auffälligkeiten des Aortenbogens, Fallot'sche Tetralogie, Truncus arteriosus, Septumdefekte) oder eine Thymushypoplasie erkennen. Allerdings findet man mitunter auch weitere mehr oder weniger dezente sonographische Hinweiszeichen - darunter beispielsweise ein prominentes Cavum septi pellucidi, erweiterte Nierenbecken, kleine Ohren oder Klumpfüße⁷⁷. Die Bandbreite für Auffälligkeiten im Ultraschall ist dabei extrem hoch - und die einzelnen Hinweiszeichen (bis auf die speziellen Herzfehler und die Thymushypoplasie) sind nicht sehr spezifisch.

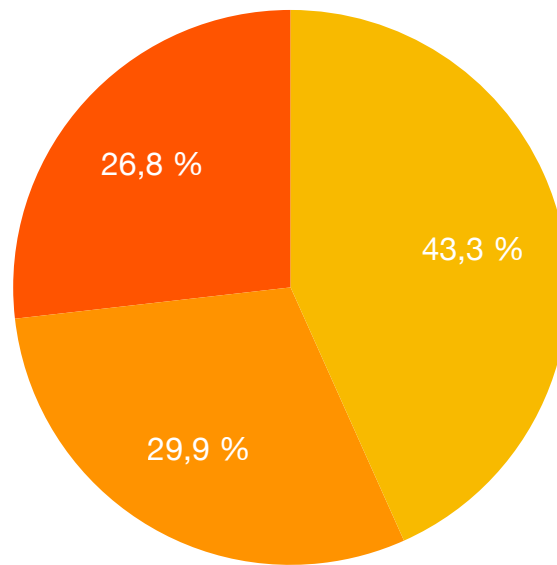
Im postnatalen Leben kann man bei Menschen mit 22q11.2-Mikrodeletion abgesehen von den Problemen durch Herzfehler (die postnatal mit einer Häufigkeit von 64% beschrieben werden) eine Reihe von weiteren medizinischen Themen finden - darunter Immundefekte (in 50% eine T-Zell-Dysfunktion), velopharyngeale Dysfunktion (52%), Skoliose (50%) sowie neurologisch-psychiatrische Erkrankungen wie ADHS (52%), Autismus (19%) oder psychotische Manifestationen (15%)⁷⁸. Darüber hinaus sieht man auch bei vielen Betroffenen eine generelle Entwicklungsstörung⁷⁹. Generell ist aber die Variabilität der Symptome und medizinischen Probleme extrem hoch.

Gerade diese unterschiedliche Ausprägung macht aber auch die Frage schwierig, ob ein Screening nach dem 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom sinnvoll ist. Manche Betroffene können ein normales Leben führen - andere brauchen Unterstützung und wiederum andere sind deutlich eingeschränkt. Eine pränatale Aussage über die Schwere der Ausprägung kann kaum getroffen werden.

Zum einen macht es natürlich schon Sinn, einem Kind eine diagnostische Odyssee (bei den häufig unspezifischen und nicht ganz klaren Symptomenkomplexen) zu ersparen. Außerdem können Frühförderungen helfen, Entwicklungsverzögerungen abzumildern - und auch hinsichtlich der erhöhten Infektanfälligkeit können prophylaktische Maßnahmen ergriffen werden.

Zum anderen kann aber ein erhöhtes Risiko im NIPT die schwangere Frau in eine mehrfach schwierige Situation bringen. So sollte ein solches Ergebnis mittels invasiver Diagnostik überprüft werden - bei einem wie erwähnt niedrigen PPV bedeutet also ein "positives" Ergebnis im NIPT auch nicht zwangsläufig eine

● Basis ● Basis + 22q11 ● Basis + 22q11 + 4 Mikrodeletionen



auffällige Diagnose. Die Aufregung wäre in nicht wenigen Fällen nicht notwendig gewesen.

Wenn diese aber das NIPT-Ergebnis bestätigt, stellt sich zwangsläufig auch die Frage, ob die Schwangerschaft fortgesetzt oder abgebrochen wird. Dieses Thema ist schon bei relativ bekannten Chromosomenstörungen wie der Trisomie 21 extrem schwierig - allerdings wird sie in vielen Fällen wohl noch viel diffiziler sein, wenn es um ein Syndrom geht, das erstens in der Allgemeinbevölkerung weitgehend unbekannt ist und zweitens ein so "verwaschenes" Symptomenbild zeigt. Auch fehlen vielerorts Ansprechpersonen - im deutschsprachigen Raum gibt es aber zumindest eine Selbsthilfegruppe mit einem Kontakt in Österreich⁸⁰.

Die Frage, ob man ein Screening für das 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom empfehlen soll oder nicht, kann daher auch nicht klar beantwortet werden. Die Patientinnen müssen auf jeden Fall über das Syndrom und die "Pitfalls" des Tests informiert werden. Falls es zu einem auffälligen Ergebnis kommt, müssen sie entsprechend beraten und begleitet werden. Eine fachlich versierte

humangenetische Beratung ist dabei natürlich ebenfalls indiziert. Wird die Schwangerschaft weitergeführt, ist es zumindest überlegenswert, die Betreuung von einem Perinatalzentrum übernehmen zu lassen.

Die vom SNP-NIPT abgedeckten anderen und selteneren Mikrodeletionen unterscheiden sich von ihrer Häufigkeit und ihrer klinischen Manifestation deutlich vom 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom:

- Das **1p36-Mikrodeletionssyndrom** kommt in einer Häufigkeit von ca. 1 in 5.000 vor. Die Betroffenen können neben kraniofazialen Dysmorphiezeichen, Muskelschwäche, verzögerter oder fehlender Sprachentwicklung auch eine intellektuelle Beeinträchtigung, Herzfehler oder Krampfanfälle zeigen⁸¹.
- Beim **Angelman-Syndrom** (Deletion 15q11-q13 - mütterliches Chromosom), das weltweit eine Häufigkeit von 1 in 10.000 bis 1 in 20.000 besitzt, zeigen Betroffene unter anderem ebenfalls kraniofaziale Dysmorphiezeichen sowie schwere kognitive Beeinträchtigungen. Typisch ist auch ein hyperaktives Verhalten sowie ein fröhliches Auftreten⁸².
- Das **Prader-Willi-Syndrom** (Deletion 15q11-q13 - väterliches Chromosom) zeigt eine Häufigkeit von 1 in 15.000 bis 1 in 30.000. Bei diesem Syndrom ist die intellektuelle Beeinträchtigung oft nur mild oder moderat - eine verzögerte Sprachentwicklung oder Verhaltensstörungen werden auch beobachtet. Typisch für das Prader-Willi-Syndrom ist die Hyperphagie mit fehlendem Sättigungsgefühl und die dadurch entstehende Adipositas⁸³.
- Das **Cri-du-Chat-Syndrom** (Deletion 5p15) ist mit 1 in 15.000 bis 1 in 45.000 ebenfalls sehr selten. Hierbei zeigen sich ebenfalls oft eine Entwicklungsverzögerung und kognitive Beeinträchtigungen sowie körperliche Auffälligkeiten wie eine Brachycephalie und Gesichtsdysmorphien. Typisch ist das katzenartige Schreien der Betroffenen⁸⁴.

Diese vier Syndrome gehen zweifellos mit schweren Beeinträchtigungen einher - sind aber jedes für sich gesehen extrem selten. Wichtige Voraussetzungen für Screeninguntersuchungen sind unter anderem, dass eine Erkrankung relativ häufig vorkommt, dass sie klinisch relevant ist, dass es einen zuverlässigen Test (der nach Möglichkeit preisgünstig ist) und dass es eine Therapie gibt.

Dies ist bei diesen vier Mikrodeletionen nur sehr eingeschränkt der Fall: Die klinische Relevanz ist zwar zweifellos gegeben - bei der Erkrankungshäufigkeit, der Testperformance und der Therapie sieht es bei diesen extrem seltenen Erkrankungen allerdings ganz anders aus, wobei die gepoolte Prävalenz nach der oben angegebenen Studie mit knapp 1 in 1.500 auch wieder etwas höher ist. Daher muss man grundsätzlich in Frage stellen, ob ein solcher Test also auch wirklich sinnvoll ist.

Wenn man den Test also anbietet, muss man - analog zum Screening auf die 22q11.2-Mikrodeletion - auch darüber informieren, was er kann und was er eben nicht kann bzw. wie gut die Performance der Methode ist. Aus der eigenen Erfahrung des Autors besitzen manche Patientinnen den Irrglauben, dass man mit dem "Absolvieren" des teureren Test auch eine höhere Sicherheit für ein gesundes Kind besitzt. Dies ist allerdings nur sehr eingeschränkt der Fall.

Allerdings wird das Screening auf Mikrodeletionen - trotz Aufklärung - stark gefragt. In der eigenen Praxis haben während einer viermonatigen Beobachtungszeit Anfang 2022 mehr als die Hälfte der Patientinnen einen ausgeweiteten NIPT gewählt:

*Verteilung der Testwahl in einer Wiener Praxis
für Pränatalmedizin (2022, eigene Daten).*

Zusammengefasst können die Targeted-Sequencing- und SNP-basierten Tests für die häufigeren Mikrodeletionen durchaus sinnvoll sein. Allerdings sind die schlechtere Testperformance, die im Vergleich zur Trisomie 21 deutlich niedrigere Inzidenz sowie die Frage nach der Konsequenz zu berücksichtigen.

Allgemeines Mikrodeletions- und Mikroduplikations-Screening

Wird Whole Genome Sequencing als NIPT-Methode verwendet, so kann damit auch nach Mikrodeletionen und Mikroduplikationen gesucht werden. In einer Studie von 2019 wurde die Durchführbarkeit bei einer Auflösung von 3 Megabasen

bestätigt - allerdings konnte dabei aus Gründen der Methodik die Performance nur sehr eingeschränkt beurteilt werden⁸⁵.

In einer Arbeit von 2021 wurde für Deletionen und Duplikationen ab 7 Megabasen (also per definitionem eigentlich keine "Mikro"-Deletionen und -Duplikationen) eine klinische Sensitivität von 74,1% (95%-KI: 55,3-86,8%) sowie eine klinische Spezifität von 99,8% berechnet⁸⁶.

Eine Studie aus dem Jahr 2016 hat den Weg gewählt, ein genomweites Screening für CNVs $\geq 7\text{Mb}$ und ein spezifisches Screening für ausgewählte Deletionen $< 7\text{Mb}$ durchzuführen - mit sehr hohen Entdeckungsraten. Allerdings war diese Validierungsstudie retrospektiv angelegt und ist daher naturgemäß auch weniger aussagekräftig⁸⁷.

