

medgen 2012 · 24:193–199
DOI 10.1007/s11825-012-0338-8
Online publiziert: 12. September 2012
© Springer-Verlag 2012

B. Büchner¹ · C. Gallenmüller¹ · R. Lautenschläger² · K. Kuhn² · I. Wittig³ ·
L. Schöls⁴ · D. Rapaport⁵ · D. Seelow⁶ · P. Freisinger^{7,7a} · H. Prokisch⁸ · W. Sperl⁹ ·
T. Wenz¹⁰ · C. Behl¹¹ · M. Deschauer¹² · C. Kornblum¹³ · P. Schneiderat¹ · A. Abicht¹ ·
M. Schuelke⁶ · T. Meitinger⁸ · T. Klopstock¹ · und das mitoNET-Consortium

¹ Friedrich-Baur-Institut an der Neurologischen Klinik, Klinikum der Universität München – Innenstadt

² Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität (TUM-MED), München

³ Molekulare Bioenergetik, Zentrum der Biologischen Chemie, Universität Frankfurt

⁴ Neurologische Klinik, Universität Tübingen

⁵ Interfakultäres Institut für Biochemie, Universität Tübingen

⁶ Klinik für Pädiatrie m. S. Neurologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum

⁷ Kinderklinik, Technische Universität München

^{7a} Klinik für Kinder und Jugendliche, Klinikum Reutlingen

⁸ Institut für Humangenetik, Technische Universität München

⁹ Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Paracelsus Medizinische Privatuniversität, Salzburg

¹⁰ Institut für Genetik, Universität Köln

¹¹ Institut für Pathobiochemie, Universität Mainz

¹² Klinik für Neurologie, Universität Halle-Wittenberg

¹³ Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universitätsklinikum Bonn

Das Deutsche Netzwerk für mitochondriale Erkrankungen (mitoNET)

Mitochondriale Erkrankungen sind eine heterogene Gruppe von Krankheiten, die durch mitochondriale Fehlfunktion charakterisiert sind. Trotz der diagnostischen Fortschritte und der Aufklärung ihrer molekularen Mechanismen gibt es bislang keine ursächliche Therapie. Dies ist besonders unbefriedigend, weil der funktionelle Energiemangel therapeutisch beeinflussbar erscheint. Die Seltenheit und Heterogenität der Erkrankungen und das in-

komplette diagnostische Möglichkeitenpektrum verhinderte in der Vergangenheit den Aufbau von umfassenden Patientenregistern und die Durchführung kontrollierter Studien.

mitoNET-Verbundprojekt

Das deutsche Netzwerk für mitochondriale Erkrankungen mitoNET wird seit Februar 2009 vom Bundesministerium für Bil-

dung und Forschung (BMBF) als eines von bundesweit 16 Netzwerken zu seltenen Erkrankungen gefördert. Kliniker mit besonderer Expertise auf dem Gebiet der mitochondrialen Erkrankungen sowie Grundlagenwissenschaftler haben sich zu einem Verbund zusammengeschlossen mit dem gemeinsamen Ziel, eine Verbesserung der medizinischen Versorgung von Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen zu erreichen. Weitere Ziele in diesem Zusam-

mitoNET-Consortium (weitere Mitglieder):

Ahting U, Institut für Klinische Chemie, Klinikum Schwabing, München

Dimmer KS, IFIB – Interfakultäres Institut für Biochemie, Universität Tübingen

Ebinger F, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, St.-Vincenz-Krankenhaus, Paderborn

Fiedler A, Klinik für Kinder und Jugendliche, Klinikum St. Marien, Amberg

Güttsches AK, Neurologische Klinik, Bergmannsheil, Ruhr-Universität Bochum

Hajjeva P, Institut für Pathobiochemie, Universität Mainz

Hoffmann G, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Heidelberg

Jackson S, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Klinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

Karle K, Neurologische Klinik und Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung, Universität Tübingen

Knop KC, Neurologie Neuer Wall, Hamburg

Koch J, Landeskrankenhaus Salzburg, Universitätsklinikum der Paracelsus Medizinischen Privatuniversität

Korinthenberg R, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg

Kotzaeridou U, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Heidelberg

Krägeloh-Mann I, Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinik Tübingen

Kunz W, Klinik für Epileptologie, Universitätsklinikum Bonn

Makowski C, Kinderklinik, Technische Universität München, München

Mayr J, Landeskrankenhaus Salzburg, Universitätsklinikum der Paracelsus Medizinischen Privatuniversität

