

MASTERARBEIT

## MOSAIKBILDUNG IN DER PRÄNATALMEDIZIN

Auswahl der Analysemethoden und Probengewinnung im  
Zeitalter des Next Generation Sequencing

eingereicht von

**Dr. med. univ. Katharina Eisnecker**

zur Erlangung des akademischen Grades  
**Master of Science (Continuing Education)**  
**MSc (CE)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt im  
**Universitätslehrgang Medizinische Genetik**

unter der Anleitung von

**Priv. Doz. Dr. med. univ. Herbert Juch**

Wien, 05.01.2026

## Eidesstattliche Erklärung

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

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Wien, 05. Januar 2026

Dr. Katharina Eisnecker

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG</b>	<b>2</b>
<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>3</b>
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>5</b>
<b>EINLEITUNG</b>	<b>8</b>
<b>RELEVANTE GRUNDLAGEN DER EMBRYOLOGIE</b>	<b>9</b>
<b>GRUNDLAGEN DER MOSAIKBILDUNG</b>	<b>11</b>
ZYTOGENETISCHE METHODEN	15
ERSTTRIMESTERSCREENING	27
NIPT – cFDNA	28
CHORIONZOTTENBIOPSIE	30
AMNIOZENTESE	31
POLKÖRPERDIAGNOSTIK/TROPHEKTODERMBIOPSIE	33
<b>METHODEN</b>	<b>35</b>
<b>ERGEBNISSE</b>	<b>36</b>
<b>KLINISCHE RELEVANZ DES PLAZENTAMOSAIKS</b>	<b>36</b>
<b>GEGENBEISPIEL: TFM (TRUE FETAL MOSAICISM)</b>	<b>40</b>
<b>PLAZENTAMOSAIK IN DER ÄRA DER CMA</b>	<b>42</b>
<b>PLAZENTAMOSAIK IN DER ÄRA DES NIPT</b>	<b>45</b>
URSACHEN FALSCH-POSITIVER NIPT-ERGEBNISSE	45
<b>PLAZENTAMOSAIK IN DER ÄRA DES NEXT GENERATION SEQUENCING</b>	<b>51</b>
<b>AUSWAHL DER PROBENGEWINNUNG – CHORIONZOTTENBIOPSIE ODER AMNIOZENTESE?</b>	<b>53</b>
<b>DISKUSSION</b>	<b>56</b>
<b>AUSBLICK IN DIE ZUKUNFT:</b>	<b>56</b>
<b>NGS ALS ALLEINIGE UNTERSUCHUNGSMETHODE – ONE SIZE FITS ALL?</b>	<b>56</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>61</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>62</b>

## Danksagung

Ganz besonders danken möchte ich Ingrid Stümpflen. Sie hat mich einerseits zwar aus Graz zurück nach Wien geholt, mich aber dann postwendend wieder dorthin zurückgeschickt – um den Universitätslehrgang Medizinische Genetik zu besuchen. Sie hat meinen weiteren Weg entscheidend geprägt – durch ihre Unterstützung, ihre fachliche Expertise in der Pränatalmedizin und ihr Vertrauen in mein Potenzial hat sie wesentlich dazu beigetragen, dass ich mich für dieses Studium entschieden habe.

Ebenso möchte ich Peter Krenn danken, dem besten „Pränatal-Chef“, den man sich wünschen kann. Seine kontinuierliche Unterstützung, seine Wertschätzung und seine Motivation haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Mein tiefster Dank gilt meinem Partner Mathias, der mich in den letzten, oft herausfordernden Phasen dieser Arbeit begleitet und getragen hat. Seine Geduld und sein Humor waren mir in dieser Zeit unverzichtbar.

Zu guter Letzt möchte ich den größten Dank zwei besonders wichtigen Frauen in meinem Leben aussprechen, Fiona und Rita. Danke, dass ihr immer an mich glaubt!

## Zusammenfassung

Diese Arbeit befasst sich mit der Frage, wie genetische Mosaikzustände im pränatalen Setting zuverlässig erkannt und richtig interpretiert werden können.

Ausgehend von einer systematischen Auswertung der aktuellen Literatur beschreibt die Arbeit zunächst die biologischen Grundlagen der Mosaikbildung, die zum Entstehen eines Plazentamosaiks führen können. Besondere Aufmerksamkeit gilt dem Plazentamosaik als Schlüsselphänomen für falsch-positive Befunde in der nicht-invasiven Pränataldiagnostik sowie der klinischen Bedeutung eines Mosaikbefundes der Plazenta.

Im analytischen Hauptteil werden die etablierten und neueren Diagnostikverfahren systematisch gegenübergestellt: klassische Zytogenetik, Microarray, NIPT auf Basis zellfreier DNA und NGS (Next-Generation-Sequencing) - basierte Verfahren wie Whole-Exome- und Whole-Genome-Sequenzierung. Die Arbeit streicht hervor, dass NIPT funktionell ein Plazenta-Screening ist und damit prädestiniert für die Detektion des CPM. Gleichzeitig wird deutlich, dass NGS an Chorionzotten oder Plazentabiopsien immer in einem Mosaik-Kontext stattfindet, in dem plazentaspezifische somatische Varianten von fetalen Keimbahnvarianten abgegrenzt werden müssen.

Ein zentrales Kapitel widmet sich der Probengewinnung. Die Chorionzottenbiopsie ermöglicht eine frühe Diagnostik, untersucht aber primär Plazentagewebe und ist daher anfällig für CPM-bedingte Fehlinterpretationen. Die Amniozentese repräsentiert dagegen den fetalen Karyotyp deutlich direkter, ist aber zeitlich erst später verfügbar. Die Arbeit leitet daraus differenzierte Empfehlungen ab: Bei auffälligem NIPT mit hohem CPM-Risiko und unauffälligem Ultraschall wird die Amniozentese als bevorzugte Bestätigungsmethode diskutiert, während bei schweren Fehlbildungen im ersten Trimenon eine frühe CVS sinnvoll sein kann, allerdings mit der Maßgabe, dass Mosaikbefunde zwingend durch eine Amniozentese weiter abgeklärt werden müssen.

Abschließend wird die zunehmend breite und eventuell in Zukunft alleinige Anwendung von NGS kritisch beleuchtet, da ein unauffälliger NGS-Befund keineswegs mit genetischer Gesundheit gleichzusetzen ist und weder klassische Zytogenetik noch Microarray vollständig ersetzen kann. Statt eines „one size fits all“-Ansatzes plädiert sie für ein abgestuftes, indikationsgeleitetes Konzept, das

Probenart, klinische Fragestellung, Plazentabiologie und ökonomische Aspekte integriert. Ziel ist eine Diagnostik, die die hohe Auflösung moderner Sequenzierverfahren nutzt, ohne deren diagnostische Kapazität zu überschätzen.

## Abstract

This thesis addresses the question of how confined placental mosaicism can be reliably detected and correctly interpreted in the prenatal setting.

Starting from a systematic review of the current literature, it first describes the biological foundations of mosaic formation that can lead to placental mosaicism. Particular attention is given to confined placental mosaicism as a key phenomenon underlying false-positive findings in non-invasive prenatal testing, as well as to the clinical significance of a mosaic finding confined to the placenta.

In the main analytical section, established and emerging diagnostic methods are systematically compared: classical cytogenetics, chromosomal microarray techniques, NIPT based on cell-free DNA, and NGS-based approaches such as whole-exome and whole-genome sequencing. The thesis emphasizes that NIPT is functionally a placental screening test and is therefore predestined to detect CPM. At the same time, it becomes clear that NGS performed on chorionic villi or placental biopsies always operates within a mosaic context, in which placenta-specific somatic variants must be distinguished from fetal germline variants.

A central chapter is devoted to the choice of sampling method. Chorionic villus sampling enables early diagnostics but primarily examines placental tissue and is therefore susceptible to CPM-related misinterpretation. Amniocentesis, by contrast, more directly reflects the fetal karyotype but is only available at a later gestational age. On this basis, the thesis derives nuanced recommendations: in cases of abnormal NIPT with a high risk of CPM and an unremarkable ultrasound, amniocentesis is discussed as the preferred confirmatory method, whereas in the presence of severe malformations in the first trimester, early CVS may be appropriate, with the caveat that any mosaic finding must obligatorily be further clarified by amniocentesis.

Finally, the increasingly widespread and potentially future exclusive use of NGS is critically examined, as a normal NGS result is by no means equivalent to genetic health and cannot fully replace either classical cytogenetics or chromosomal

microarray. Instead of a “one size fits all” approach, the thesis argues for a tiered, indication-driven strategy that integrates sample type, clinical question, placental biology and economic considerations. The goal is a diagnostic framework that harnesses the high resolution of modern sequencing technologies without underestimating the its pitfalls (OpenAI, 2025).

## Einleitung

Seit jeher stellen Mosaikbildungen in der Pränatalmedizin eine diagnostische und beratungsrelevante Herausforderung dar.

Unter Mosaikbildung versteht man das gleichzeitige Vorliegen von zumindest zwei genetisch unterschiedlichen Zelllinien, die aus derselben Zygote hervorgehen (Sadler et al., 2020). Bei Mosaiken können genetische Aberrationen auf bestimmte Gewebe begrenzt sein, etwa ausschließlich die Plazenta betreffen. Gerade dieses Phänomen des Plazentamosaiks macht die Interpretation pränataler Befunde komplex und hat teilweise schwerwiegende Konsequenzen für den weiteren Verlauf der Schwangerschaft (Eggenhuizen et al., 2021).

Mit der breiten Anwendung pränataler Screening- und Diagnostikverfahren hat die Detektionsrate von Plazentamosaiken in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Vor allem die Etablierung des NIPT (nicht-invasiver Pränataltest) auf Basis von in mütterlichem Blut zirkulierender zellfreier DNA (cfDNA) ermöglicht heutzutage eine sehr sensitive Erfassung chromosomaler Auffälligkeiten, insbesondere auch die niedriggradiger Mosaikbefunde (Jiang et al., 2025).

Das Vorliegen eines Plazentamosaiks (CPM, confined placental mosaicism) kann zum einen zu falsch-positiven NIPT- oder CVS-Befunden führen und dadurch unnötige invasive Folgeeingriffe, Verunsicherung der werdenden Eltern oder sogar voreilige Schwangerschaftsabbrüche nach sich ziehen. Zum anderen ist das Vorliegen eines Plazentamosaiks mit einem erhöhten Risiko für Wachstumsretardierungen und Plazentainsuffizienz verbunden, was eine intensivere Betreuung einer betroffenen Schwangerschaft erforderlich macht (Eggenhuizen et al., 2021).

Diese Arbeit soll einen Überblick zu dieser Thematik geben und es ermöglichen, je nach Indikationsstellung die korrekte Methode der Probengewinnung zu wählen. Ebenso soll sie es erleichtern das korrekte Analyseverfahren einzuleiten, um falsch-positive Befunde und unnötige invasive Eingriffe zu minimieren, sowie eine optimale Betreuung der Schwangerschaft zu ermöglichen.

## Relevante Grundlagen der Embryologie

In den Keimzellen findet die Meiose statt. Diese hat es zum Ziel, den diploiden Chromosomensatz auf einen haploiden Chromosomensatz zu reduzieren. Vor der Meiose I replizieren die Keimzellen ihre DNA, sodass jedes der 46 Chromosomen aus zwei Schwesterchromatiden besteht. Anschließend ordnen sich die homologen Chromosomen paarweise an. In dieser Phase kommt es zu Crossing-over-Ereignissen, also zum Austausch von Chromatidsegmenten zwischen den homologen Chromosomen. Diese Rekombination und die zufällige Verteilung der homologen Chromosomen auf die Tochterzellen sind die entscheidenden Quellen genetischer Vielfalt (Sadler et al., 2020).

In der späten Meiose I trennen sich die homologen Chromosomen, sodass zwei Tochterzellen mit je 23 Chromosomen bestehend aus 2 Chromatiden entstehen – die Reduktionsteilung von diploid zu haploid ist damit erfolgt. In der Meiose II, die ohne erneute DNA-Replikation abläuft, werden dann die Schwesterchromatiden an der Zentromerregion getrennt, ähnlich wie in der Mitose. Am Ende liegen vier haploide Zellen (Oozyten oder Spermatozyten) mit je 23 „einfachen“ Chromosomen vor, die sich genetisch voneinander unterscheiden (Sadler et al., 2020).

Im Rahmen der Befruchtung kommt es nach der Verschmelzung der Vorkerne zur Wiederherstellung des diploiden Chromosomensatzes und die Zygote beginnt mit den ersten mitotischen Furchungsteilungen. Etwa 30 Stunden nach der Befruchtung liegt das 2-Zellstadium vor, nach ca. 40 Stunden das 4-Zellstadium. Die einzelnen Zellen nennt man Blastomere, es kommt zur Kompaktierung und es entsteht eine kompakte Zellkugel, in der sich innere und äußere Zellschichten funktionell unterscheiden. Um den dritten und vierten Tag erreicht der Embryo das 12–16-Zellstadium, genannt Morula (vgl. Abbildung 1) (Sadler et al., 2020).

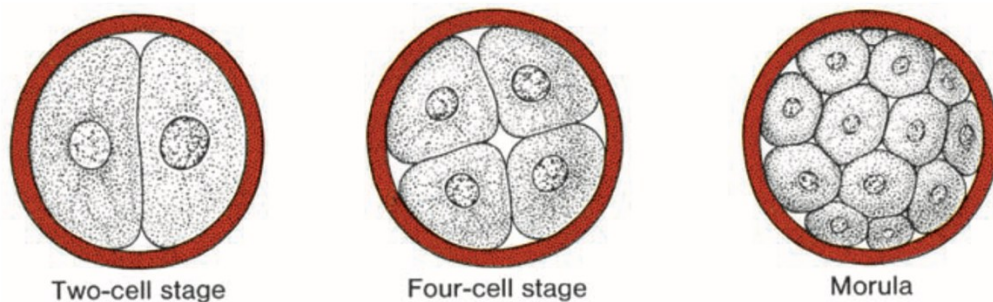


Abbildung 1 Entwicklung der Zygote vom 2-Zell-Stadium zur Morula  
Quelle: Sadler, 2020, S. 37

Etwa mit Bildung der 16-Zell-Morula differenzieren sich eine innere Zellmasse, die später alle Gewebe des Embryos bildet, und eine äußere Zellmasse, die die Trophoblastzellen und damit eine wesentliche Grundlage der Plazenta bilden wird. Das Gebilde wird nun Blastozyste genannt. Mit Beginn der Einnistung differenziert der Trophoblast in eine innere Schicht mononukleärer Zellen (Zytotrophoblast) und eine äußere, vielkernige Schicht ohne klare Zellgrenzen (Syncytiotrophoblast). Parallel dazu wird der Embryoblast bilaminar: Aus ihm entstehen Epiblast (hohe, zylindrische Zellen zur Amnionhöhle hin) und Hypoblast (kubische Zellen zur Blastozystenhöhle hin). Beide bilden gemeinsam die flache Keimscheibe. Im Epiblast entsteht die Amnionhöhle (vgl. Abbildung 2). Im weiteren Verlauf kommt es durch Gastrulation zur Bildung der drei Keimblätter und des trilaminaren Embryos (Sadler et al., 2020).

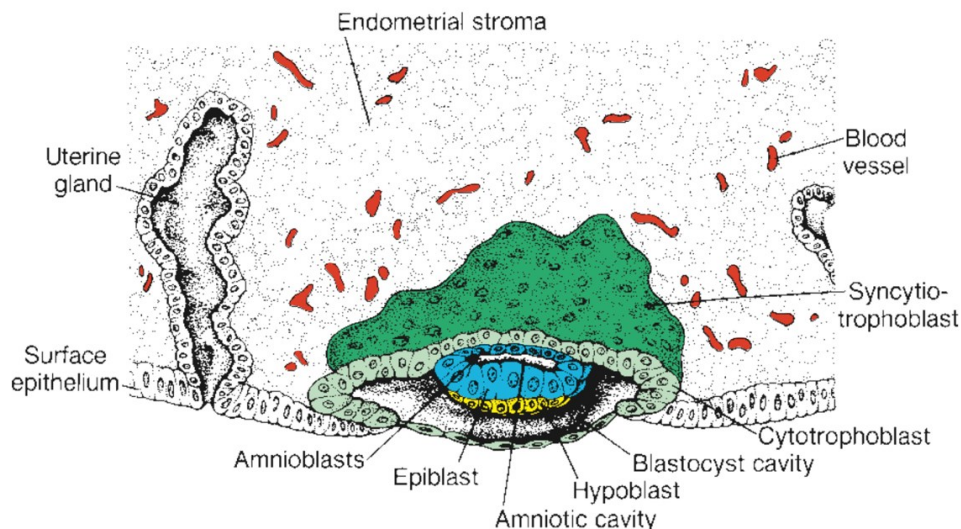


Abbildung 2 Die Blastozyste an Tag 7,5  
Quelle: Sadler, 2020, S. 43

Das Chorion entsteht aus Trophoblast (Zytotrophoblast und Syncytiotrophoblast) und dem angrenzenden extraembryonalen Mesoderm (Chorionplatte). Früh in der Entwicklung bilden sich primäre, sekundäre und tertiäre Zotten aus: Zytotrophoblast-Ausläufer wachsen in den Syncytiotrophoblast, werden mit extraembryonalem Mesoderm unterfüttert und entwickeln schließlich ein Kapillarbett, das mit den Gefäßen der Chorionplatte und des Haftstiels in Verbindung steht. So entsteht das extraembryonale Gefäßsystem. Zwischen embryonalem und abembryonalem Pol des Chorions entwickeln sich unterschiedliche Strukturen: Am embryonalen Pol bleiben die Zotten dicht und gut

ausgebildet, dieser Bereich bildet später das Chorion frondosum. Am abembryonalen Pol sind die Zotten nur spärlich und schlecht entwickelt und verschwinden mit der Zeit – hier entsteht das glatte Chorion laeve (Sadler et al., 2020).

### Grundlagen der Mosaikbildung

Mosaikbildung bezeichnet ein Phänomen, bei dem in einem Individuum mehrere genetisch unterschiedliche Zelllinien – mit unterschiedlichen Karyotypen - vorhanden sind, die aus ein und derselben Zygote entstanden sind (Sadler et al., 2020). In der frühen Embryonalentwicklung scheinen aneuploide Zellen und damit auch Mosaikbildung relativ häufig vorzukommen: Nach der Fertilisation durchläuft der Embryo mehrere Furchungsteilungen, gefolgt von Kompaktion und Bildung der Blastozyste mit Trophektoderm (TE) außen, der inneren Zellmasse (ICM) und dem Blastozöl, einer flüssigkeitsgefüllten Höhle. Das Trophektoderm entwickelt sich in die trophoblastären Anteile der Plazenta, insbesondere Synzytiotrophoblast und Zytotrophoblast, während aus der inneren Zellmasse Epiblast und Hypoblast hervorgehen, aus welchen später der Embryo und der Dottersack hervorgehen. Der Hypoblast bildet auch Anteile des mesenchymalen Kerns der Chorionzotten (Eggenhuizen et al., 2021).

Diese frühe Spezialisierung und Lokalisierung der Zelllinien ist von zentraler Bedeutung, weil sie vorgibt, in welchen Geweben sich eine postzygotische Chromosomenstörung letztlich manifestiert, und ist der Grund für die große Bandbreite verschiedener Mosaikformen (McCoy, 2017).

Man unterscheidet das Vorliegen eines generalisierten Mosaiks von, auf bestimmte Gewebe beschränkte, Formen: Der Terminus „confined placental mosaicism“ (CPM) beschreibt eine genetische Anomalie, die ausschließlich die Plazenta betrifft, während der Fetus die genetische Aberration nicht aufweist. Epidemiologische Daten aus Chorionzottenbiopsien zeigen, dass z.B. in etwa 2 % der lebensfähigen Schwangerschaften eine Diskrepanz zwischen plazentarem und fetalem Karyotyp nachweisbar ist. Demgegenüber liegt bei einem „true fetal mosaicism“ (TFM) die genetisch abnorme Zelllinie sowohl in fetalen als auch in plazentaren Geweben vor (Kalousek, 1996). Zusätzlich kann es auch zur Bildung eines „confined fetal mosaicism“ (CFM) kommen, bei dem die Anomalie auf fetales Gewebe beschränkt ist (Jiang et al., 2025).

