

Mitochondriale Erkrankungen

Rationales diagnostisches Vorgehen in der klinischen Genetik und besondere Aspekte der genetischen Beratung

Grundlagen

Man muss bei der genetischen Diagnostik mitochondrialer Erkrankungen grundsätzlich unterscheiden zwischen der Untersuchung des mitochondrialen (mtDNA) und des nukleären Genoms.

Mitochondriales Genom

Mit einer Größe von 16.569 bp ist das mitochondriale Genom relativ überschaubar und einer Komplettssequenzierung bereits heute grundsätzlich zugänglich. Für Auswertung und Interpretation der Sequenzdaten sind jedoch Besonderheiten zu beachten: So dürfen auch Mutationen mit einem niedrigen Heteroplasmiegrad nicht übersehen werden, selbst wenn auch bei Veränderungen mit klinischer Relevanz der Heteroplasmiegrad an der Grenze oder im ungünstigen Fall unter der Nachweisbarkeit in der Sanger-Sequenzierung liegen kann. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn die Diagnostik aus EDTA-Blut erfolgt. Die Aussagekraft hier ist in hohem Maß abhängig von der klinischen Fragestellung, da der Heteroplasmiegrad im Blut abhängig von Art und Ausmaß der Symptomatik sehr variabel sein kann. Die zahlreichen beschriebenen Veränderungen der mtDNA sind in einer aktuellen Online-Datenbank („Mitomap“, [11]) abrufbar. Dennoch finden sich im mitochondrialen Genom, das reich an genetischen Varianten ist, relativ häufig unklare

Sequenzvarianten, deren Interpretation schwierig ist und letztendlich nur im klinischen und genetischen Kontext unter Einbeziehung maternaler Verwandter im Rahmen einer Segregationsanalyse möglich ist.

Neben Punktmutationen sind Deletionen der mtDNA zu beachten: Diese können über Long-range-Polymerasekettenreaktion („polymerase chain reaction“, PCR) und/oder Southern Blot detektiert werden. Man unterscheidet singuläre und multiple mtDNA-Mutationen.

- Singuläre mtDNA-Deletionen, die als primäre Veränderung der mtDNA meist in der frühen Embryonalentwicklung sporadisch entstehen, sind teilweise nur in dem betroffenen Gewebe – meist Muskel – in der Regel heteroplasmisch nachweisbar. Sie sind eine häufige Ursache des Kearns-Sayre-Syndroms und der chronisch progressiven externen Ophthalmoplegie (CPEO) im Erwachsenenalter. In der schwersten klinischen Ausprägung führen sie zum Phänotyp des Pearson-Syndroms, bei dem ein Nachweis auch aus EDTA-Blut gelingt.
- Multiple mtDNA-Deletionen stellen ein sekundäres Phänomen dar und werden in der Regel nur an aus Muskelgewebe extrahierter DNA nachgewiesen. Die primäre genetische Ursache hierfür können autosomal-rezessive oder -dominante Mutationen der Gene *POLG*, *PEO1* (*twinkle*) *RRM2B*

und *TK2* sein, seltener findet man autosomal-dominante Mutationen der Gene *ANT1* oder *POLG2*.

Eine mtDNA-Depletion ist ebenfalls eine sekundäre Veränderung der mtDNA. Verursacht durch autosomal-rezessive Mutationen in unterschiedlichen nukleären Genen findet sich gewebsspezifisch eine quantitative Reduktion der mtDNA bis auf wenige Prozent des normalen Gehalts, die sich mittels Real-time-PCR nachweisen lässt. Die mtDNA-Depletionssyndrome manifestieren sich klinisch als frühkindliche (Hepato)enzephalopathien mit kombinierten Atmungskettendefekten.

Nukleäres Genom

Die nukleären Gendefekte dagegen erscheinen in der Diagnostik auf den ersten Blick als „Fass ohne Boden“. Eine eingegrenzte genetische Diagnostik ist dennoch in ausgewählten Fällen möglich, entweder auf der Basis spezieller biochemischer Befunde oder unter besonderer Berücksichtigung des klinischen Phänotyps.

Praktisches Vorgehen

Teilweise ist eine primäre genetische Diagnostik aus EDTA-Blut möglich. Oft ist diagnostisch jedoch eine Organ-, meist eine Muskelbiopsie sinnvoll und erforderlich. In der rationalen Diagnostik muss

