

Aus dem Friedrich-Baur-Institut
an der
Neurologischen Klinik und Poliklinik
Klinikum der Universität
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Direktorin: Prof. Dr. med. M. Dieterich

Die myopathische Form des Koenzym Q10 - Mangels

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Schneiderat
aus Schwabmünchen

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. M. C. Walter

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Harald Steiner

Mitberichtersteller: Prof. Dr. Adelbert Roscher
Prof. Dr. Brigitta Bondy

Mitbetreuung durch Prof. Dr. med. Hanns Lochmüller
und die promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. R. Horvath

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 01. 2010

Für meine Frau Simone und alle, die mich
ohne Unterlass motiviert und unterstützt haben!

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	5
1.1. Metabolische Myopathien	5
1.2. Koenzym Q10 - Mangel-Syndrome	11
1.3. Zielsetzung: Klinische und genetische Charakterisierung der myopathischen Form des Koenzym Q10 - Mangels	14
2. MATERIAL UND METHODEN	15
2.1. Patienten	15
2.2. Muskelhistologie	18
2.3. Biochemische Untersuchungen	19
2.4. Molekulargenetische Analysen	21
3. ERGEBNISSE	23
3.1. Muskelhistologie	23
3.2. Biochemische Messung der Atmungskettenenzymaktivitäten im Muskel	26
3.3. Bestimmung des muskulären Koenzym Q10 - Gehalts	27
3.4. Tandemmassenspektrometrie im Serum	29
3.5. Molekulargenetische Analysen	31
3.6. Klinischer Verlauf unter Therapie	35
4. DISKUSSION	39
5. ZUSAMMENFASSUNG	48
6. ABBILDUNGEN UND TABELLEN	49
7. LITERATURVERZEICHNIS	50
Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme	52
Danksagung	53
Veröffentlichungen	54
Lebenslauf	55

1. EINLEITUNG

1.1. Metabolische Myopathien

Metabolische Myopathien sind eine Gruppe von Erkrankungen, bei denen eine Störung im Energiestoffwechsel der Muskelzelle vorliegt und die zu sehr variablen klinischen Phänotypen führen. Klinisch stehen belastungsabhängige Myalgien und Belastungsintoleranz sowie eine häufig auch sehr stark erhöhte Kreatinkinase (CK) nach Belastung und seltener eine Rhabdomyolyse und Myoglobinurie im Vordergrund. Ein grosser Teil dieser Erkrankungen werden erst im Jugend- oder Erwachsenenalter symptomatisch.

Die Ursache des gestörten muskulären Stoffwechsels ist ein Defekt im Glykogenstoffwechsel, im Fettstoffwechsel oder in der mitochondrialen Atmungskette.

Glykogen ist die Kohlehydratspeicherform beim Menschen und wird im Glykogenstoffwechsel aus Glukose aufgebaut und zu Glucose wieder abgebaut. Die größten Vorräte von Glykogen beim Menschen finden sich in Skelettmuskel und Leber. Es sind mehrere Enzyme am Aufbau und Abbau von Glykogen beteiligt. Bei Störungen dieser Enzyme kommt es zu fehlerhaftem Aufbau von Glykogen oder zu Anhäufung von Glykogen aufgrund insuffizienten Abbaus.

Glykogen wird in nahezu allen Organen verstoffwechselt, die bekannten Störungen, die hauptsächlich muskuläre Symptome verursachen, sind die Glykogenose Typ II (Morbus Pompe) und die Glykogenose Typ V (Mc Ardle'sche Krankheit).

In Ruhe wird der Großteil des muskulären Energiebedarfs durch Fettsäureoxidation in den Mitochondrien gedeckt. Bei der Fettsäureoxidation werden die langkettigen Fettsäure-Reste abgebaut, es entsteht bei jedem Reaktionsschritt ein verkürzter Fettsäurerest, der dann im Zitratzyklus oxidiert wird und erneut in die Reaktionskette

eingeht. Die Fettsäurereste werden aus dem Blut oder aus muskulär gespeicherten Triglyceriden gewonnen und können je nach Molekülgröße direkt oder über Transporter die äußere und innere Mitochondrienmembran passieren, um in der Beta-Fettsäureoxidation abgebaut zu werden. Auf Grund der unterschiedlichen Länge der Fettsäurereste sind hier kettenlängenspezifische Enzyme notwendig. Mindestens 11 verschiedene Enzyme sind hier beteiligt. Im Zuge dieser Reaktion werden Elektronen zur mitochondrialen Atmungskette übertragen und letztlich Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) gewonnen. (Abbildung 1)

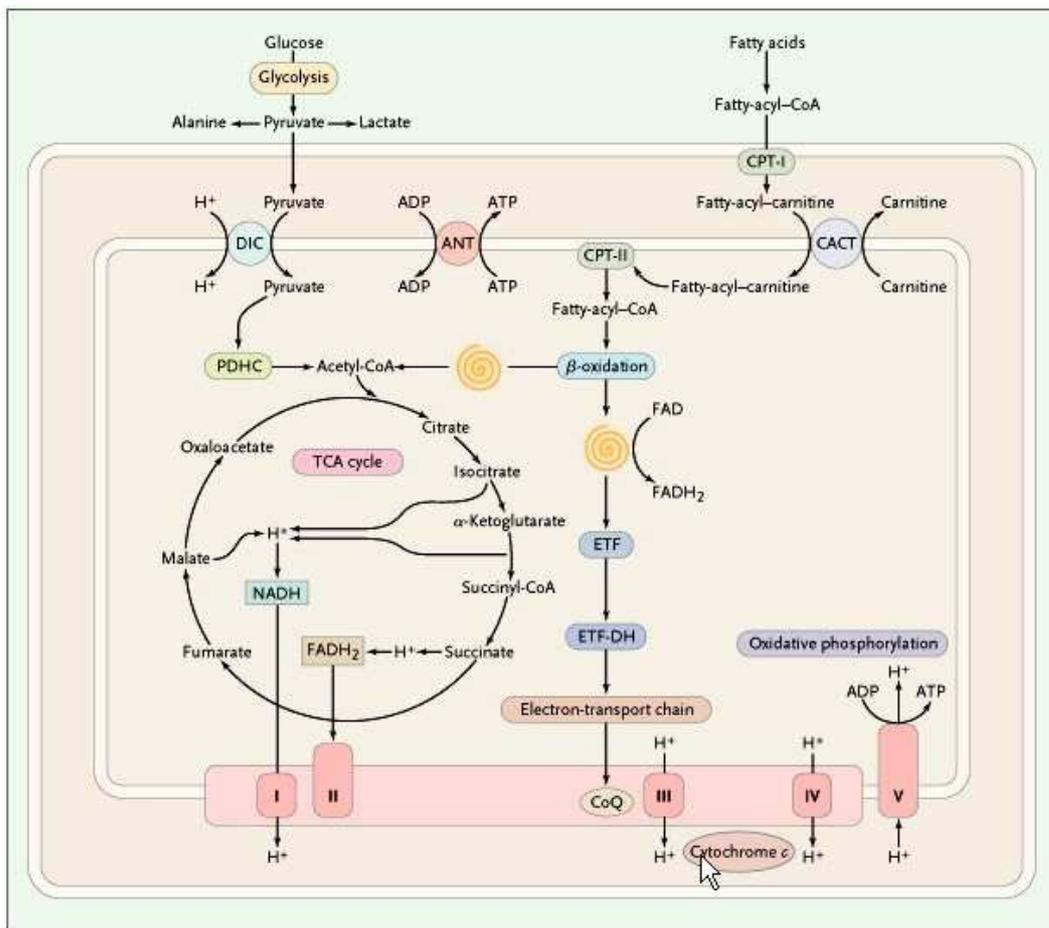


Abbildung 1: Energiegewinnung in der Zelle: Zitratzyklus, Fettsäureoxidation und Oxidative Phosphorylierung (DiMauro and Schon 2003):

Die orangen Spiralen repräsentieren die Reaktionsspirale der beta-Oxidation, die zur Freisetzung von Acetyl-CoA und der Reduktion des Flavoproteins führt.

ADP: Adenosindiphosphat; ATP: Adenosintriphosphat; ANT: Adeninnukleotid-Translokase; CACT: Carnitin-Acyl-Carnitin-Translokase; CoQ: Koenzym Q10; CPT: Carnitin-Palmitoyl-Transferase; DIC: Dicarbonsäure-Transporter; ETF: Elektronen-Transfer-Flavoprotein; ETFDH: Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase; FAD: Flavin-Adenin-Dinukleotid; FADH_2 : reduziertes FAD; NADH : reduziertes Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD); PDHC: Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex; TCA: Tricarbonsäure; I: Komplex I; II: Komplex II; III: Komplex III; IV: Komplex IV; V: Komplex V

Am Fettsäurestoffwechsel sind zahlreiche Enzyme und Carnitin als Kosubstrat beteiligt. Es sind zahlreiche Defekte der beteiligten Enzyme und die Folgen beschrieben. Man

unterscheidet Störungen des Fettsäuretransports und Störungen der an der Beta-Oxidation beteiligten Enzyme. (Tabelle 1 und Abbildung 1).

Die Carnitin-Palmitoyl-Transferase I und II (CPT I und II) sowie die Carnitin-Acyl-Carnitin-Translokase werden zum Transport langkettiger Fettsäuren durch die äußere und innere Mitochondrienmembran benötigt unter Beteiligung von Carnitin als Kotransporter. Es sind Enzymdefekte für viele der am Transport beteiligten Moleküle berichtet, mit unterschiedlicher klinischer Ausprägung, wobei der Mangel an CPT II am häufigsten muskulären Symptome verursacht und auch zu vergleichsweise milden adulten Verlaufsformen führen kann (Darras and Friedman 2000).

Die möglichen Störungen der Fettsäureoxidation ergeben sich aus den Defekten der unterschiedlichen Enzyme (Tabelle 1).

Transport der langkettigen Fettsäuren

Carnitin-Transporter-Defizienz

Carnitin-Palmitoyl-Transferase 1-Defizienz

Carnitin-Palmitoyl-Transferase 2-Defizienz, muskulär

Carnitin-Palmitoyl-Transferase 2-Defizienz, hepatokardiomuskulär

Carnitin-Palmitoyl-Transferase 2-Defizienz, letal neonatal

Carnityl/Acyl-Carnitin-Translokase-Defizienz

Beta-Oxidation der Fettsäuren

very-long-chain Acyl-CoA-Dehydrogenase-Defizienz (VLCAD)

Mitochondriales Trifunktionales Protein-Defizienz

medium-chain Acyl-CoA-Dehydrogenase-Defizienz (MCAD)

short-chain Acyl-CoA-Dehydrogenase-Defizienz (SCAD)

medium-chain 3-Ketoacyl-CoA-Thiolase-Defizienz (MCKAD)

short-chain L-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase-Defizienz (SCHAD)

Multiple Acyl-CoA-Dehydrogenierungsdefekte

Elektronen - Transfer - Flavoprotein (*ETF*A und *ETF*B) - Defekt

Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase (*ETF*DH) - Defekt

Tabelle 1: Bekannte Defekte des Fettsäurestoffwechsels

Der primäre Carnitinmangel ist eine weitere Ursache einer metabolischen Myopathie, wobei der rein muskuläre primäre Carnitinmangel sehr selten ist.

Es werden bei der Fettsäureoxidation an zwei Stellen Wasserstoffionen auf wasserstoffübertragende Koenzyme übertragen, die später in der mitochondrialen Atmungskette unter Energiegewinn wieder reoxidiert werden. Bei Defekten des

elektronenübertragenden Systems im Bereich des Elektronen-Transfer-Flavoproteins oder der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase können die Reaktionspartner der Fettsäureoxidation nicht reoxidiert werden, es kommt zur Störung multipler Acyl-Koenzym A (CoA)-Dehydrogenasen, dieser Defekt wird aufgrund des vermehrten Ausscheidens von Glutarsäure im Urin auch Glutarazidurie Typ 2 genannt.

Die Glutarazidurie Typ 2 ist eine seltene hereditäre Stoffwechselstörung, die autosomal rezessiv vererbt ist. Durch die Stoffwechselstörung wird die mitochondriale Fettsäureoxidation stark beeinträchtigt, es kommt zur Akkumulation von kurz-, mittel- und langkettigen Fettsäuren und sekundär auch zu einer Beeinträchtigung der mitochondrialen Energiegewinnung in der Atmungskette aufgrund der fehlerhaften Funktion der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase, die von der Acyl-CoA-Dehydrogenase der Fettsäureoxidation abhängig ist (Löffler and Petrides 1997; Gordon 2006). Als Folge des blockierten mitochondrialen Stoffwechselwegs kommt es zu einer Akkumulation von Glutarsäurederivaten in den Mitochondrien, die über den Urin ausgeschieden werden. Diagnostisch weiterführend ist deshalb die Untersuchung des Urins auf organische Säuren bei klinischem Verdacht.

Es wurde bisher Mutationen in 3 Genen als Ursache der Glutarazidurie Typ II gefunden: Mutationen im Gen der Alpha-Untereinheit (*ETF A*, OMIM Nr. 608053) und der Beta-Untereinheit (*ETF B*, OMIM Nr. 130410) des Elektronen-Transfer-Flavoproteins und Mutationen im Gen der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase (*ETF D H*, OMIM Nr. 231675) (Olsen, Andresen et al. 2003).

Die Glutarazidurie Typ 2 manifestiert sich meist im frühen Kindesalter. Der Phänotyp reicht von milder Betroffenheit mit metabolischer Dekompensation in Stresssituationen bis hin zu kongenitalen Missbildungen und frühkindlichem Exitus.

Als Missbildungen werden polyzystische Nierendysplasie, fettige Leber- und Herzmuskeldegeneration, zerebrale Mikrogyrierung, Lungenhypoplasie, Missbildungen der äußeren männlichen Geschlechtsorgane, Gesichts- und Gesichtsschädel-Dysmorphien und Thymusatrophien beschrieben (Gordon 2006). Es kann zu gehäuftem Pankreatitiden kommen. Der Urin hat einen eigentümlichen Geruch aufgrund der Ausscheidung von organischen Säuren. In der Magnetresonanztomographie des Schädels wurde vereinzelt eine Temporallappenhypoplasie beschrieben. In Leber, Herzmuskel und Niere kommt es zu Fettablagerungen, da diese Organe Fettsäuren

bevorzugt als Energielieferant nutzen. In der Leberbiopsie zeigt sich ein fettiger Umbau, in der Muskelbiopsie kann eine vakuoläre Myopathie mit Fettanhäufung vorhanden sein. Allerdings wurden muskuläre Beschwerden in der Regel nicht als primäre oder gar alleinige Manifestation der Glutarazidurie Typ 2 berichtet.

Hinsichtlich der Therapie wird in der Literatur eine klinische Besserung unter fett- und proteinarmer Diät unter zusätzlicher Substitution von Carnitin und Riboflavin sowie Besserung auf Substitution nur mit Riboflavin berichtet (Uziel, Garavaglia et al. 1995; Gordon 2006).

Der Großteil der Energiegewinnung in Mitochondrien unter aeroben Bedingungen erfolgt durch die Oxidation von wasserstoffübertragenden Koenzymen in der Atmungskette unter Bildung von Adenosintriphosphat (ATP).

Die mitochondriale Atmungskette besteht aus 5 Enzymkomplexen, der NADH-CoQ-Oxidoreduktase (Komplex I), der Succinat-Ubichinon-Oxidoreduktase (Komplex II), der Ubichinol-Cytochrom c-Reduktase (Komplex III), der Cytochrom c-Oxidase (Komplex IV) und der auch als Komplex V bezeichneten ATP-Synthase.