In einer sehr ausführlichen systematischen Review aus dem Jahr 2022 wurden insgesamt 32 Arbeiten zum Thema NIPT zum Screening auf CNVs und Mikrodeletionen - mit Targeted Sequencing, SNP-Analyse und Whole Genome Sequencing (mittels Massive Parallel Shotgun Sequencing - MPSS) - analysiert. Diese waren insgesamt in ihrer Test-Performance sehr heterogen: Die Sensitivität der MPSS-Studien ist zwischen 20 und 100%, der PPV zwischen 3 und 97,67% gelegen⁸⁸.

Neben diesen Ergebnissen waren allerdings auch die Studiendesigns selbst sehr unterschiedlich: Sowohl retrospektive als auch prospektive Arbeiten wurden hier eingeschlossen. Auch waren die Anzahl der Reads sehr divers (und teilweise sehr niedrig) - genauso wie die Größen der untersuchten Mikrodeletionen und CNVs. Auch war das Follow-Up der negativen Ergebnisse naturgemäß sehr lückenhaft.

"In Anbetracht der derzeit verfügbaren begrenzten Follow-Up- und Validierungsdaten sollte NIPT für Mikrodeletionen und CNVs mit Vorsicht angewendet und Screening-positive Ergebnisse durch invasive Tests bestätigt werden", schließen daher auch die Autorinnen und Autoren dieser Review.

Das Screening auf Mikrodeletionen und Mikroduplikationen mittels NIPT ist trotz dieser Unsicherheiten grundsätzlich interessant, weil solche Chromosomenstörungen relativ häufig vorkommen und durchaus schweres Krankheits- und Syndrombilder hervorrufen können. In pränataldiagnostischen Setting findet man (bei unauffälligem Karyotyp) in rund 1% aller strukturell

normalen Schwangerschaften und in etwa 6% der Graviditäten mit strukturellen Auffälligkeiten klinisch signifikante subchromosomale Deletionen oder Duplikationen⁸⁹, die außerdem im Gegensatz zu den klassischen Trisomien altersunabhängig vorkommen⁹⁰.

Ob die aktuell kommerziell erhältlichen NIPTs, die ein allgemeines Mikrodeletions- und Duplikationsscreening beinhalten, zum momentanen Zeitpunkt sinnvoll sind, ist jedenfalls aufgrund der erwähnten Probleme wie etwa die mäßig gute Auflösung kritisch zu hinterfragen.

Problematisch ist aber auch die hohe Falsch-Positiv-Rate bzw. der niedrige PPV sowie Fälle von Variants of Unknown Significance (VOUS), die dabei ebenfalls entdeckt werden können - die pränatale Beratungssituation ist dabei auf jeden Fall schwierig. Zu bedenken ist auch, dass in Folge wohl eine größere Zahl an invasiven Eingriffen vorgenommen wird, die man ja eigentlich durch den NIPT vermeiden möchte.

Screening für Einzelgenmutationen

Neben den numerischen Chromosomenstörungen sowie den Mikrodeletionen und -duplikationen sind konsequenterweise auch Einzelgenmutationen ein Zielgebiet von NIPTs. In einer Studie von 2019 wurde eine Methode beschrieben, bei der mittels Next Generation Sequencing (NGS) auf insgesamt 30 de-novo entstandene oder paternal dominant vererbte Varianten untersucht wurde, die zu manifesten Syndromen führen. Darunter waren beispielsweise die Achondroplasie, die Osteogenesis imperfecta, die thanatophore Dysplasie, das Apert Syndrom, das Pfeiffer Syndrom oder auch das Cornelia-de-Lange-Syndrom. Insgesamt haben die untersuchten Einzelgenmutationen eine gepoolte Prävalenz von etwa 1 in 600⁹¹.

Bei dieser ersten klinischen Studie konnte eine extrem hohe Sensitivität und Spezifität erreicht werden - insgesamt wurden 20 richtig-positive, 127 richtig-negative und keine falsch-negativen oder falsch-positiven Ergebnisse erzielt. Einschränkend muss man dabei natürlich erwähnen, dass es sich um eine relativ kleine klinische Validierungsstudie gehandelt hat.

Ein solcher Test ist bereits kommerziell erhältlich (Vistara von Natera) und umfasst die folgenden 25 X-chromosomal oder autosomal dominant vererbten Erkrankungen/Syndrome mit 30 untersuchten Genen⁹²: Achondroplasie (FGFR3), Alagille Syndrom (JAG1), Antley Bixler Syndrom (FGFR2), Apert Syndrom (FGFR2), Cardiofaciokutanäres Syndrom 1, 3 und 4 (BRAF, MAP2K1, MAP2K2), CATSHL Syndrom (FGFR3), CHARGE Syndrom (CHD7), Cornelia de Lange Syndrom 1, 2, 3, 4 und 5 (NIPBL, SMC1A, SMC3, RAD21, HDAC8), Costello Syndrom (HRAS), Crouzon Syndrom (FGFR2, FGFR3), Ehlers-Danlos-Syndrom klassisch, Typ VIIA, kardial-valvuläre Form, Typ VIIB (COL1A1, COL1A2), frühinfantile Enzephalopathie 2 (CDKL5), Hypochondroplasie (FGFR3), SYNGAP-Syndrom (SYNGAP1), Jackson Weiss Syndrom (FGFR2), juvenile myelomonozytäre Leukämie (PTPN11), LEOPARD Syndrom 1,2 (PTPN11, RAF1), Muenke Syndrom (FGFR3), Noonan Syndrom 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 (PTPN11, SOS1, RAF1, RIT1, KRAS, NRAS, SOS2, SHOC2, BRAF, MAP2K1, HRAS, CBL), Osteogenesis imperfecta Typ I, II, III, IV (COL1A1, COL1), Pfeiffer Syndrom Typ 1, 2, 3 (FGFR2), Rett Syndrom (MECP2), Sotos Syndrom 1 (NSD1), Thanatophore Dyspepsie Typ I, II (FGFR3) und Tuberöse Sklerose 1,2 (TSC1, TSC2).

Neben den dominant vererbten sind natürlich auch rezessiv vererbte Erkrankungen und Syndrome von Interesse. Dies ist allerdings in Bezug auf die Analyse deutlich komplexer, da man die "Dosis" der pathogenen Allele darstellen muss - im Gegensatz zu den dominanten Erkrankungen, bei denen es nur um eine Ja/Nein-Analyse geht.

In einer entsprechenden Validierungsstudie aus dem Jahr 2019 wurde mit einer Quantitative Counting Template (QCT) auf Sichelzellen-Anämie, Cystische Fibrose, Spinale Muskelatrophie sowie Alpha- und Beta-Thalassämie getestet. Laut den Studienautoren ergab sich hier eine Sensitivität von mehr als 98% und eine Spezifität von mehr als 99%⁹³.

Dieser Test wird mittlerweile ebenfalls schon kommerziell angewandt (BillionToOne). Man kann dabei zuerst eine maternale Testung auf eine Mutationsträgerschaft vorschalten und dann die eigentliche Analyse mittels QCT anschließen⁹⁴.

Er ist insofern interessant, weil die Anlageträgerschaften für die hier abgedeckten Mutationen durchaus hoch sind - beispielsweise rund 1 in 25 bis 1 in 30 für die Cystische Fibrose in europäischen Populationen (allerdings mit einer hohen regionalen Schwankungsbreite). Dadurch ergibt sich eine Geburtsprävalenz von etwa 1 in 2.500⁹⁵.

Screeninguntersuchungen für Einzelgenmutationen - sowohl dominant als auch rezessiv vererbte Formen - sind also aufgrund ihrer Frequenz aber auch wegen des häufigeren Auftretens bei fortgeschrittenem väterlichen Alter interessant⁹⁶. Allerdings sind diese Tests derzeit noch sehr teuer, was die breite Anwendung einschränkt.

Kritische Auseinandersetzung

Das Spektrum von NIPT-Untersuchungen jenseits des "klassischen" Trisomie-Screenings ist weit. Doch welche Untersuchungen machen wirklich Sinn? Und was muss man dabei bei der Beratung der Patientinnen beachten? Eine kritische Auseinandersetzung zu diesem Thema - unter anderem - nach methodischen und ethischen Fragestellungen ist hier notwendig.

Test-Performance

Ganz wichtig erscheint dabei zuerst einmal die Tatsache, dass viele "Zusatzoptionen" nicht die gleiche Aussagekraft besitzen wie das Trisomie-Screening. Ein Beispiel: Das Unternehmen Natera gibt für seinen Panorama-Test auf dem Befund eine Sensitivität von 99,0% und einen PPV von 95% für Trisomie 21 an. Im klinischen Alltag bedeutet dies, dass man einer Patientin erklären kann, dass rund 99 von 100 Fällen erkannt werden und dass sie bei einem Hoch-Risiko-Ergebnis auch eine 95-prozentige Wahrscheinlichkeit hat, dass ihr Kind Trisomie 21 hat.

Anders sieht es aber bereits bei den Anomalien der Geschlechtschromosomen aus - hier liegt die Sensitivität laut dem Unternehmen beispielsweise bei XXX, XXY und XYY bei 73,1% (mit einem weiten 95%-KI von 61,0 bis 85,1%) und der PPV bei "nur" 86,4. Wie bereits in einem anderen Kapitel erwähnt, wird die Sensitivität

bei der Monosomie X mit immerhin 94,7% und der PPV dabei mit 78% angegeben.

Beim relativ häufigen 22q11.2 Mikrodeletionssyndrom soll die Sensitivität 83,3% betragen (ebenfalls mit einem breiten 95%-KI von 51,6 bis 97,9%), der PPV bei 53%. Bei einem positiven Testergebnis ist also nur rund die Hälfte der Schwangerschaften tatsächlich betroffen.

Noch einmal anders sieht es bei den seltenen Mikrodeletionen aus: So soll zwar beim Angelman-Syndrom die Sensitivität bei bemerkenswerten 95,5% liegen - der PPV beträgt allerdings nur noch 10%. Beim Cri-du-Chat-Syndrom bewegt sich letzterer überhaupt nur noch bei 2 bis 5%.

Bei anderen Anbietern sieht es dabei grundsätzlich ähnlich aus: So zeigt der Harmony-Test von Roche laut einer aktuellen Studie für das 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom (nur dieses wird mit dem Harmony-Test des Unternehmens angeboten) eine Sensitivität von 69,6% (95% KI 55,2 bis 80,9%) und einen PPV von 12,2% (bei einer Spezifität von 99,5%) bzw. 41,1% (bei einer Spezifität von 99,9%)⁹⁷. Damit ist man ebenfalls deutlich von der Test-Performance für die Trisomie 21 entfernt.

