

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Neurologie  
des Universitätsklinikums Halle (Saale)  
(Direktor: Prof. Dr. med. S. Zierz)**

**Myohistologische mitochondriale Veränderungen  
bei Patienten mit idiopathischen Myositiden**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Paweł Tacik  
geboren am 07.10.1976 in Oleśnica (Oels), Polen

Gutachter: Professor Dr. med. Reinhard Dengler  
Professor Dr. med. Joachim Weis  
Professor Dr. med. Stephan Zierz

Eröffnungsdatum: 05.08.2010

Tag der Verteidigung: 11.03.2011

## **Referat:**

Einleitung: Mitochondriale Veränderungen wurden oft bei sporadischer Einschlusskörpermyositis (sIBM) und gelegentlich bei Dermatomyositis (DM) sowie bei Polymyositis (PM) nachgewiesen. Fragestellung: Das Ziel der Studie war eine systematische Analyse von myohistologischen mitochondrialen Veränderungen bei klinisch gut charakterisierten Patienten mit sIBM, DM und PM. Methoden: Quantitative myohistologische Untersuchung mittels Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase (COX/SDH)-Doppelfärbung, zur Identifizierung der COX-defizienten Fasern (CDF) und modifizierter Gomori-Trichrom-Färbung zum Nachweis von Fasern mit Mitochondrienakkumulation (FMA) sowie eine detaillierte Analyse klinischer Daten, einschließlich Ansprechen auf immunsuppressive Therapie, wurde bei 35 Patienten (9 sIBM, 12 PM, 14 DM) und 10 gesunden Kontrollen durchgeführt. Ergebnisse: In der Kontrollgruppe fanden sich 0,46% CDF und 0,97% FMA. Ein signifikanter Anstieg von CDF wurde in der sIBM- (Mittelwert 9,5%) und DM-Gruppe (17,5%) nachgewiesen, wobei Letztere häufig eine perifaszikuläre Verteilung aufwies. Bei PM-Patienten ließen sich zwei Untergruppen mit hohem CDF-Prozentsatz, niedriger CK-Erhöhung und schlechtem Ansprechen auf Immunsuppressiva bzw. niedrigem CDF-Prozentsatz, hoher CK-Erhöhung und gutem Ansprechen auf Immunsuppressiva differenzieren (Grenzwert von 1,18% = CDF-Mittelwert der Kontrollen + 3 Standardabweichungen). Alle DM-Patienten und keiner der sIBM-Patienten sprachen gut auf Immunsuppressiva an. Die Häufigkeit der FMA war bei der DM am höchsten und geringer bei der PM und sIBM, jedoch bei allen 3 Gruppen nicht signifikant erhöht gegenüber den Kontrollen. Schlussfolgerungen: 1) Mitochondriale Veränderungen finden sich nicht nur bei der sIBM, sondern auch bei der DM und der PM. 2) Die kombinierte COX/SDH-Färbung ist sensitiver, als die modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung in der myohistologischen Diagnostik zum Nachweis von Mitochondrien-Veränderungen. 3) Bei der PM lässt sich eine Untergruppe mit hohem Anteil der COX-defizienten Fasern, schlechtem Ansprechen auf Immunsuppressiva und geringer CK-Erhöhung von einer Gruppe mit geringem Anteil der COX-defizienten Fasern, ausgeprägter CK-Erhöhung und gutem Ansprechen auf Immunsuppressiva unterscheiden. 4) Mitochondriale Veränderungen scheinen mit schlechtem Ansprechen auf immunsuppressive Therapie im Falle einer PM und einer sIBM assoziiert zu sein. 5) Die Ursache der mitochondrialen Vermehrung bei Myositiden bleibt unklar: beschleunigte Alterung bei sIBM? perivasikuläre Ischämie bei DM? Entzündung bei PM?

Tacik P: Myohistologische mitochondriale Veränderungen bei Patienten mit idiopathischen Myositiden. Univ., Med. Fak., Diss., Seiten 1 bis 74.

## Inhaltsverzeichnis

	Seiten	
1.	Einleitung	1
1.1.	Idiopathische Myositiden	1
1.1.1.	Definition und Begriffsentwicklung	1
1.1.2.	Diagnostische Kriterien	1
1.1.3.	Antikörperdiagnostik	12
1.1.4.	Epidemiologie	14
1.1.5.	Malignität	15
1.1.6.	Ätiologie und Pathogenese	15
1.2.	Mitochondriale Störungen	17
1.2.1.	Definition und Begriffsentwicklung	17
1.2.2.	Störung der biochemischen Prozesse innerhalb der Mitochondrien	18
1.2.3.	Mitochondriales Genom	19
1.2.4.	Diagnostik von Mitochondrienerkrankungen	20
1.2.5.	Mitochondriale Veränderungen bei degenerativen Krankheiten und in Alterungsprozessen	22
1.2.6.	Mitochondriale Veränderungen bei entzündlichen Krankheiten	27
1.2.7.	Mitochondriale Veränderungen bei idiopathischen Myositiden	28
1.2.7.1.	Myohistologische mitochondriale Veränderungen	28
1.2.7.2.	Molekulargenetische mitochondriale Veränderungen	33
1.2.8.	Mitochondriale Veränderungen bei anderen Muskelkrankheiten	34
2.	Zielsetzung der Arbeit	35
3.	Patienten	36
3.1.	Daten der Kontrollen	36
3.2.	Patientendaten	36

3.2.1.	Geschlecht und Alter	36
3.2.2.	Erstsymptome	36
3.2.3.	Klinisches Bild	37
3.2.4.	Hautveränderungen	37
3.2.5.	Andere Beschwerden aus der Anamnese	38
3.2.6.	Malignität	38
3.2.7.	Kreatinkinase	39
3.2.8.	Myositis-spezifische Autoantikörper	39
3.2.9.	Myositis-assoziierte Autoantikörper	40
3.2.10.	EMG	40
3.2.11.	Lichtmikroskopische Befunde in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung	40
3.2.12.	Immunhistochemische Befunde	41
3.2.13.	Elektronenmikroskopische Befunde	41
3.2.14.	Systemische immunsuppressive Therapie	42
3.2.15.	Klassifizierung der Patienten	42
4.	Methoden	44
4.1.	Färbungen	44
4.1.1.	Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase-Doppelfärbung	44
4.1.2.	Modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung	46
4.2.	Statistik	47
4.3.	Programm für die quantitative Analyse der Muskelfasern	47
4.4.	Klassifikation der mitochondrial veränderten Muskelfasern	48
4.4.1.	Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase-Doppelfärbung	48
4.4.2.	Modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung	48
5.	Ergebnisse	49
5.1.	Patienten und Kontrollen	49

5.1.1.	Vermehrung der Fasern mit Mitochondrienakkumulation und der COX-defizienten Fasern	49
5.1.2.	Korrelation zwischen den Fasern mit Mitochondrienakkumulation und den COX-defizienten Fasern	51
5.1.3.	Korrelation zwischen der Vermehrung COX-defizienter Fasern und dem Alter	53
5.2.	Patienten mit Myositiden mit vielen und wenigen mitochondrialen Veränderungen in der COX/SDH-Doppelfärbung	54
5.2.1.	Polymyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern	54
5.2.2.	Sporadische Einschlusskörpermyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern	56
5.2.3.	Dermatomyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern	56
6.	Diskussion	57
7.	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	67
8.	Literaturverzeichnis	68
9.	Thesen	74
	Lebenslauf	
	Selbstständigkeitserklärung	
	Danksagung	

## Abkürzungsverzeichnis:

ADP	Adenosindiphosphat
AK	Antikörper
ANT1	Adenin-Nukleotid-Translokator-1
ASR	Achillessehnenreflex
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaar(e)
BMRC	British Medical Research Council
C	Complement
C5b-9	complement plasma glycoproteins C5b, C6, C7, C8, C9
CD	Cluster of Differentiation
CDF	COX-defiziente Fasern
CK	Kreatinkinase
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DM	Dermatomyositis
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EMG	Elektromyographie
fIBM	family Inclusion Body Myositis (familiäre Einschlusskörpermyositis)
FMA	Fasern mit Mitochondrienakkumulation
FSHD	Fazio-skapulo-humerale Muskeldystrophie
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transferase
GNE	UDP-N-acetylglucosamine-2-epimerase/N-acetyl- mannosamine kinase gene
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
H-E	Hämatoxylin-Eosin
hIBM	hereditary Inclusion Body Myopathy (hereditäre Einschlusskörpermyopathie)
HLA	Humanes Leukozytenantigen
IBM	Inclusion Body Myositis- Einschlusskörpermyositis
ICAM	Intrazelluläres Adhäsionsmolekül
MAC	Membranattackierender Komplex
MHC-I	Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
mtDNA	Mitochondriale Desoxyribonukleinsäure
MUAPs	Muskelaktionspotentiale motorischer Einheiten

LC3	Light Chain 3 of Microtubule-Associated Protein
LDH	Laktatdehydrogenase
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
NADH	Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid, reduzierte Form
NBT	Nitroblau Tetrazolium
NO	Nitritoxid
OPMD	Okulopharyngeale Muskeldystrophie
OXPPOS	Oxidative Phosphorylierung
PARK	familiäres Parkinson-Syndrom
PCR	Polymerase Chain Reaction
PM	Polymyositis
PMS	Phenazinmethosulphat
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
POLG	Polymerase Gamma
ROS	Reactive Oxygen Species
RRF	Ragged Red Fibres
sIBM	sporadic Inclusion Body Myositis (sporadische Einschlusskörpermyositis)
SLE	systemischer Lupus erythematodes
SPA	Spontanaktivitäten
SPG	Spastische Paraplegie
SRP	Signal Recognition Particle
tRNA	Transfer-Ribonukleinsäure
UDP	Uridin-Diphosphat
VCAM	vaskuläres Zelladhäsionsmolekül
vs.	versus
ZNS	Zentralnervensystem

## 1. EINLEITUNG

### 1.1. Idiopathische Myositiden

#### 1.1.1. Definition und Begriffsentwicklung

Idiopathische Myositiden sind eine heterogene Gruppe sporadisch auftretender, erworbener und potenziell behandelbarer entzündlicher Krankheiten der Skelettmuskulatur unklarer Ätiologie, die klinisch mit Muskelschwäche, Muskelatrophien, gelegentlich auch Muskelschmerzen und histologisch mit entzündlichen Infiltraten in der Muskulatur einhergehen.

Die wichtigsten klinischen Krankheitsformen der idiopathischen Myositiden sind die Polymyositis mit akutem Beginn, die Dermatomyositis mit subakutem Beginn und die sporadische Einschlusskörpermyositis mit schleichendem Beginn.

Der erste Fall einer idiopathischen Muskelentzündung mit rötlichem Hautausschlag im Gesicht und Oberkörper wurde 1863 vom in Dehlitz bei Halle an der Saale geborenen und in Leipzig tätigen Pathologen Ernst Leberecht Wagner beschrieben und Polymyositis benannt [1]. Ein weiterer Fall einer entzündlichen Muskelerkrankung ohne Hautbeteiligung wurde 1887 vom deutschen Mediziner Paul Hepp veröffentlicht [2]. Der aus Breslau stammende und in Jena und Dorpat tätige Arzt Heinrich Unverricht schlug in Serien mehrerer Artikel vor, den Begriff der Dermatomyositis bei einer entzündlichen Muskelerkrankung mit Hautbeteiligung und den der Polymyositis bei alleiniger Beteiligung der Muskulatur zu benutzen [3, 4]. 1965 wurde zum ersten Mal eine Myopathie mit zellulären Einschlüssen vom amerikanischen Neurologen und Neuropathologen Raymond D. Adams beschrieben [5]. Sechs Jahre später benutzten Yunis und Samaha [6] den Begriff Einschlusskörpermyositis (*inclusion body myositis*, IBM) für eine Myopathie mit klinischen Zeichen einer Polymyositis und pathologisch nachgewiesenen Vakuolen, Degenerationsprodukten mit fibrillären zytoplasmatischen und nukleären Einschlüssen.

#### 1.1.2. Diagnostische Kriterien

In den 70er Jahren erfolgte die Einteilung der **Dermatomyositis** und **Polymyositis** nach den Kriterien von Bohan und Peter [7]. Diese ermöglichen jedoch nicht die Differenzierung zwischen Polymyositis und anderen Muskelkrankheiten, wie toxische oder metabolische Myopathien oder Muskeldystrophien, wie z.B. FSHD, Dystrophinopathien, Dysferlinopathien und fassen die Einschlusskörpermyositis nicht ein [8]. Weiterhin stellen

die Hautveränderungen dabei den wichtigsten Aspekt bei der Differenzierung zwischen Dermatomyositis und Polymyositis dar. Aus diesen Gründen werden die Kriterien nach Bohan und Peter durch die meisten Myologen als veraltet betrachtet.

Heutzutage gilt die Muskelbiopsie als die wichtigste diagnostische Untersuchung bei der Diagnosestellung einer Myositis. So finden sich im Falle einer Polymyositis- einer zellulär-immunologisch bedingten Erkrankung- vorwiegend endomysiale Infiltrate, die immunhistologisch als CD8-positive T-Lymphozyten sichtbar werden, und eine MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm, auch der nicht von CD8-positiven T-Zellen angegriffenen Fasern (Abb. 1). Der Nachweis von CD8-positiven Infiltraten und einer MHC-I-Expression und der Ausschluss von Muskelerkrankungen mit sekundärer Entzündung, wie toxische, metabolische, oder dystrophische Myopathien sind fundamental bei der Diagnosestellung einer Polymyositis [9], einer Krankheitsentität, die immer noch als überdiagnostiziert gilt [10].

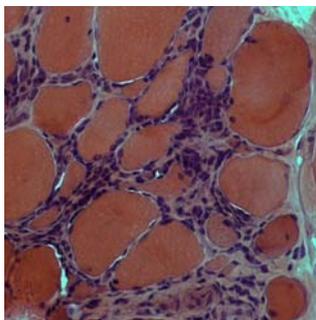


Abb. 1a

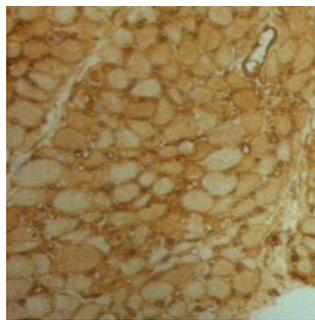


Abb. 1b

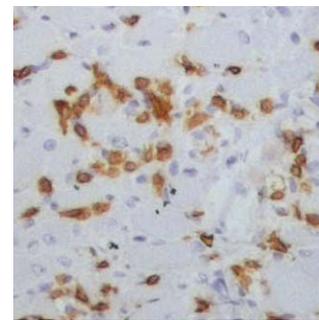


Abb. 1b

Abb. 1: Polymyositis mit (a) endomysialen Infiltraten in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung, (b) MHC-I-Expression und (c) CD8- positiven Infiltraten in den immunhistochemischen Färbungen

Da die Dermatomyositis durch eine perifaszikuläre Muskelfaseratrophie gekennzeichnet ist und eine hauptsächlich durch humoral bedingte Mechanismen vermittelte Muskelentzündung darstellt, finden sich lichtmikroskopisch vorherrschend perivaskuläre und perifaszikuläre Infiltrate (Abb. 2), die immunhistologisch überwiegend aus CD4-positiven T- Lymphozyten sowie B-Lymphozyten (CD22) bestehen.

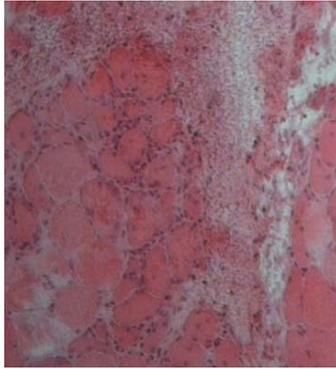


Abb. 2a

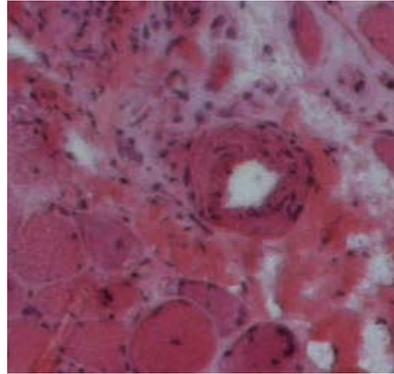


Abb. 2b

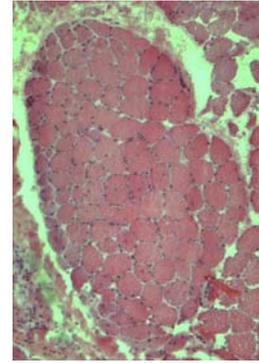


Abb. 2c

Abb. 2: Dermatomyositis mit (a) perifaszikulären und (b) perivaskulären Infiltraten sowie (c) perifaszikulärer Atrophie in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

Charakteristisch sind auch Komplement-(C5b9)-Ablagerungen (auch als MAC-membranattackierender Komplex bekannt) im Bereich der kleinen Arteriolen und Kapillaren, die zu einer intramuskulären Mikroangiopathie führen [9, 11] (Abb. 3).

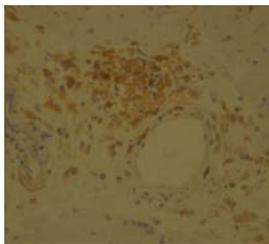


Abb. 3a



Abb. 3b

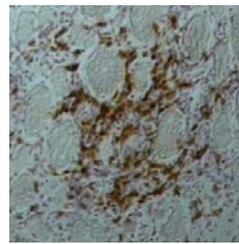


Abb. 3c

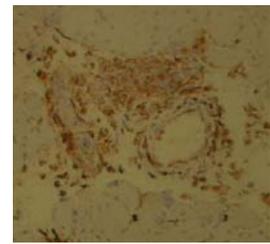


Abb. 3d

Abb. 3: Dermatomyositis mit (a) CD4-positiven Infiltraten, (b) positiver Expression der Komplement-(C5b9)-Ablagerungen im Bereich einer Arteriole, (c) CD22-positiven Infiltraten und (d) CD68-positiven Infiltraten (Monozyten) in den immunhistochemischen Färbungen.

Diese Überlegungen bilden einen wichtigen Teil der zwei neuen diagnostischen Kriterien einer Dermatomyositis und Polymyositis, die von **Dalakas** und Mitarbeitern [8] (Tab. 1) und **Mastaglia** und Mitarbeitern [12] (Tab. 2 und 3) erarbeitet wurden.

Tab. 1: Kriterien einer Polymyositis und Dermatomyositis nach Dalakas und Mitarbeitern [8]

Kriterium	Polymyositis		Myopathische Dermatomyositis		Amyopathische Dermatomyositis
	Sichere	Wahrscheinliche	Sichere	Wahrscheinliche	Sichere
Myopathische Muskelschwäche <sup>1</sup>	ja	ja	ja	ja	nein
EMG	myopathisch	myopathisch	myopathisch	myopathisch	myopathisch oder unspezifisch
CK	erhöht (bis 50fach)	erhöht (bis 50fach)	erhöht (bis 50fach) oder normal	erhöht	erhöht (bis 10fach) oder normal
Myohistologie	Primäre Entzündung mit CD8/MHC-I-Komplexen und ohne Vakuolen <sup>2</sup>	MHC-I Expression aber ohne CD8-positive Infiltrate oder Vakuolen	perifaszikuläre, perimysiale oder perivaskuläre Infiltrate; perifaszikuläre Atrophie	perifaszikuläre, perimysiale oder perivaskuläre Infiltrate; perifaszikuläre Atrophie	nicht spezifisch (subklinische Myopathie)
Hautveränderungen oder Verkalkungen	nein	nein	ja	nicht erkennbar	ja

<sup>1</sup> Myopathische Muskelschwäche betrifft mehr proximale, als distale Muskelgruppen; die Augen- und mimischen Muskeln bleiben dabei verschont. Der Beginn der Schwäche ist subakut (Wochen bis Monate) und die Progression schnell. Die Schwäche bezieht sich auf Patienten mit negativer Familienanamnese hinsichtlich neuromuskulärer Erkrankungen und mit negativer Anamnese hinsichtlich endokriner, neurogener, viraler und metabolischer Erkrankungen oder der Exposition gegenüber Toxinen oder Medikamenten (vor allem D-Penicillamin, Zidovudin, Statinen).

<sup>2</sup> Primäre Entzündung, die vor allem aus CD8-positiven T-Lymphozyten und MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm besteht und keine *rinded*-Vakuolen (*rinded vacuoles*- im Querschnitt unregelmäßig runde Vakuolen begrenzt durch einen in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung basophil angefärbten Ring) enthält.

Tab. 2: Kriterien einer Dermatomyositis nach Mastaglia und Mitarbeitern [12]

Kriterium		Dermatomyositis			
		Sicher	Wahrscheinlich	Möglich	Amyopathisch
Klinische Zeichen und Verlauf	Subakuter Beginn von Kinder- bis Erwachsenenalter	ja	ja	ja	nein
	Hautveränderungen oder/und Verkalkungen	ja	wenig ausgeprägte oder atypische Hautveränderungen	ja	ja
	Diffuse proximal betonte Muskelschwäche	ja	ja	ja	nein
	Gelegentlich systemische Beschwerden (Dysphagie, interstitielle Lungenerkrankung)	ja	ja	ja	nein
Zusatzuntersuchungen	Erhöhte CK und andere Muskelenzyme	*	ja		nein
	EMG mit kleinen MUAPs und manchmal mit SPA	*	ja	ja	nein
Myohistologischer Befund mit:		ja	ja	normal oder nicht spezifisch	normal
	- myofibrillärer Nekrose und Regeneration - Mikroinfarkten - perifaszikulärer Atrophie - perivaskulären und perimysialen mononukleären Infiltraten (vor allem B- und CD4-pos.T Lymphozyten) - Ablagerungen von IgG und MAC - MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm				

\* es kann vorkommen, ist aber nicht zwingend notwendig.

Tab. 3: Kriterien einer Polymyositis nach Mastaglia und Mitarbeitern [12]

Kriterium		Polymyositis			
		Sicher	Wahrscheinlich	Möglich	
Klinische Zeichen und Verlauf	Subakuter Beginn am häufigsten im Erwachsenenalter	ja	ja	nein (atypischer Verlauf)	ja
	Diffuse proximal betonte Muskelschwäche	ja	ja	nein (atypische Klinik)	ja
	Gelegentlich systemische Beschwerden (Dysphagie, interstitielle Lungenerkrankung)	ja	ja		ja
Zusatzuntersuchungen	Erhöhte CK und andere Muskelenzyme	*	ja	ja	ja
	EMG mit kleinen MUAPs und manchmal mit SPA	*	ja	ja	ja
Myohistologischer Befund mit:		ja	atypisch (z.B. mit geringen entzündlichen Infiltrate)	ja	atypisch
	- myofibrillärer Nekrose und Regeneration - mononukleären Infiltraten nicht nekrotisierender Fasern (CD8-T Lymphozyten und Makrophagen) - endomysialen mononukleären Infiltraten (CD8-T Lymphozyten) - MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm				

\* es kann vorkommen, ist aber nicht zwingend notwendig.

Die Kriterien nach Mastaglia und Mitarbeitern einer Poly- und Dermatomyositis lassen auch das Vorkommen von Begleiterkrankungen (z.B. Overlap-Syndrome (=Überlappungssyndrome): Sklerodermie, SLE, außerdem vor allem im Falle einer Dermatomyositis Tumore und ganz selten HIV, Sarkoidose, Toxoplasmose) zu.

Die Kriterien nach Mastaglia und Mitarbeitern sowie diese nach Dalakas und Mitarbeitern sind zwar moderner als die Kriterien nach Bohan und Peter, aber auch nicht unumstritten. Antikörperbefunde finden z.B. dabei keine Berücksichtigung.

Im Falle der Kriterien nach Dalakas und Mitarbeitern gilt eine über 50fache Erhöhung der Kreatinkinase als Ausschlußkriterium einer Polymyositis, während auch noch höhere Werte bei Patienten mit idiopathischen Myositiden beschrieben wurden [13]. Obwohl myopathische EMG-Veränderung fast immer bei Polymyositis und Dermatomyositis nachweisbar sind, kann auch selten ein neurogenes Muster oder ein Normalbefund vorkommen [14]. Die histologische Präsenz der Vakuolen gilt als Ausschlusskriterium, während andere Autoren auch zwar selten Vakuolen im Falle einer Polymyositis oder Dermatomyositis gefunden haben [15, 16].

Die Kriterien nach Mastaglia sind einerseits nicht so streng, wie diese nach Dalakas, andererseits sind sie nicht so präzise bei der Klassifizierung der Myositiden und lassen dadurch Raum zu unterschiedlichen Interpretationen.

Obwohl die neuen Kriterien einer Poly- und Dermatomyositis besser, als die alten die beiden Entitäten definieren, ist ihre Spezifität noch nicht untersucht worden [17]. Aus diesen Gründen definieren viele Autoren selbst für Studienzwecke, was sie unter dem Begriff Einschlusskörpermyositis und vor allem Polymyositis und Dermatomyositis verstehen [18, 19, 20].

Hautveränderungen zeigen sich im Falle einer Dermatomyositis klassischerweise als heliotrope (=hellviolette) Erytheme, oft verbunden mit ödematöser Schwellung der oberen Gesichtshälfte, besonders der Augenlider, Poikilodermie (Atrophie, Teleangiektasien und Pigmentverschiebungen), Shawl-Zeichen (rot-violettes, gelegentlich juckendes Erythem an Hals, Schultern und Halsausschnitt, oft verbunden mit ödematöser Schwellung), hellviolettes Erythem an den Streckseiten der Extremitätengelenke, Gottron-Zeichen (schuppige und rötliche Knötchen über den Fingergelenken), Keinig-Zeichen (Teleangiektasien, kleine Blutungen und fokale Hautatrophie an den Nagelwällen) (Abb. 4), Raynaud-Phänomen (Durchblutungsstörung der Finger- oder Zehenarterien), Photosensibilität, Vitiligo, Ulzerationen. Die Hautveränderungen können jedoch auch nicht typisch sein.

Bei klinisch nicht eindeutigen Hautveränderungen wird aus dermatologischer Sicht eine Hautbiopsie angeraten. Diese soll typischerweise eine Atrophie der Epidermis mit verdickter Basalmembran, Degeneration der Keratinozyten der Basalzellschicht mit fokaler Vakuolenbildung (hervorgerufen durch eine lymphozytäre Entzündungsreaktion),

Muzinablagerung im oberen Korium und geringe perivaskulär betonte Infiltrate zeigen. In der Kapillarmikroskopie kommen Mega- und Büschelkapillaren, verlängerte und torquierte Kapillaren, eventuell mit Blutungen, zur Darstellung.



