

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktorin: Prof. Dr. med. Tanja Fehm

**Isolierter intrakardialer echogener Herzfokus:
Beurteilung der Assoziation mit Trisomie 21 durch
Kombination von Ergebnissen aus einem Pränatalzentrum mit
einer Bayes'schen Metaanalyse.**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Elisabeth Wrede

2020

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Peter Kozlowski

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Frank Pillekamp

Für

meine Eltern

Marcus und Paula

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Wrede E, Knippel AJ, Verde PE, Hammer R, Kozlowski P. Isolated Echogenic Cardiac Focus: Assessing Association with Trisomy 21 by Combining Results from a Prenatal Center with a Bayesian Meta-Analysis.

Ultrasound Int Open.2020;6:1-8. DOI <https://doi.org/10.1055/a-1118-3974>

Zusammenfassung:

Die vorgestellte Studie untersucht die klinische Relevanz eines isolierten echogenen Herzfokus (iECF) im fetalen Herzen als sonographischer Marker für Trisomie 21 unter Verwendung eines großen Zweittrimester-Kollektivs. ECF sind definiert als kleine Kalzifikationen neben den Papillarmuskeln des Herzens mit einer Echogenität gleich oder intensiver als die der Knochen. Konsens vergangener Studien ist ein erhöhtes Risiko bei Nachweis des ECF mit anderen Markern, hier sollte ein diagnostisches Verfahren z.B. über eine Amniozentese empfohlen werden. Uneinigkeit besteht bei Auftreten eines isolierten ECF. Im Hochrisikokollektiv zeigen viele Studien eine deutliche Assoziation des ECF mit Trisomie 21, im Niedrigrisikokollektiv fehlt vielen Studien die statistische Power um einen Zusammenhang herzustellen. Die Fragestellungen unserer Arbeit lauten: 1. Wird die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens eines iECF in dem Kollektiv „Trisomie 21“ verglichen mit dem Kollektiv „euploid“ derart vergrößert, dass sie in die pränatalmedizinische Beratung mit einfließen muss? 2. Wird das Risiko auch im Niedrigrisikokollektiv verändert, insbesondere vor dem Aspekt der geringen Prävalenz der Erkrankung in dieser Gruppe? 3. Unterscheidet sich das Kollektiv isolierter ECF in eventuellen weiteren Merkmalen von dem euploiden Kollektiv? Existieren weitere genetische Veränderungen wie z.B. Strukturanomalien, die zum derzeitigen Kenntnisstand anzeigen würden, dass in Zeiten moderner Optionen wie z.B. ein nicht invasiver zellfreier DNA Test (NIPT) zur Diagnosesicherung eines Down- Syndroms nicht ausreicht? Wir haben 125.211 Schwangerschaften (SS) im Zeitraum 2000–2016 retrospektiv untersucht und alle iECF-Fälle im Hinblick auf chromosomale Anomalien analysiert. Das Studienkollektiv besteht aus einem frühen Zweittrimester-Kollektiv von 14^{+0} – 17^{+6} SSW und einem späten Zweittrimester-Kollektiv von 18^{+0} – 21^{+6} SSW. Zwei a priori Risikosubgruppen (hohes und niedriges Risiko) des Letzteren wurden basierend auf dem Alter der Mutter und früheren Screening-Testergebnissen mit einem *Cut-off* von 1:300 gebildet. *Likelihood ratios* (LR) für den Zusammenhang zwischen iECF und Trisomie 21, Trisomie 13, Trisomie 18 und strukturellen Chromosomenanomalien wurden ermittelt. Insgesamt haben wir 104.001 Patienten in die Studie eingeschlossen. Im Gesamtkollektiv fanden wir iECF in 4,3% der euploiden und in 11,5% der Trisomie 21 Feten. (LR+: 2,68. Sensitivität: 11,5% FPR: 4,29% $p < 0,01$) Im Hoch,- und Niedrigrisikokollektiv war eine Häufigkeit der Trisomie 21 von 0,39% respektive 0,16% zu verzeichnen. (LR+: 3,86 resp. 2,59). Der Nachweis eines iECF zum Zeitpunkt 14^{+0} - 21^{+6} SSW erhöht das Risiko für Trisomie 21 sowohl im Hochrisiko-, als auch im Niedrigrisikokollektiv signifikant. Für Strukturanomalien fand sich keine Assoziation mit dem ECF. Der NIPT-Test ist eine ausreichende Option für Fälle mit mittlerem Risiko für das Down-Syndrom. In Hochrisikokonstellationen ist eine diagnostische Punktion unserer Auffassung nach, die bessere Option. In der täglichen Praxis wird die genetische Beratung durch die zunehmend verfeinerten Ultraschalltechniken sowie differenziertere Screening-Möglichkeiten und diagnostische Verfahren immer komplexer. Um eine bestmögliche individuelle Entscheidung für die Patientin und ihr soziales Umfeld zu ermöglichen, bedarf es einer umfassenden Beratung unter Berücksichtigung aller möglichen Alternativen.

Summary:

The presented study investigates the clinical relevance of an isolated echogenic cardiac focus (iECF) in the fetal heart as a marker for trisomy 21 using a large second trimester collective. ECF are defined as small structures next to the papillary muscles with an echogenicity equal or more intensive than the echogenicity of bones. The majority of previous studies demonstrate a statistically significant association between the presence of an isolated ECF and trisomy 21 in high risk population as advanced maternal age or increased risk of previous screening. Controversy remains concerning the low risk population. The objectives of our study were to clarify three questions. First: Does the detection of an iECF with an otherwise completely normal ultrasound scan change patients individualised risk for Trisomy 21 to such an extent, that this finding must be included in the prenatal counselling? Second: Does an iECF increase the risk for trisomy 21 in the low risk group regarding the low prevalence of this disease? In times of modern options to assess fetal karyotype like cell free DNA analysis the last question was to find out if the echogenic focus is only associated with trisomy 21 or if there is a statistically relevant risk on other chromosomal abnormalities that would indicate that a cell-free DNA test (NIPT) is not sufficient for clarification of the iECF. We retrospectively evaluated 125,211 pregnancies from 2000–2016 and analysed all iECF cases with regard to chromosomal anomalies. The study consisted an early second trimester collective from 14⁺⁰–17⁺⁶ weeks and a second trimester anomaly scan collective from 18⁺⁰–21⁺⁶ weeks. Two a priori risk subgroups (high and low risk) of the latter were built based on maternal age and previous screening test results using a cut-off of 1:300. Likelihood ratios (LR) of iECF for the detection of trisomy 21, trisomy 13, trisomy 18 and structural chromosomal anomalies were estimated. In total, 104,001 patients were included. An iECF was found in 4,416 of 102,847 euploid fetuses (4,29%) and in 64 of 557 cases with trisomy 21 (11.49%) giving a positive LR of 2.68 (CI:2.12–3.2). Sensitivity was 11.5% at a false positive rate of 4.29% (CI:4.17–4.42) with $p \leq 0.01\%$. In the high- and low-risk subgroups the prevalence of iECF was comparable: 5,08% vs. 5,05%. Frequency of trisomy 21 was 0.39%, 98/24,979 vs 0.16%, 69/44,103. LR+ was 3.86 (2.43-5.14) and 2.59 (1.05–4). For both subgroups the association of iECF with trisomy 21 was statistically significant. The detection of an iECF at the time of 14⁺⁰–21⁺⁶ weeks does significantly increase the risk for trisomy 21 as well in the high risk as in the low risk subgroups and does not statistically change the risks for Trisomy 13/18 or structural abnormalities. The NIPT test is a sufficient option in cases of intermediate risk for Down Syndrome when an iECF is detected. In high risk constellations, in our opinion, an invasive testing is the better option. In daily practice, the genetic counselling becomes more and more complex due to the increasingly refined ultrasound techniques as well as the more differentiated options of screening and diagnostic. The individually optimised decision for the patient and her environment means a partly extensive counselling while taking into consideration all possible alternatives.

Abkürzungsverzeichnis

ASS	Acetylsalicylsäure
bzw	beziehungsweise
β -hCG	Humanes β-Choriongonadotropin
cf-DNA	Cell-Free Desoxyribonucleinsäure
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ECF	echogenic cardiac focus
ETS	Ersttrimesterscreening
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FPR	Falsch-Positiv-Rate
i-ECF	isolated echogenic cardiac focus
KI	Konfidenzintervall
LR	likelihood ratio
NIPT	nicht-invasiver Pränataltest
NT	Nackentransparenz
PAPP – A	pregnancy-associated plasmaprotein A
PIGF	placental growth factor
Resp.	respektive
SS	Schwangerschaften
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
SSW	Schwangerschaftswoche

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Vorsorgeuntersuchung in Deutschland	1
1.2 Mutterschaftsrichtlinien	1
1.3 Konzept der DEGUM	2
1.4 Pränataldiagnostik.....	3
1.4.1 Ersttrimesterscreening (ETS)	4
1.4.2 Sonographische Feindiagnostik.....	5
1.4.3 Nicht invasiver Pränataltest (NIPT).....	6
1.5 Bedeutung sonographischer Marker im pränatalen Ultraschall.....	7
1.6 Der fetale intrakardiale echogene Herzfokus (ECF).....	8
1.7 Epidemiologie Chromosomenstörungen	9
1.7.1 Trisomie 21.....	9
1.7.2 Trisomie 13 und Trisomie 18.....	11
1.7.3 Strukturanomalien	12
1.8 Ziele der Arbeit.....	12
2. Publierte Originalarbeit:	14
3. Diskussion	15
3.1. Der isolierte intrakardiale echogene Herzfokus und das Screening auf Trisomie 21	16
3.2 Der isolierte intrakardiale echogene Herzfokus und das Screening auf Trisomie 13, 18 und Strukturanomalien	20
3.3 Diagnostische Möglichkeiten nach Detektion eines iECF	21
3.4 Limitationen der Arbeit	22
3.5 Stärken der Arbeit	23
3.6 Schlussfolgerungen.....	24
4. Literatur- und Quellenverzeichnis	25
5. Danksagung	31

1. Einleitung

1.1 Vorsorgeuntersuchung in Deutschland

In Deutschland existiert seit 50 Jahren ein standardisiertes Programm zur optimalen Betreuung von Schwangerschaft, Geburt und Wochenbett, welches in den gesetzlich geregelten Mutterschaftsrichtlinien verankert ist. Zur Vorsorge gehören eine gezielte Anamnese, sowie klinische, sonographische und labormedizinische Untersuchungen um präventiv belastete oder risikobehaftete Schwangerschaften frühzeitig zu erkennen. Weiterführende Untersuchungen, zu denen auch die genetische Risikoabklärung gehört, werden ebenfalls in der Schwangerenvorsorge aufgeführt. Die erhobenen Befunde werden im standardisierten Mutterpass dokumentiert, den die Schwangere mit sich führt.¹

1.2. Mutterschaftsrichtlinien

Der Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) hat Richtlinien über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“) verabschiedet, die zuletzt am 22.03.2019 geändert wurden um am 28.05.2019 in Kraft getreten sind.² Die medizinische Versorgung während der Schwangerschaft und nach der Geburt wird in den Mutterschaftsrichtlinien geregelt, die dazu dienen Schwangerschaften mit einem oder mehreren Risikoprofilen sowie Risikogeburten frühzeitig zu erkennen. Die Mutterschaftsrichtlinien regeln insbesondere die ärztlichen Beratungs- und Informationspflichten gegenüber werdenden Eltern und den Umfang der gesetzlich vorgeschriebenen Vorsorgeuntersuchungen.² Neben regelmäßigen gynäkologischen und serologischen Untersuchungen werden nach der Neufassung der Mutterschaftsrichtlinien von 2019 für die Standardversorgung drei Basisultraschalluntersuchungen durchgeführt. Ziele der drei Basisultraschalle sind die genaue Festlegung des Schwangerschaftsalters, die Beurteilung der physischen Entwicklung des Feten und das frühzeitige Erkennen

von Mehrlingsschwangerschaften. Untersuchungsrelevant sind weiterhin die Fruchtwassermenge, das Aussehen und die Lokalisation der Plazenta. Spätestens anlässlich des 2. Ultraschalls in der 20. SSW muss die Schwangere dann entscheiden, ob sie einen „erweiterten Ultraschall“ mit Beurteilung zusätzlich detaillierter Strukturen im Kopf (Kleinhirn und Seitenventrikel), Rücken (offen oder geschlossen), Brustkorb (korrekte Lage des Herzens, Darstellung des Vierkammerblickes) und Rumpf (geschlossene Bauchdecke, Darstellung von Harnblase und Magen) wünscht, oder ob sie nur eine grobe Beobachtung der kindlichen Entwicklung ohne Untersuchung der fetalen Morphologie möchte.

1.3 Konzept der DEGUM

Um Fehlbildungen in der fetalen Ultraschalluntersuchung korrekt darzustellen und zu interpretieren, ist eine Qualifikation des Untersuchers von zentraler Bedeutung. In vielen Studien zur vorgeburtlichen Ultraschalldiagnostik wurde bereits darauf hingewiesen.^{3,4,5} Um das Ziel einer flächendeckenden Versorgung mit qualifizierten Ultraschalluntersuchern zu erreichen, hat die Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM) ein Mehrstufenkonzept erarbeitet, welches entsprechend einer Leitlinie Mindestanforderungen mit entsprechenden Qualifikationen an die jeweiligen Untersucher stellt. In allen Sektionen und Arbeitskreisen können gut ausgebildete Ultraschallanwender zum Nachweis ihrer Qualifikation ein DEGUM-Zertifikat erwerben:

- Stufe I: Basisultraschall: normale Anatomie des Feten
- Stufe II: weiterführende US-diagnostik in Risikokollektiven
- Stufe III: wie Stufe II mit Qualifikation in Forschung und Lehre.

Entsprechende Informationen zu allen DEGUM-zertifizierten Kursen stellt die Ultraschall-Akademie der DEGUM in Ihrem Kursportal zur Verfügung.⁶

1.4 Pränataldiagnostik

Unter dem Begriff Pränataldiagnostik werden unterschiedliche vorgeburtliche Untersuchungsmethoden zusammengefasst, die den Zweck haben Fehlbildungen oder genetische Erkrankungen des Ungeborenen bereits während der Schwangerschaft weitestgehend auszuschließen bzw. festzustellen. Für die genetischen Erkrankungen unterscheidet man zwischen diagnostischen Punktionen und Screeningverfahren. Im Gegensatz zu den Screeningverfahren haben die diagnostischen Punktionen ein geringes Fehlgeburtsrisiko von ca. 0,1–0,35 %.^{7,8} Allerdings liefern nur die diagnostischen Punktionen eine definitive Diagnose. Bei den Screeningtests wird durch verschiedene sonographische Parameter und Blutwerte ein Risiko für Chromosomenstörungen ermittelt, welches zu einer Modifikation des mütterlichen altersbedingten Risikos führt. Eine Chromosomenanomalie kann hierdurch allerdings nicht ausgeschlossen werden.

