

# medizinische genetik

Gegründet 1989 durch Jan Murken

**Elektronischer Sonderdruck für  
R.-D. Wegner**

Ein Service von Springer Medizin

medgen 2011 · 23:457–462 · DOI 10.1007/s11825-011-0298-4

© Springer-Verlag 2011

zur nichtkommerziellen Nutzung auf der  
privaten Homepage und Institutssite des Autors

**R.-D. Wegner · M. Stumm**

## **Zytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik**

medgen 2011 · 23:457–462  
 DOI 10.1007/s11825-011-0298-4  
 Online publiziert: 12. Dezember 2011  
 © Springer-Verlag 2011

R.-D. Wegner<sup>1,2</sup> · M. Stumm<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Pränataldiagnostik und Humangenetik Kudamm 199, Berlin

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik,  
 Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum

<sup>3</sup> Institut für Humangenetik, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg

# Zytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik

Die invasive humangenetische Pränataldiagnostik (PD) umfasst die Entnahme und Analyse von Fruchtwasserzellen, Chorionzotten, Fetalblut oder anderen fetalen Geweben zur Erkennung von genetischen Störungen des Embryos/Fetus. Es können zytogenetische, molekular-zytogenetische, molekulargenetische oder biochemische Analysen durchgeführt werden. Im Gegensatz zu den pränatalen nichtinvasiven Screeningverfahren, die zu Wahrscheinlichkeitsangaben führen, erlauben die humangenetischen Untersuchungen sehr sichere Aussagen. Der vorliegende Beitrag ist auf die zytogenetische PD fokussiert. Zusätzlich wird die nichtinvasive Pränataldiagnostik aus zellfreier fetaler DNA aus dem mütterlichen Blut kurz vorgestellt.

## Invasive Pränataldiagnostik

Die Anzahl invasiver pränataler Diagnostik ist für Deutschland nur zu schätzen, der Nationale Ethikrat geht von etwa 70.000 Eingriffen im Jahr 2003 aus [8]. Die Inanspruchnahme einer invasiven PD dürfte aufgrund des Einsatzes von Ersttrimesterscreening und früher Fehlbildungsdiagnostik in den letzten Jahren rückläufig sein. Zumindest in unserem Zentrum liegt die Zahl der invasiven Diagnostikmaßnahmen im Jahr 2010 bei nur 29,3% verglichen mit der Anzahl im Jahr 2000. Die Indikation „mütterliches Alter“ wird jetzt deutlich seltener gestellt, während die Indikationen „auffällige Serumiagnostik“ und insbesondere „auffälliger fetaler Ultraschallbefund“ zunehmen.

## Präanalytik

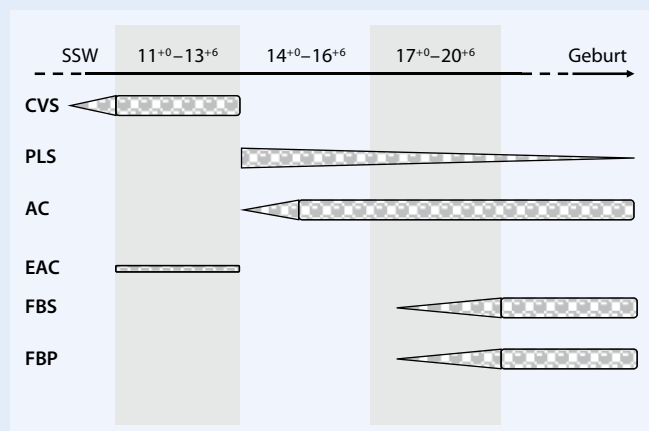
### Patientenaufklärung – Gendiagnostikgesetz

Das seit dem 01.02.2010 geltende Gendiagnostikgesetz (GenDG, [4]) fordert vor einer pränatalen Diagnostik und nach Vorliegen des Untersuchungsergebnisses das Angebot einer genetischen Beratung. Die Beratung muss eine umfassende Aufklärung zur Untersuchung sowie zum Umgang mit dem Untersuchungsmaterial und den Untersuchungsergebnissen enthalten und dokumentiert werden. Die Beratung unterliegt dem Arztvorbehalt, d. h. nur Fachärzte für Humangenetik, Fachärzte mit der Zusatzbezeichnung „me-

dizinische Genetik“, und laut GenDG ab dem 01.02.2012 auch Ärzte, die den Nachweis einer „Qualifikation zur fachgebundenen genetischen Beratung nach den Erfordernissen der Richtlinie der Gendiagnostik-Kommission (GEKO)“ haben, sind berechtigt, diese durchzuführen.