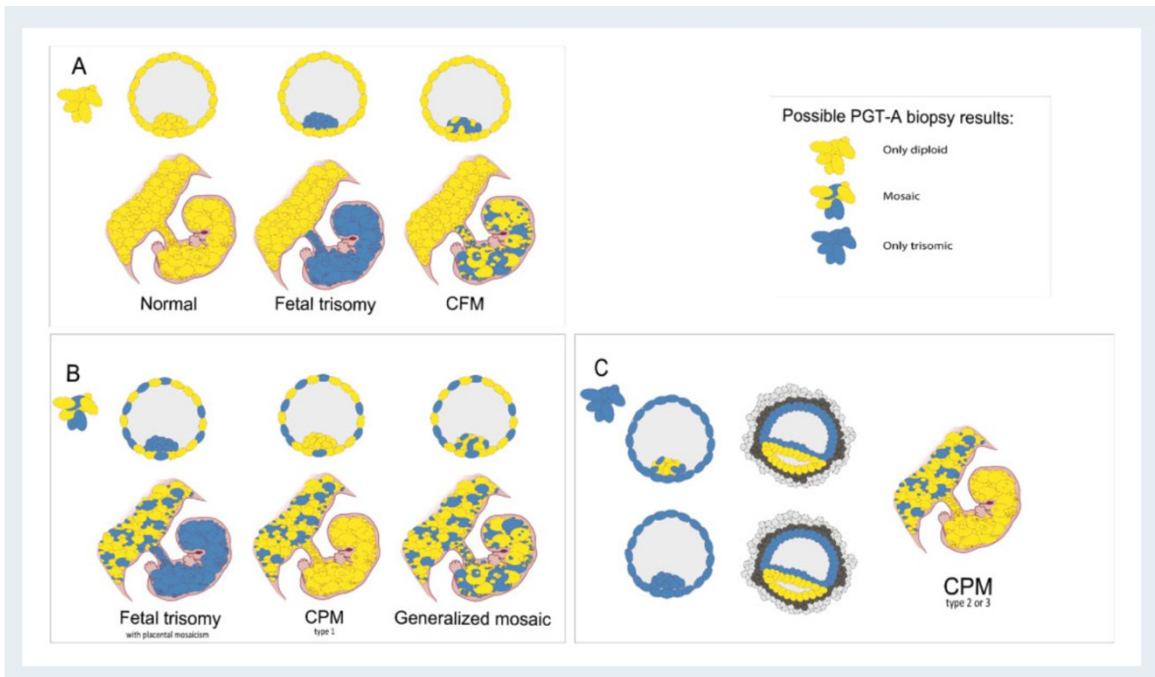


Abbildung 3 Von der Blastozyste zu möglichen Formen des Plazentamosaiks  
 Quelle: Eggenhuizen et al., 2021

Auf zellulärer Ebene entstehen chromosomale Mosaik im Wesentlichen durch zwei Mechanismen: Es handelt sich entweder um einen Fehler meiotischen oder mitotischen Ursprunges (Kalousek, 1996).

Basiert das chromosomale Mosaik auf einem Fehler in der Mitose, kommt es nach der Befruchtung primär zur Bildung einer diploiden Zygote. Im Rahmen der unmittelbar darauffolgenden mitotischen Teilungen tritt eine Störung der Segregation (non-disjunction) auf, wodurch eine Tochterzelle mit Trisomie und eine Tochterzelle mit Monosomie entsteht (Sadler et al., 2020). Da Zelllinien mit Monosomie proliferativ benachteiligt sind, bleiben typischerweise die euploide Linie sowie die aneuploide Linie mit Trisomie bestehen und bilden das beobachtete Mosaik (Grati, 2014; Mardy & Norton, 2021).

Je früher dieses Ereignis stattfindet, umso größer ist der Anteil der von der Trisomie betroffenen Zellen. Theoretisch kann dies jederzeit während der Entwicklung stattfinden, was folglich bedeutet, dass ein Mosaik sowohl nur einen sehr kleinen oder auch einen sehr großen Anteil der Zellen betreffen kann. Tritt ein solches Ereignis ausschließlich in Vorläuferzellen der extraembryonalen Gewebe auf, resultiert ein Plazentamosaik (Raymond et al., 2024). Erfolgt der Fehler bereits in der ersten postzygotischen Teilung oder kurz danach, werden beide Genotypen relativ gleichmäßig in der Morula verteilt, was die Wahrscheinlichkeit für das

Vorliegen eines generalisierten Mosaiks erhöht. Kommt es erst nach der dritten postzygotischen Teilung zur Fehlverteilung, bestimmt die Position der Zelle mit Trisomie in der Morula den Ausprägungsgrad bzw. die Lokalisation des Mosaiks (Kalousek, 1996). Je nachdem, welcher Anteil der Plazenta betroffen ist, werden hier zwei Arten von Plazentamosaik unterschieden: Ist der Zytotrophoblast betroffen, aber der mesenchymale Kern euploid, bezeichnet man dies als CPM Typ 1 (confined placental mosaicism type 1). Ist hingegen der Zytotrophoblast euploid, aber der mesenchymale Kern aneuploid, wird dies als CPM Typ 2 bezeichnet (Eggenhuizen et al., 2021).

Handelt es sich um einen Fehler in der Meiose, so ist dieser bereits in der Gametogenese durch non-disjunction entstanden und nach der Befruchtung entsteht eine Zygote mit Trisomie. Damit aus dieser primär aneuploiden Zygote ein Mosaik entsteht muss ein postzygotischer Korrekturmechanismus, genannt trisomy rescue, stattfinden (Raymond et al., 2024). Durch eine Verzögerung in der Anaphase geht ein Chromosom verloren, sodass nun wieder ein euploider Chromosomensatz hergestellt wird (Kalousek, 1996; Reilly et al., 2023). Um ein Plazentamosaik meiotischen Ursprungs zu erzeugen, muss es sich um einen bereits sehr früh im Entwicklungsstadium erfolgten Korrekturvorgang handeln, in etwa zum Zeitpunkt der Differenzierung der inneren Zellmasse und des Trophektoderms (Raymond et al., 2024; Robinson et al., 1997). Typischerweise findet man die Zelllinie mit Trisomie sowohl in Zellen des Zytotrophoblasts als auch des mesenchymalen Kerns – dies wird bezeichnet als CPM Typ 3 (confined placental mosaicism type 3) (Eggenhuizen et al., 2021).

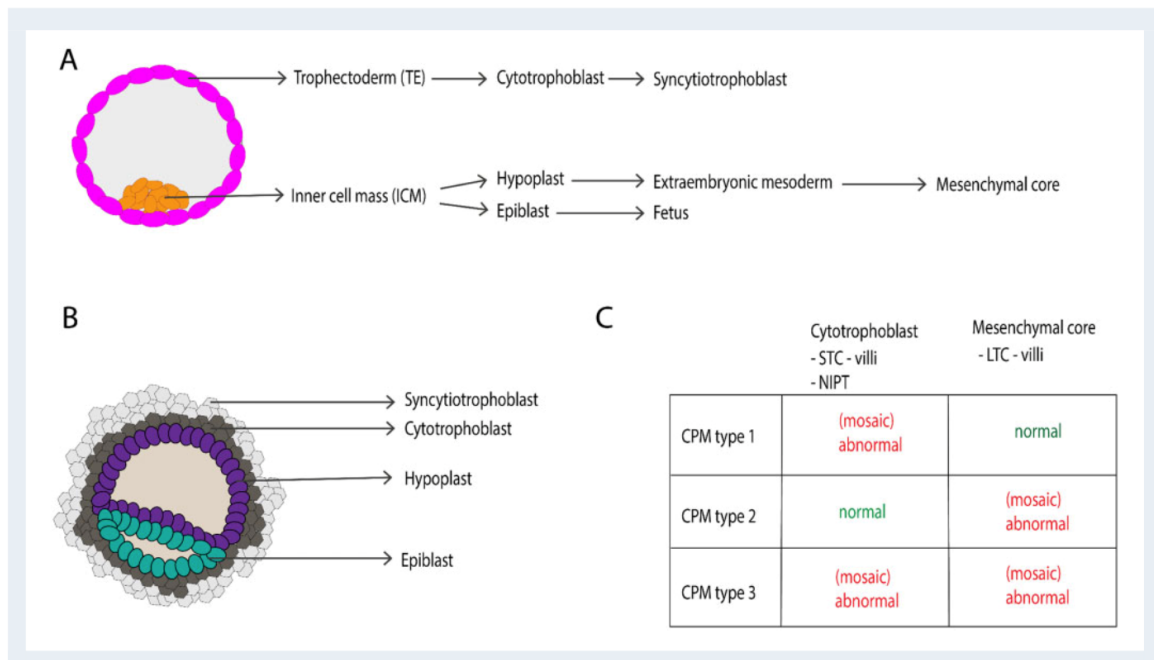


Abbildung 4 Schematische Darstellung der drei Formen des Plazentamosaiks  
Quelle: Eggenhuizen et al., 2021

Relevant sind Monosomie- und Trisomie- „Rescue“ insbesondere deshalb, da es hier in Folge zum Vorliegen einer uniparentalen Disomie (UPD) kommen kann: Welches Chromosom im Zuge des trisomy rescue „eliminiert“ wird entscheidet der Zufall. Somit kann es auch passieren, dass die resultierende Zelllinie zwar euploid ist, aber beide Chromosomen von nur einem Elternteil stammen (Robinson et al., 1997). Das Vorliegen einer uniparentalen Disomie ist insbesondere für die Chromosomen von Bedeutung, auf denen sogenannte „imprinted genes“ liegen und wodurch in Folge Imprinting-Erkrankungen ausgelöst werden, wie z.B. das Prader-Willi-Syndrom und das Angelman-Syndrom. Außerdem kann dies auch zur klinischen Ausprägung autosomal-rezessiv vererbter Krankheiten führen sowie zu einem gehäuften Auftreten von fetaler Wachstumsretardierung (Kalousek, 1996; Reilly et al., 2023).

Chromosome	Maternal UPD	Paternal UPD
6		Transient neonatal diabetes
7	Russell Silver syndrome	
11	Russell Silver syndrome	Beckwith-Wiedemann syndrome Congenital hyperinsulinism
14	Temple syndrome	Kagami-Ogata syndrome
15	Prader Willi syndrome	Angelman syndrome
20	Mulchandani-Bhoj-Conlin syndrome	Pseudohypoparathyroidism type 1b

Abbildung 5 Uniparentale Disomie mit bekanntem Phänotyp  
Quelle: Mardy et al., 2021

## Diagnostische Analysemethoden in der Pränatalmedizin

### Zytogenetische Methoden

Die zytogenetische Diagnostik pränataler Proben basiert auf der konventionellen Chromosomenanalyse (Karyotypisierung) und der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Es werden Zellen aus Chorionzotten, Fruchtwasser (Amnionzellkulturen) oder fetalem Blut beurteilt.

### Klassische Zytogenetik

Für die klassische Chromosomenanalyse müssen teilungsfähige fetale Zellen in Kultur gebracht werden. Aus Chorionzotten oder Amnionflüssigkeit werden Zellen isoliert und mehrere Tage kultiviert, bis ausreichend Mitoseaktivität vorliegt. Anschließend wird mit Mitosehemmstoffen (z.B. Colchizin) die Zellteilung in der Metaphase arretiert. In der Metaphase sind die Chromosomen stark kondensiert und somit am besten beurteilbar. Nach Behandlung mit einer hypotonen Lösung zur Zellschwellung und Fixierung mit typischerweise Methanol werden die Zellen auf Objektträger „getropft“, sodass sich die Chromosomen auffächern und einzeln mikroskopisch unter 1000-facher Vergrößerung analysierbar sind.

Mittels Bänderungstechniken – in der Praxis überwiegend G-Bänderung mit Trypsin/Giemsa – entsteht ein reproduzierbares Bandenmuster. Die klassische Karyotypisierung erlaubt die Beurteilung numerischer Chromosomenaberrationen (Trisomien/Monosomien, Triploidien/Tetraploidien), größerer struktureller Aberrationen (balancierte und unbalancierte Translokationen, Inversionen, größere Deletion und Duplikationen, Ringchromosomen und Markerchromosomen) sowie das Vorliegen eines Mosaikes. Letzteres setzt voraus, dass der Mosaikanteil mind. 5-10% beträgt und ist abhängig von der Anzahl der ausgewerteten Metaphasen und den jeweiligen Laborrichtlinien. Die Auflösungsgrenze eines Karyogramms liegt pränatal meist im Bereich von etwa 5–10 Mb (5.000.000-10.000.000 Basen), kleinere Mikrodeletionen/-duplikationen können also nicht erkannt werden (Murken et al., 2017).

Im Falle einer Analyse von Chorionzotten werden zwei unterschiedliche Zelllinien untersucht: Die Direktpräparation/Kurzzeitkultur (STC, short term culture) repräsentiert Zellen des Zytotrophoblast aus der Oberfläche der Chorionzotten. Sie erfolgt entweder über direkte Präparation oder nur sehr kurz kultivierte Zellen

(wenige Stunden bis Tage), da sich diese Zellen schnell teilen und rasch Metaphasekerne zur Verfügung stehen. Liegt ein Plazentamosaik vor, bei dem die Plazenta eine Aneuploidie aufweist und der Fetus einen euploiden Chromosomensatz besitzt, ergibt die STC einen falsch-positiven Befund. Die Langzeitkultur (LTC, long term culture) spiegelt die Genetik der mesenchymalen Stromazellen wider, welche entwicklungsgeschichtlich ja aus dem Embryoblasten entstehen und somit genetisch enger mit dem Fetus verwandt sind als Trophoblastzellen. Die Kulturzeit beträgt hier mehrere Tage bis 1-2 Wochen, da diese Zellen langsamer proliferieren (Eggenhuizen et al., 2021; Eggenhuizen, Van Veen, et al., 2024).

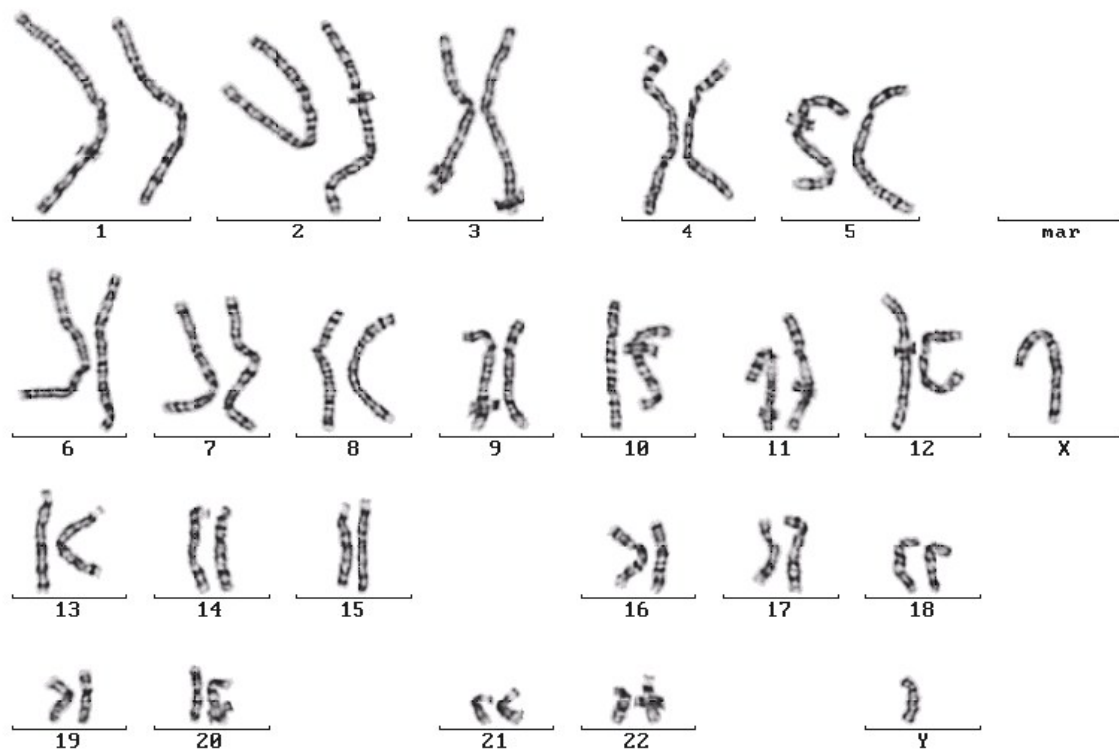


Abbildung 6 Unauffälliges Karyogramm, 46XY

Quelle: [https://genetik.charite.de/diagnostische\\_leistungen/zytogenetik/zytogenetische\\_diagnostik](https://genetik.charite.de/diagnostische_leistungen/zytogenetik/zytogenetische_diagnostik)

### FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung)

FISH nutzt fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden, die komplementär zu spezifischen Chromosomenregionen sind. Nach Denaturierung der DNA hybridisiert diese Sonde spezifisch an ihre Zielsequenz. Anschließend werden ungebundene Sonden

ausgewaschen, und die gebundenen Signale können unter dem Fluoreszenzmikroskop detektiert werden.

Eine FISH-Analyse kann auf Metaphasen-Chromosomen erfolgen und ermöglicht hier eine genaue strukturelle Zuordnung (z.B. der Herkunft eines Markerchromosoms). Sie kann aber auch auf Chromosomen in der Interphase durchgeführt werden, was eine schnelle Beurteilung der Kopienanzahl ohne vorherige Kultivierung der Zellen erlaubt. In der Pränataldiagnostik wird FISH vor allem als schnelles Aneuploidie-Screening für die häufigsten Trisomien (13, 18, 21) und gonosomale Aberrationen eingesetzt. Direkt über unkultivierte Amnionzellen oder Chorionzottenpräparate stehen Ergebnisse oft innerhalb von 24–48 Stunden zur Verfügung, während die klassische Karyotypisierung noch läuft. Zudem eignet sich FISH für den Nachweis spezifischer Verdachtsdiagnosen (z.B. eine bekannte Translokationsbruchstelle oder ein klinisch relevantes Mikrodeletionssyndrom) und zur Quantifizierung von Mosaiken, da hier hunderte Interphasekerne ausgezählt werden können. Die Auflösung ist sehr hoch und reicht bis in den 100kb-Bereich, allerdings nur dort, wo Sonden eingesetzt werden. Damit ist FISH kein Screeningverfahren für das gesamte Genom, sondern ein zielgerichteter Test. Aberrationen fernab der untersuchten Region, für die eine bestimmte Sonde verwendet wird, bleiben unentdeckt. FISH ist zudem relativ kostenintensiv pro Probe/Sonde, und die Interpretation erfordert klare Cut-off-Definitionen zur Abgrenzung von Artefakten (Signalteilung, Überlappungen) von echten Aberrationen. Die Nachweisgrenze für Mosaikie hängt von der Zahl der ausgewerteten Kerne ab, liegt praktisch aber im Bereich von etwa 5–10% (Murken et al., 2017).

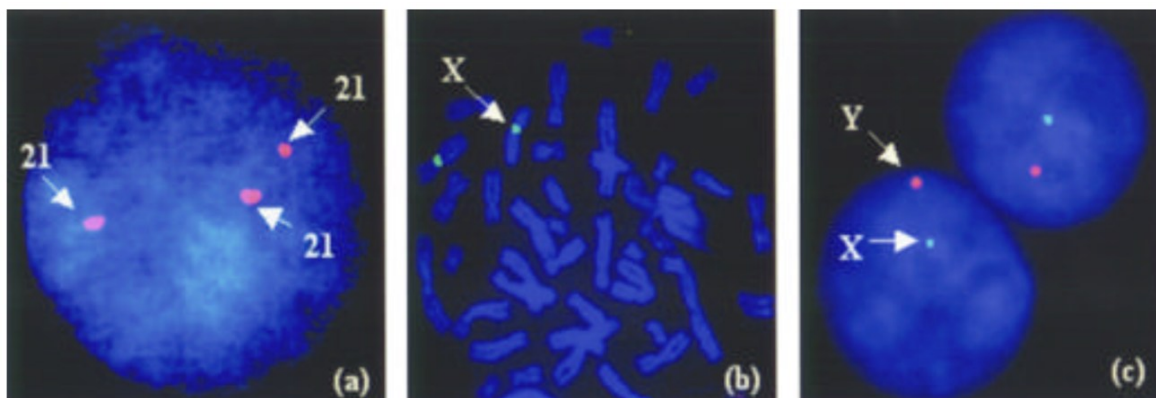


Abbildung 7 FISH-Beispiele (a) Trisomie 21 (b) Weiblicher Chromosomensatz XX (c) Männlicher Chromosomensatz XY

Quelle: Jobanputra et al., 2003

## Molekulargenetische Methoden

Chromosomale Microarray-Analyse (CMA) ist eine molekularzytogenetische Hochauflösungstechnik, mit der genomweite Kopienzahlveränderungen (CNVs - copy number variants) im Kilobasenbereich nachgewiesen werden können. Während für klassische zytogenetische Methoden lebende, teilungsfähige Zellkerne analysiert werden, benötigen molekulargenetische Methoden nur DNA aus Amnionzellen, Chorionzotten, fetalem Blut oder auch mütterlichem Blut bei cf-DNA-Analyse. Die zentrale Grundlage aller molekulargenetischen Untersuchungen ist die PCR, womit die DNA millionenfach vervielfältigt und anschließend analysiert werden kann (Levy & Wapner, 2018; Murken et al., 2017).

## Array-CGH

Bei der Array-CGH wird die DNA des Patienten mit einer Referenz-DNA verglichen. Beide werden primär fragmentiert und mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und anschließend gemeinsam auf einem Mikroarray hybridisiert. Dieser Mikroarray besteht aus einigen hunderttausend spezifischen Oligonukleotid-Sonden, die das gesamte Genom abdecken. Für jede einzelne Sonde wird das Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten von Patienten-DNA zu Referenz-DNA berechnet: Eine  $\log_2$ -Ratio  $\approx 0$  spricht für gleiche Kopienzahl beider Proben, eine negative  $\log_2$ -Ratio für eine Deletion, eine positive für eine Duplikation. Die Auflösung hängt von der Sondendichte ab, moderne Arrays erreichen eine Auflösung im Bereich von wenigen 10–100kb. Dies erlaubt die Beurteilung numerischer Chromosomenaberrationen, submikroskopischer Deletionen und Duplikationen (CNVs) sowie unbalancierter Rearrangements (unbalancierte Translokationen). Balancierte Translokationen, Inversionen oder Insertionen werden nicht erkannt, da sich hierdurch die Summe der DNA nicht verändert. Die Array-CGH lässt außerdem keine Aussage über die Allelverteilung (Homozygotie/Heterozygotie) zu, somit können uniparentale Disomien, Imprintingstörungen und Triploidien ebenso nicht erkannt werden. Das Vorliegen eines Mosaiks kann ab einem Anteil von ca. 10-20% beurteilt werden (Levy & Wapner, 2018; Murken et al., 2017).