Zu den diagnostischen Tests gehören:

- Chorionzottenbiopsie (CVS= chorionic villus sampling) ab der 11⁺⁰ SSW
- Amniozentese (AC) ab der 15⁺⁰ SSW
- Chordozentese (Nabelschnurpunktion) ab der 17⁺⁰ SSW

Zu den Screeningtests gehören:

- Kombiniertes Ersttrimesterscreening (11⁺⁰–13⁺⁶ SSW)
- Differenzierter Fehlbildungsschall (19⁺⁰–21⁺⁶ SSW)
- NIPT („nicht invasiver Test an zellfreier plazentarer DNA“)
(möglich ab 10. SSW)

Die Zahl der Risikoschwangerschaften in Deutschland ist in den letzten Jahren gestiegen.⁹ Eine Risikoschwangerschaft liegt dann vor, wenn aufgrund der Krankenvorgeschichte oder eines aktuellen Befundes ein erhöhtes Risiko für die Gesundheit von Mutter oder Kind vorliegt. Zu den Risikofaktoren gehören: schwere Allgemeinerkrankung, Erstgebärende unter 18 Jahren und über 35 Jahren, vorbestehende Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Bluthochdruck und Adipositas, familiäre Disposition einer genetischen Erkrankung oder

Mehrlingsschwangerschaften. Einer der Hauptgründe für die Zunahme an Risikoschwangerschaften ist das erhöhte durchschnittliche mütterliche Alter bei der Geburt des ersten Kindes, welches noch von 1974-2001 zwischen 25-29 Jahren lag. Heutzutage liegt das durchschnittliche Alter einer Erstgebärenden zwischen 30 und 34 Jahren.¹⁰ Allgemein bekannt ist, dass mit zunehmendem maternalen Alter das Risiko für die Trisomien 13,18 und 21 ansteigt.^{11,12} Das Risiko, ein Kind mit Down-Syndrom zu bekommen, beträgt 1:1.300 für eine 25-jährige Frau; im Alter von 35 Jahren steigt das Risiko auf 1:365.¹³ Infolge des zunehmenden mütterlichen Alters bei den Schwangerschaften und der genannten medizinischen Faktoren gewinnen nicht invasive Verfahren (Ersttrimesterscreening, sonographische Feindiagnostik, Trisomie Screening an zellfreier plazentarer DNA) zunehmend an Bedeutung.

1.4.1 Ersttrimesterscreening (ETS)

Beim ETS zwischen der 11⁺⁰ bis 13⁺⁶ SSW wird eine Risikokalkulation für die Trisomien 21, 13 und 18 anhand der fetalen Nackentransparenz und verschiedener biochemischer Parameter (beta-HCG und PAPP-A) durchgeführt. Hierdurch kann das Altersrisiko für jede Patientin individuell modifiziert werden.¹⁴ Das ETS erzielt für die Trisomie 21 eine Entdeckungsrate von 90% bei einer FPR von 5%.¹⁵ Unter Einbeziehung weiterer Ultraschallparameter wie der Messung des Nasenbeins, Dopplerfluss über der Trikuspidalklappe und im Ductus Venosus kann das individuelle Risiko für die Trisomie 21 mit Detektionsraten bis zu 95% weiter präzisiert werden.¹⁶

Das Ergebnis des ETS dient den meisten Paaren als Entscheidungshilfe für eventuelle weitere invasive oder nicht invasive Diagnostik. Werte zwischen 1:10 bis 1:100 werden als Hochrisikobereich definiert und weisen auf genetische oder strukturelle Chromosomenanomalien hin. Bedingt entweder durch eine erhöhte Nackentransparenz und/oder auffällige biochemische Parameter sollten solche Befunde durch eine nachfolgende diagnostische Punktion weiter abgeklärt werden. Der Niedrigrisikobereich entspricht Werten kleiner 1:1.000, Werte zwischen 1:100 und 1:1.000 werden als intermediärer Risikobereich bezeichnet.

Von der Definition dieser Risikobereiche hängt die „*Performance*“ eines Test ab, der zur Hilfestellung bei der individuellen Beratung der Patientin dienen soll. Durch Einschluss uteriner Dopplerparameter und Bestimmung von PIGF kann ein Risiko für die Präeklampsie und Wachstumsrestriktionen bestimmt und der weitere Schwangerschaftsverlauf mittels Gabe von ASS positiv beeinflusst werden.¹⁷ Bei unauffällig verlaufenden Schwangerschaften gehört das ETS nicht zu den regulär gesetzlichen Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchungen. Die Kosten für diese Untersuchungen tragen die Eltern selbst.

1.4.2 Sonographische Feindiagnostik

Auch die sonographische Feindiagnostik gehört nicht zu den drei Basisultraschallen und ist im Allgemeinen deutlich ausführlicher als der durch die Mutterschaftsrichtlinien in diesem Zeitraum vorgeschriebene Ultraschall. Die Feindiagnostik wird in der 19⁺⁰–22⁺⁰ SSW durchgeführt. In diesem Zeitraum ist eine Beurteilbarkeit der fetalen Strukturen optimal, da alle wichtigen Organe (bis auf das Gehirn) groß genug und somit gut darstellbar sind.¹⁸ Es erfolgt, durch einen hierfür qualifizierten und erfahrenen Untersucher, eine detaillierte Untersuchung aller Organsysteme des Feten, eine Beurteilung der Plazentalage und -struktur, sowie eine Beurteilung der Fruchtwassermenge. Weiterhin können durch eine Doppleruntersuchung den Fetus versorgende mütterliche Gefäße auf Auffälligkeiten überprüft werden. Hierdurch können Entwicklungsstörungen einzelner Organsysteme, fetale anatomische Besonderheiten oder eine Plazentafehlfunktion ausgeschlossen oder nachgewiesen werden. Ein weiterer Arm des Feinultraschalles im 2. Trimenon ist ein sogenanntes „Markerscreening“ auf Chromosomenstörungen, insbesondere auf Trisomie 21. Hierbei kann das Basisrisiko für die Trisomie 21 entweder durch das mütterliche Alter oder sequentiell durch das zuvor berechnete Risiko des Ersttrimesterscreening modifiziert werden.^{19,20,21}

1.4.3 Nicht invasiver Pränataltest (NIPT)

Unter der Bezeichnung „nicht invasiver Pränataltest“ werden seit 2012 in Deutschland mehrere, auf gemeinsamen Grundprinzipien beruhende Tests angeboten, mit denen Ungeborene auf chromosomale Veränderungen hin untersucht werden können. Bei dieser nicht-invasiven Diagnostik wird zellfreie DNA (cf-DNA) im mütterlichen Blut untersucht. Die cf-DNA stammt jedoch nicht direkt von dem Feten, sondern aus der Plazenta, die sich aus der äußeren Zellschicht der Fetalanlage, dem sogenannten Trophoblasten, bildet.²² Der Nachweis der cf-DNA kann ungefähr ab der vierten Schwangerschaftswoche im mütterlichen Blut erfolgen. Die im Plasma befindlichen DNA-Fragmente werden isoliert, gereinigt und angereichert. Anschließend erfolgt ein gezielter Vergleich der Mengen an plazentarer und maternaler DNA der Chromosomen 13, 18 und 21 mit einem Referenzgenom. Liegt zum Beispiel eine größere Anzahl der DNA-Fragmente des Chromosoms 21 vor, besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit für ein Down-Syndrom.²³

Die meisten NIPT Verfahren können auf die Trisomien 21, 13 und 18, auf gonosomale Störungen und auf Triploidien testen, wobei die größte Entdeckungsrate von 99,7% für die Trisomie 21 bei einer FPR von 0,04 zu verzeichnen ist. Die Entdeckungsraten für die Trisomie 18 und 13 liegen mit 97,9 % respektive 95,8%, bei einer FPR von 0,04 % deutlich niedriger.²⁴

Der NIPT wird heute noch nicht in der Routine des klinischen Alltags angewendet. Trotz der hohen Entdeckungsrate für die Trisomie 21 ist hervorzuheben, dass der NIPT nicht als diagnostisches Verfahren, sondern als Screeningtest, ebenso wie auch das ETS, anzusehen ist. Mit dem ETS kann neben dem Screening auf Chromosomenstörungen auch eine Reihe weiterer schwangerschaftsassoziierter Erkrankungen festgestellt werden, sodass eine kombinierte Anwendung aus ETS und NIPT ein sinnvolles Screening-Konzept darstellen.²⁵ Insbesondere bei Patientinnen, die nach dem ETS ein intermediäres Risiko für die Trisomie 21 aufweisen, kann der NIPT seine Anwendung finden. Aufgrund der niedrigen Prävalenz der Trisomie 21 im Niedrigrisiko-Kollektiv ist die Anwendung des NIPT in dieser Gruppe weniger effektiv. Im Hochrisiko-Kollektiv ist neben den

Trisomien auch der Anteil sonstiger Chromosomenanomalien deutlich höher. Daher sollte in dieser Gruppe, auch im Hinblick auf mögliche Konsequenzen für einen weiteren Schwangerschaftsverlauf, ein diagnostisches Verfahren einem Screeningtest vorgezogen werden.²⁵ Limitationen der NIPT-Untersuchung sind in 5% eine fehlende Durchführbarkeit aufgrund von zu niedriger Konzentration von plazentarer DNA im mütterlichen Plasma, sowie diskordante Befunde zwischen NIPT und invasiver Diagnostik durch Plazentamosaik.²⁶

1.5 Bedeutung sonographischer Marker im pränatalen Ultraschall

Trisomie 21 ist die häufigste und klinisch signifikanteste Chromosomenanomalie (1 pro 800), die mit mentaler Retardierung einhergeht.²⁷

Im Ultraschall des 2. Trimenons können zwei verschiedene Typen von „Markern“ im Hinblick auf Chromosomenstörungen, insbesondere auf die Trisomie 21, nachgewiesen werden. In der Vergangenheit wurden diese als sogenannte *Hard-* bzw. *Softmarker* bezeichnet. Zu den „*Hardmarkern*“ gehören grobe anatomisch strukturelle Fehlbildungen wie Herzfehler, Duodenalatresie und Omphalozele. Zu den „*Softmarkern*“, gehören fetale Strukturauffälligkeiten, die unspezifisch sind, nur vorübergehend auftreten und per se keinen Krankheitswert besitzen.²⁸ Man findet sie häufig bei gesunden Feten, allerdings treten sie bei Kindern mit Trisomie 21 häufiger auf, sodass sie als Screening-Parameter für Chromosomenstörungen in der Pränatalmedizin gelten.^{29,30,31} Zu den gängigen Softmarkern zählen neben dem echogenen Herzfokus ein hypo- bzw. aplastisches Nasenbein, ein fetales Nackenödem, eine milde Ventrikulomegalie, ein verkürzter Femur, ein flaches Profil, ein hyperechogener Darm und eine Pyelektasie beidseits.^{21,29,32}

Das Basisrisiko einer Schwangeren, abhängig vom Alter oder einem berechneten Risiko nach ETS, kann mit *likelihood ratios* (LR) multipliziert werden, deren Wert aus der An-, oder Abwesenheit der unterschiedlichen Softmarker resultiert.^{19,20,21} Die *likelihood ratio* ist definiert als Sensitivität/ Falsch-Positiv-Rate bei isoliertem Auftreten des jeweiligen Markers. Nach Snijders und Nicolaides³³ wurden folgende LR für die einzelnen Softmarker angegeben: Nackenödem (LR:18,6),

hyperechogener Darm (LR:5,5), kurzer Femur (LR:2,2), renale Pyelektasie (LR:1,6) und echogener Herzfokus (LR:2,0). Bei einem unauffälligen Ultraschall ohne Anwesenheit von Softmarkern wird eine LR von 0,36 angegeben und damit das Risiko für Chromosomenstörungen um ca. 60 % reduziert.³³ Bis auf das Nackenödem gelten die als isoliert auftretenden Softmarker im Allgemeinen als harmlos, während Softmarker, die kombiniert auftreten, das Risiko für eine Trisomie 21 signifikant erhöhen.^{19,20,34,35} Der Marker mit der größten Sensitivität für die Detektion einer Trisomie 21 ist das fetale Nackenödem >6mm.^{28,36}

1.6 Der fetale intrakardiale echogene Herzfokus (ECF)

Als intrakardialer echogener Herzfokus wird eine kleine rundliche Struktur in den Herzhöhlen des fetalen Herzens bezeichnet, die sich im Ultraschall mit einer Echogenität gleich oder heller als die der Knochen darstellt.³⁷ ECF können in Größe, Anzahl (*single* oder *multiple*) und Lokalisation (linke und rechte Herzkammer) variieren. Ein großer Anteil der ECF wird durch sonographische Einstellung des Vierkammerblicks diagnostiziert und befindet sich zu 88% in der linken Herzkammer, 5% in der rechten Herzkammer und zu 7% in beiden Herzkammern.^{37,38} Echogene Herzfoci sind nicht assoziiert mit strukturellen Herzfehlern und stören auch nicht die kardiale Hämodynamik.³⁹

Die Herkunft des echogenen Herzfokus ist nicht bekannt, histopathologisch fand man vermehrt Kalzifizierungen des Papillarmuskels.⁴⁰ Andere Autoren erklären den ECF als nicht vollständig ausgereiftes Gewebe im Bereich der Papillarmuskeln.⁴¹ Die Prävalenz des ECF in der Allgemeinbevölkerung wird mit einer großen Streubreite von 0,17–20% angegeben.⁴² Vergangene Studien zeigen eine Inzidenz des ECF im zweiten Trimenon zwischen 3–5%.^{38,43,44,45} Die Prävalenz ist höher im ersten und zweiten Trimenon, da die ECF häufig über den Verlauf der Schwangerschaft und in der frühen Kindheit verschwinden.^{46,47} Echogene Herzfoci treten häufiger bei gesunden Feten auf, obwohl die Prävalenz bei euploiden Feten niedriger ist (ca 3,5%)⁴⁸ als bei Feten mit Trisomie 21 (ca. 15–30%).⁴⁹ oder Trisomie 13 (bis ca. 39%).⁴⁰

Seit der Erstbeschreibung in den 80er Jahren³⁷ existieren zahlreiche Debatten über die Signifikanz des echogenen Herzfokus als Marker für Aneuploidien, insbesondere für die Trisomie 21.^{50,51,52} Der echogene Herzfokus ist der jüngste und unzweifelhaft der umstrittenste aller Softmarker.⁵³ Viele Studien aus der Vergangenheit zeigen ein signifikant erhöhtes Risiko für die Trisomie 21 bei Auftreten des echogenen Fokus in Kombination mit anderen Softmarkern.^{19,20} Kontrovers wird diskutiert, ob der echogene Fokus, wenn er isoliert auftritt, das Risiko für die Trisomie 21 ebenfalls erhöht. Im Gegensatz zum sogenannten „*low-risk*“-Kollektiv (Frauen unter 35 Jahren) in dem die meisten Studien kein Risiko für das vermehrte Auftreten einer Trisomie 21 sehen,^{50,54,55,56} tendieren viele Studien im sogenannten „*high-risk*“-Kollektiv (Frauen über 35 Jahren oder erhöht berechnetes Basisrisiko durch vorherige Untersuchungen) zu einer deutlichen Risikoerhöhung bei Auftreten des isolierten echogenen Herzfokus.^{50,57,58,59} Ebenfalls umstritten ist die Prävalenz des ECF bei unterschiedlichen Ethnizitäten. In vielen Studien wird berichtet, dass das Auftreten des ECF in der asiatischen Bevölkerung häufiger zu verzeichnen ist als in der kaukasischen Bevölkerung^{48,60,61} und der ECF von daher als Marker für das Down-Syndrom weniger Bedeutung hat.

