

Nichtinvasive molekulargenetische Methoden in der pränatalen Diagnostik

Die pränatale Diagnostik ist ein integraler Bestandteil der geburtshilflichen Praxis. Um Zellen des ungeborenen Fetus zu gewinnen, werden üblicherweise invasive Verfahren, wie die Amniozentese oder die Chorionzottenbiopsie, eingesetzt. Diese Eingriffe sind jedoch mit einem Risiko für eine Fehlgeburt verbunden, das i. d. R. für beide Verfahren jeweils bei etwa 0,5–1% liegt, sodass sie nur bei strenger Indikationsstellung durchgeführt werden. Typische Indikationen beinhalten den Verdacht auf eine fetale chromosomale Aneuploidie oder eine bekannte monogene Erkrankung in der betreffenden Familie. Für die chromosomalen Aneuploidien, wie die Trisomie 21, die zum Down-Syndrom führt, wurden nichtinvasive Screeningtests, basierend auf Ultraschall und Messung von Hormonen und Proteinen im mütterlichen Serum, implementiert, um Schwangerschaften mit einem erhöhten Risiko zu identifizieren [12]. Für bestimmte monogene Krankheiten, wie Mukoviszidose oder die Thalassämie, gehört bei einer positiven Familienanamnese die Bestätigung des Trägerstatus der Eltern zu den Strategien, um entsprechende Risikoschwangerschaften zu identifizieren und ggf. eine invasive pränatale Diagnostik zu empfehlen.

Berücksichtigt man die Risiken, die mit der herkömmlichen invasiven Pränataldiagnostik verbunden sind, ist es nicht überraschend, dass verschiedenste Ansätze und Verfahren vorgeschlagen und getestet wurden, um eine genetische Analy-

se des Fetus nichtinvasiv durchführen zu können. Voraussetzung für eine nichtinvasive pränatale Diagnostik ist, dass fetales Untersuchungsmaterial ohne Schädigung des Fetus entnommen werden kann. Seit dem Nachweis von fetalen Zellen im mütterlichen Kreislauf einer Schwangeren waren diese für viele Jahre Hoffnungsträger für eine nichtinvasive pränatale Diagnostik. Zahlreiche Ansätze wurden entwickelt, um fetale Zellen zu isolieren und anschließend mit verschiedensten Verfahren zu analysieren. Fetale Zellen sind jedoch im Blut sehr selten, sodass es aufwendiger Verfahren bedarf, sie aufzuspüren. Die eindeutige Unterscheidung zu maternalen Zellen ist oft schwierig, und ein weiteres Problem ist, dass diese im mütterlichen Blut auch noch viele Jahre nach einer Schwangerschaft nachgewiesen werden können. Aus diesen Gründen entwickelte sich die Untersuchung fetaler Zellen aus mütterlichem Blut nicht zu Verfahren weiter, die für die Routinediagnostik tauglich wären [11].

Im Jahr 1997 wurde erstmals die Existenz von zellfreier fetaler DNA im mütterlichen Plasma und Serum von der Arbeitsgruppe von Lo nachgewiesen [13]. Die gleiche Arbeitsgruppe zeigte dann später, dass der fetalen DNA etwa 10% der DNA im mütterlichen Plasma zukommen und relativ leicht durch molekulare Techniken nachgewiesen werden kann. Fetale DNA kann im mütterlichen Plasma bereits wenige Wochen nach Konzeption detektiert werden. Die Elimination aus dem mütter-

lichen Plasma erfolgt rasch, ungefähr 2 h nach einer Entbindung ist eine Bestimmung nicht mehr möglich [4]. Die fetale DNA ist mit einer durchschnittlichen Größe von etwa 166 bp stark fragmentiert, wahrscheinlich resultierend aus fetalen apoptotischen Zellen [17]. Aufgrund der vorgenannten Eigenschaften scheint zellfreie fetale DNA im mütterlichen Plasma eine vielversprechende Quelle für fetales genetisches Material zu sein. Hierbei ist es eine große Herausforderung, die fetale DNA, die nur einen kleinen Anteil an der Gesamt-DNA im maternalen Kreislauf ausmacht, eindeutig von der mütterlichen DNA zu unterscheiden und qualitative und quantitative Analysen durchzuführen. Diese Übersichtsarbeit beschreibt, wie sich dieser Bereich durch Einsatz der neuen Sequenzierverfahren („next-generation sequencing“) über erste locuspezifische Anwendungen zu Ansätzen entwickelt hat, die in der Lage sind, fetale Aneuploidien aus dem mütterlichen Blut zu identifizieren.