Abb. 4a



Abb. 4b

Abb. 4: Typische Hautveränderungen bei Patientin mit Dermatomyositis mit (a) lividen Erythemen im Gesicht, Shawl-, (b) Gottron- und Keinig-Zeichen

Das Vorhandensein der Dermatomyositis ohne Muskelentzündung (amyopathische Dermatomyositis oder „*dermatomyositis sine myositis*“) wird vor allem durch die Dermatologen postuliert. [21]. Sie soll bei ca. 11% der Patienten mit Dermatomyositis vorkommen. Die Myositis kann jedoch zu einem späteren Zeitpunkt im Krankheitsverlauf auftreten. Weiterhin wird auch die Diagnose einer „*dermatomyositis sine dermatitis*“ gestellt. Sie betrifft die Patienten ohne Hautbeteiligung, oder jene bei denen die Hautbeteiligung schwer zu erkennen ist, wie z.B. bei der schwarzen Bevölkerung [22].

Das klinische Bild einer sporadischen **Einschlusskörpermyositis** zeichnet sich durch Muskelatrophien und -schwäche, die sowohl proximal als auch distal, symmetrisch und asymmetrisch vorkommen können (Abb. 5), abgeschwächte oder fehlende Muskeleigenenreflexe, Myalgien aus. Laborchemisch ist keine oder nur eine geringe Erhöhung skelettmuskeltypischer Enzyme im Serum (CK, LDH, GOT, GPT, Aldolase) nachzuweisen.



Abb. 5: 73-jähriger Patient mit einer asymmetrischen linksbetonten distalen Atrophie der oberen Extremitäten im Rahmen einer sporadischen Einschlusskörpermyositis

Lichtmikroskopisch und immunhistochemisch lassen sich endomysiale Infiltrate mit CD8-positiven T-Lymphozyten und die MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm nachweisen (Abb. 6).

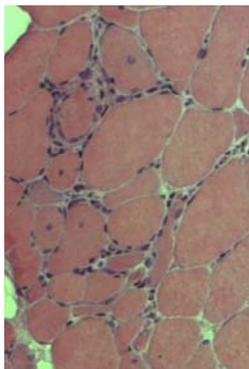


Abb. 6a

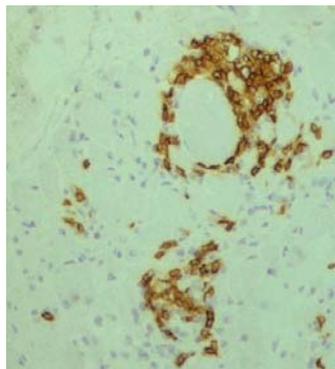


Abb. 6b

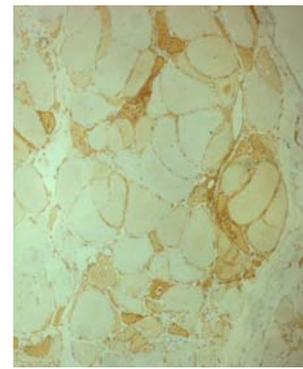


Abb. 6c

Abb. 6: Einschlusskörpermyositis mit (a) endomysialen Infiltraten in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung, (b) CD8-positiven Infiltraten und (c) MHC-I-Expression in den immunhistochemischen Färbungen

Lichtmikroskopisch werden im Falle einer Einschlusskörpermyositis die *rimmed*-Vakuolen gefunden (Abb. 7).

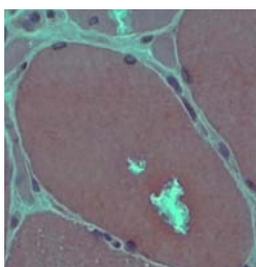


Abb. 7: *rimmed*-Vakuolen in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung

In der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung werden Amyloid-Ablagerungen nachgewiesen (Abb. 8).

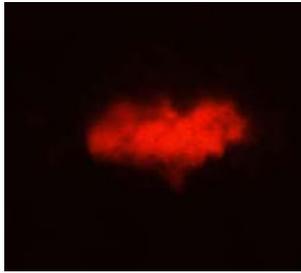


Abb. 8a

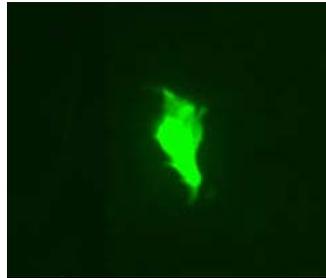


Abb. 8b

Abb. 8: Einschlusskörpermyositis mit Amyloid-Ablagerungen (a) in der Kongorot- und (b) in der Thioflavin S-Färbung

Elektronenmikroskopische Veränderungen zeigen sich in Form von geordneten 15- 21nm dicken filamentösen Einschlüssen, typischerweise in den Kernen, aber auch im Zytoplasma, autophagischen Vakuolen sowie abnormen Mitochondrien (Abb. 9).



Abb. 9a

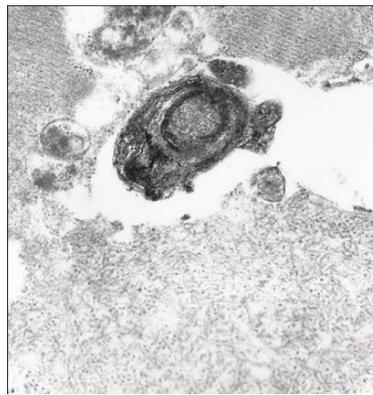


Abb. 9b



Abb. 9c

Abb. 9: Elektronenmikroskopischer Nachweis von (a) 10-20 nm dicken filamentösen Einschlüssen, (b) Degenerationsprodukten und (c) abnormen Mitochondrien

Aufgrund des heterogenen Krankheitsbildes und des unspezifischen laborchemischen Befundes ist eine Diagnosestellung ohne Zusatzuntersuchungen, vor allem ohne Muskelbiopsie nicht möglich. **Griggs** und Mitarbeiter [23] führten 1995 Diagnosekriterien einer sporadischen Einschlusskörpermyositis ein (Tab. 4), die bis heute als die verbreitetsten Kriterien gelten.

Tab. 4: Kriterien einer sporadischen Einschlusskörpermyositis nach Griggs und Mitarbeitern [23]

Kriterium		Einschlusskörpermyositis	
		Sicher	Wahrscheinlich
Klinische Zeichen und Verlauf	Dauer der Erkrankung über 6 Monate	*	ja
	Beginn im Alter von über 30 Jahren	*	ja
	Proximale und distale Muskelschwäche der Arme und Beine mit einem der folgenden Merkmale: Schwäche der Fingerbeuger, ausgeprägtere Schwäche der Handgelenkbeuger im Vergleich zur Schwäche der Handgelenkstrecker, Schwäche des M. quadriceps femoris vom Kraftgrad < 4 nach BMRC (British Medical Research Council).	*	ja
Zusatzuntersuchungen	Bis 12fache Erhöhung der Kreatinkinase	*	ja
	EMG mit myogenen oder gemischten neurogen-myogenen Veränderungen	*	ja
Myohistologie	Entzündliche mononukleäre Infiltrate nicht-nekrotischer Muskelfasern	ja	ja
	<i>rimmed</i> -Vakuolen	ja	nein
	15- 18 nm dicke filamentöse Einsschlüsse in der Elektronenmikroskopie oder intrazelluläre Amyloid-Ablagerungen in der Kongorot-Färbung oder Nachweis von Ubiquitin in den Vakuolen oder positive Antikörper gegen SMI-31	ja	nein

\* es kann vorkommen, ist aber nicht zwingend notwendig.

Auch Mastaglia und Mitarbeiter haben ihre eigenen Kriterien einer sporadischen Einschlusskörpermyositis eingeführt [12], die sich jedoch nur in Details zu denen nach Griggs und Mitarbeitern unterscheiden (Tab. 5).

Tab. 5: Kriterien einer sporadischen Einschlusskörpermyositis nach Mastaglia und Mitarbeitern [12]

Kriterium		Einschlusskörpermyositis			
		Sicher		Wahrscheinlich	Möglich
Klinische Zeichen und Verlauf	Dauer der Erkrankung über 6 Monate	ja	nein (atypischer Verlauf)	ja	
	Beginn im Alter von über 30 Jahren	ja		ja	
	Langsame Progression der Schwäche und Atrophie; häufig selektives Muster mit frühem Befallen der Fingerbeuger und des M. quadriceps femoris, auch asymmetrisch	ja	nein (atypische Klinik)	ja	atypisches Muster der Schwäche
	Häufig Dysphagie	ja		ja	
Zusatzuntersuchungen	Milde CK-Erhöhung oder normal	*	*	ja	
	Myopathisches oder gemischtes EMG	*	*	ja	
Myohistologischer Befund mit:		ja	ja	nur teilweise erfüllt (z.B. nur entzündliche Infiltrate)	nur teilweise erfüllt
	- myofibrillärer Nekrose und Regeneration - mononukleären Infiltraten nicht nekrotisierender Fasern: CD8-positiven T-Lymphozyten - <i>rimmed</i> -Vakuolen - Vermehrung COX-negativer Fasern - intrazellulären Amyloid-Ablagerungen und Nachweis von Ubiquitin - nukleären oder zytoplasmatischen 15- 18 nm dicken filamentösen Einschlüssen - MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm				

\* es kann vorkommen, ist aber nicht zwingend notwendig.

Die bei der Einschlusskörpermyositis nachweisbaren *rimmed*-Vakuolen wurden auch bei anderen neuromuskulären Erkrankungen, wie z. B. okulopharyngealer Muskeldystrophie (OPMD) [24], fazioskapulohumeraler Muskeldystrophie (FSHD) [25] und auch selten Dermatomyositis [15] und Polymyositis [16] gefunden.

Ein weiteres diagnostisches myohistologisches Merkmal der Einschlusskörpermyositis sind Amyloid-Ablagerungen in der Kongo-rot-Färbung. Diese können jedoch auch bei anderen Muskelkrankheiten gefunden werden, wie z.B. bei Muskeldystrophien, myofibrillären Myopathien, systemischer Amyloidose mit Manifestation in den Muskeln [26, 27] und sehr viel seltener auch bei Polymyositis [18]. Weiterhin werden die typischen für die Einschlusskörpermyositis positiven Antikörper gegen SMI-31 auch bei Patienten mit Polymyositis identifiziert [18]. Ein weiteres Charakteristikum der Einschlusskörpermyositis sind elektronenmikroskopisch nachweisbare filamentöse Einschlüsse. Obwohl diese sich auch bei OPMD [28] finden lassen, sehen sie anders als die bei Einschlusskörpermyositis aus. Bei der OPMD sind die Einschlüsse dünner (8,5nm Durchmesser) und kommen nicht so geordnet wie die bei der Einschlusskörpermyositis zur Darstellung. Eine differentialdiagnostische Herausforderung in Bezug auf die elektronenmikroskopische

Untersuchung kann jedoch eine seltene Gruppe hereditärer Muskelerkrankungen- die myofibrillären Myopathien stellen, wie Desminopathie, Filaminopathie oder Myotilinopathie. Diese weisen nicht nur die *rimmed*-Vakuolen, sondern auch filamentöse Einschlüsse in der Elektronenmikroskopie und Amyloid-Ablagerungen in der Kongo-rot-Färbung auf. Bei den Myotilinopathien werden sogar die 15-18nm dicken filamentösen Einschlüsse gefunden, die man von denen bei der Einschlusskörpermyositis nicht unterscheiden kann [29]. Die abnormale ektopische Expression von Desmin oder Myotilin kann jedoch hilfreich bei der Differenzierung dieser Erkrankungen von der Einschlusskörpermyositis sein. Außerdem weisen häufig die myofibrillären Myopathien in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung auch große amorphe Hyalinstrukturen auf [30]. Im Falle von Myositiden lassen sich die 15-18nm dicken filamentösen Einschlüsse elektronenmikroskopisch bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis finden und fehlen bei denen mit Polymyositis oder Dermatomyositis [31].

Neben den oben genannten erworbenen oder sporadischen Fällen (s-IBM) gibt es auch eine familiäre Einschlusskörpermyositis (f-IBM), die Geschwistern vorkommt, sowie eine hereditäre Einschlusskörpermyopathie (h-IBM) [9, 32]. Letztere ist eine heterogene Gruppe autosomal rezessiver, seltener autosomal dominanter Syndrome mit fehlenden entzündlichen Veränderungen in der Muskelbiopsie. Eine Unterform ist die Quadrizepsmuskeln-aussparende und im Erwachsenenalter (2- 3. Lebensdekade) beginnende hereditäre Einschlusskörpermyopathie (h-IBM2). Diese Erkrankung ist an das Chromosom 9p1 gekoppelt und tritt als Folge von ca. 20 Mutationen im GNE-Gen auf, das für die UDP-N-Acetylglucosamin 2-Epimerase/N-Acetylmannosamin Kinase kodiert. Eine allelische Form (unterschiedlicher Defekt in demselben Gen) der h-IBM2 wird als distale Myopathie Typ Nonaka [33] genannt. Molekulargenetisch konnten bislang auch Mutationen im Gen für Myosinschwerketten IIa als ursächlich für die h-IBM3 identifiziert werden [34].

### 1.1.3. Antikörperdiagnostik

Bei ca. 60% der Patienten mit Poly- und Dermatomyositis können Autoantikörper nachgewiesen werden [35]. Diese werden in zwei Gruppen eingeteilt: Myositis-spezifische Antikörper und Myositis-assoziierte Antikörper.

Die **Myositis-spezifischen Antikörper** werden in 3 Untergruppen gegliedert:

1) Antikörper gegen Aminoacyl-tRNA-Synthetasen (ASR), die die Bindung jeder Aminosäure an ihre tRNA katalysieren, z.B. anti-Jo-1 (Histidyl-tRNA-Synthetase, der häufigste Antikörper, in 20-30% der Myositis-Fälle), anti-PL-7 (Threonyl-tRNA-Synthetase), anti-PL-12 (Alanyl-tRNA-Synthetase), anti-EJ (Isoleucyl-tRNA-Synthetase), anti-OJ (Glycyl-tRNA-Synthetase), anti-SC (Lysyl-tRNA-Synthetase), anti-KS, anti-Zo, anti-YRS.

Diese Antikörper charakterisieren eine Krankheitsgruppe, das sog. Anti-Synthetase-Syndrom mit der häufigsten Form, dem Anti-Jo-Syndrom. Es kommt vorwiegend bei Frauen im mittleren Alter vor und neben einer Myositis (sowohl in Form einer Polymyositis als auch Dermatomyositis [36]) lässt sich eine Lungenbeteiligung (ca. 80%), am häufigsten in Form einer interstitiellen Pneumonie, aber auch einer Lungenfibrose oder einer Bronchiolitis obliterans, nachweisen. Andere Symptome sind Polyarthrit, Raynaud-Phänomen, Mechanikerhände.

Therapeutisch stellt das Jo-1-Syndrom eine Herausforderung dar [35, 37]. Aufgrund des insgesamt unterschiedlichen Ansprechens der Patienten erfordert dieses Krankheitsbild oft eine sehr individuelle Kombination verschiedener immunsuppressiver Medikamente.

2) Antikörper gegen ein zytoplasmatisches Ribonukleoproteinkomplex-Signalerkennungspartikel (*signal recognition particle*, SRP), das aus sechs Proteinen und einem t-RNA-Molekül besteht und ein frisch synthetisiertes Protein ins endoplasmatische Retikulum begleitet [38], kommen in ca. 4% der Myositis-Fälle vor, vor allem bei der Polymyositis (80%), aber auch viel seltener bei der Dermatomyositis. Sie bilden eine Krankheitsgruppe mit akutem Beginn, das sog. Anti-SRP-Syndrom, das vor allem aus therapieresistenter, teils nekrotisierender Myositis und auch aus Herzbeteiligung, interstitieller Lungenerkrankung, Raynaud-Phänomen, Arthritis und Dermatitis besteht.

3) Antikörper gegen Mi-2 (anti-Mi-2), die gegen ein näheres unbekanntes nukleäres Protein gerichtet sind und das sog. Anti-Mi-2-Syndrom verursachen können. Sie werden vor allem bei der Dermatomyositis (30%) und viel seltener bei der Polymyositis (0- 10%) gefunden. Die Patienten mit dem sog. Anti-Mi-2-Syndrom weisen neben Myositis, auch Raynaud-Phänomen, Arthritis, fibrosierende Alveolitis auf, sprechen gut auf Steroidtherapie an und haben eine gute Prognose [39].

Die **Myositis-assoziierten Antikörper** sind unspezifisch für Myositis und werden auch im Falle von Overlap-Syndromen (Überlappungssyndrome), d.h. Kollagenosen, die neben Beteiligung von Herz, Niere, Haut oder ZNS auch entzündliche Myopathien aufweisen, gefunden, wie z. B. bei Sklerodermie, systemischem Lupus erythematodes, systemischer Sklerose und Mischkollagenose. Die häufigsten sind antinukleäre Antikörper (ANA), gefolgt von anti-Ro, anti-PM-Scl, anti-U1-RNP, anti-KU [35].

Die anti-Mi-2-Antikörper und die Myositis-assoziierten Antikörper gehören zu nukleären Antikörpern, während der Rest zytoplasmatische Antikörper darstellt.

#### 1.1.4. Epidemiologie

Idiopathische Myositiden sind seltene Erkrankungen. Bei der Dermatomyositis und Polymyositis wird die Inzidenz auf 4 bis 10 Fälle auf 1 Million pro Jahr geschätzt, wobei die weiße Bevölkerung seltener als die schwarze betroffen sein soll. Die unterschiedlichen Angaben zur Inzidenz liegen daran, welche Kriterien herangezogen werden. Sie widerspiegeln auch geographische Unterschiede (größere Inzidenz und Prävalenz in Südeuropa vs. Nordeuropa) [22, 40, 41].

Die Dermatomyositis kommt sowohl bei Kindern, als auch bei Erwachsenen vor, wobei Frauen häufiger als Männer im Verhältnis von 2:1 erkranken [41]. Die Polymyositis betrifft gleich beide Geschlechter, tritt normalerweise in der dritten Lebensdekade und nur ganz selten im Kindesalter auf.

Die Einschlusskörpermyositis ist eine ebenso seltene Erkrankung mit einer Inzidenz von 2,2 bis 4,9 Fälle auf Million pro Jahr [42, 43], wobei sie nach dem 50. Lebensjahr die häufigste erworbene Myopathie darstellt (allgemeine Prävalenz von 14,9 Fälle pro eine Million, Prävalenz nach dem 50. Lebensjahr von 51,3 Fällen pro eine Million) [44].

Die Einschlusskörpermyositis kommt häufiger bei Männern als Frauen (1,5: 1) vor und betrifft öfter die weiße, als die schwarze Bevölkerung [44].

### 1.1.5. Malignität

Es gibt einen klaren Zusammenhang zwischen der Dermatomyositis und Malignomen. Für die Polymyositis hingegen ist ein solcher Zusammenhang nicht unumstritten. Die erste Beobachtung diesbezüglich wurde bereits 1916 vom Breslauer Nervenarzt und Schwiegersohn Alois Alzheimers- Georg Stertz gemacht, der einen Patienten mit proximaler Muskelschwäche, Veränderungen an den Augenlidern, histologischen Hinweisen einer Myositis und einem Magenkarzinom beschrieb [45].

Das Risiko des Auftretens eines malignen Tumors im Falle einer Dermatomyositis wird auf 8- 30% geschätzt. Die häufigsten Tumorentitäten sind Ovar, Mamma, Lunge, Pankreas, Magen, Kolon, Rektum, non-Hodgkin-Lymphom, Uterus, Niere, Gallenblase, Nasopharynx und Prostata, wobei sich geographische, Geschlechts- und Altersunterschiede zeigen [46, 47]. Der Zusammenhang zwischen Polymyositis und Tumoren ist nicht klar. Laut manchen Autoren [46] sollen die Tumore im Falle einer Polymyositis seltener (ca. 15% der Fälle) vorkommen. Es handelt sich vorwiegend um Non-Hodgkin-Lymphom, Karzinome in Lunge und Blase [46].

Das Malignom kann vor, parallel zu, oder nach der Diagnosestellung einer Myositis entdeckt werden, wobei in ca. 60% der Fälle der Tumor nach Myositis-Beginn diagnostiziert wird. Das Risiko eines Tumors ist bis zu 5 Jahren nach der Diagnosestellung einer Dermatomyositis erhöht [46]. Je älter der Patient ist, umso wahrscheinlicher ist die Kombination einer Dermatomyositis mit einem paraneoplastischen Prozess. Normalerweise sprechen die Patienten mit paraneoplastischer Myositis schlechter auf die immunsuppressive Therapie an [46].

### 1.1.6. Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiologie und die Pathogenese der idiopathischen Myositis sind nicht bekannt. Möglicherweise spielen dabei genetische, hormonale und umweltbedingte Faktoren eine Rolle. Der häufigste diskutierte **Umweltfaktor** ist eine virale Infektion (vor allem Coxsackieviren und Retroviren), die eine Myositis triggern soll. Die Isolation eines viralen Erregers ist jedoch bis jetzt nicht gelungen [48].

Für **hormonale Faktoren** sollen die unterschiedliche Prävalenz und Inzidenz bei Frauen und Männern sprechen, was auf die Rolle von Geschlechtshormonen hindeuten soll.

**Genetische Faktoren** werden ebenso diskutiert. Genetisch prädisponierte Personen können an einer durch einen viralen Infekt oder Lichtexposition getriggerten Myositis erkranken. Auch die Untersuchung des HLA-Systems unterstützt die Beteiligung der genetischen Faktoren, denn die HLA-Typen HLA DRB1 0301 und HLA DQA1 0501 kommen oft bei Patienten kaukasischer Herkunft mit Polymyositis und Dermatomyositis vor [48].

Die histologische und immunhistochemische Analyse, sowie das Antikörperprofil sprechen wiederum für **immunologische Faktoren** in der Pathogenese der Myositiden. Zu den Merkmalen einer Myositis zählen inflammatorische Infiltrate als Folge einer Beteiligung aktivierter Lymphozyten mit Zeichen einer Muskelfaserschädigung, -atrophie, -degeneration und -regeneration [49]. Die drei Formen der idiopathischen Myositiden haben einen unterschiedlichen Anteil von Lymphozyten in verschiedener Lokalisation.

Im Falle einer Dermatomyositis aktiviert ein unbekannter Faktor (Viren?, Tumore?) das Komplementsystem, was über die Bildung von C3 zur Aktivierung des membranattackierenden Komplexes (MAC= Proteine des Komplements C5b-9) führt, ein entscheidender Triggerfaktor für die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Chemokine, für die Expression vaskulärer Zelladhäsionsmoleküle (VCAM) und intrazellulärer Adhäsionsmoleküle (ICAM) in Endothelialzellen und schließlich für die perimysiale und endomysiale Migration aktivierter Lymphozyten und Makrophagen. Das führt zu einer Kapillarnekrone und als Folge dessen zu perivaskulärer Entzündung und Ischämien mit Destruktion von Muskelfasern. So werden im Falle einer Dermatomyositis überwiegend CD4-positiven T-Lymphozyten und B-Lymphozyten, dendritische Zellen, sowie Makrophagen gefunden, was mit humoralen Immunreaktionen verbunden ist. Diese humoralen Immunreaktionen sind Komplement-vermittelt und gegen das Endothel der endomysialen Kapillaren gerichtet. Eine lymphozytäre Invasion in nicht nekrotische Muskelfasern ist selten [50].

Auch im Falle einer Polymyositis und einer Einschlusskörpermyositis wird ein bis jetzt nicht näher bekannter Faktor (Infektion?) vermutet, der zur Stimulation von CD8-positiven T-Lymphozyten führt. Diese setzen, nachdem sie die Endothelbarriere überschritten haben, zwei Enzyme frei: Perforin und Granzym, die direkt gegen die Oberfläche von MHC-I-exprimierenden Muskelfasern gerichtet sind, was zu einer Myonekrose führt. Der Prozess wird durch Metalloproteinasen vereinfacht, indem diese die Migration von T-Zellen und ihre Anheftung an die Muskeloberfläche fördern [50].

So handelt es sich im Falle einer Polymyositis und einer Einschlusskörpermyositis um einen zytotoxischen, durch CD8-positive T-Lymphozyten- vermittelten Mechanismus, dessen Ziel initial gesunde, nicht nekrotische Muskelfasern mit überwiegender MHC-I-Expression sind. Außerdem gibt es im Falle einer Einschlusskörpermyositis pathogenetische Verbindungen zu neurodegenerativen Erkrankungen, vor allem zu Morbus Alzheimer, aber auch zu Morbus Parkinson oder Prionerkrankungen. Im Muskel der Patienten mit Einschlusskörpermyositis wird eine Vielzahl von Proteinen wie  $\beta$ -Amyloid,  $\alpha$ 1-Antichymotrypsin, Apolipoprotein E,  $\tau$ -Protein, Ubiquitin sowie Prionprotein gefunden, deren Anhäufung vorher nur in neuronalem Gewebe bei Morbus Alzheimer und Prionerkrankungen beobachtet wurde [51]. Dies spricht für einen zusätzlichen degenerativen Prozess bei der Entstehung der Einschlusskörpermyositis, wobei unklar ist, ob diese Ablagerungen direkt zur Pathogenese der Erkrankung gehören, oder eine Folge des immunologischen Prozesses darstellen. Ein anderer, bis jetzt noch nicht vollständig geklärter Faktor in der Pathogenese der Myositiden ist die Präsenz mitochondrialer Veränderungen. Die ersten Beobachtungen über vermehrte bzw. veränderte Mitochondrien bei Myositiden wurden anhand von elektronenmikroskopischen Untersuchungen bereits in den 1960er Jahren gemacht [52, 53]. Erst in den 1970er Jahren wurden mit Hilfe der 10 Jahre zuvor beschrieben und modifizierten Trichrom-Färbung nach Gomori [54, 55] myohistologische mitochondriale Veränderungen im Sinne von *ragged-red-fibers* (RRF= rote zerrissene Fasern) bei Myositiden gefunden [56].

## **1.2. Mitochondriale Störungen**

### **1.2.1. Definition und Begriffsentwicklung**

**Mitochondrien** sind von einer Doppelmembran umschlossene, intrazelluläre Organellen von etwa 2  $\mu$ m Länge, die in wechselnder Anzahl in allen eukaryotischen Zellen, außer den Erythrozyten, vorkommen und deren Hauptziel Energiegewinnung ist.

Mitochondrien wurden erstmals vom Schweizer Anatomen und Physiologen Albert von Kölliker 1857 in Muskelzellen beschrieben und „Granulae“ genannt [57]. Erst 1897 wurde der Begriff "Mitochondrien" durch den deutschen Anatomen Carl Benda eingeführt, der interessante Beobachtungen über die Form und Distribution der mittels Kristallviolett und Alzarin angefärbten Mitochondrien machte [58].

Mitochondrien als Ursache einer Krankheit wurden bereits 1959 durch Ernster und Mitarbeiter [59] und 1962 durch Luft und Mitarbeiter [60] in Erwägung gezogen. Sie beschrieben eine 35-jährige Frau mit Myopathie bei nicht-thyreoidalem Hypermetabolismus,

bei der sich biochemisch eine Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung und elektronenmikroskopisch abnorme Mitochondrien zeigten. Der Begriff mitochondriale Enzephalomyopathie wurde 1977 von Shapira und Mitarbeitern [61] für eine Gruppe von Erkrankungen infolge von Defekten in der oxidativen Phosphorylierung (OXPHOS) eingeführt, die sich durch strukturell oder funktionell alterierte Mitochondrien in Gehirn oder Muskulatur auszeichnen und klassisch verschiedene zerebrale und myopathische Symptome bieten. Die ersten pathogenen Mutationen der mitochondrialen DNA wurde durch Holt und Mitarbeiter [62] sowie Wallace und Mitarbeiter [63] 1988 beschrieben.

