

FOCUS

Diagnostische Möglichkeiten in der Pränatalmedizin

Stefan RIEDL

ZUSAMMENFASSUNG

In der Pränatalmedizin sind derzeit verschiedene Tendenzen zu beobachten: Die Zahl der diagnostizierbaren Erkrankungen vergrößert sich ständig, man versucht einerseits, den Zeitpunkt der Diagnose in ein immer früheres Stadium der Schwangerschaft zu verlegen, andererseits, die Sicherheit der Untersuchung für Mutter und Kind zu erhöhen. Da die pränatale Therapie mit dieser Entwicklung nicht Schritt hält, vergrößert sich die Kluft zwischen diagnostizierbaren und therapierbaren Krankheiten weiter. Zur Übersicht werden in diesem Artikel die Methoden und Techniken der pränatalen Diagnose beschrieben und es wird ein Ausblick auf mögliche neue Entwicklungen unternommen. Auch die Risiken der einzelnen Methoden werden besprochen und miteinander verglichen.

Stichwörter: Pränatale Diagnose, Ultraschall, Amniozentese, Chorionzottenbiopsie

ABSTRACT

Prenatal medicine is tending towards different directions: A steadily increasing number of diseases can be diagnosed, the time of diagnosis is shifted more and more to earlier phases of pregnancy while, on the other hand, emphasis is laid on safety of both the mother and her child. Since the progress in prenatal therapy cannot compete with these developments, the gap between the possibilities of diagnosis and therapy is widening. This paper reviews the methods and techniques of prenatal diagnosis and gives an outlook on possible future developments and trends. In addition, the risks of the different methods are discussed and compared.

key words: prenatal diagnosis, ultrasonography, amniocentesis, chorionic villus sampling

Verzeichnis der im Text verwendeten Abkürzungen

AC	Amniocentesis	PUBS	Percutaneous umbilical blood sampling
AF	Amniotic fluid	RAC	Routine-amniocentesis
CVS	Chorionic villous sampling	RDS	Respiratory distress syndrome
EAC	Early amniocentesis	RFLP	Restricted fragment length polymorphism
FisH	Flourescent in-situ Hybridization	SS	Schwangerschaft
hcG	Human chorionic gonadotropin	SSW	Schwangerschaftswoche
HLA	Human leukocyte antigen	TA-CVS	Transabdominal chorionic villous sampling
IUGR	Intrauterine growth retardation	TC-CVS	Transcervical chorionic villous sampling
IUT	Intrauterine Therapie	TFLR	Total fetal loss rate
IVF	in vitro Fertilisation	uE3	Unconjugated estriol
mSM	Maternale Serummarker	US	Ultraschall
NRBC	Nucleated red blood cells		
p.c.	post conceptionem		
PCR	Polymerase chain reaction		
PD	Pränatale Diagnose		
PID	Präimplantationsdiagnose		

EINLEITUNG

Pränatalmedizin, ein junges, sich rasch entwickelndes Fach der Medizin, weist eine Besonderheit auf: Sie beschäftigt sich mit einer ständig wachsenden Zahl von Krankheiten, die zwar einer Diagnose, aber keiner Therapie zugänglich sind. Dies liegt vor allem daran, daß der Großteil dieser Störungen genetischer Natur ist und die Möglichkeiten ihres Nachweises mit den Erkenntnissen bei der Erforschung des menschlichen Genoms parallel in der gleichen Rasanz verlaufen. Die Kluft zu den Therapieansätzen vergrößert sich ständig. Bislang bekannte Behandlungen werden nach dem neuesten Stand modifiziert (fetale Arrhythmien, Rhesus-Inkompatibilität), einigen wenigen Kindern mit Blutkrankheiten wird die immer frühere Durchführbarkeit therapeutischer Interventionen zugute kommen (Therapie mit hämatopoetischen Stammzellen), und die Fortschritte endoskopischer Operationstechniken können das Indikationsspektrum bei größerer Schonung der Mutter und des Kindes erweitern. Die immer sicherere und früher einsetzbare Pränataldiagnose (PD) wird für viele Schwangere, denen bei Nachweis einer genetischen Erkrankung ihres Kindes der Schwangerschaftsabbruch angeboten wird, als Verbesserung hinsichtlich psychischer und physischer Belastungen ange-

sehen. Die Vorverlegung der PD mündet in die Präimplantationsdiagnostik, die bei in-vitro-Fertilisation gestellt werden kann und darauf abzielt, nur genetisch gesunde Kinder zu implantieren.

Ein weiteres Merkmal der PD, das einerseits die Rasanz ihrer Entwicklung in viele Richtungen bewirkt, andererseits die Grundlage für Interessenskonflikte in sich birgt, besteht in der weit gefächerten Interdisziplinarität des Faches. Klinisch tätige Gynäkologen, Ultrasonologen, Kardiologen, Chirurgen, Perinatologen, Pathologen wie auch Laborgenetiker handeln aus je eigenem Blickwinkel im Span-

Tabelle 1: Indikationen zur Pränatalen Diagnose

- Fortgeschrittenes Alter der Mutter
- Familiäres Auftreten von:
Trisomie 21 oder anderen Aneuploidien, balanzierten Translokationen oder strukturellen Rearrangements, metabolischen oder hämatologischen Erkrankungen, Dystrophien, mentaler Retardierung, Neuralrohrdefekten
- Mütterliche Angstzustände
- radioaktive oder chemotherapeutische Exposition der Mutter
- Früherer intrauteriner Fruchttod
- Ältere Kinder mit Erbkrankheiten
- Abnorme Ultraschallbefunde

	Untersuchungstechnik	Untersuchungszeitraum
nicht-invasiv, bildgebend	Ultraschall	ab 9. SSW
	Echokardiographie	
	Doppler-Sonographie	
nicht-invasiv, nicht bildgebend	Bestimmung mütterlicher Serummarker	15. - 18. SSW
	Isolation fetaler Zellen aus dem mütterlichen Blut	ab 10. SSW
Invasiv, nicht bildgebend	Chorionzottenbiopsie	9. 12. SSW
	Amniozentese	15. - 18. SSW
	Frühamniozentese	10. - 14. SSW
	perkutane Nabelschnurpunktion	ab 18. SSW
invasiv, bildgebend	Fetoskopie	15. - 18. SSW
	(Embryoskopie)	ab 5. SSW

Tabelle II: Pränatale Diagnostetechniken

nungsfeld zwischen dem Wohl des Kindes, der Mutter oder des Fortschritts der Forschung. Optimale individuelle, nicht-direktive Beratung erfordert viel Zeit und Einfühlungsvermögen in jedem Fall, um psychologische Beeinträchtigungen der Schwangeren und ihrer Familie zu verringern.

Das Bewußtsein der Möglichkeit, immer mehr unheilbare Krankheiten dadurch zu "verhindern", daß das behinderte Kind abgetrieben wird, stellt unsere Gesellschaft vor große ethische Probleme, unter anderem im künftigen Umgang mit behinderten Menschen. Gemeinsam mit gentechnologischen Interventionen eröffnet die PD Aussichten auf eine Zukunft, in der Eugenik an der Wurzel betrieben werden kann.

Die Gründe, aus denen heraus Frauen das Angebot einer PD annehmen, sind im einzelnen unterschiedlich (Tab. I). In allen Fällen spielt die Angst oder die Ungewißheit hinsichtlich einer Erkrankung des Kindes eine Rolle; das statistische Risiko liegt bei vielen dieser Frauen höher. Am häufigsten werden Untersuchungen bei Schwangeren über 35 Jahren durchgeführt. Das Wissen um die exponentiell anstei-

gende Wahrscheinlichkeit einer genetischen Störung bei einer Schwangerschaft (SS) ab diesem Alter ist vielfach belegt und weithin bekannt. Für Folge-SS nach der Geburt eines erkrankten Kindes durch eine gesunde Mutter besteht bei autosomal-rezessiv vererbten Defekten ein 25%iges Wiederholungsrisiko und ein 50%iges bei X-chromosomal-rezessiven Erkrankungen, die über die Mutter an alle männlichen Nachkommen vererbt werden. In diesen Fällen kann es vorkommen, daß die Schwangere sich zur Abtreibung entschließt, wenn der Arzt keine zuverlässige frühe PD in Aussicht stellt. Die PD sieht sich hier als Retter zytogenetisch gesunder Kinder. In anderen Fällen, in denen eine falsche oder unsichere Diagnose Frauen zur Abtreibung veranlaßt, in denen der Eingriff selbst zu einem Abort führt oder das Indikationsspektrum für einen therapeutischen Schwangerschaftsabbruch erweitert wird (Spaltbildungen des Kiefers und des Gaumens, Geschlechtsselektion, HLA-Unverträglichkeit eines Fetus mit einem bereits geborenen kranken Kind und damit ausgeschlossene Organspendertauglichkeit), muß ihr Einsatz zumindest in bezug auf das Wohl des Kindes kritisch betrachtet werden.

PRÄNATALE UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN

Die folgende Darstellung pränataler Untersuchungstechniken einschließlich ihrer Risiken, sowie die Auflistung nachweisbarer Krankheiten soll als Übersicht dienen, Trends und Perspektiven für die Zukunft werden abschließend beleuchtet.

NICHT-INVASIVE, BILDGEBENDE UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN

Ultraschall (US)

Da die US-Untersuchung als nicht-invasive Technik einfach und billig durchgeführt werden kann, hat sie in der Geburtshilfe und Gynäkologie rasch universelle Verbreitung gefunden. Mit den Fortschritten in der Gerätetechnik und der Übung und Verfeinerung des diagnostischen Blickes nimmt ihre Bedeutung für die PD von Abnormitäten bereits ab der Früh-SS zu.

Die Untersuchung kann auf transvaginalem (Früh-SS⁸³) oder transabdominalem Wege erfolgen. Mit dem real-time-Verfahren können Organbewegungen, z.B. die Herzaktion, und aktive Bewegungen des Feten sichtbar gemacht werden⁸⁴. Für den Einsatz des US in der SS gibt es im wesentlichen 3 Bereiche:

1. Die Beobachtung und Kontrolle der Embryonal- und Fetalentwicklung von der Anlage der Fruchtblase bis zur Geburt. Dabei können die Entstehung von Organen, ihr Wachstum, ihre strukturelle und funktionelle Differenzierung sowie Strukturen der Fruchthöhle, das AF-Volumen und die Plazenta beurteilt werden. Daneben kann mit Hilfe der Biometrie von Bauchumfang, biparietalem Durchmesser, Femur- und Scheitel-Steißlänge das Gewicht des Kindes geschätzt werden. Gemeinsam können diese Ergebnisse in Bezie-

hung zu Normwerten für ein entsprechendes SS-Alter gesetzt werden⁸⁵.

2. Eine wichtige Rolle spielt der US bei invasiven Methoden wie Amniozentese (AC), Chorionzottenbiopsie (CVS) oder fetaler Nabelschnurpunktion, die nur durch die Visualisierung der anatomischen Verhältnisse ausreichend sicher und verlässlich durchgeführt werden können. Auch bei der Gewinnung von fetalem Gewebe (Haut, Muskel, Leber) wird US zunehmend anstelle der Fetoskopie eingesetzt⁸⁶.

3. Abnormitäten im US können immer klarer definiert und immer früher nachgewiesen werden, im wesentlichen handelt es sich um fetale Malformationen, intrauterine Wachstumsretardierung (intrauterine growth retardation, IUGR) und Anomalien des AF-Volumens (Hydramnion, Oligamnion) (s.u., Tab. IV). In letzter Zeit werden auch Assoziationen ihres Auftretens und die Wahrscheinlichkeit ihrer Kombination mit einem chromosomalen Defekt erhellt⁸⁷. So sollte bei jeder AF-Volumensänderung detailliert nach fetalen Malformationen oder symmetrischer IUGR gesucht werden, bei deren Hinzutreten der Verdacht eines genetischen Defekts besteht. Isoliertes Hydramnion/Oligamnion und asymmetrische IUGR sprechen jedoch eher dagegen.

Bei den chromosomalen Defekten kann es sich um numerische (Monosomien, Trisomien, Polysomien) und um strukturelle Aberrationen wie partielle Deletionen handeln. Einige Malformationen wie Duodenalatresie, untere obstruktive Uropathie, Omphalozele, Hydrozephalus ohne Neuralrohrdefekt, Zwerchfellhernien, Herzmißbildungen und multiple Fehlbildungen zeigen auffallende Assoziationen. Hygroma colli ging z.B. sogar in 75% der Fälle mit einem chromosomalen Defekt einher⁸⁷. 1985 wurde erstmals ein Bericht über die Beobachtung einer abnormen Flüssigkeitsansammlung im Nackenbereich (nuchal) eines DOWN-Fetus im 2. Trimester veröffentlicht⁸⁸. Die Verfolgung dieses Phänomens führ-

te soweit, daß 1993 54% von Trisomie-21-Fällen in der 10. – 12. SSW aufgedeckt und einer absichernden Diagnose zugeführt werden konnten⁸⁹. Bedeutend für die Diagnose und Prognose der nuchalen Flüssigkeitsansammlung scheint laut BRONSHTEIN et al.⁹⁰ die Unterscheidung einer nicht-septierten Form von einer septierten zu sein. Bei der ersten könnte es sich um eine Variante einer an sich physiologischen Erscheinung handeln, die bei 1,6 % aller Feten zwischen der 13. und 16. SSW zu beobachten war⁹⁰. Sie war in 6% mit Chromosomenabnormalitäten und in 15% mit strukturellen Mißbildungen assoziiert.

Der septierten Form, ab der 9. SSW erkennbar, liegt wahrscheinlich ein echtes subkutanes Ödem durch Obstruktion von Lymphgefäßen zugrunde. Sie trat in 72% mit abnormem Karyotyp (Trisomien, Monosomie X) und in 40% mit zusätzlichen Mißbildungen auf.

Es gibt Bestrebungen eine US-Untersuchung gegen Ende des 1. Trimesters als kostengünstiges Früh-Screening auf chromosomale Defekte einzusetzen, dem bei Hinweisen auf ein Hygrom eine zytogenetische Diagnose durch CVS folgen kann^{89,90}. Eine solch frühe Diagnose würde als einzige mögliche Konsequenz eine Abtreibung des Kindes nach sich ziehen.

Was US-Nebenwirkungen und -risiken betrifft, so konnten bei 425 Kindern keine biologisch signifikanten Unterschiede zu einer Kontrollgruppe in bezug auf physische und neurologische Entwicklung festgestellt werden⁹¹. US scheint äußerst geringes oder kein Risiko für das Kind in sich zu bergen.