Die Validierungs-Daten insbesondere in Bezug auf die Sensitivität und den PPV sind wie zuvor angeführt bei den Tests, die Whole Genom Sequencing für die Detektion von Mikrodeletionen nutzen, teilweise spärlich und auch nicht gut vergleichbar. Um die Test-Performance bei diesen Tests objektiv zu evaluieren, wären große prospektive Studien notwendig. Allerdings wird es dabei rein methodisch schwierig sein, beispielsweise die Sensitivität bei seltenen Mikrodeletionen zu berechnen.

Zusammengefasst ist die Performance bei den Screening-Optionen abseits der klassischen Trisomien also bei weitem nicht so gut wie beispielsweise beim Down-Syndrom. Daher ist es gerade in der Kommunikation mit den Patientinnen unerlässlich, bereits vor der Testdurchführung auf diesen wichtigen Punkt aufmerksam zu machen.

Methodische Einschränkungen

Obwohl die NIPTs in ihren klassischen und wohl auch in ihren "extended" Versionen einen zunehmend wichtigen Platz in der Pränatalmedizin einnehmen, gibt es auch wichtige methodische Einschränkungen: In manchen Situationen ist entweder ein NIPT generell nicht möglich bzw. sinnvoll - bei anderen Patientinnen ist dies nur bei den ausweiteten Versionen der Fall.

So kann ein NIPT beispielsweise aufgrund eines niedrigen Anteils an fetaler (bzw. plazentarer) DNA ("fetal fraction") kein Ergebnis zeigen, was gehäuft bei einem hohen Body Mass Index vorkommt. Insgesamt treten "no calls" in 1 bis 3% aller Tests auf⁹⁸.

Einschränkungen gibt es außerdem wie bereits erwähnt (unter anderem) bei Vorhandensein eines Vanishing Twin, bei Plazentamosaiken oder knochenmarktransplantierten Patientinnen sowie speziell bei den Extended NIPTs bei Eizellspenden oder bei dizygoten Zwillingsschwangerschaften.

Einen NIPT durchzuführen ist - selbst wenn dies von der Patientin ausdrücklich gewünscht wird - in manchen Situationen keine Option. In solchen Fällen kann dann lediglich auf die Werkzeuge Ultraschall und - wenn indiziert bzw. gewünscht - invasive Diagnostik zurückgegriffen werden.

Ethische Fragen

In weiten Teilen der westlichen Welt ist es gesellschaftlich und auch juristisch akzeptiert, Schwangerschaften auf Fehlbildungen hin zu untersuchen - mit der Möglichkeit, bei schweren Malformationen oder Syndromen einen Schwangerschaftsabbruch durchzuführen. Nur in wenigen Ländern der Welt ist ein solcher komplett untersagt⁹⁹.

Die Trisomie 21 ist die häufigste autosomale Chromosomenstörung mit einer Prävalenz von 1 in 249 bei einer 35-jährigen, 1 in 68 bei einer 40-jährigen bis hin zu 1 in 16 bei einer 45-jährigen Frau - jeweils in der 13. Schwangerschaftswoche¹⁰⁰. Wie eingangs behandelt, gibt es daher schon seit den 1980er Jahren Screening-Untersuchungen für Trisomie 21 - zuerst mittels Triple-Test, danach mit dem Combined Test und seit 2011 mit dem NIPT.

Wie hoch die Akzeptanz der Screening-Tests derzeit in Österreich ist, kann nicht beurteilt werden - dazu liegen keine validen Daten vor. Alleine in Wien werden aber in rund 10 Praxen sowie in einigen Spitalsabteilungen pränatalmedizinische Untersuchungen angeboten - daher dürfte die Nachfrage auch nach dem Screening-Tests nicht zu gering sein.

Die Screeninguntersuchungen für Trisomie 21 alleine bergen jedenfalls schon einige ethische Probleme, die oft mehr Fragen als Antworten aufwerfen. Welche Konsequenz hat ein auffälliger Befund? Macht man sich "schuldig", wenn man eine Schwangerschaft abbricht? Möchte man überhaupt Pränataldiagnostik durchführen - oder tut man das nur aufgrund des Drucks der Gesellschaft oder der Partnerschaft?

Solche und ähnliche Fragen sind zwar bei der Trisomie 21 schon komplex - bei den neuen Testoptionen kommen allerdings noch weitere Themenfelder dazu. Ein wichtiges ist, dass die Tests auf Mikrodeletionen oder geschlechtschromosomale Auffälligkeiten ja nicht so aussagekräftig und "sicher" sind wie jene auf die Trisomien. Es besteht hier also auch noch zusätzlich ein gehöriger Unsicherheitsfaktor im Vergleich zum "Trisomie-NIPT". Zusätzlich sind teilweise Studiendaten auch noch sehr dürftig, wie sich in den genannten extremen Konfidenzintervallen zeigt.

Abgesehen von dieser Art der Unsicherheit tut sich aber noch eine wichtige andere Fragestellung auf: Was macht man, wenn man ein Hochrisiko-Ergebnis für ein Syndrom mit wenigen Problemen im täglichen Leben (beispielsweise Turner-Syndrom) erhält?

Und wie sieht es aus, wenn man ein sonografisch unauffälliges Kind mit 22q11.2-Mikrodeletions-Syndrom erwartet, auf das man lediglich aufgrund eines Extended-NIPT aufmerksam gemacht wurde? Wenn sich hier die Frage nach einem Abbruch einer Schwangerschaft stellt: "Darf" man das ethisch-moralisch in diesem Fall überhaupt - auch wenn es beispielsweise eine nicht so geringe Wahrscheinlichkeit für eine schizoaffektive Störungen gibt¹⁰¹? Und wie geht man damit um, dass auch viele Menschen mit diesem Syndrom klinisch kaum auffällig sind?

Die Rate an Schwangerschaftsabbrüchen nach einer Diagnose von Anomalien der Geschlechtschromosomen variiert jedenfalls sehr stark ist aber insgesamt hoch: In

einer Übersichtsarbeit wurden durchschnittlich 76% beim Turner-Syndrom (Spanne 33-100%) und 61% beim Klinefelter-Syndrom (Spanne 44-85%) der betroffenen Schwangerschaften abgebrochen¹⁰². Durch die höhere Erkennungsrate durch die neuen erweiterten NIPTs muss man davon ausgehen, dass dies künftig viel öfter ein Thema werden wird als bisher. Im Ultraschall alleine sind Kinder beispielsweise mit geschlechtschromosomalen Varianten oft nicht erkennbar - die Extended-NIPTs ändern dies.

Auf der anderen Seite kann man entgegen, dass sowohl Kinder mit Turner- oder Klinefelter-Syndrom als auch Menschen mit einem 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom von einer frühen Diagnostik oft profitieren. Mädchen mit Turner-Syndrom etwa können mit einer früh begonnenen Wachstumshormon-Therapie laut Studien eine Erhöhung der Körpergröße um bis zu 15cm erreichen¹⁰³. Wenn ein Turner-Syndrom bereits bei oder vor der Geburt bekannt ist, kann man hier optimierter vorgehen als bei einer Diagnostik, die aufgrund beginnender Symptome erst nach einigen Jahren gestellt wird.

Aber nicht nur das Screening auf die geschlechtschromosomalen Varianten kann zu ethischen Fragen führen - auch bei den Mikrodeletionen kann dies zum Thema werden. Alleine schon beim relativ gut bekannten 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom ist das klinische Spektrum so weit, dass man den werdenden Eltern - abgesehen vielleicht von Herzfehlern, die recht gut schon vorgeburtlich dargestellt werden können - nur wenige Informationen über die Prognose geben kann. Der im Vergleich zur Trisomie 21 niedrige PPV kann außerdem zu weiteren Verunsicherungen führen - sei es in der Wartezeit auf eine invasive Bestätigungsdiagnose oder sei es bis zur Geburt, falls die Eltern eine solche nicht wünschen.

Bei den Whole-Genome-Sequencing-Methoden hingegen kann das Problem auftreten, dass es bereits bei den klassischen invasiven (Mikroarray-) Diagnosemethoden gibt: Man kann hierbei mit den VOUS Mikrodeletionen finden, deren Auswirkung man gar nicht kennt. Diese kommen ja wie erwähnt bei rund einem Prozent der Mikroarray-Untersuchungen vor¹⁰⁴ und erschweren die pränatalmedizinische Beratung enorm.

In diesem Zusammenhang erscheint auch noch ein Themenbereich wichtig: Pränataler Stress kann auch einen epigenetischen Einfluss verursachen. Obwohl dieser Themenbereich noch nicht ausreichend erforscht ist, gibt es doch Hinweise darauf, dass Stresssituationen während der Schwangerschaft Auswirkungen haben können¹⁰⁵. Auch wenn hier viele Zusammenhänge noch unklar sind, sollten der werdenden Mutter zusätzliche Stresssituationen nach Möglichkeit rein grundsätzlich nicht aufgebürdet werden.

Es gibt also eine ganze Reihe ethischer Fragen, denen man sich im Zuge der erweiterten NIPT-Untersuchungen stellen muss. Diese besser zu beantworten als es derzeit möglich ist, geht wahrscheinlich erst, wenn die Erfahrung mit diesen Tests gestiegen ist und mehr wissenschaftliche Publikationen mit validen Zahlen zum Thema verfügbar sind.

Meinungen der Fachgesellschaften

Einige medizinische Fachgesellschaften sind derzeit hinsichtlich anderer Anwendungsgebiete des NIPT als das Trisomie-Screening zurückhaltend. In einer gemeinsamen Empfehlung der Österreichischen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (ÖGGG), der Österreichischen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (ÖGUM), der Österreichischen Gesellschaft für Prä- und Perinatale Medizin (ÖGfPPM) und der Österreichischen Gesellschaft für Humangenetik (ÖGH) aus dem Jahr 2015 heißt es: *"Der Einsatz von cfDNA-Tests zum Screening auf Aneuploidien der Geschlechtschromosomen und auf Mikrodeletionssyndrome kann auf Basis der vorliegenden Daten derzeit nicht uneingeschränkt empfohlen werden."*¹⁰⁶

Eine weitere gemeinsame Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM), der ÖGUM, der Schweizer Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (SGUM) sowie der Fetal Medicine Foundation Deutschland aus dem Jahr 2018 erwähnt: *"Die Leitlinien mehrerer Fachgesellschaften halten fest, dass ein cfDNA-Screening für pathologische CNVs nicht empfohlen werden kann"* - legt sich allerdings selbst diesbezüglich nicht fest¹⁰⁷.