1.7 Epidemiologie Chromosomenstörungen

1.7.1 Trisomie 21

Der englische Kinderarzt John Langdon Down beschrieb erstmalig 1866 das später nach ihm benannte Down-Syndrom, welches mit einer Reihe von ähnlichen körperlich und geistigen Merkmalen einhergeht, die auf das Vorliegen eines zusätzlichen Chromosoms 21 zurückzuführen sind.⁶² Da Kinder mit diesem Phänotyp aussahen wie Menschen aus der Mongolei, bezeichnete Langdon dieses Krankheitsbild als „mongoloide Idiotie“. Ursächlich ist eine meiotische *Non-Disjunction* in der 1. oder 2. mütterlichen oder väterlichen meiotischen Reifeteilung.⁶³ Durch eine klassisch lichtmikroskopische Chromosomenanalyse und ggf. eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-

Analyse (FISH) mit spezifischen DNA-Sonden kann zeitnah eine pränatale oder postnatale Diagnosesicherung erfolgen. Das Down-Syndrom ist mit etwa 6000 Geburten jährlich einer der häufigsten Geburtsfehler in den USA, was zu einer geschätzten Geburtenprävalenz von 14 pro 10 000 Lebendgeburten führt.⁶⁴ Die Inzidenz der Trisomie 21 ist signifikant abhängig vom mütterlichen Alter und steigt bei zunehmendem Alter exponentiell an.^{11,12} So liegt das Risiko einer Trisomie 21 für eine 25-jährige Frau bei circa 1:1300, während es für eine 45-jährige bereits bei circa 1:30 liegt.¹³ Die Prävalenz einer Trisomie 21 ist, wenn auch in geringerem Maße als bei den Trisomien 13 und 18, vom Schwangerschaftsalter abhängig: Grund dafür ist die intrauterine Verlustrate, die bei einer Trisomie 21 zwischen Beginn der Schwangerschaft und Geburt etwa 20–30% beträgt, hingegen bei Trisomie 13 und 18 über 80% liegt.^{65,66} Auch Frauen, die in einer Vorschwangerschaft ein Kind mit Down-Syndrom hatten, haben in Abhängigkeit vom Gestationsalter und mütterlichen Alter ein 0,75% erhöhtes Risiko erneut ein Kind mit Down-Syndrom zu bekommen.²¹ Insgesamt hat die Gesamtzahl der Geburten von Kindern mit Down-Syndrom in den letzten Jahren abgenommen. Gründe hierfür werden in familienstrukturellen und pränatalmedizinischen Entwicklungen gesehen.⁶⁷ Dadurch steigt auch das relative Risiko für ein Kind mit Down-Syndrom. Aufgrund des zunehmenden Angebots der pränatalmedizinischen Diagnoseverfahren, sowie der daraus meist resultierenden Schwangerschaftsabbrüche, wird vermutet, dass sich langfristig eine noch deutlichere Verringerung der Zahl der Kinder mit Down-Syndrom ergeben wird.^{67,68} Eine im britischen Ärzteblatt veröffentlichte Studie hat aufgezeigt, dass durch Erweiterungen und Verbesserungen der vorgeburtlichen Screeningmethoden der Anstieg der mit Down-Syndrom geborenen Kinder durch das zunehmende mütterliche Alter ausgeglichen wurde. Auffallend ist, dass durch die Screeningmethoden der Anteil der Kinder mit Down-Syndrom von jüngeren Frauen zunahm, während der Anteil bei älteren Frauen konstant geblieben ist.⁶⁹

1.7.2 Trisomie 13 und Trisomie 18

Das Edwards-Syndrom (Trisomie 18) und das Patau-Syndrom (Trisomie 13) sind die zweit-, und dritthäufigsten autosomalen Chromosomenstörungen nach der Trisomie 21. Die Prävalenz bei lebendgeborenen Kindern ohne vorheriges antenatales Screening beträgt 2,3/100.000 Geburten für die Trisomie 18 und 1,4/10.000 Geburten für die Trisomie 13.⁷⁰ 73% der vorgeburtlich diagnostizierten Fälle von Trisomie 13 und 18 enden in einer frühzeitigen Beendigung der Schwangerschaft.⁷¹ Beide Chromosomenstörungen sind mit einem längeren Überleben nicht vereinbar und gehen mit einer Reihe von schweren Fehlbildungen und Auffälligkeiten einher, die sowohl den Phänotypen als auch die inneren Organe betreffen. Die meisten Kinder sterben vor oder kurz nach der Geburt. Diejenigen, die Schwangerschaft und Geburt überleben, sterben häufig in den ersten zwölf Monaten nach der Geburt. Charakteristische klinisch-pathologische Eigenschaften sind frühe Wachstumsrestriktion und verminderte fetale Bewegung. Zu den typischen pränatalmedizinischen Auffälligkeiten bei der Trisomie 18 zählen: ein Mikrocephalus, kleine Mund-Kinnregion, Herzfehler zu 99%, Lippen-Gaumenspalten, Omphalozele, eine Polydaktylie, sowie urogenitale und ZNS-Fehlbildungen. Zu den typischen Auffälligkeiten bei der Trisomie 13 zählen: Herzfehler zu 80%, ZNS-Fehlbildungen wie Holoprosencephalie und Balkenagenesie, Lippen-Kiefer-Gaumenspalten, Extremitätenfehlbildungen wie Radiusaplasie und Polydaktylie. Aufgrund der Tatsache, dass sowohl die Trisomie 13 als auch die Trisomie 18 in aller Regel mit zahlreichen typischen Fehlbildungen einhergehen, die schon früh im Ultraschall erkannt werden können, kann den Eltern schon zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings eine diagnostische Punktion über eine Chorionzottenbiopsie angeboten und damit eine definitive Diagnose erzielt werden.

1.7.3 Strukturanomalien

Strukturelle Chromosomenstörungen entstehen aufgrund von Brüchen, die zu Umbauten in einem oder mehreren Chromosomen führen. (z. B. Translokation, Inversion). Träger einer balancierten Chromosomenveränderung weisen für Nachkommen ein erhöhtes Risiko für chromosomal bedingte Erkrankungen auf. Die häufigsten gemeinsamen Veränderungen bei unbalancierten strukturellen Chromosomenstörungen stellen die körperliche und geistige Entwicklungsverzögerung, das Vorkommen von Dysmorphiezeichen (Hände, Füße und Gesicht), Auffälligkeiten der Hautleisten/-furchen und Fehlbildungen innerer Organe dar. Beispiele für Strukturanomalien sind das Wolf-Hirschhorn-Syndrom (distale Deletion des kurzen Armes von Chromosom 4) und das Cri-du-Chat-Syndrom (distale Deletion des kurzen Armes von Chromosom 5). In der Pränatalmedizin werden die meisten balancierten Strukturanomalien entweder zufällig oder bei schon bekannt auffälligem elterlichen Karyotyp im Rahmen einer frühen geplanten diagnostischen Punktion nachgewiesen. Da nur die unbalancierten Chromosomenstörungen und Mikrodeletionen mit klinischen Auffälligkeiten einhergehen, kommt hier dem Fehlbildungsschall im 2. Trimenon zur Diagnosestellung eine große Bedeutung zu.

1.8 Ziele der Arbeit

Im Ultraschall des zweiten Trimenons ist der isolierte echogene Herzfokus eine auch für ungeübte Untersucher leicht zu erkennende Struktur und stellt einen häufigen Grund zur Überweisung in ein pränatalmedizinisches Zentrum dar. Ziel dieser Arbeit ist es, an einem hinreichend großen Kollektiv zu überprüfen, ob der Nachweis eines isolierten ECF die Wahrscheinlichkeit für eine Trisomie im Kollektiv „Trisomie 21“ verglichen mit „euploid“ in einer Weise erhöht, dass sie in die pränatalmedizinische Beratung mit einfließen muss. Besonderes Augenmerk legen wir hierbei auf die Gruppe mit niedrigem Risiko für Chromosomenstörungen, dies sind Frauen entweder unter 35 Jahren oder mit einem durch Voruntersuchungen berechneten Basisrisiko von $\leq 1:300$. Ein

weiteres Ziel der Studie ist es, aufzudecken bzw. zu beschreiben, ob sich das Kollektiv „isolierter ECF“ in eventuellen weiteren Merkmalen von dem Kollektiv ohne jeden Softmarker unterscheidet: Ist es nur die Trisomie 21 oder gibt es weitere genetische Veränderungen, die zum derzeitigen Kenntnisstand anzeigen würden, dass ein nicht invasiver zellfreier DNA-Test zur Diagnosesicherung nicht ausreicht? Ziel der Studie ist eine Handlungsanweisung, eine Beratungsgrundlage auch auf dem Boden neuer diagnostischer Verfahren zu schaffen. Für die statistischen Berechnungen der publikationsbasierten Arbeit haben wir mit Herrn Privatdozenten Dr. rer. nat. Pablo Verde aus dem Koordinierungszentrum für klinische Studien der Universität Düsseldorf zusammengearbeitet. Wir erhielten die schriftliche Einverständniserklärung der Teilnehmer und die Ethikkommission (Studennummer 5588) der Universität Düsseldorf akzeptierte die Studie. Informationen zu fetalen Chromosomenanomalien wurden entweder aus pränatalen zytogenetischen Befunden oder, falls nicht verfügbar, aus den angeforderten postnatalen U1-Berichten entnommen.

2. Publierte Originalarbeit:

Wrede E, Knippel AJ, Verde PE, Kozlowski P. Isolated Echogenic Cardiac Focus: Assessing Association with Trisomy 21 by Combining Results from a Prenatal Center with a Bayesian Meta-Analysis. *Ultrasound Int Open*. 2020;6:1-8. DOI <https://doi.org/10.1055/a-1118-3974>

Published online: 2020-03-09

Original Article

Thieme

Isolated Echogenic Cardiac Focus: Assessing Association with Trisomy 21 by Combining Results from a Prenatal Center with a Bayesian Meta-Analysis

OPEN ACCESS



Authors

Elisabeth Wrede¹, Alexander Johannes Knippel¹, Pablo Emilio Verde², Ruediger Hammer¹, Peter Kozlowski¹

Affiliations

- 1 Praenatal-Medizin und Genetik, Düsseldorf, Kozlowski und Partner- Fachärzte für Gynäkologie und Humangenetik, Düsseldorf, Germany
- 2 Koordinierungszentrum für klinische Studien, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

received 1.12.2018
revised 5.01.2020
accepted 6.02.2020

Bibliography

DOI <https://doi.org/10.1055/a-1118-3974>
Ultrasound Int Open 2020; 6: E98–E105
© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 2199-7152

Correspondence

Elisabeth Wrede
Praenatal-Medizin und Genetik Ärztliche Partnerschafts-
gesellschaft Kozlowski und Partner, Obstetrics
Graf-Adolf-Straße 35
40210 Düsseldorf
Germany
Tel : +49211384570
l.wrede@praenatal.de

 Supplementary Material for this article is available
online DOI <https://doi.org/10.1055/a-1118-3974>

ABSTRACT

Objective To investigate the clinical relevance of an isolated echogenic cardiac focus (iECF) as a marker for trisomy 21 using a large second-trimester collective including a low-risk subgroup.

Materials and Methods We retrospectively evaluated 1 25 211 pregnancies from 2000–2016 and analyzed all iECF cases with regard to chromosomal anomalies. It consisted of an early second-trimester collective from 14 + 0–17 + 6 weeks (n = 34 791) and a second-trimester anomaly scan collective from 18 + 0–21 + 6 weeks. Two a priori risk subgroups (high and low risk) of the latter were built based on maternal age and previous screening test results using a cut-off of 1:300. Likelihood ratios (LR) of iECF for the detection of trisomy 21, trisomy 13, trisomy 18 and structural chromosomal anomalies were estimated.

Results In total, 1 04 001 patients were included. An iECF was found in 4416 of 1 02 847 euploid fetuses (4.29%) and in 64 of 557 cases with trisomy 21 (11.49%) giving a positive LR of 2.68 (CI: 2.12–3.2). The sensitivity was 11.5% at a false-positive rate of 4.29% (CI: 4.17–4.42) with $p \leq 0.01$ %. In the high- and low-risk subgroups, the prevalence of iECF was comparable: 5.08% vs. 5.05%. The frequency of trisomy 21 was 0.39%, 98/24 979 vs 0.16%, 69/44 103. LR + was 3.86 (2.43–5.14) and 2.59 (1.05–4). For both subgroups the association of iECF with trisomy 21 was statistically significant. The prevalence of structural chromosomal anomalies in the second-trimester anomaly scan collective was 0.08% (52/68 967), of which 2 showed an iECF. **Conclusion** The detection of an iECF at the time of 14 + 0–21 + 6 weeks significantly increases the risk for trisomy 21 in the high-risk and in the low-risk subgroups and does not statistically change the risks for trisomy 13/18 or structural abnormality.

