

# **Masterarbeit**

## **Klinische Anwendung und ethische Perspektiven der zellfreien, fetalen DNA**

eingereicht von

**Birgit Stadlober**

zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science (MSc) an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt im Rahmen des

Universitätslehrgangs Master of Science Medizinische Genetik  
am Diagnostik & Forschungs- (D&F) Institut für Humangenetik

unter der Anleitung von Priv. Doz. Dr. Dietmar Enko MBA

Steyr, 18. Juli 2022

## Eidesstattliche Erklärung

Erkläre hiermit 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.

Steyr, 18.Juli.2022

Birgit Stadlober

# Inhalt

Abkürzungsverzeichnis.....	V
Zusammenfassung.....	VIII
Abstract.....	X
1 Einleitung.....	1
2 Überblick über die zellfreie fetale DNA (cff DNA).....	4
2.1 Historie.....	4
2.2 Trophoblast.....	5
2.3 Fetal fraction.....	6
3 Klinischer Bezug.....	7
3.1 Pränataldiagnostik.....	7
3.2 Screening.....	9
3.2.1 Mutationen.....	10
3.2.2 Mikrodeletionen.....	14
3.2.3 Monogene Erkrankungen.....	15
3.3 Diagnostische Punktion.....	16
3.4 Pränatale Chromosomenanalyse.....	19
3.4.1 Zytogenetische, mikroskopische Untersuchung.....	19
3.4.2 Pränataler Schnelltest.....	19
3.4.3 Molekulargenetische Methoden.....	20
3.5 Pränatale NGS-Analysen.....	24
3.5.1 Gen-Panels.....	24
3.5.2 Exom-Analysen.....	24
3.5.3 Einzelgen-Analysen.....	25
4 NIPT.....	26
4.1 Testablauf.....	26
4.2 DR und FPR.....	27

4.3	Bedeutung der Ergebnisse: PPV und NPV .....	28
4.4	Limitationen.....	30
5	Klinische Anwendung NIPT .....	33
5.1	Qualitativer Nachweis spezifischer fetaler Sequenzen.....	34
5.1.1	Nicht invasive Geschlechtsbestimmung.....	34
5.1.2	Rhesus-D Genotypisierung .....	35
5.1.3	Nachweis monogener Erkrankungen .....	35
5.2	Quantitativer Nachweis fetaler Sequenzen.....	36
5.3	Methoden NIPT .....	38
5.3.1	rMPS (random massively parallel sequencing ) (WES).....	38
5.3.2	Targeted-NIPT .....	39
5.3.3	SNP-NIPT (targeted).....	40
5.4	Indikationen NIPT .....	40
5.5	Rechtliche Grundlagen genetischer Untersuchungen.....	42
5.6	Beratung, Einwilligung und Dokumentation.....	44
5.6.1	Recht auf Nichtwissen.....	46
6	NIPT auf Trisomien als Kassenleistung.....	47
7	Marktübersicht NIPT.....	48
8	Ethik .....	49
8.1	NIPT und Ethik.....	49
8.1.1	Menschenwürde .....	50
8.1.2	Entscheidungskonflikte .....	51
8.1.3	Risiken und Konsequenzen .....	53
9	Schlussbemerkungen.....	56
10	Literaturverzeichnis.....	58

## Abkürzungsverzeichnis

Aberration	Abweichung
Abort	Fehlgeburt
Allele	unterschiedliche Formen eines Gens am gleichen Genort
AC	Amniozentese
Anämie	Blutarmut
Apoptose	Programmierter Zelltod
CMA	Chromosomale Mikroarray Analyse (chromosome microarray analysis)
Cf	zellfreie DNA
cff DNA	zellfreie fetale DNA
CVS	Chorionzottenbiopsie
CNV	Kopienzahlveränderung, copy number variation
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
Del	Deletion
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
Dysmorphie	Auffälligkeiten der äußeren Gestalt
Dup	Duplikation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DR	Detektionsrate
Endometrium	Gebärmutterschleimhaut
ETS	Ersttrimesterscreening
FNR	Falsch-negativ Rate

FPR	Falsch-positiv Rate
Gameten	Geschlechtszellen (weiblich/männlich)
GTG	Gentechnikgesetz
Gravidität	Schwangerschaft
Kb	Kilobasen
Kongenital	angeboren
Maternal	mütterlich
Maligne	bösartig (zB. Tumore)
Mb	Megabasen
MPS	Massive parallele Sequenzierung
NGS	Next generation sequencing
Paternal	väterlich
PCR	Polymerase chain reaction
PND	Pränataldiagnostik
Prävalenz	Krankheitshäufigkeit
PPV	Positiver Vorhersagewert
SCA	sex chromosome aneuploidy, Geschlechtschromosomen-Anomalien
SNP	Short nucleotid polymorphism, Einzelnukleotid-Polymorphismus
SSW	Schwangerschaftswoche
Tris 21	Trisomie 21 (Down-Syndrom)
Tris 18	Trisomie 18 (Edwards-Syndrom)
Tris 13	Trisomie 13 (Patau-Syndrom)

Uterus	Gebärmutter
47, XXX	Triple X Syndrom
47, XXY	Klinefelter-Syndrom
X0	Monosomie X, Turner-Syndrom
Zygote	Befruchtete Eizelle

## **Zusammenfassung**

Die Pränatalmedizin mit ihren fortwährend neuen Screening- und Diagnostikmodalitäten ist mittlerweile zu einem integralen Bestandteil des medizinischen Angebotes für schwangere Frau geworden und aus der modernen geburtshilflichen Schwangerenbetreuung nicht mehr wegzudenken.

Pränatalmedizin beinhaltet die begleitende Beratung von Schwangeren, um mögliche Ängste zu minimieren und um potentielle Gefährdungssituationen zu vermeiden. Zu den Hauptaufgaben der erweiterten Untersuchungen der Pränataldiagnostik zählen unter anderem die Überwachung von Mutter und Kind sowie die Bestätigung des normalen Schwangerschaftsverlaufes. Diese erweiterten Untersuchungen dienen der frühzeitigen Erkennung von Risiken, Fehlbildungen, Chromosomenstörungen oder diversen Erkrankungen, gegebenenfalls auch der Zuführung zu einer adäquaten Therapie.

Alle Eltern wünschen sich ein gesundes Kind. In der Gesellschaft besteht großteils die vorherrschende Meinung, dass mit dem breiten Angebot und dem nahezu flächendeckenden Zugang zu pränatalmedizinischen nicht-invasiven und invasiven Untersuchungsmethoden die Geburt von Kindern mit angeborenen Beeinträchtigungen verhindert werden kann.

Durch das Angebot der Pränataldiagnostik (PND) stehen zukünftige Eltern vor der Entscheidung davon Gebrauch zu machen oder nicht. Mögliche Konsequenzen, die sich aus einem abnormen Testergebnis ableiten könnten, sind vorab für die Ratsuchenden oftmals nicht einzuschätzen. So sind Schwangere/ Paare neben der Sorge um die Gesundheit des Ungeborenen auch dem gesellschaftlichen Druck ausgesetzt.

Ziel dieses vorliegenden Schriftstückes ist es, die aktuellen Verfahren und Trends der nicht-invasiven pränatalen Testung darzustellen. Die zunehmenden technischen Möglichkeiten führen auch zur Befürchtung, dass durch diese exorbitanten genetischen Testoptionen ethische Grundprinzipien in Frage gestellt werden könnten.

Die Arbeit soll den aktuellen Stand der vorgeburtlichen Testung von zellfreier, fetaler DNA beschreiben und die ethischen Perspektiven beleuchten.

Mit der Einführung nicht-invasiver Pränataltests als kostenfreie Leistung im Rahmen einer gesetzlichen Krankenversicherung in Deutschland ab 1. Juli 2022 ist daher eine ethische Debatte entflammt.

Das Spektrum der pränatalen Diagnosemöglichkeiten hat sich den letzten Jahren bedeutend erweitert. Neben einer beträchtlichen Zunahme des Auflösungsvermögens der Ultraschalldiagnostik haben die neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse der Molekulargenetik einen enormen Wissenszuwachs auf diesem Gebiet erbracht. Gleichzeitig wird die Technik der Hochdurchsatzsequenzierung weiter an Komplexität zunehmen und die Sequenzierung des pränatalen Genoms in den kommenden Jahren die komplexe Problematik der damit verbundenen ethischen Herausforderungen abrunden.

## **Abstract**

Prenatal medicine, with its continually evolving screening and diagnostic modalities, has become an integral part of the medical services offered to pregnant women and an indispensable part of modern obstetric care.

Prenatal medicine includes the accompanying counseling of pregnant women in order to minimize possible fears and to avoid potentially dangerous situations. The main tasks of the extended examinations of prenatal diagnostics include the monitoring of mother and child as well as the confirmation of the normal course of pregnancy. These extended examinations serve to detect risks, malformations, chromosomal disorders or various diseases at an early stage and, if necessary, to guide the child to adequate therapy.

All parents wish to have a healthy child. The prevailing opinion in society is that with the broad offer and almost universal access to prenatal non-invasive and invasive examination methods, the birth of children with congenital defects can be prevented.

Through the offer of prenatal diagnostics, prospective parents are faced with the decision to make use of it or not. Possible consequences that may result from an abnormal test result are often impossible to assess in advance for those seeking advice. Thus, in addition to concerns about the health of the unborn child, pregnant women/couples are also exposed to societal pressures.

The aim of this report is to present the current procedures and trends in non-invasive prenatal testing. The increasing technical possibilities also lead to the fear that basic ethical principles could be challenged by these exorbitant genetic testing options.

This thesis aims to describe the current state of prenatal testing of cell-free fetal DNA and highlight the ethical perspectives.

Therefore, with the introduction of non-invasive prenatal testing as a free service under a statutory health insurance scheme in Germany from July 1, 2022, an ethical debate has been initiated.

The spectrum of prenatal diagnostic options has expanded significantly in recent years. In addition to a considerable increase in the resolving power of ultrasound diagnostics, new scientific findings in the field of molecular genetics have provided an enormous increase in

knowledge in this area. At the same time, the technology of high-throughput sequencing will continue to increase in complexity, and the sequencing of the prenatal genome in the coming years will round out the complex issues of the associated ethical challenges.

# 1 Einleitung

Im Blut einer schwangeren Frau befindet sich genetisches Material in Form von zellfreier DNA (cf DNA). Diese stammt zum überwiegenden Anteil von der Schwangeren selbst. Diese maternale cf DNA überwiegt mit ca. 80% deutlich im Vergleich zur plazentaren DNA, die auch als fetale DNA (cff DNA) bezeichnet wird. Ihr Anteil beträgt typischerweise nur 10-20 % an der gesamten zellfreien DNA.

Zellfreie fetale Desoxyribonukleinsäure (cff DNA) besteht aus kleinen DNA- Fragmenten, genauer gesagt Bruchstücken aus der Plazenta, die sich während einer Schwangerschaft im Blutplasma einer Frau finden (1).

Die plazentare cff DNA, also genetisches Material vom Feten, stammt primär aus durch programmiertem Zelltod entstandenen Zellen des Trophoblasten. Sie gelangt über die feto-maternale Transfusion im Chorion in die maternale Blutzirkulation. Die apoptotischen Trophoblast-Zellen wurden erstmals 1997 von Lo et al. im mütterlichen Blutkreislauf beschrieben (2).

Die cff DNA kann prinzipiell schon ab der 4. Schwangerschaftswoche molekulargenetisch nachgewiesen werden. Die steigende Konzentration der cff DNA während einer Schwangerschaft macht es möglich sie zu detektieren und somit als eine nicht invasive Screeningmethode im Rahmen der Pränataldiagnostik (PND) zum Einsatz zu bringen. Cff DNA persistiert bis zum Ende der Schwangerschaft im maternalen Blut. Aufgrund ihrer sehr kurzen Halbwertszeit ist sie aber auch nur bis zu zwei Stunden nach der Geburt im maternalen Blut zu detektieren (3).

Das bisherige pränatale Aneuploidie Screening war zum überwiegenden Teil auf die Detektion von Trisomie 21 (Down-Syndrom) beschränkt. Innovative technische Fortschritte auf dem Gebiet der Molekulargenetik wie z.B. die Next Generation Sequencing-(NGS)-Technologie haben nun dazu geführt, dass über eine mütterliche Blutentnahme das Risiko für die häufigsten Chromosomenstörungen beim Feten vorgeburtlich beurteilt werden kann. Dazu zählen neben der Trisomie 21 die Trisomie 13 (Patau-Syndrom) und die Trisomie 18 (Edwards-Syndrom). Auch auf

geschlechtsspezifische Chromosomenstörungen, wie zum Beispiel Monosomie X (Turner-Syndrom) und weitere chromosomale Veränderungen kann ein Screening erfolgen (1) (4).

Dieses Verfahren wird nicht- invasive pränatale Testung (non invasive prenatal testing; NIPT) oder auch zellfreier DNA-Test genannt. Bis dato war die Gewinnung von fetalen Zellen oder Plazentagewebe nur durch einen invasiven Eingriff die einzige Möglichkeit. Bei diesen etablierten Techniken der invasiven Methoden wie z. B. Chorionzottenbiopsie (CVS) oder Amniozentese (AC) besteht jedoch ein eingriffsbedingtes Risiko und somit eine potentielle Gefährdung für den Feten. Das bedeutet, dass das Abort-Risiko mit in etwa 1:100 bis 1:200 angegeben werden muss. (5).

Die Vision von einer nicht-invasiven pränatalen genetischen Diagnostik ohne Risiko für das ungeborene Kind ist permanent präsent. Der NIPT ermöglicht lediglich durch eine Blutentnahme bei der Schwangeren nun bereits seit 2011 mit Start in Asien und den USA die Analyse plazentarer cff DNA aus dem Plasma einer schwangeren Frau.

Ein weiterer großer Vorteil des NIPT liegt in seiner frühen Durchführbarkeit in der Schwangerschaft. Bereits ab Beginn der Woche 11 (10+0 SSW) und einer bestimmten Konzentration (fetal fraction) kann diese cff DNA im maternalen Blutplasma untersucht werden. Die Auswertung des Ergebnisses ist im Durchschnitt nach 6-10 Tagen erhältlich (6) .

Von diversen Firmen werden verschiedene NIPT-Verfahren mit unterschiedlichen molekulargenetischen Methoden kommerziell angeboten.

Aktuell lassen sich mit den NGS-Techniken verlässlich spezifische DNA-Sequenzen quantifizieren. Damit können auch Aussagen über Sequenzen getroffen werden, welche sowohl im mütterlichen als auch im fetalen Genom vorhanden sind. Man erreicht dies damit, indem man die gemessene Anzahl an Fragmenten mit einem Referenzgenom vergleicht. Somit kann nun eine Aussage über die Anzahl von zum Beispiel fetalen DNA des Chromosoms 21 getroffen werden.

Neben dem klassischen Aneuploidie-Screening werden aber auch die Bestimmung des fetalen Geschlechts, Störungen der Geschlechtschromosomen (SCA sex chromosome aneuploidy), Screening auf Mikrodeletionssyndrome, Triploidien und die Bestimmung ausgewählter monogener Erkrankungen des Feten angeboten. Die Bestimmung des fetalen

Rhesusfaktors bei Schwangeren mit negativem Rhesusfaktor stellt eine weitere Testoption dar.

Das Screening auf cff DNA hat eine sehr hohe Sensitivität. Diese gibt an, wie gut der Test tatsächlich erkrankte Individuen erfasst. Aufgrund der aktuellen Datenlage hat das cff DNA Screening unter den aktuell kommerziell erhältlichen Screeningmethoden für Down-Syndrom die niedrigste falsch-positiv Rate (FPR). Ein Test ist falsch-positiv, wenn potentiell gesunde Personen als krank erkannt werden.

In einer Metaanalyse mit insgesamt 35 Studien, in der insgesamt mehr als 225,000 Einlings-Schwangerschaften eingeschlossen waren, wurden die Ergebnisse für die häufigsten Aneuploidien und Geschlechtschromosomen-Aneuploidien dargestellt.

Die Entdeckungsrate (Englisch detection rate) für Trisomie 21 lag bei 99,7 %. Die FPR bei 0,04 %. Ähnlich hohe DR ergaben sich für Trisomie 18 und Trisomie 13, Monosomie X und die SCA (47, XYY, 47, XXY und 47, XXX) (1).

Obwohl die Sensitivität und die FPRs mit dem cff DNA Screening in der Niedrig- und Hochrisiko Population ähnlich waren, zeigten sich unterschiedliche positive Vorhersagewerte (PPV) (7).

Im Rahmen der Aufklärung von Schwangeren vor einem NIPT über Wesen, Tragweite und Aussagekraft einer derartigen Screening Untersuchung sollte dem PPV daher besondere Bedeutung geschenkt werden.

Diese Tatsache und die Möglichkeit, dass durch diverse Methoden des NIPT künftig auch auf sehr seltene Erkrankungen, also auf Krankheiten mit niedriger Inzidenz, getestet werden kann, eröffnet unserer Gesellschaft neue, ethische Perspektiven. Möglicherweise stehen in Zukunft insbesondere werdende Eltern während einer Schwangerschaft vor bedeutsamen, moralischen Herausforderungen.

Insbesondere die neuen Techniken der Hochdurchsatzsequenzierung wie das NGS versprechen fortwährend neue Testoptionen.

Dem gesamten medizinischen Fachpersonal muss aber damit auch zusehends bewusst gemacht werden, welche Verantwortung es für diese medizinischen, gesellschaftspolitischen und folglich ethisch relevanten Leistungen zu tragen hat

## 2 Überblick über die zellfreie fetale DNA (cff DNA)

### 2.1 Historie

Freie, nicht zellgebundene Nukleinsäuren wurden erstmals 1948 von Mandel und Métais in der menschlichen Blutzirkulation beschrieben (8).

Die Entdeckung dieser extrazellulären Nukleinsäuren geriet daraufhin allerdings wieder in Vergessenheit. Erst in den 60er Jahren gelang der Nachweis von zirkulierender DNA bei Patienten/innen mit einem systemischen Lupus erythematoses (SLE). Weitere Forschungsarbeiten stellten fest, dass cf DNA sowohl bei gesunden als auch bei kranken Menschen in unterschiedlicher Konzentration vorkommt. Patienten/innen mit einem malignen Tumor wiesen einen signifikant höheren Anteil auf (9).