Das American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) schreibt in einem Practice Bulletin vom October 2020, dass das Screening für

Mikrodeletionen nicht empfohlen werde¹⁰⁸. Und auch die International Society for Prenatal Diagnosis konnte sich 2021 noch nicht auf eine allgemeine Empfehlung für solche ausgeweiteten NIPTs festlegen¹⁰⁹.

Dieser eher reservierte Zugang zu erweiterten NIPTs könnte sich mit neuen Studien und Zahlen zu dem Thema ändern. Aktualisierte klare Statements bzw. Guidelines der Fachgesellschaften wären diesbezüglich wünschenswert.

Einzelgenmutationen

Wie bereits erwähnt, sind mittlerweile auch NIPTs verfügbar, die auf Einzelgenmutationen testen. Diese Untersuchungen können sowohl rezessiv (Unity-Test von BillionToOne) als auch dominant vererbare Krankheitsanlagen (Vistara von Natera) erkennen - und zwar laut den Anbietern mit einer sehr hohen Sensitivität. Diese Anwendungen sind insofern interessant, da sie sowohl aufgrund der relativ hohen kombinierten Inzidenz der genetischen Veränderungen als auch der Schwere der Krankheitsbilder ein Screeningprogramm rechtfertigen könnten.

Derzeit ist allerdings sicherlich vor allem der hohe Preis ein Hemmschuh - die beiden Tests bewegen sich preislich für die Endverbraucherin jeweils im Bereich von 800 bis 1.000 Euro. Analog zu den klassischen NIPTs ist hier allerdings auch davon auszugehen, dass sich das Preisniveau ändern wird. Dies wird jedoch nur dann der Fall sein, wenn sich entsprechende Konkurrenz entwickelt, was derzeit noch nicht der Fall ist.

Bei ein paar dieser Mutationen stellt sich auch ganz besonders die ethische Frage in Bezug auf etwaige Konsequenzen - besonders wenn es um das Thema Schwangerschaftsabbruch geht. Beispielsweise ist die Cystische Fibrose eine Erkrankung, die heutzutage schon deutlich besser zu behandeln ist als früher. Vor allem Fortschritte in der Gentherapie (z.B. Virusvektoren für ein funktionelles CFTR-Gen, mRNA für das CFTR-Protein und eventuell einmal Gene Editing über CRISPR) aber auch bei den sogenannten CFTR-Modulatoren dürften hier für die Patienten Verbesserungen bringen.

Daher besteht bei einem sehr spezifischen Screening natürlich auch die Gefahr, dass mitunter vorschnelle Entscheidungen für einen Schwangerschaftsabbruch getroffen werden - ohne dass sich die Schwangere über die Bedeutung der Erkrankung genau informieren kann. Ähnliche Fragestellungen ergeben sich auch bei den Thalassämie-Formen, die ebenfalls mittels dieser Tests gescreent werden können.

Ebenfalls ein Thema, das derzeit kritisch zu sehen ist, stellt die bisher nur sehr eingeschränkte klinische Erfahrung mit den Tests sowie die genaue Performance im praktischen Setting dar.

Zusammengefasst sind die ausgeweiteten NIPT-Angebote derzeit noch mit Vorbehalt einzusetzen. Insbesondere die methodischen Besonderheiten und die schlechtere Test-Performance sind mit Patientinnen unbedingt vor dem Test zu besprechen. Vor allem soll auf die niedrigere Erkennungsrate und den schlechteren PPV hingewiesen werden.

NIPT-Angebote im medizinischen Alltag

Im Rahmen dieser Masterarbeit wurde auch eine Befragung in einer Wiener Praxis durchgeführt, die auf Pränatalmedizin spezialisiert ist (Praxis TwoCare, 1090 Wien). Patientinnen, die einen NIPT durchgeführt haben, wurden gebeten, einen elektronischen Fragebogen auszufüllen. Insgesamt sind 44 Patientinnen dieser Bitte nachgekommen.

Wenig überraschend, waren die meisten Frauen älter - 61,4% waren über 34 Jahre alt, 15,9% waren mindestens 40 Jahre alt. Aber auch einzelne Patientinnen unter 25 Jahren haben das NIPT-Angebot angenommen.

Bei der Frage nach den Gründen, einen solchen Test zu machen, wurde (bei möglichen Mehrfachantworten) "Ich wollte einen Test mit möglichst hoher Sicherheit durchführen" bei 93,2% der befragten Frauen angeführt, gefolgt von "Aufgrund meines Alters ist die Wahrscheinlichkeit für Chromosomenstörungen erhöht" (40,9%).

Nur 6,8% entschieden sich aufgrund eines intermediären oder erhöhten Risikos im Combined Test für den NIPT. Aber auch Geschlechtsbestimmung,

wissenschaftliches Interesse, eine Chromosomenstörung in der Familie und die Kostenübernahme durch eine Verwandte, der der Test wichtig gewesen sei, wurden in Einzelfällen genannt.

In dieser Kohorte entschieden sich 54,5% für den Basis-NIPT (nur Trisomie 21, 18 und 13 sowie Triploidie), 20,5% für den erweiterten NIPT inklusive Monosomie X und 22q11.2 Mikrodeletionssyndrom und 25,0% für die NIPT-Version, die zusätzlich noch ein Screening auf seltene Mikrodeletionen beinhaltet. In der Praxis wurde im Zeitraum der Befragung ausschließlich der Panorama-Test von Natera (SNP-basierter Test) angeboten.

Dieses Ergebnis divergiert leicht von jener Statistik, die in den ersten vier Monaten des Jahres 2022 erhoben wurde (siehe Kapitel "Spezifisches Mikrodeletions-Screening"): Damals haben sich etwas weniger als die Hälfte für einen Basis-NIPT entschieden, bei der Befragung (die von April bis August 2022 durchgeführt wurde), waren es etwas mehr als die Hälfte.

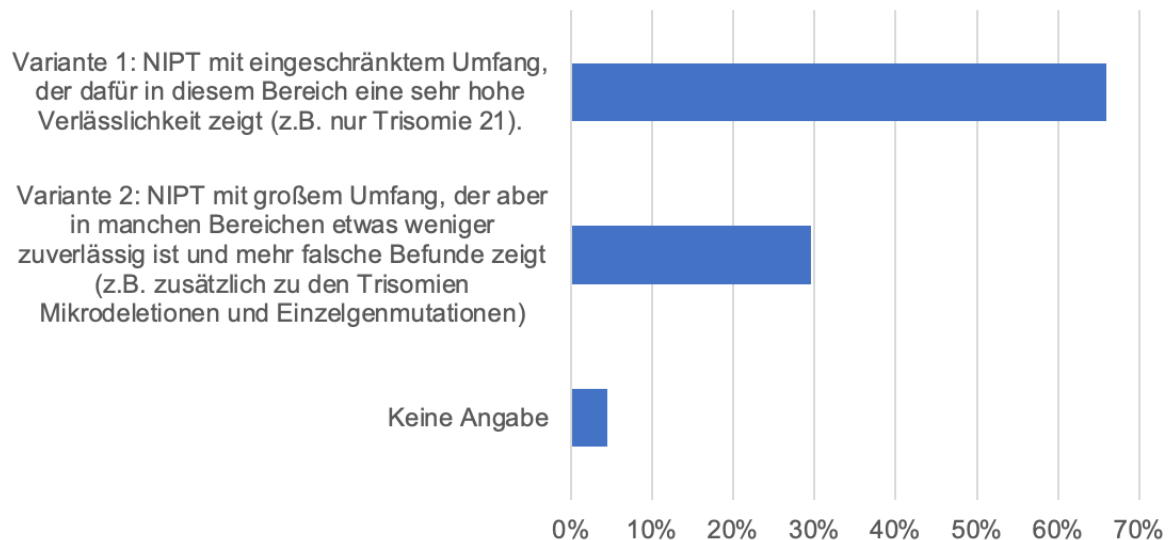
Der Zeitpunkt, zu dem der NIPT am häufigsten durchgeführt wurde, war jener des Ersttrimesterscreenings: Insgesamt 65,9% der Befragten machten den Test gemeinsam mit dieser Untersuchung. Die Gründe dafür dürften einerseits in der Einfachheit liegen (nur ein Besuch notwendig), andererseits ist die Durchführung beider Tests gemeinsam auch kostengünstiger.

Insgesamt 20,5% führten den NIPT bereits vor dem Ersttrimesterscreening durch (die Blutabnahme für den SNP-Test kann ab Anfang der 10. Schwangerschaftswoche vorgenommen werden, das Ersttrimesterscreening wird von der 12. bis zur 14. Schwangerschaftswoche gemacht). Insgesamt 11,4% der Befragten machten den Test nach dem Ersttrimesterscreening, eine Patientin hat sich überhaupt gegen ein solches Screening entschieden.

Ein Argument, dass wohl grundsätzlich für die Durchführung eines NIPT spricht, ergibt sich aus einer weiteren Frage: Die Patientinnen waren nämlich zu einem großen Anteil der Meinung, dass ihnen diese Untersuchung Ängste nehmen kann: 90,9% haben dies bejaht, nur wenige Patientinnen haben dabei "Weiß nicht" oder "Nein" angegeben.

Besonders interessant ist in Hinblick auf die vielen neuen und wohl auch zukünftigen Anwendungsgebiete die Frage, ob man eher einen eingeschränkten

dafür sehr zuverlässigen oder eher einen NIPT mit großem Umfang, der aber weniger verlässlich ist, durchführen lassen möchte. Rund zwei Drittel (65,9%) hätten lieber eine "abgespeckte", dafür aber sicherere Version eines (hypothetischen) NIPT. Insgesamt 29,5% würden sich für eine ausführlichere - aber dafür weniger zuverlässigere - Version entscheiden. Und 4,5% wollten dazu keine Angabe machen.



Deutlich mehr Patientinnen würden einen NIPT mit eher kleinerem Umfang wählen (Grafik und Daten: Autor).

Zusammenfassend zeigt diese Befragung, dass die meisten Patientinnen, die einen NIPT durchführen lassen, eher älter sind und einen Test mit möglichst hoher Sicherheit wählen möchten. Die Zahl der Extended versus Basis-NIPT hält sich (vor allem in Zusammenschau mit der genannten statistischen Erhebung vom Anfang des Jahres) in etwa die Waage.

Die meisten Patientinnen haben sich zu einem NIPT vor oder mit dem Ersttrimesterscreening entschieden (86,0%), nur relativ wenige wählten ihn danach aufgrund des Combined-Test-Ergebnisses. Damit ist der Anteil der Tests im Zuge eines Contingent Screenings eher gering (siehe auch Kapitel "Der NIPT im Trisomie-Screening").