### 1.2.2. Störung der biochemischen Prozesse innerhalb der Mitochondrien

Mitochondrien bestehen aus einer glatten äußeren und einer stark gefalteten inneren Doppelmembran. Innerhalb der Mitochondrien finden unterschiedliche biochemische Prozesse statt, die vor allem an der Energiegewinnung beteiligt sind. Diese umfassen:

a) Defekte der Atmungskettenphosphorylierung (auch als oxidative Phosphorylierung bezeichnet, Abkürzung: OXPHOS)

Die Energiebereitstellung einer Zelle vollzieht sich innerhalb der Mitochondrien durch den Elektronentransfer entlang der Atmungskette mit der oxidativen Phosphorylierung von ADP zu ATP als Ziel. Das Prinzip der oxidativen Phosphorylierung besteht in einem schrittweisen Transport von Wasserstoff und Elektronen über die Enzymkomplexe I - V der Atmungskette mit Bildung eines Protonengradienten, der für die Synthese von ATP aus ADP und organischem Phosphat verwendet wird. An diesem Prozess nehmen fünf Protein-Lipid-Enzym-Komplexe teil, die sich in der inneren Mitochondrienmembran befinden (Abb. 10).

- NADH-CoQ-Reduktase (Komplex I)
- Succinat-CoQ-Reduktase (Komplex II)
- CoQH<sub>2</sub>-Cytochrom-c- Reduktase (Komplex III)
- Cytochrom-c-Oxidase (Komplex IV)
- ATP-Synthase (Komplex V)

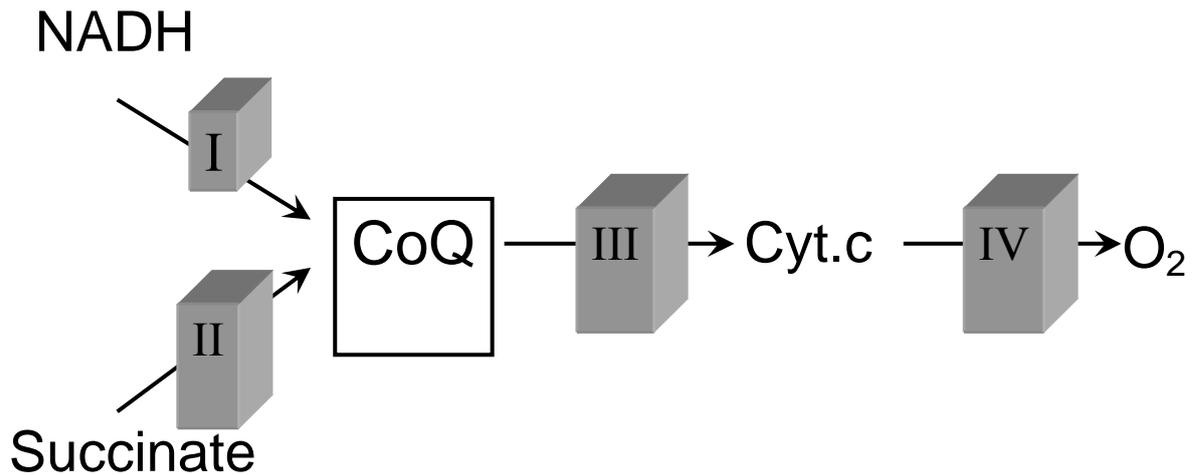


Abb. 10: Enzyme der Atmungskettenphosphorylierung (OXPHOS)

#### b) Defekte der anderen biochemischen Prozesse in den Mitochondrien

In den Mitochondrien, vor allem in der mitochondrialen Matrix finden auch andere biochemische Prozesse statt, wie der Citratzyklus,  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren, Ketonsynthese, Pyruvatstoffwechsel und teilweise Harnstoffzyklus, deren Defekte zu unterschiedlichen Krankheiten führen können, wie z.B. Carnitinpalmityltransferase (CPT)-I- und II-Mangel, Fumarasemangel oder Pyruvatdehydrogenasemangel.

Die Störung der Mitochondrienfunktion wird als Mitochondriopathie bezeichnet. Heutzutage wird jedoch der Begriff im engeren Sinne als Defekt der Enzyme der Atmungskettenphosphorylierung (OXPHOS) verstanden.

#### 1.2.3. Mitochondriales Genom

Die Mitochondrien besitzen ein eigenes Genom, das 16569 Basenpaare umfasst. Auf der doppelsträngigen ringförmigen mitochondrialen DNA befinden sich insgesamt 37 Gene, die für 2 ribosomale RNAs, 22 Transfer-RNAs und 13 Proteine der Komplexe I, III, IV und V kodieren (Abb. 11). Damit werden ca. 15% der Proteine für die oxidative Phosphorylierung und ca. 5% des mitochondrialen Proteingehaltes über die mitochondriale DNA kodiert, der Rest durch die nukleäre DNA.

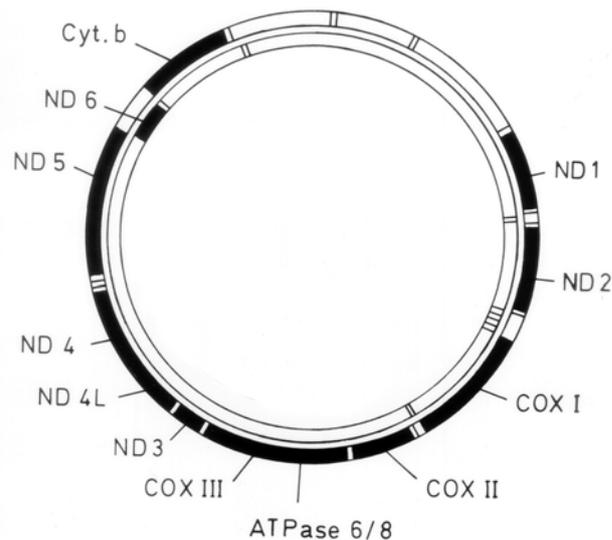


Abb. 11: Mitochondriale DNA

#### 1.2.4. Diagnostik von Mitochondrienerkrankungen

Die Diagnose einer Mitochondriopathie ist immer nur in der Zusammenschau von klinischem Bild, laborchemischen Parametern, biochemischen und molekulargenetischen Befunden möglich. Bis auf die molekulargenetische Untersuchung haben jedoch die anderen diagnostischen Methoden eine begrenzte Sensitivität und Spezifität.

##### **Klinisches Bild**

Ein Charakteristikum einer Mitochondriopathie ist das Auftreten von multiplen Symptomen verschiedener Organsysteme, wobei sich ein bevorzugter Befall von Geweben mit hohem Energiestoffwechsel (Gehirn, Skelettmuskel, Herzmuskel, Retina) zeigt.

##### **Laborchemische Untersuchung**

Der Nachweis im Blut erhöhter Laktat-Werte in Ruhe und vor allem unter Belastung im Rahmen eines Fahrradbelastungstests gilt als die wichtigste laborchemische Untersuchung zum Nachweis einer Mitochondriopathie.

##### **Biochemische Untersuchung**

Eine zuverlässige und auch seit langem etablierte Methode zur Erkennung mitochondrialer Defekte ist die biochemische Bestimmung mitochondrialer Enzyme der Komplexe der Atmungskette im Muskelgewebe.

### **Elektronenmikroskopische Untersuchung**

Auch die elektronenmikroskopische Untersuchung kann hilfreich sein, wenn folgende Veränderungen zur Darstellung kommen: Vergrößerung, Verkleinerung oder Vermehrung der Mitochondrien mit abnormer Struktur der Cristae sowie intramitochondriale Speicherung von Fett und Glycin bzw. parakristalline Einschlüsse.

### **Molekulargenetische Untersuchung**

Eine Mitochondropathie gilt als gesichert, wenn mittels molekulargenetischer Untersuchungen ein Gendefekt gefunden wird. Auf der anderen Seite schließt ein fehlender molekulargenetischer Nachweis einer Mutation eine Mitochondropathie nicht aus. Denn, es kann sich um einen noch nicht beschriebenen Defekt handeln.

### **Myohistologische Untersuchung**

Ein weiteres wichtiges Instrument bei der Diagnosestellung einer Mitochondriopathie ist die histologische Untersuchung. Der ungarische Pathologe George Gomori (Gyorgy Gömöri) entwickelte 1950 eine Färbungsmethode für den Nachweis des Bindegewebes, die aus Hämatoxylin, Chromotrop 2R, Hellgrün oder Anilinblau besteht [64]. 1963 modifizierten Engel und Cunningham die Methode nach Gomori, wodurch eine Untersuchung pathologischer Mitochondrienveränderungen ermöglicht wurde [54]. Die Mitochondrien stellen sich hier als Aggregate vergrößerter und geschwollener fuchsinroter, überwiegend subsarkolemmal gelegener Einzelorganellen mit vielfach fragmentiertem bzw. zerrissenem intermyofibrillärem Netzwerk dar. 1972 berichteten Olson und Mitarbeiter über 7 Patienten mit chronisch-progressiver Ophthalmoplegie mit den oben genannten Veränderungen in den Skelettmuskelfasern in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung. Für diese Fasern prägten sie die Bezeichnung *ragged-red-fibers* (RRF= rote zerrissene Fasern) [55]. Die Diagnose einer Mitochondropathie kann anhand einer myohistologischen Untersuchung gestellt werden, wenn der Prozentsatz der *ragged-red*-Fasern 2% aller Fasern überschreitet [65]. Diese Fasern kommen jedoch nur bei Patienten mit Defekten der oxidativen Phosphorylierung [OXPHOS] vor, während andere Störungen der Mitochondrienfunktion (z.B. Defekte des Citratzyklus oder Lipidstoffwechsels) nicht zu solchen myohistologischen Veränderungen führen [66].

Andere histochemische Färbungsmethoden beziehen sich auf die kompensatorisch vermehrte Aktivität des Komplexes II (Succinat-Dehydrogenase-(SDH)-Färbung) [67] und die verminderte Aktivität des Komplexes IV (Cytochrom-c-Oxidase-(COX)-Färbung) [68].

Besonders hilfreich bei der Identifizierung der mitochondrial veränderten Muskelfasern ist die kombinierte Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase (COX/SDH)-Färbung, in der die sogenannten COX-negativen Fasern zur Darstellung kommen (blaue Fasern auf dem braunen Hintergrund) [69]. In dieser Färbung sieht man in den longitudinalen Schnitten Muskelfasern, die nicht in ihrem gesamten Verlauf mitochondrial verändert (blau) sind. Die pathologischen unterschiedlich großen COX-negativen Abschnitte kommen zufälligerweise auf verschiedener Höhe zur Darstellung, weil die Mitochondrien innerhalb einer Faser in einem unterschiedlichen Heteroplasmiegrad (prozentualer Anteil mutierter mtDNA) liegen (Abb. 12)

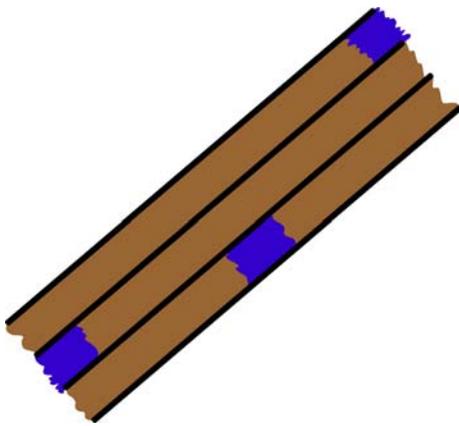


Abb. 12: Longitudinaler Schnitt der Muskelfasern mit blau dargestellten mitochondrial veränderten Abschnitten.

#### 1.2.5. Mitochondriale Veränderungen bei degenerativen Krankheiten und in Alterungsprozessen

Die mitochondriale DNA hat eine hohe Mutationsrate als Folge unterschiedlicher Faktoren, wie fehlende Histone, unmittelbare Nähe zur Atmungskette und eingeschränkte DNA-Reparaturmechanismen. Im Laufe des Lebens werden Defekte der mtDNA akkumuliert und in Form von Zellen mit reduzierter Aktivität der mitochondrialen Atmungskette aufgefunden, was zur Entstehung von degenerativen Krankheiten und Alterungsprozessen führt. Diese Defekte der mtDNA unterscheiden sich nicht von denen, die als Folge primärer Mutationen der mtDNA entstehen.

Eine der ersten Beobachtungen hinsichtlich der Beteiligung der Mitochondrien an Alterungsprozessen wurde am Tiermodell 1981 gemacht [70]. In Neuronen alternder Ratten

fanden sich veränderte Mitochondrien mit dem Verlust der Cristae. Seitdem werden mitochondriale Veränderungen immer häufiger im fortgeschrittenen Alter bei Gesunden ohne Krankheitswert gefunden. Diese Veränderungen umfassen Größenveränderungen mit der Dominanz großer Mitochondrien [71], Aggregationen der vergrößerten Mitochondrien [72], erhöhte Teilungsaktivität mit verstärkter mtDNA-Synthese und reduzierter Aktivität der Atmungskette [73] sowie Akkumulation von Punktmutationen und Deletionen der mtDNA [74]. Zur Entstehung dieser Veränderungen trägt vor allem der oxidative Stress bei, also eine Stoffwechsellage, die durch eine hohe Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies gekennzeichnet ist. Während der oxidativen Phosphorylierung werden neben ATP auch toxische Nebenprodukte, d.h. reaktive Sauerstoffspezies (ROS, *reactive oxygen species*, oder Sauerstoffradikale) gebildet. Diese führen zur Schädigung an wichtigen zellulären Bestandteilen wie z.B. DNA, Proteinen und Lipidmembranen. So entstandene Schädigungen der mitochondrialen DNA, die aufgrund der schlecht ausgebildeten Reparaturmechanismen viel anfälliger gegen Sauerstoffradikale, als die gut geschützte nukleäre DNA ist, führen zur Beeinträchtigung der Synthese von mitochondrialen Atmungsenzymen und dann zu Alterungsprozessen, sowie zur Entstehung chronisch-degenerativer Krankheiten. Durch die erhöhte Mitochondrienzahl im fortgeschrittenen Alter nimmt die Bildung von Sauerstoffradikalen jedoch weiter zu, sodass die Zellen in einen „Teufelskreis“ geraten und sterben [75]. Es bleibt jedoch unklar, ob der für das Älterwerden auslösende Faktor Folge von Fehlern in der nukleären oder mitochondrialen DNA ist bzw. im zellulären Umfeld liegt [76].

Ursprünglich wurden myohistologische mitochondriale Veränderungen als pathognomonisch für primäre Mitochondriopathien angesehen. Diese Veränderungen kommen jedoch auch bei anderen Erkrankungen, vor allem bei degenerativen Krankheiten und im Alter vor.

### **Alter**

Rifai und Mitarbeiter [77] suchten einen Zusammenhang zwischen Alter und myohistologischen mitochondrialen Veränderungen, indem sie die Erscheinungshäufigkeit von Äquivalenten der *ragged-red*-Fasern (RRF-Äquivalenten) d.h. von hyperaktiven (dunkel blauen) Fasern in der SDH-Färbung bei jungen und alten gesunden Individuen untersuchten. Sie fanden in der alten Gruppe eine statistisch signifikante Erhöhung der RRF-Äquivalente im Vergleich zu jungen Gesunden (Tab. 6).

Tab. 6: Ergebnisse der Studie von Rifai und Mitarbeitern, 1. Teil [77]

	Gesunde Individuen	
	Jung	Alt
Durchschnittsalter (in Jahren)	25	67
RRF-Äquivalente	0,02%	0,33% p< 0,0001

Wang und Mitarbeiter [78] fanden in menschlichen Fibroblasten eine altersbedingte Akkumulation von Punktmutationen in den Kontrollregionen der mtDNA. Diese Mutationen konnten jedoch im alternden Muskelgewebe gesunder Individuen nicht identifiziert werden. Stattdessen wurden andere Mutationen gefunden, was auf gewebspezifische altersbedingte mutagene Mechanismen hindeutet.

### Sporadisches Parkinson-Syndrom

Molekulargenetische Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Rate der Mutationen der mtDNA im Alter trotz der oben genannten mit Alter verbundenen Prozesse niedrig im Vergleich zu Patienten mit neurodegenerativen Krankheiten ähnlichen Alters ist [79].

In den Geweben mit hohem Energiebedarf, wie in Neuronen der Substantia nigra, werden bei Menschen im Alter von über 75 Jahren in ca. 40% bis 50% der mtDNA Deletionen gefunden. Dies ist jedoch trotzdem weniger gegenüber Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom [80]. Die Analyse dieser Deletionen der mtDNA wies darauf hin, dass sie ähnlich denen bei hereditären Mitochondriopathien in Bezug auf Position, Größe und Präsenz der wiederholten Sequenzen sind. Das beweist wiederum, dass der Mechanismus, der zur Entstehung der sowohl erworbenen als auch hereditären Deletionen in der mtDNA ähnlich sein muss [81].

Außer dem Hirngewebe (Substantia nigra) wird die pathologische Funktion der Mitochondrien, am häufigstem im Form einer verminderten Aktivität des Komplexes I im Falle eines sporadischen Parkinson-Syndroms auch in Thrombozyten festgestellt, während keine wegweisende Pathologie der Mitochondrien in den Muskeln nachgewiesen werden konnte [82, 83, 84]. Die Inhibition des Komplexes I führt zur Aggregation von  $\alpha$ -Synuclein und seinem ungenügenden Abbau und dies weiter zur Apoptose von Dopaminneuronen [85]. Es wird dabei die Rolle der zytotoxischen Wirkung von im Dopaminstoffwechsel entstehenden oxidativen Radikalen oder Umweltfaktoren z.B. Toxinen wie Pestiziden oder Rotenon diskutiert [86].

## **Amyotrophe Lateralsklerose**

Bei amyotropher Lateralsklerose konnten mitochondriale Veränderungen vor allem im Hirngewebe und auch in Leberzellen identifiziert werden [87]. Im Muskel sind die Veränderungen deutlich weniger ausgeprägt und am ehesten als Ausdruck des neurogenen Umbaus des Muskelgewebes zu interpretieren [88].

## **Chorea Huntington**

Auch bei Chorea Huntington waren mitochondriale Veränderungen im Sinne einer verminderten Aktivität des Komplexes I-IV im Hirngewebe (Nucleus caudatus, Kortex und Putamen) nachweisbar [89].

## **Morbus Alzheimer**

Im Falle eines Morbus Alzheimer wurde vor allem eine verminderte Aktivität des Komplexes IV im Hirngewebe (Kortex) und in Thrombozyten gefunden [90].

## **Spastische Spinalparalyse**

Bei spastischer Spinalparalyse wurde eine verminderte Aktivität vor allem des Komplexes I und auch seltener des Komplexes IV nachgewiesen [91, 92].

Störungen der mitochondrialen Funktion, die zur Entstehung von Krankheiten führen, können Folge von Defekten sowohl mitochondrialer, als auch nukleärer DNA sein. Die Pathogenese der meisten neurodegenerativen Erkrankungen ist mit einer indirekten, bis jetzt nicht vollständig verstandenen Beeinträchtigung der mtDNA und der Mitochondrienfunktion verbunden.

Es gibt auch eine zweite, selten vorkommende Gruppe der Erkrankungen, bei denen es zu einem direkten pathologischen Effekt auf die Funktion der Mitochondrien von Seiten der durch die nukleäre DNA kodierten und mutierten mitochondrialen Proteine kommt [93].

### **Familiäres Parkinson-Syndrom (PARK7)**

So ist es z.B. im Falle des familiären Parkinson-Syndroms- PARK7, bei dem es zu einer Mutation im DJ-1- Gen kommt, dessen Produkt ein mitochondrial assoziiertes Protein ist, das an der Regulation der ROS beteiligt ist [94].

### **Friedreich-Ataxie**

Ein anderes Beispiel stellen die Friedreich-Ataxie oder die hereditäre spastische Spinalparalyse Typ 7 (SPG7) dar. Bei der Friedreich-Ataxie wurde das Protein Frataxin identifiziert, das den Eisen-Stoffwechsel innerhalb der Mitochondrien steuert. Das mutierte Frataxin löst zu einem Eisen-Überschuss und als Folge dessen einen oxidativen Stress aus, was zu einer progressiven Sklerose der Hinterstrangbahnen (Tractus spinobulbares: Burdach- und Goll-Strang) und der Leitungsbahnen zwischen Rückenmark und Kleinhirn (Tractus spinocerebellares: Gowers- und Flechsig-Bündel) führt [95]. Die genaue Ursache dieser Gewebeselektivität bleibt unklar.

### **Hereditäre spastische Spinalparalyse Typ 7 (SPG7)**

Bei einer Form der hereditären spastischen Spinalparalyse- SPG7 wurde das Gen für Paraplegin gefunden. Paraplegin ist eine durch die nukleäre DNA kodierte mitochondriale Metalloprotease, die u.a. an der Transkription und Zellteilung beteiligt ist und deren Mutation für ca. 7% sporadisch auftretender sowohl „reiner“, als auch „komplizierter“ Fälle spastischer Spinalparalyse ursächlich ist [96].

Es bleibt unklar, warum es bei manchen neurologischen Krankheiten zu funktionellen und strukturellen mitochondrialen Veränderungen in bestimmten Organen kommt. Mit anderen Worten, warum es eine Selektivität bestimmter Organe in einzelnen Krankheiten gibt. Man versucht dieses Phänomen durch die Theorie der sogenannten selektiven Vulnerabilität [97] zu erklären. Dieses Phänomen kommt z.B. im Falle neurodegenerativer Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson oder Prionenerkrankung vor. Ein gemeinsames Merkmal dieser Erkrankungen ist die Aggregation und Ablagerung abnormaler falsch gefalteter Proteine. Dies überfordert die Ubiquitin-abhängige Proteolyse, die normalerweise geschädigte und potentiell toxische Proteine abbaut, und führt als Folge dessen zur Bildung

der sogenannten Einschluss-Körperchen, was selektiv die Dysfunktion bestimmter Nervenzellen und schließlich deren Untergang verursacht.

#### 1.2.6. Mitochondriale Veränderungen bei entzündlichen Krankheiten

Mitochondrien spielen auch eine wichtige Rolle in der Pathogenese der entzündlichen Prozesse. Neben dem oxidativen Stress wird immer mehr Aufmerksamkeit auf den Stickoxid-Peroxinitrit-Zyklus und den nitrosativen Stress gerichtet [98]. Stresssituationen wie Umweltschadstoffe oder Infektionen aktiviert den Stickoxid-Peroxinitrit-(NO/ONOO)-Zyklus. Durch die Aktivität dieses Zyklus wird Stickstoffmonoxid (NO) hoher Konzentration gebildet, das eine zytotoxische Wirkung hervorruft, die als nitrosativer Stress bezeichnet wird. Als Folge dessen werden die Atmungskette und der Zitratzyklus in den Mitochondrien durch die Hemmung der Elektronenübertragung auf den Sauerstoff durch NO erheblich gestört, was mit einer reduzierten Energieproduktion in Form von ATP endet. Außerdem führt die Blockade des Elektronenflusses in den Mitochondrien auch dazu, dass das im Atmungskomplex I angehäufte Superoxid nicht weiter verstoffwechselt werden kann. Wenn die Superoxid- und NO-Konzentration in der Zelle hoch ist, bildet sich toxisches Peroxinitrit, so dass NO zusätzlich die positiv wirkenden Peroxidasen hemmt. Durch Peroxinitrit wird die mitochondriale Atmung irreversibel gehemmt und die Mitochondrien wirken als Radikalgeneratoren, was zu Mutationen der mtDNA, zur Bildung von Fettsäurenperoxiden und nitrierten und citrullinierten Proteinen führt. Vor allem führt die Anhäufung von Citrullin, das unspezifisch an Eiweiße bindet und Konglomerate bildet, zu gesteigerten Immun- und Entzündungsreaktionen mit zirkulierenden Immunkomplexen oder Autoantikörpern und dadurch zur Entstehung entzündlicher Immunerkrankungen wie z.B. Psoriasis, atopische Dermatitis oder Rosazea [99].

Die Mitochondrien scheinen auch eine Rolle in der Pathogenese der Sepsis zu spielen. Gellerich und Mitarbeiter [100] führten eine biochemische Untersuchung der Mitochondrien aus den Muskelproben von Pavianen und Kaninchen durch, bei denen eine Sepsis infolge einer Infusion mit großen und kleinen Mengen von E. coli ausgelöst wurde. Bei den Tieren wurde eine dosisabhängige Aktivitätsreduktion der Atmungskomplexe I, II, III im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachgewiesen.

## 1.2.7. Mitochondriale Veränderungen bei idiopathischen Myositiden

### 1.2.7.1. Myohistologische mitochondriale Veränderungen

Rifai und Mitarbeiter [77] waren die ersten, die systematisch myohistologische Untersuchungen von mitochondrialen Veränderungen bei Myositiden vorgenommen haben. Sie analysierten mitochondrial veränderte Muskelfasern- sogenannte Äquivalente der *ragged-red*-Fasern (RFF-Äquivalente)- hyperaktive oder dunkelblaue Fasern in der SDH-Färbung- bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis und verglichen diese mit denen von jungen und alten Patienten mit Dermatomyositis und Polymyositis (Tab. 7).

Diese Erhöhung der RRF-Äquivalenten bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis war statistisch signifikant im Vergleich zu jungen und alten Patienten mit Poly- und Dermatomyositis, bei denen die Anzahl der mitochondrial veränderten Muskelfasern ähnlich den jungen und alten gesunden Kontrollen war. Eine Erklärung für diesen Anstieg der RRF-Äquivalenten bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis ist nicht nur durch ihr fortgeschrittenes Alter, das mit der Kraft- und Leistungsabnahme der Muskeln durch die Senkung der Muskelmasse und histologische Veränderungen, wie Atrophie der Typ-II-Muskelfasern, oder Fasertypengruppierung zu tun hat, zu verstehen, sondern auch durch näher nicht bekannte Mechanismen wie Muskelischämie, Präsenz der freien Radikale oder immunvermittelte Toxizität der Atemfunktion der Muskelfasern.