Forschungsergebnisse belegen, dass genetisches Material, das aus Serum/Plasma von Tumorpatienten stammt, die Charakteristika der DNA aus Tumorzellen aufweisen (10).

Der chinesische Labormediziner Dennis Lo, geboren 1963 in Hongkong, revolutionierte 1997 mit der Entdeckung fetaler DNA im Blutkreislauf werdender Mütter die vorgeburtliche Testung auf Chromosomenstörungen beim Feten (11).

Das Vorhandensein von fetalem genetischen Material im Blut einer schwangeren Frau offenbarte einen neuen, vielversprechenden Lösungsansatz der pränatalen diagnostischen Möglichkeiten im Rahmen der Schwangerenversorgung. Zur Gewinnung von plazentarem oder fetalem Material für genetische Untersuchungen im Rahmen der PND waren bisher insbesondere die Chorionzottenbiopsie (CVS) oder die Amniozentese (AC) erforderlich. Diese beiden Methoden sind allerdings invasiv und bergen ergo ein eingriffsbedingtes Fehlgeburtsrisiko von circa 0,5-1 % in sich.

Im Jahre 2008 gelang verschiedenen Arbeitsgruppen rund um Dennis Lo und Stephen Quake erstmalig der nicht-invasive cff DNA Nachweis von fetalen Aneuploidien mittels Einsatz der Massiven Parallelen Sequenzierung (MPS) (12).

## 2.2 Trophoblast

Im Rahmen der Befruchtung verschmelzen die Keimzellen, also die weiblichen und männlichen Gameten im Eileiter miteinander.

Die entstandene Zygote durchläuft folglich eine Reihe von Zellteilungen. Diese erreicht etwa 3 Tage nach der Befruchtung die Uterushöhle und befindet sich in einem Mehrzellen-Stadium aus circa 16 Zellen. Ab dann wird sie als Morula bezeichnet und enthält eine innere und äußere Zellmasse (13).

Aus der primären Zygote entwickelt sich die Blastozyste bestehend aus Embryoblast, der inneren Zellmasse, und Trophoblast, der äußeren Zellmasse.

Im Rahmen der Einnistung der Blastozyste in das Endometrium etwa am 6. Tag, dringen beim Menschen Zellen des Trophoblasten in das Epithelgewebe der mütterlichen Schleimhaut ein. Die Blastozyste selbst ist am 11.-12. Entwicklungstag vollständig in das Endometrium eingestiegen und die Implantation somit abgeschlossen (13).

Der Trophoblast gliedert sich in den Synzytiotrophoblasten, welcher reich an Lakunen ist, und den Zytotrophoblasten, welcher nur wenige Lakunen beinhaltet. Die mütterlichen Gefäße sind im Bereich der Einnistungsstelle in Form von Sinusoiden gestaut und erweitert.

Durch das Eindringen der Synzytiumzellen des Synzytiotrophoblasten in diese Sinusoide kann das mütterliche Blut in die Lakunen einströmen. Mehr und mehr Verbindungen dieser Art kommen zwischen den arteriellen und venösen Gefäßen des maternalen Blutkreislaufes zustande und führen zur Entstehung des sogenannten uteroplazentaren Kreislaufes (13).

Der expandierende Trophoblast wächst vorwiegend am embryonalen Pol. Ab der dritten Entwicklungswoche kommt es zur Entstehung der Primär-, Sekundär- und letztendlich der Tertiärzotten. Das in den Zotten befindliche Kapillarsystem verbindet sich mit den Gefäßen in der Chorionplatte und im Haftstiel. Chorionplatte und Haftstiel entstammen dem Embryoblasten. Der Embryo selbst hängt mittels dem Haftstiel, der späteren Nabelschnur, in der Chorionhöhle. Eine weitere Verbindung zum intraembryonalen Kreislaufsystem und somit eine Verbindung zwischen Embryo und Plazenta entsteht (13).

Das fetale Herz beginnt in der vierten Entwicklungswoche zu schlagen und ab diesem Zeitpunkt wird der Embryo von den Zotten mit Sauerstoff und notwendigen Nährstoffen versorgt (13).

### **2.3 Fetal fraction**

Ein potentielles Problem beim NIPT stellt die Ausfallsquote dar. Das Verhältnis zwischen fetaler und der maternalen cf DNA im maternalen Blut stellt einen wesentlichen Einflussfaktor auf die Wahrscheinlichkeit, beim Test ein valides Ergebnis zu erhalten, dar. Der Anteil der fetalen zellfreien DNA im Verhältnis zur gesamten zellfreien DNA in einer Plasmaprobe wird als fetal fraction (FF) bezeichnet (14).

Die FF ist ein wichtiger, im Rahmen von NIPT-Tests, zu bestimmender Parameter und gilt somit als entscheidendes Qualitätskriterium für die Validität des Testverfahrens. Im Vergleich zur maternalen cff DNA ist die fetale cff DNA in wesentlich kleinerer Menge vorhanden und variiert interindividuell. Im Durchschnitt liegt die FF Menge bei circa 11 bis 13,4 % mit erheblichen Schwankungen von Frau zu Frau (15).

Für eine ausreichend sichere Identifizierung einer fetalen Chromosomenstörung beim Feten muss die FF mindestens 4 % betragen. Beim Nicht-Miteinbeziehen der FF in der Probenanalyse ist für das Ergebnis hauptsächlich der maternale Anteil der cff DNA ausschlaggebend. Bei zu niedriger FF könnten Chromosomenanomalien möglicherweise nicht nachweisbar sein, der Test folglich eventuell ein falsch negatives Ergebnis liefern (14).

Einfluss auf den prozentuellen FF-Anteil haben diverse Faktoren, wie beispielweise das Alter, die ethnische Herkunft und das Gewicht der Schwangeren.

Mit zunehmender Schwangerschaftsdauer steigt außerdem der Anteil der FF. Ab der 10. Schwangerschaftswoche steigt die FF um circa 0,1 % pro Woche, ab der 21. SSW um circa 1 % pro Woche an (16).

Die Größe der Plazenta oder aber auch das Vorliegen einer Trisomie beeinflussen die FF. Bei aneuploiden Schwangerschaften mit Trisomie 21 und Trisomie 13 konnten zudem

bedeutend mehr fetale Zellen aus maternalem Blut isoliert werden. Bei Trisomie 18 wurden hingegen niedrigere DNA-Spiegel festgestellt, was mit der meist sehr kleinen Plazenta bzw. einer Plazentainsuffizienz bei Trisomie 18 begründet werden kann (17).

Risikofaktoren für eine niedrige FF sind hauptsächlich ein hoher Body Mass Index (BMI) bei mütterlichem Übergewicht und eine zu frühe Schwangerschaftswoche (14).

Zur Messung der FF gibt es unterschiedliche Methoden. Diese sollten geeignete Eigenschaften zur Unterscheidung zwischen fetaler und maternaler cfDNA aufweisen.

### **3 Klinischer Bezug**

#### **3.1 Pränataldiagnostik**

Ein gesundes Kind zur Welt zu bringen ist naturgemäß der Wunsch aller Frauen. werdende Eltern möchten demnach während der Schwangerschaft bereits Informationen über die Entwicklung des Ungeborenen.

Im Rahmen der vorgeburtlichen (aus dem Lateinischen: prae- „vor“ und natalis – „geburtlich, die Geburt betreffend“) Untersuchungen wird der Fetus auf mögliche Fehlbildungen oder genetische Erkrankungen untersucht. Zusätzlich mögliche Risiken für die Schwangere, wie zum Beispiel das Risiko für eine Präeklampsie (früher „Gestose“; Schwangerschaftsvergiftung) ermittelt. Auch die Schwangerschaft per se, wie zum Beispiel das Risiko für eine Frühgeburt, kann abgeschätzt werden.

Hochrisikoschwangerschaften bedürfen nämlich einer besonderen, intensivierten Betreuung. Falls erforderlich gibt es bei diversen Erkrankungen oder Fehlbildungen auch spezielle, pränatale Therapieoptionen (18).

Ziel ist es Risiken frühzeitig auszuschließen oder rechtzeitig zu erkennen. Die Optimierung der individuellen Schwangerschaftsbetreuung und die Festlegung des optimalen Managements rund um die Geburt haben höchste Priorität.

Die speziellen vorgeburtlichen Untersuchungen im Rahmen der PND sind Zusatzuntersuchungen zu den Mutter-Kind-Pass-Untersuchungen. Sie werden von dafür spezialisierten Ärzten/Ärztinnen angeboten und durchgeführt. Die Untersuchungen sind ein Angebot, die in Anspruch genommen werden können oder bei bestimmten Risiken empfohlen werden. Eine Verpflichtung besteht nicht. Jedenfalls ist eine umfassende Aufklärung vor den Untersuchungen über Wesen, Aussagekraft und Tragweite, aber auch über ihre Grenzen, verpflichtend (18) .

Jede Schwangerschaft ist mit einem Basisrisiko von circa 3-5 % behaftet. Das bedeutet, dass jede Frau das Risiko ein Kind mit einer geistigen oder körperlichen Beeinträchtigung bzw. Behinderung trägt. Zusätzliche Faktoren, wie beispielweise das Alter der Mutter, Stoffwechselerkrankungen, Medikamenteneinnahme, Suchtmittelkonsum, Infektionen, Schadstoffexposition oder auch die familiäre, genetische Disposition können dieses Basisrisiko anheben (19).

Viele dieser Erkrankungen oder Beeinträchtigungen könnten mit Hilfe der PND frühzeitig festgestellt werden. Einige können sogar durch spezielle pränatale Behandlungsmethoden vorgeburtlich bereits geheilt oder zumindest positiv beeinflusst werden.

Bei schwerwiegenden Auffälligkeiten liegt die Hauptaufgabe der PND darin, fundierte Entscheidungshilfen für die werdenden Eltern zu liefern. Dazu zählt unter anderem eine interdisziplinäre Beratung durch diverse Fachärzte/-ärztinnen. Auch eine kompetente, psychosoziale Beratung und die Begleitung der Schwangeren bzw. des Paares sind obligat anzubieten (20).

Unauffällige Untersuchungsergebnisse oder der Ausschluss diverser Risiken hingegen, können Ängste nehmen, wesentlich zur Beruhigung der werdenden Eltern beitragen und letztendlich das Paar in ihrer Vorfreude auf das gemeinsame Kind bestärken.

## 3.2 Screening

„To screen“ aus dem Englischen übersetzt bedeutet „überprüfen“, „sichten“ oder „filtern“. Ein Screening hat die Aufgaben Vorstufen, Frühstadien und Risikofaktoren für Erkrankungen festzustellen.

Eine Schwangerschaft wird im Wesentlichen in drei Abschnitte unterteilt. Die sogenannten Trimester oder Trimenen (Einzahl: Trimenon) beschreiben jeweils in etwa einen Zeitraum von 13 Schwangerschaftswochen. Spezifische Veränderungen beim Feten und der Schwangeren sind für jedes Trimenon typisch (18).

Im Rahmen der PND werden diese spezifischen Veränderungen mittels hochauflösenden Ultraschallgeräts im jeweiligen Trimenon im Detail untersucht.

Das Ersttrimester-Screening (ETS, Firsttrimester-Screening) wird in den SSW 12 bis 14 durchgeführt. Der Schwerpunkt dieses vorgeburtlichen Screenings lag jahrzehntelang auf den Chromosomenstörungen. Die klassischen Trisomien, insbesondere die Trisomie 21, standen hierbei besonders im Mittelpunkt. Angesichts der heutigen sonographischen Möglichkeiten gehört mittlerweile aber auch eine frühzeitige Beurteilung der fetalen Anatomie zum Standard beim ETS. Bereits 30-50 % der strukturellen Fehlbildungen können in diesen frühen SSW erkannt werden (21).

Das klassische ETS ist eine Kombination aus Ultraschalluntersuchung und Laboruntersuchung und zählt zu den nicht-invasiven (Englisch „invasive“, eindringend) Screening-Tests. Es unterliegt strengen Qualitätskontrollen. Der/die jeweilige Untersucher/-in benötigt eine besondere Qualifikation. Dazu sind regelmäßige Fortbildungen und Zertifizierungen erforderlich, um diese Screening-Untersuchungen anbieten und durchführen zu dürfen.

Als klassisches kombinierte ETS wird der Combined-Test bezeichnet. Dieser ermöglicht die Berechnung des individuellen Risikos für die häufigsten, relevanten Aneuploidien wie Trisomie 21, Trisomie 18 und Trisomie 13.

Der Combined- Test basiert auf dem maternalen Altersrisiko für Chromosomenstörungen, der fetale Nackentransparenz (Nackenfalte) und den maternalen Serummarkern freies beta-

hCG (humanes Choriongonadotropin) und PAPP-A (pregnancy-associated Plasma Protein A) (21). Diese Untersuchung stellt kein diagnostisches Verfahren im eigentlichen Sinn dar. Das Ergebnis liefert eine individuelle Risikoabschätzung in Hinblick auf die häufigsten Trisomien. Die Entdeckungsrate für die Trisomie 21, 18 und 13 wird mit 90 bis 95 % angegeben. Die Falsch-positiv-Rate (FPR) mit 2,5 bis 5 % (21).

Darüber hinaus kann neben dem Screening auf Chromosomenstörungen beim ETS auch ein Screening auf eine Präeklampsie oder eine intrauterine Wachstumsretardierung durch Risikoabschätzung erfolgen.

Das Screening auf Trisomien mittels Analyse der cff DNA ist ebenfalls nicht invasiv. Aufgrund seiner hohen Sensitivität und Spezifität kommt dieses Verfahren zunehmend in der klinischen Praxis zur Anwendung. In einigen Ländern ist der NIPT bereits Methode der ersten Wahl und hat das klassische kombinierte ETS im Screening auf Trisomie 21 abgelöst (21).

Durch die Zunahme der genetischen Analysemethoden und deren klinischer Verfügbarkeit rücken mittlerweile aber auch seltene Chromosomenstörungen in den Mittelpunkt. Zukünftig ist folglich eine Erweiterung des Analysespektrums auch beim NIPT zu erwarten. Welche klinischen Konsequenzen sich daraus ergeben, bleibt abzuwarten.

### **3.2.1 Mutationen**

Unter dem Begriff Mutation werden die Veränderung der genetischen Information einzelner Gene (Genmutation), der Struktur von Chromosomen (Chromosomenmutation) oder die Veränderung der Gesamtzahl oder nur einzelner Chromosomen (Genommutation) klassifiziert (22).

### **3.2.1.1 Genmutationen**

Veränderungen eine oder mehrerer benachbarter Nukleotide auf einem Chromosom sind unter dem Begriff „Genmutation“ subsumiert. Dazu zählen Punktmutationen, Deletionen und Insertionen, sowohl im Kilobasen- als auch im Megabasenbereich, Inversionen und dynamische Mutationen (23).

Punktmutationen können in Form von Substitutionen, Deletionen oder Insertionen einzelner Nukleotide vorkommen. Mit einem Anteil von circa 68% stellen die Substitutionen den größten Anteil unter allen Punktmutationen dar. In Abhängigkeit der Lage der Substitution in der kodierenden Region eines Gens entstehen unterschiedliche Folgen. Ein klinisches Beispiel wäre die Sichelzellanämie. Durch die Punktmutation in Form einer Substitution entsteht hierbei ein veränderter Blutfarbstoff Hämoglobin. Dieser wird folglich vom Körper vorzeitig abgebaut und eliminiert. Die Folge ist eine Anämie (22).

### **3.2.1.2 Chromosomenmutationen**

Große Strukturveränderungen von einzelnen Chromosomen nennt man Chromosomenmutation. Zusammenfassend bestehen diese Mutationen aus Deletionen, Insertionen, Duplikationen, Translokationen und Inversionen. Ring- und Isochromosomen werden ebenfalls zu den Chromosomenmutationen gerechnet.

Die Chromosomenaberrationen werden in 2 Hauptgruppen nämlich die numerischen und die strukturellen Aberrationen unterteilt. Beide Gruppen können sowohl die Geschlechtschromosomen (Gonosomen) als auch die Chromosomen 1 bis 22 (Autosomen) betreffen (23).

Die numerischen Chromosomenveränderungen fallen unter den Begriff der Genommutationen.

Strukturelle Aberrationen können balanciert oder unbalanciert in Erscheinung treten. Unter einer balancierten Aberration versteht man, dass zwar das DNA-Material umverteilt, aber

die Gesamtmenge der Erbinformation gleichbleibt. Für die Mehrheit der Träger einer derartigen Veränderung entstehen keine unmittelbaren Konsequenzen. Sie zeigen einen unauffälligen Phänotyp und gelten als klinisch gesund. Diese Art der Aberrationen kann daher auch über viele Generationen unbemerkt vererbt werden (23).

Treten strukturelle Veränderungen jedoch unbalanciert in Erscheinung resultieren in der Regel phänotypische Auffälligkeiten beim Träger. Die überrepräsentierten oder fehlenden DNA-Regionen haben meist schwerwiegende Folgen für die Genexpression.

Das klinische Bild einer unbalancierten Translokation beispielweise, welche mit einer Duplikation (partielle Trisomie) und mit einer Deletion (partielle Monosomie) zweier unterschiedlicher Chromosomenregionen assoziiert ist, wird überwiegend durch die Monosomie, weniger durch die Trisomie bestimmt. Im Klinischen Alltag sind dafür typisch Dysmorphie-Syndrome, Retardierungs- und Fehlbildungssyndrome (23)

Sonderformen unter den balancierten Translokationen stellen die reziproke Translokation und die Robertson- Translokation dar.

Reziproke Translokationen sind Umbauten am Chromosom mit nur einer Bruchstelle, wobei das DNA- Material wechselseitig also reziprok ausgetauscht wird.

Träger einer reziproken Translokation sind phänotypisch unauffällig, da die Aberration balanciert vorliegt. Sie werden aber häufig entdeckt, wenn bei einer schwangeren Frau gehäuft Fehlgeburten auftreten, also eine habituelle Abortneigung besteht. Neugeborene mit Auffälligkeiten der äußeren Gestalt, wie beispielweise überzähligen Fingern oder Zehen, tiefsitzenden Ohren oder abnormer Schädelform etc. können auch Träger einer derartigen Translokation sein. Dysmorphie-Zeichen sowohl prä- als auch postnatal sind daher abklärungsbedürftig (23).