Letztlich ist die Tatsache, dass die Schwangeren "nur" zu rund einem Viertel (27,8%) einen Test mit großem Umfang wünschen würden, gerade in Hinblick auf künftige Entwicklungen interessant. Offenbar ist der Wunsch, möglichst viel zu wissen und zu erfahren (vor allem wenn die Performance nicht so gut ist) nicht so hoch wie simplere Screening-Varianten.

Künftige Entwicklungen und Anwendungsbereiche

Wenn man sich die Entwicklung der Pränataldiagnostik im Allgemeinen und jene des NIPT im Speziellen ansieht, so muss man davon ausgehen, dass auch diese Technologie in den nächsten Jahren und Jahrzehnten weiter voranschreitet. In diesem Kapitel sollen mögliche Szenarien und eventuelle Problemfelder analysiert werden.

Zuerst wird einmal grundsätzlich spannend, welche der drei großen Technologien - also SNPs, Targeted oder Whole Genome Sequencing - sich durchsetzen wird. In Bezug auf die Trisomie 21 sind die Methoden von der Performance vergleichbar - auch die No-Call-Rate zeigt keine großen Unterschiede. Bei der Trisomie 13 und 18 gibt es geringe Unterschiede - allerdings sind beide Trisomien in den meisten Fällen im Ultraschall durch diverse Auffälligkeiten gut erkennbar (Ausnahmen gibt es mitunter bei Mosaiken). Diesbezüglich gibt es also keine echte Verschiedenheit zwischen den einzelnen Methoden.

Bezüglich der Mikrodeletionen sieht es anders aus: Der Marktführer im Bereich Targeted Sequencing (Roche mit dem Harmony-Test) bietet aktuell nur den Test auf das 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom an und zeigt hier auch eine etwas schlechtere Test-Performance als der Mitbewerber Ariosa mit seinem SNP-basierten Test.

Wie bereits zuvor ausgeführt, wird die Sensitivität der SNP-Methode für das 22q11.2-Mikrodeletionssyndrom mit 83,3% (PPV 53%), jene des Targeted-Sequencing-Tests mit 69,6% (PPV 12,2%) angegeben. Nicht bekannt ist, ob die beiden Unternehmen noch weitere Mikrodeletionen in der Pipeline haben - Ariosa hat mit den SNP-Tests allerdings bislang schon deutlich stärker auf diese

Auffälligkeiten gesetzt als die Konkurrenz. Man darf also vielleicht eher von dieser Seite weitere Innovationen erwarten.

Grundsätzlich hoch interessant sind auch mit dem Blick in die Zukunft jene Tests, die Whole Genome Sequencing als Methode nutzen. Eines der offensichtlichen momentanen Themen ist, dass die Sequenziertiefe teilweise niedrig ist. In einer Studie von 2020 beispielsweise wurden zwei verschiedene Sequenziertiefen (0,15X bzw. 3 Millionen Reads versus 0,4X bzw. 8 Millionen Reads) verglichen - mit dem wenig überraschenden Ergebnis, dass die Performance bei der höheren Anzahl an Reads besser war¹¹⁰.

Heutzutage stellt sich das Problem, dass die Sequenzierung noch aufwändig und teuer ist. Allerdings ist zu erwarten, dass die Kosten weiterhin sinken werden - ähnlich, wie es in den letzten Jahrzehnten geschehen ist. So musste man noch 2011 mit mehr als 10.000 US-Dollar für ein komplettes humanes Genom rechnen - 2021 waren es bereits weniger als 1.000 US-Dollar¹¹¹. Auch wenn sich der Trend nunmehr vielleicht etwas langsamer fortsetzt, so kann man doch mittelfristig mit weiter sinkenden Preisen rechnen, sodass die Sequenziertiefe höher werden kann, ohne dass die Kosten dabei massiv ansteigen.

Wenn man nun allerdings mit einer höheren Tiefe sequenziert, wird man unweigerlich auch eine höhere Anzahl an auffälligen oder fraglich auffälligen Befunden entdecken - die bereits erwähnten VOUS. Wenn man bedenkt, dass diese bei rund 1% aller Mikroarray-Untersuchungen vorkommen (und man sie im Falle eines auffälligen NIPT auch diagnostisch abklären sollte), ergibt sich auch eine wiederum höhere Anzahl an invasiven Eingriffen - genau das, was man ja eigentlich mit der Einführung des NIPT vermeiden wollte.

Mit der Auslegung der "nicht-normalen" Befunde wird man sich allerdings künftig wahrscheinlich leichter tun - durch die wachsenden Datenbanken und die nicht zuletzt in der Zukunft wohl durch Artificial Intelligence verbesserten Methoden der computergestützten Sequenz-Interpretation wird sich die Sichtweise auf viele (dann oftmals durch das Wegfallen des "unknown" ehemalige) VOUS auch ändern. Die Notwendigkeit einer invasiven Diagnostik wird allerdings trotzdem - zumindest vorerst noch - bleiben, sollte tatsächlich eine solche Variante mit unklarer Signifikanz im NIPT entdeckt werden.

Interessant wird auch die Entwicklung hinsichtlich der NIPTs auf Einzelgenmutationen. Geht es aktuell um schwerste Erkrankungen wie Spinale Muskelatrophie, Osteogenesis imperfecta oder Rett Syndrom, spricht technisch wenig dagegen, dies auch auf andere Gebiete auszuweiten.

Methodisch kann man beispielsweise bereits auf Anlageträgerschaft für manche Krebserkrankungen testen. Eine Publikation aus dem Jahr 2022 untersuchte Schwangere aus Familien mit hereditären Darmkrebssyndromen mittels "relative haplotype dosage" (RHDO) Analyse: Bei insgesamt neun Schwangeren wurde dies durchgeführt und mit einer aus der Amniocentese gewonnenen Probe verglichen. Bei allen neun stimmte das Ergebnis zwischen den beiden Methoden überein¹¹². Diese Publikation wird vermutlich nur der Beginn mehrerer weiterer Untersuchungen zu diesem Thema sein. Und man darf davon ausgehen, dass die Ergebnisse ähnlich aussagekräftig sind.

Und welche Konsequenz positive Testergebnisse für Einzelgenmutationen für Krebsanlage (oder ähnliches) nach ziehen könnten, ist relativ klar: Viele betroffene Frauen würden im Falle eines solchen Resultates wohl über einen Schwangerschaftsabbruch nachdenken. Dies wäre in Österreich im Rahmen der Fristenlösung auch legal, da man dafür ja keinen "offiziellen" medizinischen Grund benötigt - und den NIPT kann man deutlich vor dem Erreichen der "Frist" laut dem österreichischen Strafbuch durchführen lassen¹¹³.

Es ist also durchaus nicht unwahrscheinlich, dass der "gläserne Fetus" künftig gerade auch durch diese neuen Methoden immer mehr zur Realität wird. Das relativ einfache Screening mittels Ultraschall und Trisomie-Test wird einerseits wohl vermehrt durch Screenings auf Einzelgenmutationen ergänzt. Die derzeit noch nicht ganz geklärte Performance dieser Tests stellt dabei momentan noch ein gewisses Fragezeichen dar - allerdings kann man davon ausgehen, dass die Testgüte mit der Zeit geklärt und wohl auch verbessert wird.

Es ist durchaus zu erwarten, dass irgendwann auch Tests hinsichtlich der Anlageträgerschaft für spätere schwere Erkrankungen auf den Markt kommen - und damit natürlich viele vor allem ethisch schwierige Fragen nach sich ziehen. In einer Publikation aus dem Jahr 2016 - in der Gesundheitsspezialisten (Genetiker, Onkologen und Laborwissenschaftler) hinsichtlich ihrer Ansichten zu (damals noch

hypothetischen) BRCA-NIPs befragt worden sind - wurden als ethische Problemfelder unter anderem die unvollständige Penetranz der Anlageträgerschaften, die Rechte des ungeborenen Kindes oder den Druck, einen solchen Test durchzuführen genannt¹¹⁴.

Auch wenn manche der künftigen Anwendungsbereiche die Pränatalmedizin sicherlich weiter vereinfachen und präzisieren werden, so besteht auf der anderen Seite die Gefahr, mit diesen deutlich erweiterten pränatalen Testangeboten gewissermaßen eine Schachtel der Pandora zu öffnen. Dies wird allerdings kaum zu vermeiden sein: Der wissenschaftliche Fortschritt geht - nicht zuletzt getriggert durch die kommerziellen Interessen der Unternehmen aufgrund des riesigen Pränatalmedizin-Marktes - unaufhaltsam weiter. Damit werden bei vorhandener Nachfrage die entsprechenden Angebote zweifellos zur Verfügung gestellt - und das vielleicht eher früher als später.

Ob das Pränatalscreening künftig so aussehen wird, dass man allen Schwangeren einen NIPT etwa mit Whole Genome Sequencing für "klassische" Erbkrankheiten in Kombination mit gezielter Suche nach Einzelgenveränderungen und/oder nach Anlageträgerschaften für später auftretende medizinische Probleme anbieten wird, sei dahingestellt.

Die technische Möglichkeit für solche Analysen im Routinebetrieb dürfte jedenfalls in ein paar Jahren bestehen. Ob man es als erschreckend oder bereichernd für den medizinischen Fortschritt ansieht, mit einer simplen Blutabnahme der Mutter neben Syndromen und schweren Erbkrankheiten gleich einen Blick in die medizinische Zukunft des noch ungeborenen Menschen zu werfen, ist eine Frage, die jeder für sich selbst beantworten muss.

Abschließende Überlegungen

"Today the utopia of the morning is the reality of the afternoon"

Truman Capote

Die Pränatalmedizin hat sich in den letzten 30 Jahren massiv verändert. Wurden deren Inhalte in den 1980er und frühen 1990er Jahren vor allem von Amniocentesen und - im Vergleich zu heute - noch sehr rudimentären Ultraschall-

Untersuchungen geprägt, so hat sich mittlerweile ein eigenes Fachgebiet entwickelt, das neben dem noch immer sehr wichtigen Instrument Ultraschall ein Konglomerat aus Geburtshilfe, Gynäkologie, Pädiatrie, Genetik, Labormedizin, Innerer Medizin und letztlich auch Psychologie geworden ist.

Der NIPT ist ein Utensil, das erst seit etwas mehr als einem Jahrzehnt in Verwendung ist. In dieser Zeit haben wir gelernt, den Test und seine Möglichkeiten - aber auch seine vielen Einschränkungen - kennenzulernen und dadurch auch besser einzusetzen. Mit den erweiterten Methoden werden wird das Gleiche tun - und wahrscheinlich werden wir in ein paar Jahren auch deren Einsatzgebiete besser umreissen können als heute.