Tab. 7: Ergebnisse der Studie von Rifai und Mitarbeitern, 2. Teil [77]

	Kontrollen		Polymyositis und Dermatomyositis		Einschlusskörpermyositis
	Jung	Alt	Jung	Alt	
Durchschnittsalter (in Jahren)	25	67	30	66	67
RRF-Äquivalente	0,02%	0,33%	0,04%	0,88%	4,6% vs. alte DM und PM p< 0,01 vs. alte Kontrollen p= 0,0003

1997 haben Blume und Mitarbeiter [101] eine Gruppe der Patienten mit Polymyositis mit vielen (>3%; Spanne 4,2- 27,4%) und wenigen (< 0,5%) COX- negativen Fasern identifiziert. Letztere wurden auch als klassische Polymyositis benannt. Alle Patienten hatten für Polymyositis typische endomysiale Infiltrate in der Muskelbiopsie, proximale Muskelschwäche, myopathische Veränderungen im EMG und erhöhte Werte der Kreatinkinase. Myohistologisch wiesen sie keine *rimmed*-Vakuolen, deren Präsenz als Ausschlusskriterium galt, und keine Amyloid-Ablagerungen in der Kongo-rot-Färbung auf. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung auf die Präsenz der filamentösen Einschlüsse

wurde jedoch nicht durchgeführt. Die Untergruppe mit vielen COX-negativen Fasern enthielt 10 Patienten, war älter als die mit klassischer Polymyositis, wies eine langsame Progression und eine vor allem in den Kniestreckern lokalisierte proximale Schwäche, sowie eine diskrete (2fache vs. über 7fache bei klassischer Polymyositis) Erhöhung der Kreatinkinase-Wertes auf und sprach schlecht auf eine immunsuppressive Therapie mittels Prednisolon, Methotrexat, Azathioprin, Cyclosporin, Immunglobuline an. Die Autoren haben diskutiert, dass es sich dabei um eine neue Krankheitsentität, oder eine Variante der Einschlusskörpermyositis handelt.

Temiz und Mitarbeiter [18] haben eine ähnliche Analyse der klinischen und histologischen Daten derselben Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern, erweitert um neue Fälle (insgesamt 23 Patienten), durchgeführt und mit Patienten mit klassischer Polymyositis und denen mit Einschlusskörpermyositis verglichen (Tab. 8). Eine elektronenmikroskopische Untersuchung auf die Präsenz der filamentösen Einschlüsse wurde auch hier nicht durchgeführt.

Die höchste Erhöhung der Kreatinkinase wurde bei klassischer Polymyositis gefunden. Der größte Anteil der COX-negativen Fasern ließ sich bei Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern nachweisen. Die ältesten waren die Patienten mit Einschlusskörpermyositis. Viele Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern und mit Einschlusskörpermyositis wiesen eine selektive Schwäche des M. quadriceps femoris und Schwäche der Fingerflexoren auf. 4 von 9 Patienten mit Polymyositis und COX-negativen Fasern wurden bei erneuter Muskelbiopsie nach Ablauf von 2 bis 10 Jahren nach der ersten Biopsie aufgrund von identifizierten *rimmed*-Vakuolen auf Einschlusskörpermyositis umdiagnostiziert. Die Aggregate mit  $\alpha\beta$ -Crystallin und LC3 (Autophagiemarker) waren am häufigsten bei Einschlusskörpermyositis und Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern zu finden, was auf eine gemeinsame Pathogenese hindeutet. Schließlich wiesen die Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern eine langsamere Progression als die mit Einschlusskörpermyositis auf. Aber je mehr COX-negative Fasern die ersten hatten, desto schnellere Progression zeigten sie und schlechter sprachen sie auf eine immunsuppressive Therapie an.

Tab. 8: Ergebnisse der Studie von Temiz und Mitarbeitern [18]

Einschlusskriterien und Ergebnisse	Klassische Polymyositis; n= 12	Polymyositis mit vielen COX-neg. Fasern; n= 23	Einschlusskörpermyositis; n= 26
<i>rimmed</i> -Vakuolen	nein	nein	ja
> 1% COX-negativen Fasern und fehlende <i>rimmed</i> -Vakuolen	nein	ja	nein
Gutes Ansprechen auf Kortikosteroide	ja	nein	nein
CK-Erhöhung	5,5 fach	3,3 fach	3 fach
Durchschnittsalter (in Jahren)	56	60	63
COX-negative Fasern	0,02%	10,2%	4,8%

Chariot und Mitarbeiter [19] untersuchten Muskelproben von 30 Patienten mit idiopathischen Myositiden und 30 Kontrollen ähnlichen Alters auf die Präsenz myohistologischer mitochondrialer Veränderungen mittels modifizierter Gomori-Trichrom- und COX/SDH-Doppelfärbung. Die Erhöhung der *ragged-red*-Fasern bei allen Myositiden gegenüber den Kontrollen war statistisch nicht signifikant, während sich die Vermehrung der COX-negativen Fasern bei allen Myositiden als statistisch signifikant gegenüber den Kontrollen erwies und bei der Einschlusskörpermyositis den höchsten Wert erreichte (Tab. 9).

Tab. 9: Ergebnisse der Studie von Chariot und Mitarbeitern [19]

Einschlusskriterien und Ergebnisse	Kontrollen n= 30	Polymyositis n= 12	Dermatomyositis n= 15	Einschlusskörpermyositis n= 3
Hautveränderungen, perimysiale Infiltrate oder perifaszikuläre Atrophie			ja	
nekrotische Muskelfasern und endomysiale CD8-positive lymphozytäre Infiltrate		ja		
Muskelschwäche und -atrophie, schleichender Beginn, endomysiale CD8-positive lymphozytäre Infiltrate, <i>rimmed</i> -Vakuolen, elektronenmikroskopisch filamentöse Einschlüsse				ja
<i>ragged-red</i> -Fasern (0- 2,1%)		2/12	7/15	2/3
COX-negative Fasern	0,4% (0- 1,9%)	0,7%	1,2% (0- 4,7%), p< 0,01 vs. Kontrollen 1,2%	3,2%

Auf der anderen Seite gibt es auch Beobachtungen, die myohistologische mitochondriale Vermehrung bei Patienten mit Myositiden nicht bestätigen konnten. Schröder und Mitarbeiter

[102] haben in ihrer Datenbank von 7225 biopsierten Patienten retrospektiv nach Fällen mit elektronenmikroskopisch nachgewiesenen mitochondrialen Veränderungen gesucht und festgestellt, dass im Durchschnitt nur 3,69% der Fälle (267 Patienten) mit mitochondrialen Veränderungen im gesamten Patientenkollektiv gefunden wurden. Entzündliche Myopathien machten in dieser Gruppe von 267 Patienten nur 10 Fälle d.h. 3,74% aus, was beweisen sollte, dass mitochondriale Veränderungen nicht häufiger bei Myositiden als bei anderen Muskelkrankheiten vorkommen sollen.

Molnar und Mitarbeiter [31] haben von den oben genannten 10 Patienten mit Myositis 7 ausgewählt, die viele myohistologische mitochondriale Veränderungen aufwiesen. Darunter gab es 4 Patienten mit elektronenmikroskopisch nachgewiesener Einschlusskörpermyositis, 2 mit Polymyositis und 1 mit Dermatomyositis. Die Autoren fanden eine Korrelation zwischen einerseits elektronenmikroskopischen und myohistologischen (*ragged-red*-Fasern und COX-negative Fasern) und andererseits molekulargenetischen mitochondrialen Veränderungen (Deletionen der mtDNA). Sie identifizierten bei diesen Patienten 4- 5% *ragged-red*-Fasern und 2- 6% COX-negative Fasern. Filamentöse Einschlüsse wurden elektronenmikroskopisch in den Kernen, im Zytoplasma oder in beiden nur bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis nachgewiesen, obwohl Merkmale mitochondrialer Anomalien wie konzentrische Cristae, parakristalline Einschlüsse auch bei Polymyositis beobachtet wurden. Weiterhin konnten in den Kernen der Muskelproben von Patienten mit Einschlusskörpermyositis die „klassischen“ tubulären 18+/-2 nm dicken filamentösen Einschlüsse identifiziert werden, während sich drei unterschiedliche Typen im Zytoplasma nachweisen ließen: (1) „klassische“, (2) spindelförmige Bündel der 15-17nm dicken paarigen spiralförmigen Filamente und (3) kompakte an der Membran gebundene 20nm dicke Tubulofilamente.

Dahlbom und Mitarbeiter [103] untersuchten 86 Muskelproben von 43 Patienten im Alter zwischen 38 und 82 Jahren mit der Diagnose einer sicheren Einschlusskörpermyositis gemäß den Kriterien nach Griggs und Mitarbeitern und fanden COX-negative Fasern in 98% der Muskelproben. Die weitere Analyse der Daten zeigte die MHC-I-Hochregulation bei allen Proben und *rimmed*-Vakuolen bei 90% aller Biopsate, darunter bei allen, die aus dem Musculus vastus lateralis entnommen wurden, und entzündliche Infiltrate in 84% der Proben. Ein Korrelat zwischen der Prozentzahl der *rimmed*-Vakuolen und dem Alter, zwischen der Präsenz der *rimmed*-Vakuolen und den entzündlichen Infiltraten sowie zwischen der Erkrankungsdauer und den myohistologischen Befunden wurde nicht gefunden.

Die Autoren zogen die Schlussfolgerungen, dass die Diagnose einer Einschlusskörpermyositis bei fehlenden *rimmed*-Vakuolen und COX-negativen Fasern unwahrscheinlich ist und dass eine erneute Muskelbiopsie bei verdächtigen Patienten mit nicht eindeutigen myohistologischem oder elektronenmikroskopischem Hinweisen auf eine Einschlusskörpermyositis in der ersten Biopsie empfehlenswert ist.

Es gibt nur vereinzelte Berichte in der Literatur über das Vorkommen mitochondrialer Veränderungen bei Patienten mit Dermatomyositis. Miró und Mitarbeiter [104] untersuchten 10 Patienten mit Dermatomyositis, die die Kriterien nach Dalakas erfüllten, auf biochemische (Komplexe der Atmungskette I- V) und myohistologische (COX-negative Fasern, *ragged-red*-Fasern, SDH-hyperaktive Fasern) mitochondriale Veränderungen und verglichen sie mit 17 gesunden Kontrollen ähnlichen Alters. Die Anzahl der COX-negativen (im Mittel 0,82%) und SDH-hyperaktiven Fasern (im Mittel 1,82%), aber nicht der *ragged-red*-Fasern (im Mittel 0,3%) war statistisch signifikant höher im Vergleich zu den Kontrollen (im Mittel: 0,26%; 0,22%; 0,15%), wobei die Befunde der enzymatischen Untersuchung keine statistische Relevanz zeigten.

Alhatou und Mitarbeiter [20] untersuchten die Präsenz myohistologischer mitochondrialer Veränderungen in der Cytochrom-c-Oxidase- und Succinat-Dehydrogenase-Färbung in einer Gruppe von 12 Patienten mit Dermatomyositis im Alter zwischen 5 und 77 Jahren und bei 12 Kontrollen mit neurogen bedingter Muskeltrophie. Als Einschlusskriterium für die Diagnose einer Dermatomyositis galten perifaszikuläre Atrophie, typische Hautveränderungen und Ablagerungen von C5b-9-Komplementkomplexen am mikrovaskulären Endothel. 11 von 12 (91,6%) Patienten mit Dermatomyositis zeigten mitochondriale Dysfunktionen im Sinne von Muskelfasern mit reduzierter COX- und vermehrter SDH-Aktivität von perivaskulärer Distribution, was in den Muskelfasern bei Patienten mit neurogener Atrophie nicht gefunden werden konnte. Die Autoren postulieren, dass die mitochondrialen Veränderungen sogar sensitiver in der Diagnostik der Dermatomyositis, als alleine die perivaskuläre Atrophie sind, weil die ersten Veränderungen schon in der Frühphase der Krankheitsentwicklung als Folge einer Gewebeischämie vorkommen.

### 1.2.7.2. Molekulargenetische mitochondriale Veränderungen

Mitochondriale Veränderungen bei Patienten mit Myositiden lassen sich nicht nur histologisch, sondern auch molekulargenetisch nachweisen.

In der Arbeit von Blume und Mitarbeitern [101] konnten multiple Deletionen der mtDNA bei 90% der Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern und bei 8% der Patienten mit „klassischer“ Polymyositis mit wenigen COX-negativen Fasern nachgewiesen werden.

Oldfors und Mitarbeiter [105] haben insgesamt 3 Patienten mit der Diagnose einer sicheren Einschlusskörpermyositis gemäß den Kriterien nach Griggs und Mitarbeitern auf die Präsenz der COX-negativen Fasern und der Deletionen der mtDNA mittels PCR und Southern-Blot-Analyse untersucht. Insgesamt ließen sich bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis 2- 5% der Fasern mit fehlender oder verminderter COX-Aktivität und mit hoher SDH-Aktivität nachweisen, während 9 gesunde Kontrollen weniger als 1% COX-negative Fasern aufwiesen. Die nachgewiesenen Deletionen enthielten Regionen der mtDNA, die für die Untereinheit ND4 der NADH kodieren. Die Analyse der mtDNA von COX-negativen und normal aussehenden Fasern von Patienten mit Einschlusskörpermyositis zeigte 33 unterschiedliche Deletionen der mtDNA insbesondere in den COX-negativen Fasern. Die häufigste Mutation der mtDNA war die sog. *common deletion* („häufige Deletion“)- 4977 Basenpaare lange singuläre Deletion, die zwischen den 8470 und 13447 Basenpaaren der mtDNA lokalisiert ist und zum Verlust von Untereinheiten der Komplexe I, IV und V sowie von 5 tRNAs führt. Neben singulären Deletionen kommen bei der Einschlusskörpermyositis sehr häufig multiple Deletionen der mtDNA, deren Bruchpunkte auch die *common deletion* umfassen können, und viel seltener Punktmutationen vor [105, 106, 112]. Bei der Polymyositis und Dermatomyositis werden die Mutationen der mtDNA seltener gefunden [31]. Moslemi und Mitarbeiter [106] haben diskutiert, dass klonale Expansion der *common deletions* zur Entstehung der COX-negativen Fasern führt, die sowohl im Alter, als auch bei Einschlusskörpermyositis vorkommen. Der Unterschied zwischen diesen Prozessen im Alter und bei Einschlusskörpermyositis soll nur quantitativer Natur sein. Die höhere Anzahl der COX-negativen Fasern bei Einschlusskörpermyositis ist möglicherweise als ein beschleunigter Alterungsprozess zu verstehen, der eine Muskelschwäche und -atrophie verursacht. Die Analyse der Genorte der nukleären DNA (Adeninnukleotid Translokator 1, Polymerase-Gamma, Twinkle-Protein), deren Mutationen zu multiplen Deletionen der mtDNA führen, zeigte im Falle von Patienten mit Einschlusskörpermyositis ein negatives Ergebnis. Das

schließt jedoch nicht aus, dass andere Faktoren außer genetischen die Funktion der für die Replikation der mtDNA wichtigen Proteine bei der Einschlusskörpermyositis beeinträchtigen und dadurch zu multiplen Deletionen der mtDNA führen.

Schröder und Mitarbeiter [102] untersuchten auf Deletionen der mtDNA mittels PCR und Souther-Blot-Analyse bei 7 vorselektionierten Patienten mit Myositiden mit vielen myohistologischen mitochondrialen Veränderungen, darunter 4 Patienten mit elektronenmikroskopisch nachgewiesener Einschlusskörpermyositis, 2 mit Polymyositis und 1 mit Dermatomyositis. Multiple Deletionen fanden sich vor allem bei Einschlusskörpermyositis mit einem Heteroplasmie-Grad von 40- 70% und auch in einem geringeren Ausmaß bei Polymyositis und Dermatomyositis.

#### 1.2.8. Mitochondriale Veränderungen bei anderen Muskelkrankheiten

Myohistologische mitochondriale Veränderungen wurden auch bei anderen Muskelkrankheiten gefunden, wie z.B. bei myotonen Dystrophien, Nemalin Myopathie, Gliedergürtelmuskeldystrophie, distaler Myopathie mit *rimmed*-Vakuolen, Muskeldystrophie Typ Duchenne und okulopharyngealer Muskeldystrophie [107]. Bei Letzterer konnten sogar bereits auch multiple Deletionen der mtDNA nachgewiesen werden [108].

## **2. ZIELSETZUNG DER ARBEIT**

Wie oben beschrieben gibt es Hinweise, dass mitochondriale Veränderungen bei idiopathischen Myositiden, vor allem bei Einschlusskörpermyositis gefunden werden [18, 19, 77, 101, 103]. Es wurde jedoch bis jetzt keine systematische Studie an einem großen, klinisch und histologisch gut definierten Patientenkollektiv mit allen 3 idiopathischen Myositiden mit einer klar dargestellten Methodik sowie unter Berücksichtigung moderner diagnostischer Kriterien durchgeführt.

Ein weiteres Ziel dieser Dissertation war es zu überprüfen, ob es eine Patientengruppe mit Polymyositis und vielen COX-negativen Fasern und schlechtem Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie gibt [18, 101].

### 3. PATIENTEN

#### 3.1. Daten der Kontrollgruppe

a) Einschlusskriterien: keine Paresen, Normwerte der Kreatinkinase (im Mittel: 1,83, Spanne 0,63- 2,44; normal < 2,8  $\mu\text{mol/l}$ s), unauffälliges EMG, myohistologisch kein Hinweis auf eine Myopathie.

b) Geschlecht und Alter: 6 Frauen und 4 Männer, Durchschnittsalter 53,5 Jahren (Spanne 41-69 Jahre).

c) Diagnosen: bei 9 von 10 Patienten: Myalgie ohne organische Ursache, bei einem Patienten: Verdachtsdiagnose einer Brauentptosis.

#### 3.2. Patientendaten

##### 3.2.1. Geschlecht und Alter

Die Patienten waren im Durchschnitt 61,5 Jahre alt, d.h. 8 Jahren älter als die gesunden Kontrollen. Die Altersunterschiede zwischen den 3 Patientengruppen waren gering. Die meisten Patienten mit Dermatomyositis und Polymyositis waren Frauen, während die Männer in der Gruppe der Einschlusskörpermyositis leicht dominierten (Tab. 10).

Tab. 10: Geschlecht und Alter

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>	<b>Kontrollen</b>
<b>Geschlecht n (F/M)</b>	9 (4/5)	14 (8/6)	12 (9/5)	10 (6/4)
<b>Alter in Jahren (Spanne)</b>	61,5 (37- 72)	61 (37- 83)	62 (32- 76).	53,5 (41- 69)

##### 3.2.2. Erstsymptome

Der Zeitraum zwischen den Erstsymptomen und der Diagnosestellung war der längste im Falle einer Einschlusskörpermyositis, einer Erkrankung mit schleichendem Beginn. Die Muskelschwäche war das Erstsymptom bei der Einschlusskörpermyositis und der Polymyositis, während die meisten Patienten mit Dermatomyositis zuerst Hautveränderungen zeigten (Tab. 11).

Tab. 11: Erstsymptome

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Intervall:</b>	3,5 Jahre	4 Monate	28 Monate
Symptombeginn- Diagnosestellung (Spanne)	(1- 8 Jahre)	(1 Woche- 18 Monate)	(2 Monate- 10 Jahre)
<b>Symmetrische Muskelschwäche</b>	3/9	2/14	7/12
<b>Asymmetrische Muskelschwäche</b>	5/9	0/14	2/12
<b>Hautveränderungen</b>	0/9	9/14	0/12
<b>Myalgie</b>	0/9	3/14	2/12
<b>Dysphagie</b>	0/9	0/14	1/12
<b>Allgemeine Muskelschwäche</b>	1/9	0/14	0/12

### 3.2.3. Klinisches Bild

Das dominierende Symptom war bei allen Myositiden die symmetrische Muskelschwäche (Tab. 12).

Tab. 12: Klinisches Bild

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Symmetrische Muskelschwäche</b>	4/9	12/14	12/12
<b>Asymmetrische Muskelschwäche</b>	5/9	0/14	0/12
<b>Proximale oder proximal betonte Tetraparese</b>	4/9	12/14	11/12
<b>Distale oder distal betonte Tetraparese</b>	5/9	0/14	1/12
<b>Kopfbeugeschwäche</b>	2/9	5/14	7/12
<b>Mimische Schwäche</b>	1/9	1/14	0/12
<b>Dysphagie</b>	0/9	3/14	2/12
<b>Dyspnoe</b>	0/9	2/14	0/12
<b>Symmetrische Muskelatrophie</b>	4/9	2/14	5/12
<b>Asymmetrische Muskelatrophie</b>	3/9	0/14	0/12
<b>Atrophie der Oberarmmuskulatur</b>	2/9	2/14	5/12
<b>Atrophie der Oberschenkelmuskulatur</b>	2/9	2/14	5/12
<b>Atrophie der Unterarmmuskulatur</b>	2/9	0/14	0/12
<b>Atrophie der Unterschenkelmuskulatur</b>	3/9	0/14	0/12
<b>Atrophie der Handmuskulatur</b>	2/9	0/14	1/12

### 3.2.4. Hautveränderungen

Typische Hautveränderungen waren bei allen Patienten mit Dermatomyositis nachweisbar und wurden bei 10 von den 14 Patienten zusätzlich in der Hautbiopsie bestätigt. Auch ein Patient mit Polymyositis und einer mit Einschlusskörpermyositis zeigte Hautveränderungen, die sich jedoch in der Hautbiopsie als nicht typisch für Dermatomyositis erwiesen (Tab. 13).

Tab. 13: Hautveränderungen

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Heliotropes Erythem im Gesicht</b>	0/9	14/14	0/12
<b>Ödematöse Schwellung im Gesicht</b>	0/9	13/14	0/12
<b>Gottron-Zeichen</b>	0/9	4/14	0/12
<b>Keinig-Zeichen</b>	0/9	5/14	0/12
<b>Shawl-Zeichen</b>	0/9	10/14	0/12
<b>Schwellung der Extremitäten</b>	0/9	4/14	0/12
<b>Raynaud-Phänomen</b>	0/9	1/14	0/12
<b>Haubiopsie mit für Dermatomyositis typischem Befund</b>	0/9	10/10	0/12
<b>Nicht heliotropes Erythem im Gesicht</b>	1/9	0/14	1/12
<b>Haubiopsie mit für Dermatomyositis untypischem Befund</b>	1/9	0/14	1/12
<b>Kapillarmikroskopie mit für Dermatomyositis typischem Befund</b>	nicht erfolgt	4/4	nicht erfolgt

### 3.2.5. Andere Beschwerden aus der Anamnese

Die Myalgien waren die häufigste subjektive Beschwerde bei Patienten mit Polymyositis und Dermatomyositis zur Zeit der Aufnahme. Auch insgesamt 9 Patienten hatten eine Gewichtsabnahme zu verzeichnen (Tab. 14).

Tab. 14: Andere Beschwerden aus der Anamnese

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Myalgie</b>	0/9	10/14	5/12
<b>Arthralgie</b>	0/9	3/14	0/12
<b>Allgemeine Schwäche</b>	0/9	4/14	2/12
<b>Gewichtsabnahme</b>	0/9	4/14	5/12
		5,75 kg/monatlich	2,0 kg/monatlich

### 3.2.6. Malignität

Bei 3 Patienten mit Dermatomyositis und einem mit Polymyositis wurde ein Tumor diagnostiziert (Tab. 15).

Tab. 15: Malignität

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Tumor vor Myositis</b>	0/9	1/14 2 Jahre vor DM Diagnosestellung eines Adenocarcinoms der Prostata mit Z.n. Prostatektomie. Zur Zeit der Diagnosestellung einer DM, PSA nicht nachweisbar	1/12 12 Jahre vor PM Mammacarcinom
<b>Tumor nach Myositis</b>	0/9	0/14	0/12
<b>Tumor parallel zu Myositis</b>	0/9	2/14 Adenocarcinom des Magens und der Prostata	0/12

### 3.2.7. Kreatinkinase

Der Kreatinkinase-Wert war im Durchschnitt der höchste bei Patienten mit Dermatomyositis, gefolgt von denen mit Polymyositis und Einschlusskörpermyositis (Tab. 16).

Tab. 16: Kreatinkinase

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>CK</b> in $\mu\text{mol/l}$ , normal < 2,8 (Spanne)	7,8 (2,31- 18,8)	56,7 (0,7- 247,6)	49 (3,5- 125,77)

### 3.2.8. Myositis-spezifische Autoantikörper

Bei Patienten mit Dermatomyositis wurden am häufigsten die Antikörper gegen Mi-2 nachgewiesen. 2 Patienten mit Dermatomyositis hatten die Antikörper gegen Jo-1, von denen nur ein Patient an einer interstitiellen Pneumonie erkrankte. Ein Patient mit Polymyositis wies die Antikörper gegen SRP auf, ohne an der schwer therapierbaren nekrotisierenden Myositis gelitten zu haben (Tab. 17).

Tab. 17: Myositis-spezifische Autoantikörper

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Mi-2</b>	0/2	3/10 (nach 7 Jahren bei einem Patienten nicht mehr nachweisbar)	0/4
<b>Jo-1</b>	0/3	2/13 (Werte: 3,8 und 7,5. Bei zweitem Patienten waren die AK gegen Jo-1 11 Monate später nicht mehr nachweisbar)	0/12
<b>SRP</b>	nicht untersucht	0/1	1/3, ein Jahr später nicht mehr nachweisbar
<b>PL-7</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1
<b>PL-6</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1
<b>EJ</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1
<b>OJ</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1
<b>KS</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1

### 3.2.9. Myositis-assoziierte Autoantikörper

Die Myositis-assoziierten Autoantikörper fanden sich mit einer Ausnahme nicht (Tab. 18).

Tab. 18: Myositis-assoziierte Autoantikörper

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Ro</b>	0/3	1/11	0/8
<b>La</b>	0/3	0/11	0/8
<b>U1-snRNP</b>	0/2	0/12	0/5
<b>PM-Scl</b>	0/1	0/7	0/3
<b>Ku</b>	0/1	0/4	0/4
<b>PMS1</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	nicht untersucht
<b>MyoLiA</b>	nicht untersucht	0/1	nicht untersucht
<b>KJ</b>	nicht untersucht	nicht untersucht	0/1

### 3.2.10. EMG

Bei allen Patienten mit einer Ausnahme wurde eine elektromyographische Untersuchung durchgeführt, die bis auf 2 Patienten ein myogenes Muster gezeigt hat (Tab. 19).

Tab. 19: EMG

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Neurogenes Muster</b>	0/9	0/14	0/12
<b>Normalbefund</b>	0/9	1/14	1/12
<b>Myogenes Muster</b>	9/9	12/14	11/12
<b>Nicht erfolgt</b>	0/9	1/14	0/12

### 3.2.11. Lichtmikroskopische Befunde in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Alle Patienten mit Einschlusskörpermyositis und Polymyositis wiesen endomysiale Infiltrate auf, während 12 von den 14 Patienten mit Dermatomyositis eine perifaszikuläre Atrophie zeigten. Bei den übrigen 2 Patienten wurden keine Auffälligkeiten in der Lichtmikroskopie festgestellt. Bei allen Patienten mit Einschlusskörpermyositis und vereinzelt bei einem mit Polymyositis wurden *rimmed*-Vakuolen gefunden (Tab. 20).