Die Robertson Translokation oder auch zentrische Fusion beschreibt die Vereinigung zweier spezieller Chromosomen (Chromosom 13, 14, 15, 21 oder 22) mit ihren langen Chromosomenarmen nach zuvor stattgehabten Chromosomenbrüchen. Sie führen zwar zum Verlust der beiden kurzen Arme der beteiligten Chromosomen und dadurch auch zu einer Reduktion der Chromosomenanzahl. Da dieser Verlust jedoch kompensiert werden kann, zählt die Robertson Translokation ebenfalls zu den balancierten Formen (23).

Träger dieser ungewöhnlichen Chromosomenanordnung sind klinisch gesund. Auch hier kann die Veränderung unbemerkt über mehrere Generationen vererbt werden.

Eine besondere Rolle spielt die Robertson Translokation der Chromosomen 14 und 21. Wenn nämlich ein Paar ein Kind bekommen möchte und einer der beiden Elternteile Träger/-in dieser Veränderung ist, gibt es unterschiedliche Konstellationen den entstandenen Feten betreffend (24).

Bei Trägerschaft der Aberration eines Elternteiles gibt es vier Möglichkeiten:

1. Normale Schwangerschaft und gesundes Kind.
2. Normale Schwangerschaft und gesundes Kind mit balancierter Trägerschaft der Translokation, wie bei der Mutter.
3. Schwangerschaft oder Kind mit Chromosomenanomalie: Beispiel Translokations-Down-Syndrom (Translokationstrisomie 21).

Besitzt die Mutter die strukturelle Aberration liegt das Risiko für ein Kind mit Down-Syndrom bei in etwa 10 %. Besitzt der Vater die Aberration bei etwa nur 1-2 %.

4. Fehlgeburten oder das Unvermögen eine SS zu halten: Chromosomenkonstellationen, die nicht mit einem postnatalen Leben vereinbart sind.

Männer mit Trägerschaft einer Robertson-Translokation besitzen meist eine normale Zeugungsfähigkeit. Die Translokation kann aber die Produktion der Spermien negativ beeinflussen, sodass eine verringerte Spermienanzahl daraus resultieren kann (24).

### **3.2.1.3 Genommutationen**

Eine Veränderung der Gesamtzahl wird als Genommutation oder auch Ploidie-Mutation bezeichnet.

Darunter werden Veränderungen des gesamten Chromosomensatzes beschrieben, die unter dem Überbegriff „Polyploidie“ zusammengefasst werden. Klinisches Beispiel hierfür ist die Triploidie.

Betrifft die numerische Veränderung hingegen nur einzelne Chromosomen spricht man von einer Aneuploidie. Die Trisomie oder die Monosomie sind hier die wesentlichsten Vertreter. Zu den klinisch bekanntesten Aneuploidien zählen zweifelsohne die Trisomie 21 (Down-Syndrom) und die Monosomie X (Turner-Syndrom) (23) .

Insgesamt zeigen sich deutliche Unterschiede in der Häufigkeit von Chromosomenstörungen im Allgemeinen bei Lebendgeburten. So liegt die Häufigkeit für die Trisomie 21 bei 1:700, für die Trisomie 18 bei 1:3000 und für die Trisomie 13 bei 1:5000.

Die perizentrische Inversion mit einer Häufigkeit von 1:100 stellt neben der balancierten Translokation mit 1:500 die führende Chromosomenaberration dar. Unbalancierte Translokationen scheinen mit 1:2000 vorzuherrschen.

Störungen der Geschlechtschromosomen werden mit einer Häufigkeit von 1:1000 zum Beispiel für das Klinefelter-Syndrom (47,XXY Syndrom) oder das Triple-X-Syndrom (47,XXX) angegeben (23).

### **3.2.2 Mikrodeletionen**

Die Deletion (Englisch delete „löschen“, Lateinisch deletio „Vernichtung“) ist eine Form der Genmutation. Sie bezeichnet den Verlust eines DNA-Abschnitts bzw. das Fehlen von chromosomalem Material.

Im Rahmen der konventionellen Karyotypisierung fehlt die Darstellbarkeit terminaler oder interstitieller Bereiche eines Chromosoms. Klinische Beispiele für diese Art der Deletion sind das Cri-du-Chat- oder Katzenschrei-Syndrom oder das Wolf-Hirschhorn-Syndrom (23).

Submikroskopische Deletionen, die zum Verlust eines oder mehrerer Gene führen werden als Mikrodeletionen bezeichnet. Sie umfassen weniger als 2 bis 3 Megabasenpaare (Mb). In der Regel sind sie deshalb im Lichtmikroskop nicht mehr erkennbar. Die Auflösungsgrenze liegt hier bei ca. 5 Mb (23)

Mikrodeletionen werden daher mit den Methoden FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), MLPA (multiplex-ligation-dependent probe-amplification) oder aCGH (array comparative genomic hybridization). Klinische Beispiele für die häufigsten Mikrodeletionen sind das Prader-Willi-Syndrom (PWS), das Angelman-Syndrom (AS) oder das Di-George-Syndrom (Deletionssyndrom 22q11) (23).

Einige Mikrodeletionen führen zum Verlust mehrerer benachbarter Gene. Sie werden unter dem Begriff Contiguous Gene Syndrome subsummiert. Klinisches Beispiel ist z.B. das WAGR-Syndrom (23).

### **3.2.3 Monogene Erkrankungen**

Eine „Ein-Gen-Erkrankungen“ beutet eine Mutation oder Veränderung in der DNA eines einzelnen Gens. Monogene oder monogenetische Erkrankungen sind meist erblich und folgen dem Vererbungsmuster der Mendelschen Regeln. Dies hat zur Folge, dass eine Mutation in einem einzelnen Gen kausal für die Entstehung der jeweiligen Erkrankung in einer Familie verantwortlich ist.

Zu den häufigsten monogen bedingten Erkrankungen in Mitteleuropa zählt die Zystische Fibrose (CF, Mukoviszidose). Sie wird, wie beispielweise auch die spinale Muskelatrophie (SMA) oder der Albinismus, autosomal rezessiv (AR) vererbt (25).

Weitere klinische Beispiele für monogene Erkrankungen sind die Huntington-Erkrankung (Chorea Huntington), das Marfan-Syndrom oder die Achondroplasie, welche autosomal dominant (AD) vererbt werden.

Zu den X-chromosomal rezessiven (XR) Krankheiten zählen die Hämophilie A und B, die Muskeldystrophien Typ Duchenne (DMD) und Typ Becker (BMD) und das Fragile-X-Syndrom.

Das Rett-Syndrom und der seltene Phosphatdiabetes (Vitamin-D resistente hypophosphatämische Rachitis) werden X-chromosomal dominant (XD) vererbt (23).

Viele Fehlbildungen, die pränatal diagnostiziert werden, treten allerdings isoliert auf. Diese sind häufig polygen oder multifaktoriell bedingt. Das bedeutet, dass die meisten genetisch bedingten Erkrankungen das Resultat aus genetischen und nicht genetischen Faktoren sind. Hierfür gibt es bis dato keine exakte genetische Diagnostik.

Die wissenschaftlichen Erkenntnisse durch die neuen molekulargenetisch-diagnostischen Methoden wie NGS haben in den letzten 10 bis 15 Jahren einen enormen Wissenszuwachs auf dem Gebiet der monogenen Erkrankungen erbracht. Mittlerweile werden jährlich ca.300 neue Erkrankungen der Online-Datenbank OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) hinzugefügt. Die rasch wachsende Anzahl monogen erblicher Störungen führt dazu, dass statt der Analyse einzelner Gene zunehmend die parallele Sequenzierung mehrerer Gene mittels NGS in Form von Genpanels stattfindet. Weitere Gründe für den Einsatz von Genpanels sind die oft fehlende klinische Abgrenzbarkeit der meist komplexen Krankheitsbilder und die große genetische Heterogenität (26).

### **3.3 Diagnostische Punktion**

Seit den 70er- Jahren steht der Pränatalmedizin, neben der Ultraschalldiagnostik, mit der invasiven Diagnostik (Englisch „invasive“, eingreifend) ein wesentliches diagnostisches Tool zur Verfügung.

Hierbei wird mit einer feinen Hohlnadel unter Ultraschallkontrolle über die maternale Bauchdecke und den Uterus eingegangen. Ziel ist die direkte Gewinnung fetaler Zellen aus dem Fruchtwasser, fetaler Zellen aus dem fetalen Blut oder plazentarer Zellen aus der Plazenta. Das gewonnene Material dient in erster Linie der Chromosomenanalyse im Rahmen einer genetischen Abklärung. Zu den meist etablierten invasiven Techniken zählen die Chorionzottenbiopsie (CVS), die Amniozentese (AC) und die Kordozentese (FBS) (21).

Die CVS (Chorionic Villous Sampling, CVS) dient der Gewinnung von Trophoblastzellen aus der Plazenta. Dazu ist circa 10-20 mg Chorionzottengewebe erforderlich. Die Durchführung ist ab der 11. SSW möglich. Das eingriffsbedingte Abortrisiko in erfahrenen Zentren wird mit circa 0,2 % angegeben.

Die Zytotrophoblastzellen weisen eine hohe Zellteilungsrate auf. Dieser Umstand ermöglicht, dass bereits 1-2 Tage nach einer CVS nach Direktpräparation ein vorläufiger Chromosomenbefund vorliegt. Die Metaphasenanalyse von kultivierten Amnionzellen ist die konventionelle Methode zur Karyotypisierung. Der Endbefund liegt nach Auswertung der etwa 2-wöchigen Langzeitkultur vor (27).

Der pränatale Schnelltest wird mittels dem molekularzytogenetischen Verfahren FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) oder dem rein molekulargenetischen Verfahren QF-PCR (quantitative Fluoreszenz-Polymerase-Chain-Reaction) durchgeführt. Ohne vorherige Kultivierung können diese Verfahren an allen kernhaltigen Zellen durchgeführt werden.

Der Schnelltest ermöglicht den Ausschluss bzw. den Nachweis der häufigsten Trisomien 13, 18 und 21 und die gleichzeitige Bestimmung des fetalen Geschlechts. Ein Ergebnis kann bereits nach circa einigen Stunden vorliegen und kommt sowohl bei der Diagnostik nach CVS als auch nach AC zum Einsatz (23).

Auch der Nachweis von Veränderungen auf spezifischen Chromosomenabschnitten ist pränatal möglich. Hierfür gelangen spezifische FISH-Sonden zum Einsatz. Mit ihnen können auch submikroskopisch-kleine Veränderungen der DNA-Sequenz nachgewiesen werden. Somit können häufige Deletionssyndrome, wie beispielweise das Di-George-Syndrom diagnostiziert werden (21).

Die AC (Amniocentesis, AC) dient der Gewinnung fetaler Zellen aus dem Fruchtwasser. Circa 12-20 ml Fruchtwasser sind dazu erforderlich. Die Durchführung ist ab der 16. SSW möglich. Das eingriffsbedingte Abortrisiko in erfahrenen Zentren mit circa 0,1 % angegeben.

Die Zellen aus dem Fruchtwasser sind abgeschilferte Zellen des Amnions, der Haut oder des Urogenitaltraktes des Feten. Ein Ergebnis nach pränatalen Schnelltest an unkultivierten Fruchtwasserzellen liegt nach circa 24 Stunden vor. Eine konventionelle zytogenetische Diagnostik nach Zellkultur liefert nach circa 14 Tagen ein Ergebnis (27).

Die Kordozentese (Fetal Blood Sampling, FBS) dient der Gewinnung fetaler Zellen aus der Nabelschnur und kann ab der 19. SSW durchgeführt werden. Eine zytogenetische Diagnostik aus Lymphozyten liegt nach 48-72 Stunden vor. Das Abortrisiko wird mit 1 - 1,5 % angegeben und ist hier wesentlich von der Indikation abhängig (21).

Alle genannten Methoden der invasiven PND bedingen besondere Anforderungen an den/die Durchführende/n. Eine ausreichende Qualifikation des/der Untersuchers/in und Erfahrung sind eminent.

Diagnostische Punktionen unterliegen in Österreich dem Anwendungsbereich des Gentechnikgesetzes (GTG) und in Deutschland dem des Gendiagnostikgesetzes (GenDG). Die Aufklärung, die genetische Beratung und die Dokumentation sind verpflichtend. Insbesondere sind strenge klinische Indikationen für die Durchführung derartiger Untersuchungen maßgebend. Bei Einführung der AC in den 1970er-Jahren waren vorwiegend noch das fortgeschrittene mütterliche Alter oder die Angst der Schwangeren vor Chromosomenanomalien vorwiegende Gründe für eine Punktion (28).

Heute sind ein auffälliger Ultraschallbefund wie beispielweise eine erhöhte Nackentransparenz (NT), fetale Fehlbildungen oder ein erhöhtes Risiko nach dem ETS die Hauptindikationen. Ein auffälliges Testergebnis nach NIPT wird ebenfalls mittels diagnostischer Punktion abgeklärt.

Außerdem werden mit diesen Verfahren bekannte chromosomale Aberrationen der Eltern oder eine vorausgegangenen Schwangerschaft mit Chromosomenaberration abgeklärt. Weitere Indikation stellen familiär bekannte Mutationen dar (21)

Generell hat sich in den letzten Jahrzehnten die Häufigkeit invasiver Eingriffe grundlegend verändert. Die Zahlen sind weltweit deutlich rückläufig. Geschuldet ist dieses Phänomen der Tatsache, dass sich die Einstellung zur invasiven Diagnostik grundlegend verändert hat. In vielen Zentren ist die Anzahl der AC mit der Einführung des kombinierten ETS gesunken, hingegen aber die Anzahl der CVS gestiegen.

Die stetig neuen Möglichkeiten der genetischen Diagnostik aus cff DNA führen gegenwärtig zusätzlich zum generellen Rückgang der invasiven Eingriffe (21).

## **3.4 Pränatale Chromosomenanalyse**

### **3.4.1 Zytogenetische, mikroskopische Untersuchung**

Im Rahmen der konventionellen zytogenetischen Chromosomenanalyse werden die Anzahl und die Struktur der Chromosomen mit Hilfe eines Lichtmikroskops bestimmt und beurteilt.

Diese konventionelle Karyotypisierung erlaubt in einer einzigen Untersuchung die Beurteilung der Chromosomen auf numerische (Aneuploidien) und strukturelle Veränderungen.

Hierzu werden die Chromosomen enzymatisch behandelt, mit einem Farbstoff markiert und anschließend in Form eines Karyogramms dargestellt. Die Auflösung beträgt dabei zwischen 5 und 10 Megabasen (29).

### **3.4.2 Pränataler Schnelltest**

#### **3.4.2.1 FISH**

Mit Hilfe der Technik der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) können die Chromosomen 13, 18, 21 und die beiden Geschlechtschromosomen X und Y untersucht werden.

Hierfür werden die unkultivierten Zellen aus Chorionzotten oder Fruchtwasser verwendet. Spezifische Regionen der Chromosomen in den Interphase-Zellkernen werden mit speziellen DNA-Sonden gekoppelt, welche mit einem Fluoreszenz-Farbstoff versehen sind. Nach entsprechender Anregung im Fluoreszenz-Mikroskop liefern diese Sonden fluoreszierende Signale. Da also keine Zellzüchtung erforderlich ist, liegen die Ergebnisse bereits nach circa 24 Stunden vor (30).

Bei auffälligem ETS, früher intrauteriner Wachstumsretardierung oder sonographischen Auffälligkeiten können mit dem Schnelltest sehr rasch die häufigsten numerischen Chromosomenaberrationen ausgeschlossen werden und damit zur Entlastung der Schwangeren bzw. der werdenden Eltern ein wesentlicher Beitrag geleistet werden (31).

### **3.4.2.2 QF-PCR**

Ein weiterer, molekularbiologischer Schnelltest zur pränatalen Diagnose der klinisch relevantesten Chromosomenstörungen ist die quantitative Fluoreszenz Polymerase Kettenreaktion (QF-PCR). Hierbei werden hochpolymorphe short tandem repeat (STR) Marker eingesetzt (32).

Mit dieser Markeranalyse kann an unkultivierten Zellen das Vorliegen zusätzlicher (Beispiel Trisomie 21) oder auch fehlender Chromosomen (Beispiel Monosomie X) sehr rasch innerhalb von 24 Stunden erfolgen.

Trotz der beiden Verfahren des pränatalen Schnelltests gilt die konventionelle Zytogenetik als „Gold Standard“. Beide Arten des Schnelltests können nämlich weder strukturelle noch numerische Aberrationen der übrigen Chromosomen erfassen. Zellmosaiken mit numerischen Aberrationen kann der FISH-Schnelltest auch nicht sicher nachweisen (31).

### **3.4.3 Molekulargenetische Methoden**

Als Teilgebiet der Genetik untersucht die Molekulargenetik die Strukturen und Mechanismen der DNA, RNA und Proteine auf molekularer Ebene.

Ziel der molekulargenetischen Diagnostik sind der Nachweis oder der Ausschluss von krankheitsverursachenden Sequenzveränderungen der DNA einzelner Gene.

Im Bereich der molekularen Zytogenetik zählt die bewährte Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zu den zentralen technischen Untersuchungsverfahren. Die

quantitative Fluoreszenz Polymerase Reaktion (QF-PCR) und die Multiplex-Ligation-dependent Probe-Amplification (MLPA) werden ebenso diesen Verfahren zugerechnet.

Auf die Verfahren FISH und QF-PCR wurden bereits im Rahmen des pränatalen Schnelltest eingegangen.

Die MLPA (Multiplex-Ligation-dependent Probe-Amplification) stellt eine sensitive Methode zur relativen Quantifizierung von DNA-Fragmenten dar. Sie dient vorwiegend der Detektion von Dosisunterschieden von bis zu 50 Nukleinsäurefragmenten in einem Probenansatz.

Diese Methode ist prinzipiell eine Kombination aus Multiplex-PCR mit anschließender Fragment-Längenmessung. Mit ihr kann die Anzahl der Kopien an einer bestimmten Position im Genom bestimmt werden. Sie erlaubt also die Detektion von Veränderungen der Kopienzahl eines bestimmten DNA- Abschnittes im Genom, sogenannter CNVs (copy number variations, Kopienzahlvariationen).