Sowohl mitochondrial kodierte Defekte, wie Deletionen und Duplikationen der mitochondrialen Desoxyribonukleinsäure (DNA) oder Mutationen der mitochondrialen Transfer-Ribonukleinsäuren (tRNA), als auch nukleär kodierte Defekte der für Untereinheiten der Atmungskettenkomplexe kodierenden nukleären Gene oder von Genen, die für den Zusammenbau der Untereinheiten und die Funktion der Komplexe nötig sind oder das Zusammenspiel von nukleären und mitochondrialen Genen steuern, können eine gestörte Funktion der Atmungskettenenzyme bedingen.

Defekte in der mitochondrialen Desoxyribonukleinsäure (mtDNA) wie Deletionen und Duplikationen oder Mutationen der mitochondrialen tRNA bedingen eine generalisierte Störung der gesamten mitochondrialen Proteinsynthese. Ein Beispiel für eine Erkrankung, die durch eine Deletion im mitochondrialen Genom hervorgerufen wird, ist das Kearns-Sayre-Syndrom (OMIM Nr. 530000), bei dem durch eine Deletion von meist ungefähr 5000 Basenpaaren eine Erkrankung mit progressiver externer Ophthalmoplegie, Herzrhythmusstörungen und Kardiomyopathie hervorgerufen wird. Eine Mutation im mitochondrial codierten Gen für die mitochondriale tRNA Leucin

(*MTTL1*; OMIM Nr. 590050) führt zu einer Encephalomyopathie mit Laktatazidose und schlaganfallartigen Episoden (MELAS, OMIM Nr. 540000).

Durch nukleäre Mutationen in für Untereinheiten der mitochondrialen Atmungskette kodierenden nukleären Genen bedingte Störungen sind für Defekte der Komplexe I und II bekannt. Nukleäre Defekte, die Störungen von Komplex III, IV oder V bedingen, sind Defekte in Genen, die für den korrekten Zusammenbau der Komplexe und/oder deren Funktion nötig sind. Darüber hinaus gibt es nukleäre Mutationen, die zu mitochondrialen Deletionen oder Depletionen führen aufgrund gestörter Signalwege zwischen nukleärem und mitochondrialem Genom. Ein Beispiel hierfür sind Mutationen im Gen für die Polymerase Gamma (*POLG1*, OMIM Nr. 174763), die ein buntes phänotypisches Bild hervorrufen können. (DiMauro 2006)

Die meisten mitochondrialen Defekte verursachen Multisystemerkrankungen mit Beteiligung mehrerer Organsysteme. „Isolierte“ mitochondriale Myopathien wurden berichtet bei Mutationen in den Genen für die Untereinheit 1 und 4 von Komplex I (*ND1*, OMIM Nr. 516000; *ND4*, OMIM Nr. 516003), bei Mutationen im Gen für die Untereinheiten 1 bis 3 von Komplex IV (*MTCO1*, OMIM Nr. 516030; *MTCO2*, OMIM Nr. 516040; *MTCO3*, OMIM Nr. 515050) (DiMauro 2006), bei Coenzym Q10 - Mangel (Lalani, Vladutiu et al. 2005; Horvath, Schneiderat et al. 2006), sowie bei Mutationen mitochondrialer tRNA (DiMauro and Gurgel-Giannetti 2005). Der Grund für die weitgehend isolierte Betroffenheit des Skelettmuskels bei diesen Defekten ist noch nicht geklärt.

Bisher nicht ausreichend belegbare Hypothesen sind, dass die Mutationen entweder in gewebespezifischen Genen auftreten, oder es sich um somatische Mutationen handelt, also Mutationen, die erst nach der Verschmelzung von Eizelle und Samenzelle entstehen, und somit gegebenenfalls erst nach der Differenzierung der Zelltypen in Muskelvorläuferzellen auftreten. Eine dritte mögliche Hypothese ist, dass der Heteroplasmiegrad von mitochondrialen Mutationen in unterschiedlichen Geweben verschieden ist und im Skelettmuskel für diese Defekte eine pathogenetisch wirksame Schwelle überschritten wird, wohingegen der Defekt in anderen Geweben bei niedrigerem Heteroplasmiegrad asymptomatisch bleiben kann. (DiMauro and Gurgel-Giannetti 2005)

1.2. Koenzym Q10 - Mangel-Syndrome

Koenzyme sind Nicht-Proteinmoleküle, die für viele enzymatische Reaktionen im menschlichen Körper notwendig sind. Koenzyme binden nicht kovalent an das Apoenzym, der entstehende Komplex wird als Holoenzym bezeichnet. Ihre Funktion ist meist die Akzeptanz und Übertragung von Wasserstoff oder Elektronen, teils auch ganzer Gruppen, wie Aminoresten im Fall des Pyridoxalphosphat bei der Deaminierung von Aminosäuren oder Phosphatresten im Falle des ADP (McNaught 1997).

Koenzym Q10 (Ubichinon, CoQ10) ist ein Benzochinonderivat mit einer langen Isoprenseitenkette (n=10 bei Koenzym Q10). Durch die lipophile Eigenschaft der Seitenkette ist die Mobilität von Koenzym Q10 in der Lipidphase von Membranen hoch. Koenzym Q10 kommt in allen membranhaltigen Zellen vor. Koenzym Q10 hat seine Hauptfunktion in der Übertragung von Wasserstoff und Elektronen, vor allem in der mitochondrialen Atmungskette als Reaktionspartner bei der mitochondrialen Energiegewinnung (Löffler and Petrides 1997; 1998).

Neben der Funktion als Reaktionspartner der ATP-Synthese in Mitochondrien kommt Koenzym Q10 auch im Plasma und in anderen Zellkompartimenten vor. Es werden zusätzliche antioxidative Eigenschaften sowie auch ein Einfluss auf die Expression von Genen, die an Signaltransduktion, Zellmetabolismus und Transportvorgängen in der Zelle beteiligt sind, diskutiert (Nohl, Gille et al. 1998; Groneberg, Kindermann et al. 2005).

Koenzym Q10 wird vom Körper synthetisiert und auch exogen alimentär zugeführt. Die Synthese von Koenzym Q10 erfolgt im Lipidstoffwechsel. Es gibt primäre und sekundäre Ursachen für einen Mangel an Koenzym Q10.

Der primäre Koenzym Q10 - Mangel ist eine seltene autosomal rezessive Erkrankung mit verschiedenen Gendefekten in den für die Biosynthese notwendigen Genorten (DiMauro 2006). (Tabelle 2 und Abbildung 2)

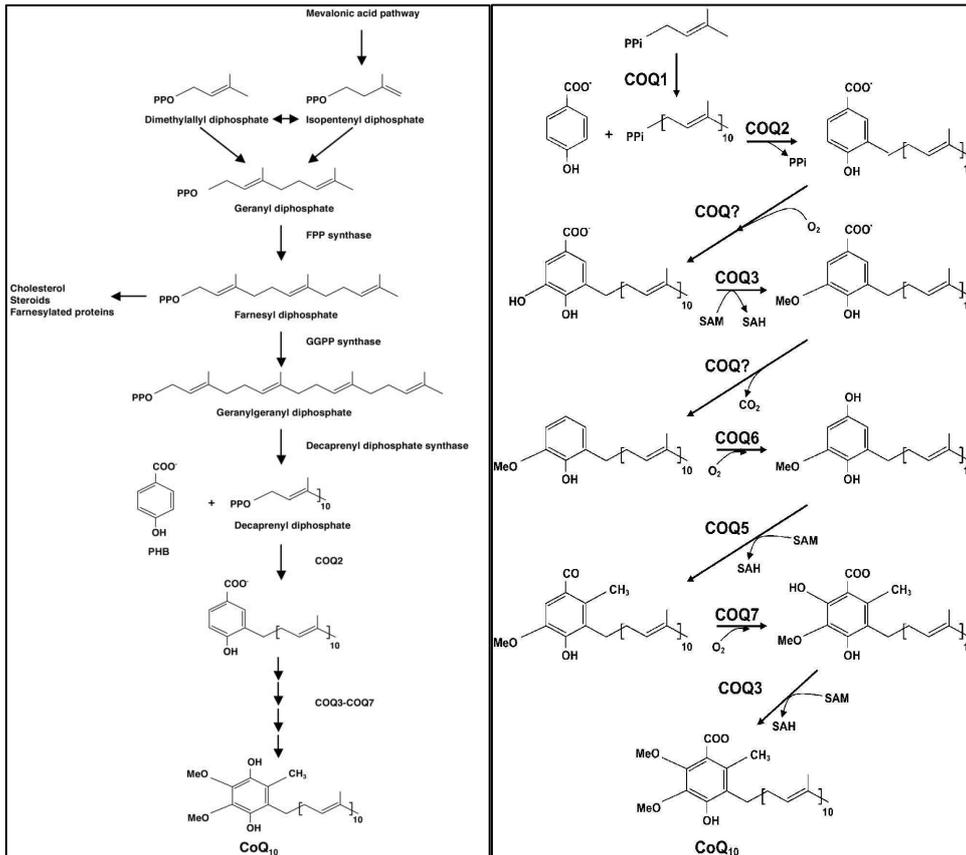


Abbildung 2: Biosynthese von Koenzym Q10

<u>Genorte für primäre CoQ10 - Defekte</u>	<u>Klinik</u>
PDSS1 (Untereinheit 1 von COQ1) (OMIM Nr. 607429)	Optikus - Atrophie, Taubheit, Mentale Retardierung, Übergewicht
PDSS2 (Untereinheit 2 von COQ1) (OMIM Nr. 610564)	Leigh-Syndrom; Nephropathie
COQ2 (Para-hydroxybenzoat-Polyprenyl-Transferase) (OMIM Nr. 609825)	Multisystemische frühkindliche Manifestation
CABC1 (COQ8) (OMIM Nr. 606980)	Zerebelläre Atrophie mit Ataxie und Epilepsie
<u>Genorte für sekundäre CoQ10 - Defekte</u>	<u>Klinik</u>
ETFDH (OMIM-Nr. 231675)	muskulärer CoQ10 - Defekt
APTX (Aprataxin) (OMIM Nr. 606350)	Ataxie, Okulomotorische Apraxie (AOA1)

Tabelle 2: Primäre und sekundäre Koenzym Q10 - Defekte

Als sekundären Koenzym Q10 - Mangel bezeichnet man einen Mangel an Koenzym Q10, der trotz eines intakten Biosyntheseweges aufgrund einer Herunterregulierung der Synthese oder eines Funktionsverlustes beteiligter Moleküle auftritt (Gempel, Topaloglu et al. 2007).

Es werden in der Literatur verschiedene sehr heterogene phänotypische Auswirkungen von Koenzym Q10 - Mangel berichtet. Zum einen wird eine encephalomyopathische Form mit mitochondrialer Myopathie, belastungsabhängiger Schwäche, Myoglobininurie, Anfällen und Ataxie berichtet (Ogasahara, Engel et al. 1989; Sobreira, Hirano et al. 1997). Eine weitere Form ist eine infantile Multisystemerkrankung mit Encephalopathie, Kardiomyopathie, Ataxie, Taubheit, Sehnervenatrophie und Niereninsuffizienz (Rotig, Appelkvist et al. 2000). Bei der dritten berichteten Verlaufsform steht die zerebelläre Ataxie und die Kleinhirnatrophie im Vordergrund (Lamperti, Naini et al. 2003; Mollet, Delahodde et al. 2008). Die vierte Verlaufsform mit Wachstumsretardierung, Ataxie und Taubheit ähnelt klinisch dem Leigh-Syndrom (Van Maldergem, Trijbels et al. 2002). Bei den oben beschriebenen Patienten sind ursächlich Gene betroffen, die für die Biosynthese von Koenzym Q10 benötigt werden. Dies mag die schwere Betroffenheit und die frühe Manifestation in der Kindheit erklären. Die bisher beschriebenen vier Verlaufsformen haben alle eine Mitbeteiligung des zentralen Nervensystems gemeinsam.

Von uns und einer weiteren Arbeitsgruppe wurde kürzlich eine isoliert myopathische Verlaufsform ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems beschrieben mit Fettspeichermyopathie, proximalen Paresen, Erhöhung der Kreatinkinase (CK) und erniedrigten Aktivitäten der mitochondrialen Atmungskette (Lalani, Vladutiu et al. 2005) (Horvath, Schneiderat et al. 2006). Die molekularen und pathophysiologischen Grundlagen des muskulären Koenzym Q10 - Mangels waren bislang nicht bekannt. Ebenso gab es kaum publizierte Informationen zu Epidemiologie, Vererbbarkeit, Klinik, Pathologie, Verlauf und Therapie dieser seltenen Erkrankung.

1.3. Zielsetzung und Signifikanz: Klinische und genetische Charakterisierung der myopathischen Form des Koenzym Q10 - Mangels

In dieser Arbeit soll anhand klinischer, histologischer, biochemischer und molekulargenetischer Untersuchungen einer Gruppe gut charakterisierter Patienten gezeigt werden, dass ein Koenzym Q10 - Mangel mit rein myopathischer Verlaufsform und zusätzlichen Auffälligkeiten in der mitochondrialen Fettsäureoxidation letztlich durch Mutationen im Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase - Gen verursacht wird und damit eine allelische Erkrankung zur Glutarazidurie Typ 2 darstellt.

Dies ist auch für die so diagnostizierten Patienten von großer diagnostischer und therapeutischer Bedeutung, da durch Substitution mit Riboflavin und Koenzym Q10 die Symptome der Erkrankung stark gebessert werden können; in vielen Fällen ist über Jahre ein weitgehend normales und beschwerdefreies Leben möglich.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Patienten

Patientin 1 ist eine 34 Jahre alte deutsche Frau, die erstmals mit 32 Jahren muskuläre Beschwerden berichtete. Familienanamnestisch gibt es keine Hinweise auf neuromuskuläre Erkrankungen, die Eltern sowie ein älterer Bruder sind gesund. Die Patientin leidet seit dem 14. Lebensjahr an Diabetes mellitus Typ 1. Bis zu ihrem 32. Lebensjahr habe sie keine muskulären Einschränkungen bemerkt. Erwähnenswert ist eine Episode mit 28 Jahren, bei der es aufgrund von Durchfällen zu einer Ketoazidose gekommen war, jedoch ohne muskuläre Symptome.

Im Rahmen ihrer ersten Schwangerschaft bemerkte sie ab der 32. Schwangerschaftswoche eine zunehmende Muskelschwäche beim Treppensteigen, die im weiteren Verlauf weiter zunahm. Aufgrund einer Leberwerterhöhung wurde unter der Annahme einer Präeklampsie eine gesunde Tochter vorzeitig in der 36. Schwangerschaftswoche durch operative Geburtshilfe zur Welt gebracht. Die Muskelschwäche nahm weiter zu, es wurden erhöhte Kreatinkinasewerte bis 4500 Units pro Liter (U/l) (Normalwert <155 U/l) gemessen und eine erste Muskelbiopsie durchgeführt, in der sich eine Lipidspeichermyopathie zeigte. Aufgrund erniedrigt gemessener Carnitin-Werte im Muskel wurde eine hochdosierte orale Therapie mit Carnitin eingeleitet. Hierunter kam es zu einer weiteren Verschlechterung der Symptome und zu einem Anstieg der Kreatinkinasewerte bis auf 5000 U/l. Eine Kernspintomographie des Gehirns ergab einen normalen Befund. Das Elektromyogramm zeigte myopathische Veränderungen in der proximalen Muskulatur. Die Nervenleitgeschwindigkeiten waren normal. Das Laktat in Ruhe war wechselnd gering erhöht bis 2,7 millimol pro Liter (mmol/l) oder normal.

