

Pränataler Array

Indikationen, Bewertung

Vierzig Jahre lang war die konventionelle Chromosomenanalyse mithilfe der QFQ- oder GTG-Bänderung der Goldstandard in der Pränataldiagnostik. In den 1990er Jahren erweiterte die Möglichkeit, spezifisch Chromosomen und Chromosomenabschnitte durch In-situ-Hybridisierung mit markierten Sonden darzustellen, erheblich das diagnostische Spektrum in der Pränataldiagnostik. Die hochauflösende Ultraschalldiagnostik mit immer genauerer Darstellung fetaler Strukturen machte jedoch die Einführung eines hochauflösenden Verfahrens zur Erkennung chromosomaler Imbalancen in die Pränataldiagnostik notwendig, wie sie mit der Microarray-CGH zur Verfügung steht. Trotz zahlreicher Vorteile hat sich die Methode wegen des Fehlens stringenter Indikationskriterien, Bedenken der Interpretierbarkeit der Ergebnisse und der Möglichkeit der Erkennung von pathogenen Befunden, die nicht im Zusammenhang mit der Fragestellung stehen, nur schwer in der Pränataldiagnostik etablieren können [6, 8].

Festlegung von Indikationskriterien zur Anwendung der Microarray-CGH in der Pränataldiagnostik

Als Grundlage für die Festlegung der Kriterien für die Anwendung der Microarray-CGH in der Pränataldiagnostik dienen die Ergebnisse der Auswertung von 4626 in unserem Labor routinemäßig durchgeführten pränatalen Chromosomenanalysen. Nach konventioneller zytogenetischer Diagnostik ergab sich der höchste Anteil an pathologischen Chromosomenbefunden bei Feten mit einer Wachstumsretardierung (IUGR) und sonographisch zusätzlich nachweisbarer

Fehlbildung. In absteigender Reihenfolge kamen danach Feten mit nachweisbaren Fehlbildungen an zwei oder mehr Organen, Feten mit früh einsetzender Retardierung ohne im Ultraschall nachweisbare Strukturanomalien und Feten mit einer im Ultraschall (US) nachweisbaren schweren oder komplexen Fehlbildung an nur einem Organ [6].

Unter der Annahme, dass entsprechend den Ergebnissen nach konventioneller Karyotypisierung, auch nach Microarray-CGH-Diagnostik in den beschriebenen Patientengruppen die höchste Erfassungsrate für einen auffälligen Befund bestünde, wurden 3 vom Ultraschallbefund abhängige Indikationsstellungen zur Durchführung einer Microarray-CGH-Diagnostik festgelegt:

- Feten mit Auffälligkeiten an ≥ 2 Organen im Ultraschall**
Dieser Gruppe wurden auch Feten mit einer IUGR und sonographisch zusätzlich nachweisbarer Fehlbildung zugeordnet, wobei die Retardierung neben der Fehlbildung als zweite Ultraschallauffälligkeit gewertet wurde.
- Feten mit früh einsetzender Retardierung (vor der 22. SSW) ohne im Ultraschall nachweisbare Strukturanomalien**
- Feten mit komplexen Fehlbildungen an einem Organ**
Als weitere, vom Ultraschallbefund unabhängige Indikationskriterien wurden auffällige zytogenetische Befunde gewählt, die einer weiteren Klärung bedurften. Hierbei wurden ebenfalls 3 Indikationsstellungen festgelegt:
- Markerchromosomen de novo**
- balancierte Chromosomentranslokationen de novo**

- Strukturaberrationen de novo mit nicht sicher einzuschätzender Wertigkeit**

Ergebnisse der Microarray-CGH-Untersuchungen nach Indikationsgruppen

Von insgesamt 14.766 pränatal durchgeführten zytogenetischen Untersuchungen (davon 12.954 Fruchtwasser- und 1812 Chorionzottenuntersuchungen) wurden nach den genannten Indikationskriterien 324 Fruchtwasser-, 9 CVS und 4 fetale Blutproben (anstelle des gleichzeitig vorhandenen Fruchtwassers) mittels Microarray-CGH untersucht.

Als „First-tier“-Diagnostik wurden in allen Fällen ein molekularer Schnelltest (QF-PCR) zur Detektion von Triploidien und Aneuploidien der Chromosomen 13, 18, 21, X und Y sowie bei Proben bis zur 18. Woche eine konventionelle Karyotypisierung durchgeführt. Bei Fruchtwasserproben nach der 18. Woche erfolgte die Durchführung der Microarray-CGH parallel zur konventionellen Karyotypisierung. Die Untersuchung wurde an DNA entweder aus nativen Fruchtwasser-/Chorionzottenzellen oder nach Zellkultur mit einem 105-k- oder 180-k-Oligomicroarray (Fa. Agilent, Santa Clara, CA 95051, USA) durchgeführt [6].

Die **Tab. 1 und 2** zeigen die Ergebnisse nach Microarray-CGH-Diagnostik in den jeweiligen Indikationsgruppen. Nicht aufgelistet wurden als sicher harmlos eingestufte CNV.