Dabei erscheint es wichtig, die vielfältigen Möglichkeiten des NIPT undogmatisch und unvoreingenommen zu betrachten: "Was kann der Test?", "Wem hilft er?" oder "Wie kann man ihn am besten einsetzen?" sind mindestens genauso wichtig wie "Darf man das überhaupt?" oder "Was ist erlaubt?"

Das soll natürlich nicht bedeuten, dass man den ethischen Aspekt herausnehmen darf - ganz im Gegenteil. Aber man sollte sich ohne Berührungsängste ansehen, welche Möglichkeiten diese Art der Diagnostik bzw. des Screenings in der Zukunft bringt. Und diese Informationen sollen dann im breiten Fachdiskurs ergebnisoffen reflektiert und zu Empfehlungen und Leitlinien verarbeitet werden.

Wie sieht es mit den anderen pränataldiagnostischen "Tools" aus, wenn der NIPT immer potenter wird? Nach derzeitigem Stand und auch nach der Empfehlung von Fachgesellschaften ist der Ultraschall weiterhin ein wichtiges Werkzeug und wird dies wohl auch bleiben.

Es ist unwahrscheinlich, dass man mittels eines DNA-Tests sämtliche Fehlbildungen und geburtshilfliche Probleme wird erkennen können - alleine schon deswegen, weil sich dies nicht alles in "genetisch" objektivierbaren Einheiten fassen lässt. In einer großen Beobachtungsstudie, die sich über 41 Jahre erstreckte und 289.365 Geburten umfasste, wurden bei 2,4% aller Kinder Fehlbildungen erkannt - knapp drei Viertel davon hatten eine unbekannte Ätiologie¹¹⁵.

Auch wenn dieser Anteil mit dem Fortschritt und immer genaueren diagnostischen Methoden schrumpfen wird, so wird er wohl nie auch nur in die Nähe von Null

gehen. Alleine daher wird der Ultraschall auch in Zukunft das wichtigste Instrument in der Pränatalmedizin bleiben. Abgesehen von den diversen Möglichkeiten von Durchblutungsmessungen bis hin zur genauen fetalen Biometrie, die im Wesentlichen im Routinebetrieb nur der Ultraschall bietet.

Aber auch andere Instrumente wie die Biochemie (zur Erkennung von Risiken für atypische Chromosomenstörungen oder auch einer drohenden Plazentainsuffizienz) wird mittelfristig nicht ausgedient haben - die fetale Magnetresonanztomographie für spezielle Fragestellungen in Ergänzung zum Ultraschall ohnehin nicht.

Der NIPT ist also ein durchaus wertvolles Tool, dessen erweiterte Möglichkeiten in Zukunft noch ziemlich spannend werden. Ob diese eher in Richtung des erwähnten "gläsernen Fetus" (mit so viel Information wie möglich) gehen werden oder nur die Basics abdecken, wird spannend - hier muss man aber auf jeden Fall auch die Frage stellen, was die werdenden Eltern denn überhaupt wollen (siehe Kapitel "NIPT-Angebote im medizinischen Alltag").

Ob das, was wir heute als Utopie sehen, bald Realität werden wird, wird sich naturgemäß erst in der Zukunft weisen. Bei aller Begeisterung für die modernen Methoden, darf man aber nicht auf die vielen Zwischentöne und Fragen vergessen, die sich dabei stellen. Diese Masterarbeit hat hoffentlich geholfen, auf letztere ein wenig Licht zu werfen.

Literaturverzeichnis

- ¹ Fortunebusinessinsights.com. 2022. Non Invasive Prenatal Testing NIPT Market Size Share COVID 19 Impact Analysis By Product Instruments and Consumables Reagents Technology Next Generation Sequencing Microarray PCR and Rolling Circular Amplification End User Hospitals and Clinical Laboratories and Regional Forecast 2021 2028. [online] Abrufbar unter <https://www.fortunebusinessinsights.com/amp/industry-reports/non-invasive-prenatal-testing-market-100998>
- ² Ferguson-Smith MA. Letter: Prospective data on risk of Down syndrome in relation to maternal age. *Lancet*. 1976;2(7979):252.
- ³ Morris JK, Mutton DE, Alberman E. Revised estimates of the maternal age specific live birth prevalence of Down's syndrome. *J Med Screen*. 2002;9(1):2-6.
- ⁴ Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. *Lancet*. 1966;1(7434):383-385.
- ⁵ Jacobson CB, Barter RH. Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. *Am J Obstet Gynecol*. 1967;99(6):796-807.
- ⁶ 2. Griessler E, Rohracher H. *Genomforschung - Politik - Gesellschaft*, Seite 145. Wiesbaden: VS Verlag für Sozialwissenschaften / Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH, Wiesbaden; 2011.
- ⁷ Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hall BD. Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocenteses. *N Engl J Med*. 1979;300(4):157-163.
- ⁸ Simoni G, Brambati B, Danesino C, et al. Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet*. 1983;63(4):349-357.
- ⁹ Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy [Korrektur in *BMJ* 1988 Oct 22;297(6655):1029]. *BMJ*. 1988;297(6653):883-887.
- ¹⁰ Nicolaidis KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ*. 1992;304(6831):867-869.
- ¹¹ Nicolaidis KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(1):45-67.
- ¹² Santorum M, Wright D, Syngelaki A, Karagioti N, Nicolaidis KH. Accuracy of first-trimester combined test in screening for trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017;49(6):714-720.
- ¹³ Maiz N, Nicolaidis KH. Ductus venosus in the first trimester: contribution to screening of chromosomal, cardiac defects and monochorionic twin complications. *Fetal Diagn Ther*. 2010;28(2):65-71.
- ¹⁴ Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaidis KH. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11+0 to 13+6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;33(1):18-22.
- ¹⁵ Cicero S, Avgidou K, Rembouskos G, Kagan KO, Nicolaidis KH. Nasal bone in first-trimester screening for trisomy 21. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195(1):109-114.

- ¹⁶ Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-487.
- ¹⁷ Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(42):16266-16271.
- ¹⁸ Poon CF, Tse WC, Kou KO, Leung KY. Uptake of Noninvasive Prenatal Testing in Chinese Women following Positive Down Syndrome Screening. *Fetal Diagn Ther*. 2015;37(2):141-147.
- ¹⁹ Huang T, Meschino WS, Teitelbaum M, Dougan S, Okun N. Enhanced First Trimester Screening for Trisomy 21 with Contingent Cell-Free Fetal DNA: A Comparative Performance and Cost Analysis. *J Obstet Gynaecol Can*. 2017 Sep;39(9):742-749.
- ²⁰ Gross SJ, Stosic M, McDonald-McGinn DM, et al. Clinical experience with single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening for 22q11.2 deletion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47(2):177-183.
- ²¹ Zhang J, Li J, Saucier JB, et al. Non-invasive prenatal sequencing for multiple Mendelian monogenic disorders using circulating cell-free fetal DNA [Korrektur in *Nat Med*. 2019 Feb 20;:]. *Nat Med*. 2019;25(3):439-447.
- ²² Cuckle H, Benn P, Pergament E. Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy as a clinical service. *Clin Biochem*. 2015 Oct;48(15):932-41.
- ²³ Dahl F, Ericsson O, Karlberg O, Karlsson F, Howell M, Persson F, Roos F, Stenberg J, Ahola T, Alftrén I, Andersson B, Barkenäs E, Brandner B, Dahlberg J, Elfman S, Eriksson M, Forsgren PO, Francois N, Gousseva A, Hakamali F, Janfalk-Carlsson Å, Johansson H, Lundgren J, Mohsenchian A, Olausson L, Olofsson S, Qureshi A, Skarpås B, Sävneby A, Åström E, Öhman O, Westgren M, Kopp-Kallner H, Fianu-Jonasson A, Syngelaki A, Nicolaides K. Imaging single DNA molecules for high precision NIPT. *Sci Rep*. 2018 Mar 14;8(1):4549.
- ²⁴ NIFTY - Non-Invasive Prenatal Testing (Produktbroschüre BGI, 2020).
- ²⁵ Pertile MD, Flowers N, Vavrek D, Andrews D, Kalista T, Craig A, Deciu C, Duenwald S, Meier K, Bhatt S. Performance of a Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Screening Test in the Detection of Genome-Wide Fetal Chromosomal Anomalies. *Clin Chem*. 2021 Sep 1;67(9):1210-1219.
- ²⁶ Schmid M. Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) - Screening auf fetale Aneuploidien durch Analyse der zellfreien DNA im mütterlichen Blut. *Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2014; 32 (2) (Ausgabe für Österreich), 10-14.
- ²⁷ Schmid M, Wang E, Bogard PE, Bevilacqua E, Hacker C, Wang S, Doshi J, White K, Kaplan J, Sparks A, Jani JC, Stokowski R. Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Using a Targeted Microarray-Based Cell-Free DNA Test. *Fetal Diagn Ther*. 2018;44(4):299-304.
- ²⁸ Nicolaides KH, Syngelaki A, Gil M, Atanasova V, Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenat Diagn*. 2013 Jun;33(6):575-9. doi: 10.1002/pd.4103. Epub 2013 Apr 24. PMID: 23613152.
- ²⁹ Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212:332.e1-9.
- ³⁰ Ericsson O, Ahola T, Dahl F, et al. Clinical validation of a novel automated cell-free DNA screening assay for trisomies 21, 13, and 18 in maternal plasma. *Prenat Diagn*. 2019;39:1011-1015.