## Probengewinnung und Versand

Die Wahl der Eingriffstechnik und des Zeitpunkts sowie die Gewinnung der pränatalen Proben erfolgt durch spezialisierte Gynäkologen. In **Abb. 1** sind die üblichen Zeiträume zur Durchführung der einzelnen Techniken aufgeführt. Der optimale Zeitpunkt für die Amniozentese (AC) liegt um die 16+0. Schwangerschafts-



**Abb. 1** ▲ Diagramm mit Angabe der üblichen Zeiten für die Durchführung invasiver Techniken zur Gewebegewinnung. Die Balkenstärke ist ein Maß für die Präferenz der Technik. SSW Schwangerschaftswoche, CVS Chorionzottenbiopsie, PLS Plazentabiopsie, AC Amniozentese, EAC frühe Amniozentese, FBS Fetalblutentnahme, FBP fetale Blasenpunktion

Tab. 1 Methoden der invasiven Diagnostik<sup>a</sup>

Invasives diagnostisches Verfahren	Diagnostisches Vorgehen	Eingriffszeit (SSW)	Abortrisiko (%)	Bearbeitung (Tage)
AC	Konventionell	≥ 14 +0	~0,5	8–14
	Schnelltest			1
EAC	Konventionell	11 +0 bis 13 +6	>> 1	≥ 12
	Schnelltest			1
CVS	KZK	11 +0 bis 13 +6	~0,5	1
	LZK			5–14
PLB	KZK	≥ 14 +0	~0,5	1
	LZK			7–14
FBS		> 18 +0	1–3	4
FUS		> 18 +0	?	10–18

<sup>a</sup> Mit Angabe des üblichen Zeitraums des Eingriffs, des Risikos einer eingriffsbedingten Fehlgeburt sowie der Bearbeitungszeit bis zur Befunderstellung. SSW Schwangerschaftswochen, AC Amniozentese, EAC frühe Amniozentese, CVS Chorionzottenbiopsie, PLB Plazentese, FBS fetale Blutentnahme, FUS fetale Blasenpunktion, KZK Kurzzeitkultur, LZK Langzeitkultur.

woche post menstruationem (SSW). Das methodisch bedingte Eingriffsrisiko beträgt etwa 0,5% (■ Tab. 1). Eine AC zwischen der 11+0. und 13+6. SSW wird als frühe Amniozentese (EAC, „early amniocentesis“) bezeichnet. Aufgrund des erhöhten Risikos eines Blasensprungs sind strenge Indikationskriterien anzulegen.

Das entnommene Fruchtwasser (10–20 ml) kann direkt in der Entnahmespritze oder in sterilen, für Zellen getesteten Transportröhrchen – Zytotoxizität ausschließen! – verschickt werden. Wenn durch entsprechend ausgestattete Transportbehälter eine Temperatur zwischen +4 und 37°C gewährleistet wird, kann ein Transport auch bei extremen Außenbedingungen problemlos über 2–3 Tage erfolgen, ohne dass dabei die Vitalität der Zellen merklich reduziert wird.

Als optimaler Zeitraum für eine Chorionzottenbiopsie (CVS, „chorionic villi sampling“) wird die 11+0.–13+6. SSW angesehen. Die CVS wird i. Allg. transabdominal unter Ultraschallkontrolle durchgeführt. Das eingriffsbedingte Fehlgeburtsrisiko liegt bei der CVS bei etwa 0,5% (■ Tab. 1), also in der Größenordnung der AC. Bei einer Entnahme vor der 10. SSW besteht ein Risiko für embryonale Extremitätenfehlbildungen. Eine Gewebeatnahme ab 14+0. SSW wird als Plazentese (PLB, „placenta biopsy“) bezeichnet. In Hinblick auf die zytogenetische Analyse ist zu berücksichtigen, dass für das Gewebe nach PLB eine umgekehrte Korrelation zwischen Schwangerschafts-

alter und dem spontanen Mitoseindex im Zytotrophoblasten charakteristisch ist. Das heißt, dass nach einer PLB ein schneller Chromosomenbefund nach Kurzzeitkultur nicht immer zu erstellen ist.

Die entnommenen Chorionzotten (10–20 mg) sollten in einem speziellen Transportmedium mit einem Puffer, der einen stabilen pH-Wert gewährleistet, sowie mit Heparin zur Verhinderung der Agglutination der Erythrozyten versandt werden [11]. Chorionzotten können unter den für die Fruchtwasserzellen genannten Transportbedingungen verschickt werden. Vor der Chromosomenpräparation der Kurzzeitkultur ist allerdings eine mehrstündige Temperatureinstellung im CO<sub>2</sub>-Inkubator erforderlich.