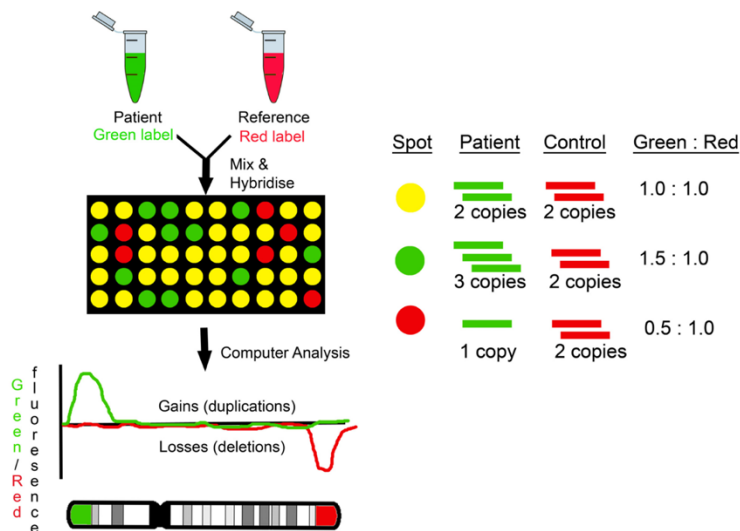


Abbildung 8 Prinzip der Array-CGH  
Quelle: Karampetsou et al., 2014

## SNP-Array

SNP-Arrays basieren auf Sonden, die spezifische Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs – single nucleotide polymorphisms) im Genom erkennen. Hier wird im Gegensatz zur Array-CGH nur die Patienten-DNA markiert und hybridisiert, die erzeugten Signale an den SNP-Sonden werden detektiert und für jede SNP-Position werden zwei Kenngrößen bestimmt: Die Gesamtintensität (log R Ratio), welche mit der Kopienzahl korreliert, und die B-Allel Frequenz (BAF), welche die Allelverteilung widerspiegelt (z. B. 0 = AA, 0,5 = AB, 1 = BB). Wie bei der Array-CGH wird ein Kopienzahlprofil erzeugt, der große Unterschied ist, dass die BAF-Verteilung Rückschlüsse auf die Allelverteilung zulässt. Somit können auch Regionen mit Verlust der Heterozygotie (LOH – loss of heterozygosity) und somit Imprintingkrankungen oder Konsanguinität und Triploidie erkannt werden. Durch Verschiebungen und „Verwaschungen“ der BAF-Signale können Mosaik sensitiver erkannt werden als mittels Array-CGH. Ebenso nicht erkannt werden balancierte Rearrangements sowie unterhalb der Auflösungsgrenze liegende Deletionen/Duplikationen (Levy & Wapner, 2018; Murken et al., 2017).

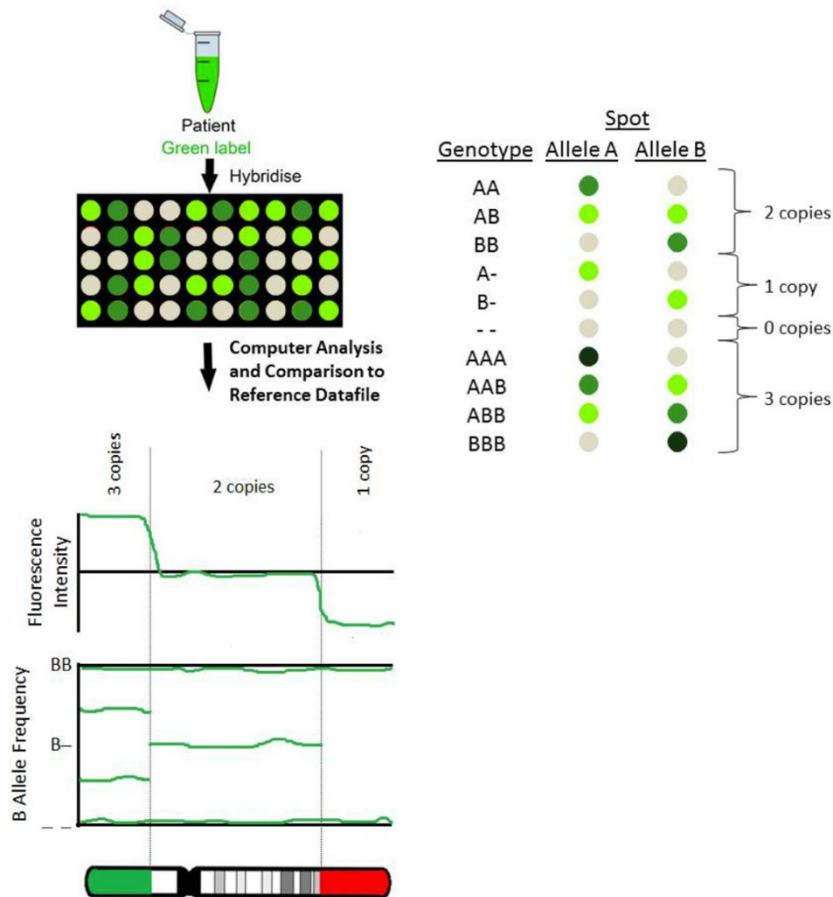


Abbildung 9 Prinzip des SNP-Array  
 Quelle: Karampetsou et al., 2014

### Quantitative Fluoreszenz-PCR (QF-PCR)

QF-PCR ist eine schnelle molekulargenetische Methode zur Diagnostik fetaler Aneuploidien, die speziell entwickelt wurde, um die zeitaufwändige Zellkultur in der pränatalen Zytogenetik zu umgehen und insbesondere Trisomien 13, 18, 21 sowie Anomalien der Geschlechtschromosomen zu erfassen. Der eigentliche Laborprozess dauert nur etwa 30 Minuten, das Ergebnis liegt üblicherweise innerhalb von 24–48 Stunden vor. Der Materialbedarf ist gering, sodass auch bei geringer Zellausbeute (z.B. bei CVS oder AC) ein Ergebnis generiert werden kann. QF-PCR basiert auf der Amplifikation von chromosomenspezifischen, hochpolymorphen STR-Markern (short tandem repeats). Für die zu jeweiligen Chromosomen (z.B. 13, 18, 21, X, Y) werden mehrere STR-Loci ausgewählt, wo bekannterweise die Länge der Allele zwischen Individuen variiert. Die PCR erfolgt mit fluoreszenzmarkierten Primern, die Produkte werden mittels Elektrophorese getrennt und als Peaks im Elektropherogramm dargestellt. Bei einem heterozygoten

Normalbefund erscheinen zwei Peaks mit annähernd gleicher Fläche (Verhältnis ca. 1:1, bei Vorliegen einer Trisomie zeigt sich entweder ein dritter Peak bei Vorliegen von drei Allelen oder ein 2:1 Verhältnis der Peakflächen zweier Allele. Dadurch lässt sich für jedes untersuchte Chromosom die quantitative Dosisinformation ableiten (Murken et al., 2017; Nicolini et al., 2004).

Die Erkennungsrate von Mosaiken ist eher gering bei etwa 45%, detektiert werden hauptsächlich Mosaik mit > 30% aneuploiden Zellen. Auch unbalancierte strukturelle Aberrationen (wie z.B. unbalancierte Translokationen und Ringchromosomen) werden nicht mit Sicherheit erkannt. Triploidien können erfasst werden, ebenso lässt die QF-PCR die Beurteilung einer eventuell vorliegenden maternalen Kontamination zu, da sich mütterliche Allele im STR-Muster abbilden, was insbesondere bei weiblichen Feten wichtig ist (Nicolini et al., 2004).

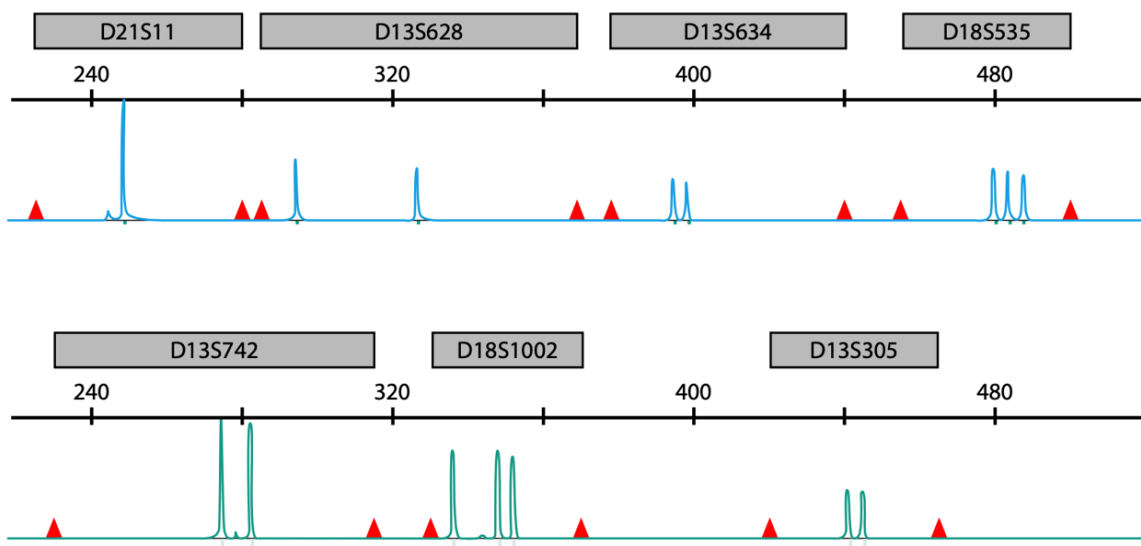


Abbildung 10 QF-PCR einer Trisomie 18. Drei Spikes wurden an Position D18S535 und D18S1002 detektiert. Quelle: Reilly et al., 2023

## MLPA

MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) ist eine molekulargenetische Technik zum schnellen, quantitativen Nachweis von Kopienzahlveränderungen ausgewählter Chromosomenabschnitte, insbesondere zur Diagnostik der häufigsten Aneuploidien (Trisomien 21, 18, 13 sowie der Geschlechtschromosomen). Für jedes Zielgenomsegment werden zwei komplementäre Sonden designt, die unmittelbar benachbart auf derselben DNA-Strangvorlage hybridisieren. Jede Sonde besteht aus einer kurzen zielspezifischen

Sequenz und einer universellen Primerbindungsstelle. Nach einer Über-Nacht-Hybridisierung werden benachbarte Sondenpaare ligiert. Anschließend erfolgt eine PCR mit einem einzigen fluoreszenzmarkierten Primerpaar - dadurch ist die Menge jedes PCR-Produkts proportional zur Ausgangsmenge des jeweiligen Zielabschnitts. Die Produkte unterschiedlicher Länge werden mittels Elektrophorese getrennt und die Peakflächen quantitativ ausgewertet, sodass sich relative Kopienzahlverhältnisse der untersuchten Loci bestimmen lassen. MLPA benötigt nur wenig Ausgangsmaterial und liefert in wenigen Tagen ein Ergebnis, somit wird sie v.a. in der pränatalen Diagnostik von Aneuploidien eingesetzt. Sie ersetzt aber nicht die vollständige Karyotypisierung für das Erkennen seltener oder struktureller Chromosomenanomalien.

Eine Einschränkung der MLPA besteht darin, dass das Vorhandensein einer Triploidie nicht erfasst wird (Boormans et al., 2008; Murken et al., 2017).

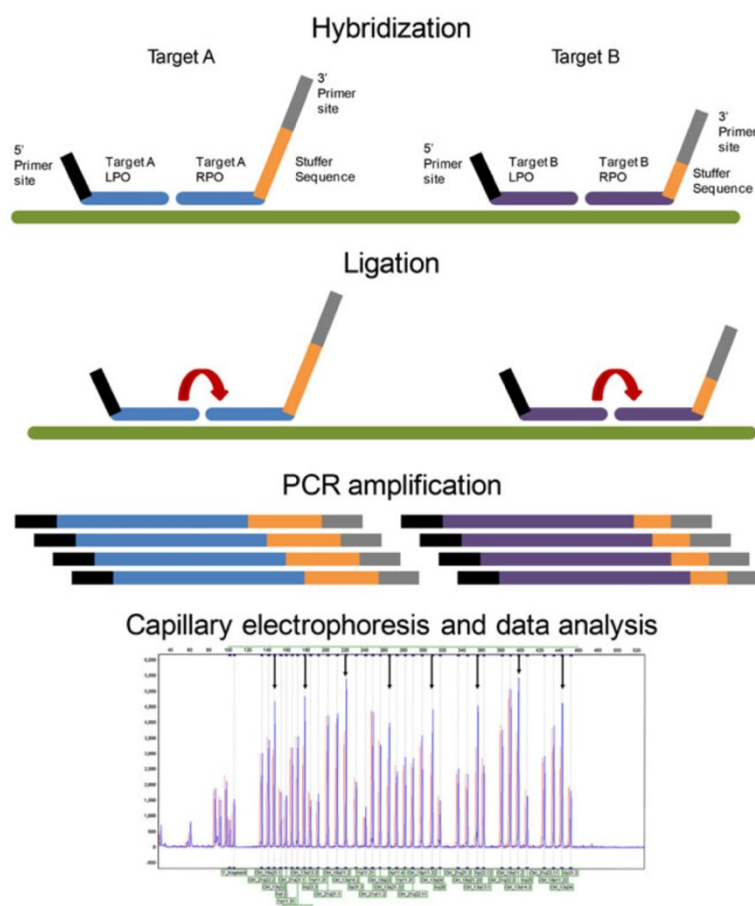


Figure 1 Schematic diagram of the MLPA process. Step 1. Hybridization of the probes to the target DNA sequence. Step 2. Ligation of adjacent bound probes. Step 3. PCR amplification of the ligated probe sequences using the universal primer set. Step 4. Capillary electrophoresis and data analysis. The patient sample is shown in blue and the control is shown in red for the sake of comparison. The data shows an increase in peak size for selected fragments indicating a gain in copy number for those locations. The arrows mark the peaks where the sample has increased signal over the control, indicating a gain in copy number in the region covered by the probes.

Abbildung 11 Schematische Darstellung der MLPA  
Quelle: Willis et al., 2012

## Sanger Sequenzierung

Die Sanger-Sequenzierung, auch Kettenabbruchmethode genannt, ist eine klassische und bis heute weit verbreitete Methode zur Bestimmung der Nukleotidsequenz eines definierten DNA-Abschnitts. Ausgangspunkt ist dabei ein einzelsträngiger DNA-Template-Strang, an den ein spezifischer Primer bindet. In der Reaktion liegen neben den normalen Desoxynukleotiden (dNTPs) in geringer Menge auch Didesoxynukleotide (ddNTPs) vor, denen die 3'-OH-Gruppe fehlt. Wird ein ddNTP in die wachsende DNA-Kette eingebaut, kann keine weitere Verlängerung mehr stattfinden, die Synthese bricht an genau dieser Position ab. Dadurch entsteht ein Gemisch von DNA-Fragmenten unterschiedlicher Länge, die alle am 3'-Ende mit einem definierten ddNTP enden. In modernen Protokollen sind die vier ddNTPs mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert, sodass alle Basen in einem einzigen Ansatz sequenziert werden können. Die Fragmente werden anschließend mittels Kapillarelektrophorese der Größe nach getrennt, eine Kamera liest die Farbsignale aus und erzeugt ein Elektropherogramm, aus dem die Basenabfolge direkt abgeleitet wird. Die Sanger-Sequenzierung zeichnet sich durch eine sehr hohe Genauigkeit auf relativ kurzen Sequenzstrecken aus und wird daher in der medizinischen Genetik vor allem zur gezielten Analyse einzelner Gene und zur Bestätigung von Varianten genutzt, während großflächige genomische Untersuchungen heute meist mit Next-Generation-Sequencing erfolgen. Die Kapazität eines Sequenziervorganges ist jedoch beschränkt, es können nur jeweils 300-1000 Basenpaare ausgewertet werden - eine Aussage kann nur für die angereicherte Zielsequenz getroffen werden (Murken et al., 2017; Neveling & Hoischen, 2014).

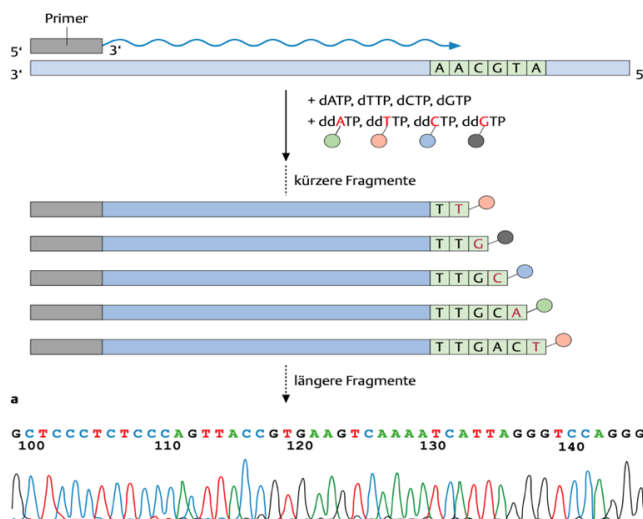


Abbildung 12 Schematische Darstellung der Sanger Sequenzierung.  
Quelle: Murken et al., 2017

## Next Generation Sequencing – NGS

Next Generation Sequencing (NGS) bezeichnet man auch als Hochdurchsatz-Sequenzierung oder Massiv-parallele Sequenzierung, da diese Technologie es ermöglicht, in einem Vorgang Millionen von DNA-Fragmenten gleichzeitig auszuwerten. Somit können ganze Exome oder Genome in einem einzigen Lauf erfasst werden, was durch die enorme Zeitersparnis und Kosteneffizienz die genetische Diagnostik weltweit revolutioniert hat (Schaaf & Zschocke, 2018).

Am Anfang steht immer die Präparation der DNA-Bibliothek. Aus fetalem Material (z. B. Chorionzotten, Fruchtwasser, fetales Blut) oder aus zellfreier fetaler DNA im mütterlichen Plasma wird DNA extrahiert und in viele kleinere Fragmente zerlegt. Diese Fragmente erhalten an beiden Enden standardisierte Adaptersequenzen, die später als „Griff“ für die Anlagerung an den Sequenzierchip und als Bindestelle für die Primer dienen. Zusätzlich werden häufig Index-Sequenzen (Barcodes) eingebaut, mit denen mehrere Proben in einem Lauf gemischt und später bioinformatisch wieder getrennt werden können. Die DNA-Bibliothek wird mittels PCR amplifiziert und anschließend folgt der eigentliche Sequenzierungsprozess. Dieser unterscheidet sich je nach verwendeter Plattform. Die Technologie von Illumina verwendet beispielsweise fluoreszenzmarkierte Nukleotide, welche mit einer Kamera erfasst werden, wohingegen bei IonTorrent die je nach eingebauter Base unterschiedliche Spannungsänderung detektiert wird. Die ermittelte Sequenz wird mit der Referenzsequenz des menschlichen Genoms verglichen und abweichende Varianten werden erfasst. Diese Varianten müssen als letzter Schritt bioinformatisch ausgewertet und interpretiert werden. Die Zuverlässigkeit der Auswertung hängt stark von der Tiefe der Abdeckung (Coverage) ab, also wie oft eine bestimmte Position im Genom tatsächlich gelesen wurde. Die sichere Detektion von heterozygot vorliegenden Varianten erfordert beispielsweise eine Coverage von ca. 20-30 Reads (Neveling & Hoischen, 2014; Schaaf & Zschocke, 2018).

In der pränatalen Medizin werden oftmals nicht komplette Genome sequenziert, sondern bestimmte Zielgene angereichert und nur diese Genpanels mit vordefinierten Genlisten sequenziert. Beim Whole-Exome-Sequencing (WES) wird das gesamte kodierende Genom (die Exons) angereichert und sequenziert. Whole-Genome-Sequencing (WGS) erfasst auch nicht-kodierende Regionen, ist

datenintensiver und aktuell seltener Bestandteil der Routinediagnostik, wobei in den letzten Jahren zunehmend auch Varianten in nicht-codierenden, aber regulatorischen Bereichen in den Fokus rücken (Schaaf & Zschocke, 2018).

Die größte Herausforderung stellt beim NGS die korrekte Interpretation der gefundenen Varianten dar: Mittels spezieller Vorhersageprogramme wird der zu erwartende funktionelle Effekt berechnet – verändert sich z.B. durch den gefundenen Basenaustausch die resultierende Proteinstruktur oder kommt es zum vorzeitigen Abbruch der Proteinsynthese? In großen, internationalen Datenbanken wird nach Vorbeschreibungen der Variante gesucht, beispielsweise wie häufig sie in welchen Populationen vorkommt, was für phänotypische Auswirkungen in Zusammenhang mit der Variante beschrieben wurden, etc. Abhängig von diesen Ergebnissen werden die Varianten anschließend als benigne, wahrscheinlich benigne, pathogen, wahrscheinlich pathogen oder als Variante unklarer Signifikanz (VUS) bewertet (Schaaf & Zschocke, 2018).