Patient 2 ist ein 29 jähriger Mann türkischer Herkunft. Die Eltern sind konsanguin, die Familienanamnese zum Untersuchungszeitpunkt war unauffällig. Mit 28 Jahren entwickelte sich eine langsam zunehmende proximale Schwäche vor allem im Schulter- und Hüftbereich sowie in der Nackenmuskulatur und Schwierigkeiten beim

Gehen. Die neurologische Untersuchung ergab eine beidseitige Scapula alata, ein watschelndes Gangbild, eine proximale Muskelschwäche und abgeschwächte Muskeleigenreflexe. Das Elektromyogramm zeigte myopathische Veränderungen in der proximalen Muskulatur. Eine Muskelbiopsie aus dem M. deltoideus links wurde mit 29 Jahren entnommen. Die Nervenleitgeschwindigkeiten waren normal. Eine Kernspintomographie des Gehirns war normal. Die Kreatinkinase war bis 1000 U/l erhöht, das Laktat in Ruhe war im Serum normal.

Patient 3 ist ein 13 jähriger Junge einer konsanguinen kurdischen Familie. Er wurde als drittes Kind von insgesamt 5 Kindern geboren. Seine Eltern sowie 3 seiner 4 Geschwister (19, 11 und 9 Jahre) sind gesund, eine 17 jährige Schwester (**Patientin 4**) ist ähnlich betroffen. Patient 3 berichtete Muskelkrämpfe und muskuläre Ermüdbarkeit ohne Paresen. Die CK war auf 2745 U/l erhöht. Eine Muskelbiopsie aus dem M. Vastus lateralis wurde entnommen. Seine Schwester, Patientin 4, leidet seit dem 14. Lebensjahr an belastungsabhängigen Myalgien, proximaler Muskelschwäche von 3/5 nach MRC Skala und leichter muskulärer Ermüdbarkeit. Die CK war auf 1484 U/l erhöht. Eine Myoglobinurie wurde nicht berichtet.

Patient 5 ist ein 12 jähriges Mädchen konsanguiner türkischer Eltern. Eine jüngere Schwester hat ähnliche Symptome (**Patientin 6**). Einen Monat vor der Untersuchung entwickelte sie subakut Muskelschwäche und Muskelschmerzen. Die CK war zu Beginn auf 672 U/l erhöht und stieg bis auf 4188 U/l an. Das Elektromyogramm zeigte keine Auffälligkeiten.

Patientin 7 ist ein 13 jähriges Mädchen konsanguiner türkischer Eltern. In der Familienanamnese wurde berichtet, dass 2 Geschwister der Patientin mit 6 und 9 Monaten an unklarem heftigem Erbrechen verstorben sind. Mit 12 Jahren entwickelte die Patientin subakut eine Muskelschwäche und Muskelschmerzen und verlor die Gehfähigkeit innerhalb von 20 Tagen. Die Kreatinkinase war mit 538 U/l erhöht.

Patientin 8 ist eine 29 jährige Frau deutscher Herkunft die seit dem 24. Lebensjahr über belastungsabhängige Myalgien und eine leichte intermittierende Schwäche klagte. Die Kreatinkinase war mehrfach bis 375 U/l leicht erhöht gemessen worden. Zu Untersuchungszeitpunkt bestand lediglich eine leichte Kopfbeugerschwäche vom Kraftgrad 4/5 nach MRC Skala. Das EMG der unteren Extremität war zeigte leichte

myopathische Veränderungen, die Nervenleitgeschwindigkeiten waren normal. Bereits 2003 war ein auffälliges Acyl-Carnitin-Spektrum in der Tandemmassenspektrometrie im Serum aufgefallen, das jedoch keiner bekannten Störung zugeordnet werden konnte.

2.2. Muskelhistologie

Am Friedrich-Baur-Institut wurden von Patientin 1 und 8 Schnitte in der Schnittdicke 8 Mikrometer für histochemische Färbungen angefertigt und diese mit Standardfärbungen (Hämatoxylin & Eosin, HE; NADH; ATPase pH 4,6 und pH 10,4; modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung; Van Gieson-Färbung; Cytochrom C-Oxidase; Succinat-Dehydrogenase; Sudan-Schwarz; Öl-Rot, Saure Phosphatase) gefärbt. Außerdem erfolgte bei Patientin 1 und 8 eine elektronenmikroskopische Untersuchung (Prof. Müller-Höcker, Pathologisches Institut der Universität München). Hierfür wurde der Muskel in 3% Glutaraldehyd fixiert.

Die Histologie von Patient 2 erfolgte mit den gleichen Standardverfahren in der Abteilung für Neuropathologie der von Bodelschwingschen Anstalten Bielefeld, Chefarzt Herr Dr. med. Volkmar Hans.

2.3. Biochemische Untersuchungen

Die Bestimmung der mitochondrialen Atmungskettenenzyme im Muskelhomogenat erfolgte aus bei minus 80 Grad Celsius tiefgefrorenem Muskel nach dem in der Literatur beschriebenen Verfahren (Fischer, Ruitenbeek et al. 1986).

Dabei wurden die Aktivitäten von Komplex I (NADH-CoQ-Oxidoreduktase), Komplex II+III (Succinat-Cytochrom c-Oxidoreduktase), Komplex II (Succinat-PMS-Oxidoreduktase) und Komplex IV (Cytochrom c-Oxidase) sowie die Aktivität des mitochondrialen Markerenzym Zitratsynthase im Muskelhomogenat spektrophotometrisch bei 30 Grad Celsius und 37 Grad Celsius gemessen.

Kurz zusammengefasst wurde die bei -80 Grad Celsius tiefgefrorene Muskelprobe zunächst homogenisiert in SETH-Puffer (250 mM Sacharose, 2 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 7.4, 50 U/ml Heparin). Für die Messung der NADH - Oxidation (Komplex I) wurden 4 µg Antimycin A zu 480 µl Test-Mix [28 mM KPO₄, 2,825 mg/ml BSA, 0,56 mM MgCl₂, 0,0225 mM NADH (Roche)] zugegeben und nach 10 Minuten Inkubation bei 30 Grad Celsius 15 µl Decylubiquinon (1 mg/ml, Sigma) hinzugefügt. Nach weiteren 6 Minuten erfolgte die Zugabe von 20 µl Muskelhomogenat und die Messung wurde für 2-5 Minuten begonnen, bis Linearität erreicht wurde. Die bestimmte Aktivität wurde nach Zugabe von 4 µg Rotenon (Sigma) um die Rotenon-unempfindliche Aktivität von NADH korrigiert. Die Aktivität der Succinat-Cytochrom c-Oxidoreduktase (Komplexe II + III) wurde spektrophotometrisch nach Aktivierung des Succinat-Dehydrogenase-Komplex durch Inkubation für 10 Minuten bei 30 Grad Celsius von 460 µl Test-Mix [20 mM KPO₄ (pH 7,5), 2 mM EDTA, 2 mM NaN₃, 0,7 µg/µl Succinat, 0,004 µg/µl Rotenon] und 8,4 mg Cytochrom c (Sigma) bestimmt. Die Aktivität wurde mit und ohne 5 minütige Inkubation mit 125 µM Koenzym Q1 auf Eis bei 550 nm (Cytochrom c) bestimmt.

Die Bestimmung des muskulären Koenzym Q10 - Gehalts wurde im Muskelhomogenat mit einem kommerziell erhältlichen Kit der Firma Chromsystems, München, mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und Bestimmung bei 275 nm Wellenlänge durchgeführt. Zur Ermittlung des Normalbereichs wurden die Werte von 25 Kontrollpersonen verschiedenen Alters bestimmt.

Die Tandemmassenspektrometrie im Serum wurde am Institut für Klinische Chemie, Krankenhaus München-Schwabing, von Dr. Klaus Gempel und Dr. Boris Rolinski durchgeführt, wie in der angegebenen Literatur beschrieben (Gempel, Kiechl et al. 2002).

2.4. Molekulargenetische Analysen

Die Sequenzierung des Gens kodierend für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase (*ETFDH*) erfolgte bei allen 8 Patienten unter Verwendung der in der Literatur beschriebenen Primer (Goodman, Binard et al. 2002)(Tabelle 3). Nach Extraktion der DNA aus Blut oder Muskel erfolgt die Amplifizierung der Genbereiche in getrennten Ansätzen (GeneAmp PCR System 9700, PE Applied Biosystems), anschliessend die Sequenzanalyse mittels Kapillargelelektrophorese (ABI Prism 3730 Genetic Analyzer, PE Applied Biosystems) und anschließend die automatisierte Auswertung mittels eines Analyseprogramms (Mutation Surveyor V3.10, SoftGenetics). Die verwendete Referenzsequenz wurde von der Datenbank GenBank (Quelle: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, NG_007078) bezogen.

ETFDH Ex1 fw	5` tgcagcagagttcttgcttt3`	
ETFDH Ex1 rev	5` gtccttttgccctaactcc 3`	Bande: 210bp
ETFDH Ex2 fw	5` ctgaggaaaactaatttaaggaagat 3`	
ETFDH Ex2 rev	5` tctctccacaaaatgaaaaca 3`	Bande: 452bp
ETFDH Ex3 fw	5` tgtgcaaaacacagggagaa 3`	
ETFDH Ex3 rev	5` tgaaaagggtttcctatattccag 3`	Bande: 450bp
ETFDH Ex4 fw	5` gaaatgccaaaagaaaattaggg 3`	
ETFDH Ex4 rev	5` tgtagtcctccagctgtgg 3`	Bande: 269bp
ETFDH Ex5 fw	5` aaagtgtgaccatcaatgtagca 3`	
ETFDH Ex5 rev	5` tttctcaactttataaaaattccac 3`	Bande: 327bp
ETFDH Ex6 fw	5` ccttctaagaaacctaggctgtt 3`	
ETFDH Ex6 rev	5` atggggttcactttgatgc 3`	Bande: 249bp
ETFDH Ex7a fw	5` attgcactgtctcttcatctg 3`	
ETFDH Ex7a rev	5` ccttcagtccaatcccgtag 3`	Bande: 256bp
ETFDH Ex7b fw	5` gcttttcaggcaacatttgag3`	
ETFDH Ex7b rev	5` tctagcccctgaaaaatctg 3`	Bande: 322bp
ETFDH Ex8 fw	5` tgcattgtggtgacataaaaac 3`	
ETFDH Ex8 rev	5` cagtctcagattcaaaacccta 3`	Bande: 202bp
ETFDH Ex9 fw	5` aaacattgcttacatttagctga 3`	
ETFDH Ex9 rev	5` ctgaattataatacagaaacaaggaaa 3`	Bande: 485bp
ETFDH Ex10 fw	5` ttggagtattctgttcttctgtt 3`	
ETFDH Ex10 rev	5` cataaccagcaatttctttg 3`	Bande: 285bp
ETFDH Ex11 fw	5` ttgggcagtttcgcactta 3`	
ETFDH Ex11 rev	5` ccaaagaaatagactagccctca 3`	Bande: 388bp
ETFDH Ex12a fw	5` agggctagtcataatttcttggctc 3`	
ETFDH Ex12a rev	5` caggacagaatcgctgctc 3`	Bande: 335bp
ETFDH Ex12b fw	5` ttgaaggttctgacttgaacg3`	
ETFDH Ex12b rev	5` ttccctaaaggaagctggatga 3`	Bande: 366bp
ETFDH Ex13 fw	5` gggttctgtggctactcttcc 3`	
ETFDH Ex13 rev	5` tctgttcagtaatatgcagaaagaca 3`	Bande: 357bp

Tabelle 3: Verwendete Primersequenzen für die Analyse des ETFDH-Gens
 Ex: Exon; fw: vorwärts; rev: rückwärts; Bande: Länge des entstehenden PCR-Produkts

3. ERGEBNISSE

3.1. Muskelhistologie

Bei Patientin 1 zeigte sich in der ersten bei uns entnommenen Muskelbiopsie vor Therapie eine kleinvakuoläre Myopathie mit Vermehrung von Neutralfett und vermehrter mitochondrialer Enzymaktivität in fast allen Typ 1 - Muskelfasern ohne entzündliche Veränderungen. In der zweiten Muskelbiopsie nach neunmonatiger Substitution mit Koenzym Q10 zeigte sich lichtmikroskopisch weiterhin eine kleinvakuoläre Myopathie mit Vermehrung von Neutralfett und vermehrter subsarkolemmaler mitochondrialer Enzymaktivität in den Typ 1 - Fasern. Quantitativ erschienen die Fetteinlagerungen etwas vermindert. (Abbildung 3)

Elektronenmikroskopisch zeigte sich in der ersten Muskelbiopsie von Patientin 1 entnommen aus dem Musculus Biceps Brachii rechts ultrastrukturell eine Lipidspeichermiopathie und geringe Glykogenspeicherung ohne nennenswerte Proliferation oder abnorme Konfiguration von Mitochondrien. (Abbildung 4)

In der zweiten Muskelbiopsie von Patientin 1, entnommen aus dem Musculus Deltoideus rechts, zeigte sich elektronenmikroskopisch im Unterschied zur ersten Biopsie nun in Einzelfasern eine mitochondriale Myopathie mit deutlicher Lipidspeicherung, vergrößerten Mitochondrien mit irregulärer Anordnung der Cristae und daneben auch typische parakristalline Einschlüsse.

Die Muskelbiopsie von Patient 2 zeigte lichtmikroskopisch eine vakuoläre Myopathie mit Lipidspeicherung und sogenannte Ragged Red Fasern. Elektronenmikroskopisch fanden sich eine Neutralfettspeicherung sowie parakristalline Einschlüsse und abnorm konfigurierte Mitochondrien.

Bei Patientin 8 zeigte sich in der Muskelbiopsie eine kleinvakuoläre Myopathie mit vermehrter Fettbestäubung von Typ1 - Fasern. Elektronenmikroskopisch fand sich eine Lipidspeicherung ohne nennenswerte Proliferation oder abnorme Konfiguration der Mitochondrien.

Die Biopsien von Patient 3, 5 und 7 erfolgten in der Türkei. Sie zeigten alle ähnliche Befunde: eine mäßige bis schwere kleinvakuoläre Myopathie mit Lipidablagerungen

vor allem in Typ 1 - Fasern. Alle Biopsien zeigten einige COX-negative Fasern, typische Ragged Red Fasern waren nur bei Patient 1 und 2 vorhanden. Eine Kontrollbiopsie unter Therapie wurde bei Patient 2-8 nicht durchgeführt.