### Analyse von Fruchtwasserzellen

#### Zytogenetische Diagnostik

Eine pränatale Chromosomendiagnostik an Fruchtwasserzellen wird seit Ende der 1960er-Jahre durchgeführt. Die gewonnenen Zellen liegen anfangs in der Ruhephase des Zellzyklus (G<sub>0</sub>-Phase) vor. Nur wenige Zellen sind vital und können in den Zellzyklus eintreten, um dann zu Kolonien auszuwachsen. Da Chromosomenanalysen nur an Zellen in Teilung durchgeführt werden können, wird bis zur möglichen Chromosomenpräparation eine Zellkultivierung von 8–14 Tagen erforderlich. Speziell im Hinblick auf die Interpretation von Chromosomenbefun-

den (Mosaik!) muss immer bedacht werden, dass diese nur auf wenigen teilungsfähigen Zellen beruhen.

Detaillierte Angaben zur Technik von Zellzüchtung und Chromosomenpräparation sind bei Wegner zu finden [11]. Die Größenordnung von Kulturversagen sollte 0,2% nicht überschreiten. Die Chromosomenanalyse erfolgt an gebänderten Chromosomen meist nach Trypsinbehandlung und Giemsa-Färbung (GTG-Banden). Nach der S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“ der Gesellschaft für Humangenetik (GfH) und des Berufsverbandes Deutscher Humangenetiker (BVDH; [9]) werden für die Pränataldiagnostik mindestens 400 Banden/haploidem Chromosomensatz gefordert. Bei Vorliegen von Aneuploidien ist z. B. auch ein geringeres Bandenniveau ausreichend. Es müssen mindestens zwei unabhängige Kulturen angelegt werden, die ggf. für eine Analyse herangezogen werden. Das Anlegen einer dritten Kultur kann speziell bei Mosaikkonstellationen sehr hilfreich für die Bewertung von Ergebnissen sein.

### Chromosomale Mosaik

Mosaikbefunde in der PD sind eine besondere diagnostische Herausforderung. Unter einem zytogenetischen Mosaik versteht man das Vorliegen von mindestens 2 Zelllinien mit unterschiedlicher Chromosomenkonstitution, wobei eine Zelllinie aus der anderen hervorgegangen sein muss. Zur Klassifizierung von Mosaiken in Fruchtwasserzellen und zu weitergehenden diagnostischen Maßnahmen sind die Vorschläge von Hsu u. Benn [6] zu empfehlen.

Chromosomenaberrationen in nur einer Zelle einer Kultur werden als Level-1-Mosaik bezeichnet. Diese sind nach internationaler Nomenklatur (ISCN) keine Mosaik, denn hierfür wird das Auftreten von mindestens 2 Zellen mit identischem chromosomalem Zugewinn oder identischer chromosomaler Strukturveränderung bzw. von 3 Zellen mit einem Chromosomenverlust gefordert. Level-1-Mosaik werden in den Befunden nicht mitgeteilt.

Zellmosaik nach ISCN werden in 2 Kategorien aufgeteilt: Level-2- und Level-3-Mosaik. Ein Level-2-Mosaik bedeutet das Auftreten von mindestens

2 Zellen mit identischer Chromosomenabweichung neben der (meist normalen) zweiten Zelllinie in nur einer der untersuchten Zellkulturflaschen. Die andere(n) Kulturflasche(n) weist (weisen) nur Zellen mit dem primären Chromosomensatz auf. Level-2-Mosaik sind i. d. R. kulturbedingte Artefakte. Der dafür auch verwendete Begriff „Pseudomosaik“ ist irreführend, da das Mosaik einen realen Befund aus der Kultur darstellt, eine weitergehende Diagnostik erfordert und, wenn auch sehr selten, ein fetales Mosaik darstellen kann. Level-2-Mosaik treten mit einer Häufigkeit von 0,7–1,1% nach AC auf [3].

Ein Level-3-Mosaik liegt vor, wenn die beobachteten Zelllinien in mindestens zwei der untersuchten Kulturflaschen auftreten. Die Frequenz dieser Mosaik liegt zwischen 0,1 und 0,3% aller AC [3]. Das Risiko für phänotypische Auffälligkeiten vor oder nach der Geburt ist chromosomenspezifisch. Ein sehr hohes Risiko (> 60%) liegt bei Trisomie-Mosaiken der Chromosomen 2, 4, 9, 16 und 22, ein hohes Risiko (40–49%) bei den Chromosomen 5, 13, 14, 15, 18 und 21, ein moderates Risiko (20–39%) bei den Chromosomen 6, 7, 12 und 17 und ein niedriges bei allen anderen Chromosomen vor [1]. Wird ein Mosaik bei Nachuntersuchungen an fetalem Gewebe (z. B. Fetalblut) der betroffenen Schwangerschaft nicht bestätigt, kann es sich um ein extraembryonales/extrafetales Mosaik aus der Amnionhülle (■ **Abb. 2**) handeln oder um ein gewebespezifisches Mosaik, das z. B. im Fetalblut nicht nachweisbar ist (s. Fetalblutanalysen).