Fetale Echokardiographie

Fetale Echokardiographie wird als spezielle Form der US-Untersuchung zur Aufdeckung kongenitaler Herzmißbildungen und fetaler Arrhythmien eingesetzt. Die gesamte für die kardiologische Diagnostik zur Verfügung stehende US-Technik, inklusive gepulster und continuous-wave Doppler sowie color-flow map-

ping, kann bereits in der PD verwendet werden. Der frühzeitige Nachweis von Herzmißbildungen, mit 0,8% die häufigsten angeborenen Malformationen und nur zum Teil durch geübten Blick im Routine-US erkennbar⁹², ermöglicht es, eine Entbindung betroffener Kinder in Kliniken mit neonataler Intensivbetreuung zu planen und unmittelbar notwendige Therapien, wie Offenhalten des Ductus Botalli durch Prostaglandin E1 zu veranlassen. Außerdem sollten der Karyotyp und das Vorliegen weiterer struktureller Abnormalitäten abgeklärt werden, um die Chancen einer erfolgreichen Therapie beurteilen zu können⁹³. Fetale Arrhythmien können bereits in utero einer Therapie zugeführt werden⁹³. Indiziert ist die fetale Echokardiographie einerseits beim Nachweis von chromosomalen oder anatomischen Anomalien und von Arrhythmien, andererseits bei familiärem Auftreten von kongenitalen Vitien oder bei mütterlichem Diabetes mellitus⁹³. Die apparatetechnischen Möglichkeiten können dann ausgenutzt werden, wenn der Untersucher alle Diagnosetechniken (v.a. Vierkammerblick) beherrscht und einsetzt^{92,95,96}.

Doppler-Sonographie

Anhand einer veränderten Wellenform (v.a. des diastolischen Teils) bei Doppler-Sonographie der Nabelarterien kann eine Minderversorgung durch die Plazenta nachgewiesen werden, die in der Spät-SS eine fetale Wachstums- hemmung (IUGR) und fetal distress syndrome zur Folge haben kann^{97,98}. Schwierigkeiten gab es bisher in bezug auf die Verlässlichkeit der Ergebnisse, einerseits wegen Schwankungen des Nabelarterienblutflusses von Tag zu Tag (20%), andererseits wegen Variationen der Resultate von Untersucher zu Untersucher (10%)⁹⁸. Außerdem sind mögliche Nebenwirkungen, die aufgrund der gegenüber US bis zu 10 mal höheren akustischen Impulse nicht auszuschließen sind, noch nicht erforscht⁹⁸. Auf einigen Gebieten konnte sich die Doppler-So-

nographie bisher bewähren: Das perinatale Monitoring von Hochrisiko-SS führte zu einer Reduktion der Totgeburtenrate um die Hälfte⁹⁸, und durch den doppler-sonographischen Nachweis einer Plazentainsuffizienz konnten dystrophe Feten einer low-dose Aspirin-Therapie zugeführt werden, die eine akzeptable Gewichtszunahme bewirkte⁹⁹. Erfolgreich eingesetzt wurde sie beispielsweise auch bei der Kontrolle der fetalen bzw. maternalen Durchblutung bei mütterlicher Diabetes¹⁰⁰ und nach fetalen Transfusionen wegen Rhesus-Inkompatibilität¹⁰¹.

Kernspintomographie (magnetic resonance imaging, MRI)

Wenn eine differenzierte Beurteilung des fetalen Gehirns im US nicht möglich ist, so kann bei speziellen Fragestellungen das MRI herangezogen werden¹⁰². Es können etwa durch Beobachtung einer Störung der physiologischen, hirmantelgerichteten Nervenzellmigration Verletzungen des Gehirns nachgewiesen werden¹⁰³ und bestimmte Defekte wie Lissenzephalie früh und deutlich sichtbar gemacht werden¹⁰⁴. Einsatz findet das MRI auch bei Hinweisen auf eine obstruktive Nierenfehlbildung durch die dem US überlegene Bildauflösung¹⁰⁵. Alle diese Diagnosen können aber keiner Behandlung zugeführt werden. Mögliche, vorstellbare Nebenwirkungen der Diagnostik sind bis dato nicht untersucht.

Radiographie

Es können direkt Malformationssyndrome mit skelettalen Abnormitäten, wie bestimmte Typen von Zwergwuchs, oder durch Anfärbung der AF mit wasserlöslichem Kontrastmittel der fetale Schluckakt und damit eine eventuell vorliegende Ösophagus- oder Duodenalatresie dargestellt werden, die postnatal umgehend einer chirurgischen Therapie zugeführt werden können. Die Entwicklung der

US-Technik macht den Einsatz der Radiographie immer entbehrlicher. Besser als im US kann bei Zwillings-SS mit Hilfe der CT-Amniographie das Vorliegen von einer bzw. zwei Amnionhöhlen geprüft werden¹⁰⁶. Auch bei dieser Methode gibt es keine Studien zu möglichen Nebenwirkungen und Risiken für die Entwicklung des Kindes.

NICHT-INVASIVE, NICHT BILDGEBENDE UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN

PD-Methoden:

- Bestimmung mütterlicher Serummarker
- Analyse von aus dem mütterlichen Blut isolierten fetalen Zellen

Zu den invasiven PD-Techniken verhalten sich US, mSM-Bestimmung und Isolierung von Fetazellen aus dem mütterlichen Blut in Bezug auf Zeitpunkt der Untersuchung und Sicherheit für den Feten unterschiedlich: Während bei den ersteren nach einer möglichst frühen Durchführung gestrebt wird, um physische und psychische Beeinträchtigungen der Mutter nach einer eventuell nachfolgenden Abtreibung zu verringern, dabei aber immer ein Risiko für das Kind schon bei der Untersuchung in Kauf genommen wird, bleibt bei den nicht-invasiven PD-Verfahren der spätere Untersuchungszeitpunkt aus physiologischen, die Entwicklung der SS und ihres „Produktes“ betreffenden Gründen relativ unverrückbar bei der Prämisse der größtmöglichen Diagnosesicherheit für das Kind. Diagnostische Unzuverlässigkeiten lassen sie bisher kaum über den Status von Screening-Methoden hinauskommen. Auch sind für den US und für die mSM-Bestimmung die Diagnosebereiche beschränkt – US kann naturgemäß nur sichtbare Abnormitäten aufdecken und Verdachtsmomente auf

genetische Erkrankungen liefern, der Nachweis von mSM-Veränderungen dient im wesentlichen als Hinweis auf Trisomie und Neuralrohrdefekt – beschränkt. Die Technik der Isolierung fetaler Zellen läßt als Diagnosemethode *de facto* dieselben diagnostischen Möglichkeiten wie eine Amniozentese oder eine Chorionzottenbiopsie zu, die gemeinsam in Zukunft neue therapeutische Möglichkeiten (z.B. Gentherapie) eröffnen könnten.

mSM-Bestimmung

Die Tatsache, daß das Risiko für chromosomale Aneuploidien ab einem Alter von 35 Jahren deutlich ansteigt, jedoch der Anteil der Schwangeren dieser Altersgruppe, auf die sich die PD konzentriert, nur 5% aller SS ausmacht, führt dazu, daß 80% der von M. DOWN betroffenen Kinder von Frauen unter 35 Jahren geboren werden. Da ihr statistisches Risiko für Aneuploidie kleiner als die Abortrate nach AC ist, wird AC – zudem aus organisatorischen sowie wirtschaftlichen Gründen – nicht

als Routine-Untersuchung bei allen SS durchgeführt. Seit der Entdeckung von charakteristischen Veränderungen mütterlicher Serummarker bei Trisomien wird versucht, eine großflächige Screening-Methode zu entwickeln, die den Einsatz von invasiven Verfahren deutlich reduzieren könnte¹⁰⁷.

Dem Nachweis von erniedrigten mS-AFP (maternal serum alpha-fetoprotein)-Spiegeln bei chromosomalen Aneuploidien¹⁰⁸ folgten Berichte über veränderte hCG (human chorionic gonadotropin)-Spiegel bei M. DOWN (erhöht) und anderen Trisomien (erniedrigt bei Trisomie 18 und 13)¹⁰⁹ sowie über erniedrigte uE3 (unconjugated estriol)-Spiegel bei M. DOWN¹¹⁰. Aus diesen drei biochemischen Markern wurde ein Aneuploidie-Index errechnet¹¹¹. Die Bedeutung und Gewichtung der einzelnen Faktoren und ihre optimale Kombination wird unterschiedlich diskutiert. Alle drei sind unabhängig vom mütterlichen Alter, jedoch nicht vom SS-Alter, und zeigen charakteristische Verläufe im zweiten Trimester (s. Abb. 1), weshalb ihre Beurteilbarkeit in diesen

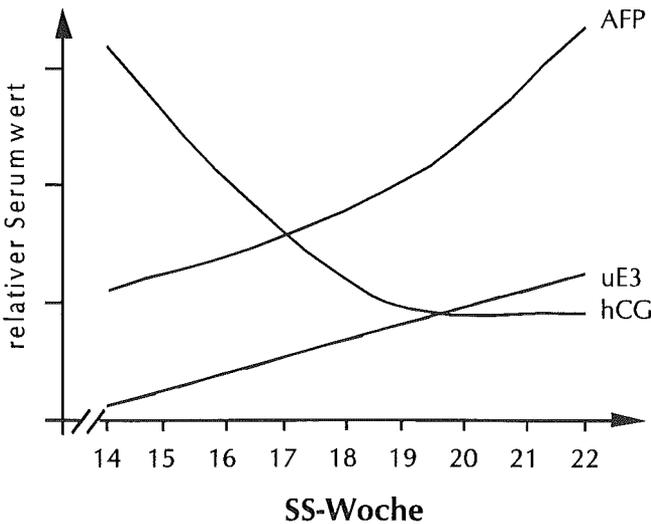


Abbildung 1: Verlauf der Serummarker im zweiten Trimester

AFP ... α -Fetoprotein
 uE3 ... unkonjugiertes Östriol
 hCG ... humanes Choriongonadotropin

Nach I. BARTELS (1991) Serummarker zur Bestimmung des individuellen Risikos für ein Kind mit Down Syndrom. *Diagnose & Labor* 41:174-178.

Zeitraum (15. bis 18. SSW) fällt und eine genaue Gestationsaltersbestimmung erfordert.

AFP-Messung besitzt alleine nur eine bedingte diagnostische Aussagekraft für Aneuploidien (25% für M. DOWN^{113,114}), dafür jedoch zusätzlich den Nutzen, bei Erhöhung einen starken Hinweis auf einen offenen Neuralrohrdefekt zu geben. hCG zeigt die beste Korrelation mit chromosomalen Abnormitäten, wobei einige Forscher den Nachweis von hCG-Untergruppen (alpha-/beta-hCG) anstelle des gesamten hCG favorisieren^{115,116}. uE3 verändert sich am empfindlichsten zwischen der 15. und 20. SSW. Sein diagnostischer Wert wird daher am meisten von unexakten Schätzungen des Gestationsalters beeinträchtigt und deshalb öfter angezweifelt^{116,117}. In bisher veröffentlichten Studien konnten etwa 60% aller M. DOWN-Fälle bei 5% falsch positiven Resultaten identifiziert werden^{111,113}, wobei Frauen mit einem verdächtigen Aneuploidie-Index einer AC zur Absicherung zugeführt wurden. Vorteile und mögliche Komplikationen von AC sind mit dem Nachweis normaler bzw. abnormer Serummarker neu abzuwägen: Die Wahrscheinlichkeit von 1:40 für eine 40-jährige Schwangere, ein Kind mit M. DOWN in sich zu tragen, würde sich mit einem unauffälligen mSM-Befund auf 1:400 reduzieren. Das Risiko durch AC einen Abort zu erleiden (1:100), wäre demnach viermal so hoch¹⁰⁷.

mSM-Screening-Protokolle wurden auch für Trisomie 18 erstellt¹¹⁸ und brachten einen Nachweiserfolg von ebenfalls 60%.

Die relativ späte Durchführbarkeit des mSM-Screenings wird als ihr bedeutendster Nachteil im bezug auf eine nachfolgende Abtreibung des Fötus angesehen. In Kombination mit NRBC-Bestimmungen könnten Verbesserungen in bezug auf diagnostische Sicherheit, weniger auf den Untersuchungszeitpunkt, erreicht werden¹¹⁹. Auch gemeinsam mit US-Untersuchungen könnten die Indikationen für AC kritischer gestellt werden¹²⁰.

Die derzeitige Therapiemöglichkeit der Chromosomenanomalien beschränkt sich auf eine symptomatische Behandlung der physischen Begleit anomalies und auf eine optimale Förderung der psycho-sozialen Entwicklung. Eine kausale Therapie ist zur Zeit noch nicht bekannt. Es gibt allerdings z. B. beim M. DOWN erste Vorstellungen, wie sie aussehen könnte: Dem Beispiel des weiblichen X-Chromosoms folgend, das zwar doppelt vorliegt, aber nur einfach aktiv ist (Lyon-Hypothese), versucht man auch das überschüssige 21. Chromosom im Falle des M. DOWN zu inaktivieren. Andere Möglichkeiten bestünden auch in einer Gentherapie, die überexprimierte Gene stilllegt.

Isolierung fetaler Zellen aus dem mütterlichen Blut

Nach der Entdeckung von XY-Zellen im mütterlichen Blut 1969¹²¹ wurden zahlreiche Versuche unternommen, die Sicherheit des Nachweises von Y-Chromosom-haltigen Zellen zu verbessern^{122,123}. Die Einführung der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) 1989 bedeutete nach einer längeren Durststrecke einen Meilenstein¹²⁴. Die seither laufenden Forschungen versuchen die Frage nach der optimalen, kernhaltigen Zellart, ihrer Häufigkeit im mütterlichen Blut und dem idealen Untersuchungszeitpunkt zu beantworten.

Die optimale Zellart ergibt sich aus der Spezifität hergestellter monoklonaler Antikörper, die verwendet werden, um fetale Zellen aus dem mütterlichen Blut zu isolieren und anzureichern. Von den drei nachweisbaren Zelllinien – Trophoblastzellen^{125,126}, Lymphozyten¹²⁷ und Erythrozytenvorstufen (nucleated red blood cells, NRBC) – erwies sich die letztere als am tauglichsten^{119,128}: NRBC kommen im Erwachsenenblut äußerst selten vor und lassen sich mit Hilfe von Antikörpern gegen Glykophorin-A (als Membran-Hauptbestandteil ausschließlich auf Erythrozyten) kombiniert mit

Antikörpern gegen CD 71, den Transferrin-Rezeptor (auf Erythrozyten-Frühformen, Monozyten und bestimmten aktivierten Lymphozyten), oder gegen CD 36 (agglutiniert nur fetale Erythrozyten¹²⁸) hochspezifisch nachweisen (100%). Neben der Geschlechtsbestimmung konnten bisher eine PD von beta-Thalassämie¹²⁹, bei Rhesus-Immunisierung¹³⁰ und von Aneuploidien^{132, 133} durchgeführt werden.