Introduction

Most expectant parents want to know as early as possible whether their unborn child will be born healthy or with a structural malformation. Particularly with regard to chromosomal disorders, couples wish to have early diagnostic clarification in order to consider adjustments needed in the event of giving birth to a child with abnormalities or to terminate the pregnancy. Trisomy 21 is the most common chromosomal abnormality in liveborn infants with an in-

cidence of 1/600–1/800 in the general population [1]. First Trimester Screening (FTS) at 11 + 0–13 + 6 weeks of pregnancy offers an early assessment of the risk for aneuploidies. Nuchal translucency and other ultrasound parameters in combination with maternal age and biochemical parameters, like free beta HCG and PAPP-A, can be used to estimate an individualized risk for the three most common chromosomal disorders (trisomy 21, 13 and 18) at an early stage [2–4]. With a detection rate of 90% and a false-positive

rate of 5 %, this is a very sensitive screening method for detecting trisomies. In the second-trimester anomaly scan, markers can be used to adjust the risk for trisomy 21. Aagaard-Tillery et al. published a study with 7842 pregnant women at the second-trimester ultrasound scan [5]. They demonstrated that the detection rate of trisomy 21 can increase from 93–98 % if the basal risk from first-trimester screening was modified with the marker screening result of the second-trimester ultrasound scan by considering the positive and negative likelihood ratios in the presence or absence of these markers. Considering this fact, the detection of second-trimester ultrasound markers may lead to an increased number of diagnostic procedures [6, 7]. Regarding all second trimester markers, the echogenic cardiac focus (ECF) is the most controversial [8] because it is the most prevalent marker among the normal population with a prevalence of approximately 5–10 % in a normal second-trimester collective [9]. The vast majority of studies showed a significantly increased risk for trisomy 21 if the echogenic focus occurs in combination with other minor markers [10–12]. There is controversy as to whether the echogenic focus, if it occurs in isolation, also increases the risk for trisomy 21 and in particular whether this increase in risk also exists in an unselected normal population. Furthermore, many past studies have suggested an isolated echogenic cardiac focus (iECF) to be associated with an increased risk of trisomy in high-risk populations, e. g. due to advanced maternal age or increased risk of previous screening [13–16]. Other publications reported a tendency towards an increased risk also in low-risk pregnancies, but failed to show a statistically significant result [5, 14, 17–19]. This may also be due to an insufficient number of cases in the individual low-risk studies and the associated low statistical power corresponding to the lower prevalence of trisomy 21 in these low-risk studies. Furthermore, observational databases are known to suffer from a series of internal validity biases [20]. Therefore, a direct interpretation of results at face value could be misleading. The aim of this study is to assess the clinical relevance of the iECF by combining the data from our prenatal center with a Bayesian meta-analysis. We also formed a low-risk subgroup in order to provide information on how to counsel parents in pregnancies with an iECF. Our aim was to clarify three questions: First, does the discovery of an isolated echogenic cardiac focus with an otherwise completely normal ultrasound result change the patient's risk to such an extent that this finding must be included in prenatal counselling? Second, does an iECF increase the risk for trisomy 21 in the low-risk group with regard to the low prevalence of this disease? Noninvasive prenatal testing (NIPT) is the analysis of cell-free DNA from maternal blood with a high negative predictive value, which makes it an option for the clarification especially of medium-risk cases. However, this method does not cover the same spectrum of anomalies as classic invasive diagnostic testing, for example structural chromosomal anomalies are not addressed by the current NIPT tests. Thus, our third question is: Is there any evidence of other chromosomal abnormalities associated with iECF that would indicate that a cell-free DNA test is not sufficient for clarification of the iECF?

Methods

This was a retrospective cohort study of ultrasound examinations in a tertiary referral center that included all singleton pregnancies between 14 + 0 and 21 + 6 weeks in the years 2000–2016 (n = 1 252 11). In addition, we performed a subgroup analysis by dividing the second-trimester anomaly scan collective 18 + 0 to 21 + 6 weeks into two a priori risk groups based on the maternal age and, if available, previous screening test results and defined a risk cut-off point of 1/300. As a priori high risk we rated: a) maternal age 35 or older - no screening test, b) age 35 or older with a risk cut-off \geq 1:300, and c) younger than 35 but a risk cut-off \geq 1:300. As a priori low risk we rated d) younger than 35 with no test, e) younger than 35 with a risk cut-off $<$ 1:300, and f) age 35 or older but a risk cut-off $<$ 1:300. We used high-resolution ultrasound equipment (Toshiba Aplio 500, GE Voluson 730, E8, E10). Ultrasound examinations were performed by DEGUM II certified specialists in obstetric ultrasound with several years of special experience in prenatal medicine. We obtained written informed consent from participants and the Ethics Committee (study number 5588) of the University of Düsseldorf accepted the study. Information on any fetal chromosomal abnormalities was either taken from prenatal cytogenetic findings or, if not available, from the requested postnatal U1 reports. Neonates with normal phenotypes were assumed to have normal karyotypes. Any postnatal phenotypic suspicion of a chromosomal disorder was cytogenetically clarified. We reviewed our ultrasound database for any entry regarding an echogenic heart focus. In each identified case, the ultrasound findings were evaluated for any further abnormality to identify the isolated cases of ECF. The ECF was defined as an echo-rich structure in or next to the papillary muscle of the right and/or left ventricle that corresponded to the brightness of bones. We classified an echogenic cardiac focus as "isolated" (iECF) if there were no further malformations, markers or any other clinically relevant abnormalities. All cases with known fetal karyotype before examination (n = 1586; 1.27 %) were excluded. We also excluded cases with aneuploidies other than 13, 18 or 21 (n = 197; 0.16 %), all cases without written consent to anonymous study participation (n = 11; 0.01 %) and all cases "lost to follow up" in which neither the karyotype nor the postnatal examination findings were clearly known (n = 19 416; 15.51 %). An overview is presented in ► **Table 1**. Fetuses with known euploid karyotype or missing stigmata of aneuploidy at birth were classified as "euploid". In terms of structural anomalies, we did not distinguish between unbalanced and balanced findings and we also assigned the microdeletions to this group. ► **Table 2** gives an overview of study exclusions and karyotypes. After completion of the classification, we constructed 2 × 2 tables to calculate the proportion of isolated ECFs among the chromosomally abnormal and the euploid fetuses. Likelihood ratio was calculated as a quotient of iECF prevalence among the aneuploid cases divided by the corresponding prevalence among the euploid cases.

Meta-analysis

For the meta-analysis we investigated all studies that aimed to estimate the population prevalence of isolated ECF and the associated risk of trisomy 21 in a coherent collective between 1998–01–01 and 2019–08–01. For this purpose we analyzed all publications used in the meta-analysis of Agathokleous et al. 2013 [21] based

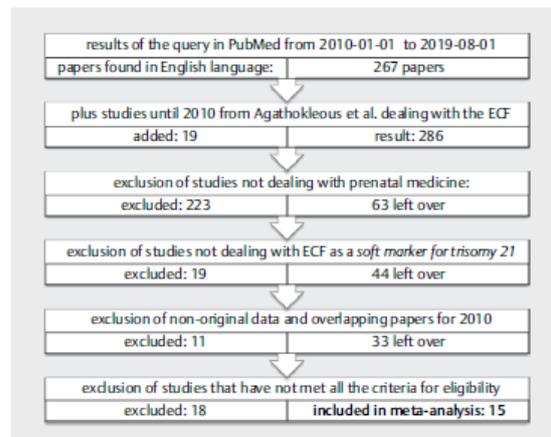
► **Table 1** Study exclusions and characteristics of the included patients.

Causes for the study exclusion/ characteristics	Number/value
Total number of patients	1 252 111
Exclusions	
Aneuploidies other than Trisomies 13, 18, 21	197/1 252 111 (0.16%)
Invasive diagnosis before ultrasound	1586/1 252 111 (1.27%)
No study consent	11/1 252 111 (0.01%)
No outcome	19 416/1 252 111 (15.51%)
Total exclusions	21 210/1 252 111 (16.94%)
Included	1 040 011/1 252 111 (83.06%)
Mean GA	18.88
Number GA group '14+0 to 17+6'	34 791 (33.45%)
Number GA group '18+0 to 21+6'	69 210 (66.55%)
Mean maternal age during examination	33.96
Age ≥ 35 years	50 600/1 040 011 (48.65%)
Age < 35 years	53 401/1 040 011 (51.35%)
Mean maternal age group '14+0 to 17+6'	36.35
Mean maternal age group '18+0 to 21+6'	32.77
Ethnicity	
Caucasian	1 035 52 (99.57%)
Asian	106 (0.1%)
Oriental	75 (0.07%)
Black	75 (0.07%)
Mixed	193 (0.19%)

► **Table 2** Karyotypes of excluded and included cases.

Karyotype	Number of included cases (percent)	Number of excluded cases (percent)
Euploid	1 028 847 (82.14%)	2 135 (1.71%)
Trisomy 21	557 (0.44%)	69 (0.06%)
Structural chromosomal anomalies*	431 (0.34%)	80 (0.06%)
Trisomy 18	120 (0.1%)	16 (0.01%)
Trisomy 13	46 (0.04%)	(0%)
No outcome	(0%)	18 661 (14.9%)
Triploidy	(0%)	58 (0.05%)
Other aneuploidy	(0%)	11 (0.01%)
Gonosomal aneuploidy	(0%)	180 (0.14%)
Total	1 040 011 (83.06%)	21 210 (16.94%)

* unbalanced, balanced and microdeletions.



► **Fig. 1** Selection of literature for the meta-analysis.

on the Supplemental list '► **Table 1S**'. We completed this list of studies for the time from 2010 onwards based on a structured query in PubMed for the echogenic cardiac focus: (((("echogenic focus" OR "echogenic foci")) OR ("hyperechoic focus" OR "hyper-echoic foci")) OR ("echogenic cardiac focus" OR "echogenic cardiac foci")) OR ("echogenic heart focus" OR "echogenic heart foci")) OR ("echogenic intracardiac focus" OR "echogenic intracardiac foci")) OR "golf ball" AND ("2010/01/01" [Date – Publication]; "2019/08/01" [Date – Publication]). From the results of this query (267 articles in English were found), we then excluded non-medical studies, studies in uncommon languages, studies not focusing on the ECF as a soft marker for trisomy 21, reviews/editorials/meta-analysis and overlapping papers for 2010 that were already assessed by Agathokleous. In total, 19 studies from the Agathokleous list dealt with the subject of ECF plus 14 were left over from our query after primary exclusions. Among these 33 studies, we classified publications as eligible for our meta-analysis, if: 1) A 2 × 2 cross table could be extracted for the incidence of isolated ECF in both euploid and trisomy 21 fetuses. 2) Study design: prospective or retrospective cohort studies. 3) No case control studies and case reports. 4) Classifying the risk characteristic of the study cohort concerning trisomy 21 was possible. 5) The procedure for collecting outcomes regarding trisomy 21 for the whole collective must be described. 6) The number of exclusions lost to follow-up was given. 7) Gestational age at examination was between 14+0 and 26+6 weeks (overview in ► **Fig. 1**).

From the eligible studies we extracted the number of true positives, true negatives, false positives and false negatives. We then classified them as 'high risk' or 'normal/low risk' and 'prospective' or 'retrospective' according to the indications in the paper. The included studies and the 2 × 2 table values for isolated ECF are displayed in ► **Table 3**. LR+ was calculated on the basis of these numbers.

Statistical methods

In this study, we used a meta-analysis of previously published studies, with diagnostic test accuracy of the iECF marker to build a bias

► **Table 3** Studies included in the meta-analysis.

Author	Year	Population	Design	TP	FP	FN	TN	Total	LR+calculated
Manning [24]	1998	high risk	p	2	21	15	863	901	4.95
Sohl [25]	1999	high risk	p	12	151	33	2488	2684	4.66
Thilaganathan [26]	1999	high risk	p	0	143	10	16763	16916	0
Wax [27]	2000	high risk	p	2	21	5	751	779	10.5
Winter	2000	high risk	p	5	130	21	2689	2845	4.17
Profumo [28]	2001	low risk	r	0	239	6	7443	7688	0
Huggon [29]	2001	high risk	p	5	543	75	6361	6984	0.79
Coco [30]	2004	low risk	p	1	432	10	12229	12672	2.66
Lamont [31]	2004	low risk	r	1	310	13	10445	10769	2.48
Smith-Bindman [32]	2007	high risk	p	15	211	230	8496	8952	2.53
Weisz [17]	2007	low risk	r	1	88	11	2232	2332	2.2
Shanks	2009	low risk	r	14	1998	204	59895	62111	1.99
Huang	2010	low risk	p	2	209	23	6884	7118	2.72
Hurt [33]	2016	low risk	p	3	600	28	18210	18841	3.03
Ginzberg [34]	2017	low risk	r	20	1340	42	19270	20672	4.96
Total				83	6436	726	175019	182264	

TP = true positives, FP = false positives, FN = false negatives, TN = true negatives.

correction model for the diagnostic results of our prenatal database. Using the 2 × 2 tables of published diagnostic results, we performed a multi-parameter Bayesian meta-analysis of the sensitivities and specificities. The posterior distributions of the marginal pooled sensitivity and specificity were used as meta-analytic priors to adjust the results of the prenatal database. This adjustment was performed on the sensitivities and specificities of the prenatal database and by handling the LR+ and LR- as functional parameters. Therefore, the Bayesian computations were performed at the level of sensitivity and specificity and results are transformed on the scale of LR+ and LR-.

The studies included in the meta-analysis suffer from a series of uncontrolled variabilities, e. g., different internal quality, different study design, variation in the study population and diagnostic settings. Those sources of variation are non-systematic resulting in a complex random heterogeneity between studies. In addition, the number of studies included in the meta-analysis is small (n = 15). Therefore, a specially designed Bayesian method has to be used to make a meta-analysis of this kind of data. In this study, we applied the meta-analysis model based on random effects with scale mixtures of normal distributions implemented in the R's package bamdit (Bayesian Meta-Analysis of Diagnostic Test Data). The results of the meta-analysis model are displayed by plotting the observed TPRs (True-Positive Rates) versus the FPRs (False-Positive Rates). The Bayesian model is summarized by the 50, 75 and 95% posterior predictive curves. In addition, we displayed 500 model's prediction of the combination of TPRs and FPRs.

Statistical computations

The statistical analysis was performed with the statistical software R version 3.5.2 (R Core Team, 2019). The Bayesian meta-analysis of diagnostic test accuracy was performed with R package bamdit [22]. Statistical analysis was performed with the statistical software R version 3.5.2 (R Core Team, 2019). Bayesian models are not analytically tractable. Estimation of posterior probabilities was based on MCMC (Markov Chain Monte Carlo) computations. In each analysis, we used two MCMC runs of 20 000 iterations and we discarded the first 5000 for the burn-in period. Convergence was assessed visually using the R package coda. The results of the Bayesian analyses are presented as posterior distributions and their summaries: Posterior means, standard deviations, quantiles (2.5, 50, and 97.5%) and the histogram of the posteriors.

Results

A total number of 1 25 211 patients with a singleton pregnancy between 14 + 0 and 21 + 6 weeks underwent prenatal ultrasound examination during the study period. See ► **Table 1** for more details and causes for study exclusion. An overview of the karyotypes of excluded and included cases is given in ► **Table 2**. The overall prevalence of isolated echogenic foci in the current study population was 4.33% (4480/1 04 001). In total, an isolated ECF was found in 4416 of 1 02 847 euploid fetuses (4.29%) and in 64 of 557 cases with trisomy 21 (11.49%) which led to a positive likelihood ratio (LR+) of 2.68 (CI: 2.12–3.2) for the entire study population (► **Table 4**).