Muskelbiopsie Biochemischer Befund	SCREENING AUF DEPLETION/DELETION der mtDNA	Erbgang AR: autosomal rezessiv AD: autosomal dominant	MUTATIONSANALYSE AUS EDTA-BLUT		Primäre genetische Diagnostik bei spezifischen klinischen Phänotyp
			*NUKLEARE Gene: blau	mtDNA Gene: rot	
Isolierter Komplex-I Defekt	negativ	AR / sporadisch	NDUFA1, NDUFA8, NDUFA10, NDUFA11, NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS6, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2, NDUFAF1, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, C20orf7, C8orf38, ACAD9, FOXRED1, NUBPL, NDUFB3, NDUFB9		LHON (MTND1-6)
	Depletion Deletion/en	maternal / sporadisch	MTND1-6, mt-tRNA-Gene		
Isolierter Komplex-II Defekt	nicht sinnvoll	AR / sporadisch	SDHA, SDHAF1		
Isolierter Komplex-III Defekt	nicht sinnvoll	AR / sporadisch	BCS1L, UQCRCQ, UQCRCB, TTC19		
		maternal / sporadisch	MTCYB, mt-tRNA-Gene		
Isolierter Komplex-IV Defekt	negativ	AR / sporadisch	SURF1, SCO2, SCO1, COX10, COX15, TACO1, COX6B1, FASTKD2, ETHE1, C2orf64, LRPPRC		LEIGH (SURF1) Kardioenzephalomyopathie (SCO2)
	Depletion Deletion/en	maternal / sporadisch	MTCOI-III, mt-tRNA-Gene		
Isolierter Komplex-V Defekt	nicht sinnvoll	AR / sporadisch	ATPAF2, TMEM70, ATP5E		LEIGH, maternal (NARP, MILS)
		maternal / sporadisch	MTATP6, MTATP8		
Pyruvatdehydrogenase (PDH) - Defekt	nicht sinnvoll	X-linked / sporadisch	PDHA1		LEIGH, X-chromosomal rezidivierende Neuropathie/Ataxie
		AR / sporadisch	PDHC, DLAT, DLD		
Pyruvatdehydrogenase (PDH) + kombinierter Atmungsketten - Defekt	negativ	AR / sporadisch	NFU1, BOLA3		
Kombinierter Atmungsketten -Defekt	negativ	maternal / sporadisch	mt-tRNA-Gene		MELAS, MERRF
		AR / sporadisch	Nukleärem-Translationsgene EFG1, TUFM, TSFM, TRMU, MRPS16, MRPS22, PUS1, C12orf65, MTFMT, MTO1, AARS2, DARS2, EARS2, FARS2, HARS2, MARS2, RARS2, SARS2, YARS2 Nukleäre CoQ10-Defekt-Gene COQ2, COQ6, COQ9, PDSS1, PDSS2, ADCK3, ETFDH		
	Depletion	AR / sporadisch	DGUOK, MPV17, POLG, TK2, RRM2B, SUCLA2, SUCLG1, TYMP, GFER		LEIGH, Methylmalons. i. Urin (SUCLA2) Alpers, SANDO (POLG)
	mult. Deletionen	AR / AD / sporadisch	POLG, PEO1, ANTI, POLG2, RRM2B, TYMP, OPA1, TK2		Optikusatrophy (OPA1) MNGIE (TYMP)
	singuläre Deletion	sporadisch	mtDNA Deletionsscreening		Pearson, (KSS)
Non-spezifisch oder unauffällige Atmungs- kettendiagnostik	negativ	X-linked / sporadisch	AIFM1, DDP		Muskeldystrophie + vergrößerte Mitochondrien Sengers-Syndrom
		AR / sporadisch	POLG, CHKB (vergrößerte Mitochondrien) AGK		

Abb. 1 Von links nach rechts aufgeführt ist die diagnostische Strategie bei Vorliegen einer Muskelbiopsie: Diese ist Voraussetzung für die biochemische Untersuchung der Atmungskettenkomplexe und ein Screening auf mtDNA-Deletionen/-Depletion an muskelextrahierter DNA (graue Säule). In Abhängigkeit von der Konstellation dieser Befunde erfolgt die Auswahl für die weiteren molekulargenetischen Diagnostik (türkisfarbene und rote Pfeile). Von rechts nach links dargestellt ist das diagnostische Vorgehen, wenn (noch) keine Muskelbiopsie durchgeführt wurde und unter bestimmten Leitsymptomen eine primäre Diagnostik aus EDTA-Blut (violette Säule) erfolgen soll

man so verschiedene Ausgangspositionen berücksichtigen:

Genetische Diagnostik im Anschluss an eine Muskelbiopsie

Der wichtigste Richtungsgeber auf dem „diagnostischen Pfad“ ist die Muskelbiopsie. Erst diese – allerdings invasive – Diagnostik ermöglicht weitere histologische und biochemische Untersuchungen, die im besten Fall den Verdacht auf eine mitochondriale Erkrankung erhärten und richtungweisend für weitere genetische Untersuchungen sind.

- Histologisch lassen sich als Korrelat der mitochondrialen Funktionsstörung charakteristische Befunde wie „ragged red fibers“ (RRF) und „COX-negative“ Muskelfasern darstellen. Dies gelingt insbesondere, wenn eine Myopathie vorliegt, jedoch keineswegs zwingend;
- biochemisch kann eine Bestimmung der Enzymaktivität der Atmungskettenkomplexe aus gefrorenem Gewebe erfolgen.

Die Herangehensweise an die genetische Diagnostik im Anschluss an eine Muskelbiopsie bei Vorliegen von biochemischen

Befunden aus einer Atmungskettendiagnostik ist in **Abb. 1** dargestellt, die von links nach rechts betrachtet werden sollte:

- In Abhängigkeit von den biochemischen Befunden kann zunächst ein Screening auf eine mtDNA-Depletion bzw. mtDNA-Deletion/en an der aus dem Muskelgewebe extrahierten DNA sinnvoll sein (graue Säule, **Abb. 1**).
- Als zweiter Schritt oder auch primär in Abhängigkeit von den biochemischen Befunden kann eine genetische Diagnostik aus EDTA-Blut erfolgen (violette Säule, **Abb. 1**).

Je nach Befundkonstellation lässt sich die molekulargenetische Diagnostik teilweise gut eingrenzen (■ **Abb. 1**).