### Mütterliche Zellkontamination

Eine durch die Punktion bedingte Beimengung mütterlicher Zellen (MCC, „maternal cell contamination“) führt nach den Daten mehrerer größerer Studien bei ~0,5% aller Untersuchungen zum Auftreten weiblicher Metaphasen [1].

Daten aus eigenen Untersuchungen mittels Interphase-FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) an nativen Fruchtwasserzellen von männlichen Feten ergaben eine MCC in 27% der 100 analysierten Fälle. In keinem dieser 27 Fälle mit MCC nach FISH-Analyse, selbst in dem einen Fall einer MCC von 27%, waren jedoch

Metaphasen mit weiblichem Chromosomensatz nach der konventionellen Chromosomenanalyse der kultivierten Fruchtwasserzellen zu finden. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind die Zellkerne mit XX-Konstellation auf mütterliche Leukozyten zurückzuführen, die kein Wachstumspotenzial aufweisen.

### Molekular-zytogenetische Diagnostik – pränataler Schnelltest

Der pränatale Schnelltest nutzt die Technik der FISH zur Diagnostik der häufigsten fetalen Aneuploidien (Trisomie 13, 18 und 21) und der Konstellation der Geschlechtschromosomen. Hierzu erfolgt eine FISH-Analyse an Zellkernen von nativen Fruchtwasserzellen mit chromosomenspezifischen DNA-Sonden, die mit Fluorochromen markiert sind. Der Untersuchungsbefund kann innerhalb von 24 h nach Probeneingang erstellt werden. Eine ausführliche Darstellung der molekular-zytogenetischen Pränataldiagnostik ist in dem Artikel von Westrich und Liehr in diesem Heft enthalten.

### Molekulargenetische und biochemische Diagnostik

Molekulargenetische und biochemische Analysen werden bevorzugt an Chorionzotten durchgeführt und unter diesem Kapitel besprochen.

### Analyse von Chorionzotten

#### Zytogenetische Diagnostik

Die Chorionzottenanalyse wurde in Deutschland Mitte der 1980er-Jahre etabliert. Der Vorteil im Vergleich zur AC liegt in einer Verlagerung der Diagnostik vom zweiten in das erste Trimester der Schwangerschaft (■ **Abb. 1**).

Die gewonnenen Chorionzotten sind extraembryonalen Ursprungs und setzen sich aus 3 Zellschichten zusammen (■ **Abb. 2**), wovon zwei für die zytogenetische Diagnostik von Bedeutung sind. Der Zytotrophoblast weist eine spontane Mitoseaktivität zum üblichen Zeitpunkt der Biopsie auf, wodurch eine Chromosomenanalyse bereits wenige Stunden nach dem Eingriff möglich ist. Aus prak-

medgen 2011 · 23:457–462  
DOI 10.1007/s11825-011-0298-4  
© Springer-Verlag 2011

### R.-D. Wegner · M. Stumm Zytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik

#### Zusammenfassung

Die zytogenetischen Analysen an Fruchtwasserzellen oder an Chorionzotten sind die Standardmethoden der invasiven Pränataldiagnostik. In besonderen Fällen stellen die Fetalblutanalyse oder die Untersuchung fetaler Zellen anderen Ursprungs eine gute Ergänzung dar, um den tatsächlichen fetalen Chromosomensatz zu ermitteln. Die Chromosomenanalyse erlaubt die Beurteilung des gesamten Genoms auf lichtmikroskopischer Ebene. Bei molekulargenetischen Analysen monogener Erkrankungen werden native Chorionzotten für eine derartige, gezielte Untersuchung bevorzugt verwendet. Die schnelle Entwicklung der nichtinvasiven genetischen Pränataldiagnostik kann die Optionen werdender Eltern, bestimmte genetisch bedingte Störungen auszuschließen, erweitern und auf den Einsatz der invasiven pränatalen Diagnostik maßgeblich Einfluss nehmen.