Durch NGS sind mit einem einzigen Test fast alle genetischen Veränderungen identifizierbar: Einzelnukleotid-Veränderungen, kleinere Insertionen und Deletionen, aber auch größere genomische Veränderungen wie Mikrodeletionen/-duplikationen, Translokationen und numerische Chromosomenaberrationen können erfasst werden. Durchschnittlich finden sich im Exom jeder einzelnen Person ca. 20.000 Varianten, die vom Referenzgenom abweichen, und in etwa die Hälfte davon führt auch zu einer Veränderung der Proteinsequenz. Sortiert man alle Varianten aus, von denen bereits bekannt ist, dass sie keinen Krankheitswert haben, bleiben pro Person ca. 100 „neue“ Varianten, die potenziell als Ursache für eine seltene Krankheit in Frage kommen. Manchmal kann ein überzeugendes Kandidatengen gefunden werden, in vielen Fällen ergibt sich jedoch keine potenziell krankheitsverursachende Variante. Die Anzahl der publizierten und bzgl. des Krankheitswertes bewerteten Varianten steigt wöchentlich an, somit steigt auch kontinuierlich die diagnostische Erfolgsrate des WES. Was die Suche nach der krankheitsverursachenden Variante deutlich vereinfacht, ist die Durchführung einer Trio-WES-Untersuchung: Hier wird nicht nur die fetale DNA untersucht, sondern auch die beider Elternteile. Somit können alle de-novo-Varianten sowie im Falle eines rezessiven Pathomechanismus alle homozygot und compound-heterozygot vorliegenden Varianten schnell erkannt werden (Schaaf & Zschocke, 2018).

Auch eine so fortschrittliche Technologie wie das NGS hat jedoch Limitationen: In Bereichen mit schlechterer Abdeckung (ca. 5% der codierenden Sequenzen) können krankheitsauslösende Mutationen nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Ebenso werden relevante Mutationen in nicht-codierenden regulatorischen Bereichen oft nicht gesehen. Ebenso gibt es deutliche Schwächen bei bestimmten strukturellen und funktionellen Veränderungen: Balancierte Chromosomenaberrationen wie Translokationen und Inversionen, komplexe Chromosomenumbauten, Markerchromosomen oder isodizentrische Chromosomen werden mit klassischen Short-Read-NGS-Protokollen nur sehr eingeschränkt erfasst, sodass Karyotypisierung, Microarray und gegebenenfalls FISH hier weiterhin eine wichtige Rolle spielen. Ein weiterer Problembereich sind Repeat-Erkrankungen und größere strukturelle Veränderungen in repetitiven Regionen. Repeat-Expansionen lassen sich mit kurzen Reads nur schlecht in ihrer tatsächlichen Länge bestimmen, weil die repetitiven Sequenzen kaum eindeutig an das Referenzgenom anlegbar sind. Kopienzahlveränderungen lassen sich prinzipiell aus NGS-Daten über Read-Depth-Analysen ableiten, in der Praxis stoßen die Algorithmen jedoch bei sehr großen oder komplexen CNVs an ihre Grenzen. Deletionen oder Duplikationen, die ganze Exons umfassen können zwar detektiert werden, aber die Sensitivität und Spezifität ist nicht in allen Genen gleich gut, sodass Arrays durchaus weiterhin der etablierte Standard für die CNV-Diagnostik bleiben. Eine weitere Einschränkung des NGS besteht außerdem darin, dass es die Basensequenz, nicht aber epigenetische Veränderungen ablesen kann. Methylierungsdefekte, die bei Imprinting-Erkrankungen eine zentrale Rolle spielen, werden in klassischen NGS-Pipelines nicht erfasst. Uniparentale Disomien oder andere Imprinting-Störungen lassen sich eher über SNP-Arrays oder Methylierungsverfahren als über reine Sequenzdaten nachweisen (Abulí et al., 2024; Schaaf & Zschocke, 2018).

Darüber hinaus erkennt das NGS nur begrenzt Mosaikbildungen. Die Nachweisgrenze hängt von der Sequenzierentiefe und der Qualität der Daten ab, liegt aber durchschnittlich im Bereich von ca. 15-20% bzw. bei sehr hoher Abdeckung (deep sequencing) im niedrigen Prozentbereich (Qin et al., 2016).

## Möglichkeiten der (nicht) invasiven pränatalen Diagnostik

### Ersttrimesterscreening

Das Ersttrimesterscreening (ETS) wird im Zeitraum zwischen 11+0 bis 13+6 SSW durchgeführt und dient der frühzeitigen Identifikation von Risikokonstellationen. Ziel ist nicht die Diagnose, sondern eine strukturierte, evidenzbasierte Risikoabschätzung für Chromosomenstörungen, strukturelle Fehlbildungen, Plazentationsstörungen und Nabelschnurpathologien sowie Störungen der Plazentafunktion und Frühgeburt. Auf dieser Grundlage sollen individuelle Beratung, Indikationsstellung für weiterführende Diagnostik und gegebenenfalls frühzeitige Prävention ermöglicht werden.

Das ETS umfasst Anamnese und maternale Risikofaktoren, standardisierte Ultraschall-Biometrie sowie eine strukturierte anatomische Beurteilung von Kopf/Gehirn, Gesicht, Nacken, Wirbelsäule, Thorax/Herz, Abdomen, Extremitäten, Urogenitaltrakt, Plazenta, Fruchtwasser und Eihäuten.

Für das Screening auf Chromosomenstörungen wird die Durchführung eines Combined Tests empfohlen: Dieser beinhaltet eine Kombination aus mütterlichem Altersrisiko, Gestationsalter, Nackentransparenz (NT) und den Serummarkern freies  $\beta$ -hCG und PAPP-A. Dieses kombinierte Vorgehen weist in der Allgemeinbevölkerung (ohne erfolgte cfDNA-Analyse) die höchste Testgüte für Trisomie 21 auf und sollte daher Konzept der ersten Wahl sein. Zusätzliche Marker wie Nasenbein, Ductus-venosus-Fluss und Trikuspidalklappenfluss können bei intermediärem Risiko (z.B. 1:50–1:1000) oder alternativ eine cfDNA-Analyse in einem zweistufigen Ansatz eingesetzt werden. Bei stark erhöhter NT ( $\geq 3,0$ – $3,5$  mm), extremen Werten der Serum-Biochemie oder strukturellen Fehlbildungen wird eine invasive Diagnostik mit ggf. molekulargenetischer Erweiterung empfohlen.

Das ETS hat klare Limitationen: Für strukturelle Fehlbildungen zeigt die Leitlinie, dass in Low-Risk-Kollektiven nur etwa 1/3, in Hochrisikokollektiven etwa 60% der Anomalien im ersten Trimenon erkannt werden. Der Combined Test als Screening für die Chromosomenanomalien Trisomie 13, Trisomie 18 und Trisomie 21 weist Falsch-Positiv- und Falsch-Negativ-Raten auf (von Kaisenberg et al., 2024).

False positive rate (%)	Detection rate (%)			False positive rate (%)	Detection rate (%)					
	Trisomy 21 algorithm				Trisomy 18 algorithm			Trisomy 13 algorithm		
	Tr 21	Tr 18	Tr 13		Tr 21	Tr 18	Tr 13	Tr 21	Tr 18	Tr 13
1	77	60	71	0.1	17	89	69	12	58	87
2	84	72	74	0.2	23	91	84	16	63	87
3	90	74	77	0.3	28	94	85	22	67	87
4	91	74	79	0.4	32	94	85	26	73	89
5	91	78	79	0.5	37	95	87	29	77	89

Abbildung 13 Detektionsrate für Trisomie 21, 18 und 13 je nach festgelegter FPR (falsch-positiv Rate) unter Verwendung des Algorithmus für Trisomie 21, 18 und 13 basierend auf mütterlichem Alter, fetaler NT, maternalem freien Serum- $\beta$ -HCG und PAPP-A sowie fetaler Herzfrequenz.

Quelle: Kagan et al., 2008

## NIPT – cfDNA

Der nicht-invasive pränatale Test (NIPT) beruht auf der Analyse zellfreier DNA (cell-free DNA, cfDNA) im maternalen Plasma, die überwiegend von apoptotischen Trophoblastenzellen der Plazenta stammt. Die gesamte im mütterlichen Blut vorhandene cfDNA enthält einen kleinen Anteil fetaler Herkunft („fetale Fraktion“) und kann mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf numerische Chromosomenabweichungen untersucht werden (Cuckle et al., 2015). Der NIPT wird vor allem für die Trisomien 21, 18, 13 und gonosomale Aneuploidien eingesetzt, es können mittlerweile aber auch seltene autosomale Aneuploidien (RAT – rare autosomal trisomies), Mikrodeletionen, Mikroduplikationen bis hin zu Einzelgenmutationen untersucht werden.

Je nach Anbieter kommen unterschiedliche technische Ansätze zur Anwendung:

- Shotgun-massive parallele Sequenzierung (s-MPS, massive parallel sequencing):

Hier wird die Gesamtheit der cfDNA-Fragmente sequenziert und anschließend bioinformatisch den einzelnen Chromosomen zugeordnet. Liegt z.B. eine fetale Trisomie 21 vor, zeigt sich ein zwar relativ geringer, aber statistisch signifikanter Überschuss an Fragmenten, die dem Chromosom 21 zugeordnet werden können (Cuckle et al., 2015).

- Targeted-MPS (targeted massive parallel sequencing):

Diese Methode funktioniert ähnlich wie bei der s-MPS, jedoch werden vorab gezielt bestimmte Regionen (meist auf den Chromosomen 21, 18, 13, X, Y) angereichert und sequenziert. Dadurch kann mit geringerer Gesamtsequenzierertiefe eine höhere Sequenzierertiefe auf den Zielchromosomen

erreicht werden, was insbesondere bei niedriger fetaler Fraktion die Aussagekraft verbessert (Cuckle et al., 2015).

- SNP-basierte Verfahren:

Bei dieser Methode werden zehntausende SNPs der Chromosomen 13, 18, 21, X und Y simultan sequenziert und analysiert. Durch Vergleich der Allelmuster von Mutter und Fetus (bzw. Plazenta, über cfDNA) wird berechnet, ob die fetale Konstellation eher zu Euploidie, Trisomie oder Monosomie passt. Im Gegensatz zu den anderen beiden Verfahren, welche zur Interpretation der Befunde ein Referenzgenom benötigen, nutzt die SNP-Technologie die Allel-Verteilung und kann so auch beispielsweise eine uniparentale Disomie erkennen (Cuckle et al., 2015).

- Rolling Circle Amplifikation:

Hier handelt es sich um Methode, die ohne PCR und ohne Sequenzierung auskommt. Aus dem maternalen Plasma wird cfDNA automatisiert extrahiert und Chromosomen-spezifische Zielsequenzen (13, 18, 21, Y) werden mit Oligonukleotiden hybridisiert und ligiert, sodass zirkuläre DNA-Moleküle entstehen. Diese zirkulären Moleküle werden anschließend durch Rolling Circle Replikation in zahlreiche, lokal begrenzte Kopien („rolling circle products“ - RCP) umgeschrieben, die fluoreszenzmarkiert und in einer 96-Well-Platte mikroskopisch digital gezählt werden, diese ergeben „RCP-Zahlen“. Aus den RCP-Zahlen werden Chromosomen-Verhältnisse und z-Scores berechnet, wodurch Trisomien mit hoher Präzision erkannt werden (Ericsson et al., 2019).

Anbieter	Technologie
Natera™ – Panorama™	SNP-basiertes NGS
Roche – Harmony®	Targeted-MPS
BGI – NIFTY®	Shotgun-WGS
Illumina - Veriseq (Fetalis®)	Shotgun-WGS
LifeCodexx - PraenaTest®	Shotgun-WGS
Revity - Vanadis®	Rolling-Circle-Amplifikation
Yourgene - IONA®	Shotgun-WGS (Ion Torrent Technologie)
BillionToOne - UNITY®	Tageted-MPS

Abbildung 14 Verschiedene Anbieter des NIPT und verwendete Technologie  
Quelle: Verschiedene Homepages der jeweiligen Firma (letzter Zugriff 20.11.2025)

Die Testgüte - also die Qualität eines Tests - wird über die Detektionsrate (DR), die Falsch-Positiv-Rate (FPR) und den positiven Vorhersagewert (PPV) beschrieben. Für den klassischen Combined Test (NT, PAPP-A, freies  $\beta$ -hCG) ergibt sich eine DR für Trisomie 21 von 84,5 % bei einer FPR von 5 %. Demgegenüber steht eine DR des NIPT für Trisomie 21 von 99,3 % bei einer FPR von nur 0,11 %; der PPV liegt in der allgemeinen Population bei etwa 54 % (berechnet zum Zeitpunkt der Geburt). Für die Summe der häufigen autosomalen Trisomien (21, 18, 13) verbessert sich die DR im Vergleich zu konventionellen Tests um 5–13 %, bei gleichzeitiger 12-facher Reduktion der FÜR (Cuckle et al., 2015).

Trotz hoher DR und niedriger FPR bleibt der NIPT ein Screeningtest, da verschiedene Faktoren, wie u.a. das Vorliegen eines Plazentamosaiks, zu falsch-positiven Befunden führen können.

### Chorionzottenbiopsie

Bei der Chorionzottenbiopsie (CVS) wird unter sonographischer Kontrolle eine Nadel transabdominal oder transvaginal in die Plazenta vorgeschoben, und es werden etwa 5–10 mg

Chorionzotten aspiriert. Das Gewebe besteht aus Trophoblastzellen und Zellen des mesenchymalen Kerns mit fetalen Gefäßen (Murken et al., 2017).

Für die genetische Diagnostik erfolgt – je nach Labor – meist zuerst eine zytogenetische Untersuchung mittels Direktpräparation. Diese spiegelt die

genetische Landschaft des Zytotrophoblast wider (Eggenhuizen et al., 2021). Alternativ kann auch eine QF-PCR (quantitative fluorescence polymerase chain reaction) als primäre Untersuchungsmethode angewendet werden. Diese hat den großen Vorteil, dass bereits nach 24-48 Stunden ein Ergebnis vorliegt; besonderes Augenmerk muss darauf gelegt werden, dass sowohl Trophoblastzellen als auch Zellen des mesenchymalen Kerns enthalten sind (Reilly et al., 2023). Anschließend erfolgt eine zytogenetische Untersuchung mittels Langzeitkultur der Chorionzotten, diese spiegelt wiederum die genetische Landschaft des mesenchymalen Kerns wider und reflektiert (aufgrund der embryologischen Entwicklung) besser die tatsächliche Genetik des Fetus als Zellen der Direktpräparation (Eggenhuizen et al., 2021). Molekulargenetische Analysen wie CMA (chromosomal microarray analysis) oder NGS (next generation sequencing) repräsentieren stets Zellen des Trophoblast, als auch des mesenchymalen Kerns (Miceikaite et al., 2025; Vogel et al., 2020).

Ein wesentlicher Vorteil der CVS besteht im frühen Diagnosezeitpunkt, was im Falle eines pathologischen Befunds einen weniger belastenden Schwangerschaftsabbruch ermöglicht und die Dauer der diagnostischen Unsicherheit reduziert. Dem steht gegenüber, dass im Falle eines Plazentamosaiks Diskrepanzen zwischen plazentarem und fetalem Genotyp auftreten können, die zu unklaren oder falsch-positiven Befunden führen.

### Amniozentese

Die Amniozentese ist die klassische invasive Methode der pränatalen Diagnostik im zweiten Trimenon, durchführbar ab der 16.Schwangerschaftswoche. Unter Ultraschallkontrolle wird eine Nadel transabdominal in die Fruchthöhle eingeführt und es werden etwa 20–30 ml Fruchtwasser aspiriert (Murken et al., 2017). Das Fruchtwasser enthält abgeschilferte fetale Zellen des Urogenitaltraktes, des GI-Traktes, des respiratorischen Systems und epithelialen Gewebes und repräsentiert die genetische Landschaft aller drei Keimblätter (Bamezai et al., 1980; Jiang et al., 2025). Die Amnionzellen, welche nicht aktiv proliferieren, werden für eine

Karyotypisierung sowie weiterführende genetische Analysen kultiviert (Murken et al., 2017).

Ein entscheidender Vorteil gegenüber der CVS besteht darin, dass primär fetale Zellen aus der Amnionflüssigkeit untersucht werden, wodurch diskrepante Befunde durch plazentare Mosaik gering sind.

Demgegenüber wird im Falle der Amniozentese der Faktor Zeit schlagend - im Falle eines pathologischen Befunds ist die Schwangerschaft bereits weiter fortgeschritten, was den Abbruch medizinisch und psychologisch belastender machen kann. Darüber hinaus verlängert die notwendige Zellkultur die die Zeitspanne zwischen Punktion und Diagnose. Diese Limitationen erklären, warum bei eindeutig hohem genetischem Risiko häufig eine frühere CVS bevorzugt wird, während die Amniozentese bei moderatem Risiko oder zur Bestätigung isolierter Ultraschallbefunde eine zentrale Rolle spielt.

### Fetales Nabelschnurblut

Die Fetalblutentnahme ist eine hochinvasive Methode, bei der unter Ultraschallkontrolle eine Punktion der Umbilikalvene erfolgt und fetales Blut gewonnen wird. Mit dem gewonnenen Blut lassen sich Parameter bestimmen, die mit Amniozentese oder CVS nicht oder nur indirekt zugänglich sind: Hämoglobin, Hämatokrit und Retikulozyten zur Diagnostik fetaler Anämien, Blutbild und Blutaussstrich bei hämatologischen Erkrankungen, serologische und molekulare Tests bei Infektionen (z. B. Parvovirus B19) sowie ggf. eine schnelle Karyotypisierung aus teilungsaktiven Lymphozyten. Diese Methode kann im späten zweiten oder dritten Trimenon eingesetzt werden, wenn eine schnelle Diagnostik notwendig ist oder wenn andere Untersuchungen keine eindeutige Antwort geliefert haben. Das Eingriffsrisiko ist im Vergleich zu CVS und Amniozentese erhöht: Es umfasst fetale Bradykardie, Blutungen aus der Punktionsstelle, Nabelschnurhämatome und eine höhere Rate an Fehl-/Frühgeburten. Somit wird

diese Technik nur sehr selten für eine genetische Analyse angewendet (Murken et al., 2017).

### Polkörperdiagnostik/Trophektodermbiopsie

Polkörperdiagnostik und Trophektodermbiopsie sind beides Verfahren der Präimplantationsdiagnostik, die in Zusammenhang mit assistierter Reproduktion (IVF) eingesetzt werden, um genetische Erkrankungen bereits Durchführung des Embryotransfers zu erkennen. Grundlage der Polkörperdiagnostik ist die Meiose der Oozyte: Aus einer primären Oozyte mit 46 Chromosomen gehen vier Tochterzellen hervor, von denen lediglich die sekundäre Oozyte den Hauptanteil des Zytoplasmas erhält, während die sogenannten Polkörper im perivitellinen Raum nahezu zytoplasmafrei liegen. Der erste Polkörper entsteht nach Abschluss der Meiose I, kann sich nochmals teilen und spiegelt den maternalen Chromosomensatz bzw. die Verteilung der Chromatiden wider. Bei der Polkörperbiopsie werden ein oder zwei Polkörper entnommen und genetisch analysiert. Da sie ausschließlich Information über die mütterliche Genetik enthalten, eignet sich die Methode zwar zur Abklärung maternalen Aneuploidien oder monogener Erkrankungen mit bekannter mütterlicher Mutation, ist aber durch das Fehlen paternalen und postzygotischer Informationen limitiert (Murken et al., 2017).

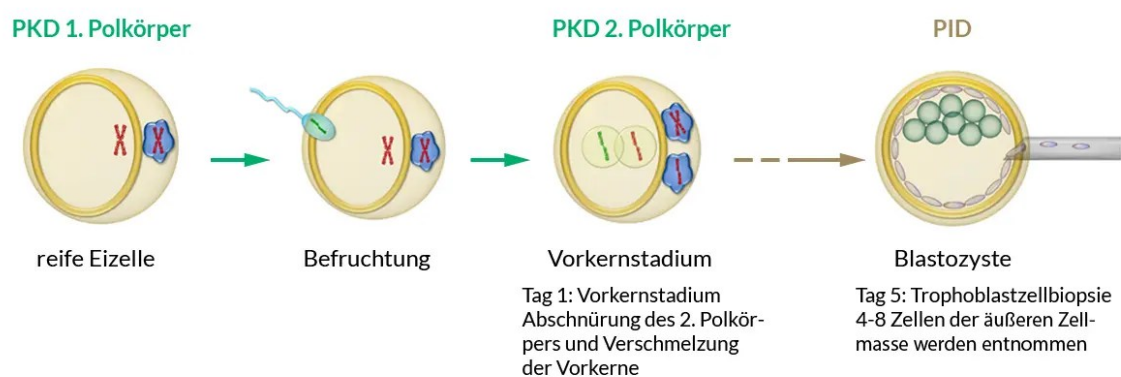


Abbildung 15 Eizellbefruchtung bis zum Blastozystenstadium

Quelle: <https://www.medicover-diagnostics.de/leistungsverzeichnis/humangenetik/praimplantationsdiagnostik-pid-und-polkorperdiagnostik-pkd>

Die Trophektodermbiopsie erfolgt im Blastozystenstadium, wenn sich Trophektoderm und innere Zellmasse bereits differenziert haben. Es werden einige Zellen aus dem Trophektoderm (dem Vorläufer des Chorions) entnommen, während die innere Zellmasse, aus der der Embryo hervorgeht, idealerweise nicht

geschädigt wird. Die gewonnenen Zellen können mittels moderner molekulargenetischer Verfahren (PCR, CMA, NGS) auf Aneuploidien und monogene Erkrankungen untersucht werden (Murken et al., 2017).