Bei *isolierten Atmungskettendefekten* können Mutationen die Gene betreffen, die für die eigentlichen Untereinheiten der Atmungskette codieren. Darüber hinaus kennt man bei isolierten Atmungskettendefekten aber auch ursächliche nukleäre Gene, die in der Assemblierung der einzelnen multimerischen Enzymkomplexe eine Rolle spielen oder ganz andere Funktionen haben und etwa die Translation (z. B. *TACO1*), die mRNA-Bindung (z. B. *LRPPRC*) einzelner mitochondrial codierter Proteine oder die Integrität der der mtDNA (z. B. *POLG*) beeinflussen. Bei *kombinierten Atmungskettendefekten* können Mutationen der mitochondrialen mt-tRNA-Gene und der nukleären Gene, welche die Translation der mitochondrialen Proteine beeinflussen, ursächlich sein. Zusätzlich sind Mutationen in Genen, welche die Integrität der mtDNA beeinflussen (mtDNA-Depletion/multiple Deletionen), relativ häufig (z. B. *POLG*). Die Anzahl derartiger neuartiger Gendefekte ist insbesondere über neueste Forschungsergebnisse aus internationalen Exomprojekten stetig wachsend. Dies hat zur Folge, dass die genetischen Ursachen beim isolierten Komplex-I-Defekt, aber auch bei kombinierten Atmungskettendefekten sehr heterogen sind. Teilweise ist hier noch eine Priorisierung über den spezifischen klinischen Phänotyp oder über die Häufigkeit von Mutationen in einzelnen Genen möglich. Forschungsergebnisse in größeren internationalen Zentren haben gezeigt, dass – auch wenn die Detektionsrate einzelner Gene relativ gering ist – eine Untersuchung aller derzeit als ursächlich für Komplex-I-Defekte bekannten Gene inklusive der mitochondrialen DNA in etwa 50% der Fälle eine genetische Diagnose ermöglicht. Bei isolierten COX-Defekten ist diese Mutationsdetektionsrate ähnlich. Ein nach ursächlichen Genmutationen wird zukünftig sicher im Rahmen neuer Sequenzierverfahren einfacher werden.

Grundsätzlich ist eine mitochondriale Erkrankung nicht ausgeschlossen, wenn die biochemische Untersuchung der Atmungskettenkomplexe einen unauffälligen Befund zeigt. Dies kann auf methodi-

medgen 2012 · 24:176–182 DOI 10.1007/s11825-012-0339-7
© Springer-Verlag 2012

R. Horvath · A. Abicht

Mitochondriale Erkrankungen. Rationales diagnostisches Vorgehen in der klinischen Genetik und besondere Aspekte der genetischen Beratung

Zusammenfassung

Mitochondriale Erkrankungen sind – wie auch die übrigen Artikel dieses Schwerpunkthefts verdeutlichen – ein weites Feld in der klinischen Genetik. Aufgrund des bunten klinischen Bildes sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen ergeben sich relativ häufig Konstellationen, in denen auch eine mitochondriale Erkrankung in das differenzialdiagnostische Spektrum mit einbezogen wird. In der genetischen Beratung stellt dies eine besondere Herausforderung dar, da unter dieser Verdachtsdiagnose grundsätzlich alle Erbgänge, inklusive einer maternalen Vererbung,

möglich sind und gleichzeitig eine zielgerichtete Diagnostik zum molekulargenetischen Beleg oder auch Ausschluss der Diagnose durch die außerordentliche genetische Heterogenität erschwert ist. Im Folgenden erläutern wir ein rationales Vorgehen in der molekulargenetischen Diagnostik und besondere Aspekte der genetischen Beratung.

Schlüsselwörter

Mitochondriale Erkrankungen · Genetische Diagnostik · Maternaler Erbgang · Heteroplasmie · Genetische Beratung

Mitochondrial disorders. Clinical diagnostic strategy and specific aspects of genetic counseling

Abstract

As outlined in other articles of this issue mitochondrial medicine is a complex area in clinical genetics. Due to the wide variability of clinical presentation in both pediatric and adult patients there are frequent constellations of symptoms that may suggest an underlying mitochondrial disorder. This is a challenge in genetic counseling because basically all patterns of inheritance have to be taken into account—including maternal transmission—but a straightforward genetic test-

ing to confirm or exclude the suggested diagnosis is hampered by the immense genetic heterogeneity of the mitochondrial disease spectrum. This article focuses on a diagnostic strategy and specific aspects of genetic counseling in mitochondrial disorders.

Keywords

Mitochondrial diseases · Genetic testing · Maternal heredity · Heteroplasmie · Genetic counseling

schon Ursachen beruhen, ist aber auch für spezifische genetische Veränderungen beschrieben. Insbesondere dann, wenn keine Organmanifestation am Muskel vorliegt, wie etwa bei den frühkindlichen (Hepato)enzephalopathien, die auf Mutationen des *POLG*- oder *DGUOK*-Gens basieren, wobei die Atmungskettenenzyme im Muskel nur eine leichte Aktivitätsverminderung oder normale Aktivität zeigen, da überwiegend Gehirn und Leber betroffen sind.