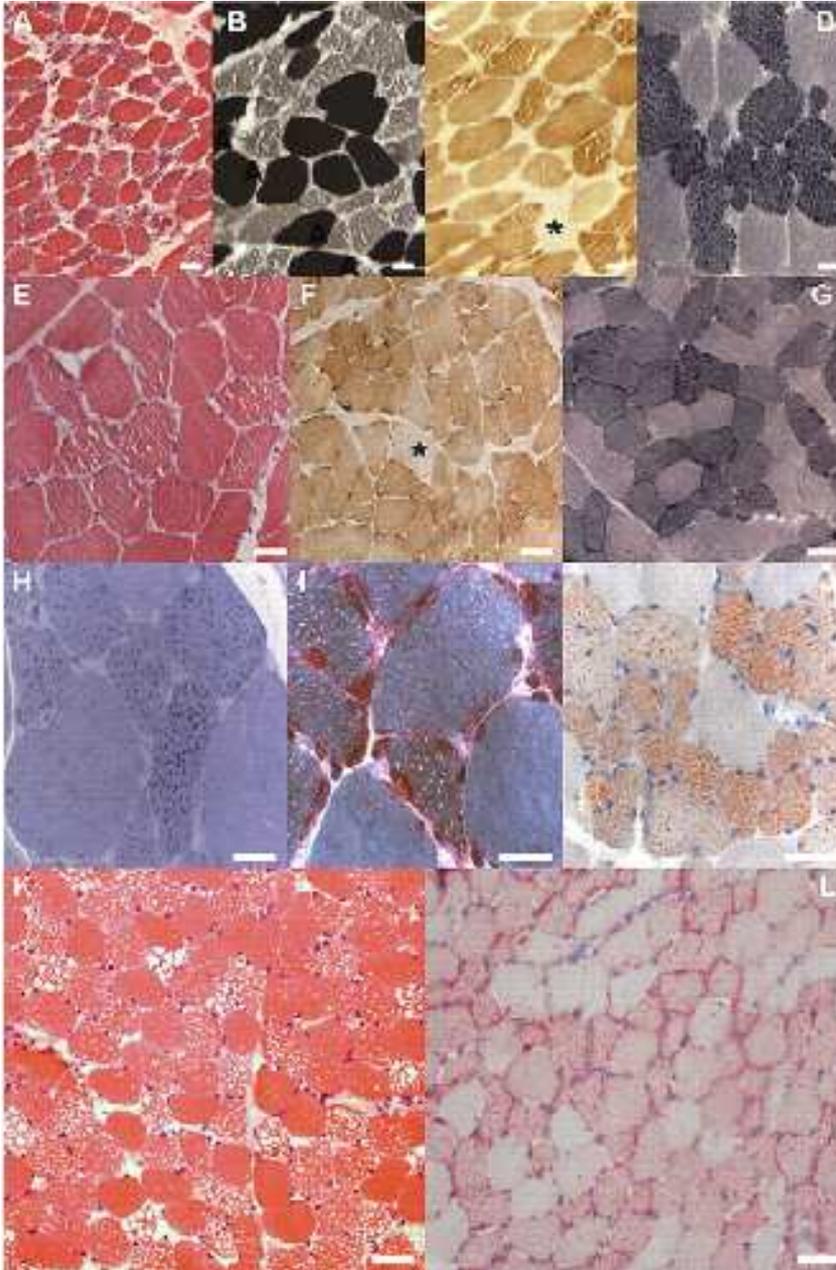


Abbildung 3: Histologische Befunde von Patientin 1 (Erste Biopsie A-D, zweite Biopsie nach Therapie E-G), Patient 2 (H-J), Patient 3 (L) und 5 (K):

Vakuoläre Myopathie, vorwiegend in Typ I Fasern (HE-Färbung: A, E, K; ATPase-Färbung: B; Semidünnschnitt, Toluidin-Blau: H); wenige COX-negative Fasern (Sternchen in C, F); Lipidspeicherung in Typ I Fasern (Sudan-Schwarz-Färbung D, G und Öl-Rot-Färbung J, L); wenige Ragged-Red-Fasern (Gomori-Trichrom-Färbung I); Balken in A-L: 30µm

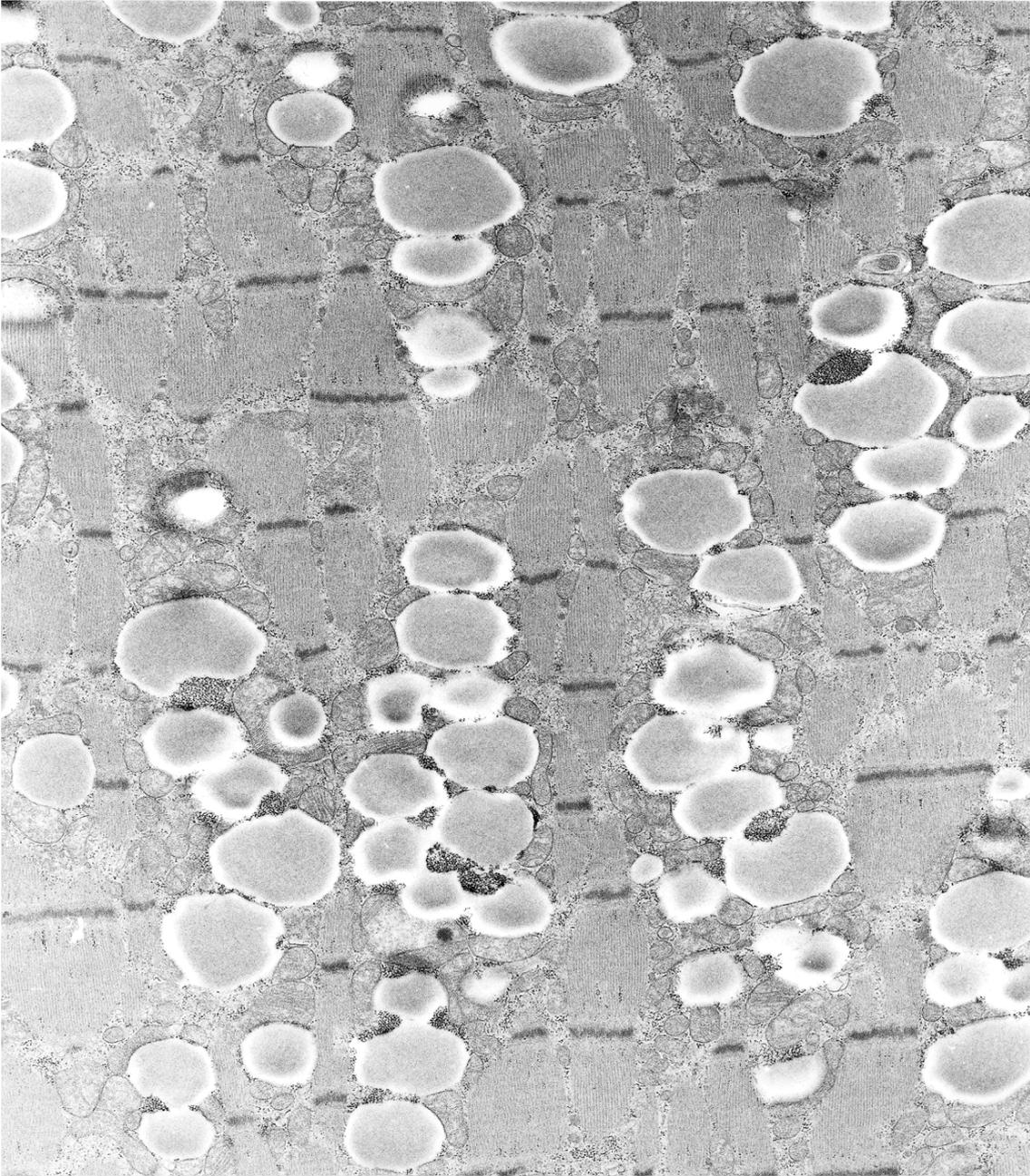


Abbildung 4: Elektronenmikroskopie von Patientin 1 (erste Biopsie):
Tropfenförmige Neutralfettspeicherung und geringe subsarkolemmale Glykogenspeicherung
(Vergrößerung 5600fach)

3.2. Biochemische Messung der Atmungskettenenzymaktivitäten im Muskel

Die Aktivitäten der Atmungskettenenzyme wurden bei Patient 1, 2, 3, 5, 7 und 8 bestimmt.

Die Messung der mitochondrialen Atmungskettenenzyme in der ersten Muskelbiopsie von Patientin 1 ergab eine bezogen auf Non-Collagen-Protein deutlich verminderte Aktivität des Atmungskettenkomplexes I (NADH-CoQ-Oxidoreduktase) und weniger ausgeprägt auch eine leichte Verminderung der Aktivität des Atmungskettenkomplexes II+III (Succinat-Cytochrom c-Oxidoreduktase). Das mitochondriale Markerenzym Zitratsynthase war mit gesteigerter Aktivität messbar. Der Gehalt an freiem Carnitin und Acetylcarnitin war vermindert.

In der zweiten Muskelbiopsie von Patientin 1 (während hochdosierter Substitution mit 1000mg/die Koenzym Q10) waren die Aktivitäten der Enzyme der mitochondrialen Atmungskette und die Zitratsynthase mit normaler Aktivität nachweisbar. Der Gehalt an Carnitin und Acetylcarnitin war auch in dieser Muskelprobe erniedrigt.

Bei Patient 2, 3, 5, 7 und 8 fand sich eine starke Erniedrigung der Aktivität von Komplex I und bei Patient 2, 3, 5 und 7 auch eine Erniedrigung von Komplex II+III sowie eine weniger stark verminderte Aktivität von Komplex IV.

Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Messergebnisse aller Patienten.

3.3. Bestimmung des muskulären Koenzym Q10 - Gehalts

Der muskuläre Gehalt an Koenzym Q10 wurde bei Patient 1, 2, 3, 5, 7 und 8 bestimmt.

Die Bestimmung des Koenzym Q10 - Gehalts in der ersten Muskelbiopsie von Patientin 1 ergab einen auf 22 Prozent der unteren Norm erniedrigten Wert und damit einen deutlichen muskulären Koenzym Q10 - Mangel.

In der Koenzym Q10 - Messung in der zweiten Muskelbiopsie von Patientin 1 (nach 9 Monaten Substitution mit Koenzym Q10) war der Wert unter Substitution mit 1000 mg Koenzym Q10 pro Tag normalisiert.

Auch bei den anderen Indexpatienten fand sich vor Therapie eine deutliche Erniedrigung des muskulären Koenzym Q10 - Gehalts auf weniger als die Hälfte der unteren Norm.

Tabelle 4 gibt einen Überblick über die Messergebnisse der Koenzym Q10 - Bestimmung im Muskelhomogenat von Patient 1, 2, 3, 5, 7 und 8.

Patient / Geschlecht	Familienanamnese	Erste Beschwerden mit ...Jahren	Klinik	Muskelhistologie	AK-Komplex I U/U CS (normal 0,17-0,56)	AK-Komplex II + III U/U CS (normal 0,08-0,45)	AK-Komplex IV U/U CS (normal 1,1-5,0)	CS U/gNCP (normal 45-100)	CoQ10 nmol/U CS (normal 2,7-7,0)	ETFDH-Mutation
1 F	keine Konsanguinität	32	Proximale Myopathie, Belastungs-Intoleranz, CK 5000 U/L	Vakuoläre Myopathie, Lipidakkumulation, Ragged Red Fasern	0,05	0,03	0,7	173	0,6	het P456L het K590E
2 M	Eltern konsanguin türkischer Herkunft	29	Proximale Muskelschwäche Skapula alata, Myalgien, CK 1000 U/L	Vakuoläre Myopathie, Lipidakkumulation, Ragged Red Fasern	0,09	0,04	0,9	172	0,8	hom L377P
3 M	Eltern konsanguin türkischer Herkunft, eine betroffene Schwester (Patientin 4)	12	Belastungs-Intoleranz, Abgeschlagenheit, CK 2745 U/L	Lipidakkumulation, einige COX - negative Fasern	0,00	0,01	0,1	149	0,8	hom L377P
5 M	Eltern konsanguin türkischer Herkunft, eine betroffene Schwester (Patientin 6)	12	Proximale Muskelschwäche Belastungs-Intoleranz, Myalgien, CK 4188 U/L	Vakuoläre Myopathie, Lipidakkumulation	0,02	0,02	0,7	173	1,28	hom L377P
7 F	Eltern konsanguin türkischer Herkunft	12	Proximale Muskelschwäche, Myalgien, CK 538 U/L	Vakuoläre Myopathie, Lipidakkumulation	0,00	0,01	0,4	193	0,87	hom P483L
8 F	keine Konsanguinität	24	Myalgien, proximale Muskelschwäche, CK 360 U/L	Vakuoläre Myopathie, Lipidakkumulation	0,05	0,15	1,2	70	1,32	het P456L het Trp286X

Tabelle 4: Klinische Daten und Laborergebnisse

3.4. Tandemmassenspektrometrie im Serum

Bei Patient 1, 2 und 8 wurde die Tandemmassenspektrometrie im Serum zur Bestimmung der Acyl-Carnitine durchgeführt.

Im Serum von Patientin 1 zeigte sich initial und auch bei wiederholten Verlaufsmessungen eine Erhöhung der kurz-, mittel- und langkettigen Acyl-Carnitine und eine Verminderung des freien Carnitins im Serum. Der Verlauf der Erhöhung war abhängig von den jeweiligen durchgeführten therapeutischen Maßnahmen und korrelierte auch mit der klinischen Symptomatik.

Der Verlauf von Carnitin (C0), Acetyl-Carnitin (C2), Isovaleryl-Carnitin (C5) und C14:1-Carnitin (C14:1) bei Patientin 1 unter den jeweiligen therapeutischen Maßnahmen ist in Abbildung 5 und 6 dargestellt.

Bei Patient 2 fand sich initial eine Erhöhung der kurz-, mittel- und langkettigen Acyl-Carnitine und eine Verminderung des freien Carnitins im Serum.

Bei Patientin 8 fand sich eine Erhöhung der langkettigen Acyl-Carnitine sowie ein erniedrigtes freies Carnitin. Vier Jahre zuvor war bereits einmalig eine Erniedrigung des freien Carnitins sowie eine Erhöhung der mittel- und langkettigen Acyl-Carnitine aufgefallen, ohne dass dies damals einem Krankheitsbild zugeordnet werden konnte.

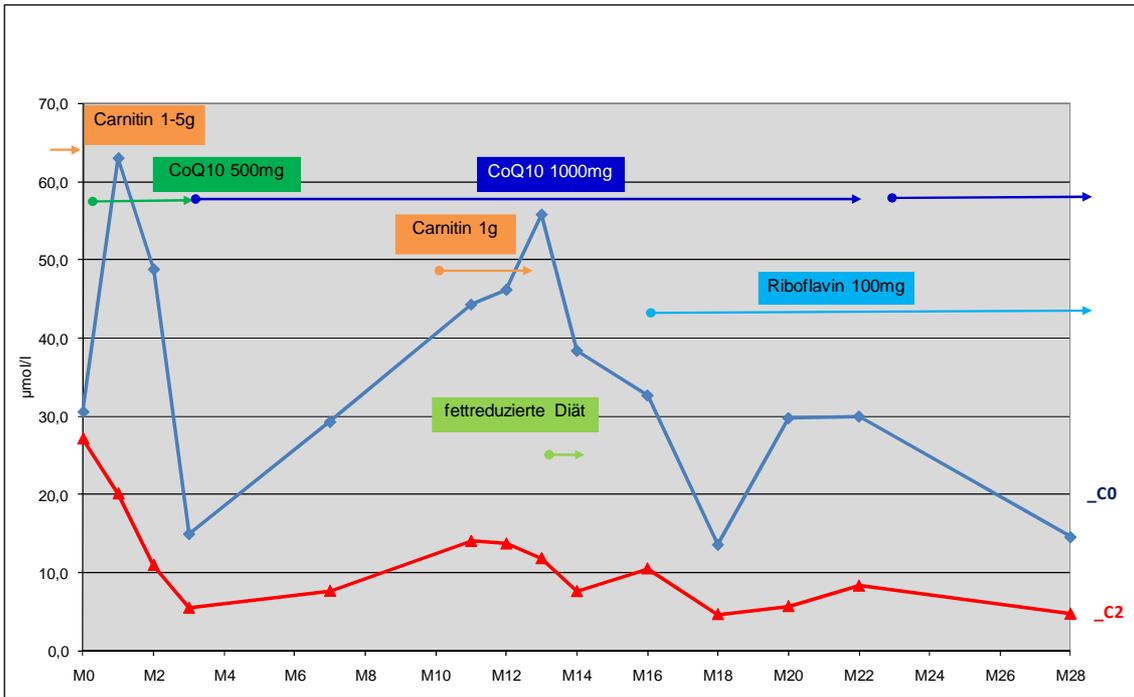


Abbildung 5: Verlauf der Serumspiegel von Carnitin (C0) und Acetyl-Carnitin (C2) von Patientin 1 unter Therapie: Die farbigen Pfeile markieren die Dauer der jeweils durchgeführten therapeutischen Massnahmen.