Ein zentraler Vorteil der Präimplantationsdiagnostik besteht darin, dass betroffene Embryonen gar nicht erst transferiert und die Notwendigkeit eines späteren Schwangerschaftsabbruchs reduziert wird. Die Limitationen sind jedoch erheblich: Die Trophektodermbiopsie untersucht Zellen, die später die Plazenta bilden. Mosaikbildungen können dazu führen, dass das Testergebnis den Genotyp der inneren Zellmasse/des Fetus nicht exakt widerspiegelt – ein Problem, das auch bei der CVS bekannt ist. Zudem ist die Durchführung auf IVF-Settings beschränkt. Die Polkörperdiagnostik wiederum erfasst nur die mütterliche Genetik und kann daher paternal bedingte Mutationen oder postzygotische Ereignisse nicht detektieren (Murken et al., 2017).

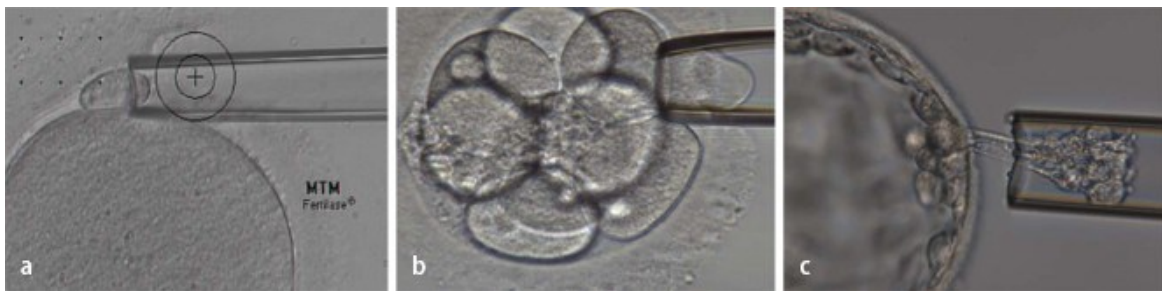


Abbildung 16 Präimplantationsdiagnostik im Rahmen der IVF  
Quelle: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11825-011-0306-8>

## Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Literaturlarbeit. Die Einleitung befasst sich mit den Grundlagen der Embryologie und der pränatalen Mosaikbildung, der für die pränatale Diagnostik verwendeten Untersuchungsmaterialien und den im Rahmen der pränatalen Diagnostik angewandten Analysemethoden. Die wissenschaftlichen Grundlagen werden v.a. anhand der Werke Basiswissen Humangenetik von Schaaf und Zschocke, Taschenlehrbuch Humangenetik von Murken und Taschenlehrbuch Embryologie von Sadler beschrieben.

Im zweiten Teil wird auf Basis von in den letzten Jahren publizierten Arbeiten, insbesondere Reviews, das Phänomen der Mosaikbildung in Kontext zu derzeit angewandten Handlungsalgorithmen gesetzt und die Interpretation von Ergebnissen kritisch beleuchtet.

Es erfolgte zuletzt am 08.12.2025 eine PubMed-Suche nach dem Mesh-Term „confined placental mosaicism“, welche 302 Ergebnisse erbrachte. Die Suche wurde erweitert um folgende Mesh-Terms:

- „confined placental mosaicism“ AND „NIPT“
- „confined placental mosaicism“ AND „fetal outcome“
- „confined placental mosaicism“ AND „array“
- „confined placental mosaicism“ AND „NGS“

Case Reports sowie nicht englisch- oder deutschsprachige Arbeiten wurden nicht genauer untersucht.

Zu diesem Thema wurden keine Leitlinien der Fachgesellschaften gefunden. Die zunehmende Entwicklung hin zur breiten Anwendung des Next Generation Sequencing als Analysemethode für pränatale Diagnostik und dessen Konsequenzen für die Beurteilung eines pränatalen Mosaiks wird kritisch diskutiert und schlussendlich ein Handlungsalgorithmus für die Auswahl der Probengewinnung, als auch die Auswahl der Analysemethode für die pränatale Diagnostik erstellt.

## Ergebnisse

### Klinische Relevanz des Plazentamosaiks

Studien gehen davon aus, dass bei ca. 2–3 % aller Schwangerschaften ein Plazentamosaik vorliegt, womit CPM keineswegs ein Raritätsphänomen ist, sondern eine regelmäßig anzutreffende Differenzialdiagnose in der pränatalen Medizin darstellt (Hamilton & Waters, 2012; Reilly et al., 2023). Die klinische Relevanz der CPM ergibt sich vor allem durch ihre Assoziation mit plazentarer Dysfunktion und den daraus resultierenden perinatalen Komplikationen. Systematische Übersichten und kontrollierte Kohortenstudien zeigen übereinstimmend, dass CPM eine relevante Rolle bei fetaler Wachstumsretardierung und SGA-Wachstum spielt, während das Risiko für Frühgeburt, intrauterinen Fruchttod und mütterliche Komplikationen je nach Chromosomenaberration, Mosaiktyp und Studiendesign deutlich variiert:

Chromosome	n	Chromosome	n
2	22	13	13
3	15	14	2
4	3	15	9
5	4	16	100
6	3	17	2
7	41	18	17
8	32	20	6
9	11	21	10
10	6	22	16
11	4	triploidy	3
12	8	tetraploidy	1

Abbildung 17 Fälle mit CPM und involviertem Chromosom  
Quelle: Eggenhuizen et al., 2021

Eine umfangreiche Literaturübersicht von Eggenhuizen et al. aus 2021 fasst 70 Publikationen mit insgesamt 328 Fällen zusammen und identifiziert die fetale Wachstumsretardierung als relevanteste Folgeerscheinung der CPM. In einer Untergruppe von 300 Schwangerschaften fanden sie bei rund 42% der Neugeborenen ein Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile und bei etwa 22,7% lag das Geburtsgewicht sogar unter der 3. Perzentile. Plazentamosaiken der Chromosomen 2, 3, 7, 13, 15, 22 und vor allem 16 zeigten einen besonders starken Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht (Eggenhuizen et al., 2021). Eine

Metaanalyse aus 2022 untersuchte die Ergebnisse aus acht retrospektiven Kohortenstudien und fand eine signifikant höhere Rate an Geburtsgewicht

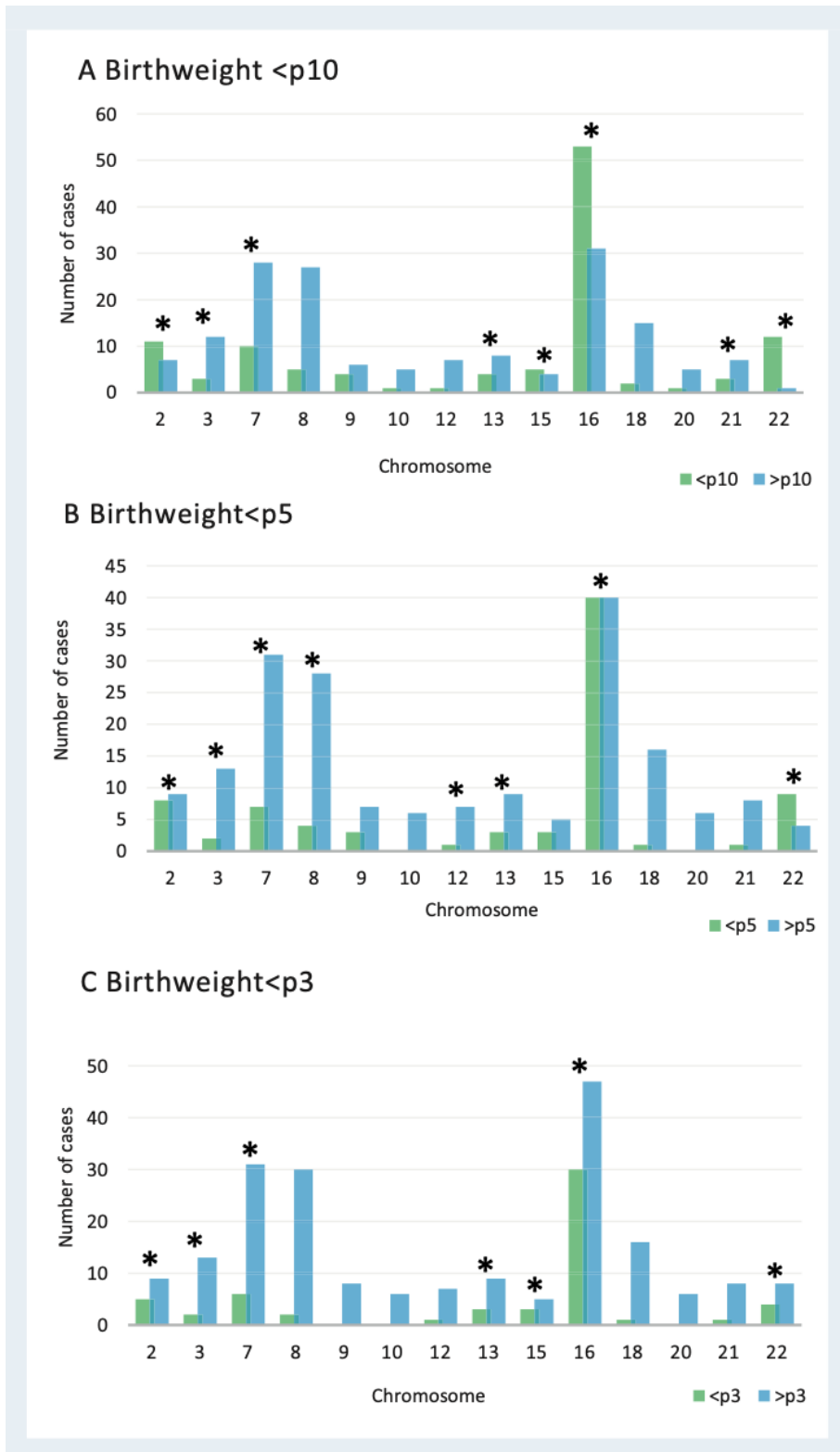


Abbildung 18 Fälle von CPM mit niedrigem Geburtsgewicht nach involviertem Chromosom  
Quelle: Eggenhuizen et al., 2021

<3. Perzentile in der Gruppe mit CPM im Vergleich zur Kontrollgruppe (16,49% vs. 3,56%). Besonders ausgeprägt war dieser Effekt im Falle eines CPM mit Trisomie 16, wo ein mehr als zehnfach erhöhtes Risiko für SGA berichtet wurde (Spinillo et al., 2022). Diese Ergebnisse zeigen, dass fetale Wachstumsretardierung zwar die zentrale klinische Manifestation der CPM ist, die absolute Risikoerhöhung aber stark durch das betroffene Chromosom beeinflusst wird. Ein Zusammenhang mit der Höhe des Mosaikanteils wurde 2024 von Eggenhuizen et al. untersucht und kam zu keinem einheitlichen Ergebnis – es fanden sich sowohl in Fällen mit niedriggradigem Mosaik Fälle von FGR als auch bei höhergradigen Mosaiken (Eggenhuizen, Go, et al., 2024). Vergleichbare Ergebnisse fand auch eine dänische Arbeitsgruppe um Thomsen et al. im Jahr 2024 (Thomsen et al., 2024).

Neben der fetalen Wachstumsretardierung wird weiters ein Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit, intrauterinem Fruchttod (IUFD) und maternalen Schwangerschaftskomplikationen beschrieben: Eggenhuizen et al. beschreiben in 19% der Fälle eine Geburt vor der 37. Schwangerschaftswoche, in 12% kam es zu einer frühen Frühgeburt vor der 32. Schwangerschaftswoche. Die Rate intrauteriner Fruchttode lag bei etwa 4%, wohingegen in ca. 5% der Fälle die Schwangerschaft abgebrochen wurde – zumeist handelte es sich um Fälle extremer FGR und/oder schwerwiegender fetaler struktureller Auffälligkeiten. Hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen bzw. Präeklampsie wurde in 14,5% der Fälle berichtet, wobei eine Schwangerschaft aufgrund einer schweren Präeklampsie beendet wurde (Eggenhuizen et al., 2021). Auch Thomsen et al. beobachteten eine Rate an Frühgeburt vor der 37. Schwangerschaftswoche von 15% (Thomsen et al., 2024). Andere Studien wiederum fanden keine erhöhte Inzidenz von Frühgeburt, Totgeburt oder Präeklampsie in der CPM-Gruppe im Vergleich zu den gematchten Kontrollen. Lediglich eine signifikant höhere Häufigkeit von Schwangerschaftshypertonie in der CPM-Gruppe (10 % vs. 2 %,  $p = 0,003$ ) wurde beschrieben (Baffero et al., 2012). Die Metaanalyse von Spinillo et al. liefert eine übergreifende Bewertung dieser Endpunkte: Über alle eingeschlossenen Studien hinweg war die Rate an Frühgeburten nicht signifikant höher als in den Kontrollgruppen. Hinsichtlich intrauteriner Fruchttode zeigte die Metaanalyse insgesamt kleine Fallzahlen, das Risiko hypertensiver

Schwangerschaftserkrankungen schien in etwa doppelt so hoch zu sein wie in den Kontrollgruppen (Spinillo et al., 2022).

Es gibt nur wenige Fälle mit berichteten Daten zum Outcome, aber der überwiegende Anteil berichtete von normalem „catch-up“ Wachstum, jedoch kam es in einigen Fällen auch zum postnatalen Versterben der Kinder – vor allem in Fällen früher und ausgeprägter Wachstumsretardierung (Eggenhuizen et al., 2021). Insgesamt kann für ein CPM generell eine gute Prognose ausgesprochen werden, wenn es sich nicht um ein CPM mit Trisomie 16 handelt, keine strukturellen Fehlbildungen vorliegen und das Vorliegen eines euploiden Chromosomensatzes beim Fetus mittels Fruchtwasseruntersuchung bestätigt wurde - dennoch kann das Vorliegen eines unerkannten, niedriggradigen fetalen Mosaiks und daraus resultierende Langzeitprobleme nicht ausgeschlossen werden. In jedem Fall sollte eine Schwangerschaft mit bestätigtem CPM v.a. im späten 2. und 3. Trimester intensiv überwacht werden in Hinblick auf die Entwicklung einer fetalen Wachstumsretardierung, Risiko für eine Frühgeburt und Auftreten mütterlicher Komplikationen wie hypertensive Schwangerschaftserkrankungen und Präeklampsie (Spinillo et al., 2022).

## Gegenbeispiel: TFM (true fetal mosaicism)

Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt auf der Entität des Plazentamosaiks, dennoch soll auch das Phänomen des „echten“ fetalen Mosaiks (TFM) nicht unerwähnt bleiben:

Wird im Rahmen einer CVS das Vorliegen eines Mosaiks festgestellt, handelt es sich in den meisten Fällen um ein Plazentamosaik. Die Inzidenz des TFM wird in der Literatur mit 10-28% der Mosaikfälle angegeben (Battaglia et al., 2014; Malvestiti et al., 2015). Generell ist das Vorliegen eines TFM wahrscheinlicher, wenn im Rahmen einer CVS auch Zellen des mesenchymalen Kerns die Veränderung aufweisen, da diese Zellen enger mit dem embryonalen Gewebe verwandt sind. Jedoch zeigten Grati et al., dass bei 12% der TFM-Fälle nur der Zytotrophoblast betroffen war und nicht der mesenchymale Kern (Grati, 2014) – eine nicht außer Acht zu lassende diagnostische Hürde.

Da es nur wenig Daten zu postnatalem Outcome bei autosomalen Mosaikformen gibt, stellt insbesondere die Beratung der werdenden Eltern eine große Herausforderung dar.

Die Untersuchung von Fruchtwasser ist die am besten geeignete Methode zur Detektion eines TFM, da sowohl Zellen des respiratorischen Systems, des Urogenitaltraktes, des GI-Traktes als auch epitheliale Zellen im Fruchtwasser zu finden und somit alle drei Keimblätter repräsentiert werden (Jiang et al., 2025; Sadler et al., 2020). Die meisten autosomalen Trisomien – mit Ausnahme von Trisomie 21, 18 und 13 – führen zum frühen Verlust der Schwangerschaft, eine Weiterentwicklung des Fetus über das 1. Trimester hinaus ist nur möglich, wenn die Trisomie in Mosaikform vorliegt – mit Ausnahme von Trisomie 1 und 19 (Jiang et al., 2025).

Jiang et al. publizierten 2025 eine Studie mit 37 bestätigten TFM-Fällen, entsprechend einer Prävalenz von ca. 1% der durchgeführten Amniozentesen. 22% der TFM-Fälle fanden sich auch sonographische Auffälligkeiten: Beide Trisomie 18 Fälle und der Trisomie 2 Fall zeigten strukturelle Fehlbildungen, dahingegen war nur bei 1/10 Trisomie 21 Fällen und bei 4/16 Monosomie X Fällen der Ultraschallbefund auffällig. Die angewendeten Untersuchungsmethoden unterschieden sich deutlich: In 31,1% erfolgte nur eine Karyotypisierung, 38,4% erhielten eine Karyotypisierung und CMA, 6,5% Karyotypisierung und FISH und

rund 24% erhielten Karyotypisierung, FISH und CMA. In allen vier Gruppen wurden Fälle mit TFM gefunden, jedoch kamen oftmals nicht alle durchgeführten Untersuchungen zu demselben Befund – in 27% der Fälle fanden sich inkongruente Ergebnisse mit z.B. auffälligem Karyogramm, aber unauffälliger CMA. Dies ist vor allem der unterschiedlichen Detektionsrate von Mosaikbildungen der jeweiligen Untersuchungsmethode geschuldet, wobei insbesondere niedriggradige Mosaikformen oft nicht erkannt werden können. In dieser Studienkohorte kam es bei vielen Mosaikformen der Monosomie X, in einem Fall einer RAT und bei Vorliegen von Translokationen zu Lebendgeburten unauffälliger Kinder, alle anderen Fälle resultierten in einem Schwangerschaftsabbruch (Jiang et al., 2025).

## Plazentamosaik in der Ära der CMA

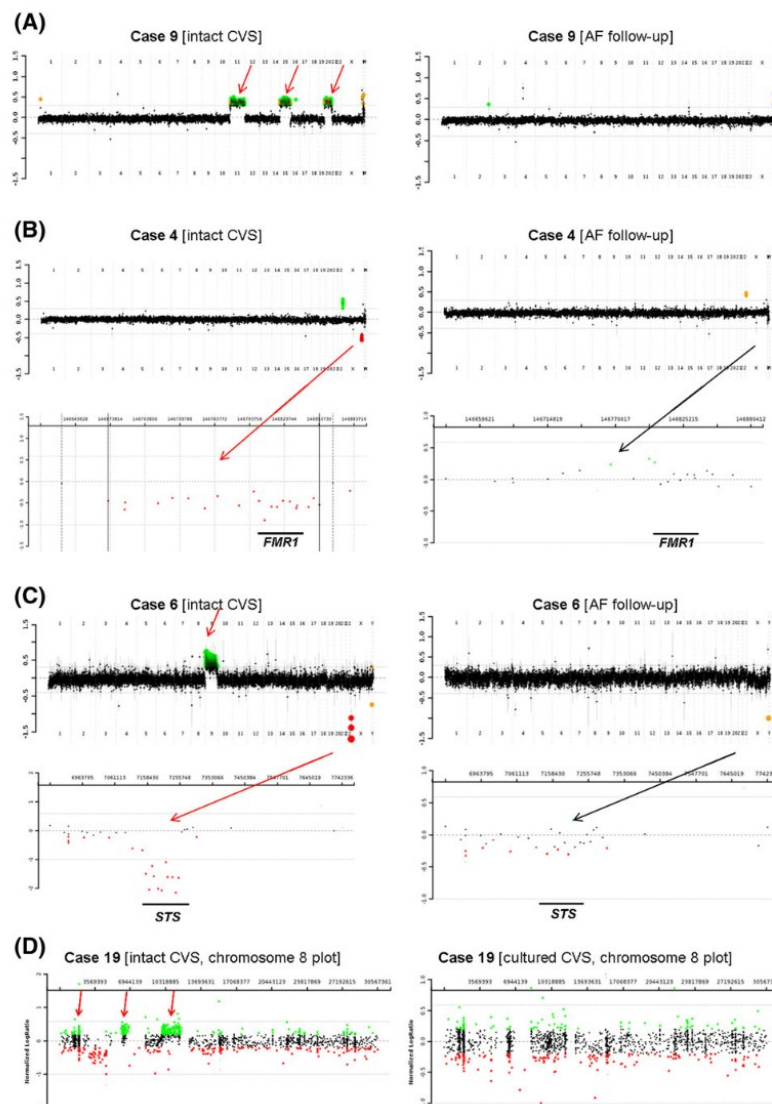
Über viele Jahre hinweg war die Standard-Untersuchung pränataler Proben das Karyogramm mit einer Auflösung von 5-10Mb, ab Mitte der 2010er Jahre rückte zunehmend die CMA in den Fokus der pränatalen Diagnostik. Bisher wurden fast ausschließlich Mosaikbildung ganzer Autosomen oder Gonosomen erkannt, die CMA ermöglichte nun auch die Beurteilung subchromosomaler Mosaikbildungen, wenngleich diese weitaus seltener zu sein scheinen. Der große Unterschied: Während für ein Karyogramm lediglich 20-30 Zellkerne analysiert werden, untersucht eine CMA die DNA tausender Zellen. Während die zytogenetische Untersuchung eine Unterscheidung zwischen Zytotrophoblast und mesenchyalem Kern der Plazentazotten zulässt, wird bei der CMA - je nach Labor - die DNA beider Zelllinien gemeinsam analysiert (Vogel et al., 2020), oder beispielsweise nur die Zellen der Kurzzeitkultur oder der Langzeitkultur untersucht. Zur pränatalen Diagnose submikroskopischer Mosaikbildungen in der Plazenta gibt es nur wenige Studien. Carey et al. publizierten 2014 erstmals 20 Fälle von CNVs in Mosaikform mit einer Erkennungsrate bei auch nur 9% Mosaikanteil – 4 Fälle wurden als CPM klassifiziert, 12 Fälle stellten sich als TFM heraus und in 4 Fällen konnte keine Zuordnung getroffen werden. Insgesamt fanden sie eine Rate von 1,78% Mosaikbildungen der CVS-Proben (Carey et al., 2014).