#### Schlüsselwörter

Pränataldiagnostik · Amniozentese · Chorionzottenbiopsie · Zytogenetik · Mosaik

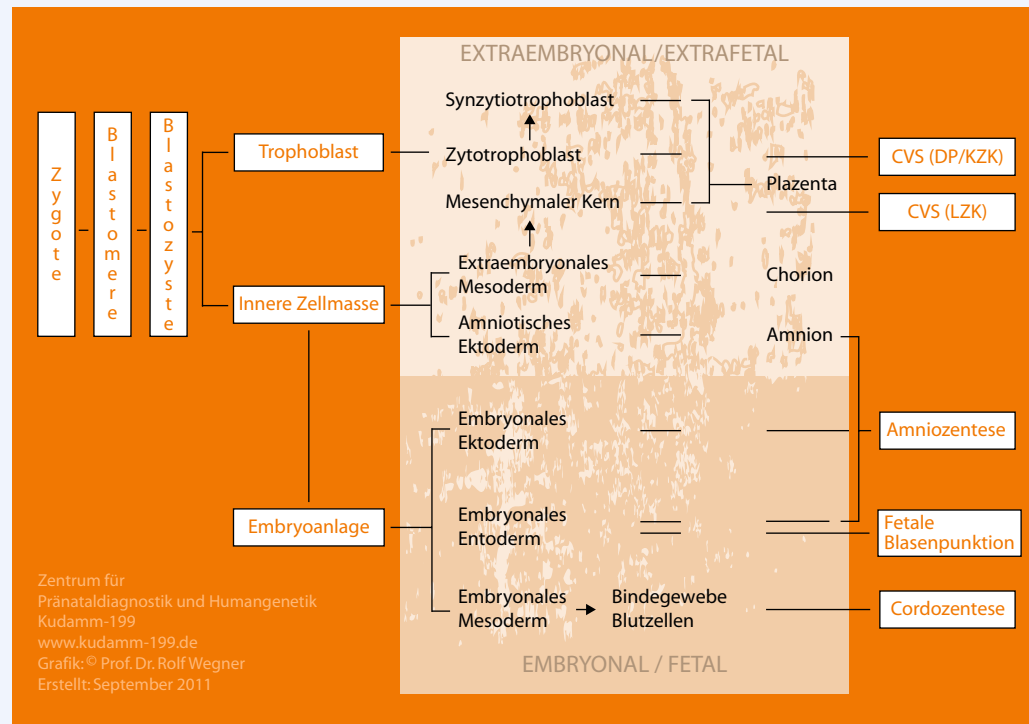
### Cytogenetic methods in prenatal diagnosis

#### Abstract

Cytogenetic analysis of amniotic fluid cells or chorionic villi are standard methods in invasive prenatal diagnosis. In certain cases, analyzing fetal blood cells or fetal cells of other origin represents an excellent supplementary investigation to disclose a fetal chromosomal aberration. At the microscopic level, chromosome analysis allows an examination of the complete genome. In the case of molecular analysis of monogenic disorders, native chorionic villi are the preferred tissue for targeted examination. Rapid advances in molecular non-invasive prenatal diagnosis will broaden parents' options to exclude certain relevant genetic changes and will have an important impact on the field of invasive prenatal diagnosis.

#### Keywords

Prenatal diagnosis · Amniocentesis · Chorionic villi sampling · Cytogenetics · Mosaicism



**Abb. 2** ◀ Schematische Darstellung der Embryonalentwicklung/Fetalentwicklung mit Angabe der Gewebe, die bei einer invasiven Diagnostik untersucht werden. (Mod. nach[10])

tischen Gründen wird das Gewebe häufig über Nacht inkubiert und erst am folgenden Tag präpariert. Die Bearbeitung von Chorionzotten bis hin zur Chromosomenanalyse der Zellen des Zytotrophoblasten wird als Kurzzeitkultur bezeichnet.

Demgegenüber steht die Langzeitkultur, eine Analyse der Zellen des mesenchymalen Kerns. Diese zeigen keine spontane Mitoseaktivität und müssen daher in Kultur genommen werden, um eine Chromosomenanalyse durchführen zu können. Die Kulturdauer liegt i. d. R. zwischen 4 und 14 Tagen. Eine vollständig durchgeführte Chromosomendiagnostik erfordert die Analyse von Kurzzeitkultur und Langzeitkultur.

Die Anforderungen an die Chromosomenqualität zur Befundung ist in der S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“ aufgeführt [9]. Die Chromosomenqualität aus präparierten Zellen der Kurzzeitkultur ist gewebespezifisch sowie methodisch bedingt erheblich begrenzt und liegt häufig bei  $\leq 300$  Banden/haploidem Chromosomensatz. Damit sind nur grobe strukturelle Aberrationen erkennbar. Erst die Metaphasechromosomen der Langzeitkultur, mit einer i. d. R. erreichbaren Auflösung von  $\geq 400$  Banden/haploidem Chromo-

somensatz, weisen eine ausreichende Qualität für eine strukturelle Chromosomenanalyse auf. Im Durchschnitt liegt die Bandenqualität der Metaphasen aus einer Chorionzotten-Langzeitkultur jedoch um 50–100 Banden unterhalb der aus Fruchtwasserzellen.

### Chromosomale Mosaik

Chromosomale Mosaik oder fetoplazentare Diskrepanzen treten bei der Untersuchung von Chorionzotten mit einer Frequenz von etwa 1–2% relativ häufig auf. Die europäische EUCROMIC-Studie („European collaborative research on mosaicism in CVS“) zu Mosaiken nach CVS [5] weist dabei einen Anteil von 1,5% für plazentabegrenzte Mosaik nach.