Tab. 1 Häufigkeit der Untersuchungen in der Indikationsgruppe „auffälliger Ultraschallbefund“

Indikationsgruppe auffälliger Ultraschall	Balancierte Strukturaberration	Wahrscheinlich harmlose CNV	Potenziell pathogene CNV	Gesichert pathogene CNV	Gesichert/potenziell pathogene CNV
Ultraschallauffälligkeiten: ≥ 2 Organe <i>n</i> = 156	–	5 (3,2%)	4 (2,5%)	12 (7,7%)	16 (10,3%)
IUGR <i>n</i> = 49	–	5 (10,2%)	1 (2,0%)	5 (10,2%)	6 (12,2%)
Komplexe Ultraschallauffälligkeit: 1 Organ <i>n</i> = 74	–	4 (5,4%)	13 (17,6%)	5 (6,8%)	18 (24,%)
Summe: 279	–	14 (5,0%)	18 (6,4%)	22 (7,9%)	40 (14,3%)

CNV Kopienzahlveränderung („copy number variation“); IUGR intrauterine Wachstumsretardierung („intrauterine growth retardation“)

Tab. 2 Häufigkeit der Untersuchungen in der Indikationsgruppe „auffällige Zytogenetik“

Indikationsgruppe auffällige Zytogenetik	Balancierte Strukturaberration	Mutmaßlich harmlos/ Variante	Potenziell pathogen	Gesichert pathogen	Gesichert/potenziell pathogen
Markerchromosomen de novo <i>n</i> = 13	–	2 (15,4%)	–	11 (84,6%)	11 (84,6%)
Translokation de novo <i>n</i> = 10	10 (100%)	–	–	–	–
Unklare Strukturaberration de novo <i>n</i> = 35	11 (31,4%)	2 (5,7%)	–	22 (62,9%)	22 (62,9%)
Summe: 58	21 (36,2%)	4 (6,9%)	–	33 (56,9%)	33 (56,9%)

Bewertung der Indikationskriterien

Indikationsgruppen 1–3: Auffälliger Ultraschallbefund

Das Hauptproblem bei der Beurteilung von pränatal erhobenen Ultraschallbefunden liegt in deren genetischer Bewertung. Unabhängig davon, ob Auffälligkeiten an einem oder mehreren Organen beobachtet werden, liegt die Bewertung zunächst einmal beim durchführenden Ultraschalldiagnostiker. Spricht der Ultraschallbefund für das Vorliegen z. B. einer Skelettdysplasie als Ursache einer Verzögerung im Wachstum des Fetus, ist eine molekulare Karyotypisierung *nicht* indiziert. Der Verdacht auf das Vorliegen einer monogenen Störung ist deshalb als Ausschlusskriterium zu sehen. Mehr noch als in der postnatalen Diagnostik, ist in der pränatalen Diagnostik *eine besonders enge Abstimmung/Zusammenarbeit zwischen anforderndem Arzt und durchführendem Labor* notwendig [4]. In der Praxis ist dies nicht immer gegeben. Voraussetzungen für eine zielführende Diskussion mit dem anfordernden Arzt sind deshalb das Vorliegen des detaillierten Ultraschallbefundes und Kenntnisse des durchführenden Humangenetikers in der Interpretation fetaler Ultraschallbefunde.

Indikationsgruppe 1: Auffälliger Ultraschall ≥ 2 Organe

Der Anteil der Feten mit gesichert pathogenen CNV (Beispiel [Abb. 1](#)) entsprach mit 7,7% einem nach der Literatur zu erwartenden Anteil. Werden die Feten mit potenziell pathogenen CNV berücksichtigt, liegt der Anteil mit 10,3% ebenfalls im zu erwartenden Bereich von 6–11% [2, 10–12].

Indikationsgruppe 2: Intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR)

In dieser Gruppe wurden nur Feten mit früh einsetzender Wachstumsretardierung (vor der 22. SSW) ohne weitere Ultraschallauffälligkeiten berücksichtigt (Beispiel [Abb. 2](#)). Die frühe Wachstumsretardierung, wie sie z. B. für die Chromosom-18-Trisomie typisch ist, ist immer pathologisch, wobei sorgfältig zwischen dem kleinen Kind (SGA ≤ 10 er Perzentile, perzentilenparalleles Wachstum) und der früh einsetzenden Wachstumsretardierung (asymmetrische oder symmetrische IUGR, Zurückbleiben hinter dem vollen Wachstumspotenzial mit einem Schätzwert < 5 er Perzentile) zu differenzieren ist. Eine enge Kooperation mit dem Ultraschalldiagnostiker ist deshalb hier unerlässlich. Nach Ausschluss der häufigen Trisomien oder einer Triploidie ergaben sich in dieser Gruppe in

5 von 49 Fällen gesichert pathogene CNV (10,2%). Auch in dieser Gruppe liegt der Anteil in einem zu erwartenden Bereich [2, 10, 11].