Gleichzeitig können auch Veränderungen im Methylierungsmuster des betreffenden Abschnittes erkannt werden (33).

Ähnlich wie mit den Einzelnukleotid-Polymorphismen (single nucleotid polymorphisms, SNP), welche Punktmutationen im Genpool einer Population sind, können aufgrund des Vorkommens oder Fehlens von CNVs Individuen eindeutig voneinander unterschieden werden.

Neben der FISH-Technik und der MLPA haben sich aber mittlerweile im diagnostischen Bereich der Pränataldiagnostik mehr und mehr die CMA (chromosome microarray analysis) und das Next Generation Sequencing (NGS) etabliert (29).

### **3.4.3.1 Molekulare Karyotypisierung: CMA**

Im Rahmen der klassischen genetischen Untersuchung werden Chromosomen in der Metaphase mikroskopisch analysiert und ein Karyogramm erstellt. Sie erlaubt somit eine

zahlenmäßige Auswertung der Chromosomen in Kombination mit der Analyse struktureller Veränderungen (34).

Die Mehrzahl der krankheitsrelevanten Veränderungen liegt allerdings im submikroskopischen Bereich im Genom. Aufgrund ihrer zu geringen Größe liegen sie definitionsgemäß unter der lichtmikroskopischen Nachweisgrenze.

Solche Mikrodeletions- und Mikroduplikationssyndrome können nun genomweit mit der Technik der molekularen Karyotypisierung untersucht werden.

Diese molekulargenetischen Verfahren werden überbegrifflich als Chromosomen-Microarray-Analyse (CMA) bezeichnet, welchen eine hochauflösende molekularbiologische Chip-Technologie zugrunde liegt (34).

Bei der CMA werden prinzipiell zwei Verfahren unterschieden:

1. Die Array-CGH (Comparative Genomic Hybridization on arrayed oligonucleotides) erlaubt Zugewinne und Verluste von genetischem Material zu kartieren. Sie wird demnach auch Array-basierte komparative, also vergleichende, genomische Hybridisierung bezeichnet.
2. Die SNP-Microarray-Analyse bestimmt das Vorliegen von Einzelnukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNP). Die Verteilung der SNP erlaubt ebenfalls Rückschlüsse auf Zugewinne und Verluste (34).

Grundlage beider Methoden bildet die Verwendung von Oligonukleotiden (von griechisch „oligo“- wenige) unterschiedlicher Länge und Anordnung. Zusätzlich wird die Hybridisierung, also die Eigenschaft der DNA sich mit komplementären, einzelsträngigen Molekülen zusammen zu lagern, genutzt (34).

Im Rahmen dieser Methoden werden eine Patienten-DNA und eine normale Referenz-DNA, welche jeweils mit unterschiedlichen fluoreszierenden Farbstoffen markiert sind, im Verhältnis 1:1 auf einen Glasobjektträger (Chip) aufgetragen. Auf diesem Chip befinden sich in Rasterform („array“) tausende DNA-Sonden. Sowohl die Patienten- als auch die Referenz-DNA konkurrieren in Folge um die Bindung an diese Sonden abhängig von ihren

Mengenverhältnissen. Ein Laserscanner detektiert anschließend die Fluoreszenzsignale.

Eine darauffolgende Computer-gestützte Bearbeitung erlaubt nun die vergleichende (komparative) Detektion der chromosomalen Bereiche von Patienten- und Referenz-DNA.

Hiermit können sehr kleine, submikroskopische Veränderungen (Deletionen, Duplikationen) mit einem Auflösungsvermögen zwischen 100 Kb und 10 Kb erkannt werden (35).

Im Vergleich zur konventionellen, lichtmikroskopischen Karyotypisierung bietet diese Chip-basierte Methode eine tausendmal höhere Auflösung. Somit können auch unbalancierte Chromosomenveränderungen, die nur wenige Kilobasen (Kb) groß sind, detektiert werden (29).

Weitere Vorteile sind die Erkennung einer Kontamination, beispielweise mit mütterlichem Gewebe, die simultane Untersuchung aller Mikrodeletionssyndrome und das Erkennen von genomischen Dosisveränderungen auf Gen-Ebene.

Damit bietet diese Diagnostik mit ihrer wesentlich besseren Aussagekraft einen signifikanten diagnostischen Zuwachs im Vergleich zur konventionellen Karyotypisierung (29). Da aber weder balancierte Translokationen, Inversionen oder Insertionen noch geringgradige Mosaik mit dieser Methodik erkannt werden können, kann die CMA die klassische Zytogenetik keinesfalls ersetzen (36).

Durch die Kombination der CGH- und der SNP-Array-Techniken können auch Kopienzahl-neutrale Veränderungen, sogenannte Loss-of-Heterozygosity (LOH)/ uniparentale Disomien (UPD) nachgewiesen werden. In Hinblick auf Mosaik bietet die Kombination auch eine höhere Sensitivität und hat sich daher mittlerweile etabliert (36).

Nachteilig anzuführen ist auch, dass damit nicht alle Ursachen genetischer Erkrankungen vollständig abgeklärt werden können. Pathologische Sequenzveränderungen einzelner Gene, die bei monogenen Erkrankungen ursächlich sind, können nicht detektiert werden. Hierzu sind gezielte molekulargenetische Verfahren mit NGS erforderlich (29).

## **3.5 Pränatale NGS-Analysen**

Neben der Zytogenetik und dem Microarray nimmt die Technik des Next-Generation-Sequencings (NGS) mittlerweile einen sehr hohen Stellenwert ein und ist aus der pränatalen Diagnostik nicht mehr wegzudenken.

Bei auffälligem Ultraschall stellt nach wie vor die konventionelle Zytogenetik mit der Karyotypisierung den genetischen Gold Standard dar. In Abhängigkeit von der Indikation sollte aber bereits bei der diagnostischen Punktion auch an eine zusätzliche Material-Asservierung fetaler Zellen gedacht werden. Möglicherweise ist es zeitnah erforderlich, weitere genetische Analysen in die Wege zu leiten (37).

### **3.5.1 Gen-Panels**

Mehrere Gene, die mit einem bestimmten Krankheitsbild assoziiert sind, können in einem Gen-Panel mittels NGS-Technik gleichzeitig sequenziert werden. Ein Diagnostikpanel ist ein vordefiniertes Set an ausgewählten Genen, welche mit einer spezifischen Erkrankung einhergehen (38).

Ein Gen-Panel ist dann sinnvoll, wenn aufgrund des fetalen Phänotyps eine Diagnose, welche durch Veränderungen in unterschiedlichen Genen begründet sein kann, mit hoher Sicherheit ausgeschlossen oder nachgewiesen werden soll.

Im Rahmen der PND umfasst beispielweise das komplette Diagnostik-Panel für Skelettdysplasien circa 352 Gene, jenes für kongenitale Herzfehler circa 83 Gene (38).

### **3.5.2 Exom-Analysen**

Die Summe aller proteinkodierenden Bereiche des Genoms bezeichnet man als Exom. Das entspricht beim Menschen circa 23 000 Gene mit ungefähr 50 Millionen DNA-Basen. Der

Exom- Anteil des gesamten menschlichen Genoms beträgt aber lediglich 1-2 %. Allerdings befinden sich dort rund 85 % der bekannten krankheitsverursachenden Varianten (39).

Im Rahmen der „Whole Exome Sequencing“ (WES)-Analyse wird das Gesamtgenom mittels NGS sequenziert und Gene in beliebiger Kombination simultan analysiert.

Mit dieser Technik können auch die Exome weiterer Familienmitglieder sequenziert werden. Die Untersuchung zweier Familienmitglieder kann als Duo-Exom oder als Trio – Exom (3 Familienmitglieder) durchgeführt werden. Bei der Trio-Exom-Diagnostik im Rahmen der Pränataldiagnostik werden das fetale Exom und die parenteralen Exome sequenziert und miteinander verglichen. So kann eine exomweite Segregationsanalyse durchgeführt werden (39).

Diese Methode macht es möglich bereits wissenschaftlich belegte krankheitsverursachende Genvarianten zu identifizieren. Es können aber auch neue Varianten durch den Vergleich von Patienten/-innen mit ähnlichen klinischen Symptomen gefunden werden.

WES ist die Methode der Wahl um vorwiegend komplexe, heterogene Krankheitsbilder oder unspezifische Symptome (atypischer Phänotyp) abzuklären. Sie liefern Informationen über alle bekannten Gene, welche mit einer speziellen Pathologie in Verbindung stehen. Sind aber auch für Fälle geeignet, in denen die Symptome nicht mit einer eindeutigen Diagnose in Verbindung zu bringen sind (40).

### **3.5.3 Einzelgen-Analysen**

Die gezielte Untersuchung eines einzelnen Gens ist nur bei eindeutiger klinischer Symptomatik, der sogenannten „Gen-Phänotyp-Korrelation“, zielführend.

Hiermit werden Veränderungen oder Verluste einzelner Gene erfasst, die lichtmikroskopisch nicht zu detektieren sind. Entsprechend der Indikation und Fragestellung werden mit unterschiedlichen Verfahren die gesuchten krankheitsverursachenden Mutationen bzw. Variationen (Polymorphismen) nachgewiesen oder ausgeschlossen (41).

## 4 NIPT

Mit der nicht-invasiven pränatalen Testung (non-invasive prenatal testing, NIPT) steht seit 2012 die genaueste, empfindlichste und spezifischste Screeningmethode für die häufigsten fetalen Aneuploidien auch in Europa zur Verfügung. Grundprinzip ist der molekulargenetische Nachweis und die Analyse der cfDNA ab der 10. Schwangerschaftswoche aus mütterlichem Blut mittels NGS.

### 4.1 Testablauf

Nach Aufklärung und genetischer Beratung, in der Regel vom Frauenarzt/ der Frauenärztin, wird der Schwangeren venöses Blut (10-20 ml) in ein bis zwei speziell beschichtete Proberöhrchen entnommen. Die im Röhrchen vorhandenen Flüssigkeit stabilisiert die Blutbestandteile für bis zu sieben Tagen und verhindert die Freisetzung von mütterlicher DNA aus den Leukozyten (weiße Blutkörperchen) (42).

Anschließend wird die Probe an das Speziallabor des jeweiligen Anbieters temperatur- und bruchgeschützt versandt. Mittels einer Zentrifuge erfolgt zunächst die Abtrennung des Blutplasmas. Danach wird die zellfreie DNA der Plazenta und der Schwangeren isoliert und große Fragmente cfDNA durch Größenselektion abgetrennt. Da cfDNA im Mittel kürzer ist als cfDNA mütterlichen Ursprungs, wird durch diesen Arbeitsschritt der Anteil der cfDNA in der zu untersuchenden Probe erhöht (42).

Entscheidend für die Testqualität sind die Unterscheidung zwischen mütterlicher und fetaler DNA sowie der notwendige Cut-off der fetalen Fraktion von 4 % (43).

Entweder werden mittels MPSS (massively parallel shotgun sequencing) die DNA-Fragmente aller Chromosomen angereichert oder es erfolgt lediglich eine selektive Anreicherung von DNA-Fragmenten bestimmter Chromosomen (targeted parallel sequencing), ähnlich der Analyse von Einzelnukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNPs) (44).

Nach entsprechender Anreicherung der DNA-Fragmente können diese nun mittels NGS unter Verwendung eines proprietären Algorithmus vorwiegend quantitativ, aber auch qualitativ analysiert und biostatistisch berechnet werden. Das Ergebnis liegt nach circa 5-10 Tagen vor und ist eine individuelle Screeninguntersuchung auf die häufigsten Aneuploidien Trisomie 21, 18 und 13 mit einer extrem hohen Sensitivität und auch Spezifität (43).

Die Interpretation und Mitteilung des Testergebnisses sowie die Befundübermittlung an die Patientin erfolgt in der Regel wieder über den/die Frauenarzt/-ärztin.

## **4.2 DR und FPR**

Die Entdeckungsrate (Detektionsrate, DR) beim NIPT beschreibt die Anzahl erkannter auffälliger Feten unter allen auffälligen Feten.

Für die Trisomie 21 wird die DR aktuell mit 99,7 % angegeben, was bedeutet, dass 99,7 % aller Trisomie 21 Feten entdeckt werden und so einer extrem hohen Entdeckungsrate entspricht.

Die Sensitivität eines Tests gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass tatsächlich Erkrankte bzw. Betroffene als solche erkannt werden (richtig-positiv).

Die Spezifität eines Tests gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass Patienten ohne die Krankheit korrekt erkannt werden (richtig-negativ).

Aktuelle werden die Sensitivität und Spezifität für die Trisomien 21, 18 und 13 beim NIPT jeweils mit über 99,9 % angegeben (45) (46).

Die Falsch-positiv Rate (FPR) für die Trisomie 21 liegt aktuell bei 0,04 %. Ein falsch-positives Ergebnis bedeutet, dass der Test ein hohes Risiko für eine Chromosomenstörung angibt, obwohl der Fetus chromosomal gesund ist.

Für die Trisomie 18 werden die DR rezent mit 98,2 % bei einer FPR von 0,05 % angegeben, für die Trisomie 13 die DR mit 99 % bei einer FPR von 0,04 %. Für das Turner-Syndrom liegt die DR bei 95,8 % bei einer FPR von 0,14 % (21).

Der NIPT stellt einen hochwertigen Screeningtest auf fetale Chromosomenstörungen dar, gilt aber nicht als diagnostischer Test. Die Möglichkeit falsch-negativer und falsch-positiver Ergebnisse besteht.

Falsch-negativ bedeutet, dass eine bestimmte Chromosomenstörung vom Test untersucht, dabei aber nicht erkannt wurde.

Auch wenn die Wahrscheinlichkeit für ein falsch-positives Resultat gering ist, sollte das Ergebnis immer durch eine invasive Untersuchung in Form einer diagnostischen Punktion bestätigt werden (47).

### **4.3 Bedeutung der Ergebnisse: PPV und NPV**

Das Testergebnis an sich darf nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose oder gar Entscheidung hinsichtlich der Fortsetzung oder der Unterbrechung einer Schwangerschaft verwendet werden (48).

Als geringe Wahrscheinlichkeit für eine Chromosomenstörung nach NIPT ist ein Risiko von weniger als 1 % definiert, was einem Risiko von weniger als 1:10 000 entspricht.

Die meisten Schwangeren erhalten dieses sehr niedrige Risiko, welches bedeutet, dass es unwahrscheinlich ist, dass der Fetus eine der untersuchten Chromosomenstörungen aufweist.

Als hohe Wahrscheinlichkeit für eine Chromosomenstörung nach NIPT ist ein Risiko von über 1 % definiert, was bedeutet, dass von 99 von 100 Feten eine der untersuchten Chromosomenstörungen aufweisen (47).

Ein solches Befundergebnis mit hohem Risiko darf nicht mit einem auffälligen fetalen Karyotyp gleichgesetzt werden. Jedenfalls sollte im Rahmen einer diagnostischen Punktion weiter abgeklärt werden bevor daraus eine Konsequenz für die Schwangerschaft abgeleitet wird.

Der PPV ist generell ein statistischer Wert, der gibt die Wahrscheinlichkeit angibt, wie viele Personen, bei denen ein medizinischer Test positiv ausgefallen ist, auch tatsächlich krank sind (richtig = positiv).

Dieser PPV ist also abhängig von der Prävalenz einer Erkrankung, also der Häufigkeit einer Erkrankung in der Bevölkerung. Bei einer häufigen Krankheit ist die Wahrscheinlichkeit, tatsächlich betroffen zu sein, um einiges höher als bei sehr seltenen Erkrankungen und einem positiven Wert (49).

Der PPV im Rahmen des NIPT gibt daher die Wahrscheinlichkeit an, dass eine getestete Chromosomenstörung bei einem auffälligen Testergebnis tatsächlich vorliegt.

Der PPV ist – anders als die Testparameter Sensitivität und Spezifität - von zwei wesentlichen Faktoren abhängig. Nämlich der FPR und der Häufigkeit des Auftretens dieser Chromosomenstörung (Prävalenz) im untersuchten Patientenkollektiv (Hintergrundwahrscheinlichkeit) (45)

Bei einem positiven NIPT-Ergebnis, was hohe Wahrscheinlichkeit bedeutet, sollte der Schwangeren der PPV mitkommuniziert werden.

Für die Trisomie 21 wird der PPV bei den meisten NIPT-Anbietern mit circa 80 % (33 bis 95% je nach Prävalenz) angegeben. Das bedeutet, dass etwa 80 % der Ergebnisse mit hohem Risiko korrekt sind und der Fetus tatsächlich die untersuchte Chromosomenstörung aufweist. Dies bedeutet aber auch, dass je seltener eine getestete Chromosomenstörung ist, desto geringer ist demnach der PPV beim einem positiven Testergebnis (45).

Der PPV ist aber wesentlich von der Vortestwahrscheinlichkeit abhängig. Dieser ist wiederum aber individuell unterschiedlich und hängt unter anderem vom Alter der Patientin ab.

So beträgt beispielweise der PPV bei einer 40-jährigen Schwangeren aufgrund des altersabhängig gehäuften Vorkommens einer Trisomie 21 97% (47).

Ein negativer Vorhersagewert (NPV) bedeutet hingegen, dass ein negatives NIPT-Ergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit die tatsächliche Abwesenheit der getesteten Aberration bedeutet.

PPV-Werte für ein genomweites Screening auf alle chromosomalen Auffälligkeiten werden sehr niedrig angegeben, wenn die Prävalenz für diese Auffälligkeiten als niedrig angenommen wird. Beispielweise würde der PPV unter 2 % liegen, wenn eine theoretische Prävalenz von 1:10 000 (0,01%) bestünde. Bei einer Prävalenz von 2 % wäre der PPV allerdings über 70 % (46).

Der NIPT liefert für die Aneuploidien einen sehr hohen NPV (99,9 %). Dieser NPV resultiert daraus, dass eine niedrige Prävalenz für Aneuploidien einer hohen Prävalenz von unauffälligen Patientinnen gegenübersteht (46).