Subsequently, we divided the 18 + 0–21 + 6 second-trimester anomaly scan group into two subgroups, high and low risk for fetal trisomy 21. The prevalence of iECF was very similar in both groups

► **Table 4** Results of the meta-analysis.

Type of data	Population	LR +	LR-	TP	FP	FN	TN	Total	Sens.	Spec.
Our center	mixed	2.68 (2.12–3.20)	0.92	64	4416	493	98431	103404	0.12	0.96
Our center	high risk	3.86 (2.43–5.14)	0.85	19	1251	79	23630	24979	0.19	0.95
Our center	low risk	2.59 (1.05–4.00)	0.92	9	2219	60	41815	44103	0.13	0.95
Meta-analysis	posterior mean (posterior 95% interval)	3.11 (1.84–4.92)	0.93						0.11	0.97
MA/our center combined	mixed	2.65 (2.11–3.3)	0.93 (0.90–0.94)							
MA/our center combined	high risk	2.92 (2.05–3.90)	0.90 (0.85–0.96)							
MA/our center combined	low risk	2.33 (1.51–3.30)	0.93 (0.88–0.97)							

Posterior LR + of the meta-analysis (MA) and combined LR + of our center + meta-analysis. TP = true positives, FP = false positives, FN = false negatives, TN = true negatives, sens. = sensitivity, spec. = specificity.

with 5.08% (1270/24979) in the high-risk subgroup and 5.05% (2228/44103) in the low-risk subgroup. As expected, the frequency of trisomy 21 was higher in the first subgroup than in the latter (0.39%, 98/24979 vs. 0.16%, 69/44103). Overall for our center-specific collective these numbers led to better screening performance of the iECF in the high-risk group compared to the low-risk group with a sensitivity of 19.39% (CI: 11.56–27.21) vs. 13.04% (CI: 5.1–20.99) at an almost identical FPR of 5.03% (CI: 4.76–5.3) vs. 5.04% (CI: 4.83–5.24). The LR+ was calculated as 3.86 (CI: 2.43–5.14) in the high-risk group and 2.59 (CI: 1.05–4) in the low-risk group (► **Table 4**).

The ECF in combination with one or more other markers showed a clearly higher LR+ (31.9) than the iECF. The overall consideration of other markers in isolation resulted in a slightly higher LR+ (4.39). The highest LR+ (88.9) was found when two or more other markers than ECF were diagnosed in combination.

Results of the meta-analysis

The meta-analysis included 15 studies with a total of 1 822 64 patients. After combining all the data from the included studies, the posterior mean LR+ was calculated as 3.11 and the posterior 95% confidence interval ranged from 1.84–4.92 (► **Table 4**). The pooled sensitivity of 1.11 and the specificity of 0.97 were used as meta-analytic priors to adjust the results of the prenatal database. After the adjustment, the combined (meta-analysis and our database) mean LR+ for the total/mixed collective almost did not change (2.65 (CI: 2.11–3.3)). In both the high-risk and the low-risk subgroup, the mean LR+ decreased to 2.92 and 2.33 (high-/low-risk) and the 95% confidence intervals noticeably narrowed to 2.05–3.90 and 1.51–3.30 (► **Table 4**). ► **Fig. 2** shows the results of the meta-analysis and gives the joint probability distribution. In order to better display the results, we plotted the false-positive rate (1-specificity) between 0 and 0.25, and the true-positive rate (sensitivity) is displayed between 0 and 0.5. The area within the lines predicts the region where we expect the results of an unknown new study. The

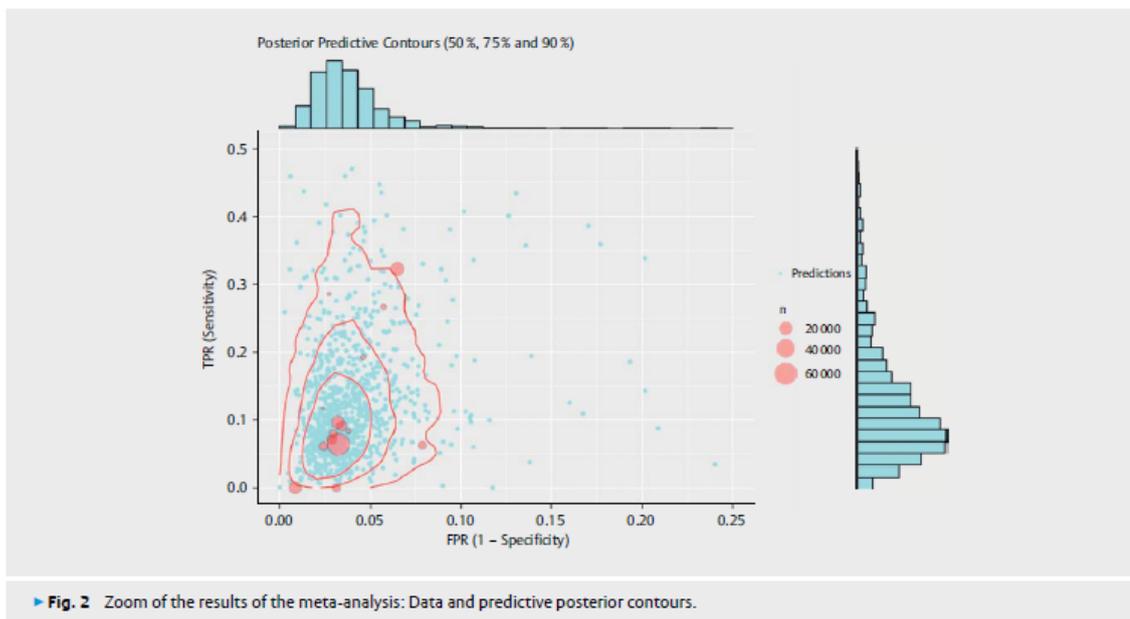
outer line represents the 90% posterior interval, and the next 2 lines represent the 75 and 50% posterior interval. (► **Table 15**).

Occurrence of trisomy 13, 18 and structural anomalies with echogenic foci

In the entire study group we found no case of trisomy 18 with an isolated ECF. All 120 cases showed further severe malformations or multiple markers of aneuploidy. For trisomy 13 we found 2 out of 46 cases with ECF and an otherwise completely normal detailed ultrasound result. The first case was referred at 16 + 0 weeks of gestation primarily for invasive diagnostic testing because of high maternal age (44.8 years). In the ultrasound examination we found no further anatomical abnormalities except an ECF in the left ventricle. Amniocentesis revealed a mosaic trisomy 13 with the karyotype 47, XY, +13/46, XY, the child was born alive with 2160 g without phenotypic abnormalities. In the second case we detected two ECFs, one in the left and one in the right ventricle, in primary invasive testing in a 34.8-year-old patient at 14 + 5 weeks. The crown rump length of the fetus corresponded to 13 + 6 weeks. No further ultrasound abnormalities were found. Chromosomal analysis in all examined metaphases from two independent amniotic fluid cultures revealed the karyotype 47, XY + 13. The mother decided to terminate the pregnancy. No autopsy was performed. From these figures, an LR+ of iECF for trisomy 13 of 1.01 was calculated (CI: 0–2.32). The prevalence of structural chromosomal anomalies in the second-trimester anomaly scan collective was 0.08% (52/68967), of which 2 showed an iECF. This resulted in a LR+ of 0.76 at a 95%CI of 0–1.75. There was no association between structural chromosomal anomalies and iECF.

Discussion

The results of our study support the conclusion that an isolated echogenic cardiac focus also in otherwise inconspicuous ultrasound examinations increases the a priori risk by a factor that is with 95% probability greater than 1.5. Based on the individual a priori risk,



► **Fig. 2** Zoom of the results of the meta-analysis: Data and predictive posterior contours.

this risk increase regarding trisomy 21 applies to both high-risk and low risk pregnancies and should be taken into account in prenatal counselling. By combining the data from our center with the results of the meta-analysis, the mean LR of the high-risk group converges substantially with the mean LR of the low-risk group and the mean LR of the total mixed population. The 95 % posterior intervals also overlap clearly. Assuming that the pre-selection is stronger in the high-risk group and the investigator's expectations focus more on a possible trisomy 21, which may favor the detection of an ECF, this approximation of mean LRs supports the assumption that the effective likelihood ratio for isolated ECF is not markedly dependent on a priori risk. Furthermore, we found no evidence of association with iECF and structural chromosomal anomalies in our data. Overall, the prevalence of iECF and trisomy 21 as well as the distribution of pregnancy weeks in our study are essentially consistent with previous comparable reports [5, 14, 17–19]. However, these figures must also be seen in the context of a large number of publications on second-trimester risk calculation for soft marker screening. In 2001, Nyberg et al. published a statistically significant association with an LR+ of 6.8% if isolated ECF was found without a systematic search for other markers and of 1.8 (CI: 1.0–3.2) if all other markers were systematically excluded [10]. Our results are consistent with this publication. Agathokleous and Nicolaides came to a slightly different conclusion in their 2013 meta-analysis in which they derived the LR+ for isolated ECF by multiplying the pooled LR+ for ECF (5.83, CI: 5.02–6.77) by the negative LR of each other marker [21]. The calculated LR+ of an isolated ECF in this study was 0.95, which conflicts with our observations. However, Nyberg et al. evaluated only 6 soft markers (nuchal thickening, hyperechoic bowel, short humerus, short femur, pyelectasis and ECF), while Agathokleous additionally included ventriculomegaly, ARSA (aberrant right subclavian artery) and present or absent nasal bone.

In particular, the detection of ARSA with its high LR+ of 21.48 (CI: 11.48–40.1) is indispensably connected to the use of high-resolution ultrasound techniques. Such fluctuations confirm our conviction that, for genetic counselling, likelihood ratios should be derived from high-quality meta-analyses and not from single-center publications. The main strength of our study is the high number of cases which allowed the establishment of a low-risk subgroup with sufficient statistical power to test the association of iECF and trisomy 21. A further strength is the use of a special method for combining evidence from different publications with the data of a coherent collective. Thus, we were able to minimize the bias by uncontrolled variability between different examination settings and populations.

One weakness of our study is a possible non-response bias by the exclusion of 15% of cases in which the definitive outcome of pregnancy could not be determined. If we assume that parents or the referring gynecologists tend to inform the prenatal medicine unit probably more frequently in cases of abnormal outcome, the exclusion of all non-responders would increase the LR+ of iECF for trisomy 21, if a disproportionate number of families with trisomy 21 and iECF reported back (true positives). If, however, we assume that in the 15% with unknown outcome there is no case of trisomy 21 and distribute these cases between the true negatives and the false positives according to the prevalence of iECF of about 5%, the LR+ would only change slightly from 2.68 to 2.67 for our general collective. However, we can only speculate on the number of children with Down's syndrome that are concealed in the 15% figure without outcome. Another weakness is that an inconspicuous phenotype at birth does not exclude chromosomal trisomy 21. This may underestimate the number of Down's syndrome cases detected postnatally. Karyotyping of all included cases would certainly be the gold standard but we think that this is very difficult to achieve

for such a large coherent collective. Furthermore, phenotypically normal children could have a cardiac defect that is not immediately noticeable after birth. Therefore, a potential shortcoming of the term 'isolated ECF' should be mentioned. Another inherent weakness of our study is the general preselection of patients, who are referred to a prenatal center, hence having an elevated risk for trisomy 21. In addition to e. g. maternal age, family genetic predispositions, drug or radiation exposure, related marriage and a variety of smaller and larger ultrasound abnormalities become important for the referring gynecologist. Thus, our figures cannot be representative for an unselected normal collective, even after including evidence from different studies. Assignment to the "low-risk" group for trisomy 21 was made only on the basis of maternal age or previous FTS findings. Only a few studies assessed an increased risk of trisomy 18, trisomy 13 or structural abnormalities based on an isolated echogenic focus [23–25].

With respect to trisomy 13 and 18, we found no reasonable use for the ECF as a marker. In summary, finding of an isolated echogenic heart focus presented significant associations with Down syndrome among pregnant women in both high- and low-risk groups. The individual risk burden of each patient should be determined and discussed as a part of genetic counselling. Since 2012 a new assessment tool for chromosomal abnormalities, especially with regard to trisomy 21, has been available. Noninvasive prenatal testing (NIPT) is able to detect placental cell-free DNA fragments in maternal blood. The NIPT test is a useful variant for clarifying patients with a medium-risk constellation [26]. The limitations of the NIPT are a lack of feasibility in 5% of cases due to an insufficient concentration of placental DNA in the maternal plasma, as well as discordant findings between NIPT and genetic analysis by placental mosaicism [27]. Despite the high detection rate for trisomy 21, it should be emphasized that NIPT is not regarded as a diagnostic procedure, but as a screening test like FTS. In the case of high-risk constellations, we consider diagnostic procedures by an experienced examiner to be the better alternative. Regarding the risks of amniocentesis, a 2015 meta-analysis concludes that the combined procedural risk of miscarriage for amniocentesis is 0.11% (95% CI: –0.04% to 0.26%) [28]. In daily practice, genetic counselling becomes more and more complex due to the increasingly refined ultrasound techniques and sophisticated screening and diagnostic capabilities. It is essential for an expectant mother and her family to undergo in-depth counselling exploring all options.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- [1] Thompson MMR, Willard H. *Genetics in Medicine*. 5th ed. Philadelphia: Thompson and Thompson; 1991
- [2] Nicolaidis KH, Azar G, Byrne D et al. Fetal nuchal translucency: Ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304: 867–869
- [3] Alldred SK, Takwoingi Y, Guo B et al. First trimester ultrasound tests alone or in combination with first trimester serum tests for Down's syndrome screening. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017; 3: Cd012600
- [4] Audibert F, Dommergues M, Benattar C et al. Screening for Down syndrome using first-trimester ultrasound and second-trimester maternal serum markers in a low-risk population: A prospective longitudinal study. *Ultrasound in obstetrics & gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2001; 18: 26–31
- [5] Aagaard-Tillery KM, Malone FD, Nyberg DA et al. Role of second-trimester genetic sonography after Down syndrome screening. *Obstetrics and Gynecology* 2009; 114: 1189–1196
- [6] Benacerraf BR. Should sonographic screening for fetal Down syndrome be applied to low risk women? *Ultrasound in obstetrics & gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2000; 15: 451–455
- [7] Doubilet PM, Copel JA, Benson CB et al. Choroid plexus cyst and echogenic intracardiac focus in women at low risk for chromosomal anomalies: The obligation to inform the mother. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2004; 23: 883–885
- [8] Rodriguez R, Herrero B, Bartha JL. The continuing enigma of the fetal echogenic intracardiac focus in prenatal ultrasound. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 2013; 25: 145–151
- [9] Bromley B, Lieberman E, Laboda L et al. Echogenic intracardiac focus: A sonographic sign for fetal Down syndrome. *Obstetrics and Gynecology* 1995; 86: 998–1001
- [10] Nyberg DA, Souter VL, El-Bastawissi A et al. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2001; 20: 1053–1063
- [11] Nicolaidis KH, Wegrzyn P. [Sonographic features of chromosomal defects in the second trimester of pregnancy]. *Ginekologia polska* 2005; 76: 528–535
- [12] Vintzileos AM, Egan JF. Adjusting the risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1995; 172: 837–844
- [13] Winter TC, Anderson AM, Cheng EY et al. Echogenic intracardiac focus in 2nd-trimester fetuses with trisomy 21: Usefulness as a US marker. *Radiology* 2000; 216: 450–456
- [14] Anderson N, Jyoti R. Relationship of isolated fetal intracardiac echogenic focus to trisomy 21 at the mid-trimester sonogram in women younger than 35 years. *Ultrasound in obstetrics & gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2003; 21: 354–358
- [15] Bromley B, Lieberman E, Shipp TD et al. Significance of an echogenic intracardiac focus in fetuses at high and low risk for aneuploidy. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 1998; 17: 127–131
- [16] Vibhakar NI, Budorick NE, Scioscia AL et al. Prevalence of aneuploidy with a cardiac intraventricular echogenic focus in an at-risk patient population. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 1999; 18: 265–268 quiz 269–270
- [17] Weisz B, Pandya PP, David AL et al. Ultrasound findings after screening for down syndrome using the integrated test. *Obstetrics and Gynecology* 2007; 109: 1046–1052
- [18] Shanks AL, Odibo AO, Gray DL. Echogenic intracardiac foci: associated with increased risk for fetal trisomy 21 or not? *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2009; 28: 1639–1643