Gu et al. berichteten 2018 in einer retrospektiven Datenauswertung von 42/1382 unkultivierter CVS-Proben mit suszepter Mosaikbildung. In 12 Fällen erfolgte eine nachfolgende Fruchtwasseruntersuchung: In 3 Fällen ergab die AC denselben Befund wie die CVS und wurde somit als TFM bewertet, 9 Fälle wurden bei unauffälliger Genetik der Amnionzellen als CPM klassifiziert, in 5 Fällen fanden sich CNVs:

- CPM Typ II oder III: Primär auffälliger CMA-Befund → unauffälliger CMA der Amnionzellen, auffälliger Befund der CVS Langzeitkultur.
- CPM Typ I: Primär auffälliger CMA-Befund → unauffälliger CMA der Amnionzellen und der CVS Langzeitkultur.

Die Indikation für die genetische Untersuchung war in diesen Fällen unterschiedlich: Auffällige ETS-Biochemie, mütterliches Alter oder auch Ultraschallauffälligkeiten wie breite NT oder zystisches Hygrom. Insgesamt konnten Gu et al. in 3% aller

CVS-Proben mittels CMA eine Mosaikbildung detektieren, wobei 48% als CPM klassifiziert wurden (Gu et al., 2018).



**FIGURE 1** Chromosomal microarray analysis (CMA) plots from both chorionic villus sampling (CVS) and amniotic fluid (AF) sample types in confined placental mosaicism cases. A, Case 9: CMA whole genome plot from intact CVS (left) showing mosaic gain of chromosomes 11, 15, and 20, while plot from AF (right) shows no change. B, Case 4: CMA whole genome plot from intact CVS (left) showing mosaic loss at Xq27.3 involving the *FMR1* gene, while the plot from AF (right) shows no change. Enlarged CMA plots with arrows show the individual probe data for the region of the mosaic loss involving the *FMR1* gene. C, Case 6: CMA whole genome plot from intact CVS (top left) showing mosaic gain of chromosome 9 and the enlarged plot (bottom left) showing the individual probe data for the mosaic deletion of the *STS* gene. The respective plots from AF (right) show neither change. D, Case 19: CMA chromosome 8 plot from intact CVS (left) showing multiple mosaic gains on chromosome 8p, while plot from AF (right) shows none of the changes [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

Abbildung 19 Plazentamosaik von CNVs

Quelle: Gu et al., 2018

Lund et al. publizierten 2019 eine weitere Studie zum Thema CNVs und Plazentamosaik: Insgesamt wurden 2288 unkultivierte CVS-Proben mittels CMA analysiert, wobei in 93 Fällen eine Mosaikbildung erkannt wurde – entsprechend 4,1%. Die Indikation zur genetischen Untersuchung war in den meisten Fällen ein

erhöhtes Risiko im ETS, gefolgt von sonographischen Auffälligkeiten wie breite NT oder zystisches Hygrom und genetisch belastete frühere Schwangerschaft. In 64 Fällen handelte es sich um ein Mosaik eines ganzen Chromosoms, in 29 Fällen um ein CNV-Mosaik. In 67% erfolgte anschließend eine Untersuchung von Fruchtwasser, Nabelschnurblut oder fetalem Gewebe – der Großteil der anderen Fälle resultierte in einem Schwangerschaftsabbruch aufgrund schwerwiegender Ultraschallauffälligkeiten. Insgesamt fanden Lund et al. eine Prävalenz von 79% CPM und 21% TFM, entsprechend 11/14 Fällen von CPM submikroskopischer CNVs. Interessant sind vor allem die Daten zum klinischen Outcome dieser Kohorte: 89,8% der CPM-Schwangerschaften resultierten in einer Lebendgeburt, davon wurden 25% vor der 37. Schwangerschaftswoche geboren oder hatten ein niedriges Geburtsgewicht – bemerkenswert war in diesen Fällen ein statistisch signifikant niedriger PAPP-A MoM-Wert im ETS. Das Vorhandensein eines CNV-Plazentamosaiks schien im Hinblick auf ein ungünstiges fetales Outcome weniger Relevanz zu haben (Lund et al., 2020; Thomsen et al., 2024).

Zusammenfassend lässt sich aus diesen Daten ableiten, dass die Prävalenz eines Plazentamosaiks bei Verwendung eines CMA für CVS-Proben höher ist als bei konventioneller Karyotypisierung. Ein hier nicht außer Acht zu lassender Faktor ist, dass bei CMA Zellen von sowohl Zytotrophoblast als auch mesenchymalen Kerns beurteilt werden und es somit zu „falsch-positiven“ Resultaten kommen kann, wenn wie im Falle einer CPM Typ I ausschließlich der Zytotrophoblast betroffen ist und diese Zelllinie überrepräsentiert wird. Diese Daten untermauern vor allem, dass man das Vorliegen von CNVs in unkultivierten CVS-Proben mit Vorsicht bewerten und interpretieren muss, da es sich in den meisten Fällen nicht um TFM, sondern um eine auf die Plazenta beschränkte Auffälligkeit handelt. In solchen Fällen sollte der Befund mittels einer zweiten Probe aus z.B. Fruchtwasser bestätigt oder widerlegt werden. Die Auswirkung eines CNV-Plazentamosaiks auf die Plazentafunktion scheint jedoch geringer ausgeprägt zu sein als beim Vorliegen eines Plazentamosaiks ganzer Chromosomen.

## Plazentamosaik in der Ära des NIPT

Die Einführung des NIPT auf Basis zellfreier DNA als Screeningmethode für Trisomie 21, 18 und 13 haben die Welt der pränatalen Diagnostik grundlegend verändert, denn sie bieten sehr hohe Detektionsraten (DR) bei zugleich äußerst niedrigen falsch-positiv Raten (FPR). In einer großen Metaanalyse lag die gepoolte DR für Trisomie 21 bei 99,7% bei einer FPR von lediglich 0,04%, für Trisomie 18 wurden 97,9% DR und 0,04% FPR, für Trisomie 13 99,0% und 0,04% berichtet. Für die Monosomie X ergaben sich 95,8% Detektionsrate und 0,14% falsch-positiv Rate und somit eine häufigere Diskordanz zwischen NIPT-Befund und tatsächlichem fetalen Karyotyp. Insgesamt lag die kombinierte falsch-positive Rate für die drei häufigen Trisomien bei nur 0,13% (Gil et al., 2017). Dennoch sind falsch-positive Befunde klinisch hochrelevant, da sie weitere invasive Diagnostik, erhebliche elterliche Verunsicherung und - im Extremfall - Fehlentscheidungen hinsichtlich eines Schwangerschaftsabbruches nach sich ziehen können. Der positiv-prädiktive Wert (PPV – positive predictive value) des NIPT hängt stark vom bestehendem Ausgangsrisiko ab; er ist höher, wenn ein NIPT aufgrund eines bereits bekannten erhöhten Risikos für Chromosomenstörungen im ETS durchgeführt wird und niedriger, wenn er als Screeningtest in einem Niedrigrisiko-Kollektiv angewendet wird. Für Trisomie 21 liegt der PPV bei hohem Vortest-Risiko bei 94,1%, sinkt aber in einer Niedrigrisikopopulation auf 81,3%. Für Trisomie 18 werden 89% PPV in der Hochrisiko- und 68% in der Niedrigrisiko-Gruppe angegeben, für Trisomie 13 85% versus 61%. Für Monosomie X beträgt der PPV lediglich 39% bei hohem und 26% bei niedrigem Vortest-Risiko (Reilly et al., 2023). Diese Zahlen verdeutlichen, dass insbesondere im Screening von Niedrigrisikokollektiven sowie im Bereich der Geschlechtschromosomen ein erheblicher Anteil der auffälligen NIPT-Resultate falsch-positiv ist und eine weitere Abklärung dringend erforderlich ist.

## Ursachen falsch-positiver NIPT-Ergebnisse

### CPM – Vorliegen eines auf die Plazenta beschränkten Mosaiks

Die wichtigste und häufigste Ursache falsch-positiver Resultate ist das Vorliegen eines Plazentamosaiks. Der NIPT analysiert ausschließlich cfDNA, die aus Zytotrophoblastzellen der Chorionzotten stammt und keine fetale DNA (Bianchi &

Chiu, 2018; Raymond et al., 2024). Da die allermeisten autosomalen Trisomien nach der 10.SSW nicht mit dem Leben vereinbar sind, ist davon auszugehen, dass es sich im Falle eines auffälligen NIPT um ein Plazentamosaik einer RAT handelt - dies gilt selbstverständlich nicht für die Trisomien 21, 18 und 13 (Raymond et al., 2024). Acreman et al. beschreiben in einer Meta-Analyse, dass ca. 90% der untersuchten Feten, die einen auffälligen NIPT-Befund bzgl. einer RAT zeigten, nicht von einer Trisomie betroffen waren, was das Vorliegen eines Plazentamosaiks als die wahrscheinlichste Ursache suggeriert (Acreman et al., 2023). Der Pathomechanismus beruht hier auf den unterschiedlichen Formen des CPM je nach beteiligter Zelllinie: CPM Typ I beschreibt auf die Zellen des Zytotrophoblast beschränkte Veränderungen, bei CPM Typ II finden sich die veränderten Zellen im mesenchymalen Kern der Plazentazotten und bei der CPM Typ III in beiden Zelllinien. Nur CPM Typ I und Typ III bedingen ein falsch-positives NIPT-Ergebnis (Raymond et al., 2024).

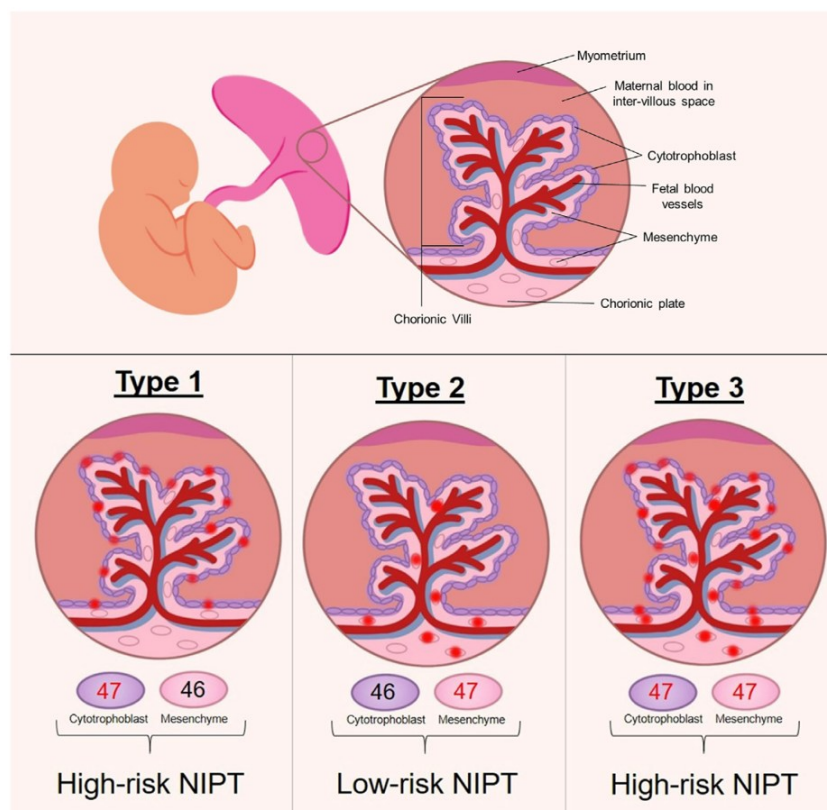


Abbildung 20 Formen des CPM im Kontext des NIPT  
 Quelle: Raymond et al., 2023

Eine für die bessere Beurteilung des Phänomens Plazentamosaik und NIPT relevante Arbeit stammt von Eggenhuizen et al. Hier wurde der genetische

„Fingerabdruck“ von Plazenten, wo anhand eines NIPT der Verdacht auf Plazentamosaik gestellt wurde, in unterschiedlichen Regionen mittels SNP-Array analysiert. Ziel war es zu erfassen, in welchem Ausmaß chromosomal abnorme Zelllinien lokal begrenzt oder über die Plazenta (homogen) verteilt sind. Die Ergebnisse zeigten, dass ein erheblicher Anteil der Biopsien trotz bestätigter CPM vollkommen unauffällig war und insgesamt der Großteil der entnommenen Proben einen normalen Karyotyp aufwies. Chromosomal abnorme Zellen wurden häufig nur in einem Teil der untersuchten Proben gefunden und sind bevorzugt im Zytotrophoblast angesiedelt, während der mesenchymale Kern häufiger unauffällig blieb. Die in dieser Studie beobachtete inhomogene Verteilung chromosomal aberranter Zellen erklärt, warum der NIPT in der Lage ist, auch kleinflächige, auf den Trophoblast begrenzte Veränderungen zu detektieren, während eine Plazentabiopsie die veränderten Zellen „verfehlen“ kann. Für die pränatale Diagnostik bedeutet dies: Ein auffälliges cfDNA- oder CVS-Ergebnis kann durch lokalisierte CPM bedingt sein und ein scheinbar normaler CVS-Befund schließt eine CPM keineswegs aus (Eggenhuizen, Van Veen, et al., 2024).

### Vanishing-Twin-Syndrom

„Vanishing twin“ bezeichnet ein frühes Versterben einer zweiten Schwangerschaftsanlage noch im 1. Trimester, was in einer vitalen Einlingsschwangerschaft endet. Etwa 15-35% aller Zwillingschwangerschaften sind betroffen und geschätzt bis zu 10% aller IVF-Schwangerschaften mit resultierender Einlingsschwangerschaft waren ursprünglich Zwillingschwangerschaften (Acreman et al., 2023; Batsry & Yinon, 2022; De Neubourg et al., 2022). Ein Vanishing-Twin-Syndrom wird in sehr vielen Fällen nicht diagnostiziert, wenn die erste Ultraschalluntersuchung erst in einer späteren Schwangerschaftswoche erfolgte oder die zweite Fruchtanlage schlicht und einfach nicht erkannt wurde.

Der Grund für das Versterben der zweiten Fruchtanlage ist in vielen Fällen das Vorliegen einer Aneuploidie, was in einem nachfolgend durchgeführten NIPT ein falsch-positives Ergebnis bewirken kann. Hier wird nicht der Chromosomensatz des vitalen Fetus abgebildet, sondern der des verstorbenen Zwillings. Dieser kann bis zu 15 Wochen nach dem Absterben DNA in das mütterliche Plasma abgeben, wobei die Wahrscheinlichkeit, dass diese DNA im NIPT erkannt wird und ein falsch-

positives Ergebnis generiert mit der Zeit zunehmend geringer wird (Acreman et al., 2023; Balaguer et al., 2021). Es wird geschätzt, dass bei ca. 15% der falsch-positiven NIPT-Befunde ein Vanishing-Twin-Syndrom ursächlich ist, wobei dies aufgrund der schlechten Detektionsrate eher unterschätzt werden dürfte (Batsry & Yinon, 2022). Besonders hervorzuheben ist das Vanishing-Twin-Syndrom auch in Zusammenhang mit Geschlechtsdiskrepanz zwischen NIPT und fetalem Geschlecht, wenn das Y-Chromosom eines verstorbenen Zwillings im NIPT erkannt wird (Bianchi & Chiu, 2018).

Dieses Problem kann nur mittels SNP-basierter Plattformen erkannt und als Fehlerquelle eliminiert werden (Acreman et al., 2023; Curnow et al., 2015).

#### Vorliegen eines Mosaiks bei der Mutter

Neben plazentaren Mosaiken spielt die mütterliche Chromosomenkonstitution eine zentrale Rolle, denn ausschließlich SNP-basierte NIPT-Plattformen sind in der Lage, zwischen maternaler und fetaler cfDNA zu unterscheiden (Acreman et al., 2023; Curnow et al., 2015). Hierbei kann es sich um Mosaik ganzer Chromosomen handeln oder auch um Mosaik von CNVs: Zhou et al. beschrieben 2017, dass in etwa 8,1% der falsch-positiven NIPT-Befunde auf dem Vorliegen maternaler nicht-pathogener segmentaler Duplikationen des betreffenden Chromosoms beruhen. Diese maternalen segmentalen Duplikationen zeigten eine Größe von 1.76-10.90 Megabasen, wobei je nach verwendeter NIPT-Plattform CNVs unterschiedlicher Größe erkannt werden können und dies vor allem auch von der fetalen Fraktion abhängig ist (Shen et al., 2024). Den größten Anteil falsch-positiver Befunde aufgrund mütterlicher Mosaikbildung stellen Aneuploidien der Geschlechtschromosomen dar, vor allem Monosomie X und Trisomie X in Mosaikform. Beachtenswert ist hier auch der wissenschaftlich gut belegte altersabhängige Verlust eines X-Chromosoms in Blutzellen von Frauen. Seltenerer Ursachen umfassen vorangegangene Bluttransfusionen oder Organtransplantationen z.B. eines männlichen Spenders (Raymond et al., 2024).

#### Uterus myomatosus

Leiomyome des Uterus stellen einen der häufigsten gutartigen Tumore bei Frauen dar – in etwa 11% der Schwangeren sind betroffen (Coutinho et al., 2022). Vor allem große Myome besitzen zum Teil im Karyogramm erkennbare

Chromosomenaberrationen – wobei vor allem falsch-positive NIPT-Befunde bezüglich RATs und submikroskopischer Veränderungen darauf zurückgeführt werden. Insgesamt ist die FPR auch bei Uterus myomatosus mit 2% niedrig, wenngleich etwas höher als bei Frauen ohne Uterus myomatosus – somit sollte ein auffälliges Resultat hier noch strenger evaluiert werden (Raymond et al., 2024).

### Maternale Malignome

Ein besonders eindrücklicher, wenn auch seltener Mechanismus falsch-positiver NIPT-Resultate ist das Vorliegen einer bisher nicht diagnostizierten malignen Erkrankung der Mutter. Der größte Anteil der cfDNA im Plasma ist mütterlichen Ursprungs, etwa 85-90% und dieser steigt bei Vorhandensein eines Malignoms noch weiter an. Raymond et al. berichten aus der TRIDENT-2-Studie, dass bei 231.896 durchgeführten NIPT-Untersuchungen 51 Befunde als verdächtig auf eine Malignität interpretiert wurden - bei 18 Frauen (35%) konnte daraufhin tatsächlich ein Tumor nachgewiesen werden, vorwiegend handelte es sich um hämatologische Neoplasien. Die Tumorinzidenz in dieser Kohorte betrug 0,0096% - was bei einer bekannten Prävalenz von 0,1% maligner Erkrankungen in der Schwangerschaft bedeuten würde, dass 85-90% der Krebserkrankungen nicht über einen falsch-positiven NIPT entdeckt wurden. Insgesamt gesehen ist das Vorhandensein einer mütterlichen malignen Erkrankung eine sehr seltene Ursache für einen falsch-positiven NIPT-Befund und kann vor allem im Falle multipler Chromosomenanomalien als Differentialdiagnose Beachtung finden (Heesterbeek et al., 2022; Lannoo et al., 2021; Raymond et al., 2024).

### Fetale Fraktion

Ein zentraler technischer Parameter ist die sogenannte „fetal fraction“ oder auch fetale Fraktion - also der Anteil fetaler cfDNA im maternalen Plasma. Diese ist abhängig von Gestationsalter, Plazentagröße und mütterlichem Body-Mass-Index (BMI). Ein hoher BMI ist mit einer niedrigen fetalen Fraktion assoziiert, was durch eine Verdünnung der plazentaren cfDNA bei zugleich erhöhtem Hintergrund aus mütterlichen cfDNA-Fragmenten erklärt wird, was zu einem erhöhten Anteil an „no-call“-Resultaten führt. Eine niedrige fetale Fraktion, üblicherweise unterhalb eines Schwellenwertes von etwa 4%, werden mit einer erhöhten Rate unzuverlässiger NIPT-Ergebnisse in Verbindung gebracht, wobei es häufiger zu falsch-negativen

Ergebnissen als zu falsch-positiven kommt (Raymond et al., 2024; Scott et al., 2018).

#### Statistisch bedingte Grenzfälle und technische Fehler

In einem systematischen Review von Hartwig et al. aus 2017 konnte in 67% der Fälle weder ein biologischer noch ein technischer Grund für den falsch-positiven NIPT-Befund gefunden werden (Hartwig et al., 2017).

## Plazentamosaik in der Ära des Next Generation Sequencing

Next Generation Sequencing (NGS) hat die pränatale Diagnostik grundlegend verändert. Plötzlich war es möglich, nicht nur numerische Chromosomenaberrationen, submikroskopische Deletionen und Duplikationen und wenige einzelne Gene gezielt untersuchen zu können, sondern das komplette menschliche Exom – alle für Proteine kodierende Sequenzen – mittels einer einzigen Untersuchung zu evaluieren. Je nach Indikationsstellung kann entweder ein WES (Whole Exome Sequencing) oder ein WGS (Whole Genome Sequencing) erfolgen.