Eine quantitative Reduktion der muskulären mtDNA ist ein wichtiger Hinweis auf ein mtDNA-Depletionssyndrom als der häufigsten Ursache frühkindlicher (Hepato)enzephalopathien mit kombinierten Atmungskettendefekten. Verschiedene Verlaufsformen werden durch

autosomal-rezessive Mutationen in unterschiedlichen nukleären Genen verursacht und entsprechend ihrer klinischen Symptomatik eingeteilt. Besonders häufig sind Mutationen des *POLG*-Gens als Ursache des Alpers-Syndroms (therapieresistente Epilepsie, Hepatopathie und kortikale Blindheit). Die nächsthäufigste hepatische Form (Hepatoenzephalopathie) wird durch Mutationen des *DGUOK*-Gens verursacht, das für die Deoxyguanosinkinasase codiert.

Primäre genetische Diagnostik aus EDTA-Blut

Zu Beginn des diagnostischen Prozesses stellt sich häufig die Frage, wie aussichtsreich eine primäre genetische Diagnostik

--

Tab. 1 Klinische Leitbefunde, bei denen eine primäre molekulargenetische Diagnostik aus EDTA-Blut sinnvoll ist		
Leitsymptom: Muskelbeteiligung (mitochondriale Myopathien, CPEO-plus)		Material
Maternaler Erbgang	mtDNA-Punktmutationsscreening	EDTA
Andere Erbgänge/singuläre Patienten	mtDNA-Deletionsscreening; <i>nur Muskel-DNA voll informativ zum Nachweis einer singulären mtDNA-Deletion als häufigster genetischer Ursache einer (meist) sporadischen CPEO</i>	Muskel-DNA
	<i>POLG, PEO1, RRM2B, TK2, ANT1; aus EDTA-Blut mögliche primäre oder sekundäre Diagnostik, insbesondere nach Nachweis von multiplen mtDNA-Deletionen</i>	EDTA
Leitsymptom: Ptosis/CPEO/Kearns-Sayre-Syndrom		Material
	mtDNA-Deletionsscreening	Muskel-DNA
	<i>POLG, RRM2B, falls Nachweis von multiplen mtDNA-Deletionen</i>	EDTA
	mtDNA-Punktmutationsscreening, <i>falls unauffälliges mtDNA-Deletionsscreening</i>	EDTA
Leitsymptom: Kardio(enzephalo)myopathie		Material
Barth-Syndrom	<i>TAZ</i>	EDTA
Hypertrophe Kardiomyopathie	<i>mt-tRNAs, SCO2, TMEM70, MTATP6+8, SLC25A3, COX15, AARS2, MTO1, ACAD9, AGK</i>	EDTA
Dilatative Kardiomyopathie	<i>mt-tRNAs, SDHA</i>	EDTA
Leitsymptom: Hepato(enzephalo)myopathie (im Kindesalter)		Material
Alpers-Syndrom	<i>POLG</i>	EDTA
Hepatopathie + mtDNA-Depletion ^a	<i>DGUOK, MPV17, PEO1, SUCLG1</i>	EDTA
Hepatopathie ohne mtDNA-Depletion ^a	<i>EFG1, EFTs, TRMU (Translationsgene)</i>	EDTA
Infantile reversible Hepatopathie	<i>TRMU</i>	EDTA
Hepatopathie + Tubulopathie/GRACILE-Syndrom	<i>BCS1L</i>	EDTA
Leitsymptom: Neuropathie		Material
NARP (Neuropathie, Ataxie, Retinitis pigmentosa)	<i>m.8993T >G/C, MTATP6</i>	EDTA
Guillain-Barré-artige Neuropathie	<i>PDHA1</i>	EDTA
SANDO (sensible axonale Neuropathie)	<i>POLG</i>	EDTA
CMT2 (axonale Neuropathie)	<i>MFN2, GDAP1</i>	EDTA
MNGIE (CMT-like, CIDP-like)	<i>TYMP</i>	EDTA
Leitsymptom: Hämatologische Erkrankung		Material
Pearson-Syndrom, sideroblastische Anämie + mitochondriale Myopathie	mtDNA-Deletionsscreening; <i>singuläre mtDNA-Deletion? PUS1, YARS2</i>	EDTA
Megaloblastäre Anämie, TRMA	<i>SLC19A2</i>	EDTA
Leitsymptom: Nierenerkrankung		Material
Nephrotisches-Syndrom	<i>PDSS2, COQ2, COQ9</i>	EDTA
Nephrotisches-Syndrom, sensorineuronale Taubheit	<i>COQ6</i>	EDTA
Tubulopathie (Fanconi)	mtDNA-Deletionsscreening, <i>BCS1L</i>	EDTA
Leitsymptom: Leigh-Syndrom/Leigh-like-Syndrom		Material
Vor Muskelbiopsie	<i>MTATP6 + 8, SURF1, PDHA1</i>	EDTA
Vor Muskelbiopsie, falls Leigh-Syndrom, mit Taubheit, Dystonie, Methylmalonazidurie	<i>SUCLA2, SUCLG1</i>	EDTA
Nach Muskelbiopsie Diagnostik abhängig von Atmungskettendiagnostik		
Leitsymptom: Hörstörung/Taubheit		Material
Aminoglykosidinduzierte Taubheit	<i>m.1555A > G</i>	EDTA
Diabetes mit Taubheit	<i>m.3243A > G</i>	EDTA
Taubheit + Enzephalomyopathie		
- Leigh-/Leigh-like-Syndrom mit Taubheit	<i>SUCLA2</i>	EDTA
- Koenzym-Q10-Defekt mit Taubheit	<i>COQ6, COQ2, PDSS1</i>	EDTA
Leitsymptom: Optikusatrophy		Material
LHON (Lebersche hereditäre Optikusatrophy)	<i>m.3460, m.11778, m.14484, MTND1-6</i>	EDTA
ADOA (autosomal-dominante Optikusatrophy)	<i>OPA1, selten OPA3</i>	EDTA
Autosomal-rezessive Optikusatrophy	<i>TMEM126A</i>	EDTA
DIDMOAD (Wolfram-Syndrom)	<i>WFS1</i>	EDTA
Leitsymptom: Epilepsie		Material
Epileptische Enzephalopathie, Myoklonusepilepsie, fokale Epilepsien mit okzipitaler Betonung	<i>POLG, m.8344A > G (MERRF), MTND1-6, mt-tRNAs</i>	EDTA