Identifizierung von fetalen locuspezifischen fetalen Sequenzen im mütterlichen Plasma

Die erste einfachste Anwendung war der Nachweis von DNA-Sequenzen des Y-Chromosoms, da dieses im mütterlichen Genom nicht vorkommt [13]. Der positive Nachweis von Chromosom-Y-DNA-Sequenzen im mütterlichen Plasma legt na-

he, dass es sich bei der Schwangerschaft um einen männlichen Fetus handelt und ein solcher Befund kann im Fall von familiären X-chromosomalen Erkrankungen von Relevanz sein. Außerdem wurden fetale DNA-Analysen für die nichtinvasive Bestimmung des fetalen Rhesus-D(RhD)-Status eingesetzt, um bei RhD-positiven Feten von RhD-negativen Müttern mit vorheriger Sensibilisierung das bestehende Risiko besser abschätzen zu können [14].

Während der Nachweis von fetalem Y-Chromosom und RhD-Sequenzen im mütterlichen Plasma sehr zuverlässig ist, ist die Bestätigung der Abwesenheit solcher Sequenzen im mütterlichen Plasma, wie im Fall eines weiblichen oder RhD-negativen Fetus, keine triviale Aufgabe. Der fehlende Nachweis solcher Sequenzen muss nicht bedeuten, dass diese nicht vorhanden sind, sondern könnte auch methodisch oder durch Degradierung der fetalen DNA verursacht worden sein. Für den Nachweis von fetaler DNA in mütterlichen Plasmaproben sind deshalb universell-fetale DNA-Marker sehr wichtig. Dafür sind väterliche Polymorphismen, wie Einzelnukleotidpolymorphismen („single nucleotide polymorphisms“, SNPs) oder Insertions-/Deletions-Polymorphismen geeignet. Da diese nur dann eine Aussagekraft haben, wenn sie nicht auch bei der Mutter vorkommen und an den Fetus vererbt werden, werden nicht einzelne, sondern gleich mehrere väterliche Marker eingesetzt [6].

Zusätzlich wurden auch verschiedene nichtinvasive pränatale Diagnostikansätze für monogene Erkrankungen entwickelt. Relativ einfach ist der Nachweis von väterlichen Mutationen im mütterlichen Plasma, insbesondere für väterlich übertragene autosomal-dominante Erkrankungen, z. B. die Achondroplasie [19]. Viel problematischer ist dagegen die nichtinvasive Diagnose von autosomal-rezessiv übertragenen Erkrankungen, speziell wenn beide Eltern Träger der gleichen Mutation sind. Für diese Fragestellung gibt es nur sehr wenige methodische „Proof-of-principle-Publikationen“, also Studien zum Nachweis des Wirkprinzips (z. B. für die β -Thalassämie und das adrenogenitale Syndrom), mit komplexen und aufwendigen Verfahren, die für ein nor-

males pränatales Routinelabor kaum zu implementieren sind [4].

Epigenetische Marker in der nichtinvasiven pränatalen Diagnostik

Ferner gibt es Ansätze, die die unterschiedlichen Methylierungsmuster von Plazenta und mütterlichen Zellen ausnutzen. DNA-Methylierung bezieht sich auf das Vorhandensein einer Methylgruppe am 5'-Kohlenstoff eines Cytosinnukleotids, dem ein Guaninnukleotid vorausgeht (einem sog. CpG-Dinukleotid). CpG-Methylierungen in den Promotorregionen von Genen sind an der Regulation der Genexpression beteiligt. Weil unterschiedliche Gewebszellen im Körper verschiedene Genexpressionsprofile aufweisen, zeigt der Methylierungsstatus bestimmter Gene ein gewebespezifisches Muster. Von daher werden Gene ausgewählt, deren Methylierungsstatus sich zwischen Plazentagewebe und mütterlichen Blutzellen unterscheidet, da fetale DNA im mütterlichen Plasma hauptsächlich aus der Plazenta stammt [4].