Indikationsgruppe 3: Komplexe Fehlbildungen, 1 Organ

Isolierte Fehlbildungen, wie z. B. isolierte Extremitätenfehlbildungen, werden sowohl nach konventioneller als auch nach molekularer Karyotypisierung mehrheitlich einen normalen Befund ergeben. Komplexe im Ultraschall nachweisbare Fehlbildungen an nur einem Organ sind hingegen mit einem deutlich erhöhten Risiko für eine chromosomale Imbalance verbunden. So konnten bei 74 Feten in 5 Fällen (6,8%) gesichert pathogene CNV und bei weiteren 13 (17,6%) potenziell pathogene CNV nachgewiesen werden. Bei diesen 18 Feten waren 10-mal komplexe Herzfehler oder Gefäßanomalien und 5-mal das Vorliegen komplexer Hirnfehlbildungen Grund für die Durchführung der Diagnostik. Der Anteil der Feten mit gesichert pathogenen CNV entsprach mit 6,8% dem nach der Literatur zu erwartenden Anteil [2, 10, 11].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Anteil der beobachteten gesichert pathogenen CNV in der Indikationsgruppe *auffälliger Ultraschallbefund* (Untergruppen 1–3) dem in der Li-

teratur beschriebenen Anteil von 6–9% entspricht [2, 10–12]. Werden auch die potenziell pathogenen CNV mitgerechnet, würde der Anteil deutlich darüber liegen. Der hohe Anteil an CNV mit nichtgesicherter klinischer Relevanz mit durchschnittlich 6,4% ist auf die erhöhte Rate an potenziell pathogenen CNV in der Untergruppe *komplexe Fehlbildung an einem Organ* (17,6%) zurückzuführen. Den hohen Anteil in dieser Gruppe interpretieren wir so, dass v. a. bei der Hirn- und Herzentwicklung zahlreiche Gene eine Rolle spielen und die Interaktion der beteiligten Gene in Abhängigkeit von der Gendosis noch nicht hinreichend bekannt ist. Zu diskutieren ist, ob mit zunehmender Erfahrung sich dieser Anteil reduzieren lässt. Die Bewertung allein in *de novo* als mutmaßlich pathogen und *familiär* als mutmaßlich benigne ist aufgrund der aktuellen Datenlage wahrscheinlich nicht mehr aufrechtzuerhalten [9].

Indikationsgruppen 4–6: Auffällige Zytogenetik

Indikationsgruppe 4: Markerchromosomen *de novo*

Markerchromosomen sind überzählige, kleine, strukturell abnorme Chromosomen (sSMC), die durch konventionelle Bänderungsmethoden nicht identifiziert oder zweifelsfrei charakterisiert werden können. Einige sSMC verursachen einen abnormen Phänotyp, allerdings sind etwa 70% harmlos [7]. Die Entdeckung von Markerchromosomen stellt in der pränatalen Diagnostik eine besondere Herausforderung dar, da aus Zeitgründen eine schnelle Identifizierung sowie Bestimmung des Euchromatinteils notwendig ist. Ein zusätzliches Problem ergibt sich aus dem häufig vorliegenden Mosaikstatus. Der zu erwartende Phänotyp hängt damit nicht nur von der Herkunft und dem Euchromatinteil ab, sondern auch vom Anteil der Zellen mit Markerchromosom in den jeweiligen Geweben.

Die Microarray-CGH Analyse ergab bei 11 von 13 untersuchten Markerchromosomen (84,6%) die Einschätzung als sicher pathogen. Dieser hohe Anteil ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass es sich um Markerchromosomen *de*

medgen 2014 · 26:398–404 DOI 10.1007/s11825-014-0020-4
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

K.R. Held · S. Zahn

Pränataler Array. Indikationen, Bewertung

Zusammenfassung

Wegen des Fehlens stringenter Indikationskriterien hat sich die Microarray-CGH in der Pränataldiagnostik nur schwer etablieren können. Auf der Basis der Ergebnisse von 4626 pränatalen Chromosomenanalysen wurden Kriterien für die Indikationsstellung zur Durchführung der Microarray-CGH in der Pränataldiagnostik festgelegt und 6 Indikationsstellungen definiert. Nach den festgelegten Indikationsstellungen wurden von insgesamt 14.766 pränatal durchgeführten zytogenetischen Untersuchungen 337 (2,3%) mittels Microarray-CGH untersucht. Bei 279 Feten mit strukturellen Auffälligkeiten im Ultraschall betrug der Anteil gesichert pathoge-

ner CNV 7,9% und bei 58 Feten mit auffälligen, nach konventioneller Diagnostik/FISH nicht eindeutigen zytogenetischen Befunden 56,9%. Der mithilfe der Microarray-CGH gefundene Anteil von 16,3% mit klinisch relevanten Imbalancen, welche mittels konventioneller Zytogenetik nicht oder nicht hinreichend diagnostiziert werden konnte, spricht für die Wirksamkeit der festgelegten Indikationsstellungen.

Schlüsselwörter

Microarray-CGH · Pränataldiagnostik · Indikationsstellung

Microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis. Indications and clinical evaluation

Abstract

In the absence of stringent criteria for its indications microarray-CGH has had difficulties to find roots in prenatal diagnostics. Based on the results of 4626 prenatal chromosome analyses, routinely performed in our laboratory, criteria for the indications of microarray-CGH in prenatal diagnostics were developed and 6 different indications for its application defined. According to the 6 indications microarray-CGH was carried out in 337 (2.3%) out of 14,766 prenatal samples. In 279 cases with abnormal ultrasound findings pathogenic CNV were detected in 7.9% and in 58 cas-

es with abnormal karyotype/FISH findings in 56.9%. The fraction of 16.3% clinically significant imbalances detected by means of microarray-CGH, which had not or only insufficiently been diagnosed by conventional karyotyping is indicative of the efficacy of the proposed indications for application of microarray-CGH in prenatal cases.