Untersucht werden im pränatalen Bereich vorwiegend Chorionzotten oder Amnionzellen, wobei auch der wgNIPT (whole genome NIPT) zunehmend in den Fokus rückt. Vor diesem Hintergrund muss auch das Phänomen des Plazentamosaiks kritisch beleuchtet werden:

Rezente Studien zeigen, dass CPM auf dem Level von SNVs (single nucleotide variants) weitaus häufiger in reifem Plazentagewebe gefunden wird als numerische Chromosomenaberrationen (Coorens et al., 2022). Aufgrund der ethischen Problematik, Gewebe gesunder Plazenten zu verschiedenen Zeitpunkten während der Schwangerschaft zu untersuchen, sind die Daten zum Auftreten kleiner postzygotischer Varianten sehr limitiert. Die Arbeit von Miceikaite et al. liefert erstmals eine systematische Charakterisierung von Plazentamosaikern auf Sequenzebene in verschiedenen Gestationsstadien mithilfe von deep whole genome sequencing. Ein zentrales Ergebnis ist, dass in allen 24 Plazentabiopsien klonale Expansionen postzygotischer Varianten nachweisbar waren. Klinisch relevant ist, dass der überwiegende Teil dieser postzygotischen Varianten in nicht-kodierenden Regionen lag und pro Fall nur 4–11 Varianten von insgesamt 254-998 entdeckten Varianten im kodierenden Bereich nachweisbar waren, sodass die Mehrzahl der plazentabezogenen Sequenzveränderungen wahrscheinlich keine unmittelbare pathogenetische Bedeutung hat (Miceikaite et al., 2025). Gleichzeitig zeigen die Daten, dass die Plazenta eine ausgeprägte klonale Evolution mit zunehmendem Gestationsalter durchläuft. Die meisten SNVs wurden in reifem Plazentagewebe gefunden – damit wird klar, dass NGS-basierte Diagnostik aus Chorionzotten zwangsläufig in einem Kontext stattfindet, in dem Mosaikbefunde vorliegen und sogar dominieren können. Für die Interpretation bedeutet dies, dass

Varianten mit niedriger Variant Allele Frequency (VAF) häufig plazentare Sequenzvarianten ohne fetalen Bezug repräsentieren und nicht vorschnell als fetale Mosaikbefunde gewertet werden dürfen. Trotz der ausgeprägten klonalen Heterogenität zeigt die Studie eine bemerkenswert hohe Übereinstimmung zwischen fetalem Genom und Plazenta, wenn es um de-novo Keimbahnvarianten geht. Über alle Fälle hinweg wurden im fetalen Gewebe 52-72 de-novo-SNVs pro Fall identifiziert, wovon 0–2 pro Fall im kodierenden Bereich lagen. Diese de-novo Keimbahnvarianten wurden in allen untersuchten Plazentabiopsien und in den verfügbaren CVS-Proben mit 100 % Recall-Rate wiedergefunden. Aus Sicht der NGS-basierten pränatalen Diagnostik bedeutet dies, dass WES/WGS an Plazentagewebe die tatsächlich vorliegenden fetalen de-novo-Varianten mit hoher Sensitivität erfasst, während zusätzliche plazenta-spezifische SNVs zwar häufig sind, aber durch ihr typischerweise niedrigeres VAF-Niveau und die fehlende Reproduzierbarkeit in Fruchtwasser oder fetalem Gewebe unterschieden werden können. Erfolgte eine Untersuchung von Amnionzellen konnten keine genetischen Unterschiede zu fetalem Referenzgewebe nachgewiesen werden, was den Status der Fruchtwasser-Probe als „Goldstandard“ unterstreicht, wenn im NGS ein klinisch relevanter Mosaikbefund in der Plazenta vermutet wird (Miceikaite et al., 2025).

Im Hinblick auf cfDNA-basierte NGS-Verfahren, wie sie auch für whole genome NIPT-Ansätze verwendet werden, zeigen die Daten ein deutliches Bild: Während alle kodierenden fetalen de-novo-SNVs im Rahmen einer früheren Arbeit in der cfDNA mit hoher Sensitivität identifiziert werden konnten, ließ sich von den kodierenden plazentaren Varianten in der aktuellen Studie nur eine Variante im cfDNA-Exom nachweisen, für andere waren lediglich wenige Reads unterhalb der Rauschschwelle sichtbar. Daraus leiten die Autoren ab, dass plazentare postzygotische Varianten – selbst bei sehr tiefer Sequenzierung des cfDNA-Exoms – oft unterhalb der Nachweisgrenze liegen, während echte fetale de-novo-Varianten robust detektiert werden. Für wgNIPT-Ansätze bedeutet dies einerseits eine hohe Spezifität für fetale Keimbahnvarianten, andererseits aber eine nur eingeschränkte Erfassbarkeit plazentabegrenzter Mosaikvarianten auf Sequenzebene (Miceikaite et al., 2025).

## Auswahl der Probengewinnung – Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese?

Die Antwort auf diese Frage ist: Es kommt auf die Indikation zur Durchführung einer genetischen Untersuchung an. Es gibt hier keine allgemein gültige Antwort, viel mehr ist die genaue Kenntnis der pathophysiologischen Besonderheit des Plazentamosaiks essenziell für die differenzierte Auswahl der Probengewinnung.

Der große Vorteil der Chorionzottenbiopsie ist der Faktor Zeit: Sie kann bereits ab der 10.-11.SSW durchgeführt werden und liefert somit das schnellstmögliche Ergebnis. Für werdende Eltern stellt eine wochenlange Wartezeit auf ein vielleicht ungünstiges Ergebnis eine immense Herausforderung dar. Das Hauptkriterium – vor allen anderen Faktoren – ist jedoch die Validität des Ergebnisses, denn die Durchführung eines Schwangerschaftsabbruches aufgrund eines falsch-positiven Befundes stellt eine wahrlich verheerende Möglichkeit dar.

Die wichtigste Frage ist: Was ist der Grund für die Durchführung einer invasiven Diagnostik? Je nachdem ist das Vorliegen eines Plazentamosaiks entweder sehr unwahrscheinlich oder durchaus eine nicht außer Acht zu lassende Möglichkeit.

Ausschlaggebend ist das Vorliegen eines auffälligen Ultraschallbefundes. In solchen Fällen kann eine Chorionzottenbiopsie als frühzeitige Abklärungsmethode Anwendung finden. Ist hingegen der Grund für eine weiterführende genetische Untersuchung ein auffälliger NIPT oder eine auffällige Serum-Biochemie beim Ersttrimesterscreening, der Fetus sonographisch aber unauffällig, stellt dies oft eine Herausforderung dar. NIPT bzw. die Analyse von cfDNA und  $\beta$ -HCG/PAPP-A ist beides ein Plazenta-Screening. Falsch-positive Ergebnisse können unter anderem durch CPM, Vanishing twin, maternale CNVs, maternale Mosaikzustände oder maternale Malignome entstehen. Deshalb sollte jeder Befund, der einer invasiven genetischen Abklärung bedarf, zunächst eine genetische Beratung und eine qualifizierte Ultraschalluntersuchung erhalten.

In den letzten Jahren findet auch in Österreich der NIPT eine immer breitere Anwendung, leider oftmals ohne die Durchführung einer qualifizierten Ultraschalluntersuchung und ohne Aufklärung über Methodik, Wesen und Aussagekraft dieses Tests – vor allem, was den positiv prädiktiven Wert betrifft. In einer großen Studie lag das PPV bei 95% für Trisomie 21, 82% für Trisomie 18 und 46% für Trisomie 13 (Liang et al., 2019). Hier spielt auch CPM eine relevante Rolle. In einer Analyse von über 52 000 CVS-Proben mit Kurz- und Langzeitkultur zeigten

965 Proben Mosaikbefunde in der Direktpräparation, also des Zytotrophoblast - analog zur cfDNA. Eine CPM lag bei 22% der Trisomie-13-Fälle, bei 4% der Trisomie-18- und bei 2% der Trisomie-21-Fälle vor. Zeigte die CVS eine Mosaikbildung, betrug die Wahrscheinlichkeit eines auffälligen Befundes der Amniozentese nur 4% bei Trisomie 13, 14% bei Trisomie 18 bzw. 4% bei Trisomie 21 (Grati, 2014). Somit besteht vor allem für die Trisomie 13 eine hohe CPM-Rate, sodass ein positiver cfDNA-Befund ohne zusätzliche Auffälligkeiten eher ein plazentares Mosaik als eine echte fetale Trisomie widerspiegelt. Ist der Ersttrimester-Ultraschall unauffällig, sollte vorrangig eine Amniozentese als Bestätigungstest angeboten werden, da sie den fetalen Karyotyp zuverlässiger abbildet. Liegen dagegen bereits im ersten Trimester strukturelle Auffälligkeiten vor, kann aufgrund der hohen Fehlbildungsrate bei fetaler Trisomie 13 eine frühe CVS sinnvoll sein, um schnell Klarheit zu schaffen. Bei Nachweis eines Mosaiks ist dann eine Amniozentese zur Unterscheidung zwischen CPM und fetalem Mosaik obligat. Bei Trisomie 18 und 21 ist die CPM-Rate niedriger. Hier halten die Autorinnen CVS in der Regel für einen geeigneten Erstlinientest nach auffälligem cfDNA-Screening, insbesondere wenn ein früher Diagnosezeitpunkt für die Entscheidungsfindung wichtig ist. Wird in der CVS ein Mosaik gefunden, soll auch hier eine Amniozentese folgen, um zwischen CPM und echtem fetalem Mosaik zu differenzieren. Für Monosomie X ist die Situation eine andere. Das PPV des cfDNA-Screenings liegt nur bei etwa 25%, deutlich niedriger als für die häufigsten autosomalen Trisomien. Ursache sind neben CPM insbesondere maternale Mosaikzustände sowie das Vanishing-twin-Syndrom. In einer großen Kohorte von 52 673 Schwangerschaften mit sowohl CVS als auch Amniozentese wurde bei auffälligem NIPT für Monosomie X in 59% der Fälle ein CPM nachgewiesen (Grati, 2014). Auch hier hilft der pränatale Ultraschall bei der Einordnung: In einer französischen Multizenterstudie zu pränatal diagnostizierter Turner-Konstellation zeigten 84 % der Feten sonographische Auffälligkeiten (v. a. erhöhte NT und zystisches Hygrom) (Gruchy et al., 2014). Somit wird bei primär eine CVS empfohlen, wenn sonographische Auffälligkeiten zu finden sind, andernfalls sollte eine Amniozentese durchgeführt werden (Mardy & Norton, 2021).

Für seltene autosomale Trisomien (RAT), die nur von einigen Laboren im erweiterten NIPT-Panel angeboten werden, gibt es eine klare Präferenz zugunsten der Amniozentese. Etwa 0,47% aller cfDNA-Tests zeigen einen auffälligen Befund

für eine RAT - nur rund 15% davon repräsentieren eine echte fetale Trisomie. Anzumerken ist auch, dass hier der Fetus meist nicht lebensfähig ist, sodass nur Mosaikbefunde bis ins 2. Trimester und darüber hinaus vorkommen (Benn & Grati, 2018). Somit ergibt sich hier generell die Empfehlung zur Amniozentese – mit Ausnahme der Chromosomen, für die Imprinting-Krankheiten bekannt sind (6, 7, 11, 14, 15, 20): Hier wird eine CVS als erster Schritt empfohlen, gefolgt von einer Amniozentese, falls die CVS einen auffälligen Befund zeigt ist. Hintergrund ist das Risiko einer uniparentalen Disomie nach Trisomy-Rescue. Ist die Amniozentese unauffällig, sollten anschließend Methylierungsuntersuchungen auf UPD erfolgen (Mardy & Norton, 2021).

Zeigt nach auffälligem NIPT eine Amniozentese einen unauffälligen Befund, sollte insbesondere bei Trisomie-16 eine Wachstumskontrolle im 3. Trimester erfolgen.

Wichtig für die korrekte Interpretation eines eventuell vorliegenden Mosaikbefundes in der CVS ist die Untersuchung beider Zelllinien – Zytotrophoblast und mesenchymaler Kern. Erfolgt beispielsweise lediglich eine QF-PCR oder eine MLPA kann dies nicht unterschieden werden. Somit sollte im Falle eines auffälligen Befundes – aber sonographisch unauffälligem Fetus – in jedem Fall eine Amniozentese als Folgeuntersuchung durchgeführt werden.

Chromosome	Category	Suggested invasive procedure	Other considerations
Trisomy 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 19, 22	Rare autosomal trisomy	Normal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: amniocentesis Abnormal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: CVS	3 <sup>rd</sup> trimester growth scan (especially in trisomy 16)
Trisomy 6, 7, 11, 14, 15, 20	Rare autosomal trisomy, imprinted genes	CVS, followed by amniocentesis if abnormal	If fetus unaffected, consider methylation studies
Trisomy 13	Common aneuploidy, high rate of CPM	Normal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: amniocentesis Abnormal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: CVS	Amniocentesis if mosaicism on CVS
Trisomy 18, 21	Common aneuploidy, low rate of CPM	CVS	Amniocentesis if mosaicism on CVS
Monosomy X	Common aneuploidy, high rate of CPM	Normal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: amniocentesis Abnormal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: CVS	If unaffected fetus, consider maternal karyotype for mosaic Turner syndrome
Multiple aneuploidies	Risk of maternal malignancy	Normal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: amniocentesis Abnormal 1 <sup>st</sup> trimester ultrasound: CVS	If unaffected fetus, consider work up for maternal malignancy

Abbildung 21 CVS oder AC nach auffälligem NIPT?  
Quelle: Mardy et al., 2021

## Diskussion

### Ausblick in die Zukunft:

#### NGS als alleinige Untersuchungsmethode – One size fits all?

Die pränatale Diagnostik befindet sich seit einigen Jahren in einem tiefgreifenden Wandel. Während die klassische Zytogenetik mit Metaphase-Karyogramm über Jahrzehnte den Goldstandard darstellte und schließlich durch Microarrays eine wichtige Erweiterung der Diagnostik etabliert wurde, verschiebt sich der Schwerpunkt zunehmend hin zu Next Generation Sequencing. Parallel dazu hat sich die Analyse zellfreier fetaler DNA im mütterlichen Plasma als nicht-invasives Screeningverfahren für häufige Aneuploidien etabliert. Vor diesem Hintergrund drängt sich die Frage auf, ob NGS mittelfristig als alleinige Untersuchungsmethode ausreichen könnte und ob eine Art „one size fits all“-Ansatz in der Pränataldiagnostik realistisch und verantwortbar wäre.

Um diese Frage beantworten zu können, muss zunächst klar sein, worin die jeweiligen Stärken und Grenzen der einzelnen Verfahren liegen. Das konventionelle Karyogramm bietet einen Überblick über das gesamte Genom mit einer Auflösung im Megabasenbereich und ist besonders geeignet, kostengünstig numerische Aberrationen, große Deletionen und Duplikationen, balancierte Translokationen und komplexe strukturelle Umlagerungen zu erfassen, ohne dabei durchaus nicht unbedenkliche Mengen persönlicher genetischer Zusatzdaten zu generieren. Microarrays verschieben die Detektionsschwelle in den submikroskopischen Bereich und erlauben den Nachweis von Mikrodeletionen und -duplikationen, die dem Karyogramm entgehen. NGS wiederum erweitert das Spektrum in Richtung monogener Erkrankungen und kleiner struktureller Varianten und kann auch Kopienzahlveränderungen und zum Teil strukturelle Varianten erfassen. In der nicht-invasiven Diagnostik wird NGS in Form des NIPT eingesetzt, der meist auf low-coverage whole-genome-Sequenzierung der zellfreien DNA beruht, und in der invasiven Diagnostik als Whole-Exome- oder Whole-Genome-Sequenzierung von Plazenta- oder Amnionzellen.

Eine entscheidende, oft nicht genug Bedeutung findende Frage, ist die der Probenherkunft. Die Chorionzottenbiopsie als frühe invasive Methode liefert Plazentagewebe, das genetisch nicht zwingend mit dem Fetus identisch ist. Die

Amniozentese hingegen, die ab der 16.SSW durchgeführt wird, analysiert fetale Zellen aus dem Fruchtwasser und bildet die fetale Genetik deutlich direkter ab. Mit der wachsenden Dominanz von NIPT und der Nutzung von CVS als Ausgangsmaterial für WES und WGS rückt damit die Biologie der Plazenta in den Mittelpunkt. Fetoplazentare Mosaikbildung ist kein seltenes Randphänomen, sondern tritt in ca. 2% der Schwangerschaften auf – in vielen dieser Fälle liegt ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik – genannt confined placental mosaicism – vor, bei der eine aneuploide Zelllinie auf die Plazenta beschränkt ist. Gerade CPM ist eine der Hauptursachen falsch-positiver NIPT-Resultate: Der NIPT „sieht“ die Aneuploidie der Plazenta, der Fetus selbst ist euploid.

Dieses Prinzip gilt analog, wenn NGS an Chorionzotten oder Plazentabiopsien eingesetzt wird. Aus Sequenzierprojekten an Plazentagewebe wissen wir, dass jede untersuchte Biopsie postzygotische, klonal expandierte Varianten enthält, die nur lokal vorkommen und im Fetus nicht nachweisbar sind. Die Plazenta ist gewissermaßen ein Mosaik aus vielen kleineren und größeren Klonen. Für die pränatale Diagnostik bedeutet das, dass NGS aus Chorionzotten immer eine Mischung aus fetalen Keimbahnvarianten und plazentaspezifischen somatischen Varianten liefert. De-novo-Keimbahnvarianten des Feten sind typischerweise in allen Plazentabiopsien und in Amnionzellen nachweisbar, plazentale postzygotische Varianten dagegen sind meist auf einzelne Areale beschränkt und sind im Fetus nicht nachweisbar. Wer NGS aus CVS-Proben als alleinige Referenzmethode verwendet, läuft Gefahr, solche plazentaspezifischen Varianten zu überinterpretieren.

Das umgekehrte Problem besteht darin, dass sich niedriggradige fetale Mosaik in der Plazenta gar nicht oder nur abgeschwächt widerspiegeln können. Eine CVS kann dann unauffällig erscheinen, obwohl im Fetus tatsächlich ein klinisch relevanter Mosaikzustand vorliegt. Auch tiefe NGS-Analytik löst dieses Grundproblem nur partiell, weil die Detektion sehr niedriggradiger Mosaik statistisch und bioinformatisch anspruchsvoll bleibt und die Unterscheidung zwischen realen Mosaiken und technischen Artefakten eine hohe Expertise erfordert. Spätestens hier wird deutlich, dass die Frage „NGS - ja oder nein?“ zu kurz greift. Entscheidend ist vielmehr, welches Gewebe sequenziert wird und wie die Ergebnisse im Kontext anderer Methoden interpretiert werden.

NIPT und whole-genome NIPT zeigen diese Problematik noch einmal aus einer anderen Perspektive. Als reine cfDNA-Analysen sind sie funktionell Plazenta-Screenings. CPM und fetoplazentare Diskordanzen sind daher systematisch in die Testarchitektur eingebaut. Je breiter und empfindlicher die NIPT-Panels werden – von den häufigen Trisomien hin zu seltenen autosomalen Trisomien, Mikrodeletionen und sogar monogenen Varianten – desto häufiger werden sie zwangsläufig plazentare Besonderheiten detektieren, die beim Fetus nicht vorliegen. Whole-genome NIPT verstärkt diesen Effekt: Seltene autosomale Trisomien werden sehr viel häufiger als CPM im Trophoblast gefunden, denn als echte fetale Aneuploidien. Sie sind aber dennoch klinisch relevant, weil bestimmte CPM-Konstellationen mit Wachstumsrestriktion, Frühgeburt und anderen Plazentainsuffizienzzeichen verknüpft sind. Damit entsteht eine paradoxe Situation: Aus fetaler Sicht sind viele dieser Befunde falsch positiv im Sinne der Aneuploidiediagnostik, aus klinischer Sicht handelt es sich um eine relevante Pathologie mit geburtshilflichen Folgeerscheinungen.

Vor diesem Hintergrund wäre ein pauschaler „NGS-only“-Ansatz problematisch. Selbst wenn WGS technisch in der Lage ist, sowohl Aneuploidien als auch Kopienzahlveränderungen, Sequenzvarianten und manche strukturellen Varianten zu erfassen, bleiben spezifische Schwachstellen: Balancierte Translokationen und komplexe strukturelle Umlagerungen lassen sich selbst mit WGS nur mit aufwendigen Algorithmen und hoher Erfahrung sicher erkennen. Polyploidien erfordern eine spezielle Analytik, epigenetische Störungen und Imprintingdefekte liegen außerhalb des unmittelbaren Detektionsspektrums einer Standardsequenzierung, hierfür sind Methylierungsanalysen notwendig. Das klassische Karyogramm und Microarrays bieten in einigen dieser Bereiche nach wie vor robuste, gut validierte Werkzeuge, die für die genetische Beratung und die Evaluierung des Wiederholungsrisikos unverzichtbar sind.

Die Probenwahl beeinflusst dabei maßgeblich, welche Kombination von Methoden am sinnvollsten ist. In einem idealen, rein diagnostisch gedachten Szenario würde man bei auffälligem NIPT zunächst eine detaillierte Ultraschalluntersuchung durchführen und die Wahl der invasiven Methode sowohl an der mutmaßlichen Pathologie als auch am Gestationsalter ausrichten. Bei klaren schweren Fehlbildungen im frühen ersten Trimester wäre eine CVS mit getrennter zytogenetischer Untersuchung von Trophoblastzellen und Zellen des

mesenchymalen Kerns, sowie anschließend Microarray oder NGS denkbar, im Wissen, dass bei Mosaikbefunden eine Amniozentese als Bestätigungsdiagnostik folgen muss. Bei isoliert auffälligem NIPT ohne sonographische Auffälligkeiten und hoher Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines CPM, etwa bei seltenen autosomalen Trisomien oder Monosomie-X-Signalen ohne typische Ultraschallzeichen, wäre hingegen primär eine Amniozentese mit Karyogramm, Microarray und ggf. NGS sinnvoll, um die fetale Genetik valide zu erfassen.