Ein Beispiel ist das Methylierungsprofil des Promotors des *SERPINB5*-Gens [„serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 5“], das in Plazentagewebe hypomethyliert, im mütterlichen Blut aber hypermethyliert ist [2]. *SERPINB5* war der erste universelle zirkulierende fetale DNA-Marker, der für alle Schwangerschaften, unabhängig vom fetalen Geschlecht und Genotyp, verwendet werden konnte. Methylierungsspezifische Polymerasekettenreaktionen („polymerase chain reaction“, PCR) erfordern jedoch die sog. Bisulfitkonversion, die nicht methyliertes Cytosin in Uracil umwandelt, sodass sich Unterschiede in der genetischen Sequenz von methylierten und nichtmethylierten DNA-Molekülen ergeben. Diese Bisulfitkonversion kann aber auch zu einer Degradierung der DNA und somit zu einer Reduzierung der fetalen DNA im mütterlichen Plasma führen, was die Gefahr eines falsch-negativen Nachweises erhöht, insbesondere in der frühen Schwangerschaft, wenn die fetale DNA-Konzentration gering ist. Daher wurden auch fetale epigenetische Marker ohne die Notwendigkeit für eine Bisulfit-

konvertierung entwickelt, die dann auf methylierungssensitivem Restriktionsenzymverdau von hypomethylierten mütterlichen Sequenzen beruhen, sodass nur die hypermethylierten fetalen DNA Fragmente verbleiben.

Papageorgiou et al. [18] reicherte 12 unterschiedlich methylierte Chromosom-21-Sequenzen mittels Immunpräzipitation an. Dabei wurde ein 5-Methylcytidinspezifischer Antikörper eingesetzt, um methylierte Sequenzen zu erfassen und so fetusspezifische methylierte DNA anzureichern. Nach Amplifikation mit einer quantitativen PCR konnten in dieser Studie alle Trisomie-21-Fälle korrekt identifiziert werden.

Nichtinvasive pränatale Diagnose fetaler chromosomaler Aneuploidien

Die häufigste Fragestellung in der pränatalen Diagnostik ist die nach möglichen chromosomalen Aneuploidien, wie der Trisomie 21. Aufgrund der Risiken, die mit der invasiven pränatalen Diagnostik verbunden sind, wäre es ideal, wenn fetale Aneuploidien nichtinvasiv nachgewiesen werden könnten. Die Verwendung der zirkulierenden fetalen DNA für die Diagnose von fetalen Aneuploidien war ursprünglich technisch sehr anspruchsvoll, weil die maternalen Plasma-DNA Fragmente die überwiegende Mehrheit der Plasma-DNA ausmacht. Außerdem verursacht die zellfreie Natur der zirkulierenden fetalen DNA das Problem, die exakte Anzahl eines Chromosoms des Fetus genau zu bestimmen. Erst vor Kurzem wurden mehrere neue Ansätze entwickelt, um diese Herausforderungen zu meistern.

Analyse von fetusspezifischen mRNAs

Eine Möglichkeit, den störenden Einfluss mütterlicher DNA zu minimieren, besteht darin, sich auf Nukleinsäuremoleküle zu fokussieren, die spezifisch für den Fetus sind. Auf diese Weise könnte man auf mRNA, die nur von der Plazenta exprimiert wird, oder auf plazentaspezifische epigenetische Markierungen eines zu untersuchenden Chromosoms fokussieren. Eine Anzahl fetusspezifischer

Hier steht eine Anzeige.



medgen 2011 · 23:485–490 DOI 10.1007/s11825-011-0304-x
© Springer-Verlag 2011

J.B. Geigl · M.R. Speicher

Nichtinvasive molekulargenetische Methoden in der pränatalen Diagnostik

Zusammenfassung

Seit vielen Jahren wird an der Entwicklung nichtinvasiver pränataler Untersuchungen gearbeitet, um die Risiken für den Fetus bei der traditionellen Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie zu umgehen. Bis vor Kurzem waren die meisten Ansätze extrem aufwendig und nur auf ausgewählte Fragestellungen limitiert, sodass sie nicht über einen „Proof-of-principle-Status“ hinaus kamen. Dies hat sich durch Einführung neuer Sequenzierverfahren grundlegend geändert, weil erste Studien belegten, dass fetale Aneuploidien aus mütterlicher Plasma-DNA korrekt identifiziert werden können. Darüber hinaus erlau-

ben diese Techniken auch den Mutationsstatus des Fetus zu erheben, sodass sich einerseits in der pränatalen Diagnostik ganz neue Möglichkeiten ergeben, die andererseits aber auch mit erheblichen ethischen Herausforderungen verbunden sind. In dieser Übersicht wird die Entwicklung zu diesen neuen Verfahren dargestellt.