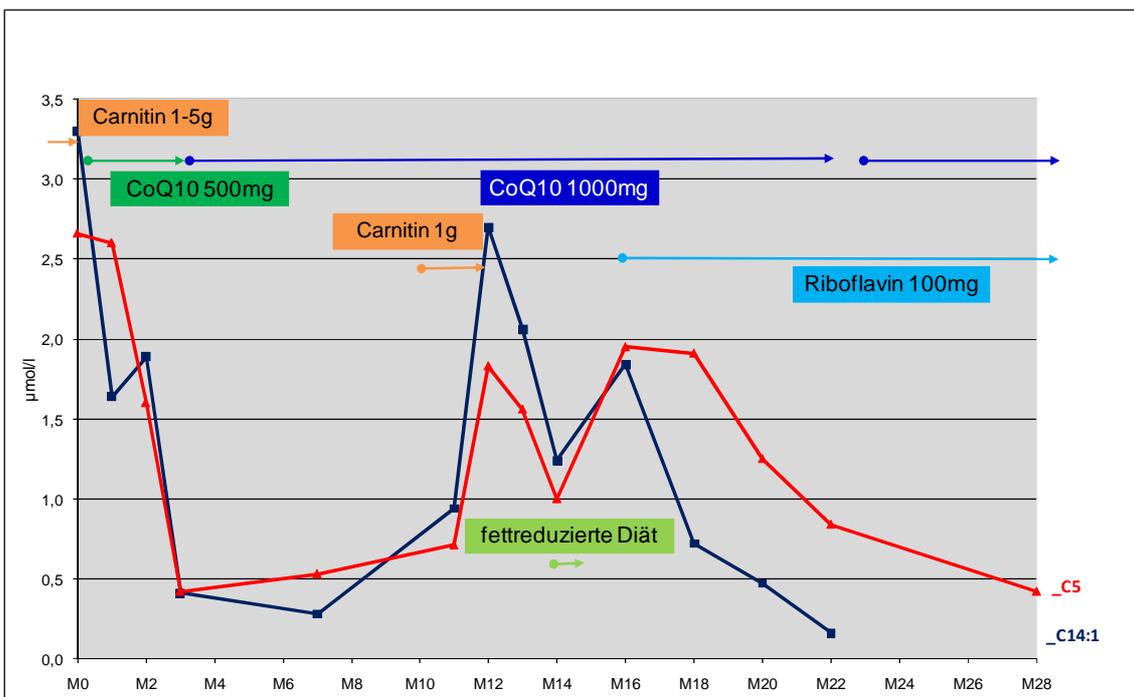


Abbildung 6: Verlauf der Serumspiegel von Isovaleryl-Carnitin (C5) und C14:1-Carnitin von Patientin 1 unter Therapie : Die farbigen Pfeile markieren die Dauer der jeweils durchgeführten therapeutischen Massnahmen.

3.5. Molekulargenetische Analysen

Die Sequenzierung aller Exons des *ETFDH*-Gens kodierend für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase wurde bei allen 8 Patienten durchgeführt.

Bei **Patientin 1** fanden sich zwei heterozygote Missense Mutationen: Eine Mutation betrifft das Nukleotid 1367 (Exon 11) mit einem Basenaustausch von Cytosin gegen Thymin (c.1367C>T), was zu einem Aminosäuretausch von Prolin zu Leucin an der Aminosäureposition 456 der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase führt (p.Pro456Leu).

Die zweite Mutation fand sich für Nukleotid 1768 (Exon 13), in dem die Base Adenin gegen Guanin getauscht ist (c.1768A>G), was zu einem Austausch der Aminosäure Lysin gegen Glutamat an der Aminosäureposition 590 der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase führt (p.Lys590Glu).

Exemplarisch sind in Abbildung 7 die Originalkurven der Sequenzauswertung für die Mutationen c.1367C>T und c. 1768A>G dargestellt.

Die Mutation p.Pro456Leu wurde bereits bei der adulten Form von Glutarazidurie Typ 2 als pathogen beschrieben (Goodman, Binard et al. 2002). Die Mutation p.Lys590Glu betrifft einen stark konservierten Aminosäurerest des Proteins, war aber bislang noch nicht beschrieben.

In der durchgeführten Familienuntersuchung waren die Eltern von Patientin 1 heterozygot für jeweils eine der beiden Mutationen.

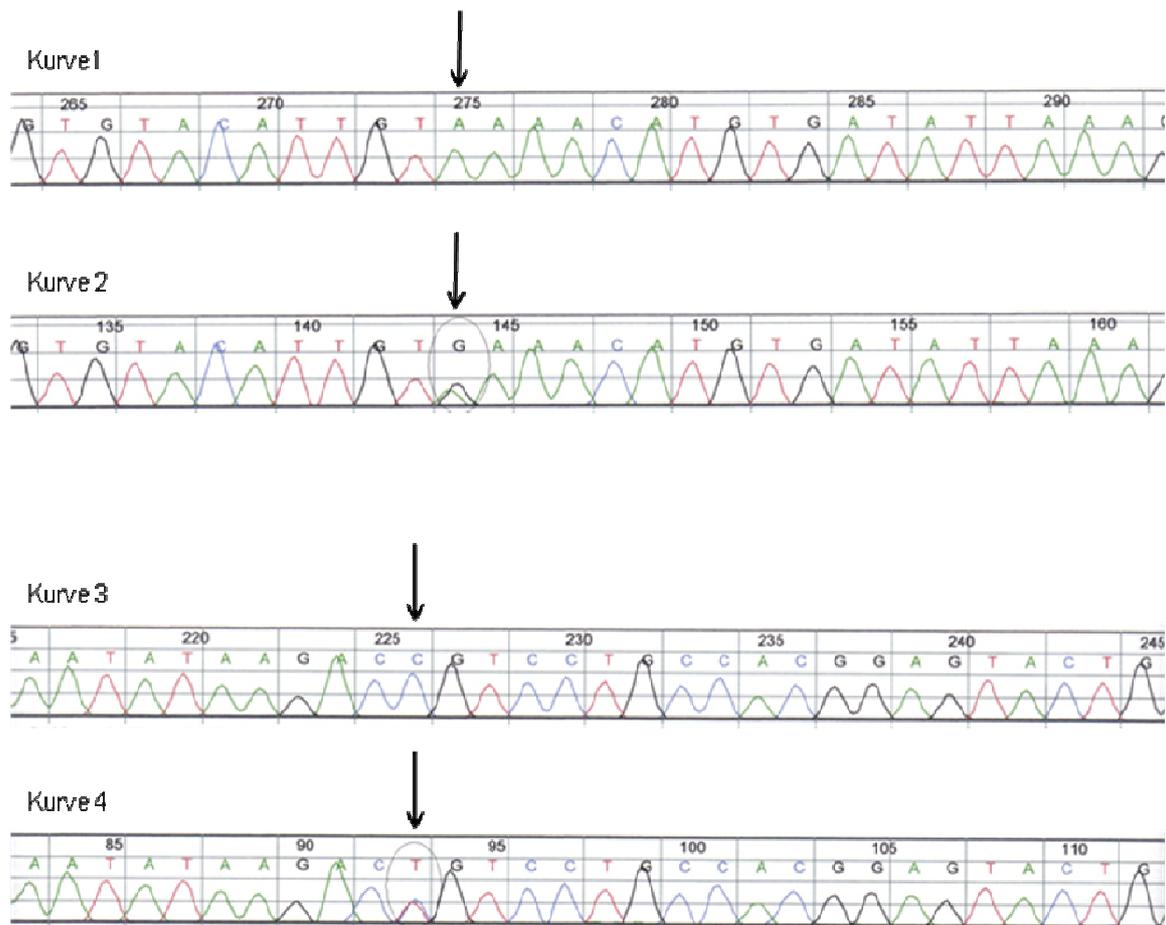


Abbildung 7: Originalkurven der in der Sequenzauswertung gefundenen Mutationen von Patient 1:

Kurve 1: normale Sequenz des ETFDH-Gens im Exon 13 an Position c.1768

Kurve 2: heterozygote Mutation mit Basentausch von Adenin nach Guanin an Position c.1768

Kurve 3: normale Sequenz des ETFDH-Gens im Exon 11 an Position c.1367

Kurve 4: heterozygote Mutation mit Basentausch von Cytosin nach Thymin an Position c.1367

Bei **Patient 2, 3, 4, 5 und 6** fand sich homozygot eine Missense-Mutation für das Nukleotid 1130 (Exon 10), die zu einem Basenaustausch von Thymin gegen Cytosin (c.1130T>C) führt. Dies führt an Aminosäureposition 377 zu einem Austausch von Leucin zu Prolin (p.Leu377Pro). Diese Mutation betrifft eine konservierte Aminosäure im C-terminalen Abschnitt der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase. Diese Mutation wurde vorher nicht beschrieben.

Bei **Patientin 7** fand sich eine homozygote Missense-Mutation im Nukleotid 1448 (Exon 11), die zu einem Basentausch von Cytosin zu Thymin führt (c.1448C>T). Dadurch kommt es an Aminosäureposition 483 zu einem Austausch von Prolin zu Leucin (p.Pro483Leu). Diese Mutation war bisher nicht beschrieben. Die Mutation betrifft eine konservierte Aminosäure und liegt in der unmittelbaren Nähe einer bekannten Mutation (p.Pro456Leu; siehe oben).

Bei **Patientin 8** fand sich heterozygot die bereits bei Patientin 1 identifizierte Mutation im Nukleotid 1367 (c.1367C>T; entsprechend p.Pro456Leu).

Eine zweite Mutation fand sich heterozygot im Nukleotid 858 (Exon 8), in dem die Base Guanin gegen Adenin getauscht war (c.858G>A), was zu einem vorzeitigen Stopcodon an der Aminosäureposition 286 der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase und zu einem Abbruch der Proteinsynthese führt (p.Trp286Stop).

Alle gefundenen Mutationen sind in Tabelle 4 noch einmal zur Übersicht aufgeführt.

In Tabelle 5 wird die Konservierung der Aminosäuren an den Positionen der gefundenen Mutationen p.Leu377Pro, p.Pro456Leu, p. Pro483 Leu und p.Lys590Glu an Hand eines Vergleichs der Aminosäuresequenz der ETFDH mehrerer Spezies dargestellt.

	Leu377Pro	Pro456Leu	Pro483Leu	Lys590Glu
homo sapiens	SIP KLTFPGG	RNIRPSCHGV	RGMEPWTLKH	CVHCKTCDIK
bos taurus	CIP KLTFPGG	RNIRPSCHSI	RGMEPWTLKH	CVHCKTCDIK
canis familiaris	SIP KLTFPGG	RNIRPSCHGI	RGMEPWTLKH	CVHCKTCDIK
mus musculus	SIP KLTFPGG	RNIRPSCHGI	RGMEPWTLKH	CVHCKTCDIK
xenopus	SLP KLTFPGG	RNIRPSCHGP	RGKEPWTLKH	CVHCKTCDIK
drosophila	SLPQKLSFPGG	RNVHPSFHNP	GGREPWTLKH	CI HCKTCDIK
saccharomyces c.	SVP KLNFP GG	RNIRPSFSGK	KGKVPWTLKF	CI HCKTCDIK

Tabelle 5: Konservierung der Aminosäuresequenzen verschiedener Spezies an den Positionen für die Mutationen p.Leu377Pro, p.Pro456Leu, p.Pro483Leu und p.Lys590Glu des ETFDH-Proteins.

(Quelle: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>)

Die Mutationen liegen in verschiedenen Domänen des Proteins (Zhang, Frerman et al. 2006): Der Basenaustausch p.Leu377Pro betrifft die Flavin - Adenin - Dinukleotid

(FAD) bindende Domäne des Proteins, der Austausch p.Pro456Leu und p.Pro483Leu die Koenzym Q10 - bindende Domäne und der Austausch p.Lys590Glu betrifft den Bereich der 4-Eisen-4-Schwefel-Kluster - Domäne. Alle 3 Domänen liegen in enger räumlicher Beziehung und sind direkt an der Elektronenübertragung auf Koenzym Q10 beteiligt.

3.6. Klinischer Verlauf unter Therapie

Patientin 1 kam zur stationären Aufnahme, nachdem über 3 Monate zunehmende proximale Paresen aufgetreten waren sowie eine massive Erhöhung der Kreatinkinase festgestellt wurde. Ein Carnitin-Palmitoyl-Transferase - Defekt war bereits im Vorfeld ausgeschlossen worden. Auffallend waren jedoch abnorme Werte der Acyl-Carnitine in der Tandemmassenspektrometrie, die zunächst nicht diagnostisch zugeordnet werden konnten. Es erfolgte eine Muskelbiopsie in der sich histologisch eine Fettspeichermyopathie vorwiegend in Typ 1 – Fasern zeigte. In den biochemischen Untersuchungen am Muskelbiopsat fanden sich Auffälligkeiten in der mitochondrialen Atmungskette sowie ein erniedrigter Koenzym Q10 - Gehalt. Daraufhin wurde die Therapie auf orale Substitution mit CoQ10 500 mg pro Tag umgestellt, woraufhin es innerhalb von wenigen Tagen zu einer Besserung der Muskelschwäche und zu einem Absinken der Kreatinkinasewerte kam. (Abbildung 8)

Bei guter Verträglichkeit und nicht vollständiger Besserung der Paresen wurde die Substitution auf 1000 mg CoQ10/Tag erhöht, es kam innerhalb von wenigen Wochen zu einer Normalisierung der erhöhten Kreatinkinasewerte und zu einer starken Besserung der Muskelschwäche. (Abbildung 8)

Sechs Monate nach Therapiebeginn war die Patientin wieder in der Lage, ihrem Alltag normal nachzugehen. Nach 8 Monaten Substitution in unveränderter Dosis von 1000 mg CoQ10 pro Tag stiegen die Kreatinkinasewerte jedoch wieder bis auf 2900 U/l an und eine erneute proximale Muskelschwäche wurde berichtet. Aufgrund von erniedrigtem Carnitin in der Tandemmassenspektrometrie wurde Carnitin in der Dosis 1000 mg/Tag zusätzlich zu CoQ10 1000 mg/Tag eingenommen. Hierunter ergab sich keine Besserung, die Paresen waren weiter zunehmend, woraufhin Carnitin nach 3 Monaten wieder abgesetzt wurde.

Eine daraufhin durchgeführte erneute Muskelbiopsie zeigte unverändert eine Fettspeichermyopathie, allerdings waren die Aktivitäten der mitochondrialen Atmungskettenenzyme und der Gehalt an Koenzym Q10 nun unter Substitution im Normbereich. In der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigten sich in dieser

Biopsie nun auch deutliche Hinweise auf eine Mitochondriopathie mit auffällig strukturierten Mitochondrien. In der ergänzend durchgeführten Analyse auf organische Säuren im Urin ergaben sich Hinweise auf das Vorliegen eines multiplen Acyl-CoA-Dehydrogenase Mangels. Nach wie vor waren die Messwerte der Acyl-Carnitine in der Tandemmassenspektrometrie pathologisch. Zusammen mit der auffälligen Ausscheidung von organischen Säuren im Urin war das Profil der Acyl-Carnitine gut passend zu typischen Veränderungen wie bei der Glutarazidurie Typ 2.