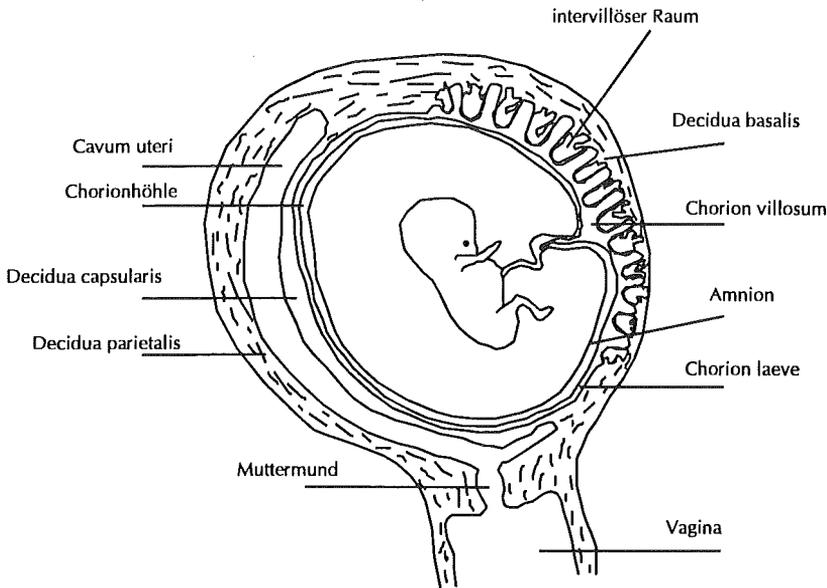
Das Verhältnis von mütterlichen kernhaltigen Blutzellen zu NRBC, die die Plazentaschranke passiert haben, wird mit 1:10⁷ bis 1:10⁸ angegeben¹¹⁹. Es unterliegt wahrscheinlich größeren Schwankungen und könnte sich schon durch eine bimanuelle Uterusuntersuchung zugunsten der NRBC verschieben. Auf jeden Fall wird man nicht ohne Anreicherung von fetalen Zellen, etwa durch Fluoreszenz¹²³- oder magnetisch¹³⁰ aktivierte Zellsortierung

auskommen, obwohl die Beobachtung gemacht wurde, daß in einigen aneuploidien SS NRBC in einem höheren Grad die fetomater-nale Blutschranke überwinden konnten¹³³.

Ein optimaler Untersuchungszeitpunkt konnte bisher nicht ermittelt werden, die problemlose Durchführbarkeit wird zumindest zwischen der 10. und 18. SSW^{119, 128} oder, mit Hilfe kombinierter Anreicherungsverfahren, für alle drei Trimester angenommen¹³¹.

Die Persistenz von fetalen Zellen aus früheren SS, die diagnostische Fehler ermöglichen würde, ist aufgrund der begrenzten NRBC-Lebensdauer unwahrscheinlich.

Nach dem heutigen Stand der NRBC-Bestimmung hinsichtlich Spezifität und Sensitivität wird die diagnostische Trefferquote auf 60% geschätzt. Gemeinsam mit der mSM-Bestimmung kann schon jetzt eine hohe Effektivität als Screening-Methode (M. DOWN) erreicht werden¹¹⁹.



Nach: K. L. MOORE (1985) Embryologie. Lehrbuch und Atlas der Entwicklungsgeschichte des Menschen. Schattauer-Verlag, Stuttgart.

Abbildung 2: Schematische Darstellung der den Embryo umgebenden Strukturen.

INVASIVE, NICHT BILDGEBENDE UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN

Unter Ausnutzung verschiedener Techniken wird fetales Zellmaterial gewonnen und mit Hilfe genetischer Untersuchungsmethoden wie Karyotypisierung, Zellkultivierung, Polymerasen-Ketten-Reaktion (PCR), FisH und RFLP analysiert.

Chorionzottenbiopsie (chorionic villus sampling CVS)

In den letzten 10 Jahren hat CVS in der Pränataldiagnostik (PD) als bedeutende Technik einen festen Platz eingenommen. Sie kann schon im ersten Trimester der Schwangerschaft (SS) eingesetzt werden und Ergebnisse liegen früher als bei Amniozentese (amniocentesis, AC) vor¹.

Intensive Studien betreffend Abortrate, Fehlbildungsrisiko, traumatische Komplikationen sowie Sicherheit und Präzision der Ergebnisse sind durchgeführt worden, ebenso wird CVS mit anderen PD-Techniken, besonders AC, in großen und vielschichtigen Studien verglichen.

Entwicklung der Plazenta in der frühen Embryogenese

Zum Verständnis sei die frühe pränatale Entwicklung des Menschen kurz umrissen^{2,3}: Die befruchtete Eizelle (Zygote) teilt sich in den ersten Tagen mehrfach. Am 4. Tag post conceptionem (p.c.), entsprechend dem späten Morulastadium (32 Zellen), kann die Zellansammlung erstmals in eine innere Zellmasse und in einen äußeren Trophoblasten differenziert werden.

Im Stadium der Blastozyste (64 Zellen) beginnt sich die innere Zellmasse in eine Epiblast- und in eine Hypoblastschicht zu untergliedern.

Am 6. Tag p.c. kommt es zur Einnistung in die Uterusschleimhaut. Der Hypoblast entwickelt sich in der Folge zum Dottersack, der Epiblast zu Embryo, Amnion und extraembryonalem Mesoderm, welches später sowohl das Chorion als auch den mesodermalen Zottenanteil bildet. Sobald die äußere Schicht der Blastozyste, der Trophoblast, vollständig in die Uterusschleimhaut eingedrungen ist, beginnt er stark zu proliferieren und sich in zwei Zellschichten zu differenzieren: 1) in den mitotisch hochaktiven Zytotrophoblasten und 2) in den aus neugebildeten Zytotrophoblastzellen verschmolzenen vielkernigen äußeren Synzytiotrophoblasten. Der Zytotrophoblast beginnt danach lokalisierte Zellklumpen zu formen, die als Primärzotten bezeichnet werden. In der 3. Woche p.c. dringt extraembryonales Mesoderm in sie ein, Sekundärzotten entstehen. Wenn sich einige mesodermale Zellen innerhalb der Sekundärzotten zu Blutkapillaren differenzieren, spricht man von Tertiärzotten, den reifen Chorionzotten. Sie bestehen demnach aus drei Schichten:

- 1) einer äußeren (hormonaktiven) Synzytiotrophoblastschicht,
- 2) einer mittleren Lage aus Zytotrophoblast und
- 3) einem inneren mesodermalen Anteil, der Blutkapillaren enthält.

Zusammen mit der Dezidua basalis (funktionelle Schicht des schwangeren Uterus) und den intervillösen Räumen (Lakunen zwischen Dezidua und Chorionzotten, in denen das mütterliche Blut die Zotten zum Stoffaustausch umspült) bilden die Chorionzotten die Plazenta. Der fetale Anteil (Zotten) ist durch Haftzotten mit dem mütterlichen (Dezidua) verwachsen.

Durchführung von CVS

Die Gewinnung des Chorionzottengewebes kann über verschiedene anatomische Zugänge

erfolgen, wobei die Biopsiestelle durch transabdominalen Ultraschall sichtbar gemacht wird^{4,6}.

- 1) Transzervikal (transcervical CVS, TC-CVS): Die Vagina wird über mehrere Tage gründlich desinfiziert. Dann wird ein Plastik Katheter via Zervix an die Plazenta herangeschoben, durch den mit einem Aspirationskatheter Zottengewebe unter Erzeugung eines negativen Druckes angesaugt wird. Das gewonnene Material wird sofort mikroskopisch auf das Vorhandensein von Chorionzotten kontrolliert, nötigenfalls kann der Vorgang wiederholt werden
- 2) Transabdominal (Transabdominal CVS, TA-CVS): Nach Desinfektion der Punktionsstelle am Abdomen wird eine Führungsnadel vorgeschoben, danach mit einer Aspirationsnadel Gewebe gewonnen.
- 3) Transvaginal (mit einer Aspirationsnadel durch die Scheidenwand?): Diese Form kann in Sonderfällen durchgeführt werden, wenn Frauen mit einem retrovertierten Uterus und einer an der Hinterseite der Gebärmutter lokalisierten Plazenta, wodurch TA- oder TC-CVS nicht möglich ist, CVS wünschen.

CVS wird üblicherweise am Ende des 1. Trimenons, also in der 9. bis 12. SS-Woche durchgeführt⁵, in Ausnahmefällen wie bei mißlungenen Amnionzellkulturen oder zur Abklärung eines abnormen Karyotypbefundes bei früherem CVS kann eine „späte“ Zottenbiopsie im 2. Trimester durchgeführt werden (Plazentapunktion)⁸. Mit 20–30 mg Biopsiematerial können zytogenetische Untersuchungen auf Chromosomenabnormalitäten, Einzelgendifekte und Geschlechtsbestimmung sowie biochemische Analysen und Rhesusfaktorbestimmungen durchgeführt werden⁹. Routinemäßig werden nach mikroskopischer Trennung des fetalen vom mütterlichen Gewebe eine direkte Chromosomenpräparation mit Karyotypisierung

vorgenommen (Ergebnis nach einigen Tagen¹⁰) und gleichzeitig Langzeitkulturen angelegt (Ergebnis nach 1 bis 2 Wochen^{11,12}).

In jüngerer Zeit wird auch der Einsatz der in situ-Hybridisierung (fluorescence in situ hybridization, FisH) für die Chromosomenanalyse an unkultivierten Zellen getestet^{13, 14}. Wenn die Nützlichkeit dieser Technik erwiesen ist, könnte sie zusätzlich oder alternativ zur herkömmlichen direkten Chromosomenpräparation eingesetzt werden mit dem Vorteil der größeren Schnelligkeit (24h) bei geringeren Kosten.

Risiken und Probleme von CVS

- 1) *Primär für den Fetus*: Abort; Extremitätenfehlbildungen; Fetomaternal Transfusion
- 2) *SS-Komplikationen*: Amnionflüssigkeitsverlust; Blutungen; Krämpfe
- 3) *Technisch-methodische Schwierigkeiten*: Gewinnung von ausreichend verwertbarem Gewebe; Fehldiagnosen (Kontamination mit mütterlichen Zellen; Mosaikbefunde)

Zahlreiche randomisierte Studien wurden durchgeführt, um diese Risiken und Probleme statistisch auszuwerten. Dabei wurden entweder CVS und AC^{5,15-18} oder TA-CVS und TC-CVS untereinander verglichen^{9, 12, 19,21}.

Ad 1) Risiken für den Fetus

Abort

Diese gravierendste und am intensivsten erforschte Komplikation wird mit unterschiedlichen Daten belegt. Da schätzungsweise 15% der SS im 1. Trimenon mit einem Spontanaborten²² und CVS üblicherweise zwischen der 9. und 12. SSW durchgeführt wird, ist es schwierig, die durch CVS ausgelösten Fehlgeburten von unvermeidlichen Spontanaborten

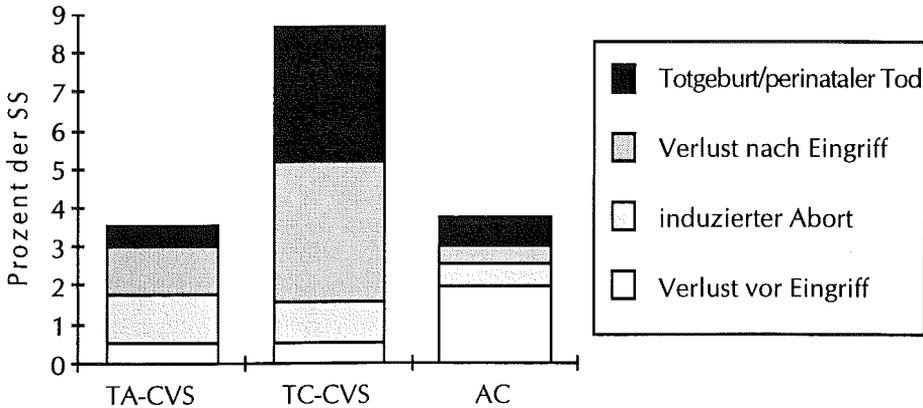


Abbildung 3: Vergleich der Abortraten zwischen TA-CVS, TC-CVS und AC

abzugrenzen. Das Spontanabortrisiko zeigt einen Zusammenhang mit höherem mütterlichen Alter, individueller Abortneigung (frühere SS und Toxinexposition in der Früh-SS^{9,21,23}).

Daß der Eingriff selbst für viele Fälle des Fruchttodes und -abganges verantwortlich ist, wird durch folgende Tatsache erhärtet: Die angegebenen Abortraten schwanken in den verschiedenen Studien zwischen ca. 2 und 8% (Durchschnitt 4%) für zytogenetisch gesunde Kinder und sind generell niedriger an großen Diagnosezentren mit geübten und erfahrenen Untersuchern^{5,9,23}. Ebenso werden die unterschiedlichen Ergebnisse nach TA- und TC-CVS begründet (von nahezu gleichen Werten²⁰ bis zu mehr als doppelt so hohen für TC-CVS⁵). In den meisten Studien erweist sich der TC-Zugang als riskanter, wenn auch nicht immer statistisch signifikant (Vgl. Abb. 3). Es wird angenommen, daß TC-CVS gegenüber TA-CVS mehr Übung erfordert und mit genügend Erfahrung ähnlich sicher wie TA-CVS durchgeführt werden könnte^{5,23}.

Wiederholungspunktionen, die öfter bei TC-CVS nötig werden (mißglückte Aspiration, nicht verwertbare zytogenetische Ergebnisse), erhöhen ebenfalls das Abortrisiko^{5,9,24,25}. Höheres mütterliches Alter (die Hauptindikation für PD) scheint einen zusätzlichen Effekt

zu haben²⁵, besonders in Zusammenhang mit CVS vor der 12. SSW¹². Ebenso wurden öfter bei fettleibigen Frauen Aborte nach TC-CVS beobachtet⁵.

Die Ursachen für Abort nach CVS sind nicht klar, doch könnte für einen Teil der Fälle eine Verletzung der Amnionmembran verantwortlich sein²⁴. Es wurde auch der Verdacht geäußert, daß Mykoplasmen, die normalerweise im weiblichen Genitaltrakt vorkommen, durch mechanische Manipulation und Schädigung des Gewebes ihre Virulenz ändern und sich dadurch die Abortrate erhöhen könnten²¹. In einer englischen Studie konnte kein typisches pathologisches Muster in Abortfällen gefunden werden⁹. Fast 60% der Aborte ereigneten sich in den ersten 4 Wochen nach CVS.

Extremitätenmißbildungen

Bis 1991 bestand kein Verdacht, daß CVS Mißbildungen verursachen könnte. Dann wurde jedoch eine Studie veröffentlicht, die von 5 Babies aus 289 SS mit oromandibulärer Hypoplasie (Mikroglossie, Mikrognathie), variablen Extremitätenfehlanlagen (Hypoplasien, Dysplasien, Syndaktylien) und Agenesie bzw. Infarkt von Hirnteilen (in 2 der 5 Fälle) berichtet, bei denen CVS zwischen 8 und 9,5 Wo-

chen SS-Dauer vorgenommen worden war²⁶. Weitere Berichte über die Assoziation von Extremitätendefekten mit frühem CVS folgten^{27, 28}, andere Autoren fanden keinen signifikanten Zusammenhang und verwiesen auf die Möglichkeit des familiären Auftretens und auf den Einfluß von Umweltfaktoren^{5, 17, 29, 30}.