Entsprechend dem Auftreten eines Mosaiks oder einer reinen pathologischen Zelllinie im Zytotrophoblasten (Kurzzeitkultur) und/oder mesenchymalen Kern (Langzeitkultur; **Abb. 2**) variieren die Wahrscheinlichkeiten für ein echtes Mosaik im Fetus beträchtlich (**Tab. 2, 3**). Zusätzlich ist die Prognose für den Fetus auch abhängig von den involvierten Chromosomen. So sind in der EUCROMIC-Studie bei einem Trisomie-7-Mosaik in Kurzzeit- und/oder Langzeitkultur ( $n = 32$ ) in keinem Fall Zellen mit Trisomie 7 im Fetus nachgewiesen worden. Bei

Mosaiken mit Trisomie-21-Zellen ( $n = 31$ ) sind dagegen 9 von 22 Feten tatsächlich betroffen.

Auf die zusätzliche Problematik einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer uniparentalen Disomie (UPD) bei Vorliegen von Mosaiken wird später eingegangen.

Grundsätzlich geht aus den publizierten Daten hervor, dass der Befund der Langzeitkultur eher den fetalen Karyotyp repräsentiert als der der Kurzzeitkultur. Diese Erkenntnis erklärt sich auch durch die unterschiedliche Differenzierung von Zytotrophoblast und mesenchymalem Kern im Verlauf der Embryonalentwicklung (**Abb. 2**).

Die Sicherheit der zytogenetischen Diagnostik an Chorionzotten ist etwa vergleichbar mit der aus Fruchtwasserzellen, wenn sowohl die Kurzzeit- als auch die Langzeitkultur untersucht werden. Demzufolge fordert die S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“ bei Durchführung einer Chorionzotendiagnostik auch die Analyse beider Kulturen für die Erstellung des endgültigen Ergebnisses, es sei denn, dass die bei einer fetalen Ultraschalluntersuchung festgestellten Auffälligkeiten mit dem Ergebnis der Kurzzeitkultur korrespondieren. Falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse sind



bei Vorliegen durchgängig pathologischer Zelllinien sehr selten (jeweils < 0,01%).

### Mütterliche Zellkontamination

Hinsichtlich einer niemals sicher auszuschließenden Beimengung mütterlichen Gewebes (MCC), auch nach genauester mikroskopischer Dissektion des Chorionbiopsats, weist die Kurzzeitkultur gegenüber der Langzeitkultur einen Vorteil auf. Da die mütterlichen Zellen keine spontane Teilungsaktivität besitzen und innerhalb der kurzen Kulturdauer nicht in die Mitose eintreten, spielt die MCC bei der zytogenetischen Diagnostik der Kurzzeitkultur keine Rolle. Eine MCC wird jedoch in bis zu 1,5% aller Langzeitkulturen beschrieben.

### Molekulargenetische und biochemische Diagnostik

Molekulargenetische Analysen werden bevorzugt nach CVS durchgeführt, da das Gewebe früh in der Schwangerschaft gewonnen werden kann und eine sofortige DNA-Extraktion aus den Chorionzotten möglich ist. Eine eindeutige Identifizierung von Chorionzotten und eine Entfernung mütterlicher Gewebestücke sind von hoher Bedeutung, um Fehlbefunde zu vermeiden. Der Ausschluss einer MCC (EDTA-Blut der Schwangeren erforderlich) ist eine auch in der S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“ verankerte Voraussetzung für die korrekte Erstellung des Befundes.

Eine biochemische Analyse an nativen Chorionzotten wird heutzutage seltener eingesetzt. Sie erfolgt z. B., wenn eine molekulargenetische Diagnostik für eine Stoffwechselerkrankung nicht zur Verfügung steht.

### Analyse fetaler Lymphozyten und anderer fetaler Gewebe

Die Chromosomenanalyse an fetalen Lymphozyten erfordert eine Chordozentese, die Punktion einer Nabelvene (FBS, „fetal blood sampling“). Beim FBS wird die Nabelschnurvene vorzugsweise an der Plazentaansatzstelle punktiert. Das FBS kann ab der 18 + 0. SSW durchgeführt werden, dabei werden 1–2 ml Fetalblut gewonnen. Das Abortrisiko wird mit 1–3%

**Tab. 2** Verschiedene Konstellationen plazentabegrenzter Zellmosaik oder fetoplazentarer Diskrepanzen mit Angabe der prozentualen Häufigkeit unter allen Mosaiken. (Mod. nach [5])

CPM-Typ	Häufigkeit (%)	KZK	LZK	Fetus
I	43,2	+	–	–
II	25,0	–	+	–
III	16,1	+	+	–
<b>FPD-Typ</b>				
1	0	+	–	+
2	3,6	–	+	+
	6,8	+	+	+