Schlüsselwörter

Pränatale Diagnostik · Aneuploidie · Monogene Erkrankungen · Überträgerstatustest · „Next-generation sequencing“

Noninvasive molecular genetic methods in prenatal diagnosis

Abstract

Work on the development of noninvasive prenatal tests to avoid risk to the fetus in traditional amniocentesis or chorion villus biopsy has been ongoing for many years. Until recently, most approaches were extremely expensive and limited only to selected applications, thus they failed to develop beyond a “proof-of-principle” status. This has changed radically as a result of the introduction of new sequencing methods, since initial studies have shown that fetal aneuploidies from maternal plasma DNA can be identified correctly. In addition, these techniques make it

possible to establish even the mutation status of the fetus. While on the one hand this offers completely new options in prenatal diagnosis, progress of this kind is associated with significant ethical challenges on the other. This overview article presents the development of these new methods.

Keywords

Prenatal diagnosis · Aneuploidy · Monogenic diseases · Carrier testing · Next-generation sequencing

mRNAs, die von potenziell aneuploiden Chromosomen exprimiert werden, wurde bisher identifiziert [10, 15].

Um die Chromosomenzahl aus dieser mRNA im mütterlichen Plasma abzuleiten, wird das Verhältnis von heterozygoten Allelen unter den Ziel-Nukleinsäuremolekülen zueinander bestimmt, womit Aussagen über relative Mengen getroffen werden können. Zum Beispiel ist die mRNA von *PLAC4* („placenta-specific 4“) auf Chromosom 21 als fetusspezifisch anzusehen. Werden die Verhältnisse der heterozygoten Allele dieser mRNA bestimmt, sind – für einen euploiden Fetus – die relativen Mengen der *PLAC4*-mRNA-Allele ungefähr gleich, während im Plasma von Frauen, die einen Fetus mit einer Trisomie 21 tragen, jeweils eines der getesteten Allele als überrepräsentiert erscheint [10, 15].

Molekulares Zählen von Chromosom-21-DNA-Sequenzen im mütterlichen Plasma

Durch neue Techniken, die es erlauben, die Anzahl einzelner Moleküle zu zählen, können fetale Aneuploidien identifiziert werden ohne dass man von fetusspezifischen Nukleinsäuren im mütterlichen Plasma abhängig ist. Solche Einzelmolekülzähltechniken sind die digitale PCR und die Verfahren der Hochdurchsatzsequenzierung, die unter dem Begriff „next-generation sequencing“ zusammengefasst werden. In einem einzigen Sequenzierlauf werden die Nukleotidsequenzen von Millionen bis Milliarden von DNA-Molekülen analysiert (massive parallele Sequenzierung). Diese Techniken erlauben die exakte Quantifizierung von Nukleinsäuren mit einer herausragenden analytischen Präzision im Vergleich zu herkömmlichen PCR-Methoden. Im Fall einer Aneuploidie sind sie in der Lage, den kleinen Anstieg von Molekülen des fetalen aneuploiden Chromosoms aus der gesamten, also mütterlichen und fetalen Plasma-DNA Menge, korrekt abzuleiten.

Digitale PCR

Bei bisher publizierten pränatalen Ansätzen wurde bei der digitalen PCR die Menge an Plasma-DNA-Molekülen vom Chromosom 21 mit der eines Referenz-

chromosoms verglichen [9, 16]. Das Verhältnis zwischen Chromosom 21 und einem Referenzchromosom sollte im Fall einer Trisomie 21 erhöht sein, wobei der Grad der Erhöhung von der fetalen DNA-Konzentration abhängig ist. Je niedriger die fetale DNA-Konzentration, desto geringer ist der zu erwartende Zuwachs im Verhältnis von Chromosom 21 zu einem Referenzchromosom. Die quantitative Genauigkeit der digitalen PCR kann mit zunehmender Anzahl der PCR-Zyklen erhöht werden. Wenn beispielsweise in einer mütterlichen Plasmaprobe der Anteil der fetalen DNA 25% beträgt, müssten die entsprechenden Regionen etwa 8000-mal amplifiziert werden, um die Trisomie sicher zu identifizieren [16].