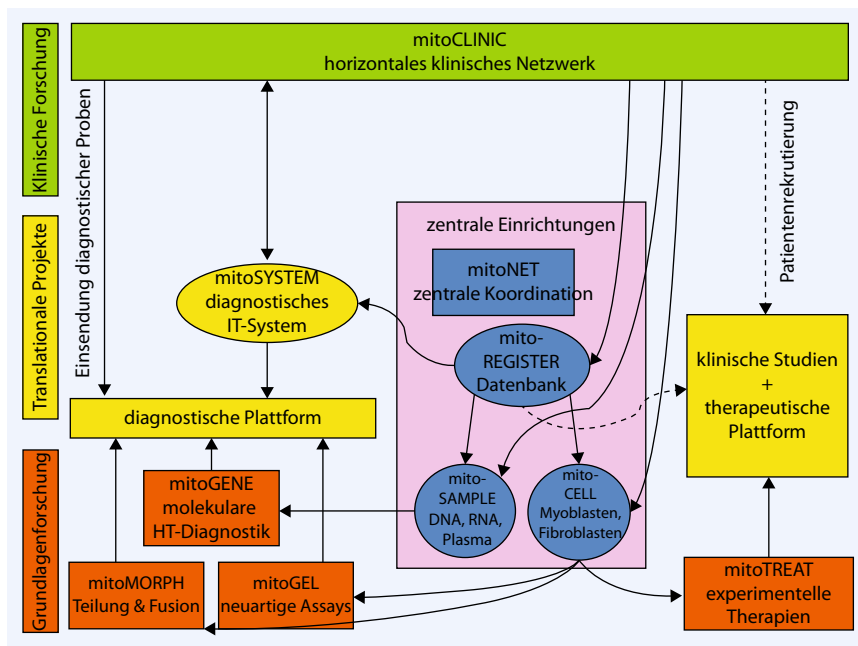


Abb. 1 ▲ mitoNET-Organisationsstruktur. IT Informationstechnologie; HT „high throughput“, Hochdurchsatz

menhang sind auch die Verbesserung der Aufmerksamkeit von Öffentlichkeit und Expertenkreisen für diese i. d. R. wenig bekannten Krankheitsbilder, die Förderung der Zusammenarbeit zwischen Grundlagenwissenschaftlern und Klinikern zur Verstärkung von Synergieeffekten sowie die Organisation von interdisziplinären Aktivitäten und Austauschprogrammen. Die **Abb. 1** zeigt eine Übersicht über die Organisationsstruktur innerhalb des Verbundprojekts, **Abb. 2** stellt die deutschlandweite Verteilung der neurologischen, pädiatrischen und wissenschaftlichen Zentren dar. Dank der positiven Ergebnisse und Fortschritte sowohl im klinischen als auch im wissenschaftlichen Be-

reich begann für das Netzwerk im Februar 2012 die zweite 3-jährige Förderphase.

Horizontales klinisches Netzwerk, mitoREGISTER und Biobanken

Eine zentrale und entscheidende Rolle für das Verbundprojekt mit all seinen Forschungsteilprojekten hat das horizontale klinische Netzwerk („horizontal clinical network“, HCN). Inzwischen haben sich 8 neurologische sowie 13 pädiatrische Zentren mit besonderer Expertise auf diesem Gebiet dem Netzwerk angeschlossen. Sie sind zuständig für die Rekrutierung und Betreuung betroffener Patienten, Erfas-

sung der klinischen Daten und deren Speicherung in der dafür vorgesehenen zentralen webbasierten Registerdatenbank (mitoREGISTER).

In dieses klinische Register können Patienten mit gesicherter mitochondrialer Erkrankung oder dringendem Verdacht aufgenommen werden, beruhend auf klinischer und/oder morphologischer und/oder biochemischer und/oder molekular-genetischer Evidenz. Die betroffenen Patienten stellen sich regelmäßig (optimalerweise einmal jährlich) vor, wobei der Abstand der Follow-up-Untersuchungen im Einzelfall je nach Ausmaß und Schweregrad der Erkrankung angepasst werden kann. Mittels standardisierter und validierter Fragebögen (Newcastle Mitochondrial Disease Adult Scale, NMDAS; Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale, NPMDS; Scale for the Assessment and Rating of Ataxia, SARA, short form 12, SF12, Version 2; u. a. werden relevante klinische Untersuchungsbefunde und Angaben zur Lebensqualität erfasst. Der Arzt erhebt zusätzlich auch andere wichtige Informationen wie z. B. eine ausführliche Krankengeschichte, Familienanamnese sowie Ergebnisse von bildgebenden, Labor- oder anderen Untersuchungen. Diese umfassenden klinischen Patientendaten werden im mitoREGISTER gespeichert und können im Detail nur vom eintragenden Arzt eingesehen werden; für andere Mitglieder des HCN sind lediglich ausgewählte Patienteninformationen sichtbar (insbesondere Diagnose, Altersgruppe, rekrutierendes Zentrum). Eine Übersicht über die Entwicklung der Patienteneinschlüsse sowie der häufigsten Diagnosen im mitoNET zeigt **Abb. 3**.

Müller-Felber W, Dr. von Haunersche Kinderklinik, Ludwig-Maximilians-Universität München

Obermaier-Kusser B, Institut für Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Klinikum der Stadt Ludwigshafen gGmbH

Reichmann H, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Klinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

Rolinski B, Institut für Klinische Chemie, Klinikum Schwabing, München

Saft C, Neurologische Klinik, St.-Josef-Hospital, Ruhr-Universität Bochum

Schäfer J, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Klinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

Schägger H, Molekulare Bioenergetik, Zentrum der Biologischen Chemie, Goethe-Universität, Frankfurt am Main

Schneider-Gold C, Neurologische Klinik, St.-Josef-Hospital, Ruhr-Universität Bochum

Schottmann G, Klinik für Pädiatrie m.S. Neurologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, Berlin

von Kleist-Retzow JC, Klinik und Poliklinik für Kinderheilkunde, Universitätsklinikum Köln (AÖR)

Vorgerd M, Neurologische Klinik, Bergmannsheil, Ruhr-Universität Bochum

Wilichowski E, Pädiatrie II, Universitätsklinikum Göttingen

Wörnle S, Kindertagesklinik, Klinikum Traunstein

Yilmaz A, Kardiologie, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart

Zierz S, Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universität Halle-Wittenberg