Nur Trisomien einzelner Autosomen sind berücksichtigt (n = 192). CPM „confined placental mosaicism“, plazentabegrenzte Zellmosaik; FPD fetoplazentare Diskrepanzen; KZK Kurzzeitkultur, LZK Langzeitkultur, + Mosaiktrisomie oder durchgängige Trisomie, – normaler Chromosomensatz.

angegeben, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, dass die FBS meist bei Hochrisikoschwangerschaften eingesetzt wird. Hauptindikationen sind die zytogenetische und/oder molekulargenetische Diagnostik nach auffälligem Ultraschallbefund in hohen Schwangerschaftswochen oder nach unklarem zytogenetischem Befund einer CVS und/oder AC.

Die Bearbeitung der fetalen Lymphozyten zur Chromosomenanalyse folgt weitgehend den Protokollen der postnatalen Lymphozytenanalysen [11]. Ein Befund kann innerhalb von 3–4 Tagen erstellt werden. Analog zum pränatalen Schnelltest an nativen Fruchtwasserzellen kann auch eine molekulargenetische Untersuchung an nicht kultivierten fetalen Lymphozyten erfolgen.

Die diagnostische Sicherheit des zytogenetischen Befundes aus fetalen Lymphozyten ist jedoch eingeschränkt, da falsch-negative Befunde beim Auftreten von spezifischen Mosaiken relativ häufig sind. So sind nach einer konventionellen Chromosomenanalyse das für das Pallister-Killian-Syndrom typische Isochromosom i (12p) fast nie und die Triploidie nur selten im Fetalblut nachweisbar. Eine Kontamination mit mütterlichen Lymphozyten sollte immer ausgeschlossen werden (Kleihauer-Test).

Die zytogenetische Analyse fetaler Urinzellen oder, bei pathologischer Vermehrung von fetalen Körperflüssigkeiten, z. B. die Analyse von Asziteszellen wird unter strengen Kautelen in unserem Zentrum erfolgreich eingesetzt. So zeigten Untersuchungen bei Schwangerschaften

**Tab. 3** Häufigkeit von Fetten mit Chromosomenaberration in Abhängigkeit von der zytogenetischen Konstellation der Chorionzotten. (Mod. nach [5])

KZK	LZK	Feten mit Aberration (%)
M	N	0
T	N	0
N	M	4,1
N	T	83,3
M	M	23,5
T	M	18,2
M	T	100

Nur Trisomien einzelner Autosomen sind berücksichtigt (n = 192). KZK Kurzzeitkultur, LZK Langzeitkultur, M Mosaiktrisomie, T durchgängige Trisomie, N normaler Chromosomensatz.

ten mit auffälligem Ultraschallbefund falsch-negative Befunde im Fetalblut, da im fetalen Urin (Trisomie 6) bzw. im fetalen Aszites (Trisomie 16) eindeutig Mosaikvorlagen vorlagen.

### Weitere Aspekte

#### Uniparentale Disomie

Eine uniparentale Disomie (UPD) ist das Auftreten eines Chromosomenpaares, bei dem beide homologe Chromosomen nur von einem Elternteil stammen. Bei den Chromosomen, die eine elterliche genomische Prägung bestimmter Gene aufweisen, kommt es hierdurch zu klinisch relevanten Krankheitsbildern. Zu dieser Gruppe gehören die Chromosomen 6, 7, 11, 14 und 15 [9]. Für das Chromosom 16 ist die Situation nicht zweifelsfrei geklärt, da

ein Trisomie-16-Mosaik und eine maternale UPD (mit vielleicht kryptischem Mosaik) identische fetale Auffälligkeiten wie Wachstumsrestriktion, Herzfehler und Analatresie hervorrufen. Ebenso führt eine UPD 20 nicht ausnahmslos zu Pseudohypoparathyroidismus.

Das Auftreten eines Zellmosaiks, einer Robertson-Translokation, eines Markerchromosoms bzw. das Vorliegen einer – auch parentalen – balancierten Translokation, sind generell mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer UPD der beteiligten Chromosomen assoziiert. Demzufolge sollte die Problematik einer möglichen UPD und die Handlungsoptionen mit der Patientin im Rahmen einer genetischen Beratung besprochen werden.

### Befundmitteilung

Für die Erstellung eines Befundes gibt es detaillierte Forderungen, die in der S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“ [9] aufgeführt sind. Nach dem GenDG darf der Patientin der Befund nur durch die verantwortliche ärztliche Person oder die ärztliche Person, die die genetische Beratung durchgeführt hat, mitgeteilt werden.