Keywords

Microarray-CGH · Prenatal diagnosis · Indications criteria

de novo handelte, die über einen auffälligen Ultraschallbefund zur Untersuchung kamen. Das Potenzial der Microarray-CGH bei der Untersuchung von Markerchromosom wurde im Fall einer sonographisch unauffälligen Zwillingsschwangerschaft deutlich, in der bei einem Fetus ein von Chromosom 18 abstammender Marker nach konventioneller und FISH-Diagnostik als sicher pathogen, nach Microarray-CGH-Diagnostik jedoch als wahrscheinlich harmlos mit jeweils im Grenzbereich zwischen kritischer und unkritischer Region für Duplikationen liegenden Bruchpunkten eingestuft wurde. Die Schwangerschaft wurde ausgetragen; die Nachuntersuchung beider Kinder nach einem Jahr ergab für beide eine unauffällige Entwicklung.

Indikationsgruppe 5: balancierte Translokationen *de novo*

Die Inzidenz von Translokationen *de novo* in der pränatalen Diagnostik wurde auf der Basis von 377.357 dokumentierten Fruchtwasseruntersuchungen mit 1/2000 geschätzt [13]. Diese Zahl ist mit der von uns beobachteten Häufigkeit von 10/14.766 pränatalen Diagnosen vereinbar. In der Gruppe der Feten mit einer Translokation *de novo* beträgt die Häufigkeit einer größeren Fehlbildung ca. 6% [13]. In der Literatur werden verschiedene Mechanismen (Disruption von Genen am Ort der Bruchpunkte, Positionseffekte oder submikroskopische DNA-Zugewinne oder -Verluste im Bereich der Bruchpunkte) als Ursache für das erhöhte Fehlbildungsrisiko diskutiert [3, 5].

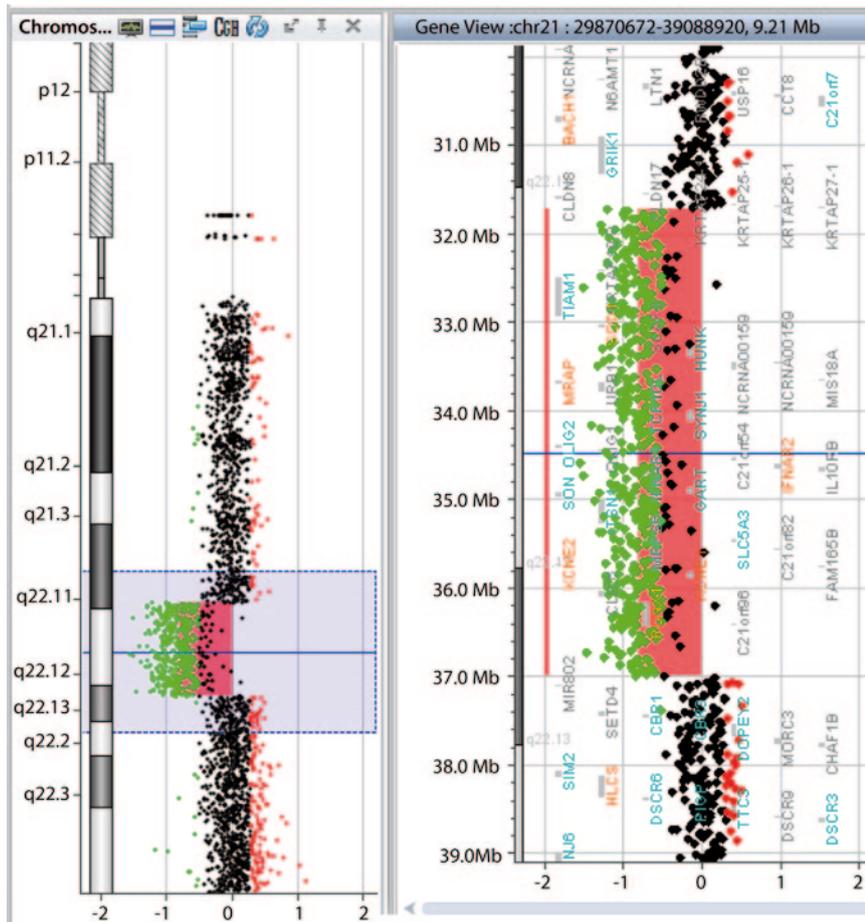


Abb. 1 ▲ Ergebnis der Array-CGH (180K-Oligo Array; Fa. Agilent, Santa Clara, CA 95051, USA) an kultivierten Fruchtwasserzellen nach Punktion in der 22. SSW wegen IUGR (Schätzwert $< 3er$ Perzentile) und ≥ 2 US-Auffälligkeiten beim Fetus (Zystenniere li., „mega cisterna magna“, Foramen ovale oder ASDII, milde Retrognathie, tief ansetzende Ohren, Stirnödem): submikroskopische interstitielle 5,2-Mb-Deletion (dn) in 21q22.11q22.12 (> 30 Gene). Deletionen in 21q22.11q22.12 sind in der Literatur mehrfach beschrieben und u. a. assoziiert mit pränatal auffälliger Wachstumsretardierung, Herzfehler und zerebralen Anomalien. Der auffällige Ultraschallbefund ist durch den Array-CGH-Befund gut erklärbar. *Links* Ideogramm in der Übersicht, *rechts* vergrößerte Darstellung der unbalancierten Chromosomenregion; *Punkte* Array-Sonden, die eine Deletion (*grün*), Duplikation (*rot*) bzw. einen balancierten Zustand (*schwarz*) anzeigen