- [19] Huang SY, Shaw SW, Cheuh HY et al. Intracardiac echogenic focus and trisomy 21 in a population previously evaluated by first-trimester combined screening. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 2010; 89: 1017–1023
- [20] Verde PE, Ohmann C. Combining randomized and non-randomized evidence in clinical research: a review of methods and applications. *Research Synthesis Methods* 2015; Mar 6: 45–62
- [21] Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LC et al. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2013; 41: 247–261
- [22] Verde PE. bamdit: An R Package for bayesian meta-analysis of diagnostic test data. *Journal of Statistical Software* 2018; 86: 1–32
- [23] Sepulveda W, Cullen S, Nicolaidis P et al. Echogenic foci in the fetal heart: a marker of chromosomal abnormality. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 490–492
- [24] Roberts DJ, Genest D. Cardiac histologic pathology characteristic of trisomies 13 and 21. *Hum Pathol* 1992; 23: 1130–1140
- [25] Lehman CD, Nyberg DA, Winter TC 3rd et al. Trisomy 13 syndrome: Prenatal US findings in a review of 33 cases. *Radiology* 1995; 194: 217–222
- [26] Kozłowski P, Burkhardt T, Gembruch U et al. DEGUM, OGUM, SGUM and FMF Germany recommendations for the implementation of first-trimester screening, detailed ultrasound, cell-free dna screening and diagnostic procedures. *Ultraschall in Med (Stuttgart, Germany: 1980)* 2018; DOI: 10.1055/a-0631-8898
- [27] Revello R, Sarno L, Ispas A et al. Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: Consequences of a failed result. *Ultrasound in obstetrics & gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2016; 47: 698–704
- [28] Akolekar R, Beta J, Picciarelli G et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: A systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2015; 45: 16–26

3. Diskussion

Vielen werdenden Eltern ist es wichtig, schon früh und vor allen Dingen möglichst sicher eine Bestätigung dafür zu bekommen, dass ihr Baby gesund auf die Welt kommen wird. Insbesondere im Hinblick auf Chromosomenstörungen wünschen die Paare eine frühe diagnostische Abklärung, um eine Entscheidung darüber zu treffen, ein behindertes Kind anzunehmen oder einen Schwangerschaftsabbruch in Erwägung zu ziehen. Das Risiko für Kinder mit Chromosomenstörungen, insbesondere für das Down- Syndrom, steigt mit zunehmendem mütterlichen Alter. Die Amniozentese liefert, mit einem Fehlgeburtsrisiko von 0,1%^{8,72}, eine definitive Methode um ein Down- Syndrom nachzuweisen oder auszuschließen. In der heutigen Zeit stehen Schwangeren Screening-Methoden zur Verfügung, die zum Teil kombiniert durchgeführt werden können. Eine frühe Einschätzung des Risikos bietet das Erstrimesterscreening (ETS) in der 11⁺⁰– 13⁺⁶ SSW. Hierbei steht mit einer Detektionsrate von 95% und einer Falsch-Positiv-Rate (FPR) von 5% ein sehr sensibles Verfahren zum Nachweis eines erhöhten Risikos für das Down-Syndrom zur Verfügung.¹⁵ Bei der Entscheidung weiterführender Diagnostik im Hinblick auf Chromosomenstörungen ist für viele Schwangere das ETS von zentraler Bedeutung. Ein zusätzlich diagnostischer Arm ist der differenzierte Feinultraschall im 2. Trimenon der Schwangerschaft. Neben einem organischen Fehlbildungsausschluss wird der Fetus auch auf sogenannte „Marker“ überprüft, die das Risiko für Chromosomenstörungen- und hier insbesondere für die Trisomie 21- erhöhen können. Die Nutzung sonographischer Marker ist häufig problematisch, da sie auch bei Feten ohne Chromosomenstörungen nachweisbar sind und damit eine nicht unerhebliche Falsch-Positiv-Rate aufweisen. Daraus resultierend ist bei niedriger Prävalenz der Erkrankung der Positiv-Prädiktive-Wert (PPV) des Befundes gering. Als ein Ergebnis verbesserter Ultraschallgerätetechnik in den letzten 20 Jahren und Darstellung des 4-Kammerblicks im Basisultraschall des 2. Trimenons ist es heutzutage auch für ungeübte Untersucher leicht, den echogenen Herzfokus aufzufinden. Infolgedessen stellt der Nachweis „ECF“ eine häufige Indikation dar, Patienten zur Echokardiographie in ein Pränatalzentrum zu überweisen. Konsens vergangener Studien ist ein erhöhtes Risiko für Trisomie 21, wenn der echogene

Herzfokus in Kombination mit anderen „Markern“ im Fehlbildungsschall des 2. Trimenons auftritt. In diesen Fällen wird eine weiterführende diagnostische Punktion z.B. über eine Amniozentese empfohlen.^{19,20,53,73} Die Häufigkeit eines isolierten Markers variiert je nach Art und Anzahl der gesuchten Marker. Obwohl viele dieser isolierten Marker bei Feten ohne weitere Fehlbildungen oder Anomalien auftreten, findet man sie noch häufiger bei Feten mit Trisomie 21.¹⁹ In unserer Studie sind wir bewusst nicht auf die Kombination des ECF mit anderen Markern eingegangen. Für die Beratung im klinischen Alltag ist diese Tatsache irrelevant, denn findet man im Ultraschall weitere Auffälligkeiten, wird den Eltern, unabhängig davon ob ein echogener Herzfokus vorliegt oder nicht, zu einer diagnostischen Punktion geraten. Viel nützlicher ist es zu wissen, inwieweit ein isolierter echogener Herzfokus mit der Trisomie 21 assoziiert und welche Optionen man den werdenden Eltern zur Klärung der Chromosomen zur Verfügung stellen kann: Ist eine Karyotypisierung bei bestimmten Risikoprofilen vielleicht nicht weiter erforderlich und reicht eine Klärung des Chromosomenstatus über die Durchführung eines nicht invasiven Pränataltest (NIPT) sogar aus? Die vorliegende Arbeit wurde mit der Zielsetzung erstellt, sich einen Überblick über das eigene Patientenkollektiv zu verschaffen und darüber hinaus einen validen Beitrag zur aktuellen Diskussion bezüglich des echogenen Herzfokus zu leisten. Hierfür wurden retrospektiv Daten von 102.847 euploiden Feten und 557 Feten mit Trisomie 21 im Zeitraum von 2000–2016 in unserem Zentrum ausgewertet.

3.1. Der isolierte intrakardiale echogene Herzfokus und das Screening auf Trisomie 21

Die Ergebnisse unserer Studie stützen den Schluss, dass ein intrakardialer echogener Herzfokus auch bei sonst unauffälligen Ultraschalluntersuchungen das individuelle a priori Risiko einer Schwangeren um einen Faktor erhöht, der mit 95% Wahrscheinlichkeit größer ist als 1,5. Dieser Anstieg gilt sowohl für Hochrisiko- als auch für Niedrigrisikoschwangerschaften in Bezug auf Trisomie 21 und sollte basierend auf dem a priori Risiko in der pränatalen Beratung

berücksichtigt werden. Durch die Kombination der Daten aus unserem Zentrum mit den Ergebnissen der Meta-Analyse, konvergiert die mittlere *likelihood ratio* (LR) der Hochrisikogruppe im Wesentlichen mit der mittleren LR der Niedrigrisikogruppe und der mittleren LR der Allgemeinbevölkerung. Auch die A posteriori 95%-Konfidenzintervalle überlappen sich deutlich. Unter der Annahme, dass ein Untersucher in der Hochrisikogruppe konzentrierter auf das Auffinden von Markern für die Trisomie 21 achtet, könnte der Nachweis eines iECF durch diese im Vorfeld getroffene Patientenauswahl begünstigt werden. Aus diesem Grund unterstützt die Annäherung der mittleren LRs die Annahme, dass der effektive Wahrscheinlichkeitsquotient für den isolierten ECF nicht wesentlich vom a priori Risiko abhängt.

Insbesondere bei isoliertem Auftreten von Markern in Populationen mit niedrigem Risiko für Chromosomenstörungen ist die Falsch-Positiv-Rate mit 12-15% deutlich erhöht.^{19,34,74} Es ist daher wichtig, ein Kollektiv mit niedrigem Risiko von einem Kollektiv mit hohem Risiko zu differenzieren, um bestmögliche Ergebnisse bei der Erkennung von Chromosomenstörungen zu erzielen. Wir haben versucht, aufgrund Basis individueller Risikowerte, ein Niedrigrisikokollektiv wie im Material- und Methodenteil beschrieben, zu konstruieren. Der Vorteil dieser individuellen Risikobewertung ist, dass das Fehlen oder Vorliegen von Voruntersuchungen ebenso in die Bewertung einfließen, wie das Alter. Jede Patientin hat ihren individuellen Risiko-Score, anhand dessen sie entweder in ein Niedrig- oder Hochrisiko-Kollektiv eingeteilt wurde. Wir denken, dass dieses Vorgehen eine gute Möglichkeit ist, sich einem „echten“ Niedrig-Risikokollektiv, basierend auf Patienten eines Pränatalzentrums anzunähern und zu untersuchen.

In unserer Studie konnten wir einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen einem iECF und der Trisomie 21 auch in unserem Niedrig-Risiko-kollektiv (44.103 Fälle) mit einer Häufigkeit von 0,16% (69 Fälle) für Trisomie 21 nachweisen. Diese Patienten wurden uns in erster Linie zum Fehlbildungsausschluss mit einem Alter unter 35 Jahren oder aufgrund eines ETS-Risikos <1:300 (LR+: 2,59%, 95% CI: 1,05-4) zugewiesen. In diesem Zusammenhang ist hervorzuheben, dass die Prävalenz des Down-Syndroms bei Feten zum Zeitpunkt des Feinultraschalles im 2. Trimeon deutlich niedriger ist, da

die meisten betroffenen Feten bereits im späten ersten Trimenon zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings in 11⁺⁰-13⁺⁶ SSW identifiziert wurden.⁵⁵ Aus diesem Grund muss die derzeitige Interpretation der Down-Syndrom-Marker des zweiten Trimenons auf dem Ergebnis des ersten Trimenons und des kombinierten Screenings basieren, um eine möglichst genaue Risikoeinschätzung eines betroffenen Feten zu erhalten.⁷⁵ Insgesamt stimmt unsere Prävalenz des iECF und Trisomie 21, sowie die Verteilung der Schwangerschaftswochen im Wesentlichen mit früheren vergleichbaren Studien überein.^{48,54,58,76,77,78} Diese Zahlen müssen in Zusammenhang mit der großen Anzahl von Publikationen zur Berechnung des Risikos des zweiten Trimenons für das Marker-Screening gesehen werden. Im Jahr 2001 fanden Nyberg et al. eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem isolierten echogenen Fokus mit der Trisomie 21, mit einer LR + von 6,8%, wenn der iECF ohne systematische Suche nach anderen Markern gefunden wurde, und von 1,8 (CI: 1,0-3,2), wenn alle anderen Marker systematisch ausgeschlossen wurden.¹⁹ Unsere Ergebnisse stimmen mit dieser Veröffentlichung überein. Agathokleous und Nicolaidis kamen in ihrer Meta-Analyse von 2013 zu einer etwas anderen Schlussfolgerung, in der sie die LR+ für den isolierten ECF durch Multiplikation der gepoolten LR + für ECF (5,83, CI: 5,02-6,77) mit der negativen LR der jeweils anderen Marker ableiteten.⁷⁴ Die LR+ des iECF betrug in dieser Studie 0,95, was sich erwartungsgemäß von unseren Berechnungen ohne die Berücksichtigung negativer LRs bei fehlender Darstellbarkeit anderer Marker unterscheidet. Nyberg et al. untersuchten nur 6 Marker (Nackenödem, hyperechogener Darm, kurzer Humerus, kurzer Femur, Pyelektasie und ECF), während Agathokleous zusätzlich Ventrikulomegalie, ARSA (Aberrante rechte Arteria Subclavia) und vorhandenes oder fehlendes Nasenbein untersuchte. Insbesondere der Nachweis einer ARSA mit einer hohen LR+ von 21,48 (CI: 11,48-40,1) ist untrennbar mit hochauflösenden Ultraschalltechniken verbunden. Aus diesem Grund müssen wir davon ausgehen, dass das Fehlen von „Markern“ wie ARSA oder vorhandenem oder fehlendem Nasenbein in den ersten Jahren unseres Studienzeitraums nicht ausreichend dokumentiert wurden. Das würde bedeuten, dass durch das Hinzufügen neuer Marker in unterschiedlichen Zeitabschnitten mehr Fälle als "ECF plus Marker" klassifiziert werden müssten, die zuvor als „isoliert“ betrachtet wurden. Dieser Einfluss würde dazu führen, dass die LR+ des ECF im Laufe der