Die Art der Gliedmaßenfehlbildungen (asymmetrisch) und die Tatsache, daß auch innere Organe wie das Gehirn betroffen sein können, würden eine Plazentaschädigung als Ursache wahrscheinlich machen. Diese könnte entweder zu einer lokalen Hypoperfusion – ausgelöst durch traumatische Einblutung oder durch Freisetzung vasokonstriktorischer Substanzen – oder, was die Asymmetrie der Defekte noch besser erklären würde, zu einer Embolisation von fetalen Gefäßen mit traumatisch gelösten Trophoblastfragmenten führen. Je nach Gestationsalter könnte die Hypoxie des Gewebes mehr oder weniger ausgeprägte Gliedmaßenschädigungen nach sich ziehen^{1, 23, 31}. Autoren, die keine dieser Mißbildungen beobachteten, obwohl CVS in 36% vor der 9,5. Woche vorgenommen worden war, halten es für unwahrscheinlich, daß korrekt durchgeführtes CVS für Mißbildungen verantwortlich sein könnten⁵. In jüngerer Zeit kristallisiert sich Einigkeit darüber heraus, daß frühes CVS das Risiko für Extremitätenmißbildungen signifikant erhöht und von CVS vor 9,5 Wochen SS-Dauer Abstand genommen werden sollte^{1, 23}.

Fetomaternale Transfusion

Durch Messung des alpha-Fetoproteins (AFP) im mütterlichen Serum vor und nach dem Eingriff kann das Ausmaß der feto-maternalen Blutung in der Plazenta abgeschätzt werden. Es korreliert direkt mit der Menge des gewonnenen Gewebes und ist höher nach TA-CVS^{1, 5, 32, 33}. Ob die fetomaternale Transfusion zu einer Bildung von Anti-D-Antikörpern bei Rhesusnegativen Frauen führen kann, ist nicht ganz

klar. Bei deutlich erhöhten AFP-Werten scheint dies möglich zu sein^{25, 34}. Die Abgrenzung zu spontaner Immunisierung oder zu Sensitivierung durch vorhergehende SS kann sich jedoch schwierig gestalten. Eine Rhesus-Prophylaxe für Rh-negative Frauen brachte in einer randomisierten Studie gleiche Ergebnisse wie bei nicht behandelten Frauen ausgenommen die Abortrate. Diese war bei Prophylaxe doppelt so hoch und deutet darauf hin, daß das die Plazentaschranke passierende Serum den Fetus schädigen könnte²⁵.

Direkte traumatische Schädigungen des Feten sollten vermeidlich sein.

Ad 2) SS-Komplikationen:

Amnionsflüssigkeitsverlust (0.5%), Blutungen (5-8%) und Krämpfe (10%) können eine vorübergehende stationäre Behandlung nach dem Eingriff erforderlich machen⁵.

Ad 3) Technisch-methodische Schwierigkeiten:

Gewinnung von ausreichendem Material

Wenn in einem Untersuchungsgang keine ausreichende Menge von Gewebe gewonnen werden kann oder die Karyotypisierung mißlingt, wird eine Wiederholungspunktion bzw. ein Wechsel zu einer anderen Technik (TC-CVS zu TA-CVS, TA-CVS zu AC) angeboten⁵. Die Erfolgsraten beim ersten Versuch schwanken für TC-CVS zwischen 86,5%¹² und 90,7%⁵ und für TA-CVS zwischen 95%¹² und 98,1%⁵.

Fehldiagnosen

Kontamination mit mütterlichen Zellen: Kontamination mit mütterlichen Zellen, die zu einer falschen Diagnose (z.B.: Geschlechtsvorhersage "weiblich") führen kann, stellt ein weiteres Problem dar (bis zu 5% bei hochsensitiven Methoden wie PCR³⁵). Eine Verbesserung die-

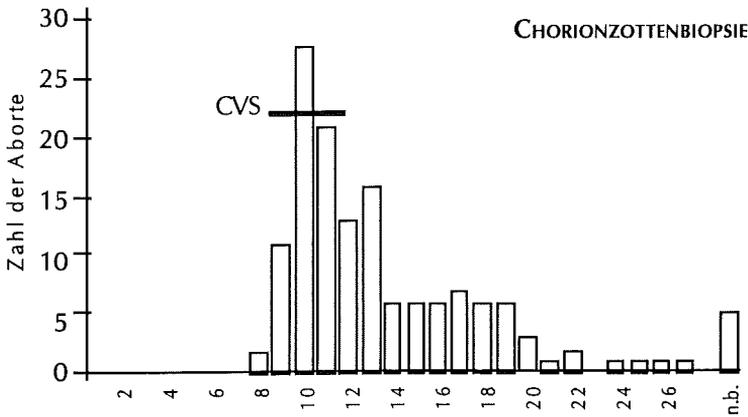
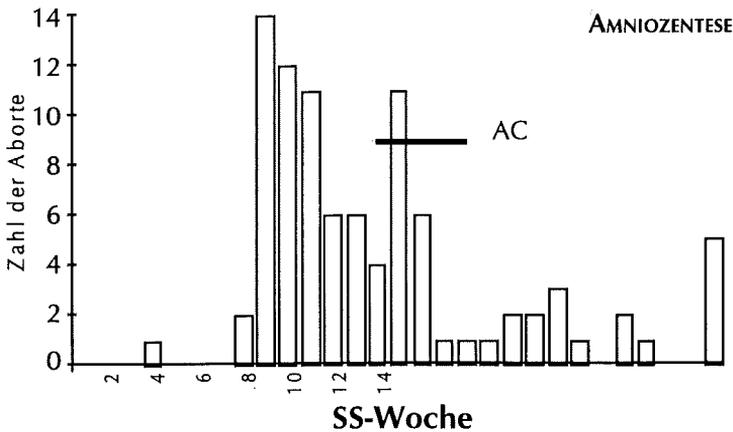


Abbildung 4: Auftreten von Aborten im SS-Verlauf bei CVS und AC



ser Situation könnte die kombinierte PCR-Bestimmung von Y- und X-spezifischen Sequenzen³⁶ oder die Verwendung von leicht zu trennenden Synzytiotrophoblastzellen bringen³⁵.

Mosaikbefunde: Als ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik (confined placental mosaicism, CPM) wird ein Ergebnis bezeichnet, bei dem unterschiedliche Chromosomensätze entweder in den direkt präparierten Zellen (schnell sich teilende Zytotrophoblastzellen), in den Zellkulturen (aus extraembryonalem

Mesoderm) oder in beiden, nicht aber im Fetus selbst (sonst "echtes" Mosaik) gefunden werden. Dieser Befund repräsentiert den Großteil der falsch positiven zytogenetischen Befunde nach CVS und tritt in etwa 2% auf^{2, 37, 38}. Der Entstehungsmechanismus erklärt sich aus non-disjunctions und de-novo-Chromosomenrearrangements. Am häufigsten sind die Chromosomen 2, 7, 8, 13 und die Geschlechtschromosomen betroffen. Bei einem diagnostizierten Mosaik werden weitere Untersuchungen wie AC, Nabelschnurpunktion oder postnatale

zytogenetische Bestimmungen empfohlen. In jüngerer Zeit werden Zusammenhänge zwischen erhöhter Abortrate und CPM-Befunden berichtet^{38,39}.

Amniozentese

Das Kind entwickelt sich in der Amnionhöhle, die von der Amnionmembran begrenzt wird und von klarer Amnionflüssigkeit (AF) erfüllt ist. Ab der 4. SSW kann dieser unmittelbare Lebensraum des Feten im Ultraschall sichtbar gemacht werden. Das Kind schwebt nicht nur gleichsam schwerelos darin, sondern auch sein gesamter Gastrointestinal- und Respirations-trakt werden von der AF durchspült, es nimmt später aktiv AF auf, und auch die Ausscheidung erfolgt in die Amnionhöhle. Auf diese Weise gelangt eine Vielzahl von fetalen Zellen in die AF. Sie wird ständig resorbiert und neu gebildet, ihre Menge nimmt mit der SS-Dauer zu und beträgt in der 10. SSW ca. 30 ml, in der 16. SSW ca. 200 ml⁴⁰, die totale Umsatzrate etwa 2-3 Stunden und die Erneuerungsgeschwindigkeit für Elektrolyte 8 Stunden⁶.

Seit Mitte der sechziger Jahre wird AC zur PD zwischen der 15. und 18. SSW, also im zweiten Trimenon angewendet. Daneben wird sie zur Bestimmung der Lungenreife und zur Abklärung von Blutgruppenunverträglichkeiten in der Spät-SS eingesetzt.

Der größeren Sicherheit der Untersuchung für das Kind und in Hinsicht auf die Verlässlichkeit der Ergebnisse im Vergleich zur CVS steht das höhere SS-Alters, in dem die Untersuchung durchgeführt wird, gegenüber, sodaß durch die längere Zeit der Ungewißheit über eine eventuelle Krankheit des Kindes die psychische Belastung für die Mutter bzw. die Eltern stärker ist, da nach wie vor die einzige Konsequenz einer Diagnose einer Schädigung eine Abtreibung des Kindes darstellt. Deshalb ist man bestrebt, die Attraktivität der AC durch einen günstigeren Termin als Früh-AC (EAC (early) 10.-14. SSW) zu steigern. (s.u.)

Durchführung der AC

Nach Desinfektion der entsprechenden Punktionsstelle am Abdomen wird unter US-Sicht mittels Führungs- und Aspirationsnadel eine Menge von 15 - 30 ml AF gewonnen. Mit einem kleinen Teil davon (2 ml) wird eine Bestimmung von AFP, das bei offenen Neuralrohrdefekten und Omphalozele erhöht ist, durchgeführt, und mit jeweils ca. 5 ml werden Kulturen angelegt, wobei zumeist Material zumindest für eine Kultur im Falle des Auftretens von unklaren zytogenetischen Resultaten zurückgehalten wird⁵. Die Wartezeit auf Kulturergebnisse (1 - 2 Wochen) könnte wie bei CVS durch Einsatz der FisH auf 2 Tage verkürzt werden⁴¹.

Risiken und Probleme der AC:

- 1) *Risiken primär für den Fetus:* Abort; Fetomaternale Transfusion und Rh-Immunsierung; Orthopädische Malformationen; Neonatale Anfälligkeit für respiratory distress syndrome und Pneumonien
- 2) *SS-Komplikationen:* AF-Verlustsyndrom; Blutungen; Krämpfe; Infektionen
- 3) *Methodische und technische Schwierigkeiten:* Gewinnung von ausreichend verwertbaren AF-Mengen; Fehldiagnosen (Kontamination mit mütterlichen Zellen, Mosaikbefunde)

ad 1) Risiken für den Fetus

Abortrate

In einer 1986 durchgeführten Studie über AC bei 4606 Frauen mit geringem genetischen Risiko wurde eine um 1% gegenüber der Kontrollgruppe erhöhte Abortrate gefunden, wobei signifikante Bezüge zu erhöhten mütterli-

chen Serum-AFP-Spiegeln nach dem Eingriff, Plazentaperforationen (15.1%) und mißfärbiger AF nachgewiesen wurden⁴². Ein Anstieg des maternalen Serum-AFP-Spiegels nach AC kann als Korrelat der traumatischen Blutung (Kurzschluß des fetalen und des mütterlichen Kreislaufs durch z.B. Plazentaperforation) gewertet werden. Die mißfärbige AF deutet eher auf Probleme hin, die per se zu einem Frucht- abgang geführt haben könnten.

Ein ähnliches Ergebnis hatte die MRC-Studie 1978 gebracht⁴³, in anderen Fällen wurden keine Unterschiede der Abortraten zwischen Untersuchungs- und Kontrollgruppen beobachtet^{44, 45}. Mit der Etablierung von CVS zum diagnostischen Konkurrenten wurden die Studienprojekte zunehmend auf den Vergleich zwischen CVS und AC ausgerichtet.

Auf ihre Resultate im Vergleich wird weiter unten eingegangen.

Orthopädische Malformationen

Inwieweit die kurzfristig induzierte bzw. durch AF-Verlustsyndrom protrahierte Verkleinerung der Amnionhöhle nach Entnahme der AF (20 ml bedeuten in der 16. SSW ca. 10%) für angeborene Malformationen orthopädischer Art wie Klumpfuß, Hüftdislokation oder Skoliose verantwortlich sein könnte, wird unterschiedlich belegt. In einigen Studien wurden mehr Fälle gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet^{43, 46}, wohingegen in anderen keine Assoziation festgestellt wurde^{44, 45, 47}. In großen RAC-CVS-Vergleichsstudien¹⁵ waren die Malformationsraten etwa gleich.

Neonatale respiratorische Probleme

Einige Untersuchungen berichten über ein gehäuftes Auftreten von Atmungsstörungen im Sinne von respiratory distress syndrome (RDS) und Pneumonien in der Neonatalperiode^{42, 46}. In Experimenten an Affen wurden strukturelle Lungenveränderungen nach AC

festgestellt⁴⁸. Die Schrei-Vitalkapazität bezogen auf das Körpergewicht war bei 10 Säuglingen nach AC gegenüber einer Vergleichsgruppe vermindert⁴⁹. Eine Bedeutung der Konstanz des AF-Volumens in der frühen SS wird angenommen.

Fetomaternale Transfusion und Rh-Immunsisierung

Kommt es bei AC zu einer traumatischen Schädigung mit Kurzschlußbildung der normalerweise getrennten Mutter-Kind Kreisläufe, so gilt bezüglich der AFP-Spiegel und dem Ausmaß der Verletzung auch für AC das oben bei CVS Erwähnte. Dabei konnten eindeutig nach dem Eingriff erhöhte AFP-Spiegel mit einem Anstieg der Aborthäufigkeit in Beziehung gesetzt werden^{42, 50}. Solche Traumen können durch unbeabsichtigte Plazentaperforationen (15.1% in ⁴²) entstehen und sollten ebenso wie direkte traumatische Schädigungen des Feten eigentlich vermeidbar sein.

Eine Rh-Immunsisierung als eine unmittelbar mit dem Eingriff zusammenhängende Komplikation nachzuweisen, ist ähnlich schwierig wie bei CVS (s.o.), sie muß aber prinzipiell als möglich erachtet werden⁵¹.

Ad 2) SS-Komplikationen

Das wegen der Art des Eingriffs häufiger als bei CVS zu erwartende Auftreten des AF-Verlustsyndroms durch den Zervikalkanal, wurde in verschiedenen Studien bestätigt^{5, 15}. Es fand sich bei 2.8% der untersuchten Frauen⁵, wurde jedoch in keine Beziehung zur Abort- bzw. Malformationsrate gesetzt. Blutungen traten bei 1.2% auf, Krämpfe bei 8.2%.

TABOR et al.⁴² beobachtete in der Kontrollgruppe ein signifikant häufigeres Auftreten von Präeklampsie im 3. Trimester (3.6 zu 2.5%) und diskutiert eine mögliche präeklampsie-verhindernde Wirkung von AC. In einer

einzigsten davor durchgeführten Studie war dasselbe bemerkt worden¹³, wobei das Resultat durch eine größere Anzahl von Erstgebärenden in der Kontrollgruppe, bei denen Präeklampsie häufiger als bei Multiparae vorkommt, nicht verlässlich ist.