#### **4.4 Limitationen**

Das Analysespektrum beim NIPT beschränkt sich weitgehend auf die numerischen Chromosomenaberration der Autosomen 13, 18 und 21 und der Gonosomen (Geschlechtschromosomen) X und Y (47) (21).

Trotz seiner hohen Testgüte im Screening dieses Chromosomenspektrums muss festgehalten werden, dass der NIPT aber nur rund 10 % aller Auffälligkeiten pränatal bei einem Feten ausmachen. Viele andere Störungen, wie beispielweise Organfehlbildungen, Wachstumsretardierung, zahlreiche fetale Syndrome oder aber das Risiko für eine Präeklampsie (Gestose, früher „Schwangerschaftsvergiftung), Frühgeburt oder Gestationsdiabetes können nicht untersucht werden.

Aus diesem Grund sind viele Fachgruppen der Ansicht, dass die Analyse der cfDNA in ein übergeordnetes Untersuchungskonzept in der Schwangerenbetreuung eingebunden werden sollte. Wobei dabei immer die sonographische Beurteilung von Fetus und Schwangerer (u.a. maternale Gefäße) vorrangig führend sein sollte (21).

Nach einer unauffälligen qualifizierten Ultraschalluntersuchung kann der NIPT zusätzliche Sicherheit im Screening auf die Trisomie 21 liefern und so die Schwangere/ das Paar zusätzlich beruhigen und entlasten.

Bei Ultraschallauffälligkeiten, wie beispielweise einer erhöhten Nackentransparenzmessung (>3,5 mm) oder einer Fehlbildung, sollte jedenfalls eine

diagnostische Punktion empfohlen werden, das Spektrum damit möglich assoziierter Erkrankungen nicht mit einem NIPT erkannt werden kann (21).

Derzeit können mit einem NIPT auch noch keine Erbkrankheiten festgestellt werden.

Eine eingeschränkte Beurteilbarkeit besteht außerdem beim Vorliegen von Chromosomenmosaiken und Chromosomentranslokation. Als Mosaik bezeichnet man ein Nebeneinander von Zellen mit unauffälligem Chromosomensatz und von Zellen mit numerischen Aberrationen, beispielweise einer Trisomie.

Eine Besonderheit stellt die fetoplazentare Diskrepanz dar, die falsch-positive aber auch falsch-negative NIPT-Testergebnisse liefern kann. Abhängig davon, wann und in welchem Stadium in der Embryonalentwicklung eine chromosomale Fehlverteilung auftritt, können unterschiedliche Gewebe (fetale und/oder extrafetale) betroffen sein. Beschränkt sich das Mosaik auf den Feten (fetales Mosaik) können falsch-negative Ergebnisse entstehen, da sich das fetale Mosaik nicht in der Plazenta widerspiegelt. Ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik (begrenzttes Plazentamosaik) hingegen, kann falsch-positive Ergebnisse liefern, da der Fetus von der Chromosomenstörung nicht betroffen ist. Eine diagnostische Punktion würde hierbei ein unauffälliges Karyogramm liefern (50).

Eine weitere Limitation stellt ein zu niedriger Schwangerschaftsanteil der zellfreien DNA, also die fetale Fraktion (FF), dar. Dieser kann dazu führen, dass eine fetale Trisomie 21 beispielweise nicht erkannt wird oder der Test kein Ergebnis liefert. Ursächlich dafür kann neben einem erhöhten mütterlichen Körpergewicht eine zu frühe Schwangerschaftswoche sein.

Je höher das maternale Gewicht, desto niedriger die FF. Je höher das Gestationsalter (Schwangerschaftswoche, SSW) desto höher ist die FF. Auch eine fetale Trisomie 13 und 18 oder plazentare Mosaiken können für eine niedrige FF verantwortlich sein (51).

Einige Anbieter werben damit, dass sie eine zu niedrige fetale Fraktion mit der hohen Sequenziertiefe der von ihnen verwendeten NGS basierten Techniken ausgleichen können.

Da die FF interindividuell sehr unterschiedlich ist, sollte sie grundsätzlich beim Testergebnis angegeben werden. Die „fetal fraction“ stellt einen Qualitätsparameter mit großem Einfluss auf die Testgüte dar (21).

Als Cut-off-Wert gilt eine FF von 4 %. Bei einer FF beispielweise von 10 % beträgt die Zunahme an Chromosomen-spezifischer DNA-Information im Falle einer fetalen Trisomie im mütterlichen Plasma von 5 %. Bei abnehmender FF geht diese Zunahme irgendwann im „Grundrauschen“ bei der jeweiligen Methode unter, welches typischerweise bei einer FF unter 4 % auftritt. Moderne Algorithmen können den niedrigen cff DNA-Gehalt berücksichtigen und die Trennschärfe des Tests wesentlich verbessern, wenn die FF zuverlässig bestimmt wurde. Die Trennschärfe bei niedrigem cff DNA-Gehalt nimmt deutlich ab, wenn die FF nicht bekannt ist (52).

Mögliche Ursachen für ein Testversagen, also kein Ergebnis nach NIPT, können neben einer Adipositas der Schwangeren und der Gabe von niedermolekularen Heparinen in der Schwangerschaft auch technische Gründe sein. Auch bei nicht erfüllte Qualitätskriterien kann es passieren, dass kein Testergebnis erzielt werden kann. Beispiel hierfür wäre eine verschwiegene Eizellspende (47).

Bei der Beratung einer Patientin vor der cff DNA-Analyse in Hinblick auf mögliche Konsequenzen sollten auch biologische Ursachen die zu einem falsch-positiven Ergebnis führen könnten in Betracht gezogen werden. Solche biologischen Ursachen können häufig plazentare Mosaik, eine Vanishing-Twin-Situation (vorzeitiges Absterben eines Zwillings im Rahmen einer primär angelegten Zwillingschwangerschaft), ein chromosomales Mosaik bei der Schwangeren selbst oder eine maternale CNV sein (53).

Selten können auch hämatologische Tumorerkrankungen bei der Schwangeren oder das Vorliegen eines soliden Tumors zu falsch-positiven Ergebnissen führen.

Sehr sind Bluttransfusionen oder aber auch der Zustand nach einer Organtransplantation ursächlich.

Generell wird daher der Einsatz des NIPT bei Schwangeren welche selbst eine Chromosomenstörung haben, eine Organtransplantation hinter sich gebracht haben oder bei denen eine aktive Tumorerkrankung besteht nicht empfohlen (47).

Bei höhergradigen Mehrlingsschwangerschaften mit mehr als 2 Feten ist ein NIPT nicht möglich. Auch dann nicht, wenn im Rahmen einer selektiven Mehrlingsreduktion von beispielweise drei auf zwei Feten, nur 2 Feten am Ende übrigbleiben.

Generell kann die Untersuchung auf Geschlechts chromosomale Störungen aktuell nur bei Einlingsschwangerschaften durchgeführt werden (47) .

## **5 Klinische Anwendung NIPT**

Seit seiner Markteinführung im Jahre 2011 (Asien, US) und 2012 (Europa) hat das Screening auf Trisomien mittels Analyse zellfreier fetaler DNA das klassische kombinierte Ersttrimester-Screening zunehmend abgelöst. Aufgrund seiner hohen Testgenauigkeit auf die häufigsten Trisomien ist dieser nicht-invasive pränatale Test in einigen Ländern bereits zur Methode der ersten Wahl geworden (21).

Im Verlauf der Zeit wurde dieses komplexe Analyseverfahren immer weiterentwickelt. Ursprünglich konnte lediglich auf die häufigsten Aneuploidien wie zB. die Trisomie 21, 18 und 13 oder das fetale Geschlecht getestet werden. Aktuell ist es bereits möglich auch auf andere seltenere Trisomien (9, 16, 22,) Monosomien oder auf Triploidien zu testen.

Mit den neuen Testansätzen kann auch auf spezifische Mikrodeletionssyndrome (u.a. Di-George-Syndrom) sowie Deletionen oder Duplikationen ab einer bestimmten Basengröße oder sogar auf monogenetische Erkrankungen getestet werden.

Es gilt allerdings zu bedenken, dass keine Aussagen zu strukturellen Fehlbildungen getroffen werden können. Diese machen allerdings den Großteil unter allen pränatal relevanten Anomalien aus. Außerdem sind die meisten anderen Chromosomenstörungen und viele syndromale Erkrankungen mit dieser Methode nicht erkennbar. Der klinische Einsatz wird daher anhaltend sehr kontrovers diskutiert (21).

## **5.1 Qualitativer Nachweis spezifischer fetaler Sequenzen**

### **5.1.1 Nicht invasive Geschlechtsbestimmung**

Geschlechtsgebundene genetische Erkrankungen wie beispielweise die Hämophilie A als auch B oder die Muskeldystrophie Typ Duchenne werden X- chromosomal rezessiv vererbt (23).

Eine Trägerschaft der Mutter für diese Mutation bedeutet, dass ein 50%iges Erkrankungsrisikos für einen männlichen Feten besteht. Dieses vermeintliche Risiko kann im Rahmen einer diagnostischen Punktion (CVS oder AC) invasiv abgeklärt werden (23).

Die nicht- invasive Geschlechtsbestimmung aus maternalem Blut mittels cff DNA wird aufgrund ihrer hohen Sensitivität von mehr als 95 % bereits klinisch angewandt. Beim Nachweis von Y-spezifischen Sequenzen mittels Real-time PCR im maternalen Blut ist davon auszugehen, dass es sich in der rezenten Schwangerschaft um einen männlichen Feten handelt. Lassen sich keine Y-spezifischen Sequenzen nachweisen, so kann man davon ausgehen, dass ein genetisch weiblicher Fetus vorliegt. Beim X-chromosomal rezessiven Erbgang würde das somit kein Risiko für eine schwere klinische Manifestation bedeuten (3).

Eine weitere klinische Anwendung der nicht- invasiven Geschlechtsstimmung mittels Nachweis Y-chromosomaler Sequenzen findet bei der kongenitalen adrenalen Hyperplasie (CAH) statt. Bei dieser Stoffwechselkrankheit profitieren weibliche Feten von einer pränatalen, therapeutischen Intervention mit Corticosteroiden.

Bei unklaren Ultraschallbefunden das äußere fetale Genitale betreffend kann ebenfalls eine nicht- invasive Geschlechtsbestimmung nützlich sein (3).

### **5.1.2 Rhesus-D Genotypisierung**

Rhesusunverträglichkeit bedeutet, dass es bei der Konstellation einer rhesus-negativen Schwangeren mit einem rhesus-positiven Kind, zur Antikörperproduktion und resultierend einer Abwehrreaktion der Mutter gegen die Rhesuseigenschaft des Kindes kommen kann. Die Folgen einer sogenannten „Immunisierung“ der Mutter können unter anderem fetale Anämie, Abort oder eine Hämolyse sein.

Dies kann durch eine prophylaktische Impfung von anti-RhD Immunglobulinen vermieden werden. Daher wird allen rhesus-negativen (RhD) Schwangeren in der 28. bis 30. SSW diese sogenannte Anti-D-Prophylaxe empfohlen. Diese ist jedoch nicht erforderlich, wenn der Fetus ebenfalls, wie die Mutter, rhesus-negativ ist (54).

Ähnlich wie bei der nicht-invasiven Geschlechtsbestimmung können RhD-Gensequenzen eines RhD-positiven Feten im Plasma einer RhD-negativen Schwangeren problemlos mittels Real-time PCR nachgewiesen werden. Der qualitative Nachweis von RhD-Gensequenzen erfolgt mittels PCR-Elektrophorese Protokollen oder Real-time PCR Technologien (55)

Aufgrund der hohen Zuverlässigkeit mit einer Sensitivität von 99,93 % und einer Spezifität von 99,61 % wird die nicht-invasive Diagnostik als sogenannter „Rhesus-NIPT“ seit kurzem in einigen europäischen Ländern bereits routinemäßig angeboten (54).

Mit der Bestimmung des fetalen Rhesus-Faktors mittels Rhesus-NIPT könnte ergo bei circa 40 % aller rhesus-negativen Schwangeren die pränatale Gabe der Rhesusprophylaxe vermieden werden. In Deutschland wird daher bereits darüber nachgedacht, den routinemäßigen Einsatz des Rhesus-NIPT bei rhesus-negativen Schwangeren in die Mutterschaftsrichtlinien aufzunehmen (54).

### **5.1.3 Nachweis monogener Erkrankungen**

Pränatal sind auch Erkrankungen, die gehäuft in der Gesamtbevölkerung vorkommen, von besonderer Bedeutung. Dazu zählen beispielsweise die Cystische Fibrose (Mukoviszidose)

oder die Alpha-Thalassämie (Mittelmeeranämie) aus dem Formenkreis der Hämoglobinopathien. Beide werden vorwiegend autosomal-rezessiv (AR) vererbt.

Das bedeutet, dass es erst zur Erkrankung kommt, wenn beide Gene oder Allele (homozygot) defekt sind. Bei heterozygoten Trägern ist die genetische Information des normalen Gens oder Allels ausreichend und sie sind phänotypisch gesund (23).

Eine positive Familienanamnese für eine bestimmte, aber durchaus seltene, Erkrankung kann ebenfalls sehr belastend für die werdenden Eltern sein. Hier ist der frühzeitige, pränatale Ausschluss bzw. Nachweis der jeweiligen Erkrankung besonders bedeutsam für das Paar und hilfreich für den weiteren Verlauf der Schwangerschaft (3)

Mit Hilfe der nicht-invasiven diagnostischen Untersuchung der cfDNA kann nun der Ausschluss einer spezifischen paternal vererbten Mutation erfolgen. Der Fetus kann nämlich nicht erkranken, wenn er das normale Allel seines Vaters vererbt bekommen hat. Unabhängig davon, welches Allel er von seiner Mutter vererbt bekommen hat (3).

Sofern aber beide Elternteile, also Vater und Mutter, dieselbe Mutation tragen, kann die Methode, welche auf dem Ausschluss paternal vererbter Mutationen basiert, nicht mehr angewandt werden. Hier kommen anstatt des qualitativen Nachweismethoden die quantitativen Nachweismethoden mittels digitaler PCR zum Einsatz.

## **5.2 Quantitativer Nachweis fetaler Sequenzen**

Durch den Zugewinn eines aneuploiden Chromosoms, wie zum Beispiel bei einer Trisomie 21, kommt es zu einem Anstieg der fetalen DNA-Anteile im maternalen Plasma.

Mit den Methoden der digitalen PCR und der Massiven Parallelen Sequenzierung (MPS) lässt sich diese Erhöhung der Chromosomendosis mittlerweile zuverlässig nachweisen. Die in den letzten Jahren entwickelten methodischen Verfahren zum Einzelmolekülnachweis haben damit bahnbrechend zur nicht-invasiven Aneuploidie-Diagnostik beigetragen (56).

Bei der digitalen PCR im Rahmen des Aneuploidie-Screenings wird der Anteil von Chromosom 21 Molekülen im maternalen Plasma mit dem Anteil von Chromosom 21 Molekülen in einem Referenzgenom verglichen.

Dabei werden einige selektierte Genloci ausgewählt und nur wenige unterschiedliche DNA-Fragmente zur Analyse herangezogen. Zur Steigerung der Sensitivität dieser Methodik sind folglich neben dem Anteil der fetalen DNA auch die Anzahl der durchgeführten digitalen PCR-Analysen maßgeblich entscheidend. Das bedeutet, dass nur ein hoher Anteil Chromosom 21 spezifischer Sequenzen und mehrere tausend digitale PCR-Reaktionen die erforderliche quantitative Sensitivität leisten können.

Der erstmalig beschriebene Einsatz der MPS zum nicht-invasiven Nachweis von cfDNA im Jahre 2008 in einer Arbeitsgruppe rund um Dennis Lo basiert auf der Analyse mehrerer Millionen DNA-Fragmenten aus einer einzigen Probe (12).

Im klinischen Alltag können diese Verfahren allerdings nur mittels vollautomatisierter NGS-Plattformen umgesetzt werden. Im Jahre 2011 erfolgte daher bereits die Markteinführung des NIPT in den USA und im darauffolgenden Jahr in Europa (57).

Im Vergleich zur bisher verwendeten Sequenzier-Technik nach Frederick Sanger, der sogenannten „Sanger-Sequenzierung“, leisten die NGS-Technologien in kürzerer Zeit bedeutend größere Datenmengen bei vergleichsweise deutlich geringeren Kosten. Je nach Sequenzierautomat und Tag können bei der Sanger-Sequenzierung maximal circa 40 Mb sequenziert werden. Im Vergleich dazu können NGS-Sequenzierautomaten circa 55 Gb in der gleichen Zeit analysieren (3, 57)

Die Hochdurchsatzsequenzierung bietet so die Möglichkeit, entsprechende DNA-Fragmente simultan in kurzen Segmenten zu sequenzieren. Sie können anschließend nach ihrem chromosomalen Ursprung sortiert und quantifiziert werden. Hierfür sind neben komplexen bioinformatischen Berechnungen und Analysen Informationen einer genomischen Datenbank erforderlich (3).

Für die Zukunft könnte das bedeuten, dass die großen technischen Fortschritte im Bereich der Hochdurchsatzsequenzierung das Potential bergen, auch andere autosomale sowie gonosomale Aneuploidien, möglicherweise das gesamte Genom eines Individuums, bereits pränatal zu untersuchen. Es bleibt abzuwarten, ob ein verantwortungsvoller Umgang mit

diesen neuen Techniken im Rahmen der gesetzlichen Anforderungen des Gentechnik- bzw. Gendiagnostikgesetzes, der ethischen Bewertung vorgeburtlicher Diagnostik und der Schutzwürdigkeit ungeborenen menschlichen Lebens gelingen kann.

Unumstritten bleibt allerdings die gesamtgesellschaftliche Herausforderung der nicht-invasiven Pränataldiagnostik.

### **5.3 Methoden NIPT**

Im Vergleich zur Untersuchung der Schwangeren von Seiten des/der Frauenarztes/-ärztin, die im Wesentlichen die ausführliche ärztliche Beratung und Aufklärung nach Gendiagnostikgesetz (Deutschland) und Gentechnikgesetz (Österreich) sowie die Blutabnahme beinhaltet, ist die Analyse der cff DNA technisch äußerst anspruchsvoll. Letztendlich daher nur durch den Einsatz neuer und schneller Hochdurchsatz-Sequenzier-Maschinen bewältigbar (21).