Tab. 20: Histologische Befunde in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>(Überwiegend) endomysiale Infiltrate</b>	9/9	1/14	12/12
<b><i>rimmed</i>-Vakuolen</b>	9/9	0/14	1/12 vereinzelt
<b>Perifaszikuläre Atrophie</b>	0/9	12/14	0/12
<b>(Überwiegend) perivaskuläre/perifaszikuläre Infiltrate</b>	0/9	9/14	0/12
<b>Gleich ausgeprägte endomysiale und perivaskuläre/perifaszikuläre Infiltrate</b>	0/9	2/14	0/12
<b>Fehlende entzündlichen Infiltrate</b>	0/9	2/14	0/12

### 3.2.12. Immunhistochemische Befunde

Die MHC-I-Expression wurde am häufigsten bei allen drei Myositiden nachgewiesen. Die positive Reaktion auf die immunhistochemische Färbung mit CD4 Antikörpern wurde bei den meisten Patienten mit Dermatomyositis perivaskulär/perifaszikulär gefunden. Diese Färbung dominierte endomysial (nicht perivaskulär/perifaszikulär) auch bei 4 Patienten mit Einschlusskörpermyositis und 4 mit Polymyositis (Tab. 21).

Tab. 21: Immunhistochemische Befunde in der CD4-, CD8-, CD20(22)-, MHC-I- Färbung

<b>Sporadische</b>	<b>CD8 &gt; CD4</b>	<b>CD4 &gt; CD8</b>	<b>CD4= CD8</b>	<b>MHC-I</b>	<b>CD 20(22)</b>
<b>Einschlusskörpermyositis</b>					
endomysial	0/9	5/9	4/9	9/9	3/9
perivaskulär/ perifaszikulär	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
<b>Dermatomyositis</b>	<b>CD8 &gt; CD4</b>	<b>CD4 &gt; CD8</b>	<b>CD4= CD8</b>	<b>MHC-I</b>	<b>CD 20(22)</b>
endomysial	0/14	1/14	0/14	1/14	1/14
perivaskulär/ perifaszikulär	0/14	9/14	2/14	11/14	5/14
<b>Polymyositis</b>	<b>CD8 &gt; CD4</b>	<b>CD4 &gt; CD8</b>	<b>CD4= CD8</b>	<b>MHC-I</b>	<b>CD 20(22)</b>
endomysial	8/12	4/12	0/12	12/12	4/12
perivaskulär/ perifaszikulär	0/12	0/12	0/12	0/12	2/12

**Legende:**

CD8 > CD4:	ausschließliche oder überwiegende Expression der CD8-pos. T-Lymphozyten
CD4 > CD8:	ausschließliche oder überwiegende Expression der CD4-pos. T-Lymphozyten
CD4= CD8:	gleich ausgeprägte Expression der CD4-pos. und CD8-pos. T-Lymphozyten
MHC-I:	Expression der Klasse I des Haupthistokompatibilitätskomplexes
CD 20(22):	Expression der CD20 (oder 22) B-Lymphozyten
endomysial:	ausschließlich oder überwiegend endomysial gelegene entzündliche Infiltrate
perivaskulär/perifaszikulär:	ausschließlich oder überwiegend perivaskulär/perifaszikulär gelegene entzündliche Infiltrate

### 3.2.13. Elektronenmikroskopische Befunde

Die Elektronenmikroskopie wurde bei allen 9 Patienten mit Einschlusskörpermyositis und bei 8 mit Polymyositis und 5 mit Dermatomyositis durchgeführt. Die 10- 20 nm dicken tubulofilamentösen Einschlüsse wurden nur im Falle einer Einschlusskörpermyositis, vor allem im Zytoplasma und in einem Fall in den Kernen nachgewiesen (Tab. 22).

Tab. 22: Elektronenmikroskopische Befunde

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Zytoplasmatische 10- 20 nm dicke tubulofilamentöse Einschlüsse</b>	9/9	0/5	0/8
<b>Nukleäre 10- 20 nm dicke tubulofilamentöse Einschlüsse</b>	1/9	0/5	0/8
<b>Autophagische Vakuolen</b>	9/9	2/5	8/8
<b>Vergrößerte Mitochondrien</b>	7/9	2/5	5/8
<b>Mitochondrien mit alterierter Cristae-Architektur</b>	5/9	2/5	3/8
<b>Endomysiale mononukleäre Infiltrate</b>	6/9	0/5	4/8
<b>Perifaszikuläre und perivasale lymphozytäre Infiltrate</b>	0/9	2/5	0/8
<b>Atrophische Muskelfasern</b>	6/9	3/5	5/8
<b>Nekrotische Muskelfasern</b>	6/9	2/5	3/8

### 3.2.14. Systemische immunsuppressive Therapie

Die Kortikosteroide wurden am häufigsten angesetzt. Die immunsuppressive Therapie führte zum Therapieversagen im Falle einer Einschlusskörpermyositis und zur Besserung des klinischen Bildes bei allen Patienten mit Dermatomyositis und bei 8 Patienten mit Polymyositis. Eine Patientin mit Polymyositis lehnte die Therapie ab (Tab. 23).

Tab. 23: Systemische immunsuppressive Therapie

	<b>Sporadische Einschlusskörpermyositis</b>	<b>Dermatomyositis</b>	<b>Polymyositis</b>
<b>Kortikosteroide</b>	7/9	14/14	11/12
<b>Methotrexat</b>	3/9	3/14	0/12
<b>Immunglobuline</b>	5/9	3/14	2/12
<b>Azathioprin</b>	2/9	5/14	8/12
<b>Therapieerfolg</b>	0/9	14/14, wobei eine Patientin an einer durch internistische Krankheiten bedingte Sepsis 1 Monat nach der Diagnosestellung einer DM gestorben ist.	8/12 lehnte die Therapie ab

### 3.2.15. Klassifizierung der Patienten

Alle Patienten mit Einschlusskörpermyositis und die meisten mit Dermatomyositis und Polymyositis erfüllten die international anerkannten Kriterien einer sicheren Myositis (Tab. 24 und 25).

Tab. 24: Klassifizierung der Patienten nach den Kriterien von Dalakas und Mitarbeitern [8]

Diagnostische Kriterien nach Dalakas	Dermatomyositis	Polymyositis
Sicher	10/14	6/12
Wahrscheinlich	0/14	0/12
Amyopathisch (nur Dermatomyositis)	1/14	-
Nicht klassifizierbar	3/14 <sup>1</sup>	6/12 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zwei Patienten hatten zu hohe CK-Werte (88fach und 63fach erhöht, bei erlaubter 50facher Erhöhung); außerdem einer von den zwei Patienten zeigte neben proximaler Tetraparese auch eine diskrete mimische Schwäche im Sinne eines Wimpernzeichens (Zilienzeichens, *signe de cils*) sowie myohistologisch neben perifaszikulärer Atrophie eine überwiegend CD4-positive, jedoch mehr endomysial als perivaskulär/perifaszikulär gelegene Infiltrate auf. Alle anderen Kriterien waren erfüllt. Bei drittem Patienten ohne myohistologische Auffälligkeiten waren die Kriterien einer amyopathischen Dermatomyositis trotzdem nicht erfüllt, weil kein EMG durchgeführt wurde und die CK-Erhöhung zu hoch war (22 fach bei erlaubter bis 10facher Erhöhung).

<sup>2</sup> Bei vier Patienten gab es zwar eine in der immunhistochemischen Untersuchung deutliche MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm, jedoch waren die CD8-positiven Infiltrate weniger ausgeprägt als die CD4-positiven Infiltrate. Letztere zeigten sich jedoch im Gegensatz zur Dermatomyositis nicht perifaszikulär oder perivaskulär sondern endomysial.

Der fünfte Patient wies eine distal betonte Tetraparese und vereinzelte *rimmed*-Vakuolen auf.

Der sechste Patient hatte einen Normalbefund im EMG.

Alle Patienten bis auf einen ohne die Diagnose einer sicheren Polymyositis nach Dalakas und Mitarbeitern wurden elektronenmikroskopisch untersucht, ohne dass sich filamentöse Einschlüsse fanden. Der eine Patient, bei dem keine Elektronenmikroskopie durchgeführt wurde, erfüllte alle Kriterien einer sicheren Polymyositis bis auf die MHC-I/CD8-Prädominanz. Zusätzlich sprach er gut auf eine immunsuppressive Therapie an.

Tab. 25: Klassifizierung der Patienten nach den Kriterien von Mastaglia und Mitarbeitern [12]

Diagnostische Kriterien nach Mastaglia	Dermatomyositis	Polymyositis
Sicher	11/14	7/12
Wahrscheinlich	0/14	5/12 <sup>2</sup>
Möglich	2/14 <sup>1</sup>	0/12
Amyopathisch (nur Dermatomyositis)	1/14	-
Nicht klassifizierbar	0/14	0/12

<sup>1</sup> Bei einem Patienten wurden myohistologisch neben perifaszikulärer Atrophie eine überwiegend CD4-positive, jedoch mehr endomysial als perivaskulär/perifaszikulär gelegene Infiltrate nachgewiesen.

Bei dem anderen Patienten wurden myohistologisch keine Auffälligkeiten gefunden, weiterhin kein EMG durchgeführt und eine 22 fache CK-Erhöhung festgestellt, was mit einer amyopathischen Dermatomyositis nicht vereinbar war.

<sup>2</sup> Bei vier Patienten gab es einen untypischen histochemischen Befund mit deutlicher MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm, jedoch mit Prädominanz der CD4-positiven Infiltrate gegenüber den CD8-positiven Infiltraten. Die CD4-positiven Infiltrate waren jedoch im Gegensatz zur Dermatomyositis nicht perifaszikulär oder perivaskulär sondern endomysial nachweisbar.

Der fünfte Patient zeigte einen untypischen klinischen Befund mit distal betonter Tetraparese und auch vereinzelte *rimmed*-Vakuolen.

Alle Patienten bis auf einen ohne die Diagnose einer sicheren Polymyositis nach Mastaglia und Mitarbeitern wurden elektronenmikroskopisch untersucht, ohne dass sich filamentöse Einschlüsse fanden. Der eine Patient, bei dem keine Elektronenmikroskopie durchgeführt wurde, erfüllte alle Kriterien einer sicheren Polymyositis bis auf die MHC-I/CD8-Prädominanz. Zusätzlich sprach er gut auf eine immunsuppressive Therapie an.

Alle 9 Patienten mit sporadischer Einschlusskörpermyositis erfüllten die sicheren Kriterien sowohl nach Griggs und Mitarbeitern [23], als auch nach Mastaglia und Mitarbeitern [12].

## **4. METHODEN**

### **4.1. Färbungen**

#### **4.1.1. Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase-Doppelfärbung**

Reagenzien:

Cytochrom-C (Hersteller: Sigma, Bestellnummer: C-2506), 3,3- Diaminobenzidin (DAB)-Tabletts (Hersteller: Sigma, Bestellnummer: D5905, Menge: 10mg pro Tablette), Katalase (Hersteller: Serva; Bestellnummer: 26900; Menge: 1ml), Natriumsuccinat (Dinatriumsalz)  $(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  (Hersteller: Sigma, Bestellnummer: S-5047, Menge: 100mg), Nitroblau Tetrazolium (NBT) (Hersteller: Serva, Bestellnummer: 30550, Menge: 1g), Phenazinmethosulphat (PMS) (Hersteller: Serva, Bestellnummer: 32030, Menge: 1g), Natriumazid (Hersteller: Sigma, Bestellnummer: S-2002, Menge: 100g), Phosphatpuffer:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  (Molekulargewicht: 137,99), Saccharose, Roti Histokit II (Hersteller: Roth, Bestellnummer: T 160.1, Menge: 100ml).

#### **Cytochrom-c-Oxidase-Reaktion:**

0,05 M Natrium-Phosphatpuffer:

6,9g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  (Molekulargewicht 137,99) in 1000ml Aquadest lösen und auf pH 7,4 einstellen

COX-Inkubationsmedium:

10mg DAB und 9ml 0,05M Natrium-Phosphatpuffer, pH 7,4 sowie 750mg Saccharose werden auf einem Magnetrührer gründlich gemischt. Danach werden 2ml Katalase 1:1000 (5µl gründlich gemischte Stammlösung + 5ml Bidest) und 20 mg Cytochrom C zugegeben.

Das Inkubationsmedium wird in Eppendorfcups portioniert und bei  $-80^\circ\text{C}$  eingefroren.

1) 10µm dicke Muskelschnitte (auf einen mit Poly-L-Lysin beschichteten Objektträger) werden bis kurz vor der Färbung im  $-80^\circ\text{C}$  Tiefkühlschrank gelagert und danach direkt vor der Färbung für ca. 5 min. auf Zimmertemperatur gebracht.

2) Die Muskelschnitte werden danach mit einem Diamantschreiber umkreist, um eine Barriere für das COX-Inkubationsmedium zu schaffen.

3) 50µl COX-Inkubationsmedium werden auf jeden Schnitt gegeben und 60 min bei  $37^\circ\text{C}$  in

einer feuchten Kammer inkubiert.

4) Die Objektträger werden danach mit 0,05 M Natrium-Phosphatpuffer, pH 7,4 gespült.

### **Succinat-Dehydrogenase-Reaktion:**

70% Alkohol: 700 ml absoluter Alkohol + 300ml Aquadest mischen

SDH-Stammlösungen (bei -20°C lagern):

a) 0,1 M Phosphatpuffer (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>x H<sub>2</sub>O) pH 7,0

1,38g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>x H<sub>2</sub>O (Molekulargewicht 137,99) werden in 100ml Aquadest gelöst und auf pH 7,0 eingestellt.

b) 130 mM Natrium-Succinat (Dinatriumsalz) x 6H<sub>2</sub>O ( Molekulargewicht: 270,1 )

350 mg Natrium-Succinat (Dinatriumsalz) werden in 10ml 0,1 M Natrium-Phosphatpuffer gelöst, pH 7,0 eingestellt und à 150µl portioniert eingefroren.

c) 1,875 mM Nitroblau Tetrazolium (NBT) ( Molekulargewicht: 817,6 )

91,9 mg NBT werden in 60 ml 0,1 M Natrium-Phosphatpuffer gelöst, auf pH 7,0 eingestellt und à 800µl portioniert eingefroren.

d) 2 mM Phenazinmethosulphat (PMS) ( Molekulargewicht: 306 )

6,13mg PMS werden in 10ml 0,1 M Natrium-Phosphatpuffer gelöst, auf pH 7,0 eingestellt und à 150µl portioniert eingefroren. (Cave: PMS ist lichtempfindlich).

e) 100 mM Natriumazid (Molekulargewicht: 65,01 )

65mg Natriumazid werden in 10ml 0,1M Natrium-Phosphatpuffer gelöst, auf pH 7,0 eingestellt und à 40µl portioniert eingefroren.

SDH-Inkubationslösung:

zu 800µl der 1,875 mM NBT-Stammlösung werden 100µl der 130 mM Natrium-Succinat-Stammlösung, 100µl der 2 mM PMS-Stammlösung und 10µl der 100 mM Natriumazid-Stammlösung gegeben und gründlich gemischt.

5) Der Objektträger wird nach der COX-Reaktion vorsichtig um den Muskelschnitt herum abgetrocknet, danach werden je 50µl SDH-Inkubationslösung auf die Schnitte gegeben und 60min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert.

6) Der Objektträger wird kurz in Aquadest und danach in einer aufsteigenden Alkoholreihe gespült:

70% Alkohol ca. 10 sec.

96% Alkohol ca. 30 sec.

2mal in absolutem Alkohol je 2 min

2mal in Xylol

7) Die Objektträger werden mit Roti Histokit II eingedeckt.

#### 4.1.2. Modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung

Reagenzien:

Gill 3 Hämatoxylin (Hersteller: Thermo-SHANDON, Bestellnummer: 6765009, Menge 2x1 l), Fast Green FCF (Triarylmethan) reinst (Hersteller: SERVA, Bestellnummer: 21295, Menge: 5g), Chromotrop 2 R (Hersteller: FLUKA, Bestellnummer: 27140, Menge: 10g), Wolframatophosphorsäure-Hydrat (Hersteller: MERCK, Bestellnummer: 1.00583.100, Menge: 100g), Essigsäure 100% (Hersteller: MERCK, Bestellnummer: 1.00063.1000 E, Menge 1l), Roti Histokit II (Hersteller: Roth, Bestellnummer: T 160.1, Menge: 100ml)

**Gomori-Lösung:** 1,2g Chromotrop 2 R werden in 200ml Aquadest gelöst, danach 0,6g Fast Green FCF, 1,2g Wolframatophosphorsäure und 2,0ml 100% Essigsäure zugeben und mischen.

0,2% Essigsäure: 1ml Eisessigsäure in 500ml Aquadest lösen

*Vorbereitung:*

1) 5 µm dicke Muskelschnitte werden bis kurz vor der Färbung im Mikrotom gelagert und direkt vor der Färbung für ca. 5 min. auf Zimmertemperatur gebracht.

2) Die Objektträger werden in Hämatoxylin SHANDON<sup>o</sup>-Lösung für 5 min. gefärbt.

- 3) Die Objektträger werden gut in Leitungswasser gespült und danach für 10 min. in frischem Leitungswasser inkubiert.
- 4) Die Objektträger werden für 20 min. in Gomori-Lösung gefärbt.
- 5) Die Objektträger werden für 5 min. in 0,2% Essigsäure eingestellt.
- 6) Die Objektträger werden kurz in Aquadest, danach kurz in 96% Alkohol, dann je 2min in absolutem Ethanol gespült.
- 7) Anschließend werden die Objektträger zweimal in Xylol gespült.
- 8) Die Objektträger werden mit Roti Histokit II eingedeckt.

#### **4.2. Statistik**

Die statistische Analyse wurde mit dem Rank Sum Test mit Hilfe des Computerprogramms SigmaStat durchgeführt.

#### **4.3. Programm für die quantitative Analyse der Muskelfasern**

Es wurde zum Auszählen der Fasern das Programm AxioVision 3,1 von der Firma Zeiss benutzt. Eine Auszählung erfolgte unter 10-facher Vergrößerung in einem Kollektiv von mindestens 1000 Fasern in einer Färbungsmethode pro Patient durch einen Untersucher.

#### 4.4. Klassifikation der mitochondrial veränderten Muskelfasern

##### 4.4.1. Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase-Doppelfärbung

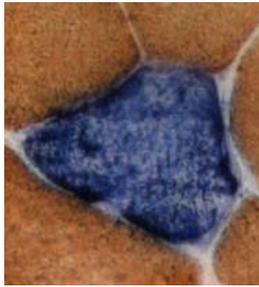


Abb. 13a

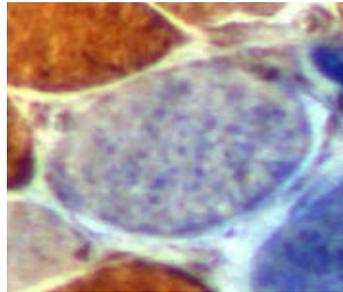


Abb. 13b

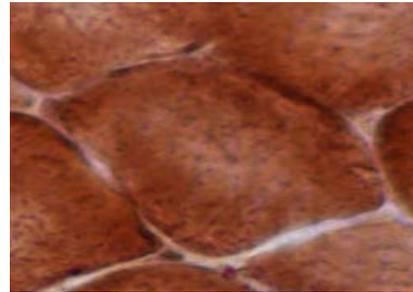


Abb. 13c

Abb. 13: Fasern in der Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase-Färbung:

a: COX-negative Fasern: dunkelblaue oder komplett blaue Fasern ohne braune Komponente

b: Intermediäre Fasern: braun-blaue Fasern

c: COX-positive (normale) Fasern: komplett braune Fasern

a) und b) zusammen werden als COX-defiziente Fasern bezeichnet.

In der COX/SDH-Doppelfärbung ließen sich COX-negative (dunkelblau) sowie intermediäre (braun-blau) Fasern identifizieren. In der vorliegenden Analyse wurden beide Fasern als COX-defiziente Fasern gefasst.

##### 4.4.2. Modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung

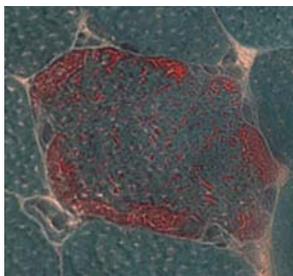


Abb. 14a



Abb. 14b

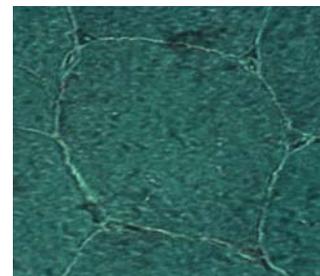


Abb. 14c

Abb. 14: Fasern in der modifizierten Gomori-Färbung:

a: Klassische *ragged-red*-Fasern: fuchsinophile Vermehrung subsarkolemmal und zerrissener Querschnitt

b: *ragged-red*-Fasern nur mit fuchsinophiler Vermehrung subsarkolemmal

c: Normale Faser

a) und b) zusammen werden als Fasern mit Mitochondrienakkumulation bezeichnet.

In der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung fanden sich die *ragged-red*-Fasern klassisch (fuchsinophile Vermehrung subsarkolemmal und zerrissener Querschnitt) und die *ragged-red*-Fasern, bei denen nur fuchsinophile Vermehrung subsarkolemmal nachgewiesen wurde. In der vorliegenden Analyse wurden beide Fasern als Fasern mit Mitochondrienakkumulation gefasst.

## 5. ERGEBNISSE

### 5.1. Patienten und Kontrollen

#### 5.1.1. Vermehrung der Fasern mit Mitochondrienakkumulation und der COX-defizienten Fasern

Bei den Kontrollen waren im Mittel 0,46% (Spanne: 0,1%- 0,9%) COX-defiziente Fasern nachweisbar. Fasern mit Mitochondrienakkumulation wurden im Mittel in 0,97% (Spanne: 0- 3%) aller Fasern festgestellt, während sich bei allen Patienten im Mittel 12,43% COX-defiziente Fasern und 4,34% Fasern mit Mitochondrienakkumulation finden ließen.

Die größte Vermehrung der Fasern mit Mitochondrienakkumulation in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung fand sich bei der Dermatomyositis (im Mittel 7,65%, Spanne: 0%- 42,5%) gefolgt von der Polymyositis (im Mittel 2,3%, Spanne 0%- 9,3%) und der Einschlusskörpermyositis (1,87%, Spanne: 0- 10,1%). In keiner der 3 Myositis-Gruppen fand sich jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Kontrollen.

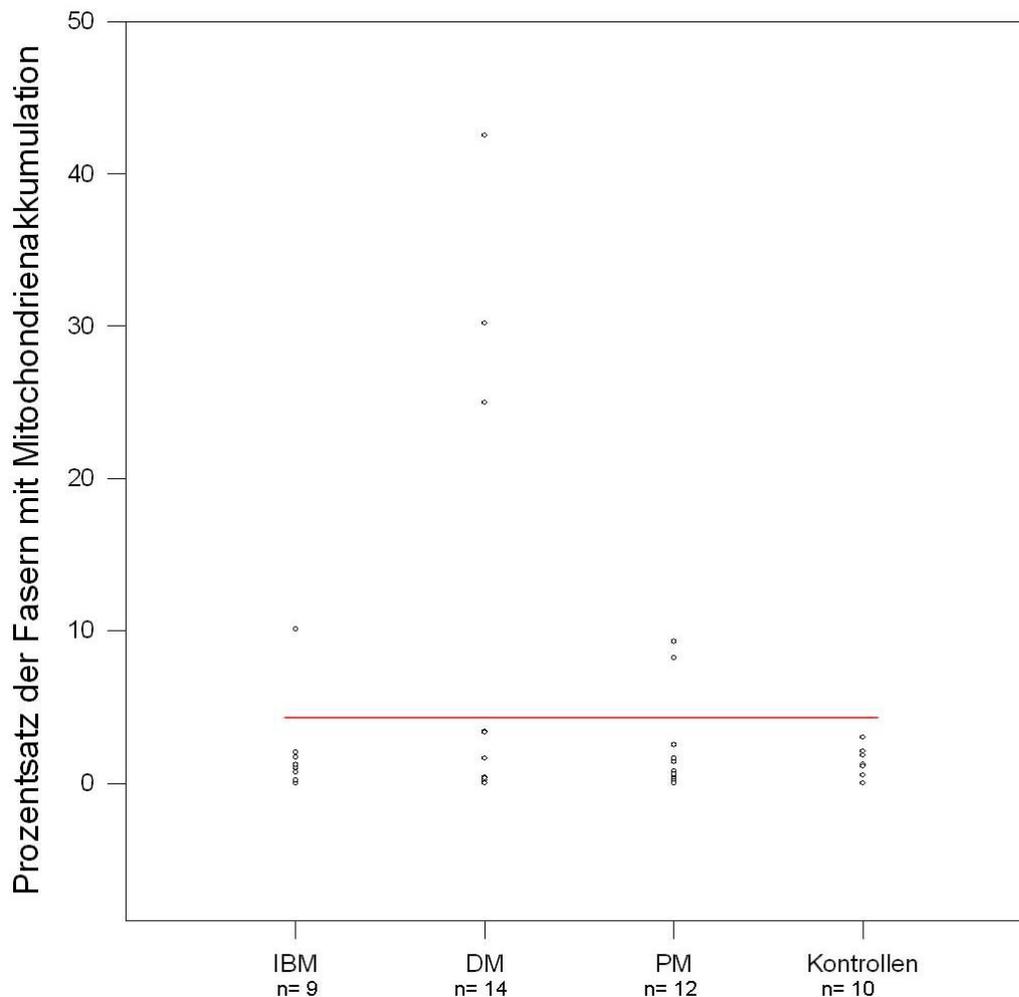


Abb. 15: Fasern mit Mitochondrienakkumulation bei allen drei Myositiden und Kontrollen  
Die rote Linie zeigt den Wert von 4,24%, der aus dem Mittelwert der Kontrollen (0,97) und drei Standardabweichungen (3x 1,06) berechnet wurde.

Der größte Anteil der COX-defizienten Fasern in der COX/SDH-Doppelfärbung wurde bei Patienten mit Dermatomyositis (im Mittel 17,5%; Spanne: 0,4%- 85,4%) nachgewiesen, gefolgt von denen mit Einschlusskörpermyositis (im Mittel 9,5%; Spanne: 1,4%- 19,4%) und Polymyositis (im Mittel 8,7%; Spanne: 0%- 31,7%), wobei sich der Unterschied gegenüber den Kontrollen nur im Falle einer Dermatomyositis und Einschlusskörpermyositis als statistisch signifikant erwiesen ( $p < 0,001$ ).