- ³¹ Statistik Austria: Durchschnittliches Gebä- bzw. Fertilitätsalter der Mutter nach Lebendgeburtenfolge seit 1984. [online] abrufbar unter https://www.statistik.at/wcm/idc/idcplg?IdcService=GET_PDF_FILE&RevisionSelectionMethod=LatestReleased&dDocName=022903. [abgerufen am 16. Mai 2022]
- ³² Wagner P, Sonek J, Hoopmann M, Abele H, Kagan KO. First-trimester screening for trisomies 18 and 13, triploidy and Turner syndrome by detailed early anomaly scan. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 Oct;48(4):446-451.
- ³³ Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther*. 2014;35(2):118-26. doi: 10.1159/000357430. Epub 2013 Dec 18.
- ³⁴ Kozłowski P, Burkhardt T, Gembruch U, Gonser M, Kähler C, Kagan KO, von Kaisenberg C, Klaritsch P, Merz E, Steiner H, Terçanlı S, Vetter K, Schramm T. DEGUM, ÖGUM, SGUM and FMF Germany Recommendations for the Implementation of First-Trimester Screening, Detailed Ultrasound, Cell-Free DNA Screening and Diagnostic Procedures. *Ultraschall Med*. 2019 Apr;40(2):176-193.
- ³⁵ Petersen OB, Vogel I, Ekelund C, Hyett J, Tabor A; Danish Fetal Medicine Study Group; Danish Clinical Genetics Study Group. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014 Mar;43(3):265-71.
- ³⁶ Grömminger S, Yagmur E, Erkan S, Nagy S, Schöck U, Bonnet J, Smerdka P, Ehrich M, Wegner RD, Hofmann W, Stumm M. Fetal Aneuploidy Detection by Cell-Free DNA Sequencing for Multiple Pregnancies and Quality Issues with Vanishing Twins. *J Clin Med*. 2014 Jun 25;3(3):679-92.
- ³⁷ Livergood MC, LeChien KA, Trudell AS. Obesity and cell-free DNA "no calls": is there an optimal gestational age at time of sampling? *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Apr;216(4):413.e1-413.e9.
- ³⁸ Samura O, Okamoto A. Causes of aberrant non-invasive prenatal testing for aneuploidy: A systematic review. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2020 Jan;59(1):16-20.
- ³⁹ Mackie FL, Hemming K, Allen S, Morris RK, Kilby MD. The accuracy of cell-free fetal DNA-based non-invasive prenatal testing in singleton pregnancies: a systematic review and bivariate meta-analysis. *BJOG*. 2017 Jan;124(1):32-46.
- ⁴⁰ Berglund A, Stochholm K, Gravholt CH. The epidemiology of sex chromosome abnormalities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2020 Jun;184(2):202-215.
- ⁴¹ Wiechec M, Knafel A, Nocun A, Wiercinska E, Ludwin A, Ludwin I. What are the most common first-trimester ultrasound findings in cases of Turner syndrome? *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017 Jul;30(13):1632-1636.
- ⁴² Surerus E, Huggon IC, Allan LD. Turner's syndrome in fetal life. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003 Sep;22(3):264-7.
- ⁴³ Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45,X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet*. 2014 Apr;133(4):417-24.
- ⁴⁴ Skuse, D., Printzlau, F., & Wolstencroft, J. (2018). Sex chromosome aneuploidies. *Handbook of Clinical Neurology*, 355–376.
- ⁴⁵ Tartaglia NR, Howell S, Sutherland A, Wilson R, Wilson L. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet J Rare Dis*. 2010 May 11;5:8.

- 46 Nielsen J, Wohler M. Sex chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1990;26(4):209-23.
- 47 Bardsley MZ, Kowal K, Levy C, Gosek A, Ayari N, Tartaglia N, Lahlou N, Winder B, Grimes S, Ross JL. 47,XYX syndrome: clinical phenotype and timing of ascertainment. *J Pediatr.* 2013 Oct;163(4):1085-94.
- 48 heng Y, Wan S, Dang Y, Song T, Chen B, Zhang J. Clinical experience regarding the accuracy of NIPT in the detection of sex chromosome abnormality. *J Gene Med.* 2020 Aug;22(8):e3199.
- 49 Braha E, Martiniuc V, Panzaru M, Caba L, Butnariu L, Onofriescu M, Socolov D, Grigore M, Nemescu D, Mihălceanu E, Iliev G, Gorduza EV. Prenatal diagnosis of gonosomal anomalies: limitations of the FISH method and genetic counseling difficulties in 15 cases. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* 2013 Apr-Jun;117(2):450-6.
- 50 Lucas-Herald AK, Cann F, Crawford L, Morrison H, Boroujerdi M, Nelson SM, Ahmed SF, McGowan R. The outcome of prenatal identification of sex chromosome abnormalities. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2016 Sep;101(5):F423-7.
- 51 Linden MG, Bender BG, Robinson A. Sex chromosome tetrasomy and pentasomy. *Pediatrics.* 1995 Oct;96(4 Pt 1):672-82.
- 52 Loane M, Morris JK, Addor MC, Arriola L, Budd J, Doray B, Garne E, Gatt M, Haeusler M, Khoshnood B, Klungsoyr Melve K, Latos-Bielenska A, McDonnell B, Mullaney C, O'Mahony M, Queisser-Wahrendorf A, Rankin J, Rissmann A, Rounding C, Salvador J, Tucker D, Wellesley D, Yevtushok L, Dolk H. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2013 Jan;21(1):27-33.
- 53 Sebire NJ, Snijders RJ, Brown R, Southall T, Nicolaides KH. Detection of sex chromosome abnormalities by nuchal translucency screening at 10-14 weeks. *Prenat Diagn.* 1998 Jun;18(6):581-4.
- 54 Viuff MH, Stochholm K, Uldbjerg N, Nielsen BB; Danish Fetal Medicine Study Group, Gravholt CH. Only a minority of sex chromosome abnormalities are detected by a national prenatal screening program for Down syndrome. *Hum Reprod.* 2015 Oct;30(10):2419-26.
- 55 Redel JM, Backeljauw PF. Turner Syndrome: Diagnostic and Management Considerations for Perinatal Clinicians. *Clin Perinatol.* 2018 Mar;45(1):119-128.
- 56 Swanson K, Bishop JC, Al-Kouatly HB, Makhmreh M, Felton T, Vora NL, Sparks TN, Jelin AC. Prenatal phenotype of 47, XXY (Klinefelter syndrome). *Prenat Diagn.* 2021 Dec 7.
- 57 Bađci S, Müller A, Franz A, Heydweiller A, Berg C, Nöthen MM, Bartmann P, Reutter H. Intestinal atresia, encephalocele, and cardiac malformations in infants with 47,XXX: Expansion of the phenotypic spectrum and a review of the literature. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(2):113-7.
- 58 Maymon R, Herman A, Reish O. Brain anomalies associated with 47,XYX karyotypes detected on a prenatal scan. *Prenat Diagn.* 2002 Jun;22(6):490-2.

- ⁵⁹ Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, Dekkers OM, Geffner ME, Klein KO, Lin AE, Mauras N, Quigley CA, Rubin K, Sandberg DE, Sas TCJ, Silberbach M, Söderström-Anttila V, Stochholm K, van Alfen-van derVelden JA, Woelfle J, Backeljauw PF; International Turner Syndrome Consensus Group. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *Eur J Endocrinol.* 2017 Sep;177(3):G1-G70.
- ⁶⁰ Sagaser KG, Stevens B, Davis J, Northrup H, Ramdaney A. Close but not quite: Two cases of sex chromosome aneuploidies outside the scope of cell free DNA screening. *Prenat Diagn.* 2018 Apr 12.
- ⁶¹ Snijders RJ, Sebire NJ, Nicolaides KH. Maternal age and gestational age-specific risk for chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther.* 1995 Nov-Dec;10(6):356-67.
- ⁶² EUROCAT Data - congenital anomalies https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat/eurocat-data_en
- ⁶³ Park JE, Park JK, Kang MY, Cho IA, Baek JC. Counting-based cell-free DNA screening test fails to identify triploidy-A case report. *Clin Case Rep.* 2018 Nov 19;7(1):90-93.
- ⁶⁴ Liao J, Romine L, Kerty LA, Chao C, White K, Harmon S, Ho Y, Hull AD, Pretorius DH. Simplifying the ultrasound findings of the major fetal chromosomal aneuploidies. *Curr Probl Diagn Radiol.* 2014 Nov-Dec;43(6):300-16.
- ⁶⁵ Kantor V, Jelsema R, Xu W, DiNonno W, Young K, Demko Z, Benn P. Non-invasive prenatal screening for fetal triploidy using single nucleotide polymorphism-based testing: Differential diagnosis and clinical management in cases showing an extra haplotype. *Prenat Diagn.* 2022 May 16.
- ⁶⁶ Statistik Austria <https://www.statistik.at/statistiken/bevoelkerung-und-soziales/bevoelkerung/geburten/medizinische-und-sozialmedizinische-merkmale-von-geborenen>
- ⁶⁷ Norwitz ER, McNeill G, Kalyan A, Rivers E, Ahmed E, Meng L, Vu P, Egbert M, Shapira M, Kobara K, Parmar S, Goel S, Prins SA, Aruh I, Persico N, Robins JC, Kirshon B, Demko ZP, Ryan A, Billings PR, Rabinowitz M, Benn P, Martin KA, Hedriana HL. Validation of a Single-Nucleotide Polymorphism-Based Non-Invasive Prenatal Test in Twin Gestations: Determination of Zygosity, Individual Fetal Sex, and Fetal Aneuploidy. *J Clin Med.* 2019 Jun 28;8(7):937.
- ⁶⁸ Benn P, Rebarber A. Non-invasive prenatal testing in the management of twin pregnancies. *Prenat Diagn.* 2021 Sep;41(10):1233-1240. doi: 10.1002/pd.5989. Epub 2021 Jun 25.
- ⁶⁹ Rose NC, Benn P, Milunsky A. Current controversies in prenatal diagnosis 1: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications? *Prenat Diagn.* 2016 Jan;36(1):10-4.
- ⁷⁰ Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012 Dec 6;367(23):2175-84.
- ⁷¹ Gross SJ, Stosic M, McDonald-McGinn DM, Bassett AS, Norvez A, Dhamankar R, Kobara K, Kirkizlar E, Zimmermann B, Wayham N, Babiarz JE, Ryan A, Jinnett KN, Demko Z, Benn P. Clinical experience with single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening for 22q11.2 deletion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Feb;47(2):177-83.

⁷² Schmid M, Wang E, Bogard PE, Bevilacqua E, Hacker C, Wang S, Doshi J, White K, Kaplan J, Sparks A, Jani JC, Stokowski R. Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Using a Targeted Microarray-Based Cell-Free DNA Test. *Fetal Diagn Ther*. 2018;44(4):299-304.

⁷³ Dar P, Jacobsson B, Clifton R, Egbert M, Malone F, Wapner RJ, Roman AS, Khalil A, Faro R, Madankumar R, Edwards L, Strong N, Haeri S, Silver R, Vohra N, Hyett J, Demko Z, Martin K, Rabinowitz M, Flood K, Carlsson Y, Doulaveris G, Daly S, Hallingström M, MacPherson C, Kao C, Hakonarson H, Norton ME. Cell-free DNA screening for prenatal detection of 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Jan 13:S0002-9378(22)00006-0.

⁷⁴ Bevilacqua E, Jani JC, Chaoui R, Suk EA, Palma-Dias R, Ko TM, Warsof S, Stokowski R, Jones KJ, Grati FR, Schmid M. Performance of a targeted cell-free DNA prenatal test for 22q11.2 deletion in a large clinical cohort. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2021 Oct;58(4):597-602.