Quantitative Sequenzierung

Neben der Basensequenz kann dabei auch eine Häufigkeitsverteilung der DNA-Moleküle in der analysierten Probe bestimmt werden. Damit konnte gezeigt werden, dass der Anteil der DNA-Moleküle von Chromosom 21 im Plasma von Frauen, die mit einem Trisomie-21-Fetus schwanger sind, im Vergleich zu euploiden Schwangerschaften erhöht ist [3, 9].

Die ersten dieser quantitativen Analysen fokussierten auf die nichtinvasive Identifizierung der Trisomie 21. Die Diagnose anderer autosomaler Trisomien, wie der Trisomie 13 oder 18, erschien technisch schwieriger, und als mögliche Ursachen wurden die unterschiedlichen GC-Gehalte dieser Chromosomen diskutiert [4]. Erst kürzlich wurden erste Verfahren zur Identifizierung der Trisomien 13 und 18 beschrieben [1], bei denen die bioinformatischen Berechnungsalgorithmen erheblich umgeändert werden mussten, um für die unterschiedlichen GC-Gehalte zu korrigieren. Existierende Sequenzierungsprotokolle und Auswertalgorithmen für andere Chromosomenstörungen, wie auch die Bestimmung der Anzahl der Geschlechtschromosomen, wurden erfolgreich weiterentwickelt [20].

Die ersten Publikationen zu dieser Thematik waren „Proof-of-principle-Arbeiten“. Mittlerweile gibt es aber erste umfangreiche, multizentrische Studien, die nahe legen, dass die Routinediagnostik zumindest der Trisomie 21 durch „next-generation sequencing“ aus

mütterlicher Plasma-DNA möglich und durchführbar ist, derzeit aber aus Kostengründen und hinsichtlich des komplexen Ablaufs als noch nicht routinetauglich eingestuft werden muss. In die Studie von Chiu et al. [5] wurden 753 schwangere Frauen eingeschlossen, 86 Frauen waren mit einem Trisomie-21-Fetus schwanger. Aus dem mütterlichen Plasma konnte die Trisomie 21 mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 97,9% nachgewiesen werden. Über vergleichbare Ergebnisse wurde von Ehrich et al. [8] berichtet. In 449 Proben konnten alle 39 Trisomie-21-Fälle korrekt klassifiziert werden, hier wurde eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 99,7% angegeben.

Ausblick

Die wichtigsten noch offenen Fragen, die vor einer weit verbreiteten klinischen Anwendung gelöst werden müssen, sind in erster Linie auf Kosten und den Durchsatz bezogen. Derzeit sind die Kosten für die massive parallele Sequenzierung hoch und der Durchsatz ist gering. Nur wenige Fälle können gleichzeitig pro Lauf, der momentan noch über mehrere Tage andauert, analysiert werden. Weitere Arbeiten sind notwendig, um kostengünstigere Protokolle mit noch höherem Durchsatz zu entwickeln. Geht man von der schnellen Reduzierung der Kosten des „next-generation sequencing“ und der exponentiellen Steigerung des Durchsatzes aus, wird es nur eine Frage der Zeit sein, bis der Ansatz für die klinische Umsetzung kostengünstig und damit attraktiv genug ist.

Zudem erlaubt das „next-generation sequencing“ nicht nur quantitative Aussagen, sondern, weil eben viele Sequenzinformationen erhoben werden, auch Aussagen über Mutationen bei der Mutter und potenziell auch den Mutationsstatus des Vaters. Darüber hinaus gelang es der Arbeitsgruppe von Lo vor Kurzem, eine genomweite Karte des Mutationsstatus des Fetus aus maternaler DNA zu erstellen [17]. Bei diesem Ansatz wurden Informationen des paternalen Genotyps und maternalen Haplotyps eingerechnet. Die Aussicht, dass mit einer pränatalen, nichtinvasiven Technik nicht nur auf fe-

tale Aneuploidien, sondern genomweit auf Mutationen getestet werden kann, ist einerseits faszinierend, wirft aber andererseits ganz neue ethische Fragen auf. Diese betreffen den Umfang der Testung sowie die Fragen, was pränatal getestet werden sollte und welche Informationen an die werdenden Eltern weitergegeben werden dürfen [7]. Damit stellen die neuen Techniken auch eine große Herausforderung für den Gesetzgeber und die jeweiligen Fachgesellschaften dar, die demzufolge entsprechende Richtlinien entwickeln müssen.