Bei jedem Besuch findet – die Einwilligung des Patienten vorausgesetzt – eine Blutentnahme zur Sammlung und Bereitstellung von wertvollem biologischem Material statt. Auch Kontrollpersonen (Lebenspartner, nicht betroffene Verwandte) haben die Möglichkeit, freiwillig Blut für das Projekt zu spenden. Die Bioproben werden in der dafür vorgesehenen Biobank mitoSAMPLE aufbewahrt. Zudem können die Patienten entscheiden, ob sie mit der Freigabe von zu diagnostischen Zwecken gewonnenen Myoblasten oder Fibroblasten für das Forschungsprojekt einverstanden sind, welche dann in einer weiteren dem Netzwerk zur Verfügung stehenden Biobank namens mitoCELL asserviert werden. In Kombination mit dem zentralen klinischen Register schafft diese umfassende Sammlung von Blut- und Gewebeproben die Voraussetzung für Studien mit ausreichenden Probenzahlen, wie sie sowohl in der Grundlagenforschung als auch für klinische Studien benötigt werden. Sie ermöglicht Untersuchungen auf der DNA-, RNA-, Protein- und Metabolitenebene. Die Bioproben können Wissenschaftlern sowohl innerhalb als auch außerhalb des Netzwerks zu Forschungszwecken zur Verfügung gestellt werden.

Für die Patienten erfolgt die Aufnahme ins mitoREGISTER auf freiwilliger Basis und kostenfrei. Insbesondere für die Durchführung zukünftiger therapeutischer Studien ist die zentrale Registrierung von Patienten mit seltenen Erkrankungen eine wichtige und notwendige Planungshilfe. Entsprechende Einschlusskriterien können bereits im Vorfeld überprüft und ausgewählte Patienten rasch rekrutiert werden und somit von etwaigen neuen Therapien schneller profitieren. Bei Patienten mit noch ungesicherter Verdachtsdiagnose kann durch den Einsatz von innovativen, noch nicht validierten diagnostischen Methoden im Rahmen von mitoNET die Diagnosefindung beschleunigt werden. Die Erfassung der klinischen Verlaufsdaten durch die regelmäßigen jährlichen Kontrolluntersuchungen wird zudem wertvolle Erkenntnisse zum natürlichen Verlauf der mitochondrialen Erkrankungen liefern.

Ein weiterer wesentlicher Aspekt des mitoREGISTER ist die sog. „trial readi-

medgen 2012 · 24:193–199 DOI 10.1007/s11825-012-0338-8
© Springer-Verlag 2012

B. Büchner · C. Gallenmüller · R. Lautenschläger · K. Kuhn · I. Wittig · L. Schöls · D. Rapaport · D. Seelow · P. Freisinger · H. Prokisch · W. Sperl · T. Wenz · C. Behl · M. Deschauer · C. Kornblum · P. Schneiderat · A. Abicht · M. Schuelke · T. Meitinger · T. Klopstock
und das mitoNET-Consortium

Das Deutsche Netzwerk für mitochondriale Erkrankungen (mitoNET)

Zusammenfassung

Das mitoNET wurde als interdisziplinäres, deutschlandweites Netzwerk mit dem Ziel konzipiert, eine Verbesserung der Patientenversorgung auf dem Gebiet der mitochondrialen Erkrankungen zu erreichen. Das horizontale klinische Netzwerk des mitoNET umfasst 8 neurologische und 13 pädiatrische Kliniken, die für die Patientenrekrutierung, deren Phänotypisierung und die Erfassung des natürlichen Verlaufs im Rahmen von jährlichen Kontrolluntersuchungen zuständig sind. Die Speicherung der erhobenen Daten erfolgt in einer eigens entwickelten webbasierten Registerdatenbank. Das Netzwerk betreibt 2 Biobanken zur Asservierung von DNA, RNA, Plas-

ma sowie von diagnostisch gewonnenen Fibro- und Myoblasten. Vier Forschungsprojekte zielen auf eine Verbesserung des diagnostischen Spektrums durch Etablierung neuer Methoden, und ein Teilprojekt beschäftigt sich mit der Überprüfung neuer Therapiemöglichkeiten. Das mitoNET wird seit Anfang 2009 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, Förderkennzeichen 01GM1113A) gefördert.

Schlüsselwörter

Mitochondriopathie · Register · Pathophysiologie · Molekulare Diagnostik · Therapie

The German Network for Mitochondrial Disorders (mitoNET)

Abstract

The principal goal of mitoNET is to establish a German interdisciplinary network of clinical and basic research centres in order to improve health care for patients with mitochondrial diseases. Eight neurological and thirteen pediatric clinical centres are part of the horizontal clinical network for recruitment and phenotyping of mitochondrial patients and collection of urgently needed data on the natural history of mitochondrial diseases. These clinical data are stored in a web-based registry that was created especially for this purpose. Within mitoNET two biobanks have been established for comprehensive collection and storage of biological material such as DNA,

RNA, plasma as well as myoblasts and fibroblasts from diagnostic biopsies. Four subprojects are aimed at enhancing the range of diagnostic tools by developing new techniques and one subproject concentrates on in vitro and in vivo investigations of novel therapies. The German ministry of education and research ("Bundesministerium für Bildung und Forschung") has funded mitoNET since February 2009.