Jahre abnimmt, da das Risiko für die Trisomie 21 mit der Kombination der Marker signifikant steigt. Wenn wir unsere Daten nach Jahren stratifiziert auswerten, gibt es allerdings keinen Trend zu einem Rückgang der berechneten LR+ auf Basis der Jahresdaten, sondern einen leichten Aufwärtstrend. (Abb.1)

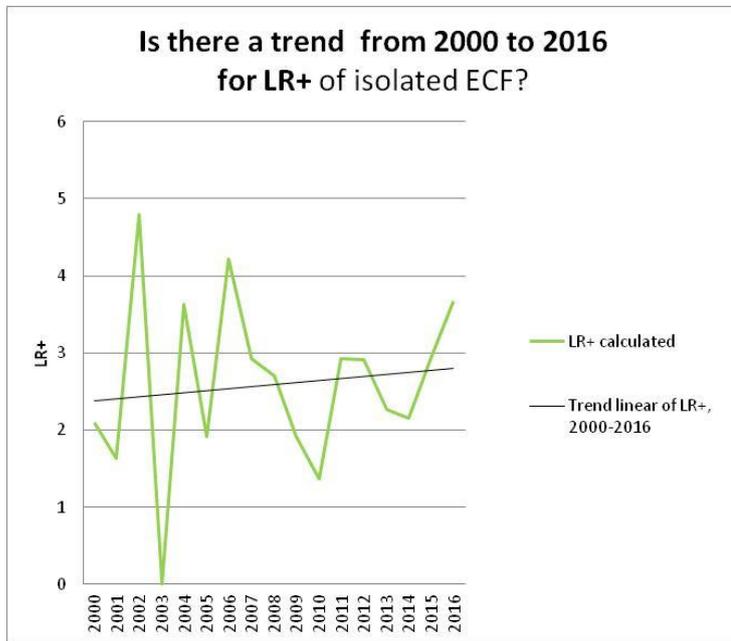


Abb.1: Trend für die LR+ des iECF von 2000-2016

Dies ist jedoch vor dem Hintergrund der zunehmenden Prävalenz der Trisomie 21 in unserem Kollektiv zu sehen. (Abb.2)

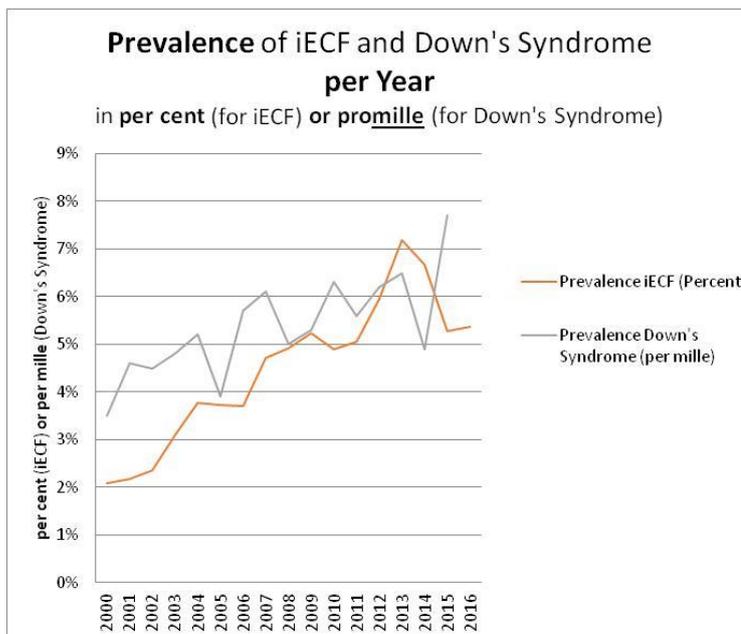


Abb.2: Prävalenz des iECF und Trisomie 21 von 2000-2016

Solche Schwankungen bestätigen unsere Überzeugung, dass Wahrscheinlichkeitsverhältnisse aus hochwertigen Metaanalysen und nicht aus Single-Center-Publikationen abgeleitet werden sollten, wenn Patienten genetisch beraten werden. Eine Karyotypisierung aller eingeschlossenen Fälle würde dieses Problem lösen, wäre jedoch mit großen ethischen Schwierigkeiten verbunden.

3.2 Der isolierte intrakardiale echogene Herzfokus und das Screening auf Trisomie 13, 18 und Strukturanomalien

Wir haben nicht nur die Trisomie 21, sondern auch Strukturanomalien im Hinblick auf den echogenen Herzfokus verglichen, um die Anwendbarkeit des NIPT in Fällen mit mittlerem Risikoprofil zu qualifizieren. Da die Trisomien 13 und 18 mit einer ausreichenden Entdeckungsrate ebenfalls durch den NIPT abgedeckt werden, war uns wichtig aufzuzeigen, dass keine weiteren chromosomalen Strukturanomalien mit einem vermehrten Auftreten des iECF assoziiert sind. Nur in wenigen Studien wurde ein erhöhtes Risiko für Trisomie 18, Trisomie 13 oder strukturelle Anomalien bei einem isolierten echogenen Fokus festgestellt.^{40,52,79} In Bezug auf Trisomie 13 und 18 sehen wir keinen Nutzen des iECF als Marker. Nur in einem Fall von Trisomie 13 wurde ein isolierter ECF als einzige Ultraschallanomalie festgestellt. In aller Regel zeigen die Trisomien 13 und 18 bereits im ersten oder frühen zweiten Trimenon signifikante anatomische Anomalien. Grob strukturelle Auffälligkeiten wie Herzfehler, Hirn- und/oder Extremitäten-Fehlbildungen sind häufig. Dies ist wichtig im Hinblick auf die Beratung von Patientinnen.

In unserer Studie fanden wir keinen Hinweis für eine Assoziation des iECF mit strukturellen Anomalien. Bei unbalancierten strukturellen Chromosomenstörungen zeigt sich häufig eine körperliche und geistige Entwicklungsverzögerung, Dysmorphien an Händen, Füßen und Gesicht sowie Fehlbildungen der inneren Organe. Der detaillierte Ultraschall des zweiten Trimenon mit sonoanatomischer Untersuchung des Feten hat von daher eine hohe Bedeutung

diese Auffälligkeiten zu erkennen und stellt eine Indikation zur diagnostischen Punktion dar, wenn Abnormalitäten festgestellt werden.

3.3 Diagnostische Möglichkeiten nach Detektion eines iECF

Seit 2012 ist ein weiterer Screeningtest für Chromosomenstörungen, insbesondere für die Trisomie 21, verfügbar. Nicht-invasive Pränataltests (NIPT) können im Blut der Mutter plazentare zellfreie DNA-Fragmente nachweisen, sind jedoch mit höheren Kosten verbunden. Der NIPT-Test ist eine sinnvolle Option zur Klärung bei isoliertem Nachweis eines iECF von Patienten mit mittlerer Risikokonstellation.¹⁷ Einschränkungen der NIPT-Untersuchung bestehen in 5% wegen mangelnder Durchführbarkeit aufgrund einer zu niedrigen Konzentration von plazentarer DNA im mütterlichen Plasma sowie widersprüchliche Befunde durch Plazentamosaikie zwischen NIPT und genetischer Analyse.²⁶ Trotz der hohen Entdeckungsrate für die Trisomie 21 ist zu betonen, dass der NIPT nicht als diagnostisches Verfahren, sondern als Screening-Test, ähnlich wie das Ersttrimesterscreening, angesehen wird. Bei Auffälligkeiten muss der Befund über eine diagnostische Punktion bestätigt werden. Bei Konstellationen mit hohem Risiko für Chromosomenstörungen halten wir eine invasive Diagnostik durch einen erfahrenen Untersucher als die bessere Alternative. Bezüglich der Abortrisiken durch eine invasive Diagnostik durch Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie kommt eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2015 zu dem Ergebnis, dass das Risiko einer Fehlgeburt bei Amniozentese 0,11% beträgt (95%CI: 0,04%-0,26%).⁸ Eine nationale Kohortenstudie von Wulff et al. 2016 hat gezeigt, dass das prozentuale Risiko der Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie nicht mit einer höheren Fehlgeburten- oder Totgeburtenrate assoziiert ist.⁷²

3.4 Limitationen der Arbeit

Eine Schwäche dieser Studie ist die Untersuchung einer im Risikoprofil überwiegend vorselektierten Population, deren Basisrisiko für die Trisomie 21 höher liegt als das in der Normalbevölkerung. Gründe hierfür sind Folgende: ein Großteil der Patientinnen wurde uns schon aufgrund des erhöhten mütterlichen Alters (über 35 Jahre) zum Fehlbildungsausschluss oder gezielten Screening auf Chromosomenstörungen überwiesen. Weiterhin wiesen schon einige Patientinnen Risikokonstellationen durch vorherige Schwangerschaften mit Chromosomenstörungen oder familiäre Häufung von Chromosomenstörungen auf. In der täglichen Praxis sind wir eben genau mit diesem heterogenen Patientinnen-Kollektiv konfrontiert, welches zum Teil schon Voruntersuchungen wie diagnostische Punktion, kombiniertes Ersttrimesterscreening, oder einen nicht invasiven Pränataltest in Anspruch genommen hat und/oder uns wegen auffälliger Befunde zum Feinultraschall zugewiesen wird. Ein großer Teil der untersuchten Patienten allerdings hatten keine vorherigen Untersuchungen und zeigten auch in der Anamnese kein Risikoprofil für Chromosomenstörungen. Diese Heterogenität im Kollektiv ist typisch für ein pränatalmedizinisches Zentrum, sodass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht uneingeschränkt für ein Niedrigrisikokollektiv aus der Normalbevölkerung gelten. Ein weiterer Nachteil unserer Studie ist das retrospektive Studiendesign. In dem wir alle Fälle mit bekanntem Karyotypen vor der Ultraschalluntersuchung ausgeschlossen haben, haben wir Untersuchungsbedingungen erzeugt, die eine maximale Akribie in der Softmarkersuche in jeder Untersuchung erforderlich machte. Agathokleus et al. haben auch aus diesem Grund retrospektive Studien in ihre Metaanalyse inkludiert, die o.g. Kriterien erfüllen.⁷³ Durch den Ausschluss von 15% der Fälle, in denen das endgültige Ergebnis der Schwangerschaft nicht bestimmt werden konnte erzeugen wir einen möglichen *Non-Response-Bias*. Wenn wir davon ausgehen, dass Eltern oder die überweisenden Gynäkologen dazu tendieren, überproportional häufig auffällige Ergebnisse an das pränatalmedizinische Zentrum zu melden, würde dies die LR+ der iECF für

Trisomie 21 erhöhen. Würden wir in Folge dessen dann davon ausgehen, dass es in den 15% mit unbekanntem Ergebnis keinen Fall von Trisomie 21 gibt und diese Fälle gemäß der Prävalenz von iECF von etwa 5% auf die „Richtig Negativen“ und die „Falsch Positiven“ verteilt werden, würde sich die LR+ für unser Allgemeinkollektiv nur leicht von 2,68 auf 2,67 ändern. Wir können allerdings nur über die Zahl der Kinder mit Down-Syndrom spekulieren, die sich in den 15% der Fälle ohne *Outcome* befinden.

Eine weitere Schwäche ist, dass ein unauffälliger Phänotyp bei der Geburt die chromosomale Trisomie 21 nicht ausschließt. So könnte die Anzahl der postnatal festgestellten Down-Syndrome unterschätzt werden.

3.5 Stärken der Arbeit

Stärke unserer Studie ist die hohe Fallzahl und ein extrahiertes Patientinnen-Kollektiv aus nur einem einzigen Institut. Dies erlaubt eine standardisierte Definition des echogenen Herzfokus und ermöglicht bei jeder Patientin mit auffälligen Befunden eine diagnostische Punktion. In den vergangenen Jahren gab es nur sehr wenige Arbeiten, die die Beziehung zwischen dem echogenen Herzfokus und der Trisomie 21 im Niedrigrisikokollektiv mit einer ausreichenden Fallzahl untersuchen konnten.^{45,51} Trotz der Heterogenität unseres aus individuellen Risiken konstruierten Niedrig-Risikokollektivs ist es unserer Kenntnis nach die beste Näherung an ein „echtes“ Niedrig-Risikokollektiv mit einer ausreichenden Fallzahl um Signifikanzen im Unterschied „normal“ versus isolierter echogener Herzfokus in Bezug auf Trisomie 21 zu erreichen. Trotz einer niedrigen Prävalenz von 0,16 % in dieser Gruppe und einer Sensitivität von 13 % erreicht dieses Ergebnis mit einer LR+ von 2.59 (CI: 1.05-4) statistische Signifikanz. Von daher sind wir die erste Gruppe die genauer aufzeigen kann, dass auch Schwangere im Niedrigrisikobereich für Trisomie 21 bei Nachweis des isolierten ECF ein statistisch höheres Risiko aufweisen. Aus diesem Grunde sehen wir eine Relevanz in der Klärung der Chromosomen durch weitere Untersuchungen. Eine weitere Stärke ist die Verwendung einer speziellen statistischen Methode zur Kombination von Evidenzen aus verschiedenen

Publikationen mit den Daten eines kohärenten Kollektivs. So minimieren wir den *Bias* durch unkontrollierte Variabilitäten zwischen verschiedenen Untersuchungseinstellungen und Populationen.

3.6 Schlussfolgerungen

Viele Frauen und deren Partner sehen die Ultraschalluntersuchung des 2. Trimenons als ein „wichtiges soziales Event“ und sind häufig emotional nicht auf das Auffinden von Auffälligkeiten eingestellt. Es existieren einige wenige Studien die aufzeigen, dass viele Paare nach Diagnose eines auffälligen Ultraschallbefundes mit der anschließenden Darstellung und Beratung unzufrieden waren. ⁽⁶⁸⁾ Insbesondere bei strukturellen Auffälligkeiten wie den Markern mit „unklarer Bedeutung“ gilt es in der klinischen Praxis gut recherchierte Algorithmen mit Zentrums spezifischen Entdeckungs- und Falsch-Positiv-Raten zu finden, um Eltern hinreichend über Screening-Untersuchungen, weiterführende invasive oder nicht invasive Diagnostik mit Grenzen und Risiken zu informieren. Bei Nachweis eines echogenen Herzfokus im Ultraschall ist es empfehlenswert, eine detaillierte Ultraschalluntersuchung inklusive Echokardiographie mit Screening auf weitere Marker, die mit einer Risikoerhöhung für das Down- Syndrom einhergehen, durchzuführen. Bei Nachweis eines isolierten echogenen Herzfokus sollte allen Frauen unabhängig vom Alter oder vom Ergebnis von Voruntersuchung eine Klärung des Chromosomenstatus angeboten werden. Im Niedrig- und Intermediären Risikobereich für Chromosomenstörungen ist es unserer Ansicht nach ausreichend einen NIPT durchzuführen. Da nach den Ergebnissen unserer Studie der isolierte ECF nur mit dem Down-Syndrom und keiner weiteren Chromosomenstörung assoziiert ist, kann der NIPT mit einer Entdeckungsrate von 99,6% und einer niedrigen FPR das Down Syndrom mit hinreichender Sicherheit nachweisen bzw. ausschließen.

4. Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Vetter K GM. Schwangerenvorsorge in Deutschland. Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz 2013; Ausgabe 12
2. Gemeinsamer Bundesausschuss 1986. Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“) der Fassung vom 10.12.1985 (veröffentlicht im Bundesanzeiger Nr. 60a vom 27.3.1986), zuletzt geändert am 22.03.2019 (veröffentlicht im Bundesanzeiger AT vom 27.05.2019)
3. Merz E. [Updated quality requirements regarding secondary differentiated ultrasound examination in prenatal diagnostics (= DEGUM level II) in the period from 18 + 0 to 21 + 6 weeks of gestation]. Ultraschall in Med 2012; 33:593–596
4. Abuhamad A, Minton KK, Benson CB et al. Obstetric and gynecologic ultrasound curriculum and competency assessment in residency training programs: consensus report. American journal of obstetrics and gynecology 2018; 218: 29-67
5. Hansmann M. Nachweis und Ausschluß fetaler Entwicklungsstörungen mittels Ultraschall-Screening und gezielter Untersuchung – ein Mehrstufenkonzept. Ultraschall 1981; 2: 206–220
6. Deutsche Gellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM) unter <https://www.ultraschall-akademie.de/kursportal.html>. Abgerufen am 01.07.2019
7. Beta J, Lesmes-Heredia C, Bedetti C et al. Risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review of the literature. Minerva ginecologica 2018; 70: 215-219
8. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology 2015; 45: 16-26
9. Gesundheitsstadt Berlin 2015 unter: <http://www.gesundheitsstadt-berlin.de/risikoschwangerschaft-laengst-die-regel-6401/> (Stand: 9. November 2016)
10. Statistisches Bundesamt (zuletzt 2017), Fachserie 1, Reihe 1.1, Natürliche Bevölkerungsbewegung, Statistisches Bundesamt (zuletzt 2019), Genesis -Datenportal
11. Hecht CA, Hook EB. Rates of Down syndrome at livebirth by one-year maternal age intervals in studies with apparent close to complete ascertainment in populations of European origin: a proposed revised rate schedule for use in genetic and prenatal screening. American journal of medical genetics 1996; 62: 376-385
12. de Graaf G, Engelen JJM, Gijsbers ACJ et al. Estimates of live birth prevalence of children with Down syndrome in the period 1991-2015 in

- the Netherlands. *Journal of intellectual disability research* : JIDR 2017; 61: 461-470
13. Snijders RJ, Holzgreve W, Cuckle H et al. Maternal age-specific risks for trisomies at 9-14 weeks' gestation. *Prenatal diagnosis* 1994; 14: 543-552
 14. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I et al. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal diagnosis and therapy* 2014; 35: 118-126
 15. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *American journal of obstetrics and gynecology* 2004; 191: 45-67
 16. Abele H, Wagner P, Sonek J et al. First trimester ultrasound screening for Down syndrome based on maternal age, fetal nuchal translucency and different combinations of the additional markers nasal bone, tricuspid and ductus venosus flow. *Prenatal diagnosis* 2015; 35: 1182-1186
 17. Kozłowski P, Burkhardt T, Gembruch U et al. DEGUM, OGUM, SGUM and FMF Germany Recommendations for the Implementation of First-Trimester Screening, Detailed Ultrasound, Cell-Free DNA Screening and Diagnostic Procedures. *Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany : 1980)* 2018, DOI: 10.1055/a-0631-8898:
 18. Merz E, Eichhorn KH, von Kaisenberg C et al. [Updated quality requirements regarding secondary differentiated ultrasound examination in prenatal diagnostics (= DEGUM level II) in the period from 18 + 0 to 21 + 6 weeks of gestation]. *Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany : 1980)* 2012; 33: 593-596
 19. Nyberg DA, Souter VL, El-Bastawissi A et al. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2001; 20: 1053-1063
 20. Bromley B, Lieberman E, Shipp TD et al. The genetic sonogram: a method of risk assessment for Down syndrome in the second trimester. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2002; 21: 1087-1096; quiz 1097-1088
 21. Nicolaides KH. Screening for chromosomal defects. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2003; 21: 313-321
 22. Lo YM, Tein MS, Lau TK et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 768-775
 23. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nature reviews Genetics* 2010; 11: 31-46
 24. Gil MM, Accurti V, Santacruz B et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2017; 50: 302-314
 25. Kagan KO, Eiben B, Kozłowski P. [Combined first trimester screening and cell-free fetal DNA - "next generation screening"]. *Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany : 1980)* 2014; 35: 229-236

26. Revello R, Sarno L, Ispas A et al. Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of a failed result. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2016; 47: 698-704
27. Thompson M MR, Willard H. *genetics in medicine* 5th ed. Philadelphia: Thompson and Thompson; 1991
28. Benacerraf BR, Gelman R, Frigoletto FD, Jr. Sonographic identification of second-trimester fetuses with Down's syndrome. *N Engl J Med* 1987; 317: 1371-1376
29. Nyberg DA, Resta RG, Luthy DA et al. Prenatal sonographic findings of Down syndrome: review of 94 cases. *Obstetrics and gynecology* 1990; 76: 370-377
30. Nicolaidis K, Shawwa L, Brizot M et al. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal defects. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1993; 3: 56-69
31. Raniga S, Desai PD, Parikh H. Ultrasonographic soft markers of aneuploidy in second trimester: are we lost? *MedGenMed : Medscape general medicine* 2006; 8: 9
32. Benacerraf BR. Use of sonographic markers to determine the risk of Down syndrome in second-trimester fetuses. *Radiology* 1996; 201: 619-620
33. Snijders RJ, Nicolaidis K. *Ultrasound markers for fetal chromosomal defects* New York: Panthenon; 1996
34. Hobbins JC, Lezotte DC, Persutte WH et al. An 8-center study to evaluate the utility of mid-term genetic sonograms among high-risk pregnancies. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2003; 22: 33-38
35. Bahado-Singh RO, Oz UA, Mendilcioglu I et al. The mid-trimester genetic sonogram. *Seminars in perinatology* 2005; 29: 209-214
36. Smith-Bindman R, Feldstein VA, Goldberg JD. The genetic sonogram in screening for Down syndrome. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2001; 20: 1153-1158
37. Schechter AG, Fakhry J, Shapiro LR et al. The left ventricular echogenic focus. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150: 1445-1446
38. Wax JR, Royer D, Mather J et al. A preliminary study of sonographic grading of fetal intracardiac echogenic foci: feasibility, reliability and association with aneuploidy. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2000; 16: 123-127
39. Facio MC, Hervias-Vivancos B, Brouillon JR et al. Cardiac biometry and function in euploid fetuses with intracardiac echogenic foci. *Prenatal diagnosis* 2012; 32: 113-116
40. Roberts DJ, Genest D. Cardiac histologic pathology characteristic of trisomies 13 and 21. *Hum Pathol* 1992; 23: 1130-1140
41. Levy DW, Mintz MC. The left ventricular echogenic focus: a normal finding. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150: 85-86

42. Goncalves TR, Zamith MM, Murta CG et al. Chromosomal and cardiac anomalies in fetuses with intracardiac echogenic foci. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 95: 132-137
43. Sohl BD, Scioscia AL, Budorick NE et al. Utility of minor ultrasonographic markers in the prediction of abnormal fetal karyotype at a prenatal diagnostic center. *American journal of obstetrics and gynecology* 1999; 181: 898-903
44. Arda S, Sayin NC, Varol FG et al. Isolated fetal intracardiac hyperechogenic focus associated with neonatal outcome and triple test results. *Archives of gynecology and obstetrics* 2007; 276: 481-485
45. Petrikovsky BM, Challenger M, Wyse LJ. Natural history of echogenic foci within ventricles of the fetal heart. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1995; 5: 92-94
46. Merati R, Lovotti M, Norchi S et al. Prevalence of fetal left ventricular hyperechogenic foci in a low risk population. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 1102-1104
47. Dildy GA, Judd VE, Clark SL. Prospective evaluation of the antenatal incidence and postnatal significance of the fetal echogenic cardiac focus: a case-control study. *American journal of obstetrics and gynecology* 1996; 175: 1008-1012
48. Shanks AL, Odibo AO, Gray DL. Echogenic intracardiac foci: associated with increased risk for fetal trisomy 21 or not? *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2009; 28: 1639-1643
49. Sotiriadis A, Makrydimas G, Ioannidis JP. Diagnostic performance of intracardiac echogenic foci for Down syndrome: a meta-analysis. *Obstetrics and gynecology* 2003; 101: 1009-1016
50. Bromley B, Lieberman E, Shipp TD et al. Significance of an echogenic intracardiac focus in fetuses at high and low risk for aneuploidy. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 1998; 17: 127-131
51. Manning JE, Ragavendra N, Sayre J et al. Significance of fetal intracardiac echogenic foci in relation to trisomy 21: a prospective sonographic study of high-risk pregnant women. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 1083-1084
52. Sepulveda W, Cullen S, Nicolaidis P et al. Echogenic foci in the fetal heart: a marker of chromosomal abnormality. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 490-492
53. Vintzileos AM, Egan JF. Adjusting the risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography. *American journal of obstetrics and gynecology* 1995; 172: 837-844
54. Lamont RF, Havutcu E, Salgia S et al. The association between isolated fetal echogenic cardiac foci on second-trimester ultrasound scan and trisomy 21 in low-risk unselected women. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2004; 23: 346-351
55. Achiron R, Lipitz S, Gabbay U et al. Prenatal ultrasonographic diagnosis of fetal heart echogenic foci: no correlation with Down syndrome. *Obstetrics and gynecology* 1997; 89: 945-948

56. Thilaganathan B, Olawaiye A, Sairam S et al. Isolated fetal echogenic intracardiac foci or golf balls: is karyotyping for Down's syndrome indicated? *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 1294-1297
57. Winter TC, Anderson AM, Cheng EY et al. Echogenic intracardiac focus in 2nd-trimester fetuses with trisomy 21: usefulness as a US marker. *Radiology* 2000; 216: 450-456
58. Anderson N, Jyoti R. Relationship of isolated fetal intracardiac echogenic focus to trisomy 21 at the mid-trimester sonogram in women younger than 35 years. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2003; 21: 354-358
59. Huggon IC, Cook AC, Simpson JM et al. Isolated echogenic foci in the fetal heart as marker of chromosomal abnormality. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2001; 17: 11-16
60. Lorente AMR, Moreno-Cid M, Rodriguez MJ et al. Meta-analysis of validity of echogenic intracardiac foci for calculating the risk of Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology* 2017; 56: 16-22
61. Shipp TD, Benacerraf BR. Second trimester ultrasound screening for chromosomal abnormalities. *Prenatal diagnosis* 2002; 22: 296-307
62. Down JL. Observations on an ethnic classification of idiots. 1866. *Mental retardation* 1995; 33: 54-56
63. Antonarakis SE. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms. *Down Syndrome Collaborative Group. N Engl J Med* 1991; 324: 872-876
64. Parker SE, Mai CT, Canfield MA et al. Updated National Birth Prevalence estimates for selected birth defects in the United States, 2004-2006. *Birth defects research Part A, Clinical and molecular teratology* 2010; 88: 1008-1016
65. Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W et al. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1999; 13: 167-170
66. Nicolaides KH, Sebire NJ, Snijders RJ et al. Down's syndrome screening in the UK. *Lancet* 1996; 347: 906-907
67. Lenhard W, Breitenbach E, Ebert H et al. Attitudes of mothers towards their child with Down syndrome before and after the introduction of prenatal diagnosis. *Intellectual and developmental disabilities* 2007; 45: 98-102
68. Loane M, Morris JK, Addor MC et al. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 2013; 21: 27-33
69. Morris, J.K. Trends in Down's syndrome live births and antenatal diagnoses in England and Wales from 1989 to 2008: analysis of data from the National Down Syndrome Cytogenetic Register. *BMJ* 2009;339: b3794 doi:10.1136/ bmj.b 3794
70. Savva GM, Walker K, Morris JK. The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21 (Down syndrome). *Prenatal diagnosis* 2010; 30: 57-64

71. Springett A, Wellesley D, Greenlees R et al. Congenital anomalies associated with trisomy 18 or trisomy 13: A registry-based study in 16 European countries, 2000-2011. *American journal of medical genetics Part A* 2015; 167a: 3062-3069
72. Wulff CB, Gerds TA, Rode L et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147,987 singleton pregnancies. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2016; 47: 38-44
73. Bettelheim D, Deutinger J, Bernaschek G. The value of echogenic foci ('golfballs') in the fetal heart as a marker of chromosomal abnormalities. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1999; 14: 98-100
74. Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LC et al. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2013; 41: 247-261
75. Benacerraf BR. The history of the second-trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice. *Prenatal diagnosis* 2010; 30: 644-652
76. Huang SY, Shaw SW, Cheuh HY et al. Intracardiac echogenic focus and trisomy 21 in a population previously evaluated by first-trimester combined screening. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 2010; 89: 1017-1023
77. Weisz B, Pandya PP, David AL et al. Ultrasound findings after screening for Down syndrome using the integrated test. *Obstetrics and gynecology* 2007; 109: 1046-1052
78. Aagaard-Tillery KM, Malone FD, Nyberg DA et al. Role of second-trimester genetic sonography after Down syndrome screening. *Obstetrics and gynecology* 2009; 114: 1189-1196
79. Lehman CD, Nyberg DA, Winter TC, 3rd et al. Trisomy 13 syndrome: prenatal US findings in a review of 33 cases. *Radiology* 1995; 194: 217-222

5. Danksagung

Herrn Professor Dr. med. P. Kozlowski danke ich für die großzügige Bereitstellung der Rahmenbedingungen, die diese Arbeit erst ermöglicht haben.

Meinen außerordentlichen Dank möchte ich Herrn Dr. med. Alexander Knippel aussprechen. Durch sachkundige Unterstützung und überaus kompetente, sowie motivierende und freundliche Betreuung ermöglichte er mir, wissenschaftliches Denken und Arbeiten zu erlernen. Er war immer ein exzellenter Ansprechpartner im Rahmen wissenschaftlicher Diskussionen.

Weiterhin gilt mein Dank meinen Kollegen und Kolleginnen von praenatal.de, die mir stets mit konstruktiver Kritik zur Seite standen.