Wenn Geld und medizinischer Sachverstand keine Rolle spielen würden, ließe sich ein nahezu „luxuriöses“ Abklärungsszenario denken. Jede Patientin, die dies wünscht, könnte zunächst ein Screening mittels NIPT erhalten, gefolgt von einer qualifizierten Ultraschalluntersuchung in einem spezialisierten Zentrum. Bei einem auffälligen Befund würden sowohl eine CVS als auch, wenn notwendig, zeitversetzt eine Amniozentese angeboten werden – vorausgesetzt das Punktionsrisiko für zwei Punktionen wird von der Patientin getragen, wenngleich dies als äußerst niedrig einzuschätzen ist. Beide Proben würden standardisiert mittels Karyogramm, hochauflösendem SNP-Array, Whole-Genome-Sequenzierung und – bei relevanter Fragestellung – Methylierungsanalysen untersucht, idealerweise als Trio-Analytik inklusive beider Eltern.

Ein solches Vorgehen wäre medizinisch zwar sehr aufschlussreich, aber im Rahmen realer Gesundheitssysteme kaum finanzierbar. Die Kosten für flächendeckende WGS- und Methylierungsdiagnostik, die benötigten bioinformatischen und ärztlichen Ressourcen und der Aufwand für die Interpretation von Varianten unklarer Signifikanz wären immens. Zudem würde die Anzahl zufälliger Nebenbefunde und Grenzbefunde drastisch steigen, was die psychosoziale Belastung der Patientinnen und die Komplexität der Beratung weiter erhöht.

Wirtschaftlich tragfähig und medizinisch sinnvoll und aus Datenschutzperspektive akzeptabel ist daher ein abgestuftes Vorgehen: NIPT bleibt ein hocheffektives Screening-Instrument für häufige Aneuploidien in der breiten Versorgung, idealerweise ergänzt durch strukturierten Ultraschall. Invasive Diagnostik mit Karyogramm und Microarray sollte bei fetalen Fehlbildungen oder auffälligem Screening weiterhin den Standard darstellen, Trio-NGS sollte gezielt bei klaren Indikationen eingesetzt werden, etwa bei unauffälligem Karyotyp und Microarray bei

gleichzeitig schwerer struktureller Anomalie oder ausgeprägtem klinischen Verdacht auf eine monogene Erkrankung.

NGS wird damit zur zentralen, aber nicht zur alleinigen Säule der pränatalen Diagnostik. „One size fits all“ bleibt in diesem Feld eine gefährliche Illusion. Ein zukunftsfähiges System kombiniert vielmehr moderne Sequenzierverfahren mit bewährter Zytogenetik Arrayanalyse, differenzierter Probenauswahl und ökonomischer Vernunft, um mit vertretbarem Ressourceneinsatz möglichst vielen Schwangeren eine präzise, aber auch verantwortungsvolle Diagnostik anzubieten.

## Abkürzungsverzeichnis

AC – Amniozentese  
Array CGH – array-based comparative genomic hybridization  
β-HCG – humanes Choriongonadotropin  
BAF – B-allele frequency  
BMI – body mass index  
cfDNA – cell free DNA  
CMA – chromosomal microarray  
CNV – copy number variation  
CPM – confined placental mosaicism  
CVS – chorionic villus sampling  
DNA – desoxyribonucleic acid  
dNTP – desoxyribonucleic triphosphate  
ddNTP – dideoxyribonucleic triphosphate  
ETS – Ersttrimesterscreening  
FISH – Fluoreszenz in-situ Hybridisierung  
ICM – internal cell mass/innere Zellmasse  
IUFD – intrauterine fetal death  
FPS – false positive rate  
LTC – long term culture  
MLPA – multiplex ligation probe amplification  
NGS – next generation sequencing  
NIPT – non invasive prenatal test/nicht invasiver pränataler Test  
NT – Nackentransparenz  
PAPP-A – pregnancy-associated plasma protein-A  
PCR – polymerase chain reaction  
PKD - Polkörperdiagnostik  
PPV – positive predictive value  
PVZ – postzygotische Variante  
QF-PCR – quantitative fluorescent polymerase chain reaction  
RAT – rare autosomal trisomy  
RCP – rolling circle products  
SGA – small for gestational age  
sMPS – shotgun massive parallel sequencing  
SNP – single nucleotide polymorphism  
STC – short term culture  
STR – short tandem repeat  
TE – Trophektoderm  
TFM – true fetal mosaicism  
UPD – uniparentale Disomie  
VAF – variant allele frequency  
VUS – variant of unknown significance  
WES – whole exome sequencing  
wgNIPT – whole genome non-invasive prenatal test  
WGS – whole genome sequencing

## Literaturverzeichnis

- Abulí, A., Antolín, E., Borrell, A., Garcia-Hoyos, M., García Santiago, F., Gómez Manjón, I., Maíz, N., González González, C., Rodríguez-Revenge, L., Valenzuela Palafoll, I., & Suela, J. (2024). Guidelines for NGS procedures applied to prenatal diagnosis by the Spanish Society of Gynecology and Obstetrics and the Spanish Association of Prenatal Diagnosis. *Journal of Medical Genetics*, 61(8), 727–733. <https://doi.org/10.1136/jmg-2024-109878>
- Acreman, M. L., Bussolaro, S., Raymond, Y. C., Fantasia, I., Rolnik, D. L., & Da Silva Costa, F. (2023). The predictive value of prenatal cell-free DNA testing for rare autosomal trisomies: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 228(3), 292-305.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2022.08.034>
- Baffero, G. M., Somigliana, E., Crovetto, F., Paffoni, A., Persico, N., Gueneri, S., Lalatta, F., Fogliani, R., & Fedele, L. (2012). Confined placental mosaicism at chorionic villous sampling: Risk factors and pregnancy outcome. *Prenatal Diagnosis*, 32(11), 1102–1108. <https://doi.org/10.1002/pd.3965>
- Balaguer, N., Mateu-Brull, E., Serra, V., Simón, C., & Milán, M. (2021). Should vanishing twin pregnancies be systematically excluded from cell-free fetal DNA testing? *Prenatal Diagnosis*, 41(10), 1241–1248. <https://doi.org/10.1002/pd.5817>
- Bamezai, R., Verma, I. C., Kucheria, K., & Hingorani, V. (1980). Amniotic fluid cytology, gestational age and fetal maturity. *The Indian Journal of Pediatrics*, 47(1), 51–56. <https://doi.org/10.1007/BF02900174>
- Batsry, L., & Yinon, Y. (2022). The vanishing twin: Diagnosis and implications. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 84, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.03.009>
- Battaglia, P., Baroncini, A., Mattarozzi, A., Baccolini, I., Capucci, A., Spada, F., Pompili, E., & Pittalis, M. C. (2014). Cytogenetic follow-up of chromosomal mosaicism detected in first-trimester prenatal diagnosis: Cytogenetic follow-up of CVS mosaicism. *Prenatal Diagnosis*, 34(8), 739–747. <https://doi.org/10.1002/pd.4358>
- Benn, P., & Grati, F. R. (2018). Genome-wide non-invasive prenatal screening for all cytogenetically visible imbalances. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 51(4), 429–433. <https://doi.org/10.1002/uog.19014>
- Bianchi, D. W., & Chiu, R. W. K. (2018). Sequencing of Circulating Cell-free DNA during Pregnancy. *New England Journal of Medicine*, 379(5), 464–473. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1705345>
- Boormans, E. M., Birnie, E., Wildschut, H. I., Schuring-Blom, H. G., Oepkes, D., Van Oppen, C. A., Nijhuis, J. G., Macville, M. V., Kooper, A. J., Huijsdens, K., Hoffer, M. V., Go, A., Creemers, J., Bholra, S. L., Bilardo, K. M., Suijkerbuijk, R., Bouman, K., Galjaard, R.-J. H., Bonsel, G. J., & Van Lith, J. M. (2008). Multiplex ligation-dependent probe amplification versus karyotyping in prenatal diagnosis: The M.A.K.E. study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-8-18>
- Carey, L., Scott, F., Murphy, K., Mansfield, N., Barahona, P., Leigh, D., Robertson, R., & McLennan, A. (2014). Prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism in over 1600 cases using array comparative genomic hybridization as a first line test: Prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism using aCGH. *Prenatal Diagnosis*, 34(5), 478–486. <https://doi.org/10.1002/pd.4332>
- Coorens, T. H. H., Oliver, T. R. W., Sanghvi, R., Sovio, U., Cook, E., Vento-Tormo, R., Haniffa, M., Young, M. D., Rahbari, R., Sebire, N., Campbell, P. J., Charnock-Jones, D. S., Smith, G. C. S., & Behjati, S. (2022). Author Correction: Inherent mosaicism and extensive mutation of human placentas. *Nature*, 603(7901), E17–E17. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04347-9>
- Coutinho, L. M., Assis, W. A., Spagnuolo-Souza, A., & Reis, F. M. (2022). Uterine Fibroids and Pregnancy: How Do They Affect Each Other? *Reproductive Sciences*, 29(8), 2145–2151. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00656-6>

- Cuckle, H., Benn, P., & Pergament, E. (2015). Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy as a clinical service. *Clinical Biochemistry*, 48(15), 932–941. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.02.011>
- Curnow, K. J., Wilkins-Haug, L., Ryan, A., Kirkızlar, E., Stosic, M., Hall, M. P., Sigurjonsson, S., Demko, Z., Rabinowitz, M., & Gross, S. J. (2015). Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 212(1), 79.e1-79.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.10.012>
- De Neubourg, D., Dancet, E. A. F., & Pinborg, A. (2022). Single-embryo transfer implies quality of care in reproductive medicine. *Reproductive BioMedicine Online*, 45(5), 899–905. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2022.04.001>
- Eggenhuizen, G. M., Go, A., Koster, M. P. H., Baart, E. B., & Galjaard, R. J. (2021). Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: A review of the literature. *Human Reproduction Update*, 27(5), 885–903. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab009>
- Eggenhuizen, G. M., Go, A. T. J. I., Hoffer, M. J. V., Goedegebuur-Zwalua, E., Srebniak, M. I., & Van Opstal, D. (2024). Confined Placental Mosaicism Detected With Non-Invasive Prenatal Testing: Is There an Association Between Mosaic Ratio and Pregnancy Outcome? *Prenatal Diagnosis*, 44(12), 1462–1469. <https://doi.org/10.1002/pd.6680>
- Eggenhuizen, G. M., Van Veen, S., Van Koetsveld, N., Go, A. T. J. I., Diderich, K. E. M., Joosten, M., Van Den Born, M., Srebniak, M. I., & Van Opstal, D. (2024). Confined placental mosaicism: Distribution of chromosomally abnormal cells over the term placenta. *Placenta*, 154, 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2024.06.008>
- Ericsson, O., Ahola, T., Dahl, F., Karlsson, F., Persson, F., Karlberg, O., Roos, F., Alfrén, I., Andersson, B., Barkenäs, E., Boghos, A., Brandner, B., Dahlberg, J., Forsgren, P., Francois, N., Gousseva, A., Hakamali, F., Janfalk-Carlsson, A., Johansson, H., ... Nicolaides, K. (2019). Clinical validation of a novel automated cell-free DNA screening assay for trisomies 21, 13, and 18 in maternal plasma. *Prenatal Diagnosis*, 39(11), 1011–1015. <https://doi.org/10.1002/pd.5528>
- Gil, M. M., Accurti, V., Santacruz, B., Plana, M. N., & Nicolaides, K. H. (2017). Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: Updated meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 50(3), 302–314. <https://doi.org/10.1002/uog.17484>
- Grati, F. (2014). Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *Journal of Clinical Medicine*, 3(3), 809–837. <https://doi.org/10.3390/jcm3030809>
- Gruchy, N., Vialard, F., Blondeel, E., Le Meur, N., Joly-Hélas, G., Chambon, P., Till, M., Herbaut-Graux, M., Vigouroux-Castera, A., Coussement, A., Lespinasse, J., Amblard, F., Jimenez, M., Lebel Roy Camille, L., Carré-Pigeon, F., Flori, E., Mugneret, F., Jaillard, S., Yardin, C., ... Leporrier, N. (2014). Pregnancy outcomes of prenatally diagnosed Turner syndrome: A French multicenter retrospective study including a series of 975 cases. *Prenatal Diagnosis*, 34(12), 1133–1138. <https://doi.org/10.1002/pd.4439>
- Gu, S., Jernegan, M., Van Den Veyver, I. B., Peacock, S., Smith, J., & Breman, A. (2018). Chromosomal microarray analysis on uncultured chorionic villus sampling can be complicated by confined placental mosaicism for aneuploidy and microdeletions. *Prenatal Diagnosis*, 38(11), 858–865. <https://doi.org/10.1002/pd.5342>
- Hamilton, S. J., & Waters, J. J. (2012). Completely discrepant results between prenatal QF-PCR rapid aneuploidy testing and cultured cell karyotyping obtained from CVS: Lessons from UK audit and re-audit of 22,221 cases. *Prenatal Diagnosis*, 32(9), 909–911. <https://doi.org/10.1002/pd.3915>
- Hartwig, T. S., Ambye, L., Sørensen, S., & Jørgensen, F. S. (2017). Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) - a systematic review: Discordant NIPT cases - a review. *Prenatal Diagnosis*, 37(6), 527–539. <https://doi.org/10.1002/pd.5049>

- Heesterbeek, C. J., Aukema, S. M., Galjaard, R.-J. H., Boon, E. M. J., Srebniak, M. I., Bouman, K., Faas, B. H. W., Govaerts, L. C. P., Hoffer, M. J. V., Den Hollander, N. S., Lichtenbelt, K. D., Van Maarle, M. C., Van Prooyen Schuurman, L., Van Rij, M. C., Schuring-Blom, G. H., Stevens, S. J. C., Tan-Sindhunata, G., Zamani Esteki, M., De Die-Smulders, C. E. M., ... The Dutch NIPT Consortium. (2022). Noninvasive Prenatal Test Results Indicative of Maternal Malignancies: A Nationwide Genetic and Clinical Follow-Up Study. *Journal of Clinical Oncology*, 40(22), 2426–2435. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.02260>
- Jiang, Q., Yu, H., Yuan, H., & Yuan, L. (2025). Analysis of cases with prenatal diagnosis of mosaicism: Indications, methods of prenatal diagnosis, and pregnancy outcome follow-up. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. <https://doi.org/10.1002/ijgo.70640>
- Kalousek, D. K. (1996). Confined placental mosaicism.
- Lannoo, L., Lenaerts, L., Van Den Bogaert, K., Che, H., Brison, N., Devriendt, K., Amant, F., Vermeesch, J. R., & Van Calsteren, K. (2021). Non-invasive prenatal testing suggesting a maternal malignancy: What do we tell the prospective parents in Belgium? *Prenatal Diagnosis*, 41(10), 1264–1272. <https://doi.org/10.1002/pd.6031>
- Levy, B., & Wapner, R. (2018). Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertility and Sterility*, 109(2), 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.005>
- Liang, D., Cram, D. S., Tan, H., Linpeng, S., Liu, Y., Sun, H., Zhang, Y., Tian, F., Zhu, H., Xu, M., Wang, H., Yu, F., & Wu, L. (2019). Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes. *Genetics in Medicine*, 21(9), 1998–2006. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0467-4>
- Lund, I. C. B., Becher, N., Christensen, R., Petersen, O. B., Steffensen, E. H., Vestergaard, E. M., & Vogel, I. (2020). Prevalence of mosaicism in uncultured chorionic villus samples after chromosomal microarray and clinical outcome in pregnancies affected by confined placental mosaicism. *Prenatal Diagnosis*, 40(2), 244–259. <https://doi.org/10.1002/pd.5584>
- Malvestiti, F., Agrati, C., Grimi, B., Pompili, E., Izzi, C., Martinoni, L., Gaetani, E., Liuti, M. R., Trotta, A., Maggi, F., Simoni, G., & Grati, F. R. (2015). Interpreting mosaicism in chorionic villi: Results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis: Interpreting mosaicism in chorionic villi. *Prenatal Diagnosis*, 35(11), 1117–1127. <https://doi.org/10.1002/pd.4656>
- Mardy, A. H., & Norton, M. E. (2021). Diagnostic testing after positive results on cell free DNA screening: CVS or Amnio? *Prenatal Diagnosis*, 41(10), 1249–1254. <https://doi.org/10.1002/pd.6021>
- McCoy, R. C. (2017). Mosaicism in Preimplantation Human Embryos: When Chromosomal Abnormalities Are the Norm. *Trends in Genetics*, 33(7), 448–463. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.04.001>
- Miceikaite, I., Fagerberg, C., Brasch-Andersen, C., Topping, P. M., Schlott Kristiansen, B., Hao, Q., Sperling, L., & Larsen, M. J. (2025). Deep genome sequencing reveals extensive genetic heterogeneity in early human placentas. *Nature Communications*, 16(1), 7873. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-63296-3>
- Murken, J., Grimm, T., Holinski-Feder, E., & Zerres, K. (Hrsg.). (2017). *Taschenlehrbuch Humangenetik (9. teilaktualisierte Auflage)*. Thieme.
- Neveling, K., & Hoischen, A. (2014). Einführung in die Grundlagen der Hochdurchsatzsequenzierung. *Medizinische Genetik*, 26(2), 231–238. <https://doi.org/10.1007/s11825-014-0447-7>
- Nicolini, U., Lalatta, F., Natacci, F., Curcio, C., & Bui, T.-H. (2004). The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: Time for reconsideration. *Human Reproduction Update*, 10(6), 541–548. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmh046>
- Qin, L., Wang, J., Tian, X., Yu, H., Truong, C., Mitchell, J. J., Wierenga, K. J., Craigen, W. J., Zhang, V. W., & Wong, L.-J. C. (2016). Detection and Quantification of Mosaic Mutations in Disease Genes by Next-Generation Sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 18(3), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.01.002>

- Raymond, Y., Fernando, S., Menezes, M., Mol, B. W., McLennan, A., Da Silva Costa, F., Hardy, T., & Rolnik, D. L. (2024). Placental, maternal, fetal, and technical origins of false-positive cell-free DNA screening results. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 230(4), 381–389. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.11.1240>
- Reilly, K., Doyle, S., Hamilton, S. J., Kilby, M. D., & Mone, F. (2023). Pitfalls of prenatal diagnosis associated with mosaicism. *The Obstetrician & Gynaecologist*, 25(1), 28–37. <https://doi.org/10.1111/tog.12850>
- Robinson, W. P., Barrett, I. J., Bernard, L., Telenius, A., Bernasconi, F., Wilson, R. D., Best, R. G., Howard-Peebles, P. N., Langlois, S., & Kalousek, D. K. (1997). Meiotic origin of trisomy in confined placental mosaicism is correlated with presence of fetal uniparental disomy, high levels of trisomy in trophoblast, and increased risk of fetal intrauterine growth restriction. *American Journal of Human Genetics*, 60(4), 917–927.
- Sadler, T. W., Langman, J., Drews, U., & Brand-Saberi, B. (2020). *Taschenlehrbuch Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen* (13., inhaltlich unveränderte Auflage). Georg Thieme Verlag.
- Schaaf, C. P., & Zschocke, J. (2018). *Basiswissen Humangenetik*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-56147-8>
- Scott, F. P., Menezes, M., Palma-Dias, R., Nisbet, D., Schluter, P., Da Silva Costa, F., & McLennan, A. C. (2018). Factors affecting cell-free DNA fetal fraction and the consequences for test accuracy. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 31(14), 1865–1872. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1330881>
- Shen, S., Qi, H., Yuan, X., Gan, J., Chen, J., & Huang, J. (2024). The performance evaluation of NIPT for fetal chromosome microdeletion/microduplication detection: A retrospective analysis of 68,588 Chinese cases. *Frontiers in Genetics*, 15, 1390539. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1390539>
- Spinillo, S. L., Farina, A., Sotiriadis, A., Pozzoni, M., Giglio, S., Papale, M., Candiani, M., & Cavoretto, P. I. (2022). Pregnancy outcome of confined placental mosaicism: Meta-analysis of cohort studies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 227(5), 714-727.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2022.07.034>
- Thomsen, S. H., Lund, I. C. B., Bache, I., Becher, N., & Vogel, I. (2024). Placental mosaicism for autosomal trisomies: Comprehensive follow-up of 528 Danish cases (1983–2021). *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*, 6(11), 101497. <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2024.101497>
- Vogel, I., Vestergaard, E. M., Lildballe, D. L., Christensen, R., Hoseth, G.-E., Petersen, A. C., Bogaard, P., & Sørensen, A. N. (2020). Placental mosaicism in the era of chromosomal microarrays. *European Journal of Medical Genetics*, 63(4), 103778. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103778>
- von Kaisenberg, C., Kozłowski, P., Kagan, K., Hoopmann, M., Heling, K., Chaoui, R., Klaritsch, P., Pertl, B., Burkhardt, T., Tercanli, S., Frenzel, J., & Mundlos, C. (2024). AWMF 085-002 S2e LL Ersttrimester Diagnostik und Therapie @ 11-13+6 Schwangerschaftswochen.