Keywords

Mitochondrial diseases · Registry · Pathophysiology · Molecular diagnostics · Therapy

ness“. Gut charakterisierte Patientenkollektive erleichtern die Durchführung randomisierter klinischer Studien, die zunehmend auch bei seltenen Erkrankungen zum Einsatz kommen werden. Mithilfe des mitoREGISTER konnte die bislang größte randomisierte klinische Studie bei einer mitochondrialen Erkrankung durchgeführt werden, eine Untersuchung des Medikaments Idebenone bei 90 Patienten mit hereditärer Leber-Optikusneuropathie [1].

Inzwischen liegen im Register Daten von über 550 Patienten mit gesicherter mi-

tochondriale Erkrankung oder hochgradigem Verdacht sowie über 125 Datensätze mit Verlaufsdaten vor. In mitoSAMPLE sind bereits knapp 570 Patientenproben sowie etwa 180 Kontrollproben gespeichert, über mitoCELL sind etwa 100 Zellkulturen verfügbar. Die Daten- und Bioprobenmengen haben inzwischen eine kritische Masse erreicht, sodass derzeit an ersten Auswertungen gearbeitet wird.

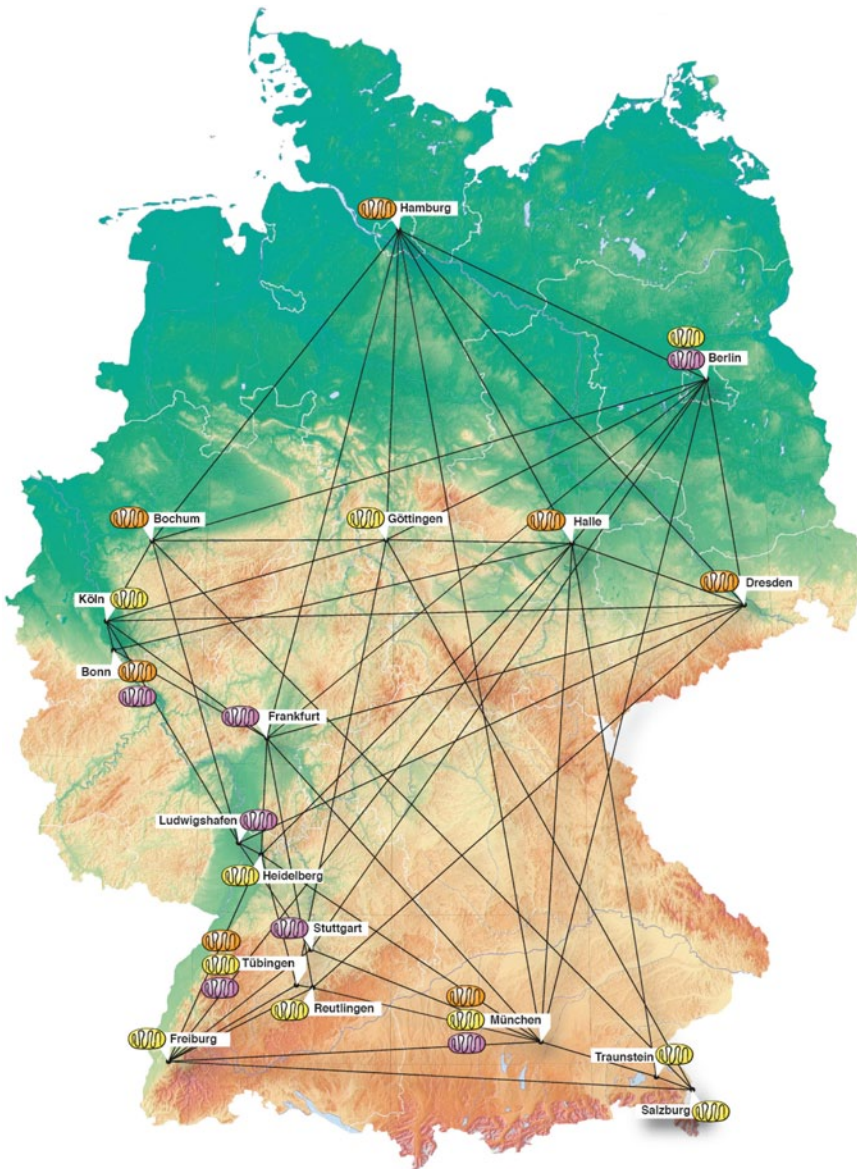


Abb. 2 ▲ Deutschlandweite Verteilung der neurologischen (orangefarbenes Symbol) und pädiatrischen (gelbes Symbol) Zentren sowie der wissenschaftlichen Teilprojekte (rosa Symbol) im mitoNET

mitoNET-Forschungsprojekte

Auf wissenschaftlicher Ebene werden im Rahmen von mitoNET zzt. 5 Teilprojekte vom BMBF gefördert. Vier von diesen Forschungsprojekten zielen auf eine Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten durch Etablierung neuer Methoden, ein Teilprojekt beschäftigt sich mit der In-vitro- und In-vivo-Überprüfung neuer Therapiemöglichkeiten. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Projekte mit den wichtigsten Zielen und Ergebnissen kurz zusammengefasst.