Ad 3) Methodische und technische Schwierigkeiten

Gewinnung von AF

Die Gewinnung von AF gelingt bei annähernd allen Frauen (99.7% in ⁵), und der Vorgang wird nur bei 5% im Vergleich zu 17% bei CVS-Untersuchungen als schwierig beschrieben¹⁵. Eine Absicherung der Diagnose durch eine Wiederholungs-AC oder Fetalblutuntersuchung wegen unbrauchbarer bzw. unklarer Ergebnissen war in 0.9%¹² bis 3.4%¹⁶ notwendig.

Fehldiagnosen

Kontamination mit mütterlichen Zellen: Kontamination mit mütterlichen Zellen tritt wesentlich seltener auf als bei CVS (0.5% in ⁵).

Mosaikbefunde: Ähnlich wie bei CVS (CPM) kann es auch in den Amnionzellkulturen zu Mosaikbefunden kommen, entweder in einer Zelle (level I), als identische Abnormität in einem Klon (level II) oder in multiplen Klonen (level III). Level I und II stellen sich zumeist als falsch positive Ergebnisse in absichernden Folgeuntersuchungen heraus, bei level III ist die Wahrscheinlichkeit eines "echten" Mosaiks höher. In der Studie der MRC Working Group¹⁵ wurden 1.2% Mosaikbefunde nur in einem Viertel der Fälle als tatsächliche Abnormitäten im Fetus bestätigt. Die Zahl von auf methodische Probleme zurückführbaren falsch positiven Untersuchungsergebnissen war auch in anderen Studien geringer als bei CVS^{15, 16}.

Vergleich der Abortraten von CVS und AC in fünf großen Studien^{5, 15, 16, 18, 25} (Tabelle III)

In den meisten Studien wird die totale SS-Verlustrate (total fetal loss rate, TFLR), zu welcher Spontanaborte vor, Aborte nach der Untersuchung, Abtreibungen wegen Verdachts oder Nachweises einer Krankheit oder aus sozialen Gründen sowie Totgeburten und Todesfälle bis zum 7. Tag p.p. gezählt werden, als Vergleichswert ermittelt. Die Randomisierung beider Untersuchungsgruppen erfolgt vor der Durchführung von CVS, um die Spontanaborte, die sich vor einer AC ereignen, zu erfassen, wodurch für beide Techniken ähnliche Resultate vorgelegt werden können. Macht man jedoch die TFLR durch eine Unterscheidung in Abortfälle vor und nach der Untersuchung transparenter, so ergibt die Spontanabortrate vor AC viel höhere Werte (Abb. 3). Die Schwangerschaften, die natürlicherweise einen Fruchttod zur Folge hätten, werden bei AC sozusagen abgewartet. Die CVS fällt genau in den Zeitraum des häufigsten Auftretens von Spontanaborten (8.-13. SSW²⁵). Außer der aus diesem Grund niedrigeren Rate von präprozeduralen SS-Verlusten fällt die größere Zahl von Aborten nach dem Eingriff und von elektiven SS-Abbrüchen wegen zytogenetisch positiver Resultate auf. Wahrscheinlich hätten mehrere dieser SS zu einem Spontanabort geführt, dies kann jedoch im Einzelfall schwer nachzuweisen sein.

Die Häufung von Fruchtabgängen in der ersten Woche nach AC im Gegensatz zu CVS (innerhalb der folgenden 4 Wochen) deutet auf einen engeren Zusammenhang mit der Untersuchung hin (Abb. 4).

Somit ergibt sich eine durchschnittliche TFLR von 9,8% für CVS und von 8,15% für RAC, damit eine um 1,65% höhere Rate für CVS. Im einzelnen schwanken diese Differenzwerte zwischen 4,6%¹⁵ und 0,86%¹⁶.

Zusammengefaßt sei bemerkt, daß keine klaren Aussagen über direkt mit dem Eingriff zusammenhängende Abortereignisse gemacht werden können. Die Spontanaborte vor AC werden zur TFLR dazugezählt, damit die zufällig nach CVS auftretenden Spontanabortfälle nicht die CVS-Abortrate als potentiell auf die Untersuchung zurückführbare SS-Verluste fälschlich erhöhen. Diese Unschärfe bei CVS wird somit durch die Summenbildung (TFLR) bei beiden Techniken ausgeblendet.

Frühamniozentese (Early amniocentesis, EAC)

Das fortgeschrittene SS-Alter zum AC-Zeitpunkt (15 – 18. SSW) sowie die Wartezeit auf die Kulturergebnisse von 1 bis 2 Wochen bei herkömmlichen Labormethoden – die Verwendung der FisH (2 Tage) befindet sich im Stadium der Etablierung – verlängern die Phase der Angst und Ungewißheit über eine Krankheit des Kindes, wodurch es bei den vorwiegend älteren Müttern (> 35 Jahre), die wegen eines höheren statistischen Risikos eine zytogenetische Diagnose wünschen, zu einer starken psychischen Beeinträchtigung kommen kann. Die frühere und raschere Diagnose bei CVS wird als stärkstes Argument für diese Technik angegeben, weil die seelische Belastung kleiner sei und auch ein SS-Abbruch in diesem Stadium sicherer und technisch einfacher durchgeführt werden kann. Ein Vorteil im Bezug auf eine eventuelle Behandlungsmöglichkeit des Fetus besteht nicht.

EAC – in den letzten fünf Jahren entwickelt – wird in der 9.-14. SSW durchgeführt. Aufgrund der in diesem Zeitraum noch geringeren Menge von AF und darin enthaltener fetaler Zellen ergeben sich Schwierigkeiten vor allem auf labortechnischer Seite; über Komplikationen für den Feten bzw. über ihr Ausmaß im Vergleich zu AC und CVS liegen erst wenige Ergebnisse vor.

Komplikationen

In einer repräsentativen Studie, in der 407 Fälle von EAC bis zur Geburt verfolgt wurden⁵², betrug die Spontanabortrate in den ersten 4 Wochen nach dem Eingriff 2.3%, wobei alle Kinder zytogenetisch gesund waren. Über 40 Jahre alte Mütter waren häufiger betroffen. Zusammen mit SS-Abbrüchen bei abnormen Befunden (2.6%) und intrauterinem Fruchttod (1.6%) ergab sich eine totale Verlustrate von 6.4% der SS. Die Aborthäufigkeit zeigte eine deutliche Korrelation zu „mütterlichen“ Komplikationen: Blutungen (5.4%) führten in 20% zu Fruchtabgängen, AF-Verlustsyndrom (2.6%) in 40%. RDS (1.6%) wurde außer in einem Fall auf Frühgeburtlichkeit (6.6%) zurückgeführt. Auffällig war die direkte Assoziation von orthopädischen Fehlbildungen (Skoliose, Klumpfuß, Hüftdislokation) mit AF-Verlustsyndrom bzw., Oligohydramnion nach der Untersuchung in 3 von 8 Fällen. Andere Studien kamen zu ähnlichen Ergebnissen^{40, 53, 54}, doch fehlen zur verlässlichen Evaluierung der Risiken Vergleiche zu Kontrollgruppen und ein einheitliches follow-up von Mutter und Kind bis nach der Geburt.

Technische Probleme

Da die Menge der AF in der 10. SSW ca. 30 ml, in der 13. SSW ca. 70 ml beträgt und für die Kulturen mindestens 10 ml notwendig sind, können Schwierigkeiten in der Gewinnung von ausreichend AF auftreten. Die Menge aspirierbarer AF entspricht von der 10. zur 14. SSW im Mittel etwa der Wochenzahl in ml⁵², in der 7. bis 9. SSW war das durchschnittlich erhaltene Volumen weniger als 5 ml⁵⁴. Die großen Schwankungen in den Gruppen gleichen SS-Alters wird nicht auf Unterschiede im absoluten AF-Volumen, sondern auf die Blockade des Flusses durch embryonale Membranen zurückgeführt⁵⁵. Auf jeden Fall sollte – im Hinblick auf Schädigungen des Fetus durch eine

kritische AF-Volumenreduktion – bedacht werden, daß die Amnionhöhle durch die Entnahme von 15 ml AF in der 16. SSW (200 ml) um 7.5%, in der 13. SSW (70 ml) um 21% und in der 10. SSW (30 ml) um 50% kurzfristig verkleinert wird⁴⁰. Aus diesem Grund wird diskutiert, ob dieser potentiellen Gefahr durch Zellfiltration und Reinjektion der AF begegnet werden kann, oder ob die Substitution mit isotoner Lösung ausreicht bzw., aufgrund der relativ schnellen Umsatzrate der AF, überhaupt notwendig ist⁵⁵. Die Entwicklung optimaler Filtersysteme wird angestrebt⁵⁶. Die reduzierte Zahl der Kolonien mit multiplen mitotischen Zellen (minimum standard > 6/ml) sowie die verlängerten Kulturzeiten werden hauptsächlich auf die mechanische Schädigung der Zellen bei der Filterung zurückgeführt, weniger auf

Blockade des Filters durch Zellanhaftung (nach 10 – 25 ml AF) und das Fehlen AF-spezifischer Wachstumsfaktoren im Kulturmedium bei reinjizierter AF. Die Forschung konzentriert sich darauf, die optimale Filterporengröße und das am besten geeignete Material zu finden⁵⁵. Mit Routine-AC vergleichbare Ergebnisse hinsichtlich Gelingen der AF-Gewinnung, Kulturwachstum, mütterlicher Zellkontamination und Verlässlichkeit der zytogenetischen Befunde können zwischen der 11. und 14. SSW erreicht werden^{57,58}.

Zölozentese

Das Streben nach einer möglichst frühen PD führte zu einer – bisher experimentellen – Erprobung der Zölozentese⁵⁹.

Tabelle III führt die Ergebnisse von fünf Vergleichsstudien so detailliert wie möglich an:

Studie	Rhoads et al. 1989		Canadian Group 1989		Smidt-Jensen et al. 1991		
	TC-CVS	AC	TC-CVS	AC	TA-CVS	TC-CVS	CVS
Untersuchung	TC-CVS	AC	TC-CVS	AC	TA-CVS	TC-CVS	CVS
Probandenzahl	2278	671	1245	1251	974	964	1938
Spontanaborte vor Eingriff	30 (1.32)	17 (2.53)	54 (4.34)	51 (4.08)	8	10	18 (0.93)
Spontanaborte nach Eingriff	77 (3.38)	7 (1.04)	57 (4.59)	50 (4.00)	23	65	88 (4.54)
induzierte Abtreibungen (eugenisch)	45 (1.98)	9 (1.34)	26 (2.09)	31 (2.48)	18	17	35 (1.81)
induzierte Abtreibungen (andere Gründe)	25 (1.10)	2 (0.30)			8	2	10 (0.52)
Totgeburten und perinataler Tod	12 (0.53)	5 (0.75)	6 (0.58)	1 (0.08)	6	3	9
TFLR (total fetal loss rate)	189 (8.30)	40 (5.96)	143 (11.49)	133 (10.63)	63	97	160 (8.26)

In den ersten 12 SSW ist die Amnionhöhle vom flüssigkeitsgefüllten Zölomsack umgeben. Es wurde bei 100 Frauen, die sich aus psychologischen Gründen in der 6. – 12. SSW zu einer SS-Beendigung entschieden hatten, unter US-Sicht transvaginal eine Punktion vorgenommen. Bei 6 – 10 Wochen SS-Alter konnte in nahezu allen Fällen erfolgreich Zölomflüssigkeit gewonnen werden, dagegen nur mehr bei 10 % in der 12. SSW. Die Geschlechtsbestimmung gelang jedesmal mit Hilfe von PCR und FisH, es kam jedoch zu keinem Wachstum der fetalen Zellen bei Kultivierung.

Man erwartet sich von dieser Technik Vorteile im Hinblick auf die Sicherheit für den Feten und Verlässlichkeit der Ergebnisse im Vergleich zu EAC und CVS, da die Amnionmembran bzw. die Plazenta nicht ver-

letzt, das AF-Volumen nicht reduziert wird und durch die Abstammung der Zölomzellen vom extraembryonalen Mesoderm mit weniger falsch positiven Mosaikbefunden zu rechnen ist. Eine Risikoerhebung bei fortgesetzter SS ist noch ausständig.

Perkutane Nabelschnurpunktion (percutaneous umbilical blood sampling, PUBS)

1983 wurde diese Methode der Fetalblutgewinnung mit einer ab der 18. SSW unter US-Sicht durch die mütterliche Bauchdecke zur Nabelschnur vorgeschobenen Nadel eingeführt⁶⁰. Mit Hilfe eines Hämocytometers können rasch hämatologische Eigenschaften des fetalen Blutes zur Unterscheidung von mütterlichem

	MRC Group 1991		Smidt-Jensen et al. 1992				Gesamt	
	CVS	AC	TA-CVS	TC-CVS	CVS	RAC	CVS	AC
993	1609	1592	1027	1010	2037	1042	9053	5549
34 (3.42)	59 (3.67)	67 (4.21)	7	6	13 (0.64)	29 (2.78)	174 (1.92)	198 (3.75)
8 (0.81)	86 (5.34)	25 (1.57)	24	77	101 (4.96)	12 (1.15)	40 (4.52)	102 (1.84)
10 (1.01)	43 (2.67)	28 (1.76)	19	18	37 (1.82)	11 (1.06)	186 (2.05)	80 (1.44)
9 (0.91)	16 (0.99)	13 (0.82)	8	6	14 (0.69)	9 (0.86)	65 (0.72)	42 (0.76)
7	16	11	7	3	10 (0.49)	6 (0.58)	53 (0.59)	30 (0.54)
68 (6.85)	220 (13.67)	144 (9.05)	65	110	175 (8.59)	67 (6.34)	887 (9.80)	452 (8.15)

bestimmt werden⁶¹. Umgekehrt können über den intravenösen Zugang Bluttransfusionen und Medikamente verabreicht werden. Die diagnostischen Möglichkeiten umfassen den Nachweis von genetisch bedingten Blutkrankheiten wie Hämophilie, Hämoglobinopathien (Thalassämie, Sichelzellanämie), Thrombasthenie und Immundefizienzen, Stoffwechselfstörungen, fetalen Infektionen, die Beurteilung des Säure-Basen-Status bei intrauteriner Wachstumsretardierung, die Kontrolle von Blutspiegeln bei medikamentöser Fetaltherapie sowie vor allem die Feststellung einer Isoimmunisierung der fetalen Erythrozyten (Rhesus-/ABO-Inkompatibilität) und die späte Diagnose zytogenetischer Anomalien bzw. die Absicherung unklarer AC-Befunde^{62, 63}. Ursprünglich als Methode für rasche und verlässliche Karyotypisierung (2 - 3 Tage) bevorzugt, tritt PUBS mit den Fortschritten der zytogenetischen Techniken bei der Analyse von CVS- und AC-Proben zunehmend in den Hintergrund⁶³.

PUBS spielt eine Rolle bei der Abklärung von Mosaikbefunden nach AC und liefert gute Ergebnisse, wenngleich ein echtes Mosaik, insbesondere wenn es auf bestimmte Gewebe beschränkt ist, nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann. 1,4% der Level-II- und 40% der Level-III-Mosaik bei PUBS wurden bestätigt⁶⁴. Die Kinder mit normalen PUBS-Befunden zeigten phänotypisch keine Auffälligkeiten.