⁷⁵ Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, Dupont C, Alesi V, Gouas L, Horelli-Kuitunen N, Choy KW, García-Herrero S, de la Vega AG, Piotrowski K, Genesisio R, Queipo G, Malvestiti B, Hervé B, Benzacken B, Novelli A, Vago P, Piippo K, Leung TY, Maggi F, Quibel T, Tabet AC, Simoni G, Vialard F. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenat Diagn*. 2015 Aug;35(8):801-9.

⁷⁶ Martin K, Iyengar S, Kalyan A, Lan C, Simon AL, Stosic M, Kobara K, Ravi H, Truong T, Ryan A, Demko ZP, Benn P. Clinical experience with a single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal test for five clinically significant microdeletions. *Clin Genet*. 2018 Feb;93(2):293-300.

⁷⁷ Schindewolf E, Khalek N, Johnson MP, Gebb J, Coleman B, Crowley TB, Zackai EH, McDonald-McGinn DM, Moldenhauer JS. Expanding the fetal phenotype: Prenatal sonographic findings and perinatal outcomes in a cohort of patients with a confirmed 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2018 Aug;176(8):1735-1741.

⁷⁸ Campbell IM, Sheppard SE, Crowley TB, McGinn DE, Bailey A, McGinn MJ, Unolt M, Homans JF, Chen EY, Salmons HI, Gaynor JW, Goldmuntz E, Jackson OA, Katz LE, Mascarenhas MR, Deeney VFX, Castelein RM, Zur KB, Elden L, Kallish S, Kolon TF, Hopkins SE, Chadehumbe MA, Lambert MP, Forbes BJ, Moldenhauer JS, Schindewolf EM, Solot CB, Moss EM, Gur RE, Sullivan KE, Emanuel BS, Zackai EH, McDonald-McGinn DM. What is new with 22q? An update from the 22q and You Center at the Children's Hospital of Philadelphia. *Am J Med Genet A*. 2018 Oct;176(10):2058-2069.

⁷⁹ McDonald-McGinn DM, Sullivan KE, Marino B, Philip N, Swillen A, Vorstman JA, Zackai EH, Emanuel BS, Vermeesch JR, Morrow BE, Scambler PJ, Bassett AS. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Nov 19;1:15071.

⁸⁰ KIDS-22q11 e.V.: <http://www.kids-22q11.at>

⁸¹ Orphanet: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?Ing=EN&data_id=1738&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=1p36-deletion-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=1p36-deletion-syndrome&title=1p36%20deletion%20syndrome&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?Ing=EN&data_id=1738&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=1p36-deletion-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=1p36-deletion-syndrome&title=1p36%20deletion%20syndrome&search=Disease_Search_Simple)

⁸² Orphanet: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?Ing=EN&data_id=90&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Angelman-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Angelman-syndrome&title=Angelman%20syndrome&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?Ing=EN&data_id=90&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Angelman-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Angelman-syndrome&title=Angelman%20syndrome&search=Disease_Search_Simple)

- ⁸³ Orphanet: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=139&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prader-willi&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Prader-Willi-syndrome&title=Prader-Willi%20syndrome&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=139&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prader-willi&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Prader-Willi-syndrome&title=Prader-Willi%20syndrome&search=Disease_Search_Simple)
- ⁸⁴ Orphanet: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=201&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=cri-du-chat&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Monosomy-5p&title=Monosomy%205p&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=201&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=cri-du-chat&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Monosomy-5p&title=Monosomy%205p&search=Disease_Search_Simple)
- ⁸⁵ Hu H, Wang L, Wu J, Zhou P, Fu J, Sun J, Cai W, Liu H, Yang Y. Noninvasive prenatal testing for chromosome aneuploidies and subchromosomal microdeletions/microduplications in a cohort of 8141 single pregnancies. *Hum Genomics*. 2019 Mar 12;13(1):14.
- ⁸⁶ Pertile MD, Flowers N, Vavrek D, Andrews D, Kalista T, Craig A, Deciu C, Duenwald S, Meier K, Bhatt S. Performance of a Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Screening Test in the Detection of Genome-Wide Fetal Chromosomal Anomalies. *Clin Chem*. 2021 Sep 1;67(9):1210-1219.
- ⁸⁷ Lefkowitz RB, Tynan JA, Liu T, Wu Y, Mazloom AR, Almasri E, Hogg G, Angkachatchai V, Zhao C, Grosu DS, McLennan G, Ehrich M. Clinical validation of a noninvasive prenatal test for genomewide detection of fetal copy number variants. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Aug;215(2):227.e1-227.e16.
- ⁸⁸ Zaninović L, Bašković M, Ježek D, Katušić Bojanac A. Validity and Utility of Non-Invasive Prenatal Testing for Copy Number Variations and Microdeletions: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2022 Jun 10;11(12):3350.
- ⁸⁹ Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril*. 2018 Feb;109(2):201-212. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.005.
- ⁹⁰ Srebniak MI, Joosten M, Knapen MFCM, Arends LR, Polak M, van Veen S, Go ATJI, Van Opstal D. Frequency of submicroscopic chromosomal aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosomal aberrations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Apr;51(4):445-452.
- ⁹¹ Zhang J, Li J, Saucier JB, Feng Y, Jiang Y, Sinson J, McCombs AK, Schmitt ES, Peacock S, Chen S, Dai H, Ge X, Wang G, Shaw CA, Mei H, Breman A, Xia F, Yang Y, Purgason A, Pourpak A, Chen Z, Wang X, Wang Y, Kulkarni S, Choy KW, Wapner RJ, Van den Veyver IB, Beaudet A, Parmar S, Wong LJ, Eng CM. Non-invasive prenatal sequencing for multiple Mendelian monogenic disorders using circulating cell-free fetal DNA. *Nat Med*. 2019 Mar;25(3):439-447.
- ⁹² Natera Vistara Test: <https://www.natera.com/resource-library/vistara/vistara-non-invasive-prenatal-screen-list>
- ⁹³ Tsao DS, Silas S, Landry BP, Itzep NP, Nguyen AB, Greenberg S, Kanne CK, Sheehan VA, Sharma R, Shukla R, Arora PN, Atay O. A novel high-throughput molecular counting method with single base-pair resolution enables accurate single-gene NIPT. *Sci Rep*. 2019 Oct 7;9(1):14382.
- ⁹⁴ Eluthia Unity Test: <https://www.eluthia.com/unity/>
- ⁹⁵ de Vries HG, Collée JM, de Walle HE, van Veldhuizen MH, Smit Sibinga CT, Scheffer H, ten Kate LP. Prevalence of delta F508 cystic fibrosis carriers in The Netherlands: logistic regression on sex, age, region of residence and number of offspring. *Hum Genet*. 1997 Jan;99(1):74-9.

- ⁹⁶ Yatsenko AN, Turek PJ. Reproductive genetics and the aging male. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Jun;35(6):933-941.
- ⁹⁷ Bevilacqua E, Jani JC, Chaoui R, Suk EA, Palma-Dias R, Ko TM, Warsof S, Stokowski R, Jones KJ, Grati FR, Schmid M. Performance of a targeted cell-free DNA prenatal test for 22q11.2 deletion in a large clinical cohort. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 Oct;58(4):597-602.
- ⁹⁸ Uldbjerg N. No-call non-invasive prenatal testing gives important information. *BJOG.* 2018 Jun;125(7):856.
- ⁹⁹ Center for Reproductive Rights: <https://reproductiverights.org/maps/worlds-abortion-laws/>
- ¹⁰⁰ Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999 Mar;13(3):167-70.
- ¹⁰¹ Bassett AS, Chow EW, Husted J, Weksberg R, Caluseriu O, Webb GD, Gatzoulis MA. Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome. *Am J Med Genet A.* 2005 Nov 1;138(4):307-13.
- ¹⁰² Jeon KC, Chen LS, Goodson P. Decision to abort after a prenatal diagnosis of sex chromosome abnormality: a systematic review of the literature. *Genet Med.* 2012 Jan;14(1):27-38.
- ¹⁰³ Gravholt CH, Viuff MH, Brun S, Stochholm K, Andersen NH. Turner syndrome: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Oct;15(10):601-614.
- ¹⁰⁴ Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril.* 2018 Feb;109(2):201-212.
- ¹⁰⁵ Cao-Lei L, de Rooij SR, King S, Matthews SG, Metz GAS, Roseboom TJ, Szyf M. Prenatal stress and epigenetics. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020 Oct;117:198-210.
- ¹⁰⁶ ÖGUM Empfehlung 2015: http://neu.oegum.at/wp-content/uploads/2020/10/OEGGG_-_OEGUM_Empfehlung_zur_cfDNA-Testung-final-2015-05-07_03.pdf
- ¹⁰⁷ ÖGUM Empfehlung 2018: <http://neu.oegum.at/wp-content/uploads/2020/10/2018-ETS-NIPT-Empfehlung-DEGUM-OEGUM-SGUM-Kozlowski-UiM2018.pdf>
- ¹⁰⁸ American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics; Committee on Genetics; Society for Maternal-Fetal Medicine. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol.* 2020 Oct;136(4):e48-e69.
- ¹⁰⁹ Christiaens L, Chitty LS, Langlois S. Current controversies in prenatal diagnosis: Expanded NIPT that includes conditions other than trisomies 13, 18, and 21 should be offered. *Prenat Diagn.* 2021 Sep;41(10):1316-1323.
- ¹¹⁰ Yang J, Wu J, Peng H, Hou Y, Guo F, Wang D, Ouyang H, Wang Y, Yin A. Performances of NIPT for copy number variations at different sequencing depths using the semiconductor sequencing platform. *Hum Genomics.* 2021 Jul 2;15(1):41.
- ¹¹¹ National Human Genome Research Institute: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>
- ¹¹² Wang Y, Li S, Wu D, Yan H. Noninvasive prenatal testing of hereditary colorectal cancer syndromes using cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2022 May;42(5):557-566.

¹¹³ § 97 StGB: <https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/Bundesnormen/NOR40173625/NOR40173625.html>

¹¹⁴ Bennett J, Chitty L, Lewis C. Non-invasive Prenatal Diagnosis for BRCA Mutations - a Qualitative Pilot Study of Health Professionals' Views. *J Genet Couns.* 2016 Feb;25(1):198-207.

¹¹⁵ Toufaily MH, Westgate MN, Lin AE, Holmes LB. Causes of Congenital Malformations. *Birth Defects Res.* 2018 Jan;110(2):87-91.