mitoGEL

Quantifizierung von mitochondrialen Membranproteinkomplexen und Charakterisierung von oxidativen Proteinmodifikationen bei mitochondrialen Erkrankungen. Herkömmliche Methoden zur Quantifizierung dieser Komplexe werden mit Muskelbiopsiematerial von Patienten oder einer größeren Menge an kultivierten Hautfibroblasten durchgeführt. Die komplette Analyse der mitochondrialen Komplexe der oxidativen Phosphorylierung (OXPHOS) mit reduzierter Probenmenge ist möglich, aber kompliziert und zeitaufwendig. Um die Quantifizie-

rung der mitochondrialen Proteinkomplexe zu vereinfachen, wurden im Rahmen von mitoGEL reaktive Fluoreszenzfarbstoffe verwendet und ein hochsensitives Protokoll entwickelt, dass die Quantifizierung aller 5 OXPHOS-Komplexe (I–V), des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes sowie des α -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Komplexes in einem einzigen 2D-BN/SDS-Gel ermöglicht. Dabei ist die Fluoreszenzmarkierung sehr sensitiv – es genügen 5 mg Muskel oder 10 mg Fibroblasten. Diese Methode wird nun an Zellen und Geweben von Patienten im Rahmen von mitoNET eingesetzt, um sie auf Veränderungen im Aufbau und Stabilität der mitochondrialen Proteinkomplexe untersuchen zu lassen [2].

Alternativ zu den invasiven Probenentnahmen wie Muskel- und Hautbiopsien wäre die Verwendung leichter zugänglicher Blutzellen z. B. Thrombozyten, Monozyten und Lymphozyten für die Analyse und Quantifizierung der Atmungskettenkomplexe attraktiv und wird zur Zeit im Rahmen dieses Projekts als weitere diagnostische Möglichkeit untersucht. Sie hätte den erheblichen Vorteil, dass sie minimalinvasiv wäre, dem Patienten somit Muskel- oder Hautbiopsien erspart bleiben könnten. Auch Therapieerfolge, z. B. im Rahmen klinischer Studien, könnten dadurch einfacher dokumentiert werden.

Schließlich wird der Status antioxidativer Schutzmechanismen in Patientenzellen bestimmt und die Bedeutung der erhöhten Sauerstoffradikalproduktion für die Pathogenese mitochondrialer Erkrankungen ermittelt, die bei einigen Patienten gemessen wurden.

mitoMORPH

Morphologische und biochemische Veränderungen der Mitochondrien als Biomarker für Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen. Im Rahmen dieses Projekts sollen Störungen des mitochondrialen Teilungs- und Fusionsgleichgewichts im Rahmen humaner mitochondrialer Zytopathien identifiziert und deren Bedeutung für das Zustandekommen der entsprechenden Symptomatik entschlüsselt werden. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden Kulturen mitotischer und postmitotischer Zellen in Hinblick auf ihre

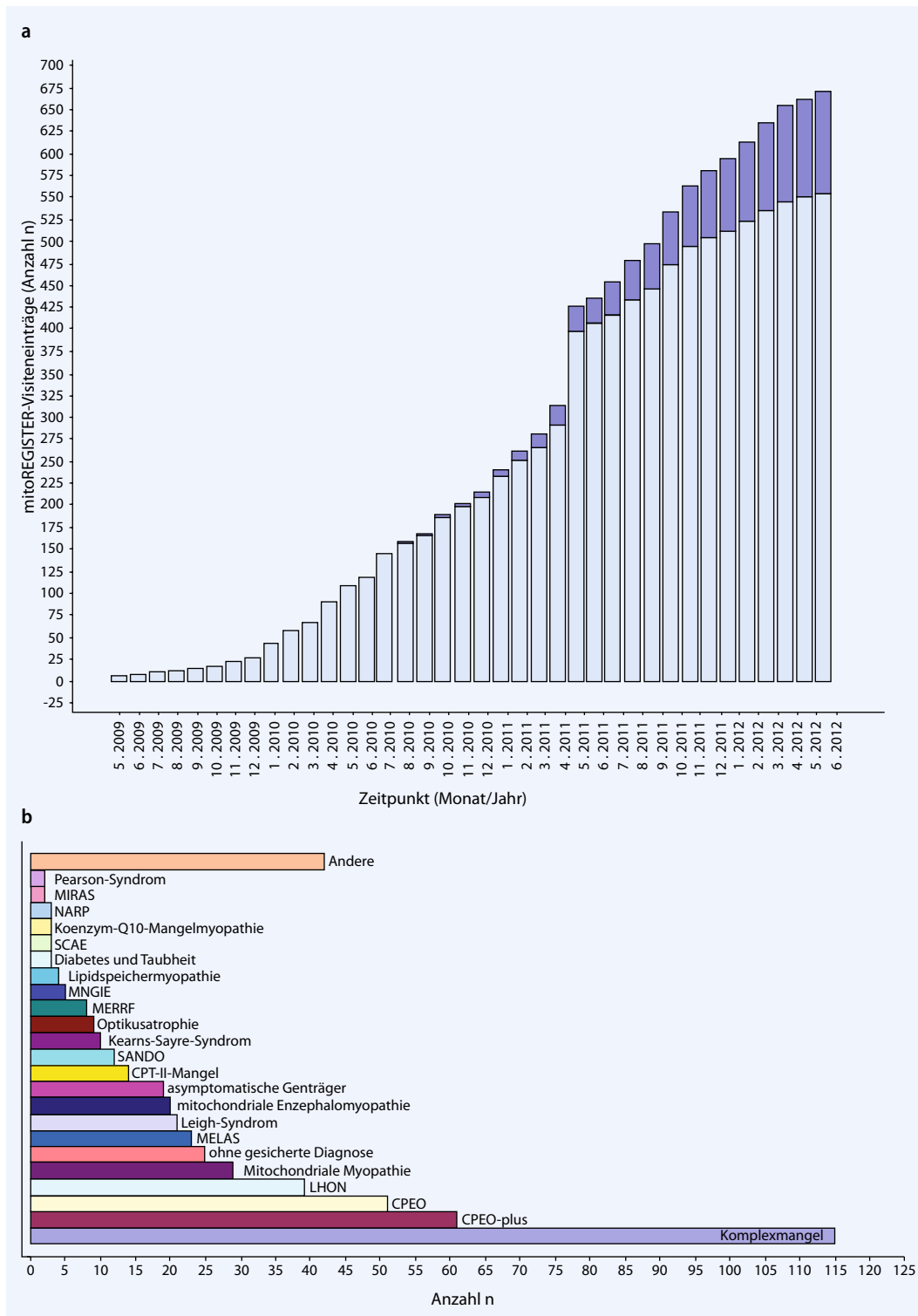


Abb. 3 ▶ mitoREGISTER. **a** Entwicklung der Patientenneweinschlüsse (*hellblau*) und Wiedervorstellungsvisiten (*dunkelblau*). **b** Verteilung der Diagnosen; *MIRAS* „mitochondriales rezessives Ataxiesyndrom“; *NARP* Neuropathie, Ataxie und Retinitis pigmentosa; *SCAE* Neuropathie, spinocerebelläre Ataxie, Epilepsie; *MNGIE* mitochondriale neurogastrointestinale Enzephalomyopathie; *MERRF* Myoklonusepilepsie, „ragged red fibers“; *SANDO* sensible ataktische Neuropathie, Dysarthrie, Ophthalmoparese; *CPT* Carnitin-Palmityl-Transferase; *MELAS* Myopathie, Enzephalopathie, Laktat-azidose, schlaganfallähnliche Episoden; *LHON* hereditäre Leber-Optikusneuropathie; *CPEO* chronisch progressive externe Ophthalmoplegie

mitochondriale Morphologie und Dynamik untersucht. Lymphozyten, Fibroblasten und Myoblasten von Patienten, die an einer Mitochondriopathie leiden, wurden mittels „live cell imaging“ hinsichtlich morphometrischer, histologischer und funktioneller Veränderungen evalu-

iert. Zellen von Patienten, mit bekannten Mutationen in Genen, die für „Morphologieproteine“ kodieren, dienen dabei als Kontrollen, um standardisierte Analyseverfahren zu etablieren. Hierdurch wird es möglich sein, den Zusammenhang zwischen mitochondrialem Membranpoten-

zial, oxidativer Phosphorylierung, Teilung und Fusion des Organells sowie dessen Motilität zu verstehen. Die so etablierten Analysemethoden für mitochondriale Morphologie und Motilität werden außerdem auf ihre Eignung als neue diagnostische Nachweisverfahren für Mitochon-

driopathien untersucht und auch auf bislang molekular nicht definierte mitochondriale Erkrankungen angewandt. Als nächsten Schritt sollen im Teilprojekt drei weitere Assays zur Untersuchung der Korrelation zwischen morphologischen und funktionellen Veränderungen eingeführt werden: parallele Messung von Sauerstoffverbrauch, mitochondrialer Protein- und Lipidzusammensetzung der Membran. Die resultierenden Parameter können als Biomarker bei der Diagnose verschiedener Zytopathien und als Indikator für die Effizienz neuer Behandlungsansätze genutzt werden. Darüber hinaus stellen die morphologischen und biochemischen Parameter potenzielle Biomarker zur Kontrolle des Krankheitsverlaufs dar. Diese Analyseverfahren werden als zentrale Service-Einrichtung den Mitgliedern des mitoNET zur Verfügung gestellt.

mitoGENE

Molekulare Diagnostik mittels „next generation sequencing“. Ziel dieses Teilprojekts ist es, eine umfassende molekulare Diagnostik für mitochondriale Erkrankungen anzubieten unter Einbeziehung neuester technologischer Entwicklungen, insbesondere mithilfe der Methode des „next generation sequencing“ (NGS). Bereits in der ersten Förderphase wurde dafür die Illumina-NGS-Plattform und eine Exome-sequencing-Pipeline etabliert. Sequenzierkapazitäten wurden durch Anschaffung eines HighSeq2000-Sequenzers ausgebaut. Am Beispiel von ACAD9 konnte gezeigt werden, dass „next generation exome sequencing“ eines einzelnen Patienten das Potenzial hat, neue Krankheitsgene zu identifizieren [3]. Mitochondriale Erkrankungen sind für diese Untersuchungen besonders gut geeignet, da

- ein zellulärer Defekt vorliegt,
- in den meisten Fällen eine Zellkultur vom Patienten verfügbar ist und
- effektive Filter zur Eingrenzung möglicher pathogener Varianten etabliert sind.

Im besten Fall leiten sich aus der identifizierten Mutation Konsequenzen für die Behandlung des Patienten ab.

Die Entwicklung von Protokollen für die Anreicherung von DNA-Fragmen-

ten erlaubt heute die Sequenzierung von Teilgenomen. Allerdings ist noch unklar, inwieweit die neuen Methoden des NGS mit den hohen Standards der molekularen Diagnostik vereinbar sind. Zwei verschiedene Ansätze für ihren Einsatz in der Diagnostik sollen hier getestet werden: In einem Forschungsansatz wird das Exome-Sequencing für die Identifizierung von krankheitsrelevanten Mutationen angewendet; parallel hierzu sollen in einem kleineren Ansatz etwa 150 Gene sequenziert und die Spezifität und Sensitivität für die molekulare Diagnostik getestet werden. Beim Exome-Sequencing werden gezielt alle (bekannten) kodierenden Sequenzen des humanen Genoms analysiert. Diese Methode erlaubt es, Mutationen in Genen, die bekanntermaßen mit einer Mitochondriopathie assoziiert sind, zu finden. Darüber hinaus hat die Methode aber auch das Potenzial, krankheitsrelevante Mutationen in Genen zu detektieren, die bisher nicht mit der Erkrankung assoziiert wurden.

Die Untersuchung einer geringeren Anzahl von Genen bietet den Vorteil einer höheren Sensitivität. Aus diesem Grund soll ein Genpanel von 150 Genen (mitoSET) für die molekulare Diagnostik mitochondrialer Erkrankungen zusammengestellt werden. Diese Verfahren haben das Potenzial, später ebenfalls Einsatz in der Routinediagnostik zu finden.

mitoSYSTEM

Erstellung eines Expertensystems zur Integration von Genotyp- und Phänotypdaten von Patienten mit Mitochondriopathien. Mitochondriopathien sind vielgestaltige, selbst für Spezialisten schwer zu diagnostizierende Erkrankungen. Patienten werden daher oft unnötigen medizinischen Untersuchungen und Prozeduren unterzogen, die für sie belastend sind und unnötige Kosten verursachen. Ein internetbasiertes Diagnoseprogramm soll hier Abhilfe schaffen. Innerhalb dieses Projekts wurden in der ersten Förderphase Algorithmen und Computerprogramme entwickelt, mit deren Hilfe man verschiedene Informationsquellen im Internet mittels Bayes-Klassifikatoren miteinander verknüpfen kann.

Zur Verbesserung der Kooperation zwischen klinisch tätigen Ärzten und Wissenschaftlern wurde eine graphische Benutzeroberfläche erstellt, mit der man rasch im Körper des Menschen navigieren kann und mithilfe eines „kontrollierten Vokabulars“ für jedes Organ die relevanten (verzweigten) Krankheitsbegriffe präsentiert bekommt. Die Testpersonen waren in der Lage, komplexe Syndrome innerhalb kürzester Zeit einzugeben und gleichzeitig trotz Gebrauch der eigenen Sprache (mit all ihren Synonymen) am Ende eine standardisierte Phänotypbeschreibung vorzufinden.

Des Weiteren wurde ein hoch automatisiertes Vorhersageprogramm entwickelt, mit dem es möglich ist, die Pathogenität sowohl exonischer als auch intronischer Sequenzvarianten durch bioinformatische Methoden schnell und verlässlich einzuschätzen [4]. Dieses Programm ist insbesondere bei der Analyse der großen Anzahl von im Rahmen einer Hochdurchsatzsequenzierung identifizierten, unklaren Sequenzvarianten von großem Nutzen. Eingaben und Abfragen sowohl klinischer Phänotypinformationen als auch genetischer Daten von Patienten mit Mitochondriopathien sollen in der aktuellen Förderphase weiterhin verbessert und intuitiver gestaltet werden. Geplant ist zudem die Entwicklung einer intuitiven graphischen Benutzeroberfläche, welche die Daten der mitochondrialen Phänotypologie mit denen molekulargenetischer Datenbanken, besonders dem mitoREGISTER, verknüpft. mitoSYSTEM wird helfen, Genfindungsprojekte zu beschleunigen, indem es die Suche nach Patienten mit ähnlichen Erkrankungen wesentlich vereinfacht und standardisiert. Darüber hinaus verbessert eine detaillierte Phänotypbeschreibung die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient mit einer seltenen Erkrankung (hier Mitochondriopathien) einen Spezialisten für seine Krankheit findet.

mitoTREAT

Evaluation therapeutischer Möglichkeiten. Die therapeutischen Möglichkeiten für Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen sind noch sehr gering und beschränken sich auf symptomati-

sche Therapie und einzelne pharmakologische Behandlungsansätze, deren Nutzen nicht bewiesen ist. mitoTREAT hat das Ziel, den Effekt verschiedener neuartiger Therapieansätze in vitro und in vivo bei betroffenen Patienten zu analysieren.

Im Vorläuferprojekt wurden Methoden zu Einfluss von Bezafibrat auf die Komplexaktivität, Proteinmenge und Genexpression an Zelllinien von 55 Patienten mit isolierten oder kombinierten Komplex-I-Defekt etabliert; bei 25 Patienten war der molekulargenetische Defekt bekannt. Eine positive Beeinflussung der Aktivität der Atmungskette und der mitochondrialen Biogenese durch den Einsatz von Fibraten konnte dabei in den meisten Fällen gezeigt werden. Auch für weitere Substanzen, z. B. Riboflavin (ein Kofaktor des Komplex I), wurde ein positiver Effekt beobachtet, eine Verbesserung des klinischen Verlaufs wird aber nicht bei allen Patienten erreicht. AMPK („AMP-activated protein kinase“) und Rosiglitazon kommen als weitere potenzielle Substanzen zur Steigerung der mitochondrialen Biogenese und Funktion in Betracht. Weiterhin soll auch das therapeutische Potenzial von Bisaryliminen als Substanzen mit sehr hohem antioxidativem und protektivem Effekt sowohl in vitro als auch in vivo in Rahmen dieses Projekts getestet werden.

Mit der bereits entwickelten Methodik wird nun in der zweiten Projektphase geprüft werden, ob die genannten Substanzen die Enzymaktivität der Atmungskettenkomplexe in Zelllinien von Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen erhöhen oder sogar einen kompletten Rescue der verminderten Enzymaktivität bewirken können. Konsequenz wird bei Zelllinien, die positiv auf eine Substanz reagiert haben, der posttranslationale Effekt auf die Atmungskettenenzyme analysiert. Da Bezafibrate auch die Enzymaktivität in Zelllinien von Patienten mit Barth-Syndrom stimulieren, soll dieser Effekt in einem Knockdown-Mausmodell untersucht werden. Anhand der Zellkulturen sollen die Patienten identifiziert werden, bei denen die Behandlung mit Riboflavin wirksam sein könnte.

Die Ergebnisse von mitoTREAT könnten neue therapeutische Strategien

für eine Gruppe von Erkrankungen liefern, für die es bisher keine kausale Therapie gibt.

Fazit für die Praxis

- Das mitoNET mit dem bereits aufgebauten horizontalen klinischen Expertennetzwerk, dem klinischen Patientenregister, den Biobanken und all seinen wissenschaftlichen Teilprojekten soll in erster Linie den Patienten zugutekommen, die durch verbesserte Diagnostik schneller und direkter zu einer diagnostischen Einordnung ihrer Symptome gelangen und längerfristig von neuen Therapieverfahren profitieren werden.
- Für die behandelnden Ärzte werden sich neue Erkenntnisse zu Pathogenese, Klinik und Therapie ergeben, die dann in die bestehenden Leitlinien einfließen und dadurch die medizinische Versorgung der Patienten optimieren werden.
- Interesse an diesem Verbundprojekt besteht auch vonseiten der pharmazeutischen Industrie, da große, gut charakterisierte Patientenkollektive für validierte Therapiestudien essenziell sind.
- Schließlich strebt das mitoNET eine noch intensivere Vernetzung der klinisch und grundlagenwissenschaftlich tätigen Mitglieder an sowie eine Kooperation mit ähnlichen Registern auf internationaler Ebene.
- Das mitoNET wird dadurch in den nächsten Jahren einen wertvollen Beitrag zu einer deutlich verbesserten Versorgung von Patienten mit mitochondrialen Erkrankungen leisten.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. T. Klopstock
Friedrich-Baur-Institut
an der Neurologischen Klinik
Klinikum der Universität München – Innenstadt
Ziemssenstr. 1a, 80336 München
thomas.klopstock@med.uni-muenchen.de

Interessenkonflikt. Das mitoNET wird seit Anfang 2009 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, Förderkennzeichen 01GM1113A) gefördert.

Prof. Thomas Klopstock hat Forschungsförderung erhalten von Bundesministerium für Bildung und Forschung, European Commission (7th Framework Programme), Deutsche Forschungsgemeinschaft, Santhera Pharmaceuticals Ltd, Actelion Pharmaceuticals Ltd, und H. Lundbeck A/S. Er ist Mitglied in wissenschaftlichen Beiräten bei pharmazeutischen Unternehmen (Santhera Pharmaceuticals Ltd, Actelion Pharmaceuticals Ltd) sowie bei gemeinnützigen Vereinen (Zentrum für Seltene Erkrankungen Bonn; Hoffnungsbaum e.V., Deutschland). Er erhielt Vortragshonorare und Reisekostenübernahmen von pharmazeutischen Unternehmen (Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG; Eisai Japan, Santhera Pharmaceuticals Ltd, Actelion Pharmaceuticals Ltd). Er ist seit 2011 Section Editor der Zeitschrift BMC Medical Genetics.

Prof. Thomas Meitinger hat Forschungsförderung erhalten von Bundesministerium für Bildung und Forschung, European Commission (7th Framework Programme), Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Dr. Holger Prokisch hat Forschungsförderung erhalten von Bundesministerium für Bildung und Forschung, European Commission (7th Framework Programme).

Prof. Klaus Kuhn ist bzw. war im Editorial Board der Zeitschriften „Methods of Information in Medicine“, „The International Journal of Medical Informatics“, und „it – Information Technology, and Informatics“. Er ist im wissenschaftlichen Beirat von OFFIS, Oldenburg und war im Austrian Accreditation Council tätig. Er erhält weitere BMBF-Förderungen, Förderkennzeichen 01 GM 1113C, 01 KN 1104, 01 EX 1020 E, Z76010067200, 80005012, sowie EU-Förderungen (Förderkennzeichen 284209, 277984).

Ronald Lautenschläger erhielt Zuwendungen von der TMF e.V.: Dachorganisation für die medizinische Verbundforschung in Deutschland.

Die anderen Autoren geben keine Interessenkonflikte an.

Literatur

1. Klopstock T, Yu-Wai-Man P, Dimitriadis K et al (2011) A randomized placebo-controlled trial of idebenone in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 134(Pt 9):2677–2686
2. Haack TB, Haberberger B, Frisch EM et al (2012) Molecular diagnosis in mitochondrial complex I deficiency using exome sequencing. *J Med Genet* 49(4):277–283
3. Haack TB, Danhauser K, Haberberger B et al (2010) Exome sequencing identifies ACAD9 mutations as a cause of complex I deficiency. *Nat Genet* 42(12):1131–1134
4. Schwarz JM, Rodelsperger C, Schuelke M, Seelow D (2010) MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Methods* 7(8):575–576