Korrespondenzadresse

Assoz. Prof. PD Dr. J.B. Geigl
Institut für Humangenetik,
Medizinische Universität Graz
Harrachgasse 21/8, 8010 Graz
Österreich

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

Literatur

1. Chen EZ, Chiu RW, Sun H et al (2011) Noninvasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 18 and trisomy 13 by maternal plasma DNA sequencing. *PLoS One* 6:e21791 [Epub 2011 Jul 6]
2. Chim SS, Tong YK, Chiu RW et al (2005) Detection of the placental epigenetic signature of the *maspin* gene in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:14753–14758 [Epub 2005 Oct 3]
3. Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y et al (2008) Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:20458–20463 [Epub 2008 Dec 10]
4. Chiu RW, Lo YM (2011) Non-invasive prenatal diagnosis by fetal nucleic acid analysis in maternal plasma: the coming of age. *Semin Fetal Neonatal Med* 16:88–93 [Epub 2010 Nov 12]
5. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW et al (2011) Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ* 342:c7401
6. Chow KC, Chiu RW, Tsui NB et al (2007) Mass spectrometric detection of an SNP panel as an internal positive control for fetal DNA analysis in maternal plasma. *Clin Chem* 53:141–142
7. Jong A de, Dondorp WJ, Frints SG et al (2011) Non-invasive prenatal diagnosis for aneuploidy: toward an integral ethical assessment. *Hum Reprod* 26(11):2915–2917
8. Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T et al (2011) Non-invasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. *Am J Obstet Gynecol* 204:205.e1–e11 [Epub 2011 Feb 18]
9. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U et al (2008) Non-invasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:16266–16271 [Epub 2008 Oct 6]

10. Go AT, Visser A, Betsalel OT et al (2008) Measurement of allelic-expression ratios in trisomy 21 placentas by quench extension of heterozygous samples identified by partially denaturing HPLC. *Clin Chem* 54:437–440
11. Hahn S, Zhong XY, Holzgreve W (2008) Recent progress in non-invasive prenatal diagnosis. *Semin Fetal Neonatal Med* 13:57–62 [Epub 2008 Jan 22]
12. Kagan KO, Etchegaray A, Zhou Y et al (2009) Prospective validation of first-trimester combined screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 34:14–18
13. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF et al (1997) Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 350:485–487
14. Lo YM, Hjelm NM, Fidler C et al (1998) Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 339:1734–1738
15. Lo YM, Tsui NB, Chiu RW et al (2007) Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med* 13:218–223 [Epub 2007 Jan 7]
16. Lo YM, Lun FM, Chan KC et al (2007) Digital PCR for the molecular detection of fetal chromosomal aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:13116–13121 [Epub 2007 Jul 30]
17. Lo YM, Chan KC, Sun H et al (2010) Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2:61ra91
18. Papageorgiou EA, Karagrigoriou A, Tsaliki E et al (2011) Fetal-specific DNA methylation ratio permits noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21. *Nat Med* 17:510–513 [Epub 2011 Mar 6]
19. Saito H, Sekizawa A, Morimoto T et al (2000) Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma. *Lancet* 356:1170
20. Sehnert AJ, Rhee B, Comstock D et al (2011) Optimal detection of fetal chromosomal abnormalities by massively parallel DNA sequencing of cell-free fetal DNA from maternal blood. *Clin Chem* 57:1042–1049 [Epub 2011 Apr 25]

Herr Professor Grüntzig, am 27. Mai 2010 jährte sich der 100. Todestag von Robert Koch. Zu diesem Anlass haben Sie bei Spektrum Akademischer Verlag eine umfangreiche Biografie herausgebracht, die die FAZ bereits als „Standardwerk“ bezeichnet. Was hat Sie bewogen, dieses Buch zu schreiben?

Robert Koch gilt als Begründer der modernen Bakteriologie und Klinischen Infektiologie. Straßen, Schulen, Krankenhäuser, Institute und Preise tragen seinen Namen. Auch heute noch fasziniert, wie er unter lebensbedrohlichen Umständen in unwirtlichen Gegenden nach dem Ursprung der Epidemien suchte und Todgeweihte rettete. Waren diese Expeditionen eine Flucht aus Berlin nach dem Misserfolg des von ihm entwickelten Präparats „Tuberkulin“, wie jüngere Autoren behaupten?

