

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Neurologie an der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Direktor: Prof. Dr. med. Stephan Zierz)

**Phänotypische Charakterisierung von Patienten mit  
zentronukleärer Myopathie und Mutation im *Dynamin-2*-Gen**

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

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

von Alexander Christian Dietz  
geboren am 13.05.1982 in Frankfurt a.M.

Doktorvater: Prof. Dr. med. Stephan Zierz  
Betreuer: Dr. med. Frank Hanisch

Gutachter/Gutachterin: 1. Prof. Dr. med. Stephan Zierz  
2. Prof. Dr. med. Joachim Weis (Aachen)  
3. Prof. Dr. med. Heinz Reichmann (Dresden)

Eröffnet am 18.06.2013  
Verteidigt am 18.07.2014

## Referat

Die zentronukleäre Myopathie (CNM) ist eine seltene kongenitale Muskelerkrankung, die myohistologisch durch zahlreiche zentrale Kerne sowie Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Muskelfasern charakterisiert ist. Bei der autosomal-dominanten Form der CNM kann in über 50% der Fälle eine Mutation im dem Gen, welches das ubiquitäre Protein Dynamin 2 kodiert, als Ursache gefunden werden. Diese *DNM2*-CNM manifestiert sich überwiegend im Erwachsenenalter mit langsamer Progredienz und leichtem klinischen Schweregrad.

Im Folgenden werden 7 Fälle dargestellt, welche histologisch alle Zeichen einer CNM aufwiesen. Ermittelt wurden diese Patienten durch Screening von 1.582 konsekutiven Muskelbiopsien adulter Patienten nach den morphologisch charakteristischen CNM-Zeichen. Beim anschließendem Screening des *DNM2*-Gen konnten bei 5 dieser Fälle sporadische Mutationen gefunden werden. Die anderen beiden Patienten hatten weder eine Mutation im *DNM2*-Gen noch in den anderen mit CNM assoziierten Genen *MTM1*, *BINI* und *RYR1*. Manifestationsbeginn war bei allen Patienten noch vor dem Erwachsenenalter, bei 3/5 der Patienten mit Mutation sogar neonatal. Klinisch zeigten sich eine bilaterale Ptosis (n=3), eine externe Ophthalmoparese (n=2), eine axonale Neuropathie (n=4), eine restriktive Respirationsstörung (n=5) und Kontrakturen (n=5), z.T. mit Beteiligung der Kaumuskulatur (n=2) und einem Torticollis (n=1). Klinisch waren diese 2 Patienten von den übrigen nicht zu unterscheiden. Eine histologische Analyse zur Häufigkeit und Lage binnenständiger, also nicht wie üblich subsarkolemmal liegender Kerne ergab jedoch, dass der Anteil zentraler Kerne bei den Patienten mit Mutation im *DNM2*-Gen höher als bei den Patienten ohne definierten Gendefekt war und Fasern mit dezentralen Kernen nur einen geringen Anteil der Fasern mit binnenständigen Kernen ausmachten. Die Unterscheidung der Lage binnenständiger Kerne (zentral vs dezentral) könnte helfen, *DNM2*-CNM von anderen Formen der CNM zu unterscheiden. Der Phänotyp der *DNM2*-CNM ist zudem breiter und sporadische Fälle sowie Fälle mit infantiler oder sogar neonataler Manifestation häufiger sind als bisher angenommen. Erstmals wird hier über einen Fall mit einem Torticollis in Verbindung mit *DNM2*-CNM berichtet.

Dietz, Alexander:

Phänotypische Charakterisierung von Patienten mit zentronukleärer Myopathie und Mutation im *Dynamin-2*-Gen.

Halle / S., Univ., Med. Fak., Diss., 75 Seiten, 2013

## Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Zentronukleäre Myopathie</b> .....	<b>1</b>
1.1.1	Epidemiologie.....	1
1.1.2	Allgemeines klinisches Bild und Behandlung.....	2
1.1.3	Allgemeine Histopathologie.....	2
1.1.4	Diagnostische Methoden.....	3
<b>1.2</b>	<b>Formen der zentronukleären Myopathie</b> .....	<b>4</b>
1.2.1	Autosomal-dominante zentronukleäre Myopathie.....	4
1.2.2	Autosomal-rezessive zentronukleäre Myopathie.....	5
1.2.3	X-chromosomale myotubuläre Myopathie.....	6
1.2.4	CNM-Patienten ohne genetisch gesicherter Basis.....	7
<b>1.3</b>	<b>Dynamamin-2</b> .....	<b>7</b>
1.3.1	Genetischer Hintergrund.....	7
1.3.2	Struktur und Funktion von Dynamamin-2.....	7
1.3.3	Pathophysiologische Hypothesen.....	8
<b>1.4</b>	<b>Dynamamin-2 assoziierte Erkrankungen</b> .....	<b>8</b>
1.4.1	Autosomal-dominante zentronukleäre Myopathie <i>DNM2</i> -CNM.....	8
1.4.2	Charcot-Marie-Tooth Typ CMT2 und Typ DI-CMTB.....	10
1.4.3	Late-onset Morbus Alzheimer.....	11
<b>1.5</b>	<b>Zielsetzung der Arbeit</b> .....	<b>11</b>
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>Auswahl der Patienten</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>Verwendete histochemische Färbungen</b> .....	<b>12</b>
2.2.1	Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE).....	12
2.2.2	Myofibrilläre ATPase-Reaktion bei pH 9,4 (ATPase pH 9,4).....	13
2.2.3	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-dehydrogenase-Reaktion (NADH).....	13
2.2.4	Periodic-acid-Schiff-Reaktion (PAS).....	13
<b>2.3</b>	<b>Analyse der binnenständigen Kerne</b> .....	<b>14</b>
<b>2.4</b>	<b>Messung der Faserkaliber von Typ-1- und Typ-2-Fasern und statistische Datenanalyse</b> .....	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Elektronenmikroskopische Untersuchung</b> .....	<b>15</b>
<b>2.6</b>	<b>Bildbearbeitung</b> .....	<b>15</b>
<b>2.7</b>	<b>Molekulargenetische Analyse</b> .....	<b>16</b>
<b>2.8</b>	<b>Klinische Untersuchung der Patienten</b> .....	<b>16</b>

<b>2.9</b>	<b>Paraklinische Untersuchung der Patienten</b> .....	<b>16</b>
2.9.1	Elektrophysiologische Untersuchungen.....	16
2.9.2	Lungenfunktionsprüfung, Elektro- und Echokardiographie.....	17
2.9.3	MRT-Untersuchung.....	17
2.9.4	Laboruntersuchung.....	18
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Histologisches Screening</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2</b>	<b>Molekulargenetisches Screening der Patienten</b> .....	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Molekulargenetisches Screening der Eltern auf <i>DNM2</i>-Mutationen</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4</b>	<b>Histologische Befunde</b> .....	<b>19</b>
<b>3.5</b>	<b>Elektronenmikroskopische Befunde</b> .....	<b>23</b>
<b>3.6</b>	<b>Ergebnisse der Auszählung der Muskelfasern mit binnenständigen Kernen</b> ....	<b>23</b>
<b>3.7</b>	<b>Ergebnisse der Messung der Faserkaliber von Typ-1- und Typ-2-Fasern</b> .....	<b>24</b>
<b>3.8</b>	<b>Klinische Daten der Patienten</b> .....	<b>26</b>
<b>3.9</b>	<b>Paraklinische Daten der Patienten</b> .....	<b>31</b>
3.9.1	Laborergebnisse.....	31
3.9.2	Ergebnisse der elektromyographischen Untersuchung.....	31
3.9.3	Ergebnisse der elektroneurographischen Untersuchung.....	32
3.9.4	Ergebnisse der Lungenfunktionsprüfung und der Elektro- und Echokardiographie.....	33
3.9.5	Ergebnisse der MRT-Untersuchung.....	33
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion des klinischen Teils</b> .....	<b>35</b>
4.1.1	Genotyp-Phänotyp-Korrelation.....	35
4.1.2	Erstsymptome.....	38
4.1.3	Augenbeteiligung und Facies myopathica.....	39
4.1.4	Bulbäre Symptomatik.....	41
4.1.5	Dysmorphien und Kontrakturen.....	41
4.1.6	Muskelatrophie .....	45
4.1.7	Muskelhypertrophie.....	46
4.1.8	Muskelschwäche: Verteilung und Betonung.....	46
4.1.9	Veränderungen der Muskulatur in bildgebenden Verfahren.....	47
4.1.10	Abnormalitäten in der Elektromyographie.....	49
4.1.11	Abnormalitäten in der Elektroneurographie.....	50

4.1.12	Beteiligung des zentralen Nervensystems.....	51
4.1.13	Kreatinkinase.....	52
4.1.14	Beteiligung des Herzens.....	52
4.1.15	Beteiligung des respiratorischen Systems.....	54
4.1.16	Seltene Befunde bei <i>DNM2</i> -CNM-Patienten.....	55
<b>4.2</b>	<b>Diskussion des histologischen Teils.....</b>	<b>56</b>
4.2.1	Die Bedeutung der Unterscheidung von zentralen und dezentralen binnenständigen Kernen.....	56
4.2.2	Die <i>DNM2</i> -typischen Trias.....	58
4.2.3	Weitere häufige histopathologische CNM-Merkmale.....	60
4.2.4	Elektronenmikroskopische Merkmale bei <i>DNM2</i> -CNM.....	60
4.2.5	Seltene histopathologische Befunde bei <i>DNM2</i> -CNM.....	61
4.2.6	Histologische Differentialdiagnose Muskuläre Dystrophie.....	62
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>66</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>68</b>
<b>7.</b>	<b>Thesen.....</b>	<b>75</b>

## Abkürzungsverzeichnis:

AD-CNM	-	Autosomal-dominante zentronukleäre Myopathien
AR-CNM	-	Autosomal-rezessive zentronukleäre Myopathien
ATP	-	Adenosintriphosphat
BIN1	-	Amphiphysin 2
CCD	-	Central-core-disease
CK	-	Creatinkinase
CMT	-	1. Charcot-Marie-Tooth-Krankheit 2. Kongenitaler muskulärer Torticollis
CNM	-	Zentronukleäre Myopathie
COX	-	Cytochromoxidase
CT	-	Computertomographie
DM1	-	Myotone Dystrophie Typ 1
DMPK	-	Myotonin-Protein-Kinase
DNM2	-	Dynamin 2
ELMI	-	Elektronenmikroskop
EMG	-	Elektromyographie
ENG	-	Elektroneurographie
FEV1	-	forcierte Einsekundenkapazität
FVC	-	funktionelle Vitalkapazität
GD	-	GTPase-Domäne des <i>DNM2</i> -Gens
GED	-	GTPase-Effektor-Domäne des <i>DNM2</i> -Gens
GGT	-	Gamma-Glutamyl-Transferase
GTP	-	Guanosintriphosphat
HE	-	Hämatoxylin-Eosin
hJUMPY	-	myotubularin-related protein 14
LOAD	-	Late-onset Morbus Alzheimer
MD	-	Mitteldomäne des <i>DNM2</i> -Gens
MRT	-	Magnetresonanztomographie
MTM1	-	Myotubularin 1
NADH	-	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-dehydrogenase
NLG	-	Nervenleitgeschwindigkeit
PAS	-	Periodic-acid-Schiff-Reaktion
PH	-	Pleckstrin-Homologie-Domäne des <i>DNM2</i> -Gens
PRD	-	Prolinreiche-Domäne des <i>DNM2</i> -Gens
RYR1	-	Ryanodin-Rezeptor 1
SEPN1	-	Selenoprotein N1

- TR - Gomori-Trichrom-Färbung
- VC - Vitalkapazität
- XLMTM - X-chromosomale (bzw. X-linked) myotubuläre Myopathie

## **1. Einleitung**

### **1.1 Zentronukleäre Myopathie**

Die zentronukleäre Myopathie wurde erstmals 1966 von Spiro et al. bei einer 12-jährigen Patientin mit progredienter distal betonter Muskelschwäche, Myotrophie und einem massenhaften Vorkommen zentralständiger Kerne in den Muskelfasern als neue congenitale Myopathie beschrieben (Spiro et al., 1966). Aufgrund der Ähnlichkeit zu embryonalen Myotubuli wurde als mögliche Pathogenese eine Störung des Ausreifungsprozesses der Muskulatur vermutet und die Erkrankung daher zunächst als *myotubuläre Myopathie* bezeichnet (Spiro et al., 1966; Sher et al., 1967a). Bald wurde jedoch diese Pathogenese v.a. bei den leichteren, autosomal-dominant und -rezessiv vererbten Fällen angezweifelt und hierfür die Bezeichnung *zentronukleäre Myopathie* (CNM) bevorzugt (Sher et al., 1967b; Banker, 1967). Nur für die schwerer verlaufende neonatale Form mit X-chromosomaler Vererbung wurde der Begriff der *myotubulären Myopathie* (XLMTM) wegen der ausgeprägteren Ähnlichkeit zu Myotuben beibehalten (Van Wijngaarden et al., 1969; Fardeau, 1982). In Deutschland wurde der erste Fall einer zentronukleären Myopathie erst 1975 von Pongratz et al. bei einer 44-jährigen Patientin beobachtet (Pongratz et al., 1975).

Seither wurden zahlreiche Fälle mit unterschiedlichsten Manifestationsbeginn und Phänotypen beschrieben, oft ist das einzige gemeinsame Merkmal das massenhafte Auftreten zentralständiger Kerne. 4 Gene, das *Myotubularin-1-Gen* (*MTM1*), das *Dynamamin-2-Gen* (*DNM2*), das *Amphiphysin-2-Gen* (*BIN1*) und das *Ryanodin-Rezeptor-1-Gen* (*RYR1*) konnten bisher als Ursache identifiziert werden, bei ca. 30 % der Fälle jedoch bleibt das ursächliche Gen unbekannt (Laporte et al., 1996; Bitoun et al., 2005; Jungbluth et al., 2007; Nicot et al., 2007; Romero, 2010).

#### **1.1.1 Epidemiologie**

Epidemiologische Daten sind nur für congenitale Myopathie als Gruppe verfügbar. So wird die Inzidenz von CNM und XLMTM zusammen mit Central-core- und Multiminicore-Erkrankung sowie der Nemalin-Myopathie auf 0,06 pro 1000 Lebendgeburten geschätzt und sollen 1/10 aller neuromuskulären Erkrankungen ausmachen (Jungbluth et al., 2008). In einer Publikation schätzten Jungbluth et al. die Inzidenz für genetisch bestätigte XLMTM in Frankreich auf 2 pro 100.000 männliche Geburten pro Jahr (Jungbluth et al., 2008). Derselbe Autor schätzt auch nach persönlichen Beobachtungen CNM als die seltenste Myopathie in der oben genannten Gruppe, es sind jedoch noch keine genauen Daten verfügbar (Jungbluth et al., 2008).

### **1.1.2 Allgemeines klinisches Bild und Behandlung**

Das klinische Bild der autosomal vererbten CNM zeichnet sich am häufigsten aus durch langsam progressive Muskelschwäche und -atrophie der Glieder, Myalgien, Facies myopathica, Beteiligung der Augen mit Ptosis und Ophthalmoplegie, sowie Kontrakturen vorwiegend der Achillessehne und der langen Fingerflexoren (Jeannet et al., 2004; Jungbluth et al., 2008, 2009b; Romero, 2010). Zusätzlich kann sich eine respiratorische Beeinträchtigung finden, eine begleitende Kardiomyopathie wurde bisher nur in wenigen Fällen berichtet (Jeannet et al., 2004; Jungbluth et al., 2008, 2009b). Ausprägungsgrad sowie Manifestationsalter variieren stark zwischen schweren neonatalen und milden adulten Formen (Jeannet et al., 2004; Jungbluth et al., 2008; Romero, 2010).

Die gonosomal vererbte XLMTM zeigt einen weitaus schwereren Verlauf und endet meist tödlich innerhalb der ersten Lebensmonate (Jungbluth et al., 2008).

Eine spezifische Behandlung ist bisher bei keiner der CNM-Formen möglich (Jungbluth et al., 2009b) und beschränkt sich auf physio-, ergo- und atemtherapeutische Massnahmen. Funktionseinschränkende Kontrakturen müssen oft operativ behandelt werden. Bei schweren neonatalen CNM-Fällen und v.a. bei XLMTM ist der Grad der intensiv-medizinischen Intervention für das Langzeitüberleben von entscheidender Bedeutung (Jungbluth et al., 2008). Auch bei den leichteren neonatalen Fällen kann anfangs eine Beatmung aufgrund respiratorischer Störung nötig sein.

### **1.1.3 Allgemeine Histopathologie**

Charakteristisches Hauptmerkmal der Muskelbiopsie bei CNM sind die zahlreichen, in 30 - 95 % der Muskelfasern vorkommenden zentralständigen Kerne (Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Jungbluth et al., 2008, 2009b; Romero, 2010). Es finden sich aber auch Kerne in dezentraler Lage (Romero, 2010). Im Längsschnitt ordnen sich die zentralen Kerne zu langen Ketten an (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Weitere häufige Merkmale sind eine Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Muskelfasern, ein um den zentralen Kern radiär angeordnetes sarkoplasmatisches Speichenmuster (engl. *sarcoplasmatic strands*) und ein perinukleärer Halo (Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Jungbluth et al., 2008, 2009b; Romero, 2010). Seltener zu finden sind ein bindegewebiger und fettiger Umbau sowie eine Hypertrophie der Typ-2-Muskelfasern, vermutlich als kompensatorische Reaktion auf die Typ-1-Hypotrophie (Jungbluth et al., 2008; Romero, 2010). Die nukleäre Zentralisierung kann aber auch das einzige histopathologische Merkmal sein (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Nekrosen und ausgedehnte Regenerationszeichen finden sich in der Regel nicht (Romero, 2010).

Im Elektronenmikroskop zeigt sich der Raum zwischen und um den zentralen Kernen angereichert mit Zellorganellen wie Mitochondrien und Glykogenpartikeln (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Von der Peripherie zum Zentrum der Muskelfaser nimmt das Kaliber der Myofibrillen ab, was vermutlich für das Entstehen des radiären sarkoplasmatischen Speichenmusters verantwortlich ist (Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Romero, 2010).

#### **1.1.4 Diagnostische Methoden**

Biopsie: Die Diagnosestellung einer CNM beruht in erster Linie auf dem histopathologischen Befund der Muskulatur (Jungbluth et al., 2008). Richtungsweisend ist zuerst die hohe Anzahl zentraler Kerne, wobei dies aber auch in einer Vielzahl anderer Muskelerkrankungen zum Vorschein tritt. So sollten vorerst bei entsprechendem Befund die weitaus häufigeren myotonen Dystrophien ausgeschlossen werden (Jungbluth et al., 2009b).

Wichtige Färbungen der Muskelschnitte sind die ATPase-, HE- und NADH-Färbungen.

Bei der bräunlichen ATPase-Färbung findet die Reaktion in den Myofibrillen statt und es lassen sich dadurch die roten, langsamen und oxidativ arbeitenden Typ-1-Fasern von den weissen, schnellen und glykolytisch arbeitenden Typ-2-Fasern differenzieren. Bei einem pH von 9,4 erscheinen die Typ-1-Fasern hell und die Typ-2-Fasern dunkel. Dies ermöglicht die Beurteilung der für CNM üblichen Hypotrophie und Prädominanz der Typ-1-Fasern. Die Kerne kommen nicht zur Darstellung und erscheinen als leerer Raum im Zentrum der Faser. Das Fehlen von Myofibrillen im Zentrum trägt zu diesem Effekt bei.

Auch in der bläulichen NADH-Färbung lassen sich Typ-1- von Typ-2-Fasern unterscheiden, nur dass hier die Typ-1-Fasern dunkler erscheinen. Die Reaktion findet hier in den Mitochondrien und dem sarkoplasmatischen Reticulum des intermyofibrillären Netzwerkes statt und gibt Hinweise auf deren Verteilung. Das radiäre sarkoplasmatische Speichenmuster, typisch für *DNM2*-CNM, sowie eine v.a. für XLMTM charakteristische intensive Färbung des Zentrums und eine verminderte Anfärbung der subsarkolemmalen Peripherie können gefunden werden.

Die rötliche HE-Färbung gibt als Standardfärbung einen Überblick über die Struktur des Gewebes, lässt aber keine Fasertypen-Differenzierung zu. Sie ist jedoch optimal zur Bestimmung des Grades der Kerninternalisierung und -zentralisierung.

Weitere Färbungen kommen ergänzend zur Anwendung. So lässt die PAS-Färbung eine zentrale Glykogenakkumulation gut erkennen.

Genetische Untersuchung: Durch DNA-Sequenzierung kann eine Verdachtsdiagnose bestätigt werden. Bei Neonaten und Kleinkindern sollte zunächst die myotone Dystrophie ausgeschlossen werden (Jungbluth et al., 2009b). Bei einem negativen Befund sollte v.a. bei männlichem Geschlecht des Kindes zuerst nach Mutationen im *MTM1*-Gen und erst anschließend nach Mutationen im *DNM2*-, *BINI*- und *RYR1*-Gen gescreent werden (Jungbluth et al., 2009b). Bei

späterer Manifestation sollten zuerst *DNM2* und erst danach *MTMI*, *BINI* und *RYRI* gescreent werden, da Mutationen in *MTMI* mit zunehmenden Alter aufgrund des früh letalen Verlaufs als Ursache unwahrscheinlicher und Mutationen in *BINI* und *RYRI* seltener sind. Es empfiehlt sich, bei *DNM2* zuerst die hotspots in der Mitteldomäne und Pleckstrin-Homologie-Domäne des Gens zu überprüfen (Jungbluth et al., 2008). Unterstützend bei der Entscheidung für genetische Tests kann auch ein Muskel-MRT sein, welches bei *DNM2*-CNM ein charakteristisches Muster aufweist (Fischer et al., 2006; Schessl et al., 2007).

Elektrophysiologie: Elektroneuro- und myographisch zeigen sich myopathische Veränderungen wie eine Verminderung der Amplitude und Dauer der Aktionspotentiale, polyphasische Potentiale und selten pathologische Spontanaktivität wie positive scharfe Wellen (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Neuropathische Zeichen wie verminderte Nervenleitgeschwindigkeit und reduzierte CMAP-Amplitude finden sich im geringen Ausmass bei nur wenigen Fällen (Echaniz-Laguna et al., 2007; Susman et al., 2010).

Labor: Im Labor kann der CK-Wert als unspezifisches Zeichen einer Myopathie erhöht sein, ist jedoch meistens normal (Engel und Franzini-Armstrong, 1994).

## **1.2 Formen der zentronukleären Myopathie**

### **1.2.1 Autosomal-dominante zentronukleäre Myopathie**

Der klinische Verlauf der autosomal-dominanten zentronukleären Myopathie (AD-CNM) ist eher mild bis moderat, das Manifestationsalter liegt überwiegend in der späten Adoleszenz und im Erwachsenenalter (Jungbluth et al., 2008; Romero, 2010). Es sind aber auch schwere Verläufe mit neonataler Manifestation bekannt, insbesondere bei sporadischen Fällen (Romero, 2010). Kontrakturen der Achillessehne und Ptosis sind häufig, die Muskelschwäche ist mehr proximal betont (Jungbluth et al., 2008). In der Muskelbiopsie lassen sich alle Merkmale einer CNM finden.

Bisher wurden 2 Gene als Ursache einer AD-CNM entdeckt (siehe Tabelle 1): das *Dynamin-2*-Gen *DNM2* (Bitoun et al., 2005) und *Ryanodin-Rezeptor-1*-Gen *RYRI* (Jungbluth et al., 2007).

Es sind bisher 15 verschiedene *DNM2*-Mutationen bekannt, die eine CNM hervorrufen (Bitoun et al., 2005, 2007, 2009a, 2009b; Echaniz-Laguna et al., 2007; Melberg et al., 2009; Jungbluth et al., 2009a; Susman et al., 2010). Diese machen zusammen ca. 50 % aller CNM-Fälle aus (Romero, 2010). Die *DNM2*-CNM wird im Kapitel 1.5.1. genauer besprochen.

Heterozygote *RYRI*-Mutationen mit dem Phänotyp einer CNM sind bisher bei 4 Patienten beschrieben worden (Jungbluth et al., 2007; Wilmschurst et al., 2010). 3 von diesen Fällen hatten jedoch die Mutation von einem Elternteil geerbt, welcher keinerlei Symptome zeigte und somit bleibt der genaue Erbgang hierbei unklar (Wilmschurst et al., 2010).

**Tabelle 1** Zusammenfassung der bisher beschriebenen CNM-assoziierten Gene und des jeweiligen Phänotyps

Mutiertes Gen	Dynamin 2 ( <i>DNM2</i> )	Myotubularin 1 ( <i>MTM1</i> )	Amphiphysin 2 ( <i>BINI</i> )	Ryanodin-Rezeptor ( <i>RYR1</i> )
Erstbeschreibung	Bitoun 2005	Laporte 1996	Nicot 2007	Jungbluth 2007
Erbgang	autosomal-dominant	X-chromosomal	autosomal-rezessiv	autosomal-dominant autosomal-rezessiv
Manifestation	neonatal - adult	neonatal	neonatal - infantil	neonatal - infantil
Schweregrad	mild - intermediär	schwer	intermediär	intermediär - schwer
Muskelschwäche	proximal - generalisiert	generalisiert	proximal	generalisiert
Ptosis	+	+	+	+
Ophthalmoplegie	+	+	+	+
respiratorische Störung	+	+	+	+
Kontrakturen	+	+	+	+
Dysmorphien: Fuß Wirbelsäule hoher Gaumen	+ + +	Makrosomie - - -	+ + +	+ + -
Kardiomyopathie	-	-	-	-
Histologie: radiäre Speichenstruktur Typ-1-Prädominanz Typ-1-Hypotrophie perinucleärer Halo zentrale Akkumulation	zahlreich + + + +	- + + + +	spärlich + + + +	- + + + +

### 1.2.2 Autosomal-rezessive zentronukleäre Myopathie

Vom klinischen Schweregrad her steht die autosomal-rezessive zentronukleäre Myopathie (AR-CNM) zwischen der AD-CNM und der myotubulären Myopathie (Nicot et al., 2007; Jungbluth et al., 2008; Romero, 2010). Das Manifestationsalter reicht von neonatal bis in die Kindheit (Jungbluth et al., 2008). Von der Bandbreite der Symptomatik her gibt es keinen Unterschied zur dominanten Form, histopathologisch jedoch ist das radiäre sarkoplasmatische Speichenmuster nur selten zu sehen (Romero, 2010; Claeys et al., 2010). Bisher wurden zwei ursächliche Gene (siehe Tabelle 1), das *Amphiphysin-2*-Gen *BINI* (Nicot et al., 2007) und das *Ryanodin-Rezeptor-1*-Gen *RYR1* (Wilmshurst et al., 2010).

Es wurden bisher 5 verschiedene *BINI*-Mutationen bei 8 Patienten aus 6 Familien beschrieben, die eine CNM-Phänotyp hervorrufen (Nicot et al., 2007; Mejaddam et al., 2009; Claeys et al., 2010; Böhm et al., 2010).

In einer Studie wurden bei 17 Patienten mit genetisch unklarer CNM hauptsächlich kombiniert heterozygote Mutationen im *RYR1*-Gen gefunden, wobei bei 14 dieser Patienten von einem rezessiven Erbgang ausgegangen wird (Wilmshurst et al., 2010). Da jedoch diese Patienten deutliche klinische Überlappungen mit den ebenfalls mit *RYR1*-assoziierten Core-Myopathien zeigten und sich eine klare Abgrenzung zu anderen kongenitalen Myopathien als schwierig

erwies, bezogte der Autor für diese Fälle den Begriff "congenitalen Myopathie mit zentralen Kernen" (Wilmschurst et al., 2010).

### 1.2.3 X-chromosomale Myotubuläre Myopathie

Die myotubuläre Myopathie (XLMTM) wird X-chromosomal-rezessiv vererbt (siehe Tabelle 1) und ist mit einer geschätzten Inzidenz von 0,02 pro 1000 männlichen Lebendgeborenen die häufigste, aber auch schwerste Form einer CNM mit ausgeprägter neonataler Schwäche, generalisierter Hypotonie, externer Ophthalmoplegie und schwerer respiratorischer Störung, die eine künstliche Beatmung notwendig macht (Jungbluth et al., 2008, 2009b; Lutz, 2009). Häufig findet sich auch eine Makrosomie (Jungbluth et al., 2008).

Normalerweise kommt es rasch zum Tod durch respiratorisches Versagen, das durchschnittlich erreichte Überlebensalter liegt bei 29 Monaten (Jungbluth et al., 2009b; McEntagart et al., 2002). Es gibt aber auch Fälle, die eine unabhängige Spontanatmung sowie Gehfähigkeit erreichen und bis ins Jugendalter und darüber hinaus überleben (Jungbluth et al., 2008, 2009b). Dank respiratorischer Unterstützung überleben bis zu 40 % bis in die Kindheit und sogar bis in das Erwachsenenalter (Tosch et al., 2010). So wurde über eine *MTMI*-Mutation bei einem 67-jährigen Patienten berichtet, bei dem zuerst der Verdacht auf eine AD-CNM bestand (Biancalana et al., 2003). Konduktorinnen, also heterozygote Trägerinnen einer *MTMI*-Mutation sind meist asymptomatisch oder entwickeln allenfalls im adulten Alter eine milde, langsam progressive Muskelschwäche (Pierson et al., 2005). Die bisher älteste manifestierende Konduktorin einer *MTMI*-Mutation wurde 84 Jahre alt (Pénisson-Besnier et al., 2007). Durch zusätzliche X-chromosomale Abnormalitäten kann es bei weiblichen Patienten jedoch auch zu einer schwereren Ausprägung mit neonataler Hypotonie und Unfähigkeit zu gehen kommen (Dubowitz und Sewry, 2007).

Typischerweise findet sich in der Muskelbiopsie kein radiäres sarkoplasmatisches Speichenmuster und die zentralen Kerne bilden im Längsschnitt keine geschlossene Reihe, wie es bei den anderen CNM-Formen meist zu sehen ist, sondern sind durch reguläre Abstände getrennt (Jungbluth et al., 2009b). Multiple Kerninternalisierung findet sich in der Regel nicht (Jungbluth et al., 2009b). In den oxidativen Färbungen finden sich regelmäßig Muskelfasern mit hellen Halos in der Peripherie, hervorgerufen durch Abwesenheit von Mitochondrien (Jungbluth et al., 2009b; Romero, 2010).

XLMTM wird durch zahlreiche Mutationen im *Myotubularin-1*-Gen (*MTMI*) hervorgerufen, die über das ganze Gen verteilt sind (Jungbluth et al., 2009b; Laporte et al., 1996). Bisher sind über 200 Mutationen identifiziert worden, welche v.a. (in abnehmender Häufigkeit) in den Exonen 12, 4, 11, 8 und 9 des Gens zu finden sind (Jungbluth et al., 2008; Fujimura-Kiyono et al., 2009).

#### **1.2.4 CNM-Patienten ohne genetisch gesicherter Basis**

CNM-Patienten, bei denen die genetische Basis unklar bleibt, werden nach ihrer Histopathologie in 2 Subgruppen unterteilt (Romero, 2010):

1. CNM mit unscharfen Arealen bei sarkoplasmatischer Desorganisation, verändertem Subsarkolemm und vermehrter nukleärer Internalisation
2. CNM ohne morphologischer Eigenheiten

### **1.3 Dynamin-2**

#### **1.3.1 Genetischer Hintergrund**

Das Gen *DNM2* des Proteins Dynamin-2 ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 19 an der Stelle 19p13.2 lokalisiert und besteht aus 22 Exons auf einer Länge von 114 Kilobasen (Züchner et al., 2005; Durieux et al., 2010). Durch alternatives Splicen können 4 Isoformen des Dynamin-2 exprimiert werden, wobei das Expressionsmuster im Menschen noch weitgehend unbekannt ist (Durieux et al., 2010).

Beim Menschen konnten bisher 18 Missense-Mutationen sowie 5 Deletionen (siehe Abb. 1) an 20 verschiedenen Genloci in den Exons 7, 8, 11, 14, 15, 16, 18 und 19 identifiziert werden (Bitoun et al., 2005, 2007, 2008, 2009a, 2009b; Züchner et al., 2005; Echaniz-Laguna et al., 2007; Fabrizi et al., 2007; Gallardo et al., 2008; Melberg et al., 2009; Jungbluth et al., 2009a; Claeys et al., 2009; Susman et al., 2010).

#### **1.3.2 Struktur und Funktion von Dynamin-2**

Das Protein Dynamin-2 ist eine ubiquitäre GTPase und besteht aus 5 Domänen: die N-terminale GTPase-Domäne (GD) bindet und hydrolysiert GTP, die Mitteldomäne (MD) interagiert mit der GD und ist an der Konformationsänderung sowie der Di- und Oligomerisierung des Proteins beteiligt (Durieux et al., 2010). Es folgt die Pleckstrin-Homologie-Domäne (PH), welche eine gezielte Bindung an Membran-Phosphoinositide vermittelt, wobei die Affinität zu diesen mit dem Oligomerisationsgrad von Dynamin-2 steigt (Durieux et al., 2010). Die anschließende GTPase-Effektor-Domäne (GED) ermöglicht die GTPase-Aktivierung und ist ebenfalls an der Oligomerisation von Dynamin-2 beteiligt (Durieux et al., 2010). Den letzten, C-terminalen Abschnitt bildet die Prolin-reiche-Domäne (PRD). Diese ist für die Interaktion mit zahlreichen Proteinen zuständig, wie z.B. mit Amphiphysin 1 und 2 (Durieux et al., 2010). Die häufigsten Mutationen betreffen die MD und PH, während in der GED und PRD je nur eine Mutation beschrieben wurde (siehe Abb. 1). Eine Mutation in der GD ist bisher nicht bekannt.

Dynamamin-2 spielt eine wichtige Rolle bei der Clathrin-abhängigen und -unabhängigen Endozytose, indem es durch Oligomerisierung eine helikale Struktur um den "Hals" aufkeimender Vesikel bildet und diese von der Membran abtrennt (Durieux et al., 2010). Darüberhinaus ist Dynamamin-2 an intrazellulären Transportvorgängen sowie der Regulierung des Actin-Zytoskeletts und Mikrotubulus-Netzwerkes beteiligt (Durieux et al., 2010). Obwohl Dynamamin-2 ubiquitär exprimiert wird, scheint bei Mutationen überwiegend das Muskelgewebe betroffen (Jungbluth et al., 2009b), während zum Beispiel bei angezüchteten Fibroblasten von an CNM erkrankten Patienten keine Veränderungen nachgewiesen werden konnten (Bitoun et al., 2009a).

### **1.3.3 Pathophysiologische Hypothesen**

Als möglicher Pathomechanismus für CNM, aber auch CMT, wird eine Störung der Endozytose und somit bestimmter Signalwege diskutiert (Bitoun et al., 2009a; Durieux et al., 2010). Die Beeinträchtigung des Zytoskeletts sowie des Zentrosoms und damit die gestörte Regulierung der Zellstruktur sowie des intrazellulären Transports könnte bei CNM zu falscher Kernpositionierung, bei CMT zu einem abnormen axonalen Transport führen (Bitoun et al., 2005; Durieux et al., 2010).

### **1.4 Dynamamin-2 assoziierte Erkrankungen**

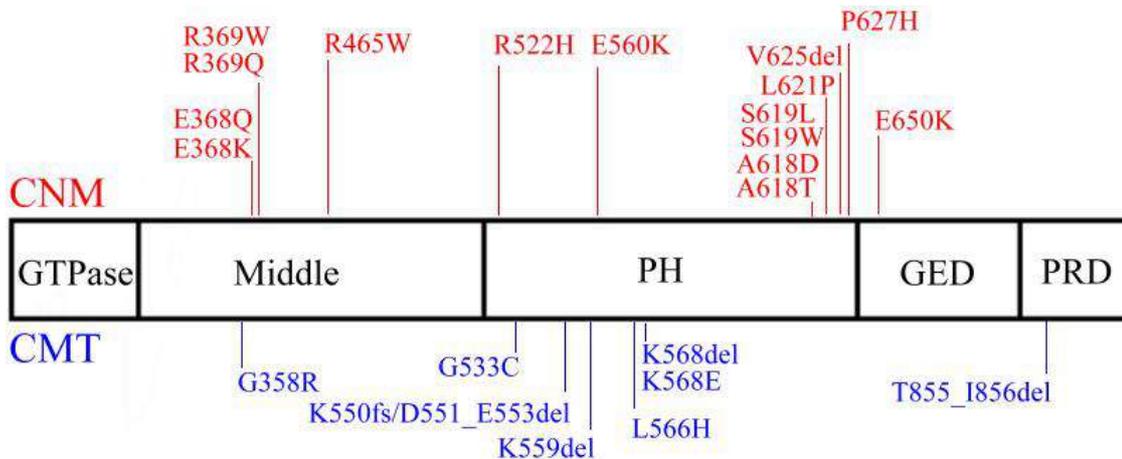
Bisher sind 3 verschiedene Erkrankungen mit Mutationen im Dynamamin-2-Gen beschrieben worden. Diese Erkrankungen, im Folgenden näher erläutert, unterscheiden sich erheblich im Phänotyp. Einige Mutationen sind mit einer Myopathie, andere mit einer Neuropathie assoziiert. Auch bei einer dementiellen Erkrankung wurde das Gen als neues Anfälligkeitsgen beschrieben.

#### **1.4.1 Autosomal-dominante zentronukleäre Myopathie *DNM2*-CNM**

*DNM2*-CNM ist die häufigste AD-CNM. 85% der Betroffenen zeigen einen milden Verlauf mit später Manifestation meist ohne Verlust der Gehfähigkeit und haben überwiegend Mutationen in der Mitteldomäne (Jungbluth et al., 2009b). Die Mutationen R465W, R369W und R369Q sind hierbei am häufigsten, zumeist mit positiver Familienanamnese (Bitoun et al., 2005). E368Q und E368K sind seltenere Mutationen der Mitteldomäne, bei letzterer sind nur sporadische Fälle mit zum Teil schwererem Phänotyp bekannt (Bitoun et al., 2005; Echaniz-Laguna et al., 2007). Bei Mutationen in der PH-Domäne sind fast nur sporadische Einzelfälle mit neonatalem Beginn und schwerem, zum Teil tödlichen Verlauf mit Verlust der Gehfähigkeit bekannt. Es handelt sich hierbei um die Mutationen E560K, A618T, S619L, S619W, V625del, L621P und P627H (Bitoun

et al., 2007, 2009b; Jungbluth et al., 2009a; Susman et al., 2010 ). Nur die Patienten mit den Mutationen R522H und A618D (Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010) in dieser Domäne weisen eine positive Familienanamnese und einen milderen Verlauf auf, wobei der Manifestationsbeginn jedoch ebenfalls überwiegend neonatal ist.

In der GED-Region ist nur die Mutation E650K bei einer Familie bekannt, welche phänotypisch den Mutationen in der Mitteldomäne entspricht (Bitoun et al., 2009a). Abb. 1 liefert eine schematische Darstellung des Gens und den krankheitsassoziierten Mutationen.



**Abbildung 1** Schematische Darstellung des *Dynamin-2*-Gens mit allen bisher beschriebenen Mutationen, die mit einer zentronukleären Myopathie (CNM) oder einer Charcot-Marie-Tooth-Neuropathie (CMT) assoziiert sind. GED: GTPase-Effektor-Domäne, Middle: Mitteldomäne, PH: Pleckstrin-Homologie-Domäne, PRD: Prolin-reiche-Domäne. Abbildung modifiziert nach Susman et al., 2010.

In einem Einzelfall einer *DNM2*-CNM wurde zusätzlich zur Mutation E368K in *Dynamin-2* eine Mutation in der PPIIn-Phosphatase hJUMPY (Gen *MTMRI4* auf dem Locus 3p25.3) identifiziert (Tosch et al., 2006). In einem weiteren sporadischen CNM-Fall wurde ebenfalls eine hJUMPY-Mutation entdeckt, es konnte jedoch weder eine Mutation im *DNM2*- noch im *MTMI*-Gen festgestellt werden (Tosch et al., 2006). Beide Fälle weisen eine neonatale Manifestation und einen eher milden Verlauf auf (Tosch et al., 2006).

Typisch für *DNM2*-CNM ist eine myohistologische Trias aus nukleärer Zentralisierung, Typ-1-Prädominanz und -Hypotrophie sowie einem radiären sarkoplasmatischen Speichenmuster (Jungbluth et al., 2009b; Romero, 2010). Vor allem letzteres kommt fast ausschließlich bei *DNM2*-CNM vor, kann aber bei den neonatalen *DNM2*-CNM-Fällen fehlen, weshalb eine gewisse Altersabhängigkeit dieses Merkmals vermutet wird (Jungbluth et al., 2009b). Auch ist der Anteil der zentralen Kerne an den binnenständigen Kernen höher als der der dezentralen, was einen wichtigen differentialdiagnostischen Faktor gegenüber anderen CNM-Formen darstellt (Romero, 2010).

Milde neuropathische Veränderungen in der Elektroneurographie findet sich nur in wenigen

Einzelfällen, was jedoch eine mögliche phänotypische Überlappung mit Dynamin-2-assoziiierter CMT vermuten lässt (Echaniz-Laguna et al., 2007; Susman et al., 2010).

MRT-Untersuchungen der unteren Extremitäten deuten auf ein spezifisches zeitliches Befallsmuster der Muskulatur hin, mit Erstbefall des distalen posterioren Unterschenkels, beginnend beim M. gastrocnemius medialis, gefolgt vom M. soleus und M. gastrocnemius lateralis (Fischer et al., 2006; Schessl et al., 2007). Im Verlauf werden die posteriore Oberschenkelmuskulatur und die Hüftmuskulatur betroffen, anschließend die anteriore Unterschenkelmuskulatur (Fischer et al., 2006). Erst sehr spät und nur bei schwersten Fällen zeigen sich Veränderungen im M. sartorius, M. gracilis und M. rectus femoris (Fischer et al., 2006). Dieses Befallsmuster erscheint nahezu spiegelbildlich zu dem in kongenitalen Myopathien, die mit *RYR1*-Mutationen assoziiert sind (Jungbluth et al., 2004a; Fischer et al., 2006).

#### **1.4.2 Charcot-Marie-Tooth-Neuropathie Typ CMT2 und Typ DI-CMTB**

Ebenfalls mit Mutationen im *DNM2*-Gen verknüpft sind die Charcot-Marie-Tooth-Neuropathien vom axonalen Typ (CMT2) sowie vom seltenen dominant-intermediären Typ B (DI-CMTB).

6 der 8 bisher gefundenen CMT-assoziierten *Dynamin-2*-Mutationen befinden sich in der PH-Region: G533C, K559del und L566H bei CMT2 und K550fs/D551\_E553del, K558del und K558E bei DI-CMTB (Fabrizi et al., 2007; Bitoun et al., 2008; Züchner et al., 2005). In der Mitteldomäne ist nur ein familiärer Fall mit einer CMT2-assoziierten Mutation (G358R) bekannt, die DI-CMTB-assoziierte Mutation T855\_I856del ist bisher die einzige in der PRD-Region beschriebene Mutation überhaupt (Claeys et al., 2009; Gallardo et al., 2008). Siehe dazu Abb. 1.

Langsam progrediente Schwäche und Atrophien, distale sensible Störungen der Gliedmaßen und Skelettdeformitäten wie Pes cavus und Hammerzehen sowie neuropathische Veränderungen in der Elektrophysiologie sind typische Zeichen von CMT-Neuropathien im Allgemeinen und ebenso bei den *DNM2*-Formen zu finden (Claeys et al., 2009).

Zellkulturstudien haben gezeigt, dass CNM- und CMT-bezogene Mutationen in vitro gleiche Effekte haben, rufen jedoch in vivo unterschiedliche gewebsspezifische Phänotypen hervor (Bitoun et al., 2009a):

Während bei *DNM2*-CNM elektrophysiologisch neben den myopathischen auch leichte neuropathische Veränderungen als Zeichen einer möglichen phänotypischen Überlappung zu CMT beschrieben wurden (Echaniz-Laguna et al., 2007; Susman et al., 2010), sind bei CMT2 und DI-CMTB keinerlei myopathische Veränderungen zu finden. Auch sonst lassen sich nur selten Merkmale einer CNM finden, wie Facies myopathica, proximale Muskelschwäche oder Beteiligung der Augenmuskulatur (Claeys et al., 2009). Myohistologisch sind ebenfalls keine

pathologischen Zeichen einer CNM erkennbar (Bitoun et al., 2008; Jungbluth et al., 2009b).

Eine genotypische Überlappung, also eine Mutationen des *DNM2*-Gens, die entweder den CMT- oder auch den CNM-Phänotyp hervorrufen kann, ist bisher noch nicht beschrieben worden. Auch sind bisher nicht beide Phänotypen gleichzeitig in einer Familie aufgetreten.

#### **1.4.3 Late-onset Morbus Alzheimer**

Late-onset Morbus Alzheimer (LOAD) ist die Hauptform von Demenz bei Älteren und ist eine polygenetische Erkrankung (Aidaralieva et al., 2008). So wurde auch *DNM2* als ein neues Anfälligkeitsgen für LOAD identifiziert und wird bei LOAD-Patienten vermindert exprimiert (Aidaralieva et al., 2008; Durieux et al., 2010). Auch bei einigen *DNM2*-CNM-Patienten konnten kognitive Beeinträchtigungen festgestellt werden (Jeannet, 2004; Fischer et al., 2006; Echaniz-Laguna et al., 2007; Bitoun et al., 2009a).

#### **1.5 Zielsetzung der Arbeit**

Eine Unterscheidung der *DNM2*-CNM zu anderen CNM-Formen gestaltet sich aufgrund fehlender klarer Phänotypenanalysen schwierig, sowohl auf klinischer als auch auf histologischer Ebene. Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Phänotypisierung dieser Erkrankung leisten. Es wurde versucht, aus einem großen Kollektiv Patienten zu identifizieren, die in ihrer Muskelbiopsie typische Veränderungen einer CNM aufweisen. Bei Patienten, die diese histologischen CNM-Zeichen aufwiesen, sollte untersucht werden, ob Mutationen in den bisher CNM-assoziierten Genen gefunden werden können. Es wurde versucht, Patienten mit *DNM2*-CNM phänotypisch zu charakterisieren, den Phänotyp nach neuen Aspekten zu untersuchen und Genotyp-Phänotyp-Korrelationen sowie Unterschiede zu anderen CNM-Formen herauszuarbeiten. Speziell das Verhältnis von Fasern mit zentralen Kernen zu Fasern mit dezentralen und subsarkolemmalen Kernen wurde untersucht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Auswahl der Patienten**

Es wurden alle konsekutiven Muskelbiopsien von 1582 erwachsenen Patienten aus dem Muskellabor der Neurologischen Klinik Halle der Jahre 1997 bis 2009 nach den typischen histopathologischen Zeichen einer zentronukleären Myopathie (CNM) hin untersucht. Einbezogen wurden nur Biopsien von adulten Patienten, d.h. mit einem Mindestalter von 18 Jahren.

Folgende histopathologische Kriterien einer zentronukleären Myopathie wurden verwendet:

- eine hohe Anzahl binnenständiger Kerne
- Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Fasern
- radiäre Speichenmuster
- zentrale Aktivitätsminderung oder -steigerung

Zunächst wurden alle Biopsien mit zahlreichen binnenständigen Kernen auf das Vorkommen einer erhöhten Anzahl zentralständiger Kerne analysiert. Der Cut Off für die Zahl binnenständiger Kerne wurde mit 10-15 % festgelegt. Befunde, die keine oder nur eine geringfügige Anzahl binnenständiger Kerne aufwiesen, wurden für eine weitere Analyse nicht in Betracht gezogen.

Zeigten die Präparate besagte Merkmale, so wurden die Patienten zuerst auf Mutationen im *DNM2*-Gen untersucht. Wurde keine Mutation detektiert, so folgte eine Untersuchung der *MTM1*-, *BINI*- und *RYR1*-Gene sowie am DM1-Lokus des *DMPK*-Gens, um eine Myotone Dystrophie Typ Curschmann-Steinert auszuschliessen. Desweiteren wurden bei diesen Patienten mit histologischer Diagnose einer CNM am Licht-Mikroskop die Anzahl der Muskelfasern mit internen Kernen ausgezählt und die Kaliber der Typ-1- und Typ-2-Fasern ausgemessen sowie klinische und paraklinische Daten erhoben und analysiert. Die paraklinischen Daten umfassten Elektromyo-, Elektroneuro- und Elektrokardiographie sowie Lungenfunktionsprüfung und MRT. Die elektromyo- und elektroneurographische Messungen wurden an der Universitätsklinik für Neurologie der Martin-Luther-Universität Halle durchgeführt.

### **2.2 Verwendete histochemische Färbungen**

#### **2.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)**

Zur HE-Färbung wurden 5 µm Muskelschnitte verwendet und 10 Minuten in einer Hämalaun-Lösung inkubiert. Nach kurzem Spülen sowie zehnmütigem Bläuen in Leitungswasser folgte die Inkubation in Eosin 1% für eine Minute mit anschließend erneutem Spülen. Danach wurden

die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 96%, 100%) dehydriert, in Xylol geklärt und mit Roti Histokitt fixiert.

Mittels der HE-Färbung können die Lage der Kerne, die allgemeine Gewebsstruktur sowie das Vorliegen von Regenerationszeichen, Nekrosen oder Zeichen einer fettigen oder bindegewebigen Degeneration beurteilt werden. Zur Auszählung der binnenständigen bzw. zentralen Kerne wurde vorrangig diese Färbung verwendet.

### **2.2.2 Myofibrilläre ATPase-Reaktion bei pH 9,4 (ATPase pH 9,4)**

Für die ATPase-Färbung wurden luftgetrocknete 5 µm Muskelschnitte 15 Minuten in einer Lösung mit pH 9,4 präinkubiert und anschließend für 15 Minuten in eine ATP-Inkubationslösung bei 37°C eingelegt. Es folgte eine dreimalige Inkubation in einer 1% Calciumchloridlösung für je 1 Minute sowie die einmalige Inkubation in einer 2% Cobalt(II)-chloridlösung für 5 Minuten. Im Anschluss wurden die Schnitte viermalig in Natrium-Barbital-Lösung und einmalig in Leitungswasser gespült, für 20 Sekunden in 1% Amoniumsulfid gestellt und zuletzt in Aquadest gewaschen und eingestellt sowie mit KAISERs Glyceringelatine eingedeckt.

Die ATPase-Färbung ist die geeignetste Färbung zur Differenzierung der Fasertypen und wurde auch primär zur Kalibermessung und Auszählung der Typ-1- und Typ-2-Fasern verwendet.

### **2.2.3 Nicotinamid-adenin-dinucleotid-dehydrogenase-Reaktion (NADH)**

Die NADH-Färbung erfolgte ebenfalls mit 5 µm Muskelschnitten, welche zuvor für mindestens einen Tag auf Poly-L-Lysin-beschichteten Objektträgern luftgetrocknet wurden. Es folgte eine 45-minütige Inkubation in einer NADH-Lösung bei 37°C in einer feuchten Kammer. Abschließend wurden die Schnitte in Aquadest gewaschen und eingestellt sowie mit KAISERs Glyceringelatine eingedeckt.

Anhand der NADH-Färbung lässt sich am besten das Vorliegen radiärer Speichenmuster und zentraler Aktivitätsminderung und -steigerung erkennen. Eine Fasertypen-differenzierung ist ebenso möglich, ist jedoch nicht so klar wie in der ATPase-Färbung.

### **2.2.4 Periodic-acid-Schiff-Reaktion (PAS)**

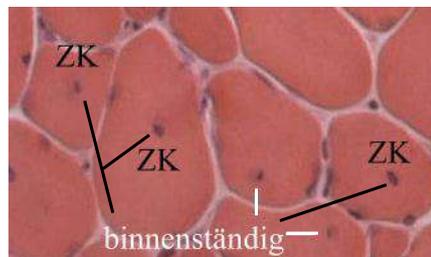
Bei der PAS-Färbung wurden die luftgetrockneten Schnitte für 5 Minuten in absoluten Alkohol und anschließend ebenso lange in 0,5% Periodsäure gestellt. Es folgten eine jeweilig 10-minütige Einstellung in Leitungswasser, in das Schiff'sche Reagenz und wieder in Leitungswasser. Nach einer einminütigen Inkubation in MAYERS-Hämalaun und 10-minütigem

Bläuen in Leitungswasser folgte die aufsteigende Alkoholreihe und das Eindecken mit Roti Histokitt II.

Mit der PAS-Färbung lässt sich die Glykogenspeicherung in den Muskelfasern beurteilen.

### 2.3 Analyse der binnenständigen Kerne

Die Auszählung der Kerne wurde mit einem Licht-Mikroskop bei 10- oder 20-facher Vergrößerung durchgeführt. Pro Patient wurde bei mindestens 500 Fasern die Position der Kerne bestimmt, insofern der Zustand des Präparates dies zuließ. Allgemein wurde ein Kern, der keine Berührung mehr mit dem Sarkolemm hatte und sich vollständig im Sarkoplasma befand, als binnenständig bezeichnet. Befand sich ein solcher Kern im Zentrum der Muskelfaser, so wurde er als zentraler Kern gezählt (Abb.2).



**Abbildung 2** Bestimmung der Kernposition: 5 binnenständige Kerne, 3 davon in zentraler und 2 in dezentraler Position (ZK: zentraler Kern).

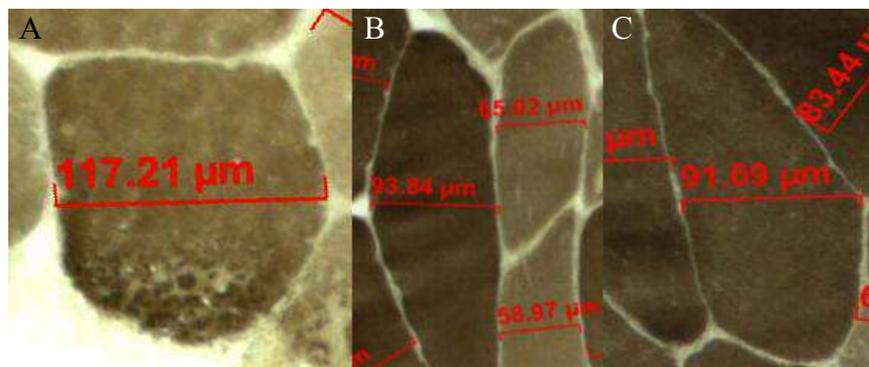
### 2.4 Messung der Faserkaliber von Typ-1- und Typ-2-Fasern und statistische Datenanalyse

Eine optimal transversal geschnittene Faser erscheint rundlich bis polygonal und kann leicht an der breitesten Stelle ausgemessen werden (Abb. 3A). Schräg angeschnittene Fasern haben eine längliche ovale oder rechteckige Form (Abb. 3B), macht die Faser an der Schnittstelle einen Knick erscheint sie tropfenförmig (Abb. 3C). Diese Fasern müssen am breitesten Aspekt des schmälere Durchmesser gemessen werden (Dubowitz und Sewry, 2007).

Aus den gewonnenen Daten konnten neben dem Kaliberspektrum und der Prädominanz auch der Variabilitätskoeffizient nach Dubowitz und Brooke (1973) als Maß der Fasergrößenstreuung sowie die Atrophie- und Hypertrophiefaktoren der Fasertypen nach Brooke und Engel (1969b) bestimmt werden. Anhand des Variabilitätskoeffizienten, welcher in normalen Muskelgewebe kleiner 250 ist, lässt sich eine anormale Variabilität der Fasergröße nachweisen. Der Koeffizient errechnet sich aus dem mit dem Faktor 1000 multiplizierten Quotienten von Standardabweichung durch durchschnittlicher Faserdurchmesser. Mittels des Atrophie- bzw.

Hypertrophiefaktors lässt sich auch eine nicht auf den ersten Blick erkennbare Atrophie bzw. Hypertrophie ermitteln. Je kleiner bzw. je größer die Fasern sind, desto mehr fallen sie bei der Berechnung dieser Faktoren ins Gewicht. Bei einem männlichen Patienten (normale Kalibervarianz 40-80  $\mu\text{m}$ ) wird der Atrophiefaktor wie folgt ermittelt: die Anzahl der Fasern mit einem Kaliber von 30-40  $\mu\text{m}$  wird mit 1 multipliziert, von 20-30  $\mu\text{m}$  mit 2, von 10-20  $\mu\text{m}$  mit 3 und unter 10  $\mu\text{m}$  mit 4. Die Ergebnisse werden addiert, die Summe durch die Gesamtanzahl der Fasern des gleichen Typs dividiert und das Ergebnis mit 1000 multipliziert. Bei Ermittlung des Hypertrophiefaktors verfährt man dementsprechend, beginnend mit der Gruppe 80-90  $\mu\text{m}$ . Bei Frauen geht man von einem normalen Kaliberspektrum von 30-70  $\mu\text{m}$  aus (Dubowitz und Sewry, 2007).

Eine Typ-1-Prädominanz lag vor, wenn der Anteil der Typ-1-Fasern über 55% war, eine Typ-2-Prädominanz bei einem Typ-2-Anteil über 80% (Dubowitz und Sewry, 2007).



**Abbildung 3** Richtige Ausmessung der Kaliber von unterschiedlich angeschnittenen Muskelfasern. A: optimal transversal angeschnittene, rundliche Typ-2-Faser. B: schräg angeschnittene, längliche Typ-1- und Typ-2-Fasern, ausgemessen am breitesten Aspekt des schmäleren Durchmessers. C: tropfenförmiger Anschnitt einer transversal angeschnittenen Typ-2-Faser, die an der Schnittstelle einen Knick macht. Ausmessung wie bei B.

## 2.5 Elektronenmikroskopische Untersuchung

Zur Untersuchung am Elektronenmikroskop wurden Gewebeproben an das Pathologische Institut der Martin-Luther-Universität Halle eingeschickt.

## 2.6 Bildbearbeitung

Die Messung der Faserkaliber wurde am Computer anhand digitaler Fotoaufnahmen von Muskelschnitten mit der Axi-Vision-Bildanalyse-Software für Mikroskopie der Carl Zeiss MicroImaging GmbH durchgeführt.

## **2.7 Molekulargenetische Analyse**

Zur genetischen Untersuchung der *DNM2*-, *BINI*-, *MTM1*- und *RYR1*-Gene wurden Blutproben der Patienten in das Zentrum Medizinische Genetik der Julius-Maximilians-Universität Würzburg sowie in das Institut de Myologie der Université Pierre et Marie Curie in Paris eingeschickt. Das genetische Screening der Patienten-DNA geschah durch direkte Sequenzierung der kodierenden Exone 8, 11, 16 und 17 des *DNM2*-Gens, der Exone 1-19 und des Exons 10iso4 des *BINI*-Gens, der 14 kodierenden Exone des *MTM1*-Gens und der C-terminalen Mutations-hotspots des *RYR1*-Gens mit den Exons 95, 100, 101 und 102 bei einer Sensitivität der Methode von >95%. Die molekulargenetische Untersuchung am DM1-Locus auf Vorliegen einer Expansion des (CTG)<sub>n</sub>-Motivs wurde am Institut des Universitätsklinikum Magdeburg durchgeführt und erfolgte mittels Southern-Blot Analyse.

Die genetischen Untersuchungen erfolgten nach Vorliegen der Einverständniserklärung.

## **2.8 Klinische Untersuchung der Patienten**

Es erfolgte eine standardisierte neurologische Untersuchung. Die Pallästhesie wurde bimalleolär mit einer Rydel-Seiffer-Stimmgabel, die Sensibilität mit einem Pinsel und einem spitzen Einweg-Holzstäbchen ermittelt. Die Beurteilung der Kraft erfolgte mittels der Kraftgradeinteilung des Medical Research Council (MRC). Die Reflexe wurden beidseits an der Achilles-, Patellar-, Triceps- und Bicepssehne geprüft.

Die kognitiven Fähigkeiten wurden mit dem Mini-Mental-Status-Test nach Folstein et al. (1975) und dem DemTect nach Kessler und Calabrese (2000) erfasst.

## **2.9 Paraklinische Untersuchung der Patienten**

### **2.9.1 Elektrophysiologische Untersuchungen**

Mittels Nadel-EMG wurde anhand einer in den Muskel platzierten Nadelelektrode der entspannten Muskel auf pathologische Spontanaktivitäten wie Fibrillationspotentiale und positive scharfe Wellen als Zeichen denervierter oder noch nicht ausreichend reinnervierter regenerierender Muskelfasern untersucht sowie unter willkürlicher Anspannung des Muskels die Summenpotentiale motorischer Einheiten und deren Dauer gemessen und deren Rekrutierungsverhalten und das Interferenzmuster analysiert (Bischoff et al., 2003). Die untersuchten Muskeln waren der M. biceps brachii, M. tibialis anterior, M. vastus lateralis oder M. gastrocnemius.

Bei der motorischen Elektroneurographie an N. tibialis und N. peroneus wurde der motorische

oder gemischte Nerv mittels einer Oberflächenelektrode elektrisch gereizt und über dem entsprechenden Muskel das Muskelsummenpotential als Maß für die Anzahl erregter Muskel- und Nervenfasern abgeleitet (Bischoff et al., 2003). Zur Bestimmung der motorischen Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) wurde der Nerv an zwei verschiedenen Punkten gereizt und die jeweiligen Latenzzeiten der Reizantwort gemessen. Aus  $v=ds/dt$  ergibt sich die NLG (Bischoff et al., 2003). Bei der sensiblen Neurographie am N. suralis wurde die antidrome Technik angewandt. Hier wird der sensible Nerv proximal elektrisch gereizt und im distalen Abschnitt mit gewissem Abstand erfolgt über dem Nerv die Ableitung des sensiblen Nervenaktionspotentials (SNAP) als Maß für die Anzahl erregter Nervenfasern (Bischoff et al., 2003). Bei Bestimmung der sensiblen NLG genügt die Stimulation an einem Punkt des Nerven.

### **2.9.2 Lungenfunktionsprüfung, Elektro- und Echokardiographie**

Die Prüfung der Lungenfunktion erfolgte durch Ermittlung der Vitalkapazität VC und der forcierten Einsekundenkapazität FEV1 mittels eines EasyOne-Spirometers. Angegeben wurden jeweils der prozentuale Anteil des Sollwertes, bei dem Alter, Körpergröße und Geschlecht gemäß der European Respiratory Society berücksichtigt werden müssen (Ulmer et al., 1991). Die Messung muss allgemein mindestens 3 mal durchgeführt werden, verwendet werden die Maximalwerte (Ferlinz, 1994). Wenn möglich, wurde zur Feststellung einer diaphragmalen Schwäche die Lungenfunktionsprüfung sowohl im Sitzen als auch im Liegen durchgeführt. Ein Abfallen der VC um 5 - 10% von einer aufrechten in eine liegende Position gilt als normal, ein Abfall um mindestens 30% weist auf eine schwere diaphragmale Schwäche hin (Brewis et al., 1995).

Mittels Elektro- und Echokardiographie wurden die Patienten auf Hinweise einer Mitbeteiligung des Herzens im Sinne einer Kardiomyopathie untersucht.

### **2.9.3 MRT-Untersuchung**

Mittels MRT sollte die Muskulatur auf degenerative Veränderungen wie fettiger und bindegewebiger Ersatz der Muskulatur und Atrophien untersucht werden. Es wurden T1-gewichtete Bilder mit und ohne Kontrastmittel sowie T2-gewichtete Bilder erzeugt. Durchgeführt wurden die Untersuchungen in der Klinik für Diagnostische Radiologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, die Befundung der Bilder erfolgte durch die dortigen Radiologen.

#### **2.9.4 Laboruntersuchung**

Bei der Laboruntersuchung wurden neben der Kreatinkinase (CK) auch andere Faktoren bestimmt, die bei Neuropathien häufig pathologisch verändert sein können: HbA1c, Vitamin B12, Folsäure, Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Methylmalonsäure, Blutbild.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Histologisches Screening**

Von 1582 Muskelbiopsien adulter Patienten konnten aufgrund typischer CNM-Merkmale bei 6 Patienten die histologische Diagnose einer zentronukleären Myopathie gestellt werden. Dies entspricht 0,38% der gescreenten Muskelbiopsien.

#### **3.2 Molekulargenetisches Screening der Patienten**

4 von diesen 6 Patienten (65,79%) zeigten beim genetischen Screening heterozygote Mutationen im *DNM2*-Gen:

Die Patienten P1, P2 und P3 hatten die häufige Mutation c.C1393T im Exon 11 (p.R465W in der Mitteldomäne des Proteins). Patient P4a wies die seltenere Mutation c.G1102A im Exon 8 (p.E368K, ebenfalls in der Mitteldomäne) auf, ebenso dessen nachträglich zur Studie hinzugezogene Schwester (Patient P4b).

Bei den Patienten P5 und P6 konnte weder eine Mutation im *DNM2*-, noch im *MTM1*-, *BINI*- oder *RYR1*-Gen oder am DM1-Lokus gefunden werden.

#### **3.3 Molekulargenetisches Screening der Eltern auf *DNM2*-Mutationen**

Bei beiden Elternteilen von P2 und dem Geschwisterpaar (P4a, P4b) konnten die jeweiligen Mutationen nicht nachgewiesen werden und scheinen somit sporadisch aufgetreten zu sein. Der Vater von P1 wies ebenso keine Mutation auf, die Mutter war schon verstorben, schien jedoch nicht unter Symptome einer neuromuskulären Erkrankung zu leiden. Es kann somit bei P1 ebenfalls ein sporadisches Auftreten der Mutation vermutet werden. Die Eltern von P3 waren gleichfalls verstorben. Auch hier gab die Familienanamnese keinen Hinweis auf eine neuromuskuläre Erkrankung, so dass bei P3 eine de-novo-Mutation als wahrscheinlich gelten kann.

Da bei P5 und P6 kein mutiertes Gen als Ursache identifiziert werden konnte, wurde eine molekulargenetische Untersuchung der Eltern nicht durchgeführt.

#### **3.4 Histologische Befunde**

Eine Zusammenfassung der histologischen Befunde ist in Tabelle 2 zu sehen. Von P4a konnten nur Fremdpräparate in HE-Färbung sowie in einer modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung (TR) analysiert werden, weitere Daten konnten aus Fremdbefunden entnommen werden.

**Tabelle 2** Zusammenfassung der histologischen Befunde der Patienten mit histologischer Diagnose einer CNM. Statistische Daten zur Kernzentralisierung, Prädominanz sowie Faserhypo- und hypertrophie sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Patient	P1	P2	P3	P4a	P5	P6
Alter bei Biopsie (Jahre)	48	21	58	15	33	30
Muskel	unbekannt	M.b.b.	M.g.	M.q.f.	M.b.b.	M.b.b.
zentrale Kerne	+	+	+	+	+	+
Prädominanz Typ-1-Faser	+	(+)	+	k.A. <sup>1</sup>	-	-
radiäres Speichenmuster	(+)	++	++	+	+	++
Hypotrophie/Atrophie Typ-1-Faser <sup>2</sup>	mäßig	stark	mäßig	ja <sup>1</sup>	stark	stark
Hypotrophie/Atrophie Typ-2-Faser <sup>2</sup>	mäßig	leicht	leicht	k.A. <sup>1</sup>	sehr stark	leicht
Hypertrophie Typ-1-Faser <sup>2</sup>	-	-	-	k.A. <sup>1</sup>	leicht	-
Hypertrophie Typ-2-Faser <sup>2</sup>	mäßig	-	-	k.A. <sup>1</sup>	-	-
enzymreiche Halos	+	+	+	Ø	+	+
zentrale Aktivitätsminderung	-	-	+	Ø	+	+
zentrale Aktivitätssteigerung	+	+	+	Ø	+	+
Cores	-	-	-	-	-	+
pathologische Glykogenspeicherung	-	+	-	+	+	+
Fettgewebsvermehrung	+++	-	-	+	+++	-
Bindegewebsvermehrung	++	+	+	-	+	+
Nekrose	+	-	+	-	-	-
Regeneration	++	-	+	-	-	-
Elektronenmikroskopie: Vacuolen Z-Bandenstörungen	- +	Ø	- +	+ -	Ø	- +

Ø: Untersuchung nicht durchgeführt; k.A.: keine Angaben; M.b.b.: M. biceps brachii; M.g.: M. gastrocnemius; M.q.f.: M. quadriceps femoris;

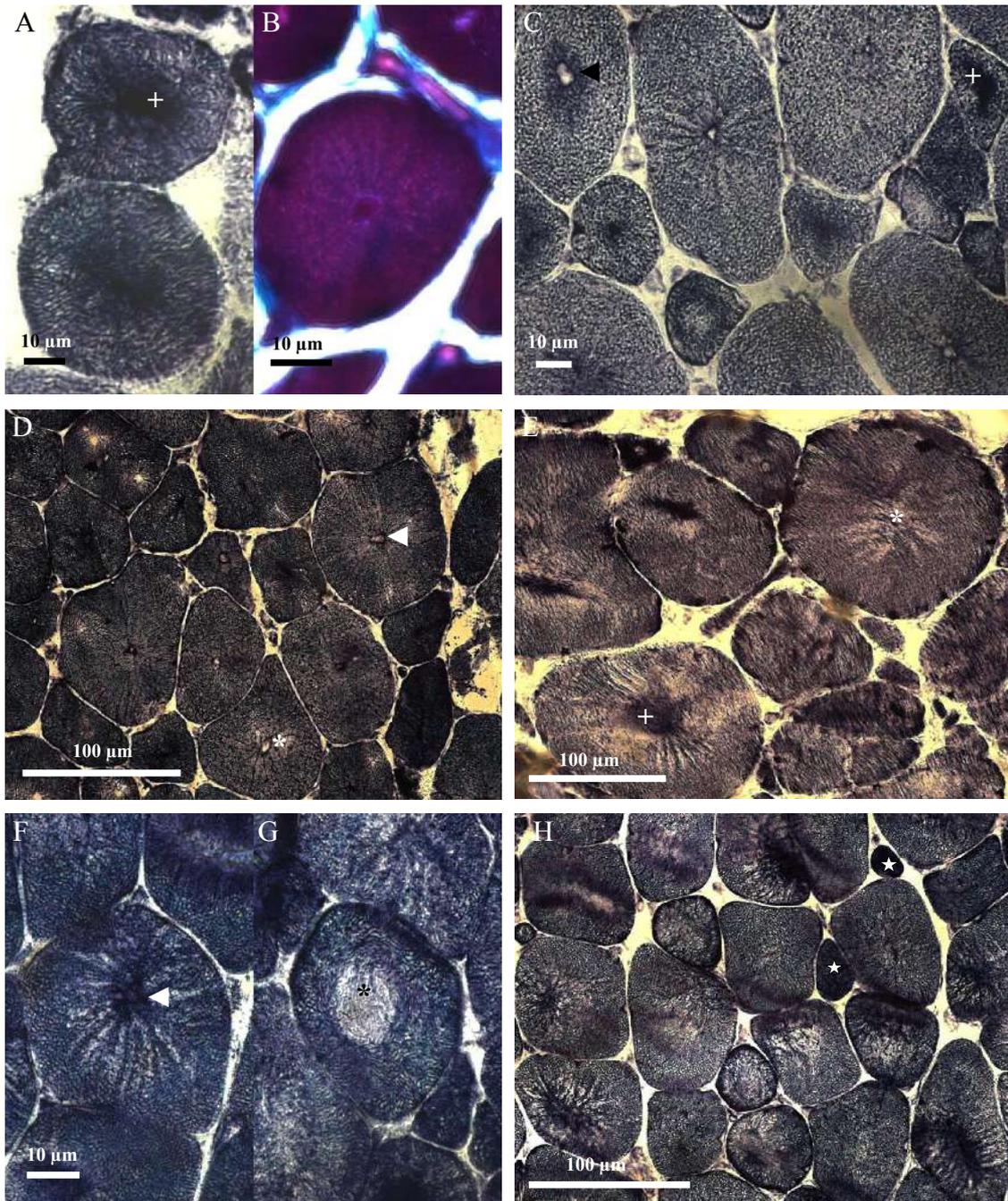
<sup>1</sup> Zum Zeitpunkt der Studie waren die notwendigen Färbungen nicht verfügbar. Die angegebenen Daten entstammen älteren schriftlichen Befunden.

<sup>2</sup> Gradeinteilung nach Tosi und Jerusalem (1976), ermittelt aus den Atrophie- und Hypertrophiefaktoren aus Tabelle 4.

Von P4b standen keine Muskelbiopsien zur Verfügung. Bei P6 musste zur Analyse der Prädominanz und Hypotrophie der Muskelfasertypen auf die NADH-Färbung zurückgegriffen werden, da das ATP-Präparat aufgrund zahlreicher Artefakte unbrauchbar war.

Das durchschnittliche Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Muskelbiopsie betrug 34 Jahre (P4a: 15, P2: 21, P6: 30, P5: 33, P1: 48, P3: 58). Welche Muskeln biopsiert wurden ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

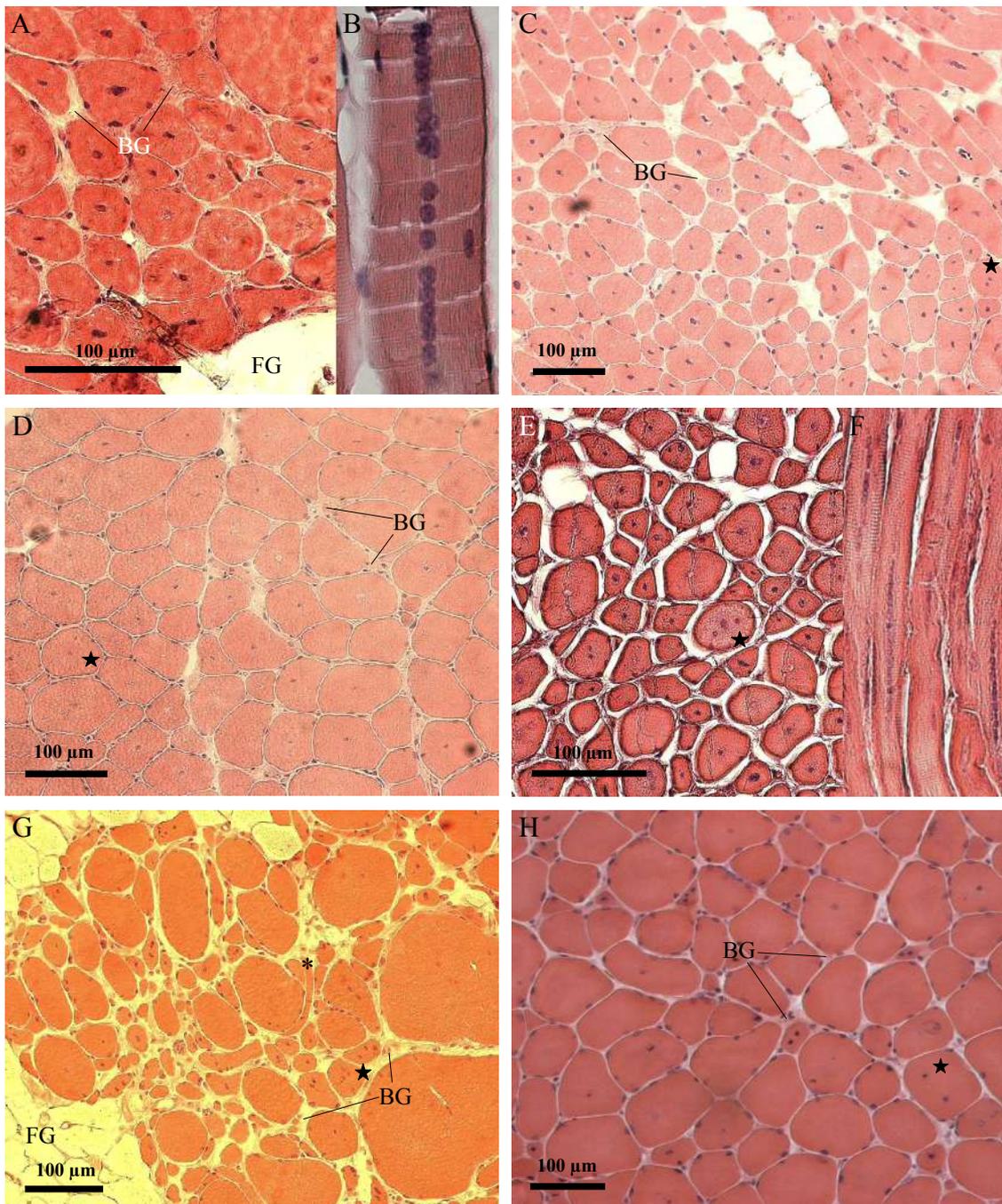
Das für *DNM2*-CNM typische radiäre Speichenmuster war bei allen Patienten zu sehen (Abb. 4). Bei P2, P3 und P6 war es sehr zahlreich und bei P5 in geringerem, aber trotzdem deutlichen Ausmaß vorhanden. P1 zeigte das Speichenmuster in nur sehr wenigen Fasern, ebenso P4a, wobei dieses in der TR-Färbung zu sehen war (Abb.4). Enzymreiche perinukleäre Halos und zentrale Aktivitätssteigerung konnte bei fünf Patienten gefunden werden (Abb.4), zu P4a konnten mangels entsprechender Präparate keine Aussagen gemacht werden. Zusätzlich zeigten sich bei drei Patienten (P3, P5, P6) in einigen Fasern zentrale Aktivitätsminderungen, welche bei P6 core-ähnliche Formen annahmen (Abb.4).



**Abbildung 4** NADH-Färbung der Muskelbiopsien der Patienten P1 (A), P2 (C), P3 (D), P5 (E) und P6 (F, G, H) sowie modifizierte Gomori-Trichrom-Färbung des Patienten P4a (B) bei 20-facher (D, E, H), 40-facher (A, C, F, G) und 100-facher Vergrößerung (B). Bei allen Präparaten waren das für *DNM2*-CNM typische radiäre Speichermuster zu finden. In den NADH-Färbungen zeigten sich außerdem perinukleäre Halos (◀) und zentrale Aktivitätssteigerung (+). Bei P3, P5 und P6 zeigten einige Fasern auch eine zentrale Aktivitätsminderung (\*), welche bei P6 core-ähnliche Formen annahm (G). Bei P6 wurde die Kalibermessung anhand der NADH-Färbung durchgeführt. Die Typ-1-Fasern sind wie bei der ATPase-Färbung dunkler als die Typ-2-Fasern. So ist in Bild H eine Hypotrophie der Typ-1-Fasern (Stern) sowie eine Prädominanz der Typ-2-Fasern zu erkennen.

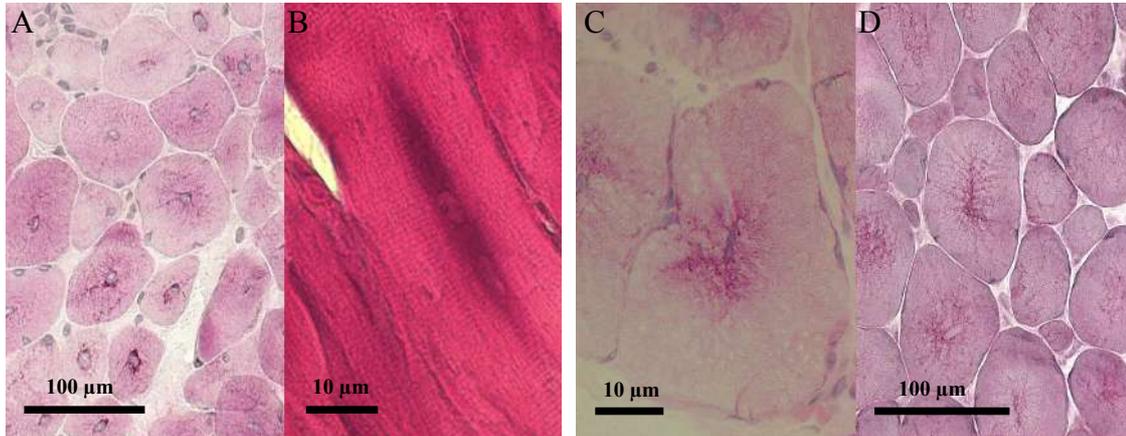
Nekrotische Fasern mit geringer Anfärbung und Zeichen einer Regeneration in Form von basophilen Fasern in der HE-Färbung waren nur bei P1 und P3 zu sehen. Eine Zunahme des Fettgewebes war bei drei Patienten (P1, P4a, P5) vorhanden, bei P1 und P5 sogar in sehr

ausgeprägtem Ausmaß (Abb.5). Eine Bindegewebsvermehrung war bei allen Patienten außer P4a nachzuweisen (Abb.5). Auch hier war bei P1 die Zunahme stark ausgeprägt.



**Abbildung 5** HE-Färbungen der Muskelbiopsien der Patienten P1 (A,B), P2 (C), P3 (D), P4a (E,F), P5 (G) und P6 (H) bei 10-facher (C, D, G, H) und 20-facher (A, B, E, F) Vergrößerung. Bei allen Schnitten sind zahlreiche zentrale Kerne zu erkennen, die im Längsschnitt zu einer dichten Kette aufgereiht sind (B, F). Einige Fasern haben zusätzlich dezentrale Kerne (Stern). Außer bei P4a (E, F) ist eine Bindegewebsvermehrung (BG), bei P1 (A) und P5 (G) zusätzlich vermehrtes Fettgewebe (FG) zu sehen. Beides ist bei P5 (G) stark ausgeprägt. Die Fasern sind bei allen Schnitten zum größten Teil abgerundet, es finden sich aber auch abgeflachte und anguläre Fasern (\* in Bild G).

Die PAS-Färbung zeigte bei 4 Patienten (P2, P4a, P5, P6) eine zentrale perinukleäre und zum Teil sternförmige Akkumulation von Glykogen (Abb.6). Im Allgemeinen fanden sich neben der normalen polygonalen Faserform auch runde, abgeflachte oder anguläre Fasern bei allen Patienten. Andere pathologische Zeichen wie Vacuolen oder Nematinkörper wurden lichtmikroskopisch nicht gefunden.



**Abbildung 6** PAS-Färbung der Patienten P2 (A), P4a (B), P5 (C) und P6 (D) bei 20-facher (A, D) und 40-facher (B, C) Vergrößerung. Zu erkennen ist eine zentrale perinukleäre Akkumulation von Glykogen, was sich im Querschnitt als sternförmiges Muster darstellt (A, C, D). Bei P4a (B) stand für diese Färbung nur ein Längsschnitt zur Verfügung.

### 3.5 Elektronenmikroskopische Befunde

Bei vier der Patienten sind die Muskelbiopsien zusätzlich elektronenmikroskopisch untersucht worden. P1, P3 und P6 zeigten neben pathologischen Befunden, die auch im Lichtmikroskop sichtbar waren, zentrale myofibrilläre Architekturstörungen mit Z-Banden-Irregularitäten in den hypertrophen Fasern. Bei P4a fand sich perinukleäres Glykogen und Lysosomen mit membranären Komponenten und granulärem Material sowie Invaginationen des Sarkolemmis mit Basalmembran als Substrat der Vacuolen. Veränderungen der Kerne waren bei allen 3 Patienten nicht zu sehen.

### 3.6 Ergebnisse der Auszählung der Muskelfasern mit binnenständigen Kernen

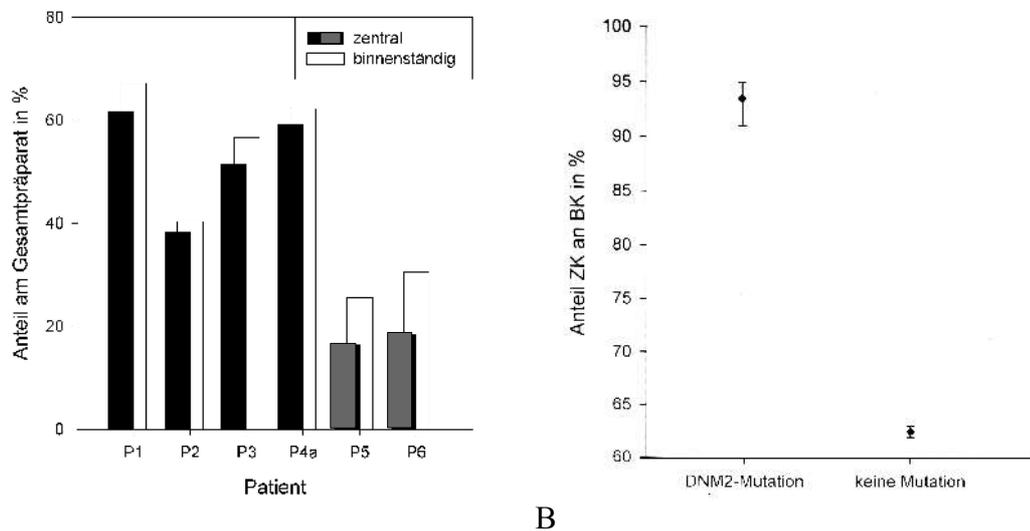
Die Ergebnisse der Auszählung befinden sich in Tabelle 3 sowie in Abb. 8. Die Auszählung der Muskelfasern mit binnenständigen Kernen (zentral + dezentral), durchgeführt anhand der HE-Präparate, ergab bei den vier Patienten mit *DNM2*-Mutation einen durchschnittlichen Anteil von 56,61% (P1: 67,16%; P2: 40,30%; P3: 56,72%; P4a: 62,27%), bei den zwei Patienten ohne Mutation 27,97 % (P5: 25,50%; P6: 30,44%). Die Fasern mit zentralen Kernen allein betrachtet hatten bei P1-P4a am Gesamtpräparat einen durchschnittlichen Anteil von 52,74% (P1: 61,75%;

P2: 38,39%; P3: 51,50%; P4a: 59,33%;), bei P5 und P6 17,51 % (P5: 16,44%; P6: 18,57%).

Der Anteil der Fasern mit zentralen Kernen bezogen auf alle Fasern mit binnenständigen Kernen ergab somit bei den Patienten mit Mutation durchschnittlich 93,32% (P1: 91,94%; P2: 95,26%; P3: 90,80%; P4a: 95,28%), bei den Patienten ohne Mutation 62,75% (P5: 64,47%; P6: 61,03%;).

**Tabelle 3** Ergebnisse der Kernauszählung. Es wurden bei allen Patienten von mindestens 500 Fasern die Position der Kerne bestimmt.

Patient (Geschlecht)	P1 (w)	P2 (w)	P3 (m)	P4a (m)	P5 (m)	P6 (w)
zentrale Kerne ZK (%)	62	38	52	59	16	19
binnenständige Kerne BK (%)	67	40	57	62	26	30
Anteil ZK an BK (%)	93	95	91	95	62	63



A

B

**Abbildung 8 A:** Helle Balken: prozentualer Anteil aller Fasern mit binnenständigen (zentralen + dezentralen) Kernen am Gesamtpräparat. Dunkle Balken: alleiniger Anteil der Fasern mit zentralen Kernen am Gesamtpräparat ohne Berücksichtigung der Fasern mit dezentralen Kernen (schwarz: mit DNMT2-Mutation, grau: ohne Mutation). **B:** Anteil der Fasern mit zentralen Kernen (ZK) an allen Fasern mit binnenständigen Kernen (BK) bei Patienten mit und ohne DNMT2-Mutation, dargestellt als Spannweite aller Werte und dem Mittelwert (Punkt).

### 3.7 Ergebnisse der Messung der Faserkaliber von Typ-1- und Typ-2-Fasern

Die Ergebnisse der Ausmessungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Siehe dazu auch die ATPase-Färbungen in Abb.7. Das Ausmessen der Fasertypen am Lichtmikroskop ergab bei 5 Patienten ein pathologisch verbreitertes Kaliberspektrum. Bei P4b konnte die Messung mangels eines geeigneten Präparates nicht durchgeführt werden. P1 und P5 zeigten ein nach beiden Seiten stark verbreitertes Kaliberspektrum, bei P2, P3 und P6 war es überwiegend nach unten verbreitert. Der Variabilitätskoeffizient war bei allen 5 Patienten über dem Normwert, was auf eine anormale Variabilität der Fasergröße hinwies. Der Atrophiefaktor der Typ-1-Fasern war

immer mäßig bis stark erhöht. Es lag somit bei allen Patienten eine Typ-1-Hypotrophie vor. Auch der Atrophiefaktor der Typ-2-Fasern war bei allen 5 Patienten über der Norm: P2, P3 und P6 zeigten eine leichte, P1 eine mäßige und P5 eine sehr starke Typ-2-Atrophie.

Die Ermittlung der Hypertrophiefaktoren zeigte nur bei P5 eine leichte Typ-1- und bei P1 eine mäßige Typ-2-Hypertrophie.

Bei 3 Patienten (P1, P2, P3) waren die Typ-1-Fasern mit einem Anteil über 60% eindeutig prädominant. Bei P5 lag der Typ-1-Anteil mit 55,13% an der oberen Normgrenze, bei P6 lag keine Typ-1-Prädominanz und mit einem Typ-2-Faser-Anteil von über 70% (Dubowitz und Sewry, 2007) auch keine Typ-2-Prädominanz vor.

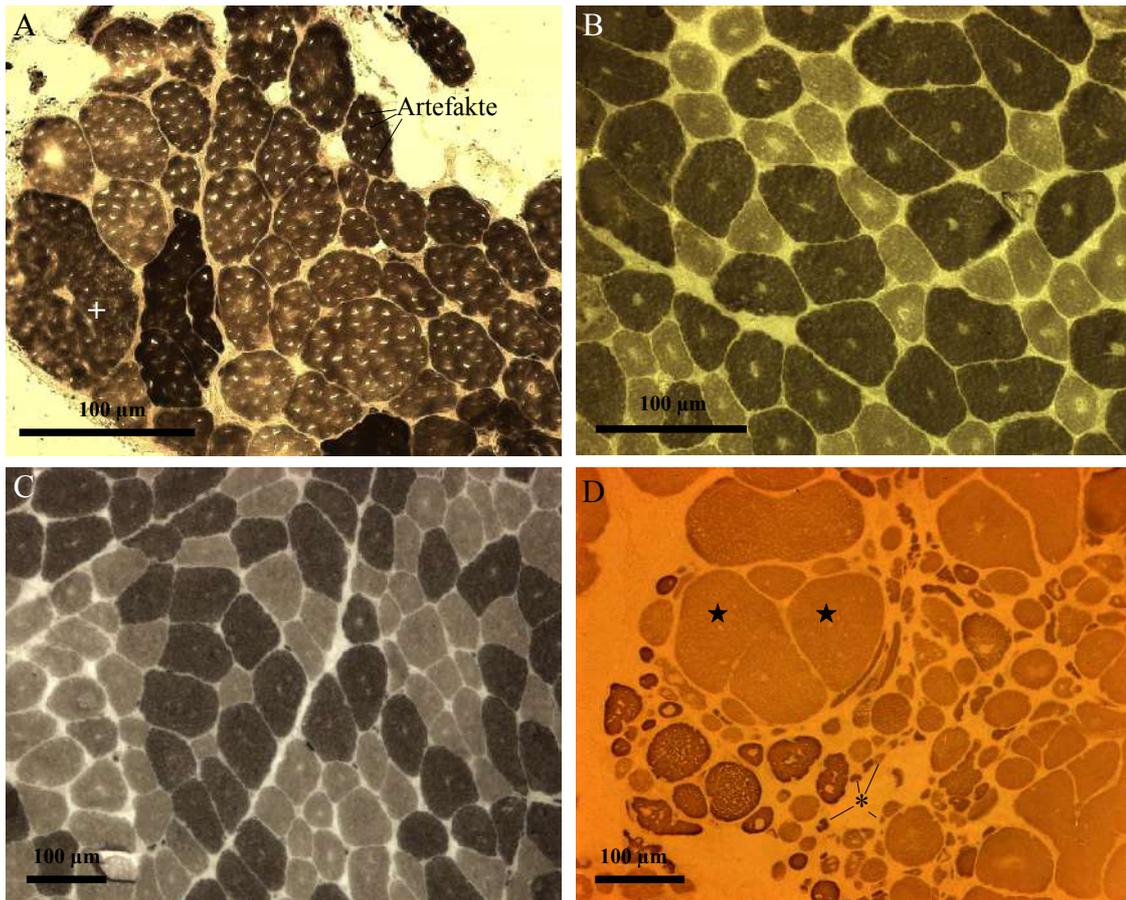
**Tabelle 4** Zusammenfassung der Ergebnisse der Kalibermessung und der Untersuchung der Prädominanz von Typ-1- oder Typ-2-Fasern und den daraus ermittelten Werten (Variabilitätskoeffizient als Maß für die Fasergrößenstreuung, sowie Atrophie- und Hypertrophiefaktor<sup>1</sup>. Berechnung siehe Text Kapitel 2.4). Die Kalibermessung wurde bei P1, P2 und P3 an 500 Fasern, bei P5 und P6 mangels Biopsiematerials an 150 bzw. 200 Fasern durchgeführt. Es sind sowohl die Daten für das Gesamtpräparat als auch für die Typ-1- und Typ-2-Fasern im Einzelnen aufgeführt. Anhand der hier aufgeführten Atrophie- und Hypertrophiefaktoren wurden die in Tabelle 2 aufgeführten Atrophie- und Hypertrophiegrade nach Tosi und Jerusalem (s.u.) ermittelt.

Patient (Geschlecht)	P1 (w)	P2 (w)	P3 (m)	P4a (m)	P5 (m)	P6 (w)
Kaliberspektrum (µm) n: ♂ 40 - 80 µm ♀ 30 - 70 µm	6,71 - 132,35	7,86 - 76,43	10,07 - 88,76	-	5,37 - 175,57	7,41 - 73,30
Durchmesser (Mean ± SD) in µm	37,11 ± 19,93	32,88 ± 13,01	46,89 ± 15,04	-	30,73 ± 27,25	39,65 ± 17,44
Variabilitätskoeffizient (n < 250)	537	6	321	-	887	440
<u>Typ-1-Faser:</u>						
Anteil in %	80,37	61,20	61,64	-	55,13	28,50
Durchmesser (Mean ± SD) in µm	33,16 ± 12,63	26,57 ± 9,39	41,40 ± 12,10	-	36,48 ± 31,54	19,79 ± 9,31
Kaliberspektrum (µm)	8,16 - 132,35	7,86 - 76,43	10,07 - 87,76	-	5,37 - 175,57	7,41 - 52,28
Atrophiefaktor	542	950	692	-	1640	1218
Hypertrophiefaktor	33	10	4	-	5	0
<u>Typ-2-Faser:</u>						
Anteil in %	19,63	38,80	38,36	-	44,87	71,50
Durchmesser (Mean ± SD) in µm	53,30 ± 32,45	42,83 ± 11,64	55,71 ± 15,12	-	23,68 ± 18,77	47,56 ± 13,07
Kaliberspektrum (µm)	6,71 - 128,22	22,96 - 74,66	10,50 - 83,72	-	5,41 - 94,34	15,08 - 73,30
Atrophiefaktor	695	122	264	-	2357	130
Hypertrophiefaktor	916	16	17	-	14	22

<sup>1</sup> Einteilung der geschlechtsabhängigen (m, w) Atrophie- und Hypertrophiegrade der Typ-1- und Typ-2-Fasern anhand des errechneten Atrophie- bzw. Hypertrophiefaktors. AI und AII: Atrophiefaktor der Typ1- bzw. Typ-2-Fasern. HI und HII: Hypertrophiefaktor der Typ1- bzw. Typ2-Fasern (nach Tosi und Jerusalem, 1976):

	leicht	mäßig	stark	sehr stark
AI (w)	100 - 400	400 - 700	700 - 1600	> 1600
AI (m), AII (m), HII (w)	150 - 450	450 - 750	750 - 1650	> 1650
AII (w)	200 - 500	500 - 800	800 - 1700	> 1700
HI (w)	400 - 700	700 - 1000	1000 - 1900	> 1900
HI (m), HII (m)	500 - 800	800 - 1100	1100 - 2000	> 2000

Ausnahmen des unteren Grenzwertes des leichten Grades: M. biceps brachii: HI 300 (m) bzw. 200 (w); M. gastrocnemius: HI 200 (w)



**Abbildung 7** ATPase-Reaktion bei pH 9,4 der Muskelbiopsien der Patienten P1 (A), P2 (B), P3 (C) und P5 (D) bei 10-facher (C, D) und 20-facher (A, B) Vergrößerung. Bei allen Präparaten lässt sich eine Prädominanz und Hypotrophie der helleren Typ-1-Fasern gegenüber den dunkleren Typ-2-Fasern erkennen. Bei P1 (A) waren einige dunkle Typ-2-Fasern hypertrophiert (+). P5 (D) zeigt stark hypertrophe helle Typ-1-Fasern (Stern) sowie zahlreiche atrophe Fasern beider Typen (\*). Die zentralen Kerne sind als zentrale Aussparungen der Färbung zu erkennen. Bei den "Vacuolen" in A handelt es sich um Gefrierartefakte.

### 3.8 Klinische Daten der Patienten

Die klinischen Daten sind in Tabelle 5 zusammenfassend dargestellt. Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der klinischen Untersuchung reichte von 21 bis 65 Jahren (P1: 49; P2: 21; P3: 65; P4a: 37; P4b: 30; P5: 48; P6: 40;).

Manifestationsbeginn und Erstsymptome: Die Schwangerschaft der Mütter verlief bei allen Patienten unauffällig. Manifestationsbeginn war überwiegend vor der Adoleszenz. So zeigte P4a eine kongenitale Manifestation mit postnataler Hypotonie und Trinkschwäche sowie einer leicht verzögerten motorischen Entwicklung. Sowohl beim Treppensteigen als auch beim Schulsport und Laufen hatte dieser Patient immer Schwierigkeiten. Bei der Schwester des Patienten (P4b) traten die ersten Symptome im ersten Lebensjahr auf mit einer ebenfalls leicht verzögerten motorischen Entwicklung. Deutliche Zeichen einer Muskelschwäche traten bei ihr in der Schulzeit auf mit Problemen beim Schulsport und rascher muskulären Erschöpfung mit

**Tabelle 5** Zusammenfassung der klinischen Daten der Patienten mit histologischer Diagnose einer CNM

Patient	P1	P2	P3	P4a	P4b	P5	P6
Geschlecht	w	w	m	m	w	m	w
Alter (Jahre)	49	21	65	37	30	48	40
Manifestation (Jahre)	Kindheit	1	Adoleszenz	congenital	1	3	4
<u>Erstsymptome:</u> Kontrakturen	AS	AS, TC	AS	-	-	AS	-
Myalgien	-	+	-	-	+	-	-
Probleme beim Schulsport	+	+	-	+	+	+	+
Treppensteigen	+	+	+	+	-	+	+
Laufen	-	-	-	+	-	+	-
mot. Entwicklung	n	n	n	(verzögert)	(verzögert)	n	verzögert
<u>Aktuelle Symptome:</u>							
Ptosis bilateral	+	-	+	-	+	-	+
Ophthalmoplegie	-	-	-	+	+	-	+
faziale Schwäche	(+)	+	(+)	+	+	-	+
bulbäre Symptome	-	-	-	-	-	-	-
<u>Kraftgrade:</u> axial	4	3-4	4	3	3-4	4	4
Arme proximal	4	4	4	3-4	3-4	4	4
Arme distal	3-4	3-4	4	3	4	4-5	5
Beine proximal	4	4	4	4	4	4	3-4
Beine distal	4	4	4	2-3	3-4	5	4
<u>Atrophien:</u> Arme proximal	-	-	-	-	-	-	+
Arme distal	-	+	-	-	-	-	-
Beine proximal	-	+	-	-	+	+	+
Beine distal	-	+	+	-	+	-	-
paravertebral	-	+	-	-	-	-	-
Hypertrophie	-	-	-	-	-	-	-
Kontrakturen	AS	AS	AS,FF	Trismus, Hüfte	Trismus, Hüfte	AS	Trismus
<u>Dysmorphien:</u> Hyperlordose	-	+	-	-	+	-	+
Skoliose	-	-	-	+	-	+	-
hoher Gaumen	-	-	+	-	+	+	-
Fuß	-	-	Pes cavus	-	-	Pes equinus	-
Sonstige	-	-	-	-	Trichterbrust	-	-
Myalgien	-	+	-	-	+	+	-
Gehhilfe (Alter)	-	-	Unterarm-gehilfen	Rollstuhl (18)	Rollstuhl (20)	-	-
max. Gehstrecke	1 km	2 km	1,5 km	0 m	30 m	1km	2 km
Reflexe	sa - na	sa - na	sa - na	na	sa - na	na	na
Pallästhesie malleolär	2/8	8/8	2/8	6/8	6/8	4/8	6/8
Sensibilität	n	n	n	n	n	n	n
Kognition	(↓)	n	n	n	n	n	n

AS: Achillessehnenkontraktur; FF: Fingerflexoren; n: normal; na: nicht auslösbar; sa: schwach auslösbar; TC: Torticollis;

Myalgien. Bei P2 begannen die Symptome ebenfalls im ersten Lebensjahr, hier traten vor allem ein Torticollis und etwas später eine Achillessehnenkontraktur hervor, welche beide operativ korrigiert werden mussten. Auch bei P1, P3 und P5 gehörten Achillessehnenkontrakturen zu den Erstsymptomen, welche bei P1 in der Kindheit, bei P3 im

dritte Lebensjahr und bei P3 erst später in der Adoleszenz auftraten.

Auch hier bestand die Symptomatik aus Problemen beim Sport (P1, P2, P5), beim Treppensteigen (P1, P2, P3, P5) und beim Laufen (P2, P5) sowie Myalgien nach Bewegung (P2). Bei P6 zeigten sich ab dem vierten Lebensjahr zuerst erschwertes Treppensteigen, später war eine Befreiung vom Schulsport notwendig.

Verlauf: Bei allen Patienten war der weitere Verlauf langsam progredient, bei P3 und P5 gab es Phasen der Besserung der Muskelkraft, die jedoch nicht anhielten. Aktuell hatten alle Patienten Probleme beim Laufen und mussten beim Treppensteigen das Geländer zu Hilfe nehmen. Es kam zu rascher Ermüdung nach kurzer Zeit, die maximale Gehstrecke lag bei 1-2 km. Rollstuhlpflichtig waren P4a seit dem 18. und P4b seit dem 20. Lebensjahr, P3 benötigte Unterarmgehhilfen. Außer P1, P3 und P4a klagten die Patienten über Myalgien nach Bewegung.



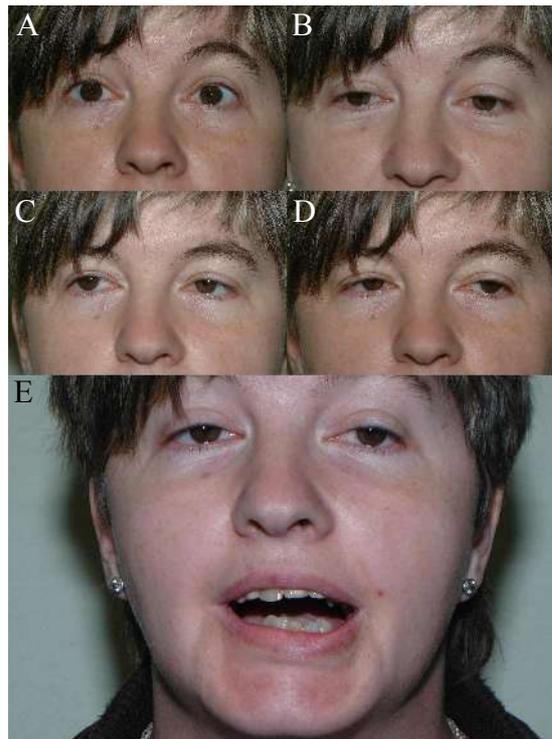