Daraufhin wurde unter Beibehalten der Substitution mit Koenzym Q10 zunächst eine protein- und fettreduzierte Diät durchgeführt (Eiweißreduktion auf 0,5 Gramm pro Kilogramm Körpergewicht, Fettreduktion auf maximal 30% der totalen Kilokalorienanzahl mit mindestens 3% Gehalt an essentiellen Fettsäuren, Kohlehydratanteil etwa 65% der Nahrung) (modifiziert nach (Strauss, Puffenberger et al. 2003)). Hierunter kam es etwa 3 Wochen nach Beginn der Diät zu einer subjektiven Verschlechterung des Allgemeinbefindens, im weiteren Verlauf in den folgenden Wochen zunehmende Schwäche beim Treppensteigen und Überkopfarbeiten.

Die Diät wurde daraufhin beendet und die Patientin stationär aufgenommen. Hierbei wurden erneut deutlich erhöhte Werte der Kreatinkinase bis 4200 U/l und proximal betonte Paresen festgestellt. Der Gehalt an Koenzym Q10 wurde unter Diät und nach Beendigung im Serum wiederholt gemessen, hierbei zeigte sich ein Absinken des Koenzym Q10 - Gehalts im Serum unter der Diät, zeitlich korrespondierend mit der berichteten Schwäche. Nach Beendigung der Diät stieg der Wert wieder an, korrespondierend mit der berichteten Besserung. Es wurde nun begleitend zur Substitution mit Koenzym Q10 eine additive Therapie mit oraler Gabe von Riboflavin 100 mg/Tag eingeleitet. Hierunter normalisierte sich der Kreatinkinasewert bereits nach 10 Tagen, die muskuläre Schwäche besserte sich objektivierbar innerhalb einer Woche.

Um herauszufinden, ob der therapeutische Effekt allein von Riboflavin abhängt, oder ob eine parallele Substitution mit Riboflavin und Koenzym Q10 nötig ist, wurde nach einigen Monaten paralleler Substitution ein Auslassversuch von Koenzym Q10 unternommen. Unter Monotherapie mit 100 mg Riboflavin kam es nach etwa 3 Wochen zu einer erneuten Zunahme vor allem der Nackenbeugerparese. Daraufhin wurde die Therapie wieder als parallele Substitution von CoQ10 1000 mg/Tag und Riboflavin 100 mg/Tag weitergeführt. Hierunter erneut rasche Besserung der Paresen, die im Untersuchungszeitraum über 3 Jahre anhielt. Nach einer ergänzend

durchgeführten Rehabilitationsmaßnahme ist die Patientin derzeit 4 Jahre nach Therapiebeginn in deutlich gebessertem und stabilem Zustand sowie in der Lage, alle Alltagsverrichtungen durchzuführen und wieder in Teilzeit zu arbeiten.

Eine Zusammenfassung der durchgeführten Therapien und des Effektes auf die Muskelkraft und die Kreatinkinase im Serum findet sich in Abbildung 8.

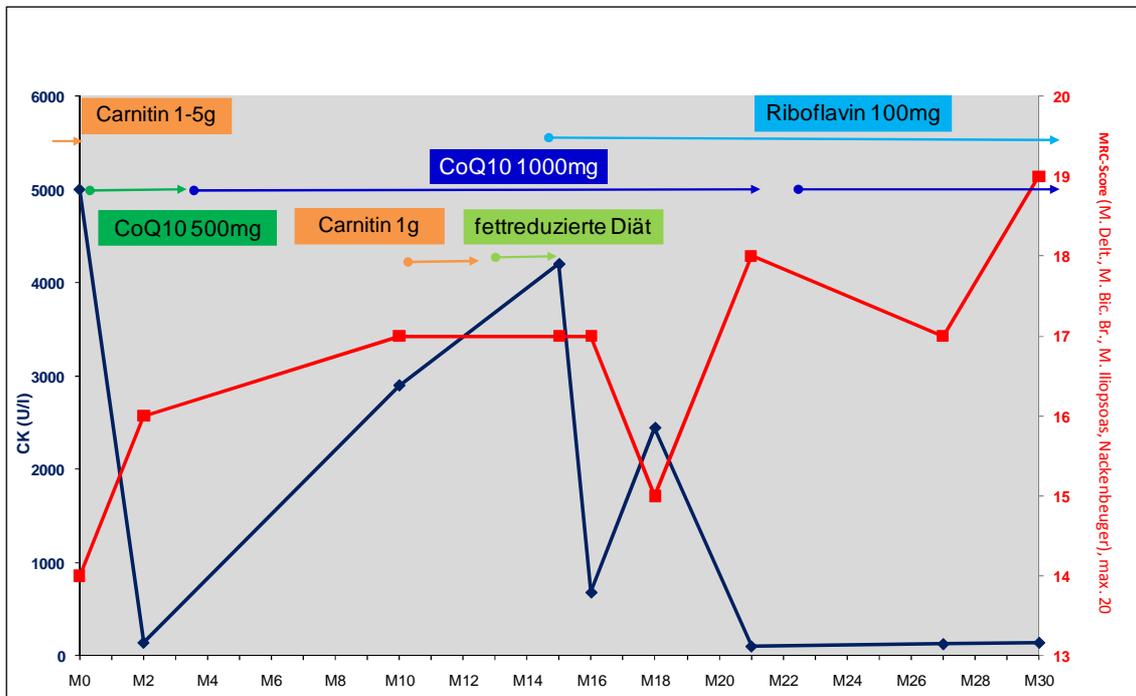


Abbildung 8: Verlauf von Kreatinkinase und MRC-Kraftscore (Summe der Kraftgrade von M. Deltoideus, M. Biceps Brachii, M. Iliopsoas und Nackenbeuger gemessen nach der MRC-Scala (0-5), max. 20) von Patientin 1 unter Therapie : Die farbigen Pfeile markieren die Dauer der jeweils durchgeführten therapeutischen Massnahmen

Patient 2 wurde nach Diagnosestellung eines muskulären Koenzym Q10 - Mangels oral mit 500mg CoQ10 substituiert. Innerhalb von 3 Monaten normalisierte sich die CK, der Patient konnte die Arbeit wiederaufnehmen. Nach einem Jahr war Patient 2 symptomfrei, lediglich die CK war leicht erhöht auf 320 U/l. Die Tandemmassenspektrometrie zeigte auch nach einem Jahr Substitution mit Koenzym Q10 nach wie vor ein typisch vermehrtes Muster von Acyl-CoA - Resten.

Patient 3 wurde nach erfolgter Muskelbiopsie mit Koenzym Q10 200mg/d substituiert. Die muskulären Beschwerden waren seitdem verschwunden. Die initial auf 2745 U/l

erhöhte CK normalisierte sich, wurde aber 6 Monate später erneut erhöht gemessen mit 370 U/l. Daraufhin wurde mit zusätzlicher Substitution von 100mg Riboflavin pro Tag begonnen. Hierunter Besserung der erhöhten Werte. Weitere klinische Verlaufsdaten liegen uns nicht vor.

Patientin 4 erhielt nach dem Ergebnis der Muskelbiopsie ihres Bruders orale Substitution mit 200mg CoQ10 pro Tag. Dies führte zu einer kompletten Remission aller Beschwerden. 4 Monate später war die CK noch leicht erhöht mit 323 U/l. Nach einem Jahr Substitution mit Koenzym Q10 kamen die Beschwerden in Form von Krämpfen und Schwäche wieder, die CK war zu diesem Zeitpunkt wieder massiv erhöht mit 4824 U/l. Die Leberwerte waren normal. Es wurde eine Substitution mit Riboflavin 100mg pro Tag zusätzlich begonnen, was innerhalb weniger Tage zur Normalisierung der CK und der Rückbildung aller Beschwerden führte. In der Nachbeobachtung war die Patientin 1 Jahr danach symptomfrei.

Patientin 5 und **Patientin 6** wurden nach Diagnosestellung mit 100mg Riboflavin pro Tag als Monotherapie behandelt, was die muskulären Beschwerden komplett zum Verschwinden brachte. Weitere Daten zur Nachbeobachtung liegen hier nicht vor.

Patientin 7 wurde nach Diagnosestellung mit 100 mg Riboflavin pro Tag als Monotherapie behandelt. Innerhalb weniger Tage kam es zu einer deutlichen Verbesserung, sie war wieder in der Lage zu gehen. Sechs Monate später war sie symptomfrei. Nach kurzzeitigem Absetzen von Riboflavin kam es zu einem Wiederauftreten der Muskelschwäche. Bei erneuter Gabe von 100 mg Riboflavin normalisierten sich die Symptome wieder völlig.

Patientin 8 wurde aufgrund nur sehr diskreter Symptomatik nach Diagnosestellung zunächst nicht behandelt. Es bestand lediglich eine diskrete Kopfbeugerparese, die CK war nur gering erhöht. Da die Schwäche anfallartig nur etwa alle 6 Monate auftrat, wurde zunächst mit der Patientin ein abwartendes Vorgehen vereinbart. 8 Monate nach Diagnosestellung wurde aufgrund einer erneuten Episode mit Schwäche und CK - Erhöhung die Therapie mit Koenzym Q10 500mg pro Tag und Riboflavin 100mg oral pro Tag begonnen. Hierunter normalisierten sich die Kreatinkinase und die Schwäche.

4. DISKUSSION

In dieser Arbeit werden die Daten von 8 Patienten aus 6 unterschiedlichen Familien vorgestellt, die alle eine muskelbiologisch gesicherte Lipidspeichermyopathie und einen Koenzym Q10 - Mangel zeigen und mit proximaler Schwäche oder Myalgien und teilweise massiver CK-Erhöhung klinisch symptomatisch wurden. Diese Krankheitsentität, der isolierte muskuläre Koenzym Q10 - Mangel, wurde von uns und einer anderen Arbeitsgruppe erstmals beschrieben und war zunächst molekular nicht aufgeklärt (Lalani, Vladutiu et al. 2005; Horvath, Schneider et al. 2006). Bei 3 der 8 Patienten wurde eine Tandemmassenspektrometrie aus dem Serum durchgeführt, es fanden sich dort typische Veränderungen wie bei einem multiplen Acyl-CoA-Dehydrogenase - Mangel (Glutarazidurie Typ 2). In der daraufhin durchgeführten Mutationssuche im *ETFDH*-Gen kodierend für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase konnten pathogene Mutationen bei allen 8 Patienten nachgewiesen werden. Mutationen im *ETFDH*-Gen waren bisher nur als Ursache der Glutarazidurie Typ 2 bekannt. Die hier vorgelegten Ergebnisse deuten daraufhin, dass durch Veränderungen im *ETFDH*-Gen auch die myopathische Form des Koenzym Q10 - Mangels hervorgerufen werden kann, und dass beide Erkrankungen allelisch sind. Informationen zur Häufigkeit der Erkrankung liegen bisher nicht vor. Aus eigenen Erfahrungen in München und Ankara ließen sich jedoch an neuromuskulären Schwerpunktkliniken innerhalb von 2 Jahren mindestens 8 Patienten mit dieser Erkrankung identifizieren, so dass die Prävalenzrate klinisch relevant sein dürfte.

Die Glutarazidurie Typ 2 oder der multiple Acyl-CoA-Dehydrogenase - Mangel ist eine seltene autosomal rezessive Stoffwechselstörung des Fettsäure- und Aminosäurestoffwechsels mit einer zugrunde liegenden Störung des Elektronentransports von den Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthaltenden Koenzym A-Dehydrogenasen auf das Koenzym Q10 der mitochondrialen Atmungskette (Przyrembel, Wendel et al. 1976).

Es sind im wesentlichen 3 klinische Verlaufsformen der Glutarazidurie Typ 2 beschrieben: Eine frühkindliche Verlaufsform mit angeborenen Anomalien, schweren Hypoglykämien, metabolischer Azidose und Ausscheidung von großen Mengen von Fettsäure- und Aminosäurederivaten im Urin, eine zweite frühkindliche Verlaufsform

ohne kongenitale Anomalien, und eine später beginnende Form mit variablen Symptomen und variablem Beginn, welche als typische Symptome eine Hepatomegalie, eine Lipidspeichermyopathie und wiederkehrende Episoden von Abgeschlagenheit, Erbrechen, Hypoglykämie, sowie metabolische Azidosen, die oft durch metabolischen Stress ausgelöst werden, zeigt.

Die Patienten der spät einsetzenden Form beklagen gehäuft Myalgien, Belastungsintoleranz und proximal betonte Muskelschwäche. Muskuläre Beschwerden waren jedoch bislang nicht als isolierte oder initiale Symptome bei Glutarazidurie Typ 2 beschrieben. Die Ausscheidung von Glutarsäure im Urin ist oft nur intermittierend und korreliert mit der Verschlechterung von Symptomen. (Olsen, Andresen et al. 2003)

Es bestehen möglicherweise klinische Gemeinsamkeiten hinsichtlich des Verteilungsmusters der Paresen der Patienten, bei denen eine adulte Verlaufsform der Glutarazidurie Typ 2 oder eine Koenzym Q10 - Myopathie diagnostiziert wurde:

Sowohl Patienten mit Glutarazidurie Typ 2 als auch unsere Patienten mit muskulärem Koenzym Q10 - Mangel zeigten proximale Paresen mit Beteiligung der Nackenbeuger sowie Rhabdomyolysen.

Daneben bestehen aber einige klinische Unterschiede:

Im Unterschied zum subakuten bis chronischen Verlauf beim muskulären Koenzym Q10 - Mangel treten bei der Glutarazidurie Typ 2 die Paresen typischerweise akut auf, oft in Folge von Infektionen. Ein häufiges Symptom ist Erbrechen, dies wurde bei unseren Patienten seltener berichtet. Bei der Glutarazidurie Typ 2 kommt es im Gegensatz zu unseren Patienten mit muskulärem Koenzym Q10 - Mangel gehäuft zu krisenhaften Enzephalopathien, die sich unter Therapie mit Riboflavin zurückbilden können.

Keiner unserer Patienten war je beatmungspflichtig, in der Literatur werden für die adulte Form der Glutarazidurie Typ 2 in der akuten Phase auch Verläufe mit akuter Ateminsuffizienz und Schluckstörungen berichtet (Olsen, Olpin et al. 2007).

Die Glutarazidurie Typ 2 ist eine Multisystemerkrankung, bei unseren Patienten war die muskuläre Betroffenheit das ausschließliche Symptom. Dafür gibt es derzeit keine zufriedenstellende Erklärung, obwohl wir nicht ausschließen können, dass Patienten mit muskulärem Koenzym Q10 - Mangel im Verlauf ohne Therapie ebenfalls systemische Symptome entwickeln würden.

Wir gehen aufgrund der Gemeinsamkeiten und Unterschiede davon aus, dass es sich bei der Glutarazidurie Typ 2 und dem muskulären Koenzym Q10 - Mangel um allelische Erkrankungen handelt.

Alle 3 klinisch unterscheidbaren Verlaufsformen der Glutarazidurie Typ 2 können durch Mutationen in einem von drei Genen verursacht werden: Zwei Gene (*ETFA*, OMIM Nr. 608053 und *ETFB*, OMIM Nr. 130410) kodieren für die Alpha- und Beta-Untereinheit des Elektronen-Transfer-Flavoproteins, das dritte Gen (*ETFDH*, OMIM Nr. 231675) kodiert für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase.