Einem Verlust oder Zugewinn von Genen kommt v. a. dann mit hoher Wahrscheinlichkeit eine pathogene Bedeutung zu, wenn Gene beteiligt sind, die in einem kausalen Zusammenhang mit der beobachteten Fehlbildung diskutiert werden.

In einer Serie von 14 Pränatalfällen mit de novo balanciert erscheinenden Translokationen wurden keine Imbalancen beobachtet [5]. Dies steht in Übereinstimmung mit den von uns untersuchten 10 De-novo-Fällen, die alle keine Auffälligkeiten im Ultraschall aufwiesen. In einer großen Studie mit 189 pränatal diagnostizierten balanciert erscheinenden Translokationen (familiär oder de novo) fanden sich hingegen in 7,9% submikroskopische

Imbalancen an den an der Translokation beteiligten Chromosomen [9].

Die Daten zur Langzeitentwicklung von Kindern mit einer Translokation de novo sind in der Literatur derzeit noch unbefriedigend [13], sodass v. a. zur Frage psychomentaler Defizite keine sichere Aussage getroffen werden kann. In einer größeren Studie konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einem *chromosomalen Phänotyp* bei einem Zweibruchereignis in etwa 20% eine chromosomale Imbalance an den Bruchstellen vorlag [5]. Eine weitere Studie ergab, dass bei 18% der Fälle mit offenbar balancierten Translokationen de novo komplexe „rearrangements“ (> 3 Bruchpunkte) vor-

lagen [3]. Auch wenn sich diese Daten nicht auf die pränatale Diagnostik übertragen lassen, da die Patienten postnatal nach einem modifizierten De-Vries-Score [5] erfasst worden waren, muss die Möglichkeit einer chromosomalen Imbalance bei De-novo-Translokationen bedacht werden.

Auch wenn bei unauffälligem Ultraschall und balanciert erscheinenden Chromosomentranslokation de novo bei Zweibruchereignissen mehrheitlich von einer günstigen Prognose ausgegangen werden kann, erscheint aufgrund der aktuellen Datenlage eine Überprüfung mithilfe der Microarray-CGH indiziert.

Indikationsgruppe 6: Unklare De-novo-Strukturaberrationen/Varianten

Strukturaberrationen de novo, die nach konventioneller Zytogenetik unbalanciert erscheinen, sind mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einem abnormalen Phänotyp assoziiert. Häufig ist aber die Größe eines deletierten oder die Herkunft und Größe eines duplizierten Segmentes mit konventionellen Methoden nicht zu bestimmen, sodass keine Aussage über den zu erwartenden Phänotyp gemacht werden kann. Bei unauffälligem Ultraschallbefund, aber auch wenn nur diskrete sonographische Auffälligkeiten bestehen, ist es für die Schwangere und ihren Partner unbedingt notwendig, frühzeitig eine möglichst präzise Aussage über die mutmaßliche Prognose zu bekommen. Zu berücksichtigen ist dabei, dass einige Fehlbildungen nur schwer oder, wie z. B. in der Mehrheit aller Fälle von Mikrozephalie, nicht vor der 27. Woche im Ultraschall zu erkennen sind.

In 35 Fällen mit unklaren Strukturaberrationen nach konventioneller/FISH-Diagnostik ergab sich in 22 Fällen (62,9%) ein gesichert pathologischer Befund, in 11 Fällen (31,4%) handelte es sich um balancierte Befunde (meist Inversionen) und in 2 Fällen (5,7%) um Varianten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Anteil der beobachteten gesichert pathogenen chromosomalen Imbalancen in der Indikationsgruppe *auffällige zytogenetische Befunde* (Untergruppe 4–6) mit durchschnittlich 56,9% etwas höher ist als der in einer prospektiven Stu-