^a Depletionsanalyse aus Leber- oder Muskelgewebe; GRACILE "intrauterine growth retardation, aminoaciduria, cholestasis, iron overload, severe lactic acidosis, early death"; MNGIE mitochondriale neurogastrointestinale Enzephalomyopathie; CMT Charcot-Marie-Tooth-Syndrom; CIDP chronische inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie.

aus EDTA-Blut, also leukozytenextrahierter DNA ist, ohne dass eine Muskelbiopsie durchgeführt wurde. Je nach klinischer Konstellation kann hier eine primäre molekulargenetische Diagnostik aus EDTA-Blut durchaus sinnvoll sein. Dies ist unter Berücksichtigung von klinischen Leitbefunden in **Tab. 1** weiter ausgeführt.

Gerade beim Neugeborenen kann eine primäre genetische Diagnostik aus EDTA-Blut noch vor Durchführung einer Muskelbiopsie sinnvoll sein [5, 9]. Bei Säuglingen mit Laktazidose und/oder Verdacht auf ein Leigh-Syndrom ist in erster Linie eine Untersuchung der mitochondrialen Gene *ATP6* und *ATP8* (ATPase-Defekt) sowie der nukleären Gene *SURF1*, *PDHAI*, bei Methylmalonazidurie *SUCLA2* und *SUCLG1* aussichtsreich. Insbesondere bei kardialer Beteiligung sollte auch das nukleäre Gen *TMEM70* untersucht werden, außerdem *SCO2* sowie *SLC25A3* und die mitochondrialen tRNA-Gene,

Einen besonderen Stellenwert haben in der Diagnostik auch die Defekte der *Pyruvatdehydrogenase* (PDH), die sich biochemisch nur an einer Untersuchung von nativem Muskelmaterial darstellen lassen. Dies ist praktisch nicht immer zu realisieren. Gleichzeitig ist das klinische Bild von PDH-Defekten sehr variabel und reicht von einer schwersten neonatalen Laktazidose über das klassische Bild eines Leigh-Syndroms bis hin zu leichteren Verläufen mit einer allgemeinen Entwicklungsretardierung und zusätzlichen neurologischen Symptomatik, oft einer fluktuierenden peripheren Neuropathie, Dystonie oder Ataxie. Bei entsprechendem klinischem Verdacht – insbesondere auch bei einem Leigh-Syndrom – kann ein primärer molekulargenetischer Ausschluss von Mutationen des X-chromosomalen *PDHAI*-Gens erwogen werden, dessen Mutationen die insgesamt häufigste Ursache dieses Krankheitsbildes darstellen [5].

Auch unter anderen klinischen Leit-symptomen kann eine primäre genetische Diagnostik sinnvoll sein (**Tab. 1**). Die gewebespezifische klinische Manifestation (Hepatopathie, Kardiomyopathie, Enzephalopathie usw.) bei mtDNA-Depletion, bei mitochondrialen Translationsdefekten (z. B. Aminoacyl-mt-tRNA-Synthetase-Defekten) kann eine gezielte Analyse ermöglichen. Mutationen in

Elongationsfaktoren, ribosomalen Proteinen und nukleären Genen bei Komplex-I-Defekt verursachen eher multisystemische Krankheitsbilder. Der Nachweis von Methylmalonsäure in Urin ist ein sehr hilfreicher Biomarker bei Mutationen in den Genen *SUCLA2* und *SUCLG1*.

Bei unauffälligen Befunden in der genetischen Diagnostik aus EDTA-Blut ist die sekundäre Durchführung einer Muskelbiopsie jedoch oft unumgänglich. Manche genetischen Untersuchungen sind zudem aus EDTA-Blut nicht informativ. Erst die genetische Untersuchung von aus Muskelmaterial extrahierter DNA ermöglicht beispielsweise den sicheren Ausschluss von singulären mtDNA-Deletionen beim klinischen Verdacht auf ein Kearns-Sayre-Syndrom oder eine CPEO.

Genetische Beratung und pränatale Diagnostik

Erkrankungen mit primären Mutationen im nukleären Genom

Die meisten der schwer verlaufenden frühkindlichen Mitochondriopathien, bei denen eine Mutation in einem nukleär codierten Gen nachgewiesen werden kann, folgen einem autosomal-rezessiven Erbgang. Dementsprechend besteht bei einer Anlageträgerschaft beider Elternteile ein Wiederholungsrisiko von 25% für weitere betroffene Kinder.