Das fragile-X-Syndrom, bei dem in CVS- und AC-Kulturen öfters unklare oder negative Resultate erhoben werden, kann mittels Blutzelluntersuchung nachgewiesen werden⁶⁴. Der Einsatz von PUBS wird hier jedoch nach der Erforschung des genetischen Defekts der zum fragile-X-Syndrom führenden Mutation⁶⁵ durch die molekulargenetische Diagnose abgelöst werden.

Auch wenn abnorme, mit chromosomalen Defekten einhergehende US-Befunde so spät in der SS erstellt werden, daß keine AC mit ei-

nem SS-Abruch innerhalb der festgesetzten Fristen mehr möglich ist, wird PUBS zur raschen PD durchgeführt⁶⁴.

Bei Blutgruppenunverträglichkeit und Thrombozytopenien durch Isoimmunisierung können der fetale Antigen-Status, die Hämoglobinkonzentration und die Thrombozytenzahl bestimmt werden⁶³. Dabei ist von Vorteil, daß bei gegebener Indikation therapeutisch mit der Gabe von Transfusionen interveniert werden kann. Jedoch nimmt auch hier die Bedeutung von PUBS durch die Möglichkeit des molekulargenetischen Nachweises der Rhesus- bzw. Plättchenantigene in AF⁶⁶ und einer IgG-Therapie⁶⁷ ab (Siehe auch S. Riedl, *Imago Hominis* I/3, Fetaltherapie, in Druck).

Die einmalige Messung von pH, CO₂ und O₂ bei IUGR bestätigt nur dann eine hypoxiebedingte Azidose als Ursache, wenn gleichzeitig das CTG und die Wellenform bei Nabelschnur-Dopplersonographie abnormal sind^{68, 69}. In diesem Fall zeigt sich eine signifikante Korrelation.

PUBS kann zum Nachweis der Serokonversion bei Infektionen wie Toxoplasmose eingesetzt werden⁷⁰. Mittlerweile können die Mikroorganismen in der AF molekulartechnisch identifiziert werden⁷¹.

PUBS ist mit einem Abortrisiko von 1 - 3% verbunden, das Risiko steigt in Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Pathologie auf bis zu 25% (Nicht-Immuner Hydrops)^{72, 73}. Die Erfahrung des Untersuchers spielt dabei eine große Rolle.

Immer mehr Krankheiten, die einer PD durch PUBS zugänglich sind, können aufgrund der fortschreitenden Genomaufschlüsselung durch eine DNA-Analyse mit Material aus CVS und AC bestätigt oder ausgeschlossen werden.

Wenn PUBS nicht gelingt oder durch ausgeprägte Fettleibigkeit der Mutter sowie wegen besonderer anatomischer Verhältnisse technisch unmöglich ist, kann Blut durch Lebervenenpunktion oder durch Kardiozentese

(Punktion des Herzens) gewonnen werden⁶¹. Bei letzterer wird unter US-Vierkammerblick der rechte Ventrikel durch die Brustwand penetriert. Als ernste Komplikationen können dabei fetale Bradykardie, Asystolie und Herztamponade auftreten, die Abortrate betrug 6,5%⁶¹.

INVASIVE, BILDGEBENDE UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN

Fetoskopie

Unter Lokalanästhesie wird in der 15. – 18. SSW ein Kleinkaliber-Endoskop in die Amnionhöhle eingebracht. Als Indikation gilt einerseits die Suche nach fetalen strukturellen Abnormitäten, die nur durch Beobachtung eines kleinen Areals aus der Nähe beurteilt werden können wie der Nachweis von kleinen Spaltbildungen, distalen Extremitätenfehlbildungen und Ohrenmißbildungen, die bei bestimmten genetischen Syndromen auftreten⁷⁴, außerdem besteht die Möglichkeit, endoskopisch Hautbiopsien bei Verdacht auf ektodermale Dysplasie, Ichtyosen oder Ehlers-Danlos-Syndrom vorzunehmen, eine Leberbiopsie bei Verdacht auf bestimmte Stoffwechselkrankheiten durchzuführen und Blutproben zu entnehmen⁷⁴. Die endoskopische Fetalblutgewinnung wurde erstmals 1973 zur Diagnose von Hämoglobinopathien beschrieben⁷⁵. Die Abortrate beträgt auch bei großer Erfahrung bis zu 5%⁷⁶. Die Fetoskopie rückte seit der Einführung der perkutanen Nabelschnurpunktion (PUBS⁶⁰), mit der Verfeinerung der US-Technik und den Fortschritten in der molekularen Diagnostik in den Hintergrund oder wird für obsolet erachtet⁷⁷ und wird nur zur PD bei hohem genetischen Risiko an einigen wenigen Zentren angeboten. Die Komplikationen entsprechen im wesentlichen denen bei AC (Abort, Amnionflüssigkeitsverlust, Blutung, Infektion), nur mit einem häufigeren Auftreten

aufgrund des größeren Kalibers des Endoskops gegenüber der Punktionsnadel und der Manipulation am Fetus bei Biopsien⁷⁴.

Dennoch diene die Fetoskopie als Grundlage für zwei neue Entwicklungen in der Pränatalmedizin: Zum einen für die fetale endoskopische Chirurgie, die bedeutend schonender als uterusöffnende Eingriffe durchgeführt werden kann und damit auch das Indikationsspektrum erweitern könnte, zum anderen für die Embryoskopie, die mit Hilfe verfeinerter Technik im späteren ersten Trimester und damit im Feld der frühen PD angewendet werden könnte.

Embryoskopie

Von dieser Technik erwartet man sich, daß Strukturen jenseits der naturgemäß gegebenen Auflösungsgrenze des US direkt sichtbar gemacht und gleichzeitig diagnostischen und therapeutischen Interventionen zugeführt werden können⁷⁸. Feinste Fiberoptik-Endoskope (1-2 mm) werden transzervikal in die Exozölonhöhle vorgeschoben und der Embryo durch die Amnionmembran inspiziert, oder es wird direkt in die Amnionhöhle eingegangen⁷⁷. Über eine angeschlossene Videokamera wird das Bild auf einen Monitor übertragen. Zum frühestmöglichen Zeitpunkt, noch im Embryonalstadium der Organanlage (4.-8. SSW)⁷⁹, können physiologische Entwicklungen und Malformationen wie Spaltbildungen, Poly-/Syndaktylie oder Ohrenmißbildungen visualisiert werden^{77, 80}. Durch Zusatzkanäle des Endoskops kann mit einer Punktionsnadel Zugang zu embryonalen Gefäßen gewonnen werden^{81, 82}. Das Abortrisiko der Embryoskopie wird ähnlich hoch wie das bei AC eingeschätzt, solange die Untersuchung dieselbe Zeit in Anspruch nimmt. Potentielle Gefährdung besteht für das sich entwickelnde Auge⁷⁷. In therapeutischer Hinsicht könnte die Embryoskopie zur frühzeitigen Therapie mit hä-

Tabelle IV: Übersicht über nachweisbare Krankheiten¹³⁴⁻¹³⁷

Begrenzte Auswahl von Beispielen nach Gruppen: Ständig können mehr Erkrankungen diagnostiziert werden und die Diagnosemethoden ändern sich für jede Erkrankung von klassischen Methoden zu gendiagnostischen Methoden, sobald die betreffenden Gene isoliert und kloniert werden. Krankheiten, die mehr als symptomatisch behandelt werden können, sind mit * markiert.

GENETISCHE ANOMALIEN

Numerische

Chromosomenanomalien

Autosomale Aneuploidien

Trisomie 13

Trisomie 18

Trisomie 21 (M. Down)

Triploidie

Tetraploidie

Geschlechtschromosomale

Aneuplo-idien

45, X (M. Turner)

47, XXY (M. KLINEFELTER)

47, XYY

47, XXX

48, XXXX

Mosaik

Strukturelle Chromosomenanomalien:

balancierte Translokationen

unbalancierte Translokationen

Inversionen

Strukturelle Genanomalien

Deletionen und Punktmutationen

21-Hydroxylase-Defizienz*

Alpha-1-Antitrypsin Defizienz*

Antithrombin III-Defizienz*

Duchenne- und Becker-Muskeldystrophie

Ehlers-Danlos-Syndrom IV und VII

Familiäre

Hypercholesterinämie*

Fragile-X-Syndrom

Hämophilie A und B*

Hereditäre Fruktoseintoleranz*

Lesh-Nyhan-Syndrom

Marfan-Syndrom

Morbus Huntington

Morbus Wilson

Myotone Dystrophie

NIDDM-Typ II Diabetes

Osteogenesis imperfecta

Phenylketonurie*

Prader-Willi-Syndrom

Retinoblastom*

Sichelzellanämie*

Tay-Sachs-Krankheit

Thalassämie beta und delta

Zystische Fibrose

SS-INHÄRENTE ANOMALIEN

Malformationen des Fetus

Anomalien des

Erscheinungsbildes

Intrauterine Wachstumsretardation

Skelettdysplasien

Extremitätenfehlbildungen

Zystisches Hygrom

Hydrops

Tumoren*

Neuralrohrdefekte

Anenzephalie

Spina bifida*

Hydrozephalus

Mikrozephalus

Zwerchfellhernie

Kardiovaskuläre Defekte*

Atrioventrikularkanal*

Ventrikelseptumdefekt*

Fallot-Tetralogie*

Intestinale Atresien*

Ösophagusatresie*

Duodenalatresie*

Anorektale Atresie*

Harntraktanomalien*

Nierenagenesie*

Hydronephrose*

Zystische Dysplasie*

Spaltbildungen*

Lippen-Kiefer-Gaumenspalten*

Hypospadie*

Gastroschisis*

Omphalozele*

*Abnormitäten der Fruchthöhle**

Hydramnion/

Oligohydramnion*

Plazentaanomalien*

Nabelschnuranomalien*

*Alloimmunisierung**

Rhesus-Inkompatibilität*

Alloimmune Thrombozytopenie*

*Fetale Infektionen**

Lues

Parvovirus (HPVB 19)

Röteln

Toxoplasmose

Varicella

Zytomegalievirus

matopoietischen Stammzellen in der Phase der immunologischen Toleranz genützt werden⁷⁹.

Trends und Perspektiven

Zwei Trends sind in der PD zu beobachten: einerseits das Bestreben, immer früher Krank-

heiten nachzuweisen, andererseits die Etablierung von Untersuchungsmethoden, die das Kind nicht gefährden.

An der Spitze dieser beiden Richtungen, allerdings noch im Stadium der Erprobung bzw. noch nicht ausgereift, stehen die Embryoskopie bzw. die Isolierung fetaler Zellen aus dem mütterlichen Blut.

Routinemäßig können nicht-invasive, auch Frauen mit geringem Risiko einschließende Screening-Tests eingesetzt werden, deren Ergebnis als Entscheidungsgrundlage für invasive diagnostische Eingriffe dient.

Präimplantationsdiagnose und carrier Screening sind zwei durch Gentechnologie ermöglichte neue Entwicklungen, die nur im weiteren Sinn zur PD gezählt werden können, da sie vor der (künstlichen) Implantation eines Embryos in den Uterus bzw. vor der Entscheidung zu einer SS durchgeführt werden.

Präimplantationsdiagnose (preimplantation diagnosis, PID)

PID ist ein Verfahren, das die Entwicklungen der Gen- und Reproduktionstechnik vereint. Frauen mit hohem genetischen Risiko sollen davon "profitieren", daß nach in-vitro-Fertilisation (IVF) eine genetische Untersuchung erfolgt und nur gesunde Embryonen implantiert werden¹³⁸⁻¹⁴⁰. Dazu wird im Stadium der Blastozyste (8-16 Zellen) eine Zelle entfernt und mittels PCR und FisH analysiert. Die Entwicklung verlässlicher Methoden zur Geschlechtsbestimmung ist bereits weit fortgeschritten und ermöglicht die Eliminierung männlicher Embryonen bei einem X-chromosomalen Defekt der Mutter^{141, 142}. Man rechnet damit, bald genügend diagnostische Sicherheit bei autosomal rezessiven Krankheiten wie Duchenne'scher Muskeldystrophie¹⁴³, Thalassämien¹⁴⁴ oder Sichelzellanämie¹⁴⁵ zu erlangen. Bei FisH mit DNA-Proben für X-, Y- und 18. Chromosom wurde durch den häufigen Nachweis von Mosaiken die Vermutung abgeleitet, daß Polyploidie ein physiologisches Phänomen in der frühen Embryonalentwicklung sein könnte, wodurch die Verlässlichkeit von PID anzuzweifeln wäre¹⁴⁶. Daneben sind auch die Grenzen der IVF am heutigen Stand zu bedenken: Bei hoher Arbeits- und Kostenintensität wurde die Chance einer erfolgreichen SS,

die „take home baby rate“, auf 15-20% geschätzt, dann eventuell kompliziert durch Probleme einer Mehrlings-SS. Die Vertreter dieser Methode geben als Vorteil an, daß eine in-vitro Fertilisation mit PID die psychologischen und physischen Belastungen einer PD durch CVS und einer Abtreibung vermeiden helfen und Frauen mit hohem genetischen Risiko als Alternative angeboten werden könnte^{147, 148}.

Identifizierung von Trägern einer rezessiven Mutation (carrier Screening)

Bei rezessiven Defekten kommt es nur dann zur Krankheitsmanifestation, wenn sie in beiden Chromosomen (homozygot) vorhanden sind. Ist nur ein Chromosom betroffen (heterozygot), bleibt der Träger gesund, ein Kind aus einer Beziehung mit einem anderen Träger hat jedoch ein 25%iges Risiko, homozygot und damit krank zu sein. Bestimmte rezessive Erbkrankheiten kommen ethnisch gehäuft vor (Zystische Fibrose bei Mittel-/Nordeuropäern, Sichelzellanämie bei Afro-Amerikanern, beta-Thalassämie bei Italienern und Griechen, alpha-Thalassämie bei SO-Asiaten und Chinesen, Tay-Sachs-Krankheit bei Ashkenazi-Juden). Um Träger zu identifizieren, wurden bereits für einige Krankheiten Screening-Tests entwickelt und erfolgreich bei der genetischen Beratung eingesetzt (z.B. Zystische Fibrose¹⁴⁹⁻¹⁵¹, Hämoglobinopathien (Thalassämie, Sichelzellanämie¹⁵²), Tay-Sachs-Krankheit¹⁵³, fragile-X-Syndrom¹⁵⁴, Phenylketonurie¹⁵⁵). Die Trägerhäufigkeit der zystischen Fibrose beträgt in unseren Breiten etwa 4%. Bei Screening-Programmen wird im Fall eines positiven Tests auch der andere Partner untersucht.

Mit der Erforschung der weißen Flecke auf der genetischen Landkarte sind für viele weitere rezessive Defekte solche Screening-Programme zu erwarten, möglicherweise auch für polygenetische Defekte, die unter anderem für Diabetes, Schizophrenie oder rheumatoide Arthritis verantwortlich gemacht werden, wo-

durch der Ausbruch mancher Krankheiten verzögert oder verhindert werden könnte¹⁵⁶. Neue Modelle werden erstellt, um genetische Beratung der breiten Bevölkerung zugänglich zu machen^{157, 158}. Die Fortschritte in der Gentherapie lassen in Zukunft auf Behandlungsmöglichkeiten an der Basis mancher Krankheiten hoffen¹⁵⁹⁻¹⁶¹.