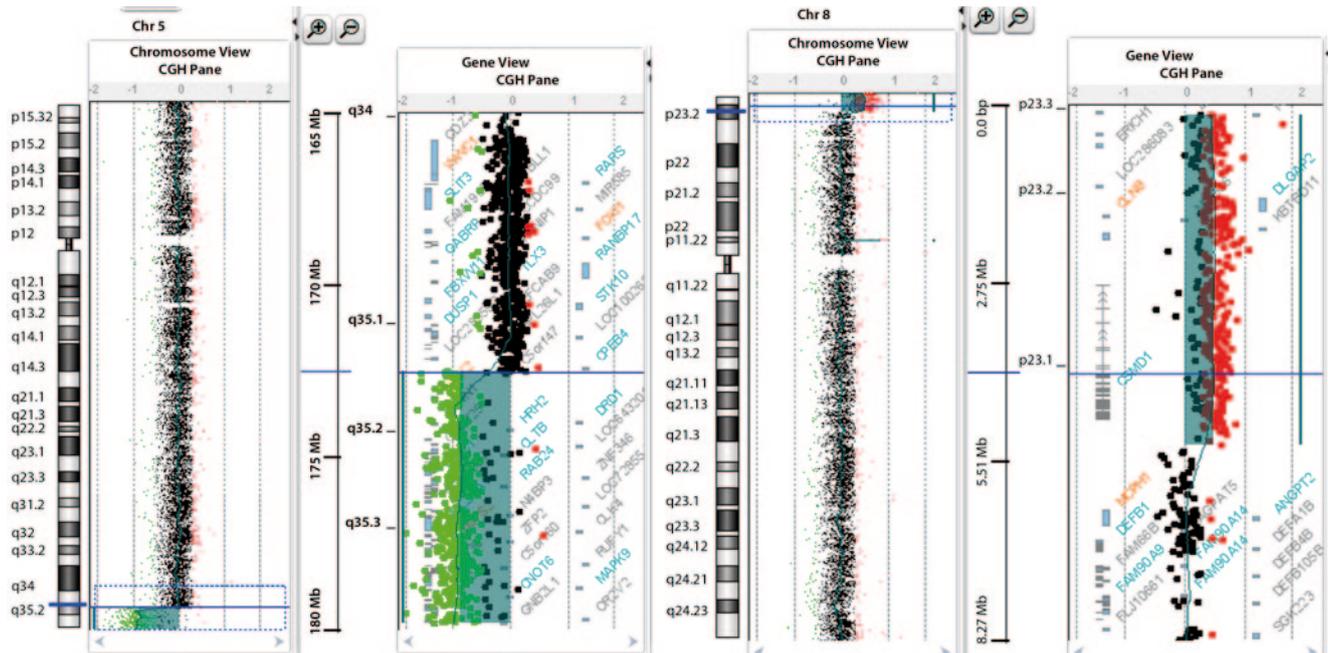


Abb. 2 ▲ Ergebnis der Array-CGH (180K-Oligo Array, Agilent, Santa Clara, CA 95051, USA) an kultivierten Fruchtwasserzellen nach Punktion in der 16. SSW wegen extremer isolierter IUGR (Schätzwert < 3 er Perzentile) beim Fetus: submikroskopische 7,3-Mb-Deletion in 5q35.2q35.3 (> 40 Gene) und 5,1-Mb-Duplikation in 8p23.3p23.2 (13 Gene) als Folge einer unbalancierten Segregation einer zuvor unbekannt familiären Translokation. Die frühe Wachstumsretardierung ist durch die genomische Imbalance zahlreicher dosissensitiver Gene gut erklärbar. *Links* Ideogramm in der Übersicht, *rechts* vergrößerte Darstellung der unbalancierten Chromosomenregion; *Punkte* Array-Sonden, die eine Deletion (*grün*), Duplikation (*rot*) bzw. einen balancierten Zustand (*schwarz*) anzeigen

die mit in etwa vergleichbarem Kollektiv beschriebene Anteil von 42,6% [2].

Werden die Indikationsgruppen 1–6 zusammengefasst, ergibt sich ein Anteil von 16,3% mit klinisch relevanten Imbalancen, die mithilfe der konventionellen Zytogenetik nicht oder nicht hinreichend diagnostiziert werden konnten. Dieser hohe Anteil der detektierten Imbalancen spricht für die Wirksamkeit der gewählten Indikationskriterien.

Soziale, ethische und rechtliche Aspekte

Vor allem Bedenken der Interpretierbarkeit der Ergebnisse und die Möglichkeit der Erkennung von pathogenen Befunden, die nicht im Zusammenhang mit der Fragestellung stehen, waren der Grund dafür, dass sich die Microarray-CGH nur schwer in der Pränataldiagnostik etablieren konnte. Ein weiterer Grund waren die relativ hohen Investitions- und Verbrauchskosten. Allein letzterer Grund spricht auch jetzt noch gegen die Einführung der Microarray-CGH als First-tier-Diagnostik. Zur schnellen molekularen

Diagnostik der häufigsten Chromosomenaberrationen hat sich als First-tier-Diagnostik der sog. Schnelltest etabliert. Die QF-PCR als rasche und außerordentlich kostengünstige Technik detektiert in Abhängigkeit von der Fragestellung 60–85% aller mit konventioneller Zytogenetik zu erkennenden chromosomalen Imbalancen und erlaubt gleichzeitig auch eine Aussage hinsichtlich einer maternalen Kontamination der fetalen Zellen [6]. Sie ist aus diesen Gründen in unserem Labor allen anderen Untersuchungen stets vorangestellt.