Autosomal-dominante De-novo-Mutationen sind außer in einzelnen Fallberichten sehr selten als Ursache mitochondrialer Erkrankungen beschrieben worden [1].

Bei nukleären Gendefekten mit einer Erkrankungsmanifestation im Erwachsenenalter kann ein autosomal-rezessiver, jedoch auch ein autosomal-dominanter Erbgang vorliegen. Ein Beispiel sind heterozygote Mutationen des *POLG*-, des *PEO1*- und des *RRM2B*-Gens, welche die häufigste Ursache einer autosomal-dominanten CPEO darstellen. Die adulten *POLG*-assoziierten Ataxien (SANDO: sensorische ataktische Neuropathie, Dysarthrie, Ophthalmoplegie; MIRAS: mitochondriales rezessives Ataxie-Syndrom) sind dagegen meist autosomal-rezessiv vererbt. In der genetischen Beratung betroffener Patienten ist zu berücksichtigen,

dass biallelische Mutationen des *POLG*-Gens zu einem schweren Krankheitsbild des Kindesalters führen können. Die Heterozygotenfrequenz für *POLG*-Mutationen wird auf mindestens 1% geschätzt und könnte in einzelnen Bevölkerungsgruppen aufgrund von Founder-Effekten für einzelne Mutationen auch höher sein [3]. Vor diesem Hintergrund ist einem Paar mit Kinderwunsch und nachgewiesener heterozygoter *POLG*-Mutation bei einem Elternteil eine Komplettanalyse des Gens beim Partner anzubieten.

Seltener kann ein nukleärer Gendefekt auch auf dem X-Chromosom liegen. Ein wichtiges Beispiel ist ein PDH-Defekt mit Mutationen des X-chromosomalen *PDHAI*-Gens. Hemizygoten männliche Patienten sind in der Regel schwer betroffen, allerdings wurden auch leichtere Verläufe bei Jungen mit einer somatischen Mosaikkonstellation beschrieben. Schwere Krankheitsverläufe sind auch bei Mädchen beschrieben, die insgesamt hohe Variabilität bei heterozygoten Anlageträgerinnen – auch innerhalb einer Familie – kann wahrscheinlich über eine unterschiedliche und gewebespezifische X-Inaktivierung erklärt werden. Dies ist hinsichtlich des Wiederholungsrisikos in der genetischen Beratung von Anlageträgerinnen zu berücksichtigen. Eine andere wichtige X-chromosomal-rezessive Erkrankung stellt das Barth-Syndrom (Myopathie, zyklische Neutropenie, Leitsymptom: meist Kardiomyopathie) mit Mutationen im *TAZ*-Gen dar [8].

Ist in einer Familie eine krankheitsursächliche Mutation in einem nukleär codierten Gen bekannt, kann eine pränatale Diagnostik per Chorionzottenbiopsie angeboten werden. Prinzipiell besteht auch die Möglichkeit einer Präimplantationsdiagnostik, die für ein betroffenes Paar individuell etabliert und nach den gesetzlichen Vorgaben durchgeführt werden muss.

Erkrankungen mit primären Mutationen des mitochondrialen Genoms

Bei Vorliegen einer primären Mutation des mitochondrialen Genoms ist die genetische Beratungssituation einer Anlageträgerin wesentlich komplexer.

Singuläre mtDNA-Deletionen

Singuläre mtDNA-Deletionen sind als Ursache eines überlappenden phänotypischen Spektrums bekannt, das von einem schweren Pearson-Syndrom, über ein Kearns-Sayre-Syndrom zur Symptomatik einer isolierten CPEO reichen kann. Singuläre mtDNA-Deletionen können in seltenen Fällen maternal vererbt werden, treten jedoch in den allermeisten Fällen sporadisch auf und sind in mütterlichen Geweben nicht nachweisbar. Das Wiederholungsrisiko für Geschwister ist dementsprechend gering, kann jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden. Das Risiko für ein betroffenes Kind wird für Mütter mit singulären mtDNA-Deletionen und einer klinischen Symptomatik auf etwa 1:24 geschätzt [2].

Homoplasmische mtDNA-Mutationen

Im Fall von homoplasmischen Mutationen – das relevanteste klinische Beispiel ist hier die Lebersche hereditäre Optikusneuropathie (LHON) – ist davon auszugehen, dass alle Nachkommen von weiblichen Anlageträgerinnen ebenfalls homoplasmische Mutationsträger sein werden, eine Krankheitsmanifestation aber aufgrund der reduzierten Penetranz nicht vorhergesagt werden kann bzw. durch bislang nicht völlig aufgeklärte Modifikationsfaktoren bestimmt wird.

Heteroplasmische mtDNA-Mutationen

Pathogene mtDNA-Mutationen sind meist heteroplasmisch, d. h. bei Betroffenen liegt in den Geweben und Zellen eine Mischung von normalen und mutierten mtDNA-Molekülen vor. Zu einer Organmanifestation kommt es bei den meisten Erkrankungen erst dann, wenn der Heteroplasmiegrad einen gewissen Prozentsatz überschreitet (Schwellenwerteffekt). Dieser Schwellenwert variiert, sowohl zwischen unterschiedlichen Geweben als auch in Abhängigkeit von der jeweiligen Mutation, und liegt üblicherweise in einem Bereich zwischen 50 und 100%, gelegentlich aber auch schon bei unter 10% mutierter mtDNA. Durch die Segregation mitochondrialer Mutationen kann sich der Heteroplasmiegrad in verschiedenen Geweben auch im Lauf des

Entwicklung verändern, etwa in den sich schnell teilenden Blutzellen abfallen oder in postmitotischen Muskelzellen akkumulieren. Heteroplasmie ist damit einer der Gründe, warum der klinische Schweregrad mitochondrialer Erkrankungen so unterschiedlich sein und auch im Lauf des Lebens zunehmen kann.