Ein zweiter Teil dieser Dokumentation, der sich mit den therapeutischen Möglichkeiten der Pränatalmedizin beschäftigt, wird in der nächsten Nummer von *Imago Hominis* erscheinen. Eine erweiterte Fassung erscheint demnächst als IMABE-Studie, und ist über das Institut zu beziehen.

Referenzen

1. RODECK, C. H. 1993. Prenatal diagnosis. Fetal development after chorionic villus sampling. *Lancet*, 341, 468-9.
2. CRANE, J. P. and CHEUNG, S. W. 1988. An embryogenic model to explain cytogenetic inconsistencies observed in chorionic villus versus fetal tissue. *Prenatal diagnosis*, 8, 119-129.
3. MOORE, K. L. Embryologie. Schattauer 1985, 2. Auflage.
4. BRAMBATI, B., TERZIAN, E., TOGNONI, G. 1991. Randomised clinical trial of transabdominal versus transcervical chorionic villus sampling methods. *Prenatal diagnosis*, 11, 285-93.
5. SMIDT-JENSEN, S., PERMIN M. et al. 1992. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet*, 340, 1237-44.
6. MARTIUS, G. Lehrbuch der Geburtshilfe. Thieme 1988, 12. Auflage.
7. SHULMAN, L. P., SIMPSON, J. L. et al. 1992. Transvaginal chorionic villus sampling using transabdominal ultrasound guidance. *Prenatal diagnosis*, 12, 229-34.
8. DALPRA, L., NOCERA, G. et al. 1993. Late chorionic villus sampling. Cytogenetic aspects. *Prenatal diagnosis*, 13, 239-46.
9. MCCORMACK, M. J., MACKENZIE, W. E. et al. 1991. Clinical and pathological factors in spontaneous abortion following chorionic villus sampling. *Prenatal diagnosis*, 11, 841-46.
10. SIMONI, G., BRAMBATI, B. et al. 1983. Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villus samples in the first trimester of pregnancy. *Hum. Genet.*, 63, 349-57.
11. SMIDT-JENSEN, S., CHRISTENSEN, B., LIND, A. M. 1989. Chorionicvillus culture for prenatal diagnosis of chromosome defects: reduction of the long term cultivation time. *Prenatal diagnosis*, 9, 309-19.
12. JAHODA, M. G., BRANDENBURG, H. et al. 1991. Transcervical and transabdominal CVS for prenatal diagnosis in Rotterdam: experience with 3611 cases. *Prenatal diagnosis*, 11, 559-61.
13. NAGESH RAO, P., HAYWORTH R. et al. 1993. Rapid detection of aneuploidy in uncultured chorionic villus cells using fluorescence in situ hybridization. *Prenatal diagnosis*, 13, 233-38.
14. EVANS, M. I., KLINGER, K. W. et al. 1992. Rapid prenatal diagnosis by fluorescent in situ hybridization of chorionic villi: an adjunct to long-term culture and karyotype. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167, 1522-5.
15. MRC Working Party on the Evaluation of Chorionic Villus Sampling. 1991. Medical Research Council European Trial of chorionic villus sampling. *Lancet*, 337, 1491-99.
16. Canadian collaborative CVS-amniocentesis clinical trial group. Multicentre randomised clinical trial or chorionic villus sampling and amniocentesis. 1989. *Lancet*, i, 1-6.
17. LIPPMAN, A., TOMKINS, D. J. et al. and Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group. 1992. Canadian multicentre randomised clinical trial of chorionic villus sampling and amniocentesis. Final report. *Prenatal diagnosis*, 12, 385-476.
18. RHOADS, G. G., JACKSON, L. G. et al. 1989. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N. Engl. J. Med.* 320, 609-17.
19. BRAMBATI, B., LANZANI, A., TULUI, L. 1990. Transabdominal and transcervical chorionic villus sampling: efficiency and risk evaluation of 2411 cases. *Am. J. Med. Gen.*, 35, 160-4.
20. JACKSON, L. and the U. S. NICHD Chorionic Villus Sampling Study Group. 1990. Transcervical and transabdominal chorionic villus sampling are comparably safe procedures for first trimester prenatal diagnosis: preliminary analysis. *Am. J. Hum. Genet.*, 47, A 279.
21. BAUMANN, P., JOVANOVIĆ, V. et al. 1991. Risk or miscarriage after transcervical and transabdominal CVS in relation to bacterial colonization of the cervix. *Prenatal diagnosis*, 11, 551-57.
22. ROTT, H. D. 1992. Chorionzottenbiopsie: Bereicherung oder gefährliche Alternative in der Pränataldiagnostik? *DMW*, 117. Jg., Nr. 5, 199.

23. KULIEV, A. M., Modell, B. et al. 1993. Risk evaluation of CVS. *Prenatal diagnosis*, 13, 197-209.
24. JACKSON, L. G., WAPNER, R. J. 1987. Risks or chorionic villus sampling. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 1, 513-31.
25. SMIDT-JENSEN, S. and PHILIP, J. 1991. Comparison or transabdominal and transcervical CVS and amniocentesis: sampling success and risk. *Prenatal diagnosis*, 11, 529-37.
26. FIRTH, H. V., BOYD, P. A. et al. 1991. Severe limb abnormalities after chorion villus sampling at 56-66 days' gestation. *Lancet*, 337, 762-3.
27. BURTON, B. K., SCHULZ, C. J., BURD, L. I. 1992. Limb anomalies associated with chorionic villus sampling. *Obstet. Gynecol.*, 79, 726-30.
28. LIN, S. P., HUNAN, F. Y. et al. 1992. Limb reduction defects and associated anomalies after chorionic villus sampling. Presented at a meeting of American Society of Human Genetics, San Francisco, November 1992.
29. MINY, P., HOLZGREVE, W. et al. 1991. Limb abnormalities and chorionic villus sampling. *Lancet*, 337, 1423-4.
30. DOLK, H., BERTRAND, F., LECHAT, M. F. 1992. Chorionic villus sampling and limb abnormalities. *Lancet*, 339, 876-7.
31. QUINTERO, R. A., ROMERO, R. et al. 1992. Fetal haemorrhagic lesions after chorionic villus sampling. *Lancet*, 339, 193.
32. SHULMAN, L. P., MEYERS, C. M. et al. 1990. Fetomaternal transfusion depends on amount of villi aspirated but not on method of chorionic villus sampling. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 162, 1185-88.
33. BLAKEMORE, K. J., Baumgarten, A. et al. 1986. Rise in maternal serum AFP concentration after chorionic villus sampling and the possibility of isoimmunization. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 155, 988-93.
34. FUHRMANN, W., ALTLAND, K. et al. 1988. Fetomaternal transfusion after chorionic villus sampling. *Hum. Genet.*, 78, 83-5.
35. COLUCCI, G., PESENTI, E. et al. 1993. Applicability of DNA isolated from syncytiotrophoblast vesicles to gene amplification and molecular analysis. *Prenatal diagnosis*, 13, 335-40.
36. Strom, C. M., RECHITSKY, S., VERLINSKY, Y. 1991. Reliability of gender determination using the polymerase chain reaction (PCR) for single cells. *J. In Vitro Fert. Embryo. Transf.*, 8, 225-9.
37. KALOUSEK, D. K., Dill, F. J. et al. 1987. Confined chorionic mosaicism in prenatal diagnosis. *Hum. Genet.*, 77, 163-7.
38. WANG, B. T., RUBIN, C. H., WILLIAMS III, J. 1993. Mosaicism in chorionic villus sampling: an analysis of incidence and chromosomes involved in 2612 consecutive cases. *Prenatal diagnosis*, 13, 179-90.
39. KALOUSEK, D. K., BARRET, I. J., GARTNER, A. B. 1992. Spontaneous abortion and confined placental mosaicism. *Hum. Genet.* 88 642-6.
40. ELEJALDE, B. R., de ELEJALDE, M.M. et al. 1990. Prospective study of amniocentesis performed between weeks 9 and 16 of gestation: its feasibility, risks, complications and use in early genetic prenatal diagnosis. *Am. J. Med. Genet.*, 36, 188-196.
41. ROBERTS, L. 1991. FisHing cuts the angst in amniocentesis. *Science*, 254: 378-79.
42. TABOR, A., PHILIP, J. et al. 1986. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk-women. *Lancet*, i: 1282-93.
43. Working party on amniocentesis. 1978. An assessment of the hazards of amniocentesis. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, Vol.85 (suppl.2): 1-41.
44. Medical Research Council of Canada. 1977. Diagnosis of genetic disease by amniocentesis during the second trimester of pregnancy. Report no 5. Ottawa: Medical Research Council of Canada.
45. CRANDALL, B. F., HOWARD, J. et al. 1980. Follow-up of 2000 second-trimester amniocentesis. *Obstet. Gynecol.*, Vol 56: 625-28.
46. NICHD National Registry for amniocentesis study group. 1976. Mid-trimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *JAMA*, 236: 1471-76.
47. Wald, N. J., Terzian, E. et al. 1983. Congenital talipes and hip malformation in relation to amniocentesis: A case-control study. *Lancet*, ii: 246-49.
48. HISLOP, A., FAIRWEATHER, D. V. I. 1982. Amniocentesis and lung growth: An animal experiment with clinical implications. *Lancet*, ii: 1271-72.
49. VYAS, H., MILNER, A .D., HOPKIN, I. E. 1982. Amniocentesis and fetal lung development. *Arch. Dis. Child.*, Vol 57: 627-28.
50. BROCK, D. J. H., BARRON, L. et al. 1979. Significance of elevated mid-trimester maternal plasma-alpha-fetoprotein values. *Lancet*, i: 1281-82.
51. TABOR, A., JERNE, D., BOCK, J. E. 1986. Incidence of Rhesus immunization after genetic amniocentesis. *BMJ*, 293: 533.
52. PENSO, C. A., SANDSTROM, M.M. et al. 1990. Early amniocentesis: report of 407 cases with neonatal follow-up. *Obstet. Gynecol.*, 76: 1032-36.
53. STRIPPARO, L., BUSCAGLIA, M. et al. 1990. Genetic amniocentesis: 505 cases performed before the sixteenth week of gestation. *Prenatal diagnosis*, 10: 359.
54. HANSON, F. W., TENNANT, F. et al. 1992. Early amniocentesis: outcome, risks, and technical problems at = < 12,8 weeks. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 166: 1707.
55. KENNERKNECHT, I., BAUR-AUBELE, S. et al. 1992. First trimester amniocentesis between the seventh and 13th weeks: Evaluation of the earliest possible genetic diagnosis. *Prenatal diagnosis*, 12: 595-601.
56. KENNERKNECHT, I., KRÄMER, S. et al. 1993. Evaluation of amniotic fluid cell filtration: An experimental

- approach to early amniocentesis. *Prenatal diagnosis*, 13: 247-55.
57. REBELLO, M. T., GRAY, C. T. H. et al. 1991. Cytogenetic studies of amniotic fluid taken before the 15th week of pregnancy for earlier prenatal diagnosis: a report of 114 consecutive cases. *Prenatal diagnosis*, 11: 35-40.
 58. HACKETT, G. A., SMITH, J. H. et al. 1991. Early amniocentesis at 11-14 weeks' gestation for the diagnosis of fetal chromosomal abnormality - a clinical evaluation. *Prenatal diagnosis*, 11: 311-15.
 59. JURKOVIC, D., CAMPBELL, S. et al. 1993. Coelocentesis: a new technique for early prenatal diagnosis. *Lancet*, 341: 1623-24.
 60. DAFOS, F., CAPELLA-PAVLOVSKY, M., FORESTIER, F. 1983. A new procedure for fetal blood sampling. Preliminary results of 53 cases. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 146: 985-90.
 61. ANTSAKLIS, A. I., PAPANTONIOU, N. E. et al. 1992. Cardiocentesis: an alternative method of fetal blood sampling for the prenatal diagnosis of hemoglobinopathies. *Obstet. Gynecol.*, 79: 630-33.
 62. FOUCAR, K., FRIEDMANN, K. et al. 1992. Prenatal diagnosis of transient myeloproliferative disorder via percutaneous umbilical blood sampling. *Am. J. Clin. Pathol.*, 97: 584-90.
 63. FISK, N. M., BOWER, S. D. 1993. Fetal blood sampling in retreat. *BMJ*, 307: 143-44.
 64. LIOU, J., CHEN, Ch. et al. 1993. Fetal blood sampling and cytogenetic abnormalities. *Prenatal diagnosis*, 13: 1-8.
 65. KREMER, E. J., PRITCHARD, M. et al. 1991. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG)_n. *Science*, 252, 1711-14.
 66. BENNETT, P. R., LE VAN KIM, C. et al. 1993. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. *N. Engl. J. Med.*
 67. LYNCH, L., BUSSEL, J. B. et al. 1992. Antenatal treatment of alloimmune thrombocytopenia. *Obstet. Gynecol.*, 80: 67-71.
 68. NICOLINI, U., NICOLAIDES, P. et al. 1990. Limited role of fetal blood sampling in prediction of outcome in intrauterine growth retardation. *Lancet*, 336: 768-72.
 69. PARDI, G., CETIN, I. et al. 1993. Diagnostic value of blood sampling in fetuses with growth retardation. *N. Engl. J. Med.*, 328: 692-96.
 70. DAFOS, F., FORESTIER, F. et al. 1988. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N. Engl. J. Med.*, 318: 271-75.
 71. CAZENAVE, J., FORESTIER, F. et al. 1992. contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Prenatal diagnosis*, 12: 119-27.
 72. Maxwell, D. J., JOHNSON, P. et al. 1991. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 98: 892-97.
 73. GHIDINI, A., SEPULVEDA, W. et al. 1993. Complications of fetal blood sampling. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 168: 1339-44.
 74. SYBERT, V. P., HOLBROOK, K. A. et al. 1992. Prenatal diagnosis of severe dermatologic diseases. *Adv. Dermat.*, 7: 179-211.
 75. VALENTI, C. Antenatal detection of hemoglobinopathies. A preliminary report. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 115: 851-53.
 76. ANTSAKLIS, A., BAUG, J. et al. 1984. Special report. The status of fetoscopy and fetal tissue sampling. *Prenatal diagnosis*, 4: 79-81.
 77. PENNEHOUAT, G. H., THEBAULT, Y. et al. 1992. First trimester transabdominal fetoscopy. *Lancet*, 340: 429.
 78. QUINTERO, R. A., PUDER, K. S., COTTON, D. B. 1993. Embryoscopy and fetoscopy. *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.*, 20: 563-81.
 79. REECE, E.A. 1992. Embryoscopy: new developments in prenatal medicine. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 4: 447-55.
 80. QUINTERO, R. A., ABUHAMAD, A. et al. 1993. Transabdominal thin-gauge embryofetoscopy: a technique for early prenatal diagnosis and its use in the diagnosis of a case of Meckel-Gruber syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 168: 1552-57.
 81. REECE, E.A., WHETHAM, J. et al. 1993. Gaining access to the embryonic-fetal circulation via first-trimester endoscopy: a step into the future. *Obstet. Gynecol.*, 82: 876-79.
 82. REECE, E.A., ROTMENSCH, S. et al. 1992. Embryoscopy: a closer look at first-trimester diagnosis and treatment. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 166: 775-80.
 83. JAGLA, K., DEGENHARDT, F., BOHMER, S. 1993. Vaginosonographie zur Kontrolle von Frühschwangerschaften - Einsatz in der Praxis des niedergelassenen Gynäkologen. *Ultraschall Med.*, 14 (4): 182-6.
 84. KOYANAGI, T., HORIMOTO, N. et al. 1993. Abnormal behavioral patterns in the human fetus at term: correlation with lesion sites in the central nervous system after birth. *J. Child. Neurol.*, Vol 8 (1): 19-26.
 85. WIKSTRÖM, I., BERGSTRÖM, R. et al. 1993. Prediction of high birthweight from maternal characteristics, symphysis fundal height and ultrasound biometry. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 35: 27-33.
 86. Fetal tissue sampling - indications, techniques, complications, and experience with sampling of fetal skin, liver, and muscle. *West. J. Med.*, 159: 269-72.
 87. GAGNON, S., FRASER, W. et al. 1992. Nature and frequency of chromosomal abnormalities in pregnancies with abnormal ultrasound findings: an analysis of 117 cases with review of the literature. *Prenatal diagnosis*, 12: 9-18.
 88. BENACERRAF, B. R., BARSS, V. A. et al. 1985. A sonographic sign for the detection in the second