### Zuverlässigkeit

Die Ergebnisse zytogenetischer Untersuchungen sind sehr zuverlässig, wenn gewebeinhärente Eigenschaften bei der Analyse mit berücksichtigt werden. Die Chromosomenanalyse aus Fruchtwasserzellen ist nach wie vor der Goldstandard der invasiven Pränataldiagnostik, an dem sich neue diagnostische Methoden messen lassen müssen.

### Nichtinvasive pränatale Diagnostik aus maternalem Blut

Das Vorkommen zellfreier fetaler/plazentarer DNA im Blut von Schwangeren wurde erstmalig 1997 beschrieben und ermöglicht heute bereits die genetische Diagnostik bestimmter fetaler Merkmale, ohne dass ein invasives Vorgehen erfolgen muss [7].

Die pränatale Bestimmung qualitativer genetischer Merkmale wie Rhesusstatus und, wenn medizinisch indiziert, das fetale Geschlecht bei X-gebundener Erkrankung, wird bereits in einigen Län-

dern erfolgreich eingesetzt [2]. Auch seltene paternale Genmutationen wurden bereits erfolgreich diagnostiziert.

Die Analyse von quantitativen Merkmalen, wie z. B. der Nachweis von fetalen Aneuploidien, ist technisch weitaus schwieriger und aufwendiger. Verschiedene methodische Ansätze wie die „massive parallele Sequenzierung“ oder das „MALDI-TOF“ („matrix-assisted laser desorption/ionization – time-of-flight mass spectrometry“, matrixunterstützte Laserdesorption/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie) wurden aber bereits in ersten Studien zur nichtinvasiven humangenetischen Pränataldiagnostik (NIPD) von fetalen Aneuploidien (Trisomie 13, 18 und 21) erfolgreich eingesetzt. Ein diagnostischer Test wird in den USA seit Oktober 2011 angeboten.

### Fazit für die Praxis

- Eine zytogenetische Pränataldiagnostik mittels gängiger invasiver Methoden wie AC bzw. CVS erlaubt eine genaue Vorhersage von fetalen Chromosomenstörungen auf lichtmikroskopischer Ebene.
- Obwohl pränatale Ultraschalluntersuchungen und die biochemische Serumdiagnostik für einige Aneuploidien Vorhersagewahrscheinlichkeiten von 90–95% erreichen, bleibt für eine präzise und umfassende Erkennung einer Chromosomenstörung die Fruchtwasserzell- und Chorionzottenanalyse notwendig.
- Einen zukünftigen Wandel könnte der Einsatz der NIPD aus zellfreier fetaler DNA bringen.
- Ein verantwortungsvoller Umgang mit diesen neuen Technologien ist dabei jedoch unerlässlich und erfordert auch weiterhin die individuelle Indikationsstellung im Rahmen einer kompetenten genetischen Beratung.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. rer. nat. R.-D. Wegner**  
Zentrum für Pränataldiagnostik und Humangenetik Kudamm 199  
Kurfürstendamm 199, 10719 Berlin  
wegner@kudamm-199.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### Literatur

1. Benn PA (2010) Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: Milunsky (Hrsg) Genetic disorders and the fetus. Wiley & Blackwell, London, S 194–272
2. Chitty LS, Schoot CE van der, Hahn S, Avent ND (2008) SAFE – The Special Non-invasive Advances in Fetal and Neonatal Evaluation Network: aims and achievements. Prenat Diagn 28:83–88
3. Gardner RJM, Sutherland GR (2004) Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford University Press, Oxford
4. (o A) (2009) Gesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen (Gendiagnostikgesetz – GenDG). Bundesgesetzblatt Teil I 2009 Nr. 50, ausgegeben zu Bonn am 4. August 2009. BGBl I 2009: 2529–2538
5. Hahnemann JM, Vejerslev LO (1997) European collaborative research on mosaicism in CVS (EUCROMIC) – fetal and extrafetal cell lineages in 192 gestations with CVS mosaicism involving single autosomal trisomy. Am J Med Genet 70:179–187
6. Hsu LYF, Benn PA (1999) Revised guidelines for the diagnosis of mosaicism in amniocytes. Prenat Diagn 19:1081–1090
7. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF et al (1997) Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 350:485–487
8. Nationaler Ethikrat (2003) Genetische Diagnostik vor und während der Schwangerschaft. Nationaler Ethikrat, Berlin
9. Gesellschaft für Humangenetik (GfH), Berufsverband Deutscher Humangenetiker (BVDH) (2011) S2-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik“. Med Genet 23:281–322
10. Sperling K, Wegner RD (1995) Ätiologie und Pathogenese chromosomal bedingter embryofetaler Fehlbildungen und Spontanaborte. In: Becker R, Fuhrmann W, Holzgreve W, Sperling K (Hrsg) Pränatale Diagnostik und Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, S 45–86
11. Wegner RD (Hrsg) (1999) Diagnostic cytogenetics. Lab manual. Springer, Berlin