Aktuell werden von den diversen kommerziellen NIPT-Anbietern zwei unterschiedliche NGS-Technologien zum Einsatz gebracht und angeboten. Zum einen jene mit einer Gesamtgenomsequenzierung (whole-genome sequencing, WES) und zum anderen jene mit einer zielgerichteten Sequenzierung (targeted sequencing).

Mit diesen Technologien sind im Wesentlichen aktuell drei Methoden für die cff DNA-Analyse im Einsatz.

#### **5.3.1 rMPS (random massively parallel sequencing ) (WES)**

Bei diesem rMPS- (random massively parallel sequencing) bzw. MPSS- (massively parallel shotgun sequencing) Verfahren werden zunächst sämtliche DNA-Fragmente, die sich im Blutplasma der Schwangeren befinden, vervielfältigt und anschließend zufällig („random“) sequenziert (WES) (52).

Es erfolgt dabei keine Unterscheidung zwischen fetaler und maternaler DNA.

Im Rahmen eines komplexen biomathematischen Verfahrens werden daraufhin die DNA-Fragmente einem Chromosom zugeordnet und quantifiziert.

Da beim Vorliegen einer Trisomie drei anstelle von zwei Exemplaren eines bestimmten Chromosoms vorhanden sind, kommt es zu einem 50%igen Anstieg des DNA-Gehaltes des betreffenden Chromosoms. Bei einer FF von beispielweise 10 % erhöht die fetale Trisomie den eff DNA-Gehalt für Chromosom 21 im mütterlichen Plasma um 5 % (52).

### **5.3.2 Targeted-NIPT**

Beim zielgerichteten, sogenannten „(targeted)- NIPT“ (T-NIPT) werden lediglich DNA-Fragmente vervielfältigt, welche für ein bestimmtes Chromosom spezifisch sind. Auch hier findet anschließend die Zählung und der Vergleich mit einem Referenzgenom, sowie eine Plausibilitätsprüfung statt. Hier wird überprüft, ob die zusätzlich gefundene Menge an Chromosomen-spezifischer DNA mit der zuvor ermittelten FF übereinstimmt.

Der Aufwand reduziert sich aufgrund der Vorselektion der untersuchten, Chromosomen-spezifischen Sequenzen. Die Sequenziertiefe (coverage) des targeted NIPT kann daher höher sein als beim r-MPS Verfahren. Dies erhöht theoretisch die Genauigkeit der Methode (52).

Die Coverage beschreibt generell die Häufigkeit, mit welcher derselbe DNA-Abschnitt während einer Sequenzierung abgelesen wird („reads“) (52).

Die CMA Technologie, als „Genchips“ mit angebrachten Sonden zur parallelen Analyse mehrerer tausend Einzelnachweisen in biologischem Probenmaterial (52), verwendet dieselben, vorab definierten DNA-Sequenzen wie früher die Sequenzierung. Anstatt der Sequenzierung erfolgt allerdings eine Microarray-Analyse. Als Vorteil wird dabei eine deutlich kürzere Analysezeit bei scheinbar mindestens gleich hoher Aussagekraft angegeben (52).

### **5.3.3 SNP-NIPT (targeted)**

Im Rahmen dieser Methode werden Variationen einzelner Basenpaare in der DNA, sogenannter SNPs (single nucleotid polymorphism) untersucht.

Diese Analyseform erkennt Unterschieden einzelner Basen zwischen Mutter und Fetus und ermöglicht so unter anderem eine sehr genaue Quantifizierung des Anteils der cfDNA. Mit der FF wird die hohe Zuverlässigkeit des Tests gewährleistet (42).

Es gibt Verfahren, die mehr als 10 000 SNPs in einem Lauf analysieren. Dies ist eine deutlich höhere Kapazität verglichen zB. mit dem „Harmony-Test“ (Roche, Schweiz) mit 576 SNPs.

Bei ohnehin schon hoher Genauigkeit der Testmethoden führt die höhere Anzahl untersuchter SNPs nicht zu einer weiteren diagnostischen Verbesserung (52).

Beim „Harmony-Test“ kommt die DANSR-Technologie (digital analysis of selected regions) zum Einsatz. Hierbei werden ausgewählte Abschnitte des Genoms analysiert. Spezielle DNA-Primer lagern sich dann an die fetale und maternale cfDNA (42).

## **5.4 Indikationen NIPT**

Als Indikation bezeichnet man in der Medizin den Grund für den Einsatz einer therapeutischen oder diagnostischen Maßnahme. Außerdem definiert sie welche medizinische Maßnahme bei einem bestimmten Krankheitsbild angebracht ist.

Der NIPT wurde primär für die Früherkennung der häufigsten Aneuploidien, insbesondere der Trisomie 21 (Down-Syndrom), konzipiert. Er wurde bisher hauptsächlich bei Schwangeren durchgeführt, die ein erhöhtes Risiko für ein derartiges Syndrom aufweisen. Zum einen durch ein erhöhtes maternales Alter (> 35 Jahre), zum anderen durch ein auffälliges Testergebnis nach kombiniertem Ersttrimesterscreening mit einer ausgewiesenen Risikoerhöhung für eine derartige Chromosomenstörung. Auch eine stattgehabte Schwangerschaft mit einer Chromosomenstörung galt als Indikation. Das

vorrangige Ziel war und ist die Vermeidung von invasiven diagnostischen Eingriffen durch Vorselektion der sicher oder wahrscheinlich negativen Fälle.

Mit der Einführung des NIPT als „Kassenleistung“ mit 1. Juli 2022 in Deutschland kann nun jede Schwangere, die mit ihrem/ihrer Arzt/Ärztin, gemeinsam zu der Überzeugung gekommen ist, dass der Test in ihrer konkreten Situation notwendig ist, diesen auch kostenfrei durchführen lassen (58).

Das bedeutet, dass keine medizinische Handlungsgrundlage, also Indikation, für den NIPT herangezogen wird, sondern lediglich die subjektive Angst oder Sorge der Schwangeren in ihrer aktuellen Erlebnis- und Lebensrealität.

Allein aus der gefühlten Möglichkeit des Auftretens einer genetischen Erkrankung und der gefühlten Beeinträchtigung, unabhängig vom objektiv festgestellten Risiko. Für die Schwangere erwächst sozusagen der (Rechts-) Anspruch auf die Durchführung eines NIPT (58).

Der Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) hat entgegen der Empfehlung seines eigenen wissenschaftlichen Instituts (IQWiG) neben dem NIPT mit Testung auf Trisomie 21 auch die Testung auf die Trisomien 13 und 18 in die Mutterschaftsrichtlinien aufgenommen. Gleichzeitig wurde aber eine, mit dem NIPT-verbundene und von den wissenschaftlichen Fachgesellschaften explizit empfohlene, ergänzende qualifizierte Ultraschalluntersuchung nicht miteingeführt (58)

Daraus resultierte eine erhebliche Kritik der Fachgesellschaften (u.a. DGGG, DEGUM) und der Berufsverbände resultiert. Alle wissenschaftlichen Fachgesellschaften wie auch die Bundesverbände haben nämlich bereits im Vorfeld auf die Sinnhaftigkeit der Verknüpfung von NIPT bei Trisomie 13, 18, 21 mit einer qualitativen Ultraschalluntersuchung eindringlich hingewiesen (59).

Mit der Verknüpfung von Ultraschall und NIPT könnten insgesamt mehr Feten mit Erkrankungen erkannt werden. Konkret bedeutet das, dass zehnmal mehr (3,5 %) der pränatal auffälligen Feten mit Erkrankungen (auch nur rein körperlichen) erkannt werden können. Mit dem alleinigen genetischen Ansatz im Rahmen des NIPT für Trisomie 13, 18, 21 können nämlich lediglich 0,35 % erkannt werden (59).

Die einzige Voraussetzung für die Durchführung eines nicht-invasiven Pränataltests als Leistung der gesetzlichen Krankenversicherung in Deutschland ist eine vorangehende humangenetische Beratung durch den/die behandelnde/n Arzt/Ärztin oder durch einen/eine Facharzt/Fachärztin für Humangenetik.

Bereits vor Einführung des NIPT als Kassenleistung fanden intensive gesellschaftliche und politische Debatten statt. Mit der Einführung als Kassenleistung nehmen diese Debatten keinesfalls ab, im Gegenteil weisen Kritiker zunehmend auf mögliche negative ethische und gesellschaftliche Implikationen hin.

## **5.5 Rechtliche Grundlagen genetischer Untersuchungen**

Wird das Genmaterial eines Menschen auf mögliche Veränderungen an den Genen untersucht spricht man von einer genetischen Untersuchung.

Im Sinne des Gentechnikgesetzes (Österreich) bzw. Gendiagnostikgesetzes (Deutschland) handelt es sich bei einer genetischen Untersuchung um eine auf den Untersuchungszweck gerichtete Analyse zur Feststellung genetischer Eigenschaften.

Diese Untersuchungen können mögliche Informationen über ein bestehendes oder angenommenes Risiko für das Auftreten einer genetisch bedingten Erkrankung oder Entwicklungsstörung liefern. Sie liefern hochsensible vertiefende Informationen. Auch die pränatalen Screening-Untersuchungen und die Untersuchung der cff DNA fallen in den Bereich der genetischen Untersuchungen (34).

Das „Gesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen“ regelt verbindlich den Umgang mit genetischen Untersuchungen zu medizinischen Zwecken einschließlich der pränatalen genetischen Untersuchungen. In Österreich ist diese Rechtsgrundlage im Gentechnikgesetz (GTG), in Deutschland im Gendiagnostikgesetz (GenDG) festgeschrieben (34).

Eine genetische Untersuchung im Sinne des Gesetzgebers ist also eine auf den Untersuchungszweck gerichtete Analyse genetischer Eigenschaften. Dies bedeutet, dass bei jeder Untersuchung der Untersuchungszweck mitgeteilt werden muss (34)

Das Gesetz unterscheidet prinzipiell zwischen prädiktiven und diagnostischen genetischen Untersuchungen:

1. Prädiktiv: Laut Legaldefinition sind prädiktive genetische Untersuchungen jene Untersuchungen, die das Ziel haben, erst zukünftig auftretende Erkrankungen oder auch die Anlageträgerschaft für Erkrankungen (Heterzygoten-Testung) abzuklären (34).

Beispiele hierfür wären erbliche Formen von Brust- und Eierstockkrebs, Darmkrebs, Chorea Huntington oder auch autosomal-rezessiver (AR-) Krankheitsbilder wie beispielweise eine spinale Muskelatrophie (SMA). Bei diesen molekulargenetischen Untersuchungen werden die Gene bei gesunden Familienmitgliedern untersucht.

Eine Diagnosestellung im Rahmen einer prädiktiven Diagnostik kann unter Umständen der Manifestation einer Erkrankung um Jahrzehnte vorausgehen (u.a. spät manifestierende neurogenerative Erkrankungen Beispiel Chorea Huntington). Dies muss im Rahmen einer genetischen Beratung vor der Diagnostik kommuniziert werden, da der Ausschluss oder Nachweis einer krankheitsverursachenden Mutation mit Spätmanifestation erhebliche Auswirkungen auf die Lebens- und Familienplanung der ratsuchenden Person haben kann. Es können auch weitreichende psychische Konsequenzen auftreten. Darüber hinaus kommen mögliche Auswirkungen auf das soziale Umfeld oder aber auch negative Auswirkungen auf die finanzielle und rechtliche Situation vor (34).

Die Diagnostik (prädiktiv) hat für die ratsuchende Person entscheidende Bedeutung, da zum einen ein Krankheitsausschluss und damit eine psychische Entlastung geschaffen werden kann, zum anderen beim Nachweis der Genveränderung prädiktive Schritte oder rechtzeitige therapeutische Konsequenzen in die Wege geleitet werden können (34).

2. Diagnostisch: „Laut Legaldefinition sind diagnostische genetische Untersuchungen jene Untersuchungen, die das Ziel haben, bereits bestehende Erkrankungen abzuklären. Die Abklärung, ob genetische Erkrankungen vorliegen, die zusammen mit der Einwirkung äußerer Faktoren eine Erkrankung auslösen, welche die Wirkung eines Arzneimittels beeinflussen oder die den Eintritt einer möglichen Erkrankung ganz oder teilweise verhindern können, fallen ebenfalls unter die diagnostischen genetischen Untersuchungen (34).

Beispiele hierfür wären die Untersuchungen von BRCA1/BRCA2-assoziiertem Brustkrebs- und Eierstockkrebs bei einer erkrankten Indexpatientin (34).

Laut GTG § 65 werden genetische Analysen am Menschen zu medizinischen Zwecken in vier Typen unterschieden (60):

*Typ 1* „dient der Feststellung einer bestehenden Erkrankung, der Vorbereitung einer Therapie oder Kontrolle eines Therapieverlaufs und basiert auf Aussagen über konkrete somatische Veränderung von Anzahl, Struktur, Sequenz oder deren konkrete chemische Modifikationen von Chromosomen, Genen oder DNA-Abschnitten.“

Beispiel: somatische Mutationen bei bestehender Krebs-Erkrankung

*Typ 2* „dient der Feststellung einer bestehenden Erkrankung, welche auf einer Keimbahnmutation beruht.“

*Typ 3* „dient der Feststellung einer Prädisposition für eine Krankheit, insbesondere der Veranlagung für eine möglicherweise zukünftig ausbrechende genetisch bedingte Erkrankung oder Feststellung eines Überträgerstatus, für welche nach dem Stand von Wissenschaft und Technik Prophylaxe oder Therapie möglich sind.“

Beispiel: erblicher Brust- und Eierstockkrebs

*Typ 4* „dient der Festlegung einer Prädisposition für eine Krankheit, insbesondere der Veranlagung für eine möglicherweise zukünftig ausbrechende genetisch bedingte Erkrankung oder Feststellung eines Überträgerstatus, für welche nach dem Stand von Wissenschaft und Technik keine Prophylaxe oder Therapie möglich sind“ (60).

Beispiel: Chorea Huntington

## **5.6 Beratung, Einwilligung und Dokumentation**

Eine genetische Beratung ist ein Kommunikationsprozess zwischen einem/er genetischen Berater/in und dem/der Ratsuchenden mit vorgegebener Struktur. Jedenfalls ist die

Beratung ein ergebnisoffener Prozess und in jedem Einzelfall individuell und daher nicht vorhersehbar.

Der Ablauf sollte im Wesentlichen folgende Punkte enthalten: zunächst die Klärung der Fragestellung, die Erhebung der Eigen- und Familienanamnese mit anschließenden Informationen zum Krankheitsbild und dessen Vererbung. Besprechung möglicher Handlungsoptionen und deren Konsequenzen, sowie die Zusammenfassung der Gesprächsinhalte (34).

Insbesondere im Rahmen der Pränataldiagnostik ist die Schwangere auf alle möglichen Untersuchungsmethoden nach aktuellem Stand der Wissenschaft aufzuklären. Eine ausreichend angemessene Bedenkzeit vor einer genetischen Untersuchung ist gesetzlich einzuhalten.

Letztendlich wird das weitere Procedere, beispielweise in Form einer molekulargenetischen Diagnostik, festgelegt und eine Zusammenfassung der wichtigsten Gesprächsinhalte sowie der offenen bzw. gefällten Entscheidungen sorgfältig in einem Beratungsbrief schriftlich dokumentiert (34).

Für die Veranlassung und Durchführung genetischer Untersuchungen gilt ein Arztvorbehalt. Die Anforderungen an die genetische Beratung und die Qualifikation genetisch beratender Ärzte/Ärztinnen ist folglich rechtlich geregelt.

Der Nachweis dieser Qualifikation der fachgebundenen genetischen Beratung ist ab dem 01.02.2012 von jedem Arzt/Ärztin in Deutschland zu erbringen (34).

In Österreich ist die Durchführung von genetischen Analysen im GTG § 68, Absatz 1, wie folgt geregelt: „...nur in hierfür zugelassenen Einrichtungen und nur auf Veranlassung von in Humanmedizin/medizinischer Genetik ausgebildeten FachärztInnen oder von für das Indikationsgebiet zuständigen behandelnden oder Diagnose stellenden FachärztInnen erfolgen.

Der Gesetzgeber regelt außerdem im § 69 des GTG das Thema „Einwilligung und Beratung“ wie folgt:

„(1) Eine genetische Analyse des Typs 2, 3 oder 4 einschließlich einer genetischen Analyse im Rahmen einer pränatalen Untersuchung, darf nur nach Vorliegen einer schriftlichen

Bestätigung der zu untersuchenden Person durchgeführt werden, dass sie zuvor durch einen für Humangenetik/medizinische Genetik ausgebildete/n Facharzt/ärztin oder eine/n für das Indikationsgebiet zuständige/n Facharzt/ärztin über deren Wesen, Tragweite und Aussagekraft aufgeklärt worden ist und aufgrund eines auf diesem Wissen beruhenden freien Einverständnisses der genetischen Analyse zugestimmt hat“ (61) .

Vor jeder genetischen Untersuchung ist eine ausführliche Aufklärung des/der Patienten/in über das Wesen, die Tragweite und die Aussagekraft der jeweiligen Untersuchung durch den/die verantwortliche/n Arzt/Ärztin obligat und verpflichtend zu dokumentieren.

Werden diese Untersuchungen pränatal durchgeführt, so müssen Aufklärung und Zustimmung der Schwangeren auch die Risiken des vorgesehenen Eingriffes umfassen (61).

§ 71a GTG regelt die Dokumentation der Untersuchungsergebnisse. Typ 1 Analysen dürfen in jedem Fall, Typ 2 und 3 nur sofern der/die Patient/in dem nicht schriftlich widersprochen hat, in Arztbriefen und Krankengeschichten dokumentiert werden. Der/die Patient/in ist außerdem auf die Möglichkeit des Widerspruches in der Beratung gemäß § 69 GTG hinzuweisen.

Typ 4 Analysen, ebenso wie die Ergebnisse aus Typ 2 und 3 Analysen, dürfen nur, wenn der/die Patient/in die Dokumentation explizit untersagt hat, in der Einrichtung, in der sie erhoben worden sind, und nur auf Veranlassung des/der behandelnden Arztes/Ärztin automationsunterstützt verarbeitet werden.