Hierbei führen bei der Glutarazidurie Typ 2 Nullmutationen, also Mutationen, die nachfolgend die Translation des kodierten Proteins ganz verhindern, zu dem sehr schweren Phänotyp mit angeborenen Anomalien.

Missense-Mutationen, die die Konformation, die Stabilität oder die Funktion des Proteins vermindern, verursachen den leichteren Phänotyp mit variablem Beginn (Olsen, Andresen et al. 2003). Für diese Fälle ist von einer residualen, wenn auch deutlich verminderten Aktivität des Elektronen-Transfer-Flavoproteins oder der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase auszugehen.

Mutationen auf nur einem Allel (entsprechend einer Reduktion der Aktivität auf 50%), wie sie bei den Eltern und Geschwistern von Patienten beobachtet wurden, führen nicht zu klinischen Symptomen.

Bei der Glutarazidurie Typ 2 führen die bisher bekannten Mutationen im Gen für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase zu Aminosäureveränderungen im Bereich der FAD - bindenden Domäne oder in einer kleinen Region der Koenzym Q10 - Bindungsstelle. Mögliche Folgen sind Konformationsänderungen der FAD - bindenden Domäne mit einer verminderten Bindungsmöglichkeit und eine Beeinflussung des Elektronen - Transfers von FAD auf Koenzym Q10. (Olsen, Olpin et al. 2007)

Bei unseren 8 Patienten mit muskulärem Koenzym Q10 - Mangel lagen die gefundenen Mutationen alle im *ETFDH*-Gen und bei 7 der 8 Patienten lagen Missense - Mutationen auf beiden Allelen vor. Dies lässt sich gut mit dem beobachteten milden klinischen Phänotyp und einem rezessiven Erbgang vereinbaren.

Bis auf eine hetero-allelische Stopmutation (Patientin 8) sind alle Mutationen bei unseren Patienten im C-terminalen Abschnitt des Proteins, allerdings in unterschiedlichen funktionellen Domänen, lokalisiert.

Missense Mutationen in diesem Teil des Proteins beeinträchtigen wahrscheinlich die katalytische Aktivität des Proteins, die Faltung oder die Stabilität, welche mit einer Restaktivität vereinbar sein können (Westover, Goodman et al. 2003).

Nonsense - Mutationen resultieren dagegen in der Regel in einem kompletten Fehlen von Protein und Aktivität und schweren klinischen Phänotypen mit zum Teil schon vorgeburtlich letalen Verlaufsformen sowie Beteiligung anderer Organsysteme.

Bei den beiden deutschstämmigen Patienten unseres Kollektivs (Patientin 1 und 8) wurden jeweils 2 unterschiedliche, heteroallelische *ETFDH*-Mutationen (compound heterozygot) identifiziert:

Die Mutation (c.1367C>T, p.Pro456Leu) fand sich bei Patientin 1 und 8 jeweils heterozygot. Folge dieser Mutation ist am ehesten eine Konformationsänderung des Proteins und Abschwächung der Enzymaktivität.

Die Mutation (c.1768A>G, p.Lys590Glu) fand sich nur bei Patientin 1 und führt am ehesten zu einer Konformationsänderung des Proteins. Die Mutation (c.858G>A; p.Trp286Stop) wurde nur bei Patientin 8 identifiziert. Sie liegt weiter N-terminal und resultiert voraussichtlich in einem stark trunkierten oder fehlenden Protein, das keine enzymatische Restfunktion mehr vermittelt.

Die Tatsache, dass Patientin 8 einen milden klinischen Phänotyp zeigt, ist wahrscheinlich auf eine Restfunktion des Proteins, welches durch das 2. Allel kodiert wird, zurückzuführen. Die Mutation (p.Pro456Leu) führt am ehesten nur zu einer Abschwächung der Aktivität des Proteins.

Bei den Patienten 2, 3, 4, 5 und 6, alle türkischer oder kurdischer Herkunft, wurde eine vorher nicht beschriebene *ETFDH*-Mutation (c.1130T>C; p.Leu377Pro) homozygot identifiziert. Die Häufung der Mutation bei mehreren nicht verwandten türkischen Familien gibt Anlass zu der Vermutung, dass es sich um eine so genannte Gründer - Mutation handeln könnte. Dies könnte durch einen Vergleich der Haplotypen mutationstragender Allele mit Hilfe polymorpher Marker in der Nachbarschaft des *ETFDH*-Gens untersucht werden. Genauere Angaben zur Häufigkeit dieser Mutation in der türkischstämmigen Population liegen bislang nicht vor, es könnte aber durchaus gerechtfertigt sein, in Zukunft bei Patienten mit Herkunft aus dem türkischen Kulturkreis

und hinreichendem klinischem Verdacht zunächst gezielt diese Mutation zu untersuchen.

Bei Patientin 7, ebenfalls türkischer Herkunft, fand sich jedoch eine andere homozygote Missense-Mutation (c.1448 C>T; p.Pro483Leu). Homozygote Mutationen sind gehäuft in konsanguinen Verbindungen zu finden. Dies ist ein weiterer Hinweis auf den rezessiven Erbgang des muskulären Koenzym Q10 - Mangels aufgrund eines Defekts der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase.

Betroffene Familien können molekulargenetisch beraten werden und es sollte bei klinischem Verdacht bei konsanguinen Familienverhältnissen in jedem Fall das ganze Gen sequenziert werden, selbst wenn in einem Screening eine häufige Mutation nicht identifiziert werden kann. Unter Umständen ist ergänzend auch eine Untersuchung der cDNA erforderlich, um Mutationen in Introns zu detektieren, die zu einem fehlerhaften Spleißverhalten führen können.

Ein direkter Pathogenitätsnachweis für die gefundenen Mutationen konnte bisher aufgrund fehlender Modellsysteme noch nicht erbracht werden. Hinweise für die Pathogenität der gefundenen Sequenzvarianten ergeben sich derzeit aus dem Fehlen dieser Mutationen bei gesunden Kontrollpersonen, Segregationsanalysen der Familien sowie Vorhersagen zum Einfluss der Mutationen auf das Protein, seine Stabilität und enzymatische Aktivität.

Der Zusammenhang zwischen der bei unseren Patienten vorliegenden Myopathie bei Koenzym Q10 - Mangel und Mutationen im *ETFDH*-Gen wurde in der Literatur zum Zeitpunkt unserer Arbeit nicht beschrieben. Bei allen unseren Patienten war Koenzym Q10 stark vermindert auf weniger als 50% der unteren Norm in der Messung im Muskelhomogenat.

Die typische Klinik zusammen mit der Histologie und der Defekte der mitochondrialen Atmungskettenenzyme führten zur Definition eines myopathischen Koenzym Q10 - Mangels (Lalani, Vladutiu et al. 2005; Horvath, Schneiderat et al. 2006), wobei initial (vor den genetischen Untersuchungen) unklar war, ob es sich um einen primären oder sekundären Mangel an Koenzym Q10 handelte. Mit der Identifizierung von *ETFDH*-

Mutationen als genetischer Ursache scheint es sich beim myopathischen Q10 - Mangel nunmehr eindeutig um einen sekundären Mangel zu handeln, da die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase nicht direkt an der Biosynthese von Koenzym Q10 beteiligt ist.

Der Begriff primärer Koenzym Q10 - Mangel sollte den Störungen der Biosynthese von Koenzym Q10 vorbehalten sein. Bisher sind Defekte im Gen der Prenyldiphosphat - Synthase, Untereinheit 1 (PDSS1), welches für das humane Homolog des Gens für CoQ1 in der Hefe codiert und Defekte im Gen für die OH - Benzoat - Polyprenyltransferase (COQ2), welches für das humane Homolog des Gens für CoQ2 in der Hefe codiert, beschrieben worden (Mollet, Giurgea et al. 2007). Beide Defekte des Koenzym Q10 - Biosyntheseweges führen zu schweren frühkindlichen Enzephalomyopathien mit Multiorganbeteiligung. Des weiteren konnte kürzlich gezeigt werden, dass Mutationen im *CABC1*-Gen, dem humanen Homolog des Gens CoQ8 in der Hefe, zu einem Krankheitsbild mit zerebellärer Atrophie und Anfällen führt (Mollet, Delahodde et al. 2008). Darüber hinaus wurde vor kurzem das humane Homolog von CoQ4 der Hefe, einem wichtigen Gen für die Koenzym Q10 - Biosynthese, funktional charakterisiert, so dass auch hier früher oder später zu erwarten ist, dass Mutationen gefunden werden (Casarin, Jimenez-Ortega et al. 2008).

Theoretisch sind Defekte auf jeder Ebene der Koenzym Q10 - Synthese möglich und in Zukunft wird sich die Vielzahl molekularer Ursachen primärer Koenzym Q10 - Defekte daher sicher noch erweitern.

Ein Koenzym Q10 - Mangel bei intaktem Biosyntheseweg, also ein Mangel aufgrund Störungen der Regulation der Expression, der Translation oder der Funktion aufgrund eines Defekts anderer Gene, sollte als sekundärer Koenzym Q10 - Mangel bezeichnet werden. Ein Beispiel für einen sekundären Koenzym Q10 - Mangel ist der Koenzym Q10 - Mangel bei Mutationen im Aprataxin - Gen (Quinzii, Kattah et al. 2005), der mit Ataxie und okulomotorischer Apraxie einhergeht. Bei dieser Erkrankung ist der Koenzym Q10 - Mangel auch im Muskel ausgeprägt, wenngleich keine direkte Störung der Biosynthese von Koenzym Q10 vorliegt. Der Mechanismus ist vergleichbar mit dem in dieser Arbeit beschriebenen muskulären Koenzym Q10 - Mangel aufgrund von Mutationen im *ETFDH*-Gen, der ebenfalls als sekundärer Koenzym Q10 - Mangel anzusehen ist.

Der genaue pathophysiologische Zusammenhang zwischen dem Defekt der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase und dem Koenzym Q10 - Mangel ist bisher nicht abschließend geklärt. Es gibt allerdings mehrere Hypothesen, die versuchen, den Zusammenhang zwischen Koenzym Q10 und der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase zu erklären:

Koenzym Q10 ist der direkte Empfänger der Elektronen, die durch das Elektronen-Transfer-Flavoprotein übertragen werden. Ein Mangel oder ein Defekt des reduzierenden Enzyms Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase könnte im Rahmen eines Feedback - Mechanismus zur Herunterregulierung der Koenzym Q10 - Synthese führen. Auch eine fehlerhafte Bindungsmöglichkeit des veränderten Enzyms an Koenzym Q10 könnte zu einer massiven Degradation des Akzeptormoleküls Koenzym Q10 führen. Durch die Blockade oder Abschwächung der Elektronenübertragung kann es durch Akkumulation von toxischen Produkten oder zellulärem Stress auch zu einer sekundären Beeinflussung der oxidativen Phosphorylierung kommen (Olsen, Andresen et al. 2003; Gempel, Topaloglu et al. 2007).

Für die Tatsache, dass der Mangel an Koenzym Q10 eine pathogene Rolle spielt, spricht auch, dass die Enzymaktivitäten der Atmungskettenkomplexe, die von Koenzym Q10 abhängig sind (Komplex I und II) vermindert sind (Beresford, Pourfarzam et al. 2006) (Gempel, Topaloglu et al. 2007), obwohl diese von der ETFDH nicht primär abhängig sind. Bei unseren Patienten war die Aktivität von Komplex I und die Aktivität der Komplexe II+III sowie geringer die Aktivität von Komplex IV vermindert. Unter Zugabe von Ubiquinon zu den Ansätzen der Messung *in vitro* waren die Aktivitäten normalisiert. Nach oraler Substitution mit Koenzym Q10 als alleinige Therapie über 9 Monate waren bei Patientin 1 in einer erneuten Muskelbiopsie die Atmungskettenenzyme wieder mit normaler Aktivität messbar.

Therapeutisch sprachen alle Patienten gut auf die Substitutionstherapie an. Auf die alleinige Behandlung mit Koenzym Q10 in der Dosierung 200, 500 oder 1000 mg pro Tag normalisierten sich die Beschwerden vorübergehend oder dauerhaft bei Patient 1, 2, 3 und 4. Da es bei Patient 1, 3 und 4 zu einem Rezidiv kam, wurde die Therapie um Riboflavin 100 mg erweitert. Ein Auslassversuch von Koenzym Q10 bei Patientin 1 führte zu einer klinischen Verschlechterung, so dass hier seitdem eine Kombinationsbehandlung durchgeführt wird. Patient 5, 6 und 7 wurden initial mit

Riboflavin 100mg pro Tag behandelt. Darunter waren alle 3 bislang symptomfrei. Ein Auslassversuch von Riboflavin bei Patientin 7 führte zu einem raschen Wiederauftreten der Symptome, nach erneuter Gabe von Riboflavin ist Patientin 7 derzeit symptomfrei.

Der muskuläre Koenzym Q10 - Mangel mit Mutationen im Gen der Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase scheint damit eine relativ gut behandelbare genetische Erkrankung zu sein. Das ist insbesondere für die Patienten von hohem Wert, die bislang nicht therapiert wurden und unter progredienten Symptomen und Behinderungen leiden. Daher sollte die Aufmerksamkeit für diese Erkrankung bei Klinikern hoch und die Schwelle, diese Verdachtsdiagnose zu stellen, niedrig sein. Aufgrund der geringen Fallzahlen fehlen bisher kontrollierte Studien und die Therapieempfehlungen beruhen auf Fallberichten. Die optimale Zusammensetzung und Dosierung der Therapie des einzelnen Patienten muss daher individuell bestimmt und optimiert werden. Der längerfristige Verlauf unter Therapie ist bisher nicht abschließend zu beurteilen, die längste Beobachtungsdauer bei Patientin 1 unter Therapie beträgt mittlerweile 4 Jahre.

Aufgrund eines günstigen Risikoprofils von Koenzym Q10 und Riboflavin kann auch bei Fehlen von kontrollierten Studien die Einnahme bereits bei begründetem Verdacht empfohlen werden. (Eine Befundsicherung sollte gegebenenfalls vorher erfolgen, da unter Substitution der Koenzym Q10 - Mangel im Muskel nicht mehr nachweisbar sein kann!)

Unsere vorläufige Empfehlung bei Erwachsenen ist die orale Gabe von Riboflavin 100 - 400 mg in Kombination mit CoQ10 500 - 1500 mg pro Tag. Bei Kindern ist die empfohlene Dosierung bis zu 10 mg CoQ10 pro Kilogramm Körpergewicht und Tag und Riboflavin 50-100 mg pro Tag.

In dieser Arbeit wird eine neue klinische Entität definiert:

Der klinische Phänotyp scheint homogen, mit subakutem Beginn, Belastungsintoleranz und proximaler Schwäche, die vor allem die Hüft- und Schultergürtelmuskulatur sowie die Nackenbeuger betrifft. Die Kreatinkinase im Serum war in allen Fällen deutlich erhöht. In der histologischen Untersuchung von Skelettmuskel fand sich eine Fettspeichermyopathie mit Zeichen mitochondrialer Dysfunktion. Die Messung der

mitochondrialen Atmungskettenenzyme im Muskel zeigte eine verminderte Aktivität von Komplex I und II+III und eine gesteigerte Aktivität des mitochondrialen Markerenzym Zitratsynthase, außerdem findet sich eine biochemisch messbare deutliche Erniedrigung von Koenzym Q10 im Muskelhomogenat. In der Tandemmassenspektrometrie des Serums findet sich eine Vermehrung kurz-, mittel- und langkettiger Fettsäuren, hinweisend auf eine multiple Acyl-CoA-Dehydrogenase - Defizienz.