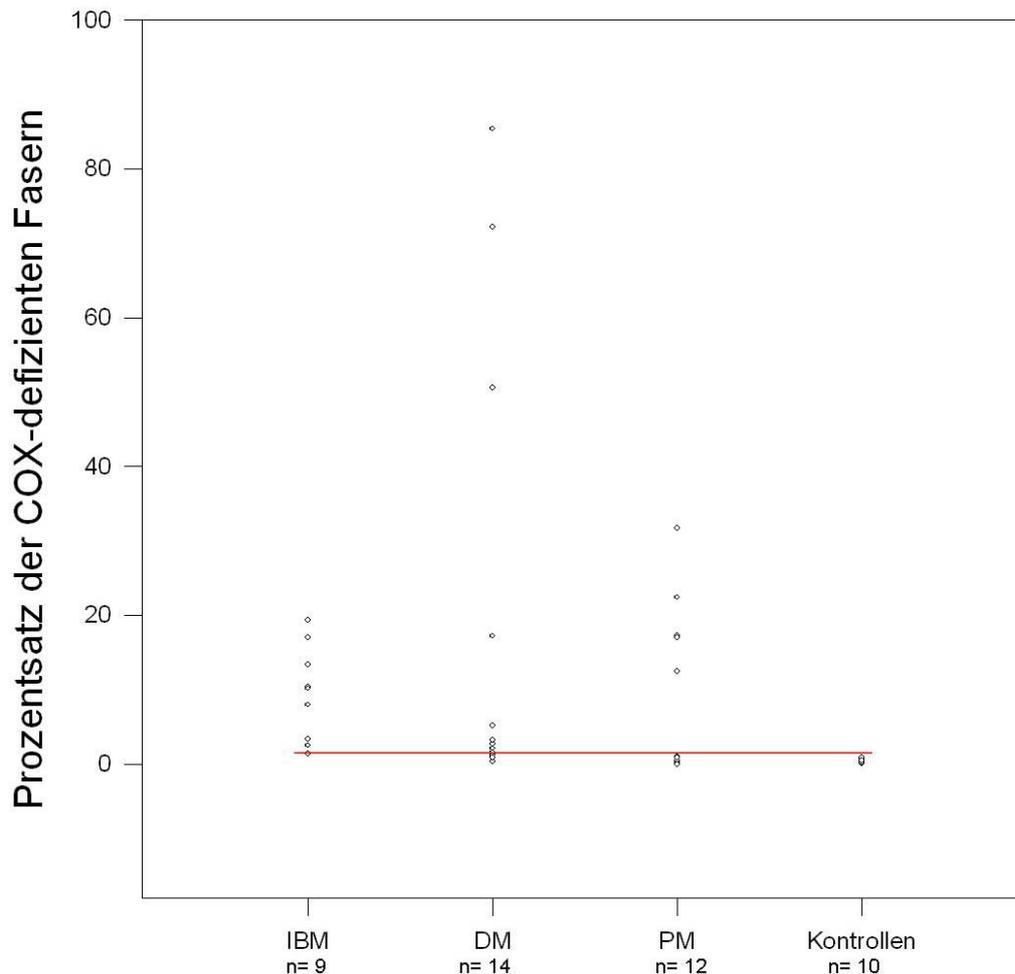


Abb. 16: COX-defiziente Fasern bei allen drei Myositiden und Kontrollen  
Die rote Linie zeigt den Wert von 1,18%, der aus dem Mittelwert der Kontrollen (0,46) und drei Standardabweichungen ( $3 \times 0,24$ ) berechnet wurde.

Basierend auf den Ergebnissen der Publikation von Blume und Mitarbeitern [101], die bei den Patienten mit Polymyositis zwei unterschiedliche Untergruppen in der COX/SDH-Doppelfärbung in Abhängigkeit von der Anzahl COX-negativer Fasern fanden, und aufgrund der fehlenden statistischen Signifikanz in der Vermehrung der Fasern mit Mitochondrienakkumulation bei den Patienten gegenüber den Kontrollen in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung wurde in dieser Dissertation auch nach Untergruppen mit vielen und wenigen mitochondrial veränderten Muskelfasern nur in der COX/SDH-Doppelfärbung

in jeder der drei Myositis-Gruppen gesucht. Der Grenzwert wurde aus dreifacher Standardabweichung ( $3 \times 0,24\%$ ) des Mittelwertes der Kontrollen ( $0,46\%$ ) berechnet und betrug  $1,18\%$ .

Die mitochondrial veränderten Muskelfasern in beiden Färbungen waren bei Patienten mit Dermatomyositis perifaszikulär betont lokalisiert. Diese Fasern kamen auch oft in durch entzündliche Infiltrate befallenen Arealen zur Darstellung. Das war jedoch keine Regel, weil die mitochondrial veränderten Muskelfasern auch nicht selten in Muskelproben mit geringen oder sogar fehlenden entzündlichen Infiltraten nachweisbar waren (wie z.B. bei einem von den zwei Patienten mit Dermatomyositis ohne myohistologische entzündliche Veränderungen, bei dem  $17,2\%$  COX-defiziente Fasern gefunden wurden).

Bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis waren dagegen die mitochondrial veränderten Fasern vorwiegend endomysial über das gesamte Blickfeld des Muskelpräparates verteilt. Sie kamen oft in durch entzündliche Infiltrate befallenen Arealen zur Darstellung, wobei das Ausmaß der Entzündung deutlich geringer als das Ausmaß mitochondrial veränderter Muskelfasern war.

Im Falle der Patienten mit Polymyositis waren die Fasern mit Mitochondrienakkumulation und die COX-defizienten Fasern ebenso vorwiegend endomysial über das gesamte Blickfeld des Muskelpräparates verteilt. Nur bei einem Patienten schien das Ausmaß mitochondrial veränderter Fasern und entzündlicher Infiltrate zu korrelieren. Bei dem Rest der Patienten waren diese Fasern zwar oft in durch entzündliche Infiltrate befallenen Arealen zu sehen, es kamen jedoch auch häufig myohistologische mitochondriale Veränderungen in einem sehr geringen Ausmaß bei Patienten mit sehr vielen endomysialen entzündlichen Infiltraten zur Darstellung (wie bei zwei Patienten mit sehr ausgeprägten entzündlichen Infiltraten, bei denen die COX-defizienten Fasern entweder nicht gefunden wurden oder bei  $1\%$  blieben).

#### 5.1.2. Korrelation zwischen den Fasern mit Mitochondrienakkumulation und den COX-defizienten Fasern

Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den COX-defizienten Fasern und den Fasern mit Mitochondrienakkumulation fand sich vor allem bei Patienten mit Dermatomyositis und in geringerem Ausmaß bei denen mit Polymyositis, während diese Korrelation bei den Patienten mit Einschlusskörpermyositis und bei den Kontrollen nicht gefunden wurde.

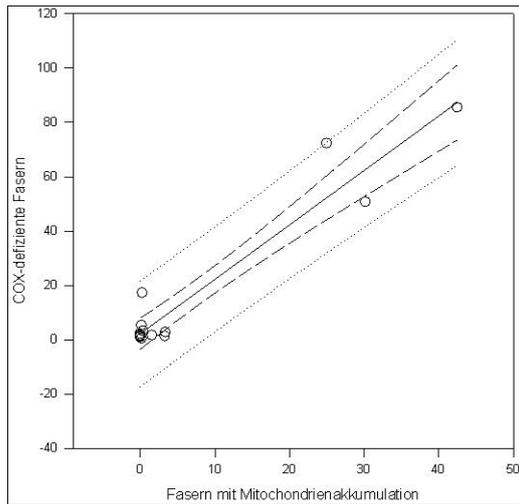


Abb. 17a: Dermatomyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,96$ ;  $p < 0,001$

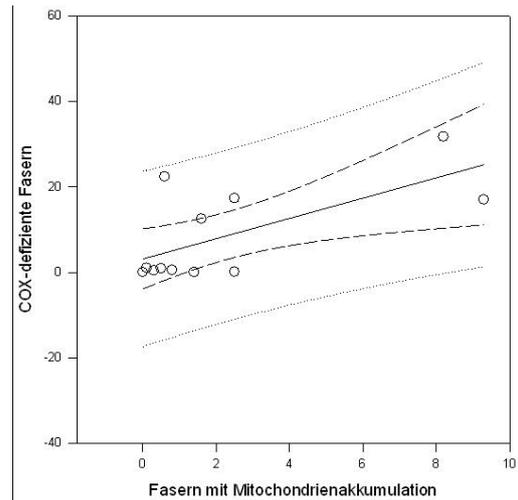


Abb. 17b: Polymyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,669$ ;  $p < 0,05$

Abb. 17: COX-defiziente Fasern vs. Fasern mit Mitochondrienakkumulation bei a) Dermatomyositis und b) Polymyositis

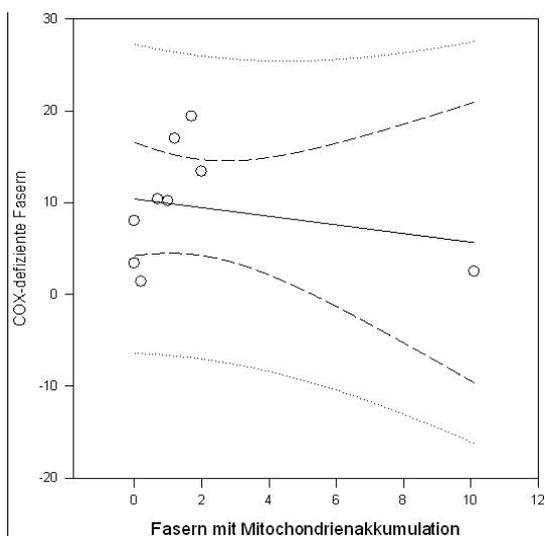


Abb. 18a: Einschlusskörpermyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,234$

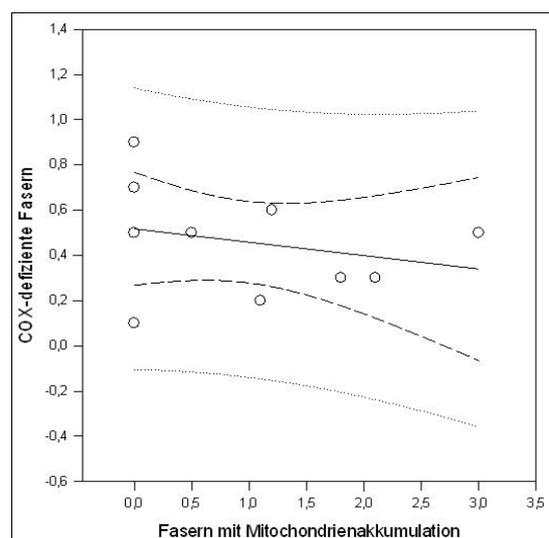


Abb. 18b: Kontrollen  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,261$

Abb. 18: COX-defiziente Fasern vs. Fasern mit Mitochondrienakkumulation bei a) Einschlusskörpermyositis und b) Kontrollen

Obwohl sich eine Korrelation zwischen beiden Fasergruppen nicht in jeder Gruppe fand, zeigte die Analyse derjenigen Präparate sowohl von Kontrollen, als auch von Patienten, die dieselben Muskelfasern enthielten, da sie aus den direkt übereinander liegenden Muskelschnitten stammten, dass die Fasern mit Mitochondrienakkumulation auch COX-defiziente Fasern waren.

### 5.1.3. Korrelation zwischen der Vermehrung COX-defizienter Fasern und dem Alter

Bis auf einen moderaten, jedoch nicht signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter und der Vermehrung der COX-defizienten Fasern bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis hat das Alter der Patienten und Kontrollen und die Ausprägung der myohistologischen mitochondrialen Veränderungen in der COX/SDH-Doppelfärbung nicht korreliert.

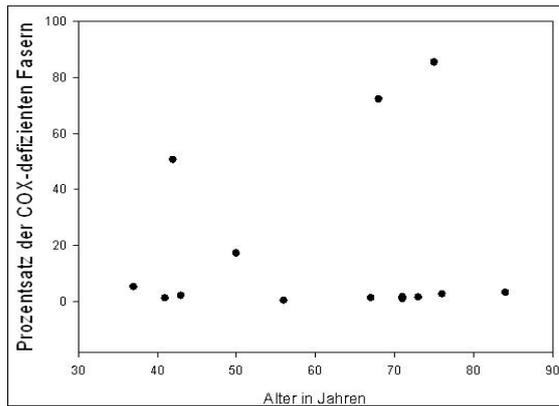


Abb. 19a: Dermatomyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,0885$

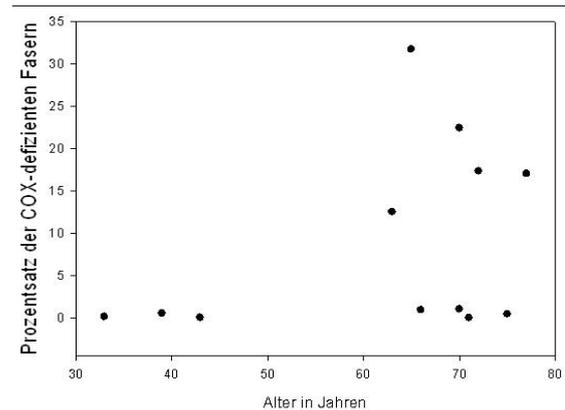


Abb. 19b: Polymyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,393$

Abb. 19: COX-defiziente Fasern vs. Alter bei a) Dermatomyositis und b) Polymyositis

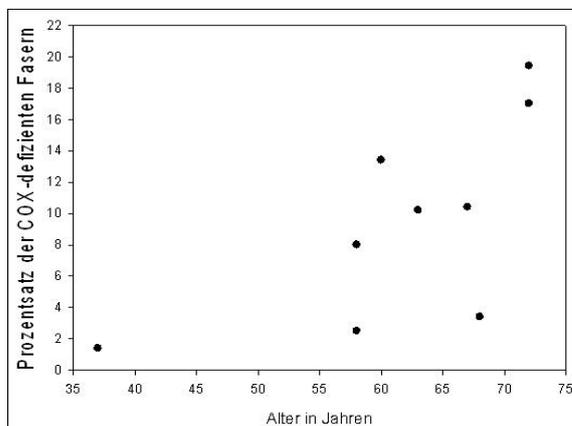


Abb. 20a: Einschlusskörpermyositis  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,679$

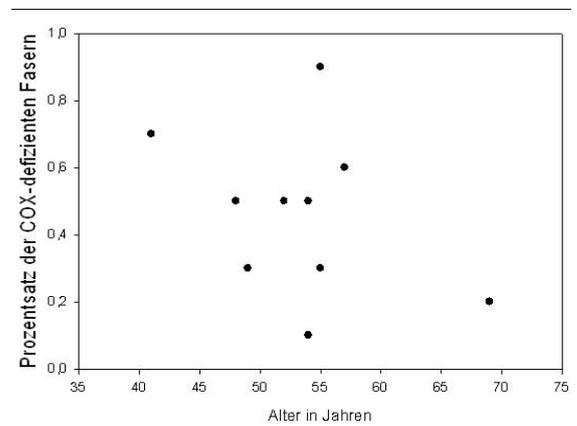


Abb. 20b: Kontrollen  
Korrelationskoeffizient  $r = 0,374$

Abb. 20: COX-defiziente Fasern vs. Alter bei a) Einschlusskörpermyositis und b) Kontrollen

## **5.2. Patienten mit Myositiden mit vielen und wenigen mitochondrialen Veränderungen in der COX/SDH-Doppelfärbung**

Auf der Basis des oben berechneten Grenzwertes 1,18% (Mittelwert der COX-defizienten Fasern der Kontrollen (0,46%) + dreifache Standardabweichung (3x 0,24%)) wurden alle in diese Doktorarbeit eingeschlossenen Patienten aus jeder Myositis-Gruppe in 2 Untergruppen eingeteilt [101]:

- Myositis mit vielen COX-defizienten Fasern (CDF)
- Myositis mit wenigen COX-defizienten Fasern (CDF)

### 5.2.1. Polymyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern

Bei den Patienten mit Polymyositis (PM) gab es in Bezug auf den Anteil der COX-defizienten Fasern zwei sich voneinander deutlich unterscheidenden Untergruppen:

- 5 Patienten mit einem sehr hohen Anteil an COX-defizienten Fasern (im Mittel 20,2%, Spanne: 12,5- 31,7%) und
- 7 Patienten mit einem niedrigen Anteil an COX-defizienten Fasern (im Mittel 0,41%, Spanne 0- 1,0%).

Die Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern waren älter (69,5 Jahre, Spanne 63- 76) als die mit wenigen COX- defizienten Fasern (56,5 Jahre; Spanne 32- 74). Der zeitliche Abstand zwischen dem Symptombeginn und der Diagnosestellung war in der ersten Untergruppe länger als in der zweiten Untergruppe (38,6 Monate (1- 10 Jahre) vs. 20,5 Monate (2 Monate- 7 Jahre)). Alle Patienten zeigten eine symmetrische Schwäche, wobei nur ein Patient mit Polymyositis mit vielen CDF eine distal betonte Tetraparese aufwies. Die Kreatinkinase-Werte waren bei den Patienten mit Polymyositis mit wenigen CDF statistisch signifikant höher als bei denen mit Polymyositis mit wenigen CDF (im Mittel 78,3  $\mu\text{mol/l}$ s (26,87- 125,77) vs. im Mittel 8  $\mu\text{mol/l}$ s (3,5- 17,10);  $p= 0,003$ ) (Abb. 21).

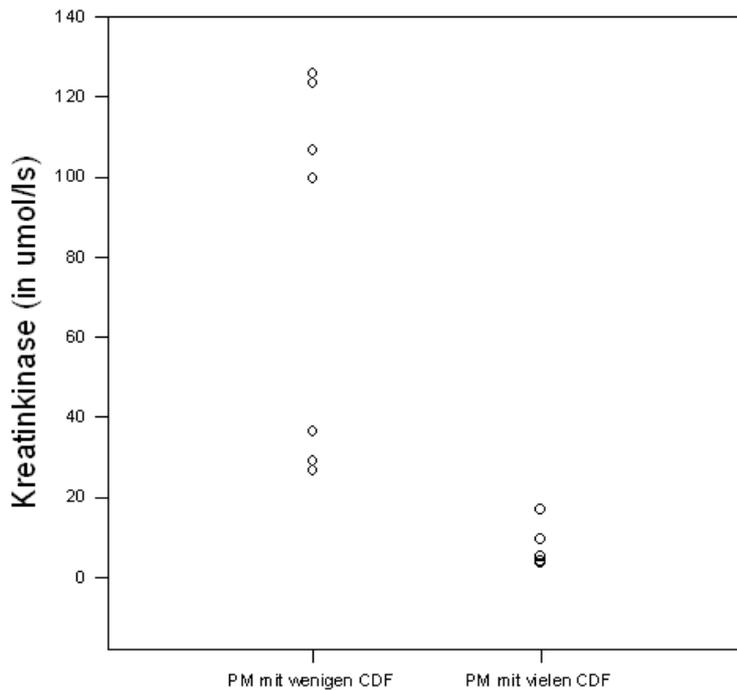


Abb. 21: Kreatinkinase bei Polymyositis (PM) mit vielen COX-defizienten Fasern (CDF) vs. Polymyositis mit wenigen COX-defizienten Fasern (CDF);  $p=0,003$

Lichtmikroskopisch in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung wurden bei allen Patienten überwiegend endomysiale Infiltrate festgestellt, wobei vereinzelte *rimmed*-Vakuolen bei einem Patienten mit vielen CDF nachgewiesen wurden. Immunhistochemisch gab es bei allen Patienten die MHC-I-Expression, wobei bei jeweils 2 Patienten aus beiden Untergruppen die endomysial gelegenen CD4-positiven Infiltrate über die CD8-positiven Infiltrate dominierten. Die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde bei 3 Patienten mit Polymyositis mit wenigen CDF und bei allen 5 mit vielen CDF durchgeführt. Autophagische Vakuolen wurden bei allen Patienten gefunden, während die 10- 20nm dicken tubulofilamentösen Einschlüsse bei keinen identifiziert wurden. Die systemische immunsuppressive Therapie vor allem mit Kortikosteroiden hat zur klinischen Befundbesserung bei 6 von 7 Patienten mit Polymyositis mit wenigen CDF und bei 2 von 5 mit Polymyositis mit vielen CDF geführt, während eine Patientin aus der zweiten Untergruppe die Therapie ablehnte. Dieser Unterschied zwischen den beiden Untergruppen erwies sich jedoch als statistisch nicht signifikant ( $p=0,222$ ).

### 5.2.2. Sporadische Einschlusskörpermyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern

Alle Patienten mit Einschlusskörpermyositis lagen mit dem Prozentsatz der COX-defizienten Fasern (Mittelwert 9,5%; Spanne: 1,4%- 19,4%) über dem Grenzwert von 1,18% COX-defizienten Fasern, so dass keine Untergruppen daraus resultierten.

### 5.2.3. Dermatomyositis mit vielen und wenigen COX-defizienten Fasern

Bei den Patienten mit Dermatomyositis gab es ebenso zwei Untergruppen in Bezug auf den Anteil der COX-defizienten Fasern:

- 2 Patienten mit einem niedrigen Anteil an COX-defizienten Fasern (im Mittel 0,65%; Spanne 0,4- 0,9%)
- 12 Patienten mit einem hohen Anteil an COX-defizienten Fasern (im Mittel 20,35%; Spanne: 1,2- 85,4%). 4 Patienten zeigten eine besonders ausgeprägte Erhöhung mitochondrial veränderter Muskelfasern: 85,4%, 72,2%, 50,6% und 17,2%, die nur in einem Fall von ausgeprägten entzündlichen Infiltraten begleitet wurde. Im myohistologischen Bild dieser Patienten gab es eine besonders ausgeprägte perifaszikulär gelegene mitochondriale Vermehrung.

Die Patienten mit Dermatomyositis mit wenigen und vielen COX-defizienten Fasern (CDF) waren ähnlichen Alters (63,5 Jahre (56- 71) vs. 60,5 Jahre (41- 76)). Das gute Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie, der lichtmikroskopische in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der immunhistochemische Befund, das klinische Bild mit Hautveränderungen und proximaler oder proximal betonter Muskelschwäche sowie der EMG-Befund zeigten keine wesentlichen Unterschiede in den beiden Untergruppen. Die Kreatinkinase-Werte bei Patienten mit Dermatomyositis mit wenigen CDF waren höher (im Mittel 68 (61- 75) vs. im Mittel 54,8 (0,7- 247,6), jedoch ohne statistische Signifikanz.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde insgesamt bei 5 Patienten durchgeführt (bei einem mit wenigen CDF und 4 mit vielen CDF). Bei 2 von 4 Patienten mit vielen CDF ließen sich autophagische Vakuolen und vergrößerte Mitochondrien mit alterierter Cristae-Architektur nachweisen. Die 10- 20nm dicken tubulofilamentösen Einschlüsse wurden nicht identifiziert.

## 6. DISKUSSION

Myohistologische mitochondriale Veränderungen bei Patienten mit nicht primären Mitochondriopathien, sondern mit anderen neuromuskulären Erkrankungen wurden erstmalig von Yamamoto und Mitarbeitern [107] berichtet. Die erste systemische Analyse myohistologischer mitochondrialer Veränderungen bei Patienten mit allen drei idiopathischen Myositiden mittels modifizierter Gomori-Trichrom-Färbung und COX/SDH-Doppelfärbung wurde von Chariot und Mitarbeitern [19] durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit basiert im Vergleich zu dieser Analyse auf einem größeren Patientenkollektiv, insbesondere in Bezug auf die Einschlusskörpermyositis. Außerdem umfasst die eigene Arbeit eine detaillierte Analyse klinischer, laborchemischer und Antikörper-Daten, was in der Publikation von Chariot und Mitarbeitern fehlt. Eine genaue Darstellung der Methodik vor allem hinsichtlich der Art der Quantifizierung mitochondrialer Veränderungen mit klarer Definition von Fasern mit Mitochondrienakkumulation in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung bzw. COX-defizienten Fasern in der COX/SDH-Doppelfärbung und die große Anzahl von analysierten Fasern (mindestens 1000 Fasern in einer Färbungsmethode pro Patient) stellt einen anderen Unterschied zu früheren Publikationen dar.

Sowohl die bisherigen Publikationen von Rifai und Mitarbeitern [77], Chariot und Mitarbeitern [19] und Miró und Mitarbeitern [104], die sich detailliert mit der quantitativen Analyse mitochondrial veränderter Muskelfasern beschäftigt haben, als auch die eigenen Ergebnisse zeigten, dass mitochondriale Veränderungen nicht nur bei sporadischer Einschlusskörpermyositis, sondern auch bei Polymyositis und Dermatomyositis nachgewiesen werden können. In der vorliegenden Studie wurden jedoch im Gegensatz zu den früheren Untersuchungen insgesamt mehr mitochondrial veränderte Muskelfasern gefunden, wobei die fehlenden Angaben zu genauen Kriterien beim Auszählen der Fasern in den bisherigen Publikationen einen genauen Vergleich deutlich erschweren.

Ein anderer Unterschied zu früheren Arbeiten stellte die Tatsache dar, dass der höchste Anteil sowohl der COX-defizienten Fasern als auch der Fasern mit Mitochondrienakkumulation in der Gomori-Färbung bei Patienten mit Dermatomyositis (im Mittel 17,5% und 7,65%) in dieser Dissertation nachweisbar war, gefolgt von Einschlusskörpermyositis (9,5% und 1,87%) und Polymyositis (8,7% und 2,3%). In den bisherigen Studien war hingegen der höchste Anteil mitochondrial veränderter Fasern in der Einschlusskörpermyositis, gefolgt von Dermatomyositis und Polymyositis.

## **Mitochondriale Veränderungen als Alterseffekt**

Obwohl die in diese Studie eingeschlossenen Patienten mit Myositiden im Durchschnitt um 8 Jahre älter als die Kontrollen (61,5 Jahre vs. 53,5 Jahre) waren, erklärt der kleine Altersunterschied nicht die großen Differenzen zwischen der Anzahl der mitochondrial veränderten Fasern bei Patienten und Kontrollen (im Mittel: 12,43% vs. 0,46% COX-defiziente Fasern und 4,34% vs. 0,97% Fasern mit Mitochondrienakkumulation), was darauf hinweist, dass die mitochondrialen Veränderungen bei den Patienten mit Myositiden keinen Alterseffekt darstellen, sondern als Folge anderer Prozesse wie z.B. Entzündung zu interpretieren sind.

Diese Schlussfolgerung zogen auch Rifai und Mitarbeiter [77], die nachwiesen, dass sich die Vermehrung myohistologischer mitochondrialer Veränderungen bei älteren Kontrollen gegenüber jüngeren Kontrollen als statistisch signifikant erwies. Diese Vermehrung war jedoch 14fach größer bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis gegenüber Kontrollen gleichen Alters.

Außerdem konnte in der vorliegenden Arbeit, bis auf einen moderaten Zusammenhang bei den Patienten mit Einschlusskörpermyositis, keine Korrelation zwischen dem Alter und der Ausprägung der mitochondrialen Veränderungen in den COX/SDH-Doppelfärbung gefunden werden.

## **Vergleich: modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung vs. kombinierte COX/SDH-Doppelfärbung**

In mehreren Publikationen [19, 77, 104] konnte gezeigt werden, dass es mehr mitochondrial veränderte Muskelfasern in der COX-, SDH- oder COX/SDH-Doppelfärbung (von 3 bis 6fach) als in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung gab. Außerdem ließ sich in den bisherigen Studien [19, 104] keine statistisch signifikante Erhöhung mitochondrialer Fasern in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung gegenüber den Kontrollen finden.