Im Fall heteroplasmischer mtDNA-Mutationen ist ein Erkrankungs- oder Wiederholungsrisiko für die Kinder einer Anlageträgerin schwer einzuschätzen:

Bestimmend für die Dosis mutierter mtDNA, die ein Nachkomme einer Anlageträgerin erbt, ist primär der sog. „mitochondriale Flaschenhals“, durch den letztlich nur eine kleine Anzahl von mtDNA-Molekülen die Gesamtheit der Mitochondrien in dem sich entwickelnden Embryo begründet. Dieser Flaschenhals ist vermutlich bereits in der sehr frühen Entwicklung der weiblichen Eizellen – im Stadium der primordialen Keimzellen – angesiedelt, wenn der Gehalt an mtDNA auf etwa 200 Moleküle pro Zelle abgesenkt wird, um dann in der reifen Eizelle wieder über 100.000 Moleküle zu betragen [7, 8]. Bestimmend für den späteren Phänotyp des sich entwickelnden Menschen sind dann jedoch weiterhin Segregationsverhalten, Heteroplasmie und Schwellenwerteffekt als Faktoren, in denen sich verschiedene mitochondriale Mutationen offenbar sehr unterschiedlich verhalten. Aussagekräftige Daten hierzu gibt es bislang jedoch nur für einzelne Mutationen.

Hierzu gehört die Mutation m.8993T > G/C im ATPase-6-Gen. Untersuchungen an fetalem und adultem Gewebe für diese Mutation weisen darauf hin, dass der Heteroplasmiegrad zwischen unterschiedlichen Geweben nicht sehr variabel ist und damit der im pränatalen Gewebe bestimmte Heteroplasmiegrad als repräsentativ für den Heteroplasmiegrad in anderen fetalen Geweben angesehen werden kann. Darüber hinaus besteht für die genannte Mutation eine relativ strenge Korrelation zwischen dem Heteroplasmiegrad und der Ausprägung der Krankheitssymptomatik (NARP: Neuropathie, Ataxie und Retinitis pigmentosa bzw. MILS: Maternal-inherited-Leigh-Syndrom). Damit sind für diese Mutation die Voraussetzungen gegeben, um unter bestimmten Ein-

schränkungen eine pränatale Diagnostik (Chorionzottenbiopsie) anbieten zu können. Grundsätzlich einschränkend ist das Problem eines Graubereichs in der genetischen Diagnostik: So ist anhand der vorhandenen Daten eine gute prädiktive Aussage möglich, wenn der Heteroplasmiegrad im fetalen Gewebe sehr niedrig (<30%) oder sehr hoch (>80%) ist. Eine prädiktive Aussage ist nicht möglich, wenn sich der Heteroplasmiegrad des fetalen Gewebes im Intermediärbereich zwischen diesen Werten befindet. In diesem Fall kann keine Aussage hinsichtlich einer zu erwartenden Erkrankung des ungeborenen Kindes getroffen werden.

Für die NARP-Mutation m.8993T > G besteht nach den vorliegenden Daten die Tendenz zu einer Alles-oder-nichts-Segregation: Auch wenn der Heteroplasmiegrad bei der Mutter niedrig ist, lässt sich häufig im kindlichen Gewebe bzw. untersuchten Oozyten entweder ein sehr niedriger oder aber eine sehr hoher Heteroplasmiegrad nachweisen (0% vs. >90%). Dennoch gibt es in der Literatur auch beschriebene Fälle mit einem Heteroplasmiegrad zwischen diesen Werten, die dann möglicherweise im Graubereich liegen, der keine Interpretation der pränatalen Diagnostik zulässt.

Ebenfalls besser untersucht ist die Mutation m.3243A > G (MELAS: mitochondriale Enzephalomyopathie mit Laktatazidose und Stroke-like-Episoden), die aufgrund ihrer spezifischen Eigenschaften einer pränatalen Diagnostik jedoch weniger gut zugänglich ist. Hier ist die Verteilung des Heteroplasmiegrads in den verschiedenen Geweben nach der Geburt sehr variabel. Der Heteroplasmiegrad im Blut fällt über die Zeit ab. Damit lässt sich auch aus dem Heteroplasmiegrad eines Gewebes, das der pränatalen Diagnostik zugänglich ist, nur schlecht auf den Phänotyp des sich entwickelnden Kindes rückschließen. Über eine Pränataldiagnostik wurde bei einzelnen Fällen berichtet [6].