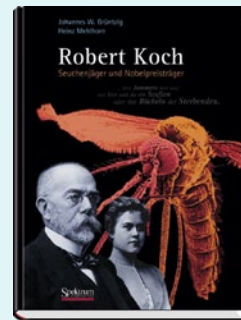
Eine andere Motivation zum Verfassen dieses Buches war die fast verschwörerisch anmutende Geheimnistuerei um die zweite Frau von Robert Koch. Warum reduzierte die Geschichtsschreibung das Liebesverhältnis der beiden auf eine „Affäre mit einer 17-jährigen Bühnendame“? Aus der Entdeckung der Nachlassakte von Hedwig Koch-Freiberg im Sauerland und Teilen ihres Lebensberichtes, aber auch nach Gespräche mit Zeitzeugen, ergab sich fast zwangsläufig die Aufgabe, die Biografie Robert Kochs neu zu schreiben.

Deshalb zeigt das Cover neben Robert Koch auch das Porträt seiner attraktiven zweiten Frau. Worin bestand ihre Stärke? Was waren ihre Verdienste?

Kaum bekannt ist, dass sie ihren Körper für Tuberkulose-Experimente opferte. Ihre Teilnahme an den strapaziösen Expeditionen in Afrika, Indien und Neuguinea fanden bisher ebenfalls keine Würdigung. Trotz aller Anfeindungen nach dem Tode Robert Kochs kämpfte sie um sein Andenken und rettete die Nobelpreismedaille über den Zusammenbruch des Naziregimes hinweg. Sie war eine „starke Frau“, die Robert Koch inspirierte, förderte und im Ausland erfolgreich repräsentierte.

Obwohl Sie die historische Realität beschreiben, lesen sich manche Kapitel wie ein Abenteuerroman. Von welchen Themen werden Ihre Leser am meisten fasziniert sein?

Dazu gehört unter anderem, wie sich Koch und seine Begleiter in Fußmärschen durch die Seuchengebiete Afrikas quälten, oder wie



Robert Koch - Seuchenjäger und Nobelpreisträger
Grüntzig, Johannes W., Mehlhorn, Heinz
1. Auflage, 2010, 1096 S., 500 Abb. in Farbe, Geb.
ISBN 978-3-8274-2710-6, EUR 99,95

ein als „Reifeterminator“ bekannt gewordener Schutztruppen-Offizier den Kontinent erstmalig mit dem Auto durchquert sowie der Wettlauf um die Entdeckung des Pesterreger und Attacken mit verseuchten Briefen. Auch Kannibalismus, der „lachende Tod“ und nächtliche Sektionen in Bambushütten Neuguineas dürften den Leser in ihren Bann ziehen.

Was macht das Buch trotz seines großen Umfangs so leicht lesbar?

Zunächst das ausgezeichnete Layout, das den Leser/die Leserin gleichsam von Seite zu Seite treibt – ständig in der Erwartung, weiter in unbekannte Welten vorzustoßen. Die übersichtliche Gliederung und auch der für Laien verständliche Stil dienen demselben Ziel. Meine Absicht war, auch die Allgemeinbildung des Lesers zu erweitern, denn das Buch enthält Wissen aus Geschichte, Medizin, Naturwissenschaften und Geographie. Am Ende einiger Kapitel sind in Boxen Zusatzinformationen in lexikalischer Form über Krankheiten und Erreger beigefügt.

Wird Sie die Thematik des Buches weiterhin beschäftigen?

Am 17. Oktober bestreiten mein Ko-Autor, der Parasitologe Heinz Mehlhorn, und ich dazu eine Veranstaltung auf dem Göttinger Literaturherbst. Im Dezember sind wir in eine ähnliche Veranstaltung des Oberharzer Bergwerksmuseums eingebunden. Ein Kongress mit Ausstellung ist dort für Anfang 2011 geplant. Zukunftsmusik wäre ein Robert-Koch-Museum, wie es bereits in Polen existiert.

*Das Interview führte Dr. Ulrich G. Moltmann /
Spektrum Akademischer Verlag*