Auch in dieser Dissertation gab es keine statistisch signifikante Vermehrung mitochondrialer Fasern in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung zwischen der Kontrollgruppe und den Patientengruppen. Es scheint darauf hinzudeuten, dass die COX/SDH-Doppelfärbung eine empfindlichere Methode als die modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung in der myohistologischen Diagnostik zum Nachweis von Mitochondrien-Veränderungen darstellt. Aus diesem Grund wurden die Ergebnisse aus der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung

hinsichtlich der klinischen Daten bei Patienten mit vielen und wenigen mitochondrial veränderten Muskelfasern nicht gesondert analysiert.

Die kombinierte COX/SDH-Doppelfärbung stellt eine besonders wertvolle Methode dar, weil die mitochondrial veränderten Muskelfasern durch verminderte Aktivität der Cytochrom-c-Oxidase (Komplex IV der Atmungskette) und kompensatorisch erhöhte Aktivität der Succinat-Dehydrogenase (Komplex II der Atmungskette) blau zur Darstellung kommen, wodurch diese vor einem braunen Hintergrund gesunder Fasern einfacher zu erkennen sind. Die hellbraunen von braunen Fasern in der COX-Monofärbung und die hellblauen von dunkelblauen Fasern in der SDH-Monofärbung zu unterscheiden, ist nicht immer einfach.

Die *ragged-red*-Fasern in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung sind ein Merkmal einer Proliferation von Mitochondrien. Die meisten *ragged-red*-Fasern sind auch COX-negative Fasern, wobei Letztere nicht immer mit einer Mitochondrienproliferation einhergehen [109]. Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte die Analyse derjenigen Präparate, die dieselben Muskelfasern enthielten, da sie aus den direkt übereinander liegenden Muskelschnitten stammten, dass die Fasern mit Mitochondrienakkumulation auch COX-defiziente Fasern waren, obwohl eine Korrelation zwischen beiden Faserntypen im Falle der Patienten mit Dermatomyositis und in geringerem Ausmaß auch bei denen mit Polymyositis nachgewiesen werden konnte. Die strukturellen Anomalien der Mitochondrien gehen sowohl bei primären Mitochondriopathien, als auch bei Myositiden mit Funktionsveränderungen der drei Enzyme: COX (Reduktion der Aktivität), SDH (kompensatorische Erhöhung der Aktivität) und NADH (Reduktion der Aktivität) einher [105].

### **Mitochondriale Veränderungen bei Dermatomyositis**

Der Grund, warum der höchste Anteil der mitochondrial veränderten Muskelfasern in dieser Arbeit bei Patienten mit Dermatomyositis gefunden wurde, muss offen bleiben. Eine mögliche Ursache könnten mikrovaskuläre Ischämien sein, die zur Minderung der Sauerstoffversorgung für die Muskeln führen und dadurch für eine Dysfunktion der Mitochondrien verantwortlich sind. Diese mitochondrialen Veränderungen kommen am häufigsten im Bereich der perifaszikulären Atrophien zur Darstellung.

Chariot und Mitarbeiter [19] zeigten eine Korrelation zwischen der Ausprägung kapillärer Atrophie und der verminderten COX-Aktivität, was eine ischämische Pathogenese der mitochondrialen Veränderungen unterstützen sollte. Bei drei von den vier in dieser Studie

eingeschlossenen Patienten mit Dermatomyositis mit sehr vielen myohistologischen mitochondrialen Veränderungen (im Mittel: 17,2%, 85,4%, 72,2%, 50,6% COX-defiziente Fasern) konnte eine besonders ausgeprägte perifaszikuläre Muskelatrophie nachgewiesen werden, wobei ausgeprägte perifaszikuläre entzündliche Infiltrate nur bei einem von den 4 Patienten beobachtet wurde (Alter: 42 Jahre, 50,6% COX-defiziente Fasern). Diese 4 Patienten waren im Durchschnitt jünger (58,7 Jahre) als die übrigen 10 Patienten mit Dermatomyositis (62 Jahre), die Patienten mit Einschlusskörpermyositis (61,5 Jahre) und Polymyositis (62 Jahre), so dass der Alterungsprozess keine wesentliche Rolle bei der Vermehrung dieser mitochondrial veränderten Muskelfasern bei ihnen gespielt haben dürfte. Der Anteil der COX-defizienten Muskelfasern bei den restlichen 10 Patienten mit Dermatomyositis betrug im Mittel 2% und war kleiner im Vergleich zu Patienten mit Einschlusskörpermyositis (im Mittel: 9,5%) und Polymyositis (im Mittel: 8,7%).

Woo und Mitarbeiter [110] haben eine Vermehrung kleiner Mitochondrien in atrophischen perifaszikulär gelegenen Fasern bei Patienten mit Dermatomyositis gefunden. Die COX-Aktivität in diesen Muskeln war nur halb so hoch wie bei den Kontrollen.

Es ist bekannt, dass die Mitochondrien für eine Hypoxie sehr empfindlich sind und sehr früh auf einen hypoxischen Stress reagieren. Es wurde sogar postuliert, dass die mitochondriale COX-Aktivität als eine Art Sensor einer Hypoxie angesehen werden soll [109]. Das alles lässt daran denken, dass die Muskelischämie bei Patienten mit Dermatomyositis Folge von perivaskulärer Entzündung, kapillärer Nekrose, Hyperplasie der Gefäßintima und schließlich Gefäßokklusion ist.

In der Studie von Miró und Mitarbeitern [104] wurde auch eine biochemische Analyse von Muskelgewebe von Patienten mit Dermatomyositis durchgeführt. Diese zeigte jedoch im Gegensatz zur myohistologischen Untersuchung eine normale Funktion der Enzyme der Atmungskette, vor allem des Komplexes V (ATP-Synthase), was darauf zurückzuführen ist, dass das Ausmaß myohistologischer mitochondrial veränderter Muskelfasern (im Durchschnitt 0,82% COX-negative Fasern) nicht groß genug war, um eine in der enzymatischen Untersuchung erfassbare Funktionsstörung verursachen zu können. Möglicherweise spiegelt sich ein COX-Defekt biochemisch bei Patienten mit einem hohen Anteil COX-negativer Fasern wieder.

Zur weiteren Klärung der Ätiologie mitochondrialer Vermehrung bei Patienten mit Dermatomyositis könnte eine molekulargenetische Analyse der Deletionen der mtDNA und ihren Zusammenhang mit myohistologischen mitochondrialen Veränderungen beitragen.

## **Mitochondriale Veränderungen bei Einschlusskörpermyositis**

Der genaue Mechanismus für die Entstehung der mitochondrialen Veränderungen bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis muss ebenso offen bleiben. Es ist bekannt, dass es im Alter zu einer Akkumulation von Mutationen sowohl der mtDNA, als auch der nukleären DNA kommt, die zu einer mitochondrialen Dysfunktion beitragen [111]. Da die Einschlusskörpermyositis die häufigste erworbene Myopathie nach dem 50. Lebensjahr ist, sollen unter anderen auch Alterungsprozesse zu den mitochondrialen Dysfunktionen beitragen, wobei der Vergleich zu gesunden Kontrollen ähnlichen Alters [19, 77] daran denken lässt, dass ein anderer, bis jetzt nicht bekannter Prozess die Hauptrolle dabei spielt. Es ist denkbar, dass der Prozess auch mit einer mikrovaskulären Ischämie verbunden ist, wobei eine Vaskulitis im Falle einer Einschlusskörpermyositis, wenn überhaupt vorkommend, deutlich weniger ausgeprägt ist als bei der Dermatomyositis. Sicherlich werden auch immunvermittelte Prozesse zu mitochondrialen Veränderungen beitragen. Diese aber dürften aufgrund eines geringeren Ausmaßes an entzündlichen Infiltraten bei Einschlusskörpermyositis im Vergleich zu Polymyositis, bei der laut den bisherigen Studien weniger mitochondrial veränderte Muskelfasern nachgewiesen wurden, auch nicht im Vordergrund stehen. Außerdem konnte eine Korrelation zwischen der Ausprägung einer Muskelentzündung und des Ausmaßes der mitochondrialen Veränderungen nicht gefunden werden [19]. Möglicherweise sind die mitochondrialen Veränderungen bei Einschlusskörpermyositis Folge einer für neurodegenerative Erkrankungen typischen übermäßigen Produktion an freien Radikalen. Dadurch würde die Einschlusskörpermyositis primär zu den degenerativen und sekundär zu entzündlichen Erkrankungen zählen. Ein schlechtes Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis könnte die letzte Hypothese unterstützen. Die immunhistochemische Ähnlichkeit zwischen Polymyositis und Einschlusskörpermyositis (CD8-positive endomysiale Infiltrate, MHC-I-Expression auf dem Sarkolemm) ist jedoch mit dieser These nicht ganz vereinbar. Sie unterstützt eher die entzündliche Reaktion als den primären Prozess in der Pathogenese der Einschlusskörpermyositis.

Oldfors und Mitarbeiter [105] haben bewiesen, dass COX-negative Fasern eine hohe Zahl von Mutationen der mtDNA bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis aufweisen. Der Anteil der Deletionen der mtDNA ist in COX-negativen Fasern am höchsten. Zum Mangel an der Cytochrom-c-Oxidase kann es nicht nur durch Deletionen, die die Strukturgene der 3 Untereinheiten dieses Enzyms erfassen, sondern auch durch Deletionen, die tRNA-Gene

betreffen, kommen. Dies führt zu einer Reduktion der tRNA und später zu einer Reduktion der Transkripte und schließlich zum Mangel an Cytochrom-c-Oxidase. Eine Korrelation zwischen dem Anteil der COX-negativen Fasern und der Dauer der Erkrankung oder der Muskelschwäche konnte auch nicht gefunden werden. Interessanterweise wurde der höchste Prozentsatz der COX-negativen Fasern in Muskelregionen mit vielen entzündlichen Infiltraten gefunden, was darauf hindeutet, dass der entzündliche Prozess möglicherweise einen Einfluss auf die Entstehung der mitochondrialen Veränderungen bei Einschlusskörpermyositis hat. Moslemi und Mitarbeiter [106] analysierten Deletionen der mtDNA bei 4 Patienten mit Einschlusskörpermyositis und fanden, dass sich die Bruchpunkte im Falle multipler Deletionen der mtDNA nicht von denen der primären Mitochondropathien oder von denen, die im Alter vorkommen, unterscheiden. Die häufigste identifizierte Deletion war die sogenannte *common deletion*, die 4977 Basenpaare der mtDNA umfasst.

Die Rolle der Deletionen der mtDNA und der COX-negativen Fasern in der Pathogenese der Einschlusskörpermyositis bleibt unklar, insbesondere der Faktor, der die Deletionen auslöst. Die Analyse der nukleären Gene für Adeninnucleotid-Translocator 1, Twinkle-Protein und Polymerase Gamma, deren Mutationen zu multiplen Deletionen der mtDNA führen, deckte bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis keine Mutationen auf [112]. Man kann spekulieren, ob es sich um einen anderen nicht unbedingt genetischen Faktor handelt, der die Funktion der oben genannten Genprodukte und als Folge dessen die Kommunikation zwischen nukleärem und mitochondrialem Genom beeinträchtigt [113], was dann zur Störung der Integrität der mtDNA führt [114]. Es ist jedoch eher unwahrscheinlich, dass mitochondriale Veränderungen eine primäre Rolle bei der Entstehung der Einschlusskörpermyositis spielen, weil bei primären Mitochondropathien keine entzündlichen Veränderungen in Muskelbiopsien zu finden sind. Außerdem ist der Anteil der Mutationen der mtDNA bei Einschlusskörpermyositis im Gegensatz zu primären Mitochondropathien nicht so groß, dass die Funktion der oxidativen Phosphorylierung im Muskel in größerem Ausmaß gestört sein sollte [115].

Da die Bruchpunkte der Mutationen bei Einschlusskörpermyositis und im Alter identisch sind, müssen die Unterschiede quantitativer Natur sein [113]. Man kann daher die molekulargenetischen und myohistologischen mitochondrialen Veränderungen als beschleunigte Alterung interpretieren. So gesehen sollten die mitochondrialen Veränderungen bei der Einschlusskörpermyositis und im Alter für eine Muskelschwäche und Atrophie verantwortlich sein. Vielleicht stellt das Amyloid-Prekursor-Protein, das in den *rimmed*-Vakuolen gefunden wird, und dessen Gen bei Einschlusskörpermyositis hochreguliert ist,

einen zusätzlichen Faktor dar, der die Funktion der Atmungskettenenzyme beeinträchtigt [115].

### **Mitochondriale Veränderungen bei Polymyositis**

Die Ursache der mitochondrialen Vermehrung bei Patienten mit Polymyositis ist ebenso unklar. Sicherlich werden immun-vermittelte Prozesse dabei eine Rolle spielen, wobei wie oben beschrieben eine Korrelation zwischen der Ausprägung einer Muskelentzündung und des Ausmaßes der mitochondrialen Veränderungen nicht gefunden werden konnte [19].

Außerdem wird die Interpretation der Ergebnisse aus dieser Studien und den Publikationen, in denen die Untergruppe der Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern identifiziert wurde [18, 101], dadurch erschwert, dass die klare Definition der Polymyositis fehlt. Es wurde postuliert, dass diese Diagnose zu häufig gestellt wird [10]. Dalakas und Mitarbeiter [9] schlugen daher vor, dass das entscheidende bei der Diagnosestellung einer Polymyositis die myohistologische Untersuchung mit Nachweis endomysial gelegener entzündlicher Infiltrate, fehlender *rimmed*-Vakuolen und vor allem immunhistochemischer Prädominanz der CD8-positiven Infiltrate und MHC-I-Expression sein soll. Den gleichen immunhistochemischen Befund (Prädominanz der CD8-positiven Infiltrate und MHC-I-Expression) weisen jedoch auch Patienten mit Einschlusskörpermyositis auf. Würde es also reichen, als das wichtigste differentialdiagnostische Merkmal der beiden Krankheiten das Vorhandensein von *rimmed*-Vakuolen zu nehmen? Die Wahrscheinlichkeit der Identifizierung von *rimmed*-Vakuolen bei Patienten mit sicherer Einschlusskörpermyositis laut den Kriterien nach Griggs hängt jedoch von der Biopsiestelle ab und wird am häufigsten im Falle einer Biopsie aus dem Musculus quadriceps femoris gefunden [103]. Auf der anderen Seite wurden *rimmed*-Vakuolen auch selten bei der Dermatomyositis [15] und Polymyositis [16] gefunden. Ein anderes diagnostisches Merkmal der Einschlusskörpermyositis sind Amyloid-Ablagerungen in der Kongo-rot-Färbung. Diese können jedoch zwar viel seltener auch bei Polymyositis vorkommen [18]. Weiterhin werden die typischen für die Einschlusskörpermyositis positiven Antikörper gegen SMI-31 auch bei Patienten mit Polymyositis identifiziert [18]. Ein weiteres Charakteristikum der Einschlusskörpermyositis sind die elektronenmikroskopisch nachweisbaren 15-18nm dicken filamentösen Einschlüsse. Diese lassen sich im Falle von Myositiden nur bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis finden und fehlen bei denen mit Polymyositis oder Dermatomyositis [31]. Das deutet darauf hin, dass die Elektronenmikroskopie mehr

Sicherheit bei der Differenzierung vor allem zwischen Polymyositis und Einschlusskörpermyositis als allein die Suche nach *rimmed*-Vakuolen liefert.

So wurden die 15- 21 nm dicken filamentösen Einschlüsse in den Studien von Chariot und Mitarbeitern [19] und Rifai und Mitarbeitern [77] elektronenmikroskopisch nachgewiesen. Dagegen wurden die 10 Patienten mit Polymyositis mit klinischen (Quadriceps-Schwäche, schlechtes Ansprechen auf immunsuppressive Therapie), laborchemischen (diskrete Erhöhung des Kreatinkinase-Wertes), histologischen (viele, d.h. 4,2- 27,4% COX-negative Fasern) und molekulargenetischen (bei 90% der Patienten Nachweis von Deletionen der mtDNA) Hinweisen auf eine Einschlusskörpermyositis aus der Publikation von Blume und Mitarbeitern [101] elektronenmikroskopisch nicht untersucht. Die Autoren schlossen jedoch eine Einschlusskörpermyositis aufgrund der fehlenden *rimmed*-Vakuolen und der fehlenden Amyloid-Ablagerungen in der Kongo-rot-Färbung aus und nahmen an, dass es sich möglicherweise um eine neue Krankheitsentität handelt. Somit ist es bei diesen Patienten nicht klar, ob und wie viele dieser an einer Einschlusskörpermyositis litten. Nicht überraschend ist es daher, dass in einer Folgestudie [18] die Diagnose von 4 Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern nach einer zweiten Biopsie in eine Einschlusskörpermyositis revidiert werden musste, weil die *rimmed*-Vakuolen dabei festgestellt wurden. Diese bei der erneuten Biopsie identifizierten *rimmed*-Vakuolen zusammen mit dem Nachweis von  $\alpha\beta$ -Crystallin und von LC3 (Autophagiemarker)-positiven Aggregaten sowohl bei Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern, als auch bei Einschlusskörpermyositis erlaubt laut den Autoren, an eine gemeinsame Pathogenese beider Krankheiten zu denken.

### **Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern**

In der vorliegenden Arbeit wurde auch eine solche Gruppe von 5 Patienten mit Polymyositis mit vielen mitochondrial veränderten Muskelfasern in der COX/SDH-Doppelfärbung gefunden. Im Gegensatz zu den Arbeiten von Blume und Mitarbeitern [101] und Temiz und Mitarbeitern [18] hat sich die Gruppe der Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern von der mit Einschlusskörpermyositis nicht nur (bis auf einen Patienten mit vereinzelt *rimmed*-Vakuolen) in fehlenden *rimmed*-Vakuolen, sondern auch in fehlenden filamentösen Einschlüssen in der elektronenmikroskopischen Untersuchung unterschieden. Da diese 5 Patienten nur einmal biopsiert wurden, muss es offen bleiben, ob diese Einschlüsse in den zukünftigen Biopsien zur Darstellung kommen würden und als

Folge dessen die neue Diagnose einer Einschlusskörpermyositis bei ihnen gestellt werden würde.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen aus der Arbeit von Temiz und Mitarbeitern [18], in der die Patienten mit Einschlusskörpermyositis die ältesten (63 Jahre) waren, gefolgt von denen mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern (60 Jahre) und klassischer Polymyositis (56 Jahre), waren in dieser Dissertation die Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern die älteste Patientengruppe (im Durchschnitt 69,5 Jahre), gefolgt von denen mit Einschlusskörpermyositis (61,5 Jahre) und Polymyositis mit wenigen COX-defizienten Fasern („klassische Polymyositis“; 56,5 Jahre). Ein anderer Unterschied dieser Dissertation stellt die Erhöhung des Kreatinkinase-Wertes dar, die bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis (2,78 fach) und Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern (2,85fach) fast identisch und viel kleiner als bei klassischer Polymyositis (30fach) war.

Das Vermehrungsmuster der myohistologischen mitochondrialen Veränderungen zeigte auf der anderen Seite viele Ähnlichkeiten zwischen der Arbeit von Temiz und Mitarbeitern [18] und dieser Dissertation. Denn, der höchste Anteil der COX-defizienten Fasern wurde bei Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern (20,2% in der Dissertation und 10,2% in der Arbeit von Temiz und Mitarbeitern) gefunden, gefolgt von Einschlusskörpermyositis (9,5% und 4,8%) und klassischer Polymyositis (0,41% und 0,02%). Die Progression der Erkrankung gemessen an der Zeit zwischen Beginn der Beschwerden und Diagnosestellung war die langsamste bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis (42 Monate), gefolgt von Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern (38,6 Monate) und klassischer Polymyositis (20,5 Monate). Das könnte auch die These von Temiz und Mitarbeitern [18] unterstützen, dass mitochondriale Veränderungen zu einer langsameren Progression beitragen, wobei die Patienten mit Einschlusskörpermyositis in dieser Dissertation weniger COX-defizienten Fasern als die mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern aufwiesen und trotzdem die langsamste Progression hatten.

In den Studien von Blume und Mitarbeitern [101] sowie Temiz und Mitarbeitern [18] sprachen alle Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-negativen Fasern schlecht auf eine immunsuppressive Therapie an. Auch in dieser Dissertation wurde eine Besserung infolge einer immunsuppressiven Therapie nur bei 2 Patienten beobachtet, während 6 von 7 Patienten mit „klassischer“ Polymyositis und keiner mit Einschlusskörpermyositis gut auf eine Therapie ansprachen. Allerdings war diese möglicherweise aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant. Dieses Ergebnis kann die Schlussfolgerung aus den früheren Publikationen unterstützen, dass mitochondriale Veränderungen zu einem schlechten Ansprechen auf eine

immunsuppressive Therapie bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis und Polymyositis beitragen. Man kann spekulieren, ob man in solchen Fällen bei im Vorfeld bekannter schlechter Wirksamkeit auf eine Therapie mit Kortikosteroiden oder Azathioprin verzichten soll, um daraus resultierende Nebenwirkungen zu vermeiden.

Aufgrund des überwiegend perifaszikulären Verteilungsmusters der mitochondrialen Veränderungen und aufgrund des trotz oft ausgeprägteren mitochondrialen Vermehrung guten Ansprechens auf eine Therapie mit Immunsuppressiva bei Patienten mit Dermatomyositis ist es denkbar, dass der Mechanismus, der zu einer mitochondrialen Vermehrung bei ihnen führt, sich von dem bei der Einschlusskörpermyositis oder Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern unterscheiden muss.

Auch die Befunde der klinischen Untersuchung von Temiz und Mitarbeitern [18] stimmten mit den Befunden dieser Dissertation nicht überein. Die Patienten mit Polymyositis mit COX-defizienten Fasern aus dieser Studie wiesen nicht eine besonders ausgeprägte Schwäche im Bereich des M. quadriceps femoris und der Fingerflexoren, sondern vor allem eine proximal oder proximalbetonte (60%), aber auch distal oder distalbetonte Schwäche (40%) auf.

Elektronenmikroskopisch fand sich in dieser Dissertation meistens ein Korrelat zu myohistologischen Befunden. Ausgeprägte mitochondriale Veränderungen wurden bei 6 von 9 Patienten mit Einschlusskörpermyositis, 2 von 5 Patienten mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern und keinen von den 3 untersuchten Patienten mit „klassischer“ Polymyositis gefunden. Autophagische Vakuolen wurden bei allen Patienten nachgewiesen, wobei sich ausgeprägte vakuoläre Veränderungen bei 7 Patienten mit Einschlusskörpermyositis und einem Patienten mit klassischer Polymyositis identifizieren ließen.

Zusammenfassend konnte in dieser Dissertation das Vorhandensein einer Patientengruppe mit Polymyositis mit vielen COX-defizienten Fasern bestätigt werden. Die 5 Patienten wurden nur einmal biopsiert, sodass es offen bleiben muss, ob im weiteren Verlauf filamentöse Einschlüsse gefunden werden würden und ob es sich tatsächlich um eine neue Entität handelt oder alternativ um das frühe Entwicklungsstadium einer Einschlusskörpermyositis.

## 7. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Myohistologische Mitochondriale Veränderungen werden nicht nur bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis, sondern auch bei denen mit Polymyositis und vor allem mit Dermatomyositis gefunden. Diese sind Folge von Prozessen, die dieser entzündlichen Muskelkrankheiten zugrunde liegen und nicht als Alterseffekt zu interpretieren.

Unter den myohistologischen diagnostischen Methoden zum Nachweis einer mitochondrialen Pathologie ist die COX/SDH-Doppelfärbung der modifizierten Trichrom-Färbung nach Gomori in Bezug auf die Sensitivität überlegen.

Die Polymyositis als Entität ist heterogen. Sie umfasst Patienten mit vielen und wenigen mitochondrialen Veränderungen, die unterschiedliche klinische und laborchemische Charakteristika aufweisen einschließlich Ansprechen auf die Therapie mit Immunsuppressiva. Die Gruppe mit vielen myohistologisch nachgewiesenen mitochondrialen Veränderungen ähnelt den Patienten mit Einschlusskörpermyositis in Bezug auf das schlechte Ansprechen auf die Therapie mit Immunsuppressiva. Das lässt daran denken, dass die mitochondrialen Veränderungen bei Polymyositis und Einschlusskörpermyositis mit schlechtem Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie assoziiert sind. Es muss offen bleiben, ob es sich im Falle einer Gruppe von Patienten mit Polymyositis mit vielen myohistologischen mitochondrialen Veränderungen um eine neue Krankheitsentität oder ein Übergangsstadium zwischen Polymyositis und Einschlusskörpermyositis handelt.

Obwohl die höchste Vermehrung der mitochondrialen Veränderungen in der myohistologischen Untersuchung bei Patienten mit Dermatomyositis gefunden wurde, muss diese anderer Ätiologie im Vergleich zu Patienten mit Polymyositis und Einschlusskörpermyositis sein, wofür das perifaszikuläre Verteilungsmuster der mitochondrialen Veränderungen und das gute Ansprechen auf die immunsuppressive Therapie spricht.

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Wagner EL (1863) Fall einer seltenen Muskelkrankheit. *Archiv der Heilkunde*. 4:282-283.
- [2] Hepp P (1887) Über Pseudotriginose, eine besondere Form von acuter parenchymatöser Polymyositis *Berliner Klinische Wochenschrift*. 17:297- 299 und 18:322- 326.
- [3] Unverricht H (1887) Polymyositis acuta progressiva. *Zeitschrift für klinische Medizin*. 12:533- 549.
- [4] Unverricht H (1891) Dermatomyositis acuta. *Deutsche medizinische Wochenschrift*. 17: 41–44.
- [5] Adams RD, Kakulas BA, Samaha FA (1965) A myopathy with cellular inclusions. *Trans Am Neurol Assoc*. 90:213-6.
- [6] Yunis EJ, Samaha FJ (1971) Inclusion body myositis. *Lab Invest*. 25:240-8.
- [7] Bohan A, Peter JB (1975) Polymyositis and Dermatomyositis. *N Engl J Med*. 292:344-7.
- [8] Dalakas MC, Hohlfeld R (2003) Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet*. 362:971-82.
- [9] Dalakas MC (June 16-20, 2007) Workshop on muscle and neuromuscular junction disorders, 17th Meeting of the ENS, Rhodes.
- [10] van der Meulen MF, Bronner IM, Hoogendijk JE, Burger H, van Venrooij WJ, Voskuyl AE, Dinant HJ, Linssen WH, Wokke JH, de Visser M (2003) Polymyositis: an overdiagnosed entity. *Neurology*. 61:316-21.
- [11] Pestronk A, Schmidt RE, Choksi R. Vascular pathology in dermatomyositis and anatomic relations to myopathology. *Muscle Nerve*. 2010;42:53-61.
- [12] Mastaglia FL, Phillips BA (2002) Idiopathic inflammatory myopathies: epidemiology, classification, and diagnostic criteria. *Rheum Dis Clin North Am*. 28:723-41.
- [13] Uthman I, Vazquez-Abad D, and Senecal J-L (1996) Distinctive Features of Idiopathic Inflammatory Myopathies in French Canadians. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, Vol 26, No 1, 447-458.
- [14] Blijham PJ, Hengstman GJD, Hama-Amin AD, van Engelen BGM, Zwarts MJ (2006) Needle Electromyographic Findings in 98 Patients with Myositis. *Eur Neurol*. 55:183–188.
- [15] Talanin NY, Bushore D, Raspberry R, Rudolph T, Tuli M, Friedmann-Musicante R (1999) Dermatomyositis with the features of inclusion body myositis associated with carcinoma of the bladder. *Br J Dermatol*. 141:926–930.
- [16] Fukuhara N, Kumamoto T, Tsubaki T (1980) Rimmed vacuoles. *Acta Neuropathol*. 51:229-35.
- [17] Benatar M. *Neuromuscular Diseases Evidence and Analysis in Clinical Neurology*. Totowa, New Jersey: Humana Press. 2006, p. 356.
- [18] Temiz P, Wehl CC, Pestronk A (2009) Inflammatory myopathies with mitochondrial pathology and protein aggregates. *J Neurol Sci*. 278:25-9.
- [19] Chariot P, Ruet E, Authier FJ, Labes D, Poron F, Gherardi R (1996) Cytochrome c oxidase deficiencies in the muscle of patients with inflammatory myopathies. *Acta Neuropathol*. 91:530-6.
- [20] Alhatou MI, Sladky JT, Bagasra O, Glass JD (2004) Mitochondrial abnormalities in dermatomyositis: characteristic pattern of neuropathology. *J Mol Histol*. 35:615-9.
- [21] Euwer RL, Sontheimer RD (1991) Amyopathic dermatomyositis (dermatomyositis sine myositis). Presentation of six new cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol*. 24:959-66.
- [22] Hilton-Jones D (2003) Diagnosis and treatment of inflammatory muscle diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 74:25- 31.
- [23] Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, Engel A, Karpati G, Mendell JR, Rowland LP (1995) Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol*. 38:705-13.

- [24] Villanova M, Kawai M, Lübke U, Oh SJ, Perry G, Six J, Ceuterick C, Martin JJ, Cras P (1993) Rimmed vacuoles of inclusion body myositis and oculopharyngeal muscular dystrophy contain amyloid precursor protein and lysosomal markers. *Brain Res.* 603:343-7.
- [25] Neudecker S, Krasnianski M, Bahn E, Zierz S (2004) Rimmed vacuoles in facioscapulohumeral muscular dystrophy: a unique ultrastructural feature. *Acta Neuropathol.* 108:257-9.
- [26] Spuler S, Emslie-Smith A, Engel AG (1998) Amyloid myopathy: an underdiagnosed entity. *Ann Neurol* 43:719-28.
- [27] Carl M, Röcken C, Spuler S (2009) Amyloidose bei Muskeldystrophie. *Pathologie* 30:235-239.
- [28] Jongen PJ, Ter Laak HJ, Stadhouders AM (1995) Rimmed basophilic vacuoles and filamentous inclusions in neuromuscular disorders. *Neuromuscul Disord.* 5:31-8.
- [29] Claeys KG, Fardeau M, Schröder R, Suominen T, Tolksdorf K, Behin A, Dubourg O, Eymard B, Maisonobe T, Stojkovic T, Faulkner G, Richard P, Vicart P, Udd B, Voit T, Stoltenburg G (2008) Electron microscopy in myofibrillar myopathies reveals clues to the mutated gene. *Neuromuscul Disord.* 18:656-66.
- [30] De Bleecker JL, Engel AG, Ertl BB (1996) Myofibrillar myopathy with abnormal foci of desmin positivity. II. Immunocytochemical analysis reveals accumulation of multiple other proteins. *J Neuropathol Exp Neurol.* 55:563-77.
- [31] Molnar M, Schröder JM (1998) Pleomorphic mitochondrial and different filamentous inclusions in inflammatory myopathies associated with mtDNA deletions. *Acta Neuropathol.* 96:41-51.
- [32] Needham M, Mastaglia FL, Garlepp MJ (2007) Genetics of inclusion-body myositis. *Muscle Nerve.* 35:549-61.
- [33] Kayashima T, Matsuo H, Satoh A, Ohta T, Yoshiura K, Matsumoto N, Nakane Y, Niikawa N, Kishino T (2002) Nonaka myopathy is caused by mutations in the UDP-N-acetylglucosamine-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase gene (GNE). *J Hum Genet.* 47:77-9.
- [34] Martinsson T, Oldfors A, Darin N, Berg K, Tajsharghi H, Kyllerman M, Wahlstrom J (2000) Autosomal dominant myopathy: missense mutation (Glu-706 --> Lys) in the myosin heavy chain IIa gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97:14614-9.
- [35] Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas M, Plotz PH, Miller FW (1991) A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore).* 70:360-74.
- [36] Klein RQ, Teal V, Taylor L, Troxel AB, Werth VP (2007) Number, characteristics, and classification of patients with dermatomyositis seen by dermatology and rheumatology departments at a large tertiary medical center. *J Am Acad Dermatol.* 57:937-43.
- [37] Hausmanowa-Petrusewicz I, Kowalska-Oledzka E, Miller FW, Jarzabek-Chorzelska M, Targoff IN, Blaszczyk-Kostanecka M, Jablonska S (1997) Clinical, serologic, and immunogenetic features in Polish patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum.* 40:1257-66.
- [38] Targoff IN, Johnson AE, Miller FW (1990) Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum.* 33:1361-70.
- [39] Genth E, Mierau R (1995) [Diagnostic significance of scleroderma and myositis-associated autoantibodies]. *Z Rheumatol.* 54:39-49.
- [40] Weitoft T (1997) Occurrence of polymyositis in the county of Gävleborg, Sweden. *Scand J Rheumatol.* 26:104-6.
- [41] Hochberg MC (1988) Epidemiology of polymyositis/dermatomyositis. *Mt Sinai J Med.* 55:447-52.
- [42] Badrising UA, Maat-Schieman M, van Duinen SG, Breedveld F, van Doorn P, van Engelen B, van den Hoogen F, Hoogendijk J, Höweler C, de Jager A, Jennekens F, Koehler

- P, van der Leeuw H, de Visser M, Verschuuren JJ, Wintzen AR (2000) Epidemiology of inclusion body myositis in the Netherlands: a nationwide study. *Neurology*. 55:1385-7.
- [43] Lindberg C, Persson LI, Björkander J, Oldfors A (1994) Inclusion body myositis: clinical, morphological, physiological and laboratory findings in 18 cases. *Acta Neurol Scand*. 89:123-31.
- [44] Needham M, Corbett A, Day T, Christiansen F, Fabian V, Mastaglia FL (2008) Prevalence of sporadic inclusion body myositis and factors contributing to delayed diagnosis. *J Clin Neurosci*. 15:1350-3.
- [45] Stertz G (1916) Polymyositis. *Berlin Klin Wochenschr*. 53: 489
- [46] Hill CL, Zhang Y, Sigurgeirsson B, Pukkala E, Mellekjaer L, Airio A, Evans SR, Felson DT (2001) Frequency of specific cancer types in dermatomyositis and polymyositis: a population-based study. *Lancet*. 357:96-100.
- [47] Lee SW, Jung SY, Park MC, Park YB, Lee SK (2006) Malignancies in Korean patients with inflammatory myopathy. *Yonsei Med J*. 47:519-23.
- [48] Leff RL, Love LA, Miller FW, Greenberg SJ, Klein EA, Dalakas MC, Plotz PH (1992) Viruses in idiopathic inflammatory myopathies: absence of candidate viral genomes in muscle. *Lancet*. 339:1192-5.
- [49] Engel AG, Arahata K (1984) Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. II: Phenotypes of autoinvasive cells in polymyositis and inclusion body myositis. *Ann Neurol*. 16:209-15.
- [50] Dalakas MC (2006) Mechanisms of disease: signaling pathways and immunobiology of inflammatory myopathies. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2:219-27.
- [51] Askanas V, Engel WK (1998) Sporadic inclusion-body myositis and its similarities to Alzheimer disease brain. Recent approaches to diagnosis and pathogenesis, and relation to aging. *Scand J Rheumatol*. 27:389-405.
- [52] Müller H, Waldmann G (1967) Morphological findings in dermatomyositis. *Arch Klin Exp Dermatol*. 230:304-18.
- [53] Rose AL, Walton JN, Pearce GW (1967) Polymyositis: an ultramicroscopic study of muscle biopsy material. *J Neurol Sci*. 5:457-72.
- [54] Engel WK, Cunningham GG (1963) Rapid examination of muscle tissue. An improved trichrome method for fresh-frozen biopsy sections. *Neurology*. 13:919-23.
- [55] Olson W, Engel WK, Walsh GO, Einaugler R (1972) Oculocraniosomatic neuromuscular disease with "ragged-red" fibers. *Arch Neurol*. 26:193-211.
- [56] Swash M, Schwartz MS, Sargeant MK (1978) The significance of ragged-red fibres in neuromuscular disease. *J Neurol Sci*. 38:347-55.
- [57] Kölliker, A (1856) Einige Bemerkungen über die Endigungen der Hautnerven und den Bau der Muskelzellen. *Z Wiss. Zool*. 8:311-325.
- [58] Benda C (1898) Über die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertrebraten, II. Theil: Die Histiogenese der Spermien. *Arch. Anat. Physiol*. 73, 393-398.
- [59] Ernster L, Ikkos D, Luft R (1959) Enzymic activities of human skeletal muscle mitochondria: a tool in clinical metabolic research. *Nature*. 184:1851-4.
- [60] Luft R, Ikkos D, Palmieri G, Ernster L, Afzelius B (1962) A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J Clin Invest*. 41:1776-804
- [61] Shapira Y, Harel S, Russell A (1977) Mitochondrial encephalomyopathies: a group of neuromuscular disorders with defects in oxidative metabolism. *Isr J Med Sci*. 13:161-4.
- [62] Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA (1988) Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*. 331:717-9.

- [63] Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJ 2nd, Nikoskelainen EK (1988) Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*. 242:1427-30.
- [64] Gomori G (1950) A rapid one-step trichrome stain. *Am J Clin Pathol*. 20: 661-4.
- [65] Walker UA, Collins S, Byrne E (1996) Respiratory chain encephalomyopathies: a diagnostic classification. *Eur Neurol*. 36:260-7.
- [66] DiMauro S, Lombes A, Nakase H, Mita S, Fabrizi GM, Tritschler HJ, Bonilla E, Miranda AF, DeVivo DC, Schon EA (1990) Cytochrome c oxidase deficiency. *Pediatr Res*. 28:536-41.
- [67] Bancroft J (1975). *Histochemical techniques*, 2nd ed. Butterworths, Boston: 280–285.
- [68] Seligman AM, Karnovsky MJ, Wasserkrug HL, Hanker JS (1968) Nondroplet ultrastructural demonstration of cytochrome oxidase activity with a polymerizing osmiophilic reagent, diaminobenzidine (DAB). *J Cell Biol*. 38:1-14.
- [69] Borthwick GM, Johnson MA, Ince PG, Shaw PJ, Turnbull DM (1999) Mitochondrial enzyme activity in amyotrophic lateral sclerosis: implications for the role of mitochondria in neuronal cell death. *Ann Neurol*. 46:787-90.
- [70] van den Bosch de Aguilar P, Vanneste J (1981) Ultrastructural study of the neurons of the spinal ganglia during aging in the rat. *Acta Anat (Basel)*. 110:59-70.
- [71] Beregi E, Regius O, Hüttl T, Göbl Z (1988) Age-related changes in the skeletal muscle cells. *Z Gerontol*. 21:83-6.
- [72] Jendrach M, Pohl S, Vöth M, Kowald A, Hammerstein P, Bereiter-Hahn J (2005) Morpho-dynamic changes of mitochondria during ageing of human endothelial cells. *Mech Ageing Dev*. 126:813-21.
- [73] Lee HC, Yin PH, Lu CY, Chi CW, Wei YH (2000) Increase of mitochondria and mitochondrial DNA in response to oxidative stress in human cells. *Biochem J*. 2:425-32.
- [74] Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, Beal MF, Wallace DC (1992) Mitochondrial DNA deletions in human brain: regional variability and increase with advanced age. *Nat Genet*. 2:324-9.
- [75] Heeren G, Jarolim S, Laun P, Rinnerthaler M, Stolze K, Perrone GG, Kohlwein SD, Nohl H, Dawes IW, Breitenbach M (2004) The role of respiration, reactive oxygen species and oxidative stress in mother cell-specific ageing of yeast strains defective in the RAS signalling pathway. *FEMS Yeast Res*. 5:157-67.
- [76] DiMauro S, Tanji K, Bonilla E, Pallotti F, Schon EA (2002) Mitochondrial abnormalities in muscle and other aging cells: classification, causes, and effects. *Muscle Nerve*. 26:597-607.
- [77] Rifai Z, Welle S, Kamp C, Thornton CA (1995) Ragged red fibers in normal aging and inflammatory myopathy. *Ann Neurol*. 37:24-9.
- [78] Wang Y, Michikawa Y, Mallidis C, Bai Y, Woodhouse L, Yarasheski KE, Miller CA, Askanas V, Engel WK, Bhasin S, Attardi G (2001) Muscle-specific mutations accumulate with aging in critical human mtDNA control sites for replication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 98:4022-7.
- [79] Reeve AK, Krishnan KJ, Turnbull D. Mitochondrial DNA mutations in disease, aging, and neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1147:21-9.
- [80] Kraytsberg Y, Kudryavtseva E, McKee AC, Geula C, Kowall NW, Khrapko K (2006) Mitochondrial DNA deletions are abundant and cause functional impairment in aged human substantia nigra neurons. *Nat Genet*. 38:518-20.
- [81] Reeve AK, Krishnan KJ, Elson JL, Morris CM, Bender A, Lightowers RN, Turnbull DM (2008) Nature of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons. *Am J Hum Genet*. 82:228-35.

- [82] Mann VM, Cooper JM, Krige D, Daniel SE, Schapira AH, Marsden CD (1992) Brain, skeletal muscle and platelet homogenate mitochondrial function in Parkinson's disease. *Brain*. 115:333-42.
- [83] Benecke R, Strümper P, Weiss H (1993) Electron transfer complexes I and IV of platelets are abnormal in Parkinson's disease but normal in Parkinson-plus syndromes. *Brain*. 116:1451-63.
- [84] Schapira AH (1993) Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Adv Neurol*. 60:288-91.
- [85] Dawson TM, Dawson VL (2003) Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science*. 302:819-22.
- [86] Ved R, Saha S, Westlund B, Perier C, Burnam L, Sluder A, Hoener M, Rodrigues CM, Alfonso A, Steer C, Liu L, Przedborski S, Wolozin B (2005) Similar patterns of mitochondrial vulnerability and rescue induced by genetic modification of alpha-synuclein, parkin, and DJ-1 in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem*. 280:42655-68.
- [87] Wiedemann FR, Manfredi G, Mawrin C, Beal MF, Schon EA (2002) Mitochondrial DNA and respiratory chain function in spinal cords of ALS patients. *J Neurochem*. 80:616-25.
- [88] Krasnianski A, Deschauer M, Neudecker S, Gellerich FN, Müller T, Schoser BG, Krasnianski M, Zierz S (2005) Mitochondrial changes in skeletal muscle in amyotrophic lateral sclerosis and other neurogenic atrophies. *Brain*. 128:1870-6.
- [89] Gu M, Gash MT, Mann VM, Javoy-Agid F, Cooper JM, Schapira AH (1996) Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Ann Neurol*. 39:385-9.
- [90] Mutisya EM, Bowling AC, Beal MF (1994) Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 63:2179-84.
- [91] Piemonte F, Casali C, Carrozzo R, Schägger H, Patrono C, Tessa A, Tozzi G, Cricchi F, Di Capua M, Siciliano G, Amabile GA, Morocutti C, Bertini E, Santorelli FM (2001) Respiratory chain defects in hereditary spastic paraplegias. *Neuromuscul Disord*. 11:565-9.
- [92] McDermott CJ, Taylor RW, Hayes C, Johnson M, Bushby KM, Turnbull DM, Shaw PJ (2003) Investigation of mitochondrial function in hereditary spastic paraparesis. *Neuroreport*. 14:485-8.
- [93] Schapira AH (1999) Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia". *Biochim Biophys Acta*. 1410:159-70.
- [94] Shendelman S, Jonason A, Martinat C, Leete T, Abeliovich A (2004) DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation. *PLoS Biol*. 2:e362.
- [95] Pandolfo M (1998) Molecular genetics and pathogenesis of Friedreich ataxia. *Neuromuscul Disord*. 8:409-15.
- [96] Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, Zeviani M, Mora M, Fernandez P, De Michele G, Filla A, Coccozza S, Marconi R, Dürr A, Fontaine B, Ballabio A (1998) Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. *Cell*. 93:973-83.
- [97] Blass JP (1999) Mitochondria, neurodegenerative diseases, and selective neuronal vulnerability. *Ann NY Acad Sci*. 893:434-9.
- [98] Pall ML (2008) Post-radiation syndrome as a NO/ONOO- cycle, chronic fatigue syndrome-like disease. *Med Hypotheses*. 71:537-41.
- [99] Nomura I, Goleva E, Howell MD, Hamid QA, Ong PY, Hall CF, Darst MA, Gao B, Boguniewicz M, Travers JB, Leung DY (2003) Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol*. 171:3262-9.

- [100] Gellerich FN, Trumbeckaite S, Opalka JR, Gellerich JF, Chen Y, Neuhof C, Redl H, Werdan K, Zierz S (2002) Mitochondrial dysfunction in sepsis: evidence from bacteraemic baboons and endotoxaemic rabbits. *Biosci Rep.* 22:99-113.
- [101] Blume G, Pestronk A, Frank B, Johns DR (1997) Polymyositis with cytochrome oxidase negative muscle fibres. Early quadriceps weakness and poor response to immunosuppressive therapy. *Brain.* 120:39-45.
- [102] Schröder JM, Molnar M (1997) Mitochondrial abnormalities and peripheral neuropathy in inflammatory myopathy, especially inclusion body myositis. *Mol Cell Biochem.* 174:277-81.
- [103] Dahlbom K, Lindberg C, Oldfors A (2002) Inclusion body myositis: morphological clues to correct diagnosis. *Neuromuscul Disord.* 12:853-7.
- [104] Miró O, Casademont J, Grau JM, Jarreta D, Urbano-Márquez A, Cardellach F (1998) Histological and biochemical assessment of mitochondrial function in dermatomyositis. *Br J Rheumatol.* 37:1047-53.
- [105] Oldfors A, Larsson NG, Lindberg C, Holme E (1993) Mitochondrial DNA deletions in inclusion body myositis. *Brain.* 116:325-36.
- [106] Moslemi AR, Lindberg C, Oldfors A (1997) Analysis of multiple mitochondrial DNA deletions in inclusion body myositis. *Hum Mutat.* 10:381-6.
- [107] Yamamoto M, Koga Y, Ohtaki E, Nonaka I (1989) Focal cytochrome c oxidase deficiency in various neuromuscular diseases. *J Neurol Sci.* 91:207-13.
- [108] Muqit MM, Lerner AJ, Sweeney MG, Sewry C, Stinton VJ, Davis MB, Healy DG, Payne SJ, Chotai K, Wood NW, Lane RJ (2008) Multiple mitochondrial DNA deletions in monozygotic twins with OPMD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 79:68-71.
- [109] Horvath R, Fu K, Johns T, Genge A, Karpati G, Shoubridge EA (1998) Characterization of the mitochondrial DNA abnormalities in the skeletal muscle of patients with inclusion body myositis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 57:396-403.
- [110] Woo M, Chung SJ, Nonaka I (1988) Perifascicular atrophic fibers in childhood dermatomyositis with particular reference to mitochondrial changes. *J Neurol Sci.* 88:133-43.
- [111] Müller-Höcker J, Seibel P, Schneiderbanger K, Kadenbach B (1993) Different in situ hybridization patterns of mitochondrial DNA in cytochrome c oxidase-deficient extraocular muscle fibres in the elderly. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 422:7-15.
- [112] Oldfors A, Moslemi AR, Jonasson L, Ohlsson M, Kollberg G, Lindberg C (2006) Mitochondrial abnormalities in inclusion-body myositis. *Neurology.* 66:49-55.
- [113] Korhonen JA, Pham XH, Pellegrini M, Falkenberg M (2004) Reconstitution of a minimal mtDNA replisome in vitro. *EMBO J.* 23:2423-9.
- [114] Suomalainen A, Kaukonen J, Amati P, Timonen R, Haltia M, Weissenbach J, Zeviani M, Somer H, Peltonen L (1995) An autosomal locus predisposing to deletions of mitochondrial DNA. *Nat Genet.* 9:146-51.
- [115] Lodi R, Taylor DJ, Tabrizi SJ, Hilton-Jones D, Squier MV, Seller A, Styles P, Schapira AH (1998) Normal in vivo skeletal muscle oxidative metabolism in sporadic inclusion body myositis assessed by <sup>31</sup>P-magnetic resonance spectroscopy. *Brain.* 121:2119-26.

## 9. THESEN

- 1) Mitochondriale Veränderungen finden sich nicht nur bei der Einschlusskörpermyositis, sondern auch bei der Dermatomyositis und der Polymyositis
- 2) Die kombinierte Cytochrom-c-Oxidase/Succinat-Dehydrogenase (COX/SDH)-Färbung ist sensitiver als modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung zum myohistologischen Nachweis von Mitochondrien-Veränderungen
- 3) Bei der Polymyositis lässt sich eine Untergruppe mit hohem Anteil der COX-defizienten Fasern, geringer Erhöhung der Kreatinkinase und schlechtem Ansprechen auf Immunsuppressiva von einer Gruppe mit geringem Anteil der COX-defizienten Fasern, ausgeprägter Erhöhung der Kreatinkinase und gutem Ansprechen auf Immunsuppressiva unterscheiden
- 4) Mitochondriale Veränderungen scheinen mit schlechtem Ansprechen auf immunsuppressive Therapie bei Patienten mit Einschlusskörpermyositis und Polymyositis assoziiert zu sein.
- 5) Die Ursache der mitochondrialen Vermehrung bei Myositiden bleibt unklar. Bei der Einschlusskörpermyositis dürfen sie als eine beschleunigte Alterung eingesehen werden. Bei der Dermatomyositis scheint sie Folge perivaskulärer Ischämie zu sein, während bei der Polymyositis die mitochondriale Vermehrung am ehesten mit einer Entzündungsreaktion im Zusammenhang steht.

## **Lebenslauf**

### Persönliche Angaben:

Geburtstag            07.10.1976  
Geburtsort            Oleśnica (Oels)  
Nationalität           polnisch  
Familienstand        verheiratet

### Beruflicher Werdegang:

1991- 1995 Krzysztof-Kamil-Baczyński-Gymnasium in Wrocław (Breslau), Polen  
05/1995 Abitur  
1995- 2001- Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Hochschule in Wrocław (Breslau), Polen; Abschlußnote: sehr gut.  
2001- 2002- AiP im Falkiewicz-Krankenhaus in Wrocław (Breslau), Polen.  
03/2003- 07/2004 Assistenzarzt in der Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie an der Universität Leipzig  
09/2004- 08/2009- Assistenzarzt, Neurologische Universitätsklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. med. S. Zierz)  
Seit 09/2009- Assistenzarzt, Klinik für Neurologie, Medizinische Hochschule Hannover (Direktor: Prof. Dr. med. R. Dengler)

### Publikationen:

Krasnianski M, Tacik P, Müller T, Zierz S (2007) Attenuation of Kernig's sign by concomitant hemiparesis: forgotten aspects of a well known clinical test. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 78:1413-4.  
Tacik P, Krasnianski M, Zierz S (2009) Puusepp's sign--clinical significance of a forgotten pyramidal sign. Clin Neurol Neurosurg. 111:919-21.

### Buchbeiträge:

Tacik, P. und Zierz, S.: „Muskeldystrophien und andere Muskelerkrankungen“ in: Dietel, M., Suttorp, N., Zeitz, M.: Harrisons Innere Medizin. 17. Auflage. Berlin, 2008  
Tacik P., Zierz S. „Entzündliche, endokrine und toxische Muskelerkrankungen“ in Berlitz (Hrsg): Klinische Neurologie, 3. Auflage (zurzeit in Druck)

### Kongressteilnahmen mit Vortrag oder Poster:

06/2007 "Myohistological mitochondrial changes in patients with different forms of idiopathic myositis" 17th Meeting of the European Neurological Society, Rhodos, Griechenland (Vortrag)

09/2008 „Diagnostische Bedeutung myohistologischer Untersuchungen bei Patienten mit Mitochondriopathien“ 81. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Hamburg (Vortrag)

01/2009 „Erstmanifestation einer Epilepsie mit therapierefraktärem Status epilepticus bei Mutationen im Polymerase-Gamma-Gen“ 26. Arbeitstagung für Neurologische Intensiv- und Notfallmedizin, Leipzig (Poster- die beste Präsentation in der Postersitzung "Der besondere Fall V")

05/2009 „Spastik der Kaumuskulatur bei einem Gasperini-Syndrom: Therapie mit Botulinumtoxin“ 2. Botulinumtoxin-Kongress, Rostock (Vortrag)

09/2009 „Untersuchung mitochondrialer Veränderungen bei Patienten mit idiopathischen Myositiden“ 82. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Nürnberg (Vortrag)

### Sonstige Qualifikationen

08 und 11/2003 Einführungs-, Grundkurs und Spezialkurs im Strahlenschutz

09/2008- 6th World Muscle Society Satellite Teaching Course on diagnostic investigations and treatment of neuromuscular disorders, New Castle upon Tyne, England

1998-1999 Studium der Polnischen Literatur an der Universität Wrocław (Breslau)

Sprachen: Polnisch (Muttersprache)

Deutsch (sehr gut)

Spanisch (sehr gut, Sprachzertifikat des Cervantes-Institutes)

Englisch (gut, Sprachzertifikat der University of Cambridge)

Russisch (Grundkenntnisse)

Halle, 05.08.2010

-----  
Ort, Datum

Unterschrift: Paweł Tacik

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als von mir angegebene Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt habe und die in den benutzten Werken wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen entsprechend gekennzeichnet habe. Weder diese, noch eine andere Dissertation wurde von mir an einer anderen Fakultät zum Zwecke der Promotion eingereicht.

Halle, 05.08.2010

-----  
Ort, Datum

Unterschrift: Paweł Tacik

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. S. Zierz für die Überreichung des Themas und Herrn PD Dr. med. M. Deschauer für seinen wertvollen Rat sowie Herrn Prof. Dr. med. J. Weis für die Durchführung der elektronenmikroskopischen Untersuchung.

Weiterhin danke ich Herrn PD Dr. med. M. Kornhuber und Herrn Dr. med. F. Hanisch für weitere Verbesserungsvorschläge sowie Frau Dr. med. K. Traufeller und Frau K. Zietz für die Unterstützung zur Fertigstellung dieser Arbeit.