- trimester of the fetus with Down's syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 151: 1078-79.
89. SAVOLDELLI, G., BINKERT, F. et al. 1993. Ultrasound screening for chromosomal anomalies in the first trimester of pregnancy. *Prenatal diagnosis*, 13: 513-18.
 90. BRONSHTEIN, M., BAR-HAVA, I. et al. 1993. The difference between septated and nonseptated nuchal cystic Hygroma in the early second trimester. *Obstet. Gynecol.*, 81: 683-87.
 91. STARK, C. R., ORLEANS, M. et al. 1984. Short and long-term risks after exposure to diagnostic ultrasound in utero. *Obstet. Gynecol.*, 63: 194.
 92. STOLL, C., ALENBIK, Y. et al. 1993. evaluation of prenatal diagnosis of congenital heart disease. *Prenatal diagnosis*, 13: 453-61.
 93. FRIEDMANN, A. H., COPEL, J. A., Kleinmann, C. S. 1993. Fetal echocardiography and fetal cardiology: indications, diagnosis and management. *Semin. Perinat.*, 17: 76-88.
 94. PALADINI, D., CALABRO, R. et al. 1993. Prenatal diagnosis of congenital heart disease and fetal karyotyping. *Obstet. Gynecol.*, 81: 679-82.
 95. ACHIRON, R., GLASER, J. et al. 1992. Extended fetal echocardiographic examination for detecting cardiac malformations in low risk pregnancies. *BMJ*, 304: 671-74.
 96. WIGTON, T.R., SABBAGHA, R.E. et al. 1993. Sonographic diagnosis of congenital heart disease: comparison between the four-chamber view and multiple cardiac views. *Obstet. Gynecol.*, 82(2): 219-24.
 97. BEATTIE, R. B., WHITTLE, M. J. 1993. Doppler and fetal growth retardation. *Arch. Dis. Child.*, 69: 271-73.
 98. BRYCE, R. 1992. The value of Doppler ultrasound in obstetrics. *Med. J. Austr.*, 156: 300-2.
 99. TRUDINGER, B. J., COOK, C. M. et al. 1988. Low dose aspirin improves fetal weight in umbilical-placental insufficiency. *Lancet*, 2: 214-15.
 100. HUTTER, W., GRAB, D. et al. 1993. Der diagnostische Stellenwert der Continuous-wave-Dopplersonographie bei mütterlichem Diabetes mellitus. *Ultraschall Med.*, 14: 169-74.
 101. OEPKES, D., VANDENBUSSCHE, F. P. et al. 1993. Fetal ductus venosus blood flow velocities before and after transfusion in red-cell alloimmunized pregnancies. *Obstet. Gynecol.*, 82: 237-41.
 102. CATIZONE, F. A., GERMUNDO, G. et al. 1991. The non-invasive methods of prenatal diagnosis: the role of ultrasonography and MRI. *J. Perinat. Med.*, 19 (suppl.1): 42-49.
 103. GIRARD, N. J., RAYBAUD, C. A. 1992. In vivo MRI of fetal brain cellular migration. *J. Comp. Ass. Tomogr.*, 16: 265-67.
 104. OKAMURA, K., MUROTSUKI, J. et al. 1993. Prenatal diagnosis of lissencephaly by magnetic resonance image. *Fetal Diagn. Ther.*, 8: 56-59.
 105. NISHI, T., IWASAKI, M. et al. 1991. Prenatal diagnosis of autosomal recessive polycystic kidney disease by ultrasound and magnetic resonance imaging. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 70: 615-17.
 106. WAX, J. R., SMITH, J. F., FLOYD, R. C. 1994. Monoamniotic twins discordant for anencephaly: diagnosis by CT-amniography. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 18: 152-54.
 107. PLATT, L. D., CARLSON, D. U. 1992. Prenatal diagnosis - when and how? *N. Engl. J. Med.*, 327: 636-38.
 108. MERKATZ, I. R., NITOWSKY, H. M. et al. 1984. An association between low maternal serum alphaprotein and fetale chromosome abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 148: 886-94.
 109. BOGART, M. H., PANDIAN, M. R., JONES, O. W. 1987. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenatal diagnosis*, 7: 623-30.
 110. CANICK, J. A., KNIGHT, G. J. et al. 1988. Low second trimester unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 95: 330-33.
 111. Wald, N. J., CUCKLE, H. S. et al. 1988b. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ*, 297: 883-87.
 112. BARTELS, I. 1991. Serummarker zur Bestimmung des individuellen Risikos für ein Kind mit Down-Syndrom. *Diagn. Labor*, 41: 174-78.
 113. HADDOW, J. E., PALOMAKI, G. E. et al. 1992. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N. Engl. J. Med.*, 327: 588-93.
 114. New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome Screening. 1989. Combining maternal serum alphaprotein measurements and age to screen for Down Syndrome in pregnant women under age 35. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 160: 575-81.
 115. RYALL, R. G., STAPLES, A. J. et al. 1992. Improved performance in a prenatal screening programme for Down's syndrome incorporating serum-free hCG subunit analyses. *Prenatal diagnosis*, 12: 251-61.
 116. SPENCER, K., COOMBES, E. J. et al. 1992. Free beta hCG in Down's syndrome screening: amulticenter study of its role compared with other biochemical markers. *Ann. Clin. Biochem.*, 29: 506-18.
 117. CROSSLEY, J. A., AITKEN, D. A., CONNOR, J. M. 1993. Second-trimester unconjugated oestriol levels in maternal serum from chromosomally abnormal pregnancies using an optimized assay. *Prenatal diagnosis*, 13: 271-80.
 118. CANICK, J. A., PALOMAKI, G. E. et al. 1990. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenatal diagnosis*, 10: 546-48.

119. SIMPSON, J. L., ELIAS, S. 1993. Isolating fetal cells from maternal blood. *JAMA*, 270: 2357-61.
120. SANDERS, R. C. 1991. Prenatal diagnosis of structural abnormalities. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 3: 259-65.
121. WALKNOWSKA, J., CONTE, F. A. et al. 1969. Practical and theoretical implications of fetal/maternal lymphocyte transfer. *Lancet*, i: 1119-22.
122. SIEBERS, J. W., KNAUF, I. et al. 1975. Antenatal sex determination in blood from pregnant women. *Hum. Genet.*, 28: 273-80.
123. IVERSON, G. M., BIANCHI, D. W. et al. 1981. Detection and isolation of fetal cells from maternal blood using the fluorescence-activated cell sorter (FACS). *Prenatal diagnosis*, 1: 61-73.
124. LO, Y.-M. D., WAINSCOT, J. S. et al. 1989. Prenatal sex determination by DNA amplification from maternal peripheral blood. *Lancet*, 2: 1363-65.
125. MÜLLER, O. W., HAWES, C. S. et al. 1990. Isolation of fetal trophoblast cells from peripheral blood of pregnant women. *Lancet*, 336: 197-200.
126. BRUCH, J. F., METEZEAU, D. et al. 1991. Trophoblast-like cells sorted from peripheral maternal blood using flow cytometry: a multiparametric study involving transmission electron microscopy and fetal amplification. *Prenatal diagnosis*, 11: 787-798.
127. YEOH, S. C., SARGENT, I. L. et al. 1991. Detection of fetal cells in maternal blood. *Prenatal diagnosis*, 11: 117-23.
128. BIANCHI, D. W., ZICKWOLF, G. K. et al. 1993. Erythroid-specific antibodies enhance detection of fetal nucleated erythrocytes in maternal blood. *Prenatal diagnosis*, 13: 293-300.
129. CAMASCHELLA, C., ALFARNO, A. et al. 1990. Prenatal diagnosis of fetal haemoglobin Lepore-boston disease on maternal peripheral blood. *Blood*, 75: 2102-6.
130. LO, Y.-M. D., BOWELL, P. J. et al. 1993. Prenatal determination of fetal RhD status by analysis of peripheral blood of rhesus negative mothers. *Lancet*, 341: 1147-48.
131. GANSHIRT-AHLERT, D., BORJESSON-SOLL, M. et al. 1992. Noninvasive prenatal diagnosis: triple density gradient, magnetic activated cell sorting and FisH prove to be an efficient and reproducible method for detection of fetal aneuploidies from maternal blood. *Am. J. Hum. Genet.*, 51: A48.
132. ELIAS, S., PRICE, J. et al. 1992. Prenatal diagnosis of aneuploidy using fetal cells isolated from maternal blood. *Am. J. Hum. Genet.*, 51: A4.
133. ELIAS, S., PRICE, J. et al. 1992. First trimester prenatal diagnosis of trisomy 21 in fetal cells from maternal blood. *Lancet*, 340: 1033.
134. Prenatal diagnosis in: J. FITZSIMMONS (1993) *Current topics in Obstetrics and Gynecology*. Elsevier, New York.
135. SIMPSON, J. L., ELIAS, S. 1993. *Essentials of prenatal diagnosis*. Churchill LIVINGSTON, London.
136. COOPER, D. N., SCHMIDTKE, J. 1987. Diagnosis of genetic disease using recombinant DNA. *Human Genetics* 77:66-75.
137. GAGNON, S., FRASER, W. et al. 1992. Nature and frequency of chromosomal abnormalities in pregnancies with abnormal ultrasound findings: an analysis of 117 cases with review of the literature. *Prenat. Diagnosis*, 12: 9-18.
138. MONK, M. 1993. Preimplantation diagnosis of genetic disease. *Ann. Med.*, Vol: 25: 463-66.
139. GRIFO, J. A., BOYLE, A. et al. 1992. Preimplantation genetic diagnosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 116: 393-97.
140. HARDY, K., HANDYSIDE, A. H. 1992. Biopsy of cleavage stage human embryos and diagnosis of single gene defects by DNA amplification. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 116: 388-92.
141. MUNNE, S., TANG, Y. X., et al. 1994. Sex determination of human embryos using the polymerase chain reaction and confirmation by fluorescence in situ hybridization. *Fertil. Steril.*, 61: 111-17.
142. CUI, K. H., WARNES, G. M. et al. 1994. Sex determination of preimplantation embryos by human testis-determining-gene amplification. *Lancet*, 343: 79-82.
143. HOLDING, C., BENTLEY, D. et al. 1993. Development and validation of laboratory procedures for preimplantation diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *J. Med. Genet.*, 30: 903-9.
144. VARAWALLA, N. Y., DOKRAS, A. et al. 1991. An approach to preimplantation diagnosis of beta-thalassaemia. *Prenatal diagnosis*, 11: 775-85.
145. MONK, M., KENEALY, M.-R., MOHADJERANI, S. 1993. Detection of both the normal and mutant alleles in single cells of individuals heterozygous for the sickle cell mutation - Prelude to preimplantation diagnosis. *Prenatal diagnosis*, 13: 45-53.
146. BENKHALIFA, M., JANNY, L. et al. 1993. Assessment of polyploidy in human morulae and blastocysts using co-culture and fluorescent in-situ-hybridization. *Hum. Reprod.*, 8: 895-902.
147. WINSTON, R. M., HANDYSIDE, A. H. 1993. New challenges in human in vitro fertilization. *Science*, 260: 932-36.
148. PERGAMENT, E. 1991. Preimplantation diagnosis: a patient perspective. *Prenatal diagnosis*, 11: 493-500.
149. ASCH, D. A., PATTON, J. P. et al. 1993. Reporting the results of cystic fibrosis carrier screening. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 168:1-6.
150. GRODY, W. W., KRONQUIST, K. E. et al. 1993. PCR-based cystic fibrosis (CF) carrier screening in a first-year medical student biochemistry laboratory. *Am. J. Hum. Genet.*, 53: 1352-55.
151. Modell, M. 1993. Screening for carriers of cystic fibrosis - a general practitioner's perspective. *BMJ*,

- 307: 849-52.
152. CAO, A., ROSATELLI, M. C. 1993. Screening and prenatal diagnosis of the haemoglobinopathies. Baillieres. Clin. Haematol., 6: 263-86.
153. KABACK, M., LIM-STEEL, J. et al. 1993. Tay-Sachs disease - carrier screening, prenatal diagnosis, and the molecular era. An international perspective, 1970 to 1993. The International TSD Data Collection Network. JAMA, 270: 2307-15.
154. BROWN, W. T., HOUCK, G. E. et al. 1993. Rapid fragile X carrier screening and prenatal diagnosis using nonradioactive PCR test. JAMA, 270: 1569-75.
155. GOLTISOV, A. A., EISENSMITH, R. C. et al. 1993. A single polymorphic STR system in the human phenylalanine hydroxylase gene permits rapid prenatal diagnosis and carrier screening for Phenylketonuria. Hum. Mol. Genet., 2: 577-81.
156. BELL, J. Prenatal diagnosis: current approaches and future trends. In: (Eds.) CHADWICK, D. et al. 1990. Human genetic information: science, law and ethics. Ciba Foundation Symposium 149. John WILEY & SONS. 18-26.
157. WILFOND, B. S., NOLAN, K. 1993. National policy development for the clinical application of genetic diagnostic technologies. Lessons from cystic fibrosis. JAMA, 270: 2948-54.
158. SHICKLE, D., HARVEY, I. 1993. „Inside-out“, back-to-front: a model for clinical population genetic screening. J. Med. Genet., 30: 580-82.
159. HUMPHRIES, S. E., MAILLY, F. et al. The molecular genetics of pediatric lipid disorders: recent progress and future research directions. Pediatr. Res., 34: 403-15.
160. MORSY, M. A., MITANI, K. et al. 1993. Progress toward human gene therapy. JAMA, 270: 2338-45.
161. LEDLEY, F. D. 1993. Prenatal application of somatic gene therapy. Obstet. Gynecol. Clin. North. Am., 20: 611-20.