Beschränkt man die Microarray-CGH-Untersuchung auf diejenigen Fälle, die den genannten Indikationskriterien entsprechen, betrifft dies etwa 2–3% aller pränatalen Proben. Der potenzielle Nachteil einer Entdeckung von CNV mit unklarer Bedeutung wird unseres Erachtens in dieser Situation bei Weitem durch die Vorteile aufgewogen, unbalancierte Chromosomenaberrationen mit hoher Sicherheit auch im submikroskopischen Bereich zu erkennen, auch ohne zuvor eine zweitaufwendige Zellkultur durchführen zu müssen.

Wesentlich schwerwiegender zu bewerten sind pathogene Befunde, die nicht im Zusammenhang mit der Fragestellung stehen und Auswirkungen auf die Gesundheit der Schwangeren oder ihres Partners haben könnten. Neben den psychologischen Auswirkungen müssen hier auch Gendiagnostikgesetz und Bundesdatenschutzgesetz berücksichtigt werden. Bei den 337 durchgeführten pränatalen Microarray-CGH-Untersuchungen haben wir einmal eine Duplikation im *DMD*-Gen und einmal eine Deletion im *COL4A1*-Gen beobachtet. Entsprechend der S2-Leitlinie [4] halten auch wir es deshalb für unumgänglich, dass vor der Diagnostik mit der Schwangeren und ihrem Partner geklärt wird, welche Befunde ihnen mitgeteilt werden sollen und welche nicht. Im Regelfall sollte man sich darauf einigen, dass nur eindeutige Befunde mitgeteilt werden, die in einem klaren Bezug zur Fragestellung stehen. Befunde, die Auswirkungen auf den Gesundheitszustand der Schwangeren, ihres Partners oder Kinder des Paares haben könnten, sollten in einer gesonderten Beratung besprochen werden, wobei vor Beginn der

Beratung geklärt sein sollte, über welche Art von Befunden (z. B. erhöhtes Risiko für spätmanifeste dominante Erkrankungen bei einem der beiden Partner, geschlechtsgebunden rezessive Erkrankung bei Kindern) eine Aufklärung gewünscht wird.

Ein zusätzliches Problem ergibt sich aus der neueren Rechtsprechung. Aus der Neufassung des Patientenrechtegesetzes (§ 630 h BGB) resultiert eine Verpflichtung für den behandelnden Arzt, über alle auf den Krankheitsfall bezogenen relevanten therapeutischen oder diagnostischen Verfahren aufzuklären, unabhängig davon, ob es sich hierbei um ein Verfahren handelt, das durch die gesetzlichen Krankenkassen abgedeckt ist. So liegt ein grober Behandlungsfehler auch dann vor, „wenn es der Behandelnde unterlassen hat, einen medizinisch gebotenen Befund rechtzeitig zu erheben oder zu sichern, soweit der Befund mit hinreichender Wahrscheinlichkeit ein Ergebnis erbracht hätte, das Anlass zu weiteren Maßnahmen gegeben hätte, und wenn das Unterlassen solcher Maßnahmen grob fehlerhaft gewesen wäre“ (§ 630h Abs. 5 BGB, *Bundesgesetzblatt* 2013 Teil I Nr. 9).

So fragte in einem anhängigen Gerichtsverfahren der Richter „Was hätte man sehen können, sollen, müssen?“ und verlangte eine Erklärung dazu, warum in dem gegebenen Fall bei einem Fetus mit einer Fehlbildung eine Microarray-CGH zur Aufklärung der bestehenden und mit konventionellen Methoden nur schwer erkennbaren interstitiellen Deletion nicht angeboten worden sei. Entsprechendes würde sicher gefragt werden, wenn postnatal eine im Rahmen der Pränataldiagnostik als balanciert eingestufte Chromosomentranslokation de novo sich als unbalanciert oder als ein komplexes Rearrangement erweist.

In der internationalen Literatur wird die Microarray-CGH auch zunehmend als First-tier-Diagnostik bei Altersrisiko empfohlen [1, 9, 12]. Der Anteil gesichert pathologischer CNV liegt in zwei größeren Studien zwischen 0,3% und 0,5%. Der Anteil potenziell pathogener CNV wird mit 2,3% und 1,3% angegeben [9, 12]. Jenseits der enormen Kostensteigerung ist zu berücksichtigen, dass der Anteil der Fälle mit gesichert pathologischen CNV deut-

Hier steht eine Anzeige.



lich geringer ist als der Anteil der Fälle mit unklaren CNV, sodass der klinische Benefit zweifelhaft erscheint. Darüber hinaus müsste in diesen Fällen die Aufklärung unter Berücksichtigung des GenDG wesentlich umfangreicher erfolgen, da keine spezifische Indikationsstellung für die Durchführung der Microarray-CGH vorliegt.

Wir denken, dass mit den angegebenen Indikationsstellungen zur Durchführung einer Microarray-CGH in der Pränataldiagnostik ein vernünftiger Kompromiss zwischen dem Angebot der Microarray-CGH als First-tier-Diagnostik und dem gänzlichen Verzicht auf diese Diagnostik gefunden wurde, der die verschiedenen medizinischen, sozialen, ethischen und juristischen Aspekte ausreichend berücksichtigt.