Diese Analyseergebnisse sind darüber hinaus von anderen Datenarten gesondert aufzubewahren bzw. zu speichern. Darüber hinaus dürfen diese Daten nur mit einer gesonderten Zugriffsmöglichkeit abrufbar sein (62).

### **5.6.1 Recht auf Nichtwissen**

Die meisten Frauen erwarten sich von der Pränataldiagnostik (PND) die Bestätigung, dass ihr Kind „gesund“ ist. Bei der Entscheidung für eine Untersuchung im Rahmen der PND

wird daher häufig auch nicht über mögliche Konsequenzen, welche sich aus bestimmten Untersuchungsergebnissen ableiten könnten, nachgedacht.

Neben der möglichen medizinischen Konsequenzen sollte auch auf mögliche psychische und psychosoziale Konsequenzen hingewiesen werden (34).

Durch die Weiterentwicklung der pränatalen Diagnosemöglichkeiten und die Verpflichtung des/der Frauenarztes/ärztin jede Schwangere über die Möglichkeit von erweiterten Untersuchungen, also jenen Untersuchungen die zusätzlich zu den Basisuntersuchungen im Mutter-Kind-Pass (Österreich) oder Mutterpass (Deutschland) durchgeführt werden können, aufzuklären, werden schwangere Frauen meist früh, also im 1. Trimenon der Schwangerschaft, mit dem Thema PND konfrontiert.

Die Möglichkeiten der immer früheren Diagnosen und der möglichen Risikoeinschätzung für diverse Erkrankungen bringen aber auch viele Schwangere unter Druck. Auch die häufig verbreitete, gesellschaftliche Meinung, dass die Geburt von Kindern mit angeborenen Beeinträchtigungen mit den zur Verfügung stehenden Methoden frühzeitig festgestellt und unter Umständen durch einen Schwangerschaftsabbruch verhindert werden kann, bringen viele Schwangere in Zugzwang (63).

Im Rahmen der genetischen Beratung muss also auch auf das Recht auf Nichtwissen deutlich hingewiesen werden.

## **6 NIPT auf Trisomien als Kassenleistung**

Nicht-invasive pränatale Tests (NIPT) bestehen im Wesentlichen aus der Analyse zellfreier DNA, die im Blut einer schwangeren Frau zirkuliert. Diese DNA kann Hinweise auf verschiedene genetische Veränderungen, wie zum Beispiel das Down-Syndrom (Trisomie 21) oder die Trisomien 13 und 18, geben.

Seit 2012 werden sie als selbstkostenpflichtige Tests in Österreich und Deutschland angeboten.

Laut einer Aussendung des deutschen Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA) im Jahre 2019 besteht das primäre Ziel darin, „die zur Klärung der Frage des Vorliegens einer Trisomie 13, 18 oder 21 erforderlichen invasiven Untersuchungen- Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese- und das damit verbundene Risiko einer Fehlgeburt nach Möglichkeit zu vermeiden (64).“

Mit 1. Juli 2022 wurde die Änderung der deutschen Mutterchafts-Richtlinien in Kraft gesetzt und der nicht-invasive molekulargenetische Pränataltest in den Leistungskatalog der gesetzlichen Krankenversicherung aufgenommen.

Dieser soll „in begründeten Einzelfällen und nach ärztlicher Beratung unter Verwendung einer Versicherteninformation“ eingesetzt und in Anspruch genommen werden (65).

Die Österreichische Sozialversicherung hat nach einer durchgeführten Analyse im Jahre 2017 die Kostenübernahme für NIPTs aufgrund der Mehrkosten und der zu geringen Evidenz abgelehnt. Der NIPT als primärer Screeningtest wird derzeit in Österreich nicht empfohlen (66).

## **7 Marktübersicht NIPT**

Aufgrund des zunehmend steigend erhöhten Alters von Schwangeren, die dadurch als potentiell risikobehaftet gelten, und der Kostenübernahme durch Krankenkassen, zählen NIPTs zu einem zunehmend boomenden Markt weltweit mit hoher Wachstumsrate.

Seit ihrer Markteinführung im Jahr 2011 sind sie aus der routinemäßigen, modernen Schwangerschaftsvorsorge nicht mehr wegzudenken.

Die hohen Diagnoseraten, sowie die breite Akzeptanz und Sensibilisierung der Menschen und die Einführung neuer technologisch fortschrittlicher Tests treiben den Marktanteil NIPTs weiter nach oben.

Die zunehmende Prävalenz genetischer Störungen, die ständige Entwicklung von Hochdurchsatz-Sequenziergeräten neuerer Generationen sowie neue Produkteinführungen treiben den Markt weiter voran.

Die Anbieter dieser Tests konkurrieren um ihre Marktanteile an diesem sehr wettbewerbsintensiven globalen Markt zu maximieren.

Besonders in Nordamerika (USA, Canada, Mexico) widmen sich viele Biotechnologieunternehmen der Forschung und Entwicklung solcher NGS-basierter NIPT-Produkte.

Laut aktueller Recherche wurde der globale Markt für nicht-invasive pränatale Tests im Jahr 2020 auf etwa 1490 Millionen USD geschätzt. Laut Prognosen wird der Markt voraussichtlich bis 2026 insgesamt 3396 Millionen erreichen. Dies würde einer jährlichen Wachstumsrate im Prognosezeitraum 2021-2026 von über 14 % entsprechen (67).

## **8 Ethik**

Die Voraussetzungen und die Bewertungen menschlichen Handelns werden unter dem wissenschaftlichen Begriff Ethik (Griechisch „ethos“, Sitte oder Gewohnheit) zusammengefasst. Sie befasst sich mit dem sittlichen Verhalten des Menschen.

Ethik ist aber auch ein Teilbereich der Philosophie, der sich neben der Sitte mit der Moral, also der in einer Gesellschaft gültigen Normen und Werten, sowie Regeln und Geboten auseinandersetzt (68).

### **8.1 NIPT und Ethik**

Angesichts der Verfügbarkeit und beständigen Auswertung von NIPTs kommen Schwangere und ihr/e Partner/in und die Gesellschaft insgesamt nun in ein ethisches Dilemma. Soll von diesen Methoden Gebrauch gemacht oder darauf verzichtet werden?

Wie verhält sich der Anspruch auf ein gesundes Kind mit dem Wunsch, dem noch ungeborenen Kind möglicherweise Leid ersparen zu wollen? Gedanken an die eigene Lebensqualität und die Erhaltung dieser könnten in Frage gestellt werden (69).

Diese ethischen Überlegungen können zu einer Überforderung aller beteiligten Personen führen. Nicht nur die Schwangere und ihr/e Partner/in müssen sich mit der Thematik eingehend auseinandersetzen bevor sie die Entscheidung für oder gegen einen NIPT treffen können.

Auch die/der behandelnde Arzt/Ärztin scheint sich gesellschaftlich vom/ von der ärztlichen Berater/in und medizinischen/r Betreuer/in zu einem/einer Garanten/in für ein gesundes Kind zu wandeln.

Durch die Erweiterung des Testpotenzials bei nicht-invasiven pränatalen Test steigt aber auch die Komplexität der pränatalen genetischen Beratung. Der/die Arzt/Ärztin muss im Rahmen der Beratung im Stande sein, die teils komplexen und von der Schwangeren nicht zu erwarteten Zusammenhänge zu erklären, klar zu kommunizieren und darf keinesfalls direktiv beraten.

Neben der entsprechenden Wortwahl sind aber auch die intellektuelle Struktur der Schwangeren/ des Paares von Bedeutung, damit ein ausreichendes Verständnis über die geplante Untersuchung angenommen werden kann. Dies ist zum Teil bei Ratsuchenden mit etwas verlangsamter Auffassungsgabe oder bei Ratsuchenden mit Sprachbarriere eine enorme Herausforderung und bedarf ausreichender Zeitressourcen (70).

Ethisch gesehen geht es darum, die Sorgfaltspflicht einer nicht direktiven Beratung im Rahmen der Schwangerenbetreuung einzuhalten. Eine emphatische Gesprächsführung beinhaltet, neben der sorgfältigen medizinischen Aufklärung, auf die Ängste und Hoffnungen der Schwangeren/werdenden Eltern einzugehen, aber auch auf die möglichen Risiken oder Irrtums-Potenziale hinzuweisen. Alternativen müssen, ebenso wie die Möglichkeit von Fehldiagnosen, besprochen und allenfalls mögliche Konsequenzen aus den Untersuchungsergebnissen diskutiert werden (20).

### **8.1.1 Menschenwürde**

Menschenwürde und Chancengleichheit beginnen bereits vor der Geburt und reichen über den Tod hinaus und gehören zu den Moralprinzipien. In moralischer Hinsicht wird von der

Gleichheit aller Menschen ohne Berücksichtigung von Leistung, Amt und Ansehen ausgegangen (71).

Ethisch und gesellschaftspolitisch drängt sich nun die Frage auf, ob der NIPT ein Test zur Vermeidung von Kindern mit Down-Syndrom ist und damit die Autonomie eines Menschen in Frage stellt. Behindertenverbände haben daher zurecht scharfe Kritik an dieser Methode geäußert. Die Definition von Behinderung oder Beeinträchtigung bedeutet für sie nämlich ein „Anderssein“ und nicht „Krankheit“ oder, dass man Menschen mit Beeinträchtigung dieser Art das Recht auf Leben absprechen darf. Dies könnte zu einer zunehmenden Diskriminierung von Menschen mit Behinderung jeglicher Art führen und deren Akzeptanz in der Gesellschaft untergraben.

Die Wahrnehmung des Schweregrades einer Erkrankung oder Leidens ist individuell unterschiedlich. Neben den klinischen Symptomen, also den sichtbaren Merkmalen einer bestimmten Erkrankung oder eines Syndroms, wird die Wahrnehmung auch von psychosozialen Einflüssen mitbestimmt. Das soziale Umfeld, miterlebte Erkrankungen bei nahen Verwandten oder Familienangehörigen oder die Entstehung der Schwangerschaft per se, möglicherweise nach lang ersehntem Kinderwunsch, haben entscheidende Bedeutung (69).

Den Wunsch nach einem gesunden Kind hegen naturgemäß alle werdenden Eltern. Es ist jedoch nicht immer möglich eine genaue Grenzziehung zwischen Gesundheit und Krankheit oder gar zwischen Normalität und Pathologie zu ziehen.

Das Gesundheits- und Krankheitsverständnis wird neben dem individuellen Verhalten von kulturell-religiösen, gesellschaftlichen Normen und medizinischen Normen geprägt und beeinflusst.

### **8.1.2 Entscheidungskonflikte**

Der nicht-invasive pränatale Test gehört nun seit Juli 2022 in Deutschland zu den gesetzlichen Kassenleistungen für schwangere Frauen, allerdings nicht zu den allgemein empfohlenen Vorsorgeuntersuchungen.

Schwangere Frauen können diesen Test bei Hinweisen auf eine Trisomie, wie beispielweise einem entsprechend auffälligen Ultraschall kostenfrei in Anspruch nehmen. Wenn eine Schwangere gemeinsam mit ihrem/r Arzt/Ärztin zur Überzeugung gekommen ist, dass der Test in ihrer persönlichen Situation notwendig ist, kann NIPT ebenso in Anspruch genommen werden.

Das erhöhte mütterliche Alter als Risikofaktor für eine Trisomie stellt keinen Grund für einen NIPT dar. Auch eine Risikoschwelle, mit welcher eine weiterführende diagnostische Klärung geboten wäre, ist nicht festgelegt (72).

Das bedeutet, die Indikation ergibt sich aus der von der Schwangeren angegebenen z.T. belastenden Situation. Auch eine erst mit der Schwangerschaft verbundene geänderte Lebenslage und die im Rahmen der Schwangerenbetreuung intensivierte Aufmerksamkeit bezüglich möglicher Risiken reichen aus, diesen Test in Anspruch zu nehmen. Grundvoraussetzung ist lediglich eine entsprechende vorausgegangene genetische Beratung.

Prinzipiell sind drei Gründe für die Testung und für den Wunsch, Wissen über das Vorliegen von Trisomien zu erlangen, von Bedeutung:

1. Wenn eine Schwangere ihr Kind auch dann bekommen möchte, wenn es eine Trisomie hat und sich durch das Wissen vorab darauf vorbereiten möchte.
2. Wenn eine Schwangere die Ungewissheit über das Vorliegen einer Trisomie aus Angst nicht erträgt, ohne dabei aber einen Abbruch der Schwangerschaft in Erwägung zu ziehen.
3. Wenn eine Schwangere bei Vorliegen einer Trisomie einen Abbruch der Schwangerschaft in Erwägung ziehen würde, da die Vorstellung über die Geburt eines Kindes mit Trisomie für die Frau, die Familie und/oder für das Kind selbst zu einer schwerwiegenden Belastung führen könnte (65).

Angesichts der Verfügbarkeit, der Zugangskriterien und der Kostenübernahme für diese Tests, drängt sich die Kritik auf, dass eine selbstbestimmte Entscheidung über die Nutzung des NIPT mit Problemen verbunden sein könnte. Zudem besteht für die Versicherte ein Rechtsanspruch auf die Durchführung des Tests (59). Im Sinne von „es steht mir zu“ oder „was kann daran so schlimm sein, wenn die Kasse dafür bezahlt?“ spiegelt sich die Haltung in der Gesellschaft wider.

Möglicherweise werden Schwangere aber genau dadurch dem gesellschaftlichen Druck ausgesetzt sich diesen Methoden der PND zu unterziehen und dann in Abhängigkeit vom Ergebnis für oder gegen einen Schwangerschaftsabbruch zu entscheiden.

### **8.1.3 Risiken und Konsequenzen**

Die immer höher werdende Erwartungshaltung im Rahmen der Pränataldiagnostik, nämlich alle fetalen oder kindlichen Fehlbildungen oder Chromosomenstörungen frühzeitig erkennen zu können, kann zur Annahme führen, dass die Geburt von Kindern mit angeborenen Beeinträchtigungen oder Behinderungen „verhindert“ werden kann.

Dies wiederum würde mit einer klassischen eugenischen Selektion gleichbedeutend sein und im krassen Gegensatz zur Menschenwürde und Selbstbestimmung stehen.

Bei Betrachtung der gesellschaftlichen Rahmenbedingungen stellt sich in Frage, inwieweit es eine wahre Freiwilligkeit für die Inanspruchnahme derartiger Untersuchungen geben kann (63).

Es ist daher von Bedeutung, dass Ratsuchende darüber Bescheid wissen, was der NIPT aktuell abdeckt und wofür er hinreichend zulässig ist. Es ist auch klar zu kommunizieren, wofür er nicht zulässig ist. Ratsuchende dürfen sich durch die Durchführung eines nicht-invasiven Tests auf die Trisomien 13, 18, 21 nicht in falscher Sicherheit wiegen. Schließlich sind circa 90% aller fetalen oder kindlichen Fehlbildungen gar nicht chromosomalen Ursprungs (73).

Nach einem positiven (= auffälligen) NIPT-Befund muss zwingend darüber informiert werden, dass zur Befundbestätigung vor der Entscheidung über einen Schwangerschaftsabbruch ein diagnostischer Test (CVS oder AC) erforderlich ist. Ob die Schwangere aber diesen Bestätigungstest durchführen lässt, bleibt ihr selbst überlassen und wird nicht vorgeschrieben (65).

Es besteht die Gefahr vorschneller Handlungen, aus welchen wiederum unüberlegte Entscheidungen oder Kurzschlussreaktionen für einen Schwangerschaftsabbruch resultieren.

Die Beratung beinhaltet aber bei einem begründeten Verdacht auf eine schwerwiegende pathologische Erkrankung oder Fehlbildung des Ungeborenen auch die Auseinandersetzung mit den Thematiken „Beendigung der Schwangerschaft“ oder „Leben mit einem Kind mit Beeinträchtigung“. In diesem Entscheidungsprozess gilt es, neben der fundierten medizinischen Beratung durch den/die Arzt/Ärztin, Handlungsspielräume und Zeit zu schaffen.

Für die Schwangere/das Paar, die/das sich nach Mitteilung eines pathologischen Befundes verständlicherweise in einem psychischen Ausnahmezustand befindet, wird die notwendige ergänzende psychosoziale Begleitung organisiert. Nach ausreichender Bedenkzeit und Entscheidungsfindung wird dann mit der Schwangeren/dem Paar das weitere Procedere des Schwangerschaftsverlaufes individuell festgelegt, betreut und begleitet.

Neben den häufigsten Trisomien 13, 18, 21 können auch Geschlechtschromosomen-Fehlverteilungen wie beim Klinefelter Syndrom (XXY), dem Turner Syndrom (X0) und dem Jacobs Syndrom (XYY) getestet werden. Auch Mikrodeletionen wie beispielweise das Di-George-Syndrom sind möglich.

Bei der Suche nach seltenen genetischen Erkrankungen, wie zum Beispiel dem Di-George-Syndrom sind mehr als 80 % der „auffälligen“ Ergebnisse falsch. Da bedeutet, je seltener die genetische Erkrankung, desto weniger aussagekräftig sind die Testergebnisse.

Mit den neuen Hochdurchsatz-Technologien wird in Zukunft die cff DNA auf einer relativ niedrigen Auflösungsstufe sequenziert werden können. Prinzipiell besteht dann die Möglichkeit, das gesamte Genom des Feten pränatal zu sequenzieren und analysieren.

Viele andere Erkrankungen, wie die Cystische Fibrose (Mukoviszidose) bis hin zu neurodegenerativen Erkrankungen wie zum Beispiel Chorea Huntington, könnten dann festgestellt werden.

Die Sinnhaftigkeit von Tests auf Erkrankungen mit Spätmanifestation, also erst einer klinischen Manifestation im höheren Lebensalter zum Beispiel, ist in Frage zu stellen und heizt die ethischen Debatten in Hinblick auf das brisante Thema „Eugenik“ weiter an.

Gesellschaftlich werden daher auch die zunehmenden Testmöglichkeiten bereits kritisch als „pränatale Straßensperre“ gesehen und eine zunehmende Diskriminierung von Menschen mit Beeinträchtigungen befürchtet (63).

## 9 Schlussbemerkungen

Die Diskussionen über die vorgeburtliche Diagnostik durch immer fortwährend neue Hightech-Untersuchungsmethoden werden in nächster Zeit nicht zur Ruhe kommen.