Eine Präimplantationsdiagnostik für heteroplasmische Punktmutationen der mitochondrialen DNA wird nach Wissen der Autoren bislang an keinem deutschen Zentrum angeboten. Hier besteht die technische Herausforderung darin,

den Gehalt an veränderten mtDNA-Molekülen an einer Einzelzelle zu quantifizieren. Auch hier stellt das Segregationsverhalten unterschiedlicher Mutationen in der frühen Embryonalentwicklung eine Kernfrage dar. Eine Blastomerbiopsie (Biopsie von 1 bis 2 totipotenten Zellen am Tag 3 der Embryonalentwicklung), wie sie teilweise an ausländischen Zentren durchgeführt wird (persönliche Kommunikation mit Robert MacFarland und Robert W. Taylor, Newcastle University), wäre mit dem deutschen Embryonenschutzgesetz derzeit nicht vereinbar. Möglich in Deutschland wäre eine Trophektodermbiopsie (etwa Tag 5 der Embryonalentwicklung), hierzu liegen aber noch weniger Erfahrungswerte vor. Ein Kerntransfer in eine enukleierte Spendereizelle oder ein Transfer von Ooplasma einer Spenderzelle stellen derzeit experimentelle Verfahren dar, die bislang auch an internationalen Zentren Patienten nicht außerhalb von Forschungsstudien angeboten werden.

Fazit für die Praxis

Auch wenn in Zukunft neue Sequenzier-technologien – auch außerhalb des Forschungsrahmens – eine umfassendere Diagnostik erlauben werden, wird dies allein aufgrund der schieren Anzahl bereits jetzt bekannter Gene, deren Mutationen ursächlich für eine Mitochondriopathie sein können, kein Routineverfahren sein, dass ohne eine sorgfältige Interpretation der Daten innerhalb des klinischen Kontextes auskommt. In Zusammenschau aller klinischen, histologischen und biochemischen Befunde unter Einbeziehung aktueller wissenschaftlicher Erkenntnisse lässt sich aber bereits heute oft ein „diagnostischer Pfad“ finden, der es auch unter Eingrenzung der genetischen Untersuchungen erlaubt, die ursächliche Mutation bei Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Mitochondriopathie nachzuweisen [4, 9, 10]. Erst die genetisch gesicherte Diagnose ermöglicht eine präzise genetische Beratung betroffener Patienten.

Korrespondenzadresse

PD Dr. A. Abicht
MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum
Bayerstr. 3–6, 80336 München
abicht@mgz-muenchen.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt für sich und seinen Koautor an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Chan SS, Naviaux RK, Basinger AA et al (2009) De novo mutation in POLG leads to haplotype insufficiency and Alpers syndrome. *Mitochondrion* 9:340–345
2. Chinnery PF, DiMauro S, Shanske S et al (2004) Risk of developing a mitochondrial DNA deletion disorder. *Lancet* 364:592–596
3. Cohen BH, Chinnery PF, Copeland WC (2010) POLG-Related Disorders. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR et al (Hrsg) *GeneReviews™*; University of Washington, Seattle/WA. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301295>. Zugriffen: 20. Aug. 2012
4. Greaves LC, Reeve AK, Taylor RW, Turnbull DM (2012) Mitochondrial DNA and disease. *J Pathol* 226:274–286
5. Honzik T, Tesarova M, Magner M et al (2012) Neonatal onset of mitochondrial disorders in 129 patients: clinical and laboratory characteristics and a new approach to diagnosis. *J Inher Metab Dis*: 2012 Jan 10 [Epub ahead of print]
6. Marchington D, Malik S, Banerjee A et al (2010) Information for genetic management of mtDNA disease: sampling pathogenic mtDNA mutants in the human germline and in placenta. *J Med Genet* 47:257–261
7. Poulton J, Bredenoord AL (2010) 174th ENMC international workshop: applying pre-implantation genetic diagnosis to mtDNA diseases: implications of scientific advances 19–21 March 2010, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 20:559–563
8. Takeda A, Sudo A, Yamada M et al (2012) Eponym: Barth syndrome. *Eur J Pediatr* 170:1365–1367
9. Uziel G, Ghezzi D, Zeviani M (2011) Infantile mitochondrial encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med* 16:205–215
10. Ylikallio E, Suomalainen A (2012) Mechanisms of mitochondrial diseases. *Ann Med* 44:41–59
11. (o A) (o J) Mitomap. A human mitochondrial genome database. <http://www.mitomap.org>. Zugriffen: 20. Aug. 2012

Migränerforschung: Vier genetische Risikofaktoren gefunden

Zwei Drittel der Migränepatienten leiden an der Migräne ohne Aura. Erstmals konnten Münchner Forscher gemeinsam mit dem International Headache Genetics Consortium vier genetische Risikofaktoren im Erbgut von Migränepatienten orten. Für die Untersuchung wurde das Erbgut von knapp 5000 Migränepatienten mit dem von mehr als 7000 Kontrollpersonen verglichen. Dabei untersuchten die Wissenschaftler, ob bei Migränepatienten bestimmte der unzählig vielen Polymorphismen statistisch gehäuft auftreten. Die Wissenschaftler kamen zu dem Ergebnis, dass es sich um Polymorphismen handelt, bei denen jeweils nur ein einzelner Baustein im DNA-Strang verändert ist. Diese Risikovarianten, die auf den Chromosomen 1, 3, 6 beziehungsweise 9 lokalisiert sind, machen ihre Träger anfällig für die Migräne ohne Aura. Arbeiten an noch größeren Patientenkollektiven sollen helfen, weitere Risikofaktoren zu identifizieren.

Literatur: Freilinger T, Anttila V, de Vries B et al (2012) Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura. *Nature Genetics* 44:777–782

Quelle: Institut für Schlaganfall- und Demenzforschung (ISD), Klinikum der Universität München, www.klinikum.uni-muenchen.de