Fazit für die Praxis

- Die Microarray-CGH erkennt auch in der Pränataldiagnostik (ohne eine obligate Anzüchtung fetaler Zellen) mit hoher Sicherheit Veränderungen in der Kopienzahl weit unterhalb des Auflösungsvermögens der konventionellen Chromosomenanalyse.
- Wegen der Möglichkeit, bei der Diagnostik CNV unklarer Bedeutung zu detektieren, sollte die Methode nicht als First-tier-Diagnostik, sondern nur nach strenger Indikationsstellung angewendet werden.
- Voraussetzungen für die Durchführung einer pränatalen Microarray-Diagnostik sind eine enge Abstimmung zwischen anforderndem Arzt und durchführendem Labor, das Vorliegen des Ultraschallbefundes und Kenntnisse des Humangenetiklers, diesen zu interpretieren.
- Vor Durchführung einer pränatalen Microarray-CGH-Untersuchung muss mit der Schwangeren und ihrem Partner unter Berücksichtigung des GenDG der Umfang der Untersuchung und der Befundmitteilung sowie der Umgang mit Zusatzbefunden geklärt und schriftlich dokumentiert werden. Im Regelfall sollten nach GenDG nur CNV mitgeteilt werden, die in einem direkten Zusammenhang mit der Indikationsstellung stehen.

- Nach unserer Erfahrung besteht bei Anwendung der von uns gewählten Indikationsstellungen eine hohe Wahrscheinlichkeit, genomische Imbalancen zu detektieren.
- Durch die von uns vorgeschlagenen Indikationsstellungen lässt sich die Anzahl der pränatal durchzuführenden Microarray-CGH-Untersuchungen auf ein den medizinischen und rechtlichen Anforderungen genügendes, wirtschaftlich vertretbares Maß begrenzen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. K.R. Held
MVZ genteQ GmbH
Labor für Humangenetik
Falkenried 88, 20251 Hamburg
held@genteq.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist für sich und seine Koautorin auf folgende Beziehungen hin: Die Autoren sind Angestellte der MVZ genteQ GmbH, Labor für Humangenetik, amedes genetics.

Alle beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden nach individueller Indikationsstellung im Rahmen einer Heilbehandlung im Einklang mit nationalem Recht (Gendiagnostikgesetz, Gesetz zur Verbesserung der Rechte von Patientinnen und Patienten 2013) sowie gemäß der Deklaration von Helsinki (2013) durchgeführt. Von allen beteiligten Patientinnen liegt eine schriftliche Einverständniserklärung vor.

Literatur

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Opinion No. 581. (2013) The use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol* 122:1374–1377
2. Breman A, Pursley AN, Hixson P, Bi W, Ward P, Bacio CA, Shaw C, Lupski JR, Beaudet A, Patel A, Cheung SW, Van den Veyver I (2012) Prenatal chromosomal microarray analysis in a diagnostic laboratory: experience with > 1000 cases and review of the literature. *Prenat Diagn* 32(4):351–361
3. De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimmelli S, Messa J, Novara F, Vetro A, Rossi E, Marschilio P, Bonaglia MC, Anichini C, Ferrero GB, Silengo M, Fazzi E, Zatterale A, Fischetto R, Previderé C, Belli S, Turci A, Calabrese G, Bernardi F, Meneghelli E, Riegel M, Rocchi M, Gueneri S, Lalatta F, Zelante L, Romano C, Fichera M, Mattina T, Arrigo G, Zollino M, Giglio S, Lonardo F, Bonfante A, Ferlini A, Cifuentes F, Van Esch H, Backx L, Schinzel A, Vermeesch JR (2007) Cryptic deletions are a common finding in „balanced“ reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet* 44:750–762

4. Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V. (GfH) Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH) (2011) S2-Leitlinie Humangenetische Diagnostik und genetische Beratung. *medgen* 23:281–323
5. Feenstra I, Hanemaaijer N, Sikkema-Raddatz B, Yntema H, Dijkhuizen T, Lugtenberg D, Verheij J, Green A, Hordijk R, Reardon W, Vries Bd, Brunner H, Bongers E, Leeuw Nd, van Ravenswaaij-Arts C (2011) Balanced into array: genome-wide array analysis in 54 patients with an apparently balanced de novo chromosome rearrangement and a meta-analysis. *Eur J Hum Genet* 19(11):1152–1160
6. Held KR, Kähler C, Kerber S, Auber B (2012) Der Stellenwert der „array comparative genomic hybridization“ in der Pränataldiagnostik. *medgen* 24:108–113
7. Liehr T, Ewers E, Kosyakova N, Klaschka V, Rietz F, Wagner R, Weise A (2009) Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 9(4):317–324
8. Rauch A (2008) Molekulare Karyotypisierung in der klinischen Diagnostik. *medgen* 20:386–394
9. Shaffer LG, Dabell MP, Fisher AJ, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW, Ravnani JB, Torchia BS, Ballif BC, Rosenfeld JA (2012) Experience with microarray-based comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis in over 5000 pregnancies. *Prenat Diagn* 32(10):976–985
10. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW et al (2012) Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn* 32:986–995
11. Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, Nash R, Lees C, Whittaker J, Simonic I (2009) High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings. *J Med Genet* 46(8):531–541
12. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L (2012) Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 367(23):2175–2184
13. Warburton D (1991) De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *Am J Hum Genet* 49(5):995–1013