Durch das Internet sind heutzutage medizinische Informationen global für jedermann leicht und allgemein zugänglich. Dies führt zu einer immer höher werdenden Erwartungshaltung an die moderne Medizin von heute. Einerseits sind viele Erkrankungen des Ungeborenen pränatal diagnostizierbar, andererseits kann aber die Prognose bei einem Großteil der Erkrankungen vorgeburtlich nur schlecht eingeschätzt werden. Zudem sind nicht alle Erkrankungen prä- und postnatal diagnostizierbar.

Die Testanbieter von NIPTs, mit ihren zum Teil mehr als fraglichen Werbeversprechungen, führen untereinander einen erbarmungslosen Preiskampf. Dies wird dazu führen, dass in Zukunft die Preise dieser Tests weiter deutlich sinken werden.

Mit den sinkenden Preisen hat bereits die Zahl der Frauen zugenommen, die diesen Test ohne humangenetische Beratung über die Aussagekraft und Limitationen und ohne differenzierten vorherigen Ultraschall durchführen haben lassen.

Zudem sind schwangere Frauen per se besonders empfänglich für Angebote, die ihnen die Sicherheit und Gewissheit auf ein gesundes Kind versprechen. Sie befinden sich in einem emotionalen Ausnahmezustand und sind besonders vulnerabel. Auf ihnen lastet ein enormer Druck, alles richtig und zum Wohle des Kindes machen zu müssen.

Unter dem Motto „Hauptsache gesund“ ist bei der Inanspruchnahme solcher Tests besondere Vorsicht geboten. NIPTs sollten keinesfalls als Alternative zu den Ultraschalluntersuchungen verstanden werden. Im Rahmen der genetischen Beratung ist gerade für den NIPT der prävalenzabhängige Vorhersagewert ein wichtiger Parameter. Dieser soll der Ratsuchenden aufzeigen, wie zuverlässig ein negatives oder positives Testergebnis ist (74).

Die Komplexität genetischer Test lässt nämlich auch die Schere zwischen Diagnose und Therapie immer deutlicher hervortreten. Kritiker befürchten, dass die „Therapie“ einzig auf

den Abbruch der Schwangerschaft hinausläuft. Dies würde wiederum dem Vorwurf einer „vorgeburtlichen Eugenik“ Vorschub leisten.

Nachdem die Pränataldiagnostik rezent zum Standardangebot der medizinischen Genetik gehört und medizinisch-genetische Analysen weltweit zunehmen, stellt sich aus ethischer Sicht die Frage, ob ein Mensch noch „ungetestet“ ins Leben starten darf?

„Was können wir testen, was wollen wir testen und wozu wollen wir testen?“ werden zentrale Fragen bleiben, damit die Macht der Technologie nicht zu einer exorbitanten genetischen „Testfabrik“ mit selektiven Konsequenzen führt.

## 10 Literaturverzeichnis

1. Dugoff L. Noninvasive Screening for Aneuploidy Using Cell-Free Placental DNA. In: Milunsky A, Milunsky JM, Hrsg. Genetic disorders and the fetus: Diagnosis, prevention, and treatment. Hoboken: Wiley Blackwell; 2021. S. 301–17.
2. Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CWG et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *The Lancet* 1997; 350(9076):485–7.
3. Stumm M, Wegner R-D, Hofmann W. Zellfreie fetale DNA im mütterlichen Blut: neue Möglichkeiten in der pränatalen Diagnostik/Cell free fetal DNA in maternal blood: new possibilities in prenatal diagnosis. *LaboratoriumsMedizin* 2012; 36(5):253–61.
4. Schmid M, Pertl B, Speicher M. Aktuelles aus den Arbeitskreisen: Der Nicht-Invasive pränatale Trisomie Test (NIPT) - Analyse der zellfreien DNA (cfDNA) im mütterlichen Bluf zum Screening für fetale Aneuploidien. *Ultraschall in Med* 2015; 36(01):86–7.
5. Perrot A, Horn R. The ethical landscape (s) of non-invasive prenatal testing in England, France and Germany: findings from a comparative literature review. *European Journal of Human Genetics* 2022; 30(6):676–81.
6. Rafi I, Hill M, Hayward J, Chitty LS. Non-invasive prenatal testing: use of cell-free fetal DNA in Down syndrome screening. *Br J Gen Pract* 2017; 67(660):298–9. doi: 10.3399/bjgp17X691625.
7. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50(3):302–14. doi: 10.1002/uog.17484.
8. MANDEL P, METAIS P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Seances Soc Biol Fil* 1948; 142(3-4):241–3.
9. Kamm RC, Smith AG. Nucleic acid concentrations in normal human plasma. *Clin Chem* 1972; 18(6):519–22.
10. Stroun M, Anker P, Lyautey J, Lederrey C, Maurice PA. Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 23(6):707–12. doi: 10.1016/0277-5379(87)90266-5.

11. Lo YM, Tein MS, Lau TK, Haines CJ, Leung TN, Poon PM et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1998; 62(4):768–75. doi: 10.1086/301800.
12. Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y, Lau VYM, Zheng W, Leung TY et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(51):20458–63. doi: 10.1073/pnas.0810641105.
13. Sadler TW. Taschenlehrbuch Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen. 12. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2014.
14. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41(1):26–32. doi: 10.1002/uog.12331.
15. Gillieron M. Die Messung der fetalen Fraktion als entscheidendes Qualitätskriterium; 2019. Verfügbar unter: <https://www.roche.at/de/medien/blog/fetale-fraktion.html>.
16. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013; 33(7):662–6. doi: 10.1002/pd.4119.
17. Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, Hanson FW, Klinger KW, Shuber AP. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet* 1997; 61(4):822–9. doi: 10.1086/514885.
18. Arzt W. Pränataldiagnostik- Was ist das?; 2022. Verfügbar unter: <https://schwanger.li/>.
19. Teufel A. Basics Humangenetik. 2. Auflage. München: Elsevier Urban & Fischer; 2014. (Basics).
20. Wassermann K, Rohde A. Pränataldiagnostik und psychosoziale Beratung: Aus der Praxis für die Praxis. Stuttgart: Schattauer; 2009.
21. Geipel A, Hoopmann M, Kagan KO, Hrsg. Kursbuch Ultraschall in der Gynäkologie und Geburtshilfe: Nach den Richtlinien der DEGUM und der KBV. Stuttgart: Thieme; 2022.

22. Murken J, Hrsg. Humangenetik: 56 Tab. 5., neu bearb. Aufl. Stuttgart: Enke; 1994. (Enke-Reihe zur AO, (Ä)).
23. Murken J, Hrsg. Taschenlehrbuch Humangenetik. 9., teilaktualisierte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2017.
24. Unique. Robertson'sche Translokation; 2008. Verfügbar unter: [www.rarechromo.org](http://www.rarechromo.org).
25. Suk EK. Monogene Erkrankungen. Verfügbar unter: <https://www.humangenetik-berlin.de/diagnostik/monogene-erkrankungen/>.
26. Abicht A, Neuhann T, Mehnert L, Rost I, Reis A, Zweier C et al. Diagnostik seltener Erkrankungen mit „next generation sequencing“ – angekommen oder abgewehrt? Medizinische Genetik 2019; 31(3):335–43. doi: 10.1007/s11825-019-00258-3.
27. Weise A, Mrasek K, Liehr T. Zytogenetische und molekularzytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik. Medizinische Genetik 2014; 26(4):391–7. doi: 10.1007/s11825-014-0022-2.
28. Sohn C. Amniozentese. In: Sohn C, Holzgreve W, Hrsg. Ultraschall in Gynäkologie und Geburtshilfe. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2012. S. 484.
29. Medizinisch genetisches Zentrum München. Chromosomenanalyse und Karyotypisierung; 2022. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/zytogenetik-chromosomenanalyse.html>.
30. Mitteldeutscher Praxisverbund Humangenetik. Pränataler Schnelltest; 2022. Verfügbar unter: <https://www.praxisverbund-humangenetik.de/diagnostik/zytogenetik/molekulare-zytogenetik/prae-nataler-schnelltest/>.
31. Zentrum für Humangenetik Mannheim. Pränataler Schnelltest; 2022. Verfügbar unter: <https://www.zhma.de/genetische-diagnostik/prae-nataler-schnelltest/>.
32. Eder M. Molekularbiologischer Schnelltest (QF-PCR) zur pränatalen Diagnose der Trisomien 21, 18 und 13. Geburtshilfe Neonatol 2004; 207(S 2).
33. MVZ Martinsried. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA); 2022. Verfügbar unter: <https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/allgemeine-informationen/methoden/mlpa>.

34. Moog U, Rieß O. Medizinische Genetik für die Praxis: Diagnostik, Beratung, Fallbeispiele. 1. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2014.
35. Dipl.-Biol. Uwe Heinrich. Chromosomale Mikroarray-Analyse (CMA, Array-CGH); 2022. Verfügbar unter: <https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/humangenetik/zytogenetik/chromosomale-mikroarray-analyse-cma>.
36. MVZ Martinsried. Molekulare Karyotypisierung; 2022. Verfügbar unter: <https://www.medizinische-genetik.de/diagnostik/allgemeine-informationen/methoden/array-cgh>.
37. MGZ. Pränatale NGS-Analysen; 2022. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/pranatale-ngs-analysen.html>.
38. Zentrum für Humangenetik Tübingen. Was ist Panel-Diagnostik?; 2022. Verfügbar unter: <https://www.humangenetik-tuebingen.de/seltene-erkrankungen/panel-diagnostik/>.
39. CeGaT. Exom-Diagnostik-Übersicht; 2022. Verfügbar unter: <https://www.cegat.de/diagnostik/exom-diagnostik/>.
40. Genosalut. Exom-Analyse; 2022. Verfügbar unter: <https://www.genosalut.com/de/genetische-tests-und-beratung/exom/>.
41. Genetikum. Einzel-Gen-Diagnostik; 2022. Verfügbar unter: [https://www.genetikum.de/de/aerzte/Genetische-Diagnostik/genetische\\_diagnostik.php](https://www.genetikum.de/de/aerzte/Genetische-Diagnostik/genetische_diagnostik.php).
42. Cenata Gmbh. Harmony Test Die Technologie; 2018. Verfügbar unter: <https://www.cenata.de/der-harmony-test/>.
43. Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Guo Y et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45(5):530–8. doi: 10.1002/uog.14792.
44. Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42(1):15–33. doi: 10.1002/uog.12513.

45. Medizinisch genetisches Zentrum München. Das Testergebnis. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/das-testergebnis.html>.
46. Medizinisch genetisches Zentrum München. Das NIPT-Verfahren. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/nipt-verfahren.html>.
47. Zentrum für Humangenetik Tübingen. Harmony Prenatal Test- Aufklärungsbroschüre; 2017. Verfügbar unter: <https://www.cenata.de/neu-aufklaerungsbroschuere-zum-harmony-test/>.
48. Medizinisch genetisches Zentrum München. Beratung und Veranlassung. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/beratung-und-veranlassung.html>.
49. Kozlowski P, Burkhardt T, Gembruch U, Gonser M, Kähler C, Kagan K-O et al. Empfehlungen der DEGUM, der ÖGUM, der SGUM und der FMF Deutschland zum Einsatz von Ersttrimester-Screening, früher Fehlbildungsdiagnostik, Screening an zellfreier DNA (NIPT) und diagnostischen Punktionen. *Ultraschall in Med* 2019; 40(2):176–93. doi: 10.1055/a-0631-8898.
50. Labor Krone. Fetoplazentare Diskrepanzen; 2022. Verfügbar unter: <https://gyn.laborkrone.de/der-praenatest-schafft-wissen/fuer-aerzte/methode-technik/fetoplazentare-diskrepanzen/>.
51. Manegold-Brauer G, Holzgreve W, Geipel A. Nichtinvasive Pränataldiagnostik-für jede Schwangere die Methode der Wahl?; 2016. Verfügbar unter: [https://cme.mgo-fachverlage.de/uploads/exam/exam\\_110.pdf](https://cme.mgo-fachverlage.de/uploads/exam/exam_110.pdf).
52. Lüthens K. Fetale Chromosomenstörungen Möglichkeiten und Limitationen der NIPT; 2019. Verfügbar unter: <https://de.readkong.com/page/moeglichkeiten-und-limitationen-der-nipt-6487627>.
53. Medizinisch genetisches Zentrum München. Ergebnisse & Limitationen. Verfügbar unter: <https://www.mgz-muenchen.de/ergebnisse-limitationen.html>.
54. Cenata. Informationen zum Rhesus-NIPT; 2022. Verfügbar unter: <https://www.cenata.de/informationen-zum-rhesus-nipt/>.
55. Bischoff FZ, Ngyen DD, Marquéz-Do D, Moise KJ Jr, Simpson JL, Elias S. Noninvasive determination of fetal RhD status using fetal DNA in maternal serum and PCR. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 1999; 6(2):64–9.

56. Hahn S, Lapaire O, Tercanli S, Kolla V, Hösli I. Determination of fetal chromosome aberrations from fetal DNA in maternal blood: has the challenge finally been met? *Expert Rev Mol Med* 2011; 13:e16. doi: 10.1017/S1462399411001852.
57. Stumm M, Entezami M, Trunk N, Beck M, Löcherbach J, Wegner R-D et al. Noninvasive prenatal detection of chromosomal aneuploidies using different next generation sequencing strategies and algorithms. *Prenat Diagn* 2012; 32(6):569–77. doi: 10.1002/pd.3862.
58. Ratzel r, Frenzel J. Aufklärungs- und Beratungspflichten in der Schwangerenbetreuung bis zur Geburt. *Frauenarzt* 2021; 62(7):450–4.
59. Bundesverband der Frauenärzte. Einführung von NIPT bei Trisomie 13, 18, 21 als GKV-Leistung - FAQ für die Praxis. *Frauenarzt* 2022; 63(7):434–6.
60. Arbeitskreis genetische Beratung. Genetische Beratung - ein Leitfaden; 2022. Verfügbar unter:  
[https://www.verbrauchergesundheit.gv.at/gentechnik/humanm/cms1200654209249\\_leitfaden\\_genetische\\_betreuung.pdf?8hkxa7](https://www.verbrauchergesundheit.gv.at/gentechnik/humanm/cms1200654209249_leitfaden_genetische_betreuung.pdf?8hkxa7).
61. Rechtsinformationssystem des Bundes RIS. Gentechnikgesetz § 69; 2022. Verfügbar unter:  
<https://www.ris.bka.gv.at/NormDokument.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=10010826&Artikel=&Paragraf=69&Anlage=&Uebergangsrecht=>.
62. Jusline. § 71 a GTG Dokumentation der Untersuchungsergebnisse; 2022. Verfügbar unter: <https://www.jusline.at/gesetz/gtg/paragraf/71a>.
63. Stoll M. IMABE-Info Pränatale Diagnostik; 2020. Verfügbar unter:  
[https://www.imabe.org/fileadmin/imabe-infos/pdf/Info\\_Praenatale\\_Diagnostik.pdf](https://www.imabe.org/fileadmin/imabe-infos/pdf/Info_Praenatale_Diagnostik.pdf).
64. G-BA. Tragende Gründe- NIPT Änderung der Mutterschaftsrichtlinien; 2022. Verfügbar unter: [https://www.g-ba.de/downloads/40-268-6007/2019-09-19\\_Mu-RL\\_NIPT\\_TrG.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/40-268-6007/2019-09-19_Mu-RL_NIPT_TrG.pdf).
65. Rehmann-Sutter C, Schües C. Die NIPT-Entscheidung des G-BA. Eine ethische Analyse. *Ethik Med* 2020; 32(4):385–403.
66. Österreichische Sozialversicherung. Pränatale Testung - Guidelines und Testgenauigkeit; 2020. Verfügbar unter:

- <https://www.sozialversicherung.at/cdscontent/?contentid=10007.844316&portal=svportal>.
67. Mordor Intelligence. Markt für nicht-invasive pränatale Tests; 2022. Verfügbar unter: <https://www.mordorintelligence.com/de/industry-reports/non-invasive-prenatal-testing-market>.
  68. Wikipedia. Ethik; 2022. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/wiki/Ethik>.
  69. Müller H. Genetische Beratung, Pränatal- und Präimplantationsdiagnostik: Ethische und juristische Fragen. Pädiatrie 2010; (6):17–20. Verfügbar unter: [https://www.rosenfluh.ch/media/paediatrie/2010/06/Genet.Beratung\\_Praenatal\\_und\\_Praeimplantationsdiagnostik.pdf](https://www.rosenfluh.ch/media/paediatrie/2010/06/Genet.Beratung_Praenatal_und_Praeimplantationsdiagnostik.pdf).
  70. Ratzel R, Frenzel J. Aufklärungs- und Beratungspflichten in der Schwangerenbetreuung bis zur Geburt. Frauenarzt 2021; 62(7):450–4.
  71. Institut Mensch, Ethik und Wissenschaft. Menschenwürde - eine unverzichtbare Idee; 2002. Verfügbar unter: <https://www.imew.de/de/imew-publikationen/imew-konkret/menschenwuerde>.
  72. Gemeinsamer Bundesausschuss. Bluttest auf Trisomien Der nicht invasive Pränataltest (NIPT) auf Trisomie 13, 18 und 21: Eine Versicherteninformation; 2021. Verfügbar unter: [https://www.g-ba.de/downloads/17-98-5156/2021-11-09\\_G-BA\\_Versicherteninformation\\_NIPT\\_bf.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/17-98-5156/2021-11-09_G-BA_Versicherteninformation_NIPT_bf.pdf).
  73. DEGUM. Stellungnahme der DEGUM zum nicht- invasiven Pränataltest NIPT: Pränataldiagnostik: Bluttest kann Ultraschall nicht ersetzen; 2021. Verfügbar unter: <https://www.degum.de/presse/pressemitteilungen/im-detail/news/stellungnahme-der-degum-zum-nicht-invasiven-praenataltest-nipt.html>.
  74. Institut für Ehe und Familie. DE/ Pränataldiagnostik: Umstrittene Screening-Tests künftig Kassenleistung; 2022. Verfügbar unter: <https://www.ief.at/de-praenataldiagnostik-umstrittene-screening-tests-kuenftig-kassenleistung/>.