Bei allen 8 unserer Patienten fanden sich ursächlich dafür Mutationen im *ETFDH*-Gen kodierend für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase.

Eine genetische Untersuchung sollte zur Bestätigung eines klinischen Verdachtes angestrebt werden, auch wenn keine Muskelbiopsie verfügbar ist. Ein positiver genetischer Befund etabliert die Diagnose, gibt Sicherheit für die Therapie und ermöglicht die genetische Beratung der betroffenen Patienten und Familien. Möglicherweise kann innerhalb von betroffenen Familien bei positivem genetischem Befund aber fehlender Klinik auch eine „Prophylaxe“ durch die Einnahme von Riboflavin und/oder Koenzym Q10 durchgeführt werden und so der Ausbruch der Krankheit verhindert werden, indem die Funktion der ETFDH verbessert wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit trägt dazu bei, den muskulären Koenzym Q10 - Mangel aufgrund von Mutationen im *ETFDH*-Gen kodierend für die Elektronen-Transfer-Flavoprotein - Dehydrogenase als eine neue klinische und genetische Entität einer autosomal-rezessiv vererbten, gut behandelbaren mitochondrialen Myopathie zu definieren.

Klinisch ist der muskuläre Koenzym Q10 - Mangel charakterisiert durch eine proximale Myopathie, eine deutliche bis starke CK-Erhöhung, eine Fettspeichermyopathie in der Muskelhistologie, einen Atmungskettendefekt vor allem von Atmungskettenkomplex I und II+III, erniedrigte Koenzym Q10 - Werte im Muskelhomogenat, und einer auffälligen Erhöhung der kurz-, mittel- und langkettigen Acyl-Carnitine in der Tandemmassenspektrometrie im Serum.

Obwohl der muskuläre Koenzym Q10 - Mangel Gemeinsamkeiten mit der Klinik der Glutarazidurie Typ 2 ausweist und durch Mutationen im gleichen Gen verursacht wird (allelische Erkrankungen), unterscheidet er sich klinisch von der Glutarazidurie Typ 2 (multisystemische Erkrankung) durch eine isolierte Betroffenheit des Muskels. Wir beschreiben 8 Patienten mit muskulärem Koenzym Q10 - Mangel verursacht durch rezessiv vererbte Mutationen im *ETFDH*-Gen. Alle Patienten sprachen nach Etablierung der Diagnose sehr gut auf die Therapie mit Koenzym Q10 und/oder Riboflavin an.

Die von uns identifizierten *ETFDH*-Mutationen sind überwiegend missense-Mutationen im C-terminalen Bereich des Proteins mit möglicher geringer enzymatischer Restfunktion. Diese könnte für den relativ milden und rein muskulären klinischen Phänotyp verantwortlich sein. Der direkte Beweis der Pathogenität und die weitere Aufklärung der pathophysiologischen Zusammenhänge durch geeignete Modellsysteme stehen derzeit noch aus.

Der muskuläre Koenzym Q10 - Mangel aufgrund von Mutationen im *ETFDH*-Gen ist eine gut behandelbare erbliche Erkrankung. Häufig wird den Betroffenen bei frühzeitiger Diagnose und rechtzeitiger Therapie ermöglicht, ein normales Leben zu führen.

6. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Seite 6: Abbildung 1: Energiegewinnung in der Zelle: Zitratzyklus, Fettsäureoxidation und Oxidative Phosphorylierung: Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Di Mauro, New York

Seite 7: Tabelle 1: Bekannte Defekte des Fettsäurestoffwechsels

Seite 12: Abbildung 2: Biosynthese von Koenzym Q10: Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Rita Horvath

Seite 12: Tabelle 2: Primäre und sekundäre Koenzym Q10 - Defekte

Seite 22: Tabelle 3: Verwendete Primersequenzen für die Analyse des *ETFDH*-Gens

Seite 24: Abbildung 3: Histologische Befunde von Patientin 1 (Erste Biopsie A-D, zweite Biopsie nach Therapie E-G), Patient 2 (H-J), Patient 3 (L) und 5 (K): Mit freundlicher Genehmigung von Privatdozent Dr. med. B. Schoser

Seite 25: Abbildung 4: Elektronenmikroskopie von Patientin 1 (erste Biopsie): Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Müller-Höcker, Pathologisches Institut, LMU München

Seite 28: Tabelle 4: Klinische Daten und Ergebnisse

Seite 30: Abbildung 5: Verlauf der Serumspiegel von Carnitin und Acetylcarnitin von Patientin 1 unter Therapie

Seite 30: Abbildung 6: Verlauf der Serumspiegel von Isovaleryl-Carnitin (C5) und C14:1-Carnitin von Patientin 1 unter Therapie

Seite 32: Abbildung 7: Originalkurven der in der Sequenzauswertung gefundenen Mutationen von Patient 1

Seite 33: Tabelle 5: Konservierung der Mutationen Leu377 Pro, Pro456Leu, Pro483Leu und Lys590Glu (Quelle: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>)

Seite 37: Abbildung 8: Verlauf von Kreatinkinase und MRC-Score von Patientin 1 unter Therapie

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Beresford, M. W., M. Pourfarzam, et al. (2006). "So doctor, what exactly is wrong with my muscles? Glutaric aciduria type II presenting in a teenager." Neuromuscul Disord 16(4): 269-73.
- Casarin, A., J. C. Jimenez-Ortega, et al. (2008). "Functional characterization of human COQ4, a gene required for Coenzyme Q10 biosynthesis." Biochem Biophys Res Commun 372(1): 35-9.
- Darras, B. T. and N. R. Friedman (2000). "Metabolic myopathies: a clinical approach; part II." Pediatr Neurol 22(3): 171-81.
- DiMauro, S. (2006). "Mitochondrial myopathies." Curr Opin Rheumatol 18(6): 636-41.
- DiMauro, S. and J. Gurgel-Giannetti (2005). "The expanding phenotype of mitochondrial myopathy." Curr Opin Neurol 18(5): 538-42.
- DiMauro, S. and E. A. Schon (2003). "Mitochondrial respiratory-chain diseases." N Engl J Med 348(26): 2656-68.
- Fischer, J. C., W. Ruitenbeek, et al. (1986). "A mitochondrial encephalomyopathy: the first case with an established defect at the level of coenzyme Q." Eur J Pediatr 144(5): 441-4.
- Gempel, K., S. Kiechl, et al. (2002). "Screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency by tandem mass spectrometry." J Inherit Metab Dis 25(1): 17-27.
- Gempel, K., H. Topaloglu, et al. (2007). "The myopathic form of coenzyme Q10 deficiency is caused by mutations in the electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase (ETF DH) gene." Brain 130(Pt 8): 2037-44.
- Goodman, S. I., R. J. Binard, et al. (2002). "Glutaric acidemia type II: gene structure and mutations of the electron transfer flavoprotein:ubiquinone oxidoreductase (ETF:QO) gene." Mol Genet Metab 77(1-2): 86-90.
- Gordon, N. (2006). "Glutaric aciduria types I and II." Brain Dev 28(3): 136-40.
- Groneberg, D. A., B. Kindermann, et al. (2005). "Coenzyme Q10 affects expression of genes involved in cell signalling, metabolism and transport in human CaCo-2 cells." Int J Biochem Cell Biol 37(6): 1208-18.
- Horvath, R., P. Schneiderat, et al. (2006). "Coenzyme Q10 deficiency and isolated myopathy." Neurology 66(2): 253-5.
- Lalani, S. R., G. D. Vladutiu, et al. (2005). "Isolated mitochondrial myopathy associated with muscle coenzyme Q10 deficiency." Arch Neurol 62(2): 317-20.
- Lamperti, C., A. Naini, et al. (2003). "Cerebellar ataxia and coenzyme Q10 deficiency." Neurology 60(7): 1206-8.
- Löffler, G. and P. E. Petrides (1997). Biochemie und Pathobiochemie, Springer Verlag.
- McNaught, A. D., Wilkinson, A. (1997). IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition.
- Mollet, J., A. Delahodde, et al. (2008). "CABC1 gene mutations cause ubiquinone deficiency with cerebellar ataxia and seizures." Am J Hum Genet 82(3): 623-30.

-
- Mollet, J., I. Giurgea, et al. (2007). "Prenyldiphosphate synthase, subunit 1 (PDSS1) and OH-benzoate polyprenyltransferase (COQ2) mutations in ubiquinone deficiency and oxidative phosphorylation disorders." J Clin Invest 117(3): 765-72.
- Nohl, H., L. Gille, et al. (1998). "The biochemical, pathophysiological, and medical aspects of ubiquinone function." Ann N Y Acad Sci 854: 394-409.
- Ogasahara, S., A. G. Engel, et al. (1989). "Muscle coenzyme Q deficiency in familial mitochondrial encephalomyopathy." Proc Natl Acad Sci U S A 86(7): 2379-82.
- Olsen, R. K., B. S. Andresen, et al. (2003). "Clear relationship between ETF/ETFHD genotype and phenotype in patients with multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency." Hum Mutat 22(1): 12-23.
- Olsen, R. K., S. E. Olpin, et al. (2007). "ETFHD mutations as a major cause of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency." Brain 130(Pt 8): 2045-54.
- Przyrembel, H., U. Wendel, et al. (1976). "Glutaric aciduria type II: report on a previously undescribed metabolic disorder." Clin Chim Acta 66(2): 227-39.
- Quinzii, C. M., A. G. Kattah, et al. (2005). "Coenzyme Q deficiency and cerebellar ataxia associated with an aprataxin mutation." Neurology 64(3): 539-41.
- Rotig, A., E. L. Appelkvist, et al. (2000). "Quinone-responsive multiple respiratory-chain dysfunction due to widespread coenzyme Q10 deficiency." Lancet 356(9227): 391-5.
- S, A. (1998). Roche-Lexikon Medizin. München, Urban & Schwarzenberg.
- Sobreira, C., M. Hirano, et al. (1997). "Mitochondrial encephalomyopathy with coenzyme Q10 deficiency." Neurology 48(5): 1238-43.
- Strauss, K. A., E. G. Puffenberger, et al. (2003). "Type I glutaric aciduria, part 1: natural history of 77 patients." Am J Med Genet C Semin Med Genet 121C(1): 38-52.
- Uziel, G., B. Garavaglia, et al. (1995). "Riboflavin-responsive glutaric aciduria type II presenting as a leukodystrophy." Pediatr Neurol 13(4): 333-5.
- Van Maldergem, L., F. Trijbels, et al. (2002). "Coenzyme Q-responsive Leigh's encephalopathy in two sisters." Ann Neurol 52(6): 750-4.
- Westover, J. B., S. I. Goodman, et al. (2003). "Pathogenic mutations in the carboxyl-terminal domain of glutaryl-CoA dehydrogenase: effects on catalytic activity and the stability of the tetramer." Mol Genet Metab 79(4): 245-56.
- Zhang, J., F. E. Frerman, et al. (2006). "Structure of electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase and electron transfer to the mitochondrial ubiquinone pool." Proc Natl Acad Sci U S A 103(44): 16212-7.

Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

ADP	Adenosindiphosphat
ANT	Adeninnukleotid-Translokase
ATP	Adenosintriphosphat
CACT	Carnitin-Acyl-Carnitin-Transferase
cDNA	komplementäre DNA
CK	Kreatinkinase (Normwert m: <180 U/l; w: <165 U/l)
CoA	Koenzym A
CoQ	Koenzym Q
CPT	Carnitin-Palmitoyl-Transferase
DIC	Dikarbonsäure-Transporter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ETF	Elektronen-Transfer-Flavoprotein
ETFDH	Elektronen-Transfer-Flavoprotein-Dehydrogenase
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FADH2	reduzierte Form des FAD
mtDNA	mitochondriale DNA
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADH	reduzierte Form des NAD
PDHC	Pyruvatdehydrogenase-Komplex
TCA	Tricarbonsäure
tRNA	Transfer-Ribonukleinsäure

Danksagung

Ich danke vor allem meiner Frau Simone und meinen Kindern für Ihre Geduld, Motivation und Unterstützung und meinen Eltern, dass Sie mir ermöglicht haben, diesen akademischen Weg zu beschreiten.

Frau Privatdozentin Dr. med. Maggie Walter danke ich für die Überlassung des Themas, die stete Unterstützung und die kritische Begleitung der Arbeit.

Meinem klinischen Lehrer Herr Prof. Dr. med. Hanns Lochmüller gebührt mein grösster Dank für die grundlegende Ausbildung, Mitbetreuung, stete Diskussion, Begleitung und Motivation auch nach seinem Weggang nach Newcastle.

Ohne Frau Dr. med. Rita Horvath und ihre fachliche Unterstützung wäre diese Arbeit nie zustande gekommen, hierfür gebührt Ihr ein sehr herzlicher Dank.

Herr Prof. Dr. med. Haluk Topaloglou und Frau Dr. med. Beril Talim, Ankara, haben mit ihrem türkischen Patientenkollektiv sehr zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Herrn Privatdozent Dr. med. B. Schoser und Herrn Prof. Dr. med. Müller-Höcker, München sei für die Erstellung der histologischen und elektronenmikroskopischen Aufnahmen gedankt, ebenso Herrn Dr. med. Klaus Gempel und Herrn Dr. med. Boris Rolinski für die Erstellung der Tandem-Massenspektrometrischen Untersuchungen.

Herrn Prof. Salvatore DiMauro, New York, sei ein besonderer Dank ausgesprochen, da er mit seinen grundlegenden Arbeiten den Anstoss zu dieser Arbeit gegeben hat.

Frau Eva Neugebauer, Frau Ira Kaus und Frau Dr. Birgit Czermin waren eine grosse Hilfe, vor allem bei der Erstellung der Endfassung der Arbeit.

Frau Prof. Dr. med. M. Dieterich möchte ich für die Möglichkeit zur Promotion und für die hervorragenden Arbeitsbedingungen am Friedrich-Baur-Institut herzlich danken.

Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden in folgenden internationalen Fachzeitschriften als Originalarbeiten veröffentlicht:

1. Horvath, R., P. Schneiderat, et al. (2006). "Coenzyme Q10 deficiency and isolated myopathy." Neurology 66(2): 253-5.
2. Gempel, K., H. Topaloglu, et al. (2007). "The myopathic form of Coenzyme Q10 deficiency is caused by mutations in the electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene." Brain 130(Pt 8): 2037-44.

Lebenslauf

Peter Klaus Schneiderat
Geb. 09.07.1976 in Schwabmünchen

Beruflicher Werdegang:

- 1996-2003:** Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 2003-2004:** Arzt im Praktikum am Friedrich-Baur-Institut an der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Universität München
- 2004-2009:** Assistenzarzt (Neurologie) am Friedrich-Baur-Institut an der Neurologischen Klinik und Poliklinik der Universität München
- 2/2007-1/2008:** Psychiatrische Weiterbildungszeit an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 2007:** Teilnehmer der Summer School of Myology, Institut de Myologie, Paris
- Seit 2009:** Projektkoordination der Muskelbank MTCC (Wissenschaftliche Leitung: Privatdozentin Dr. med. Angela Abicht) im Rahmen von Projekten des MD-NET und mitoNET

Mitgliedschaften:

- Deutsche Gesellschaft für Neurologie
- Muskeldystrophienetzwerk MD-NET
- Arbeitsgemeinschaft der in Bayern tätigen Notärzte

Stipendien:

- 1998-2003** Stipendiat der Universitätsförderung der Hanns-Seidel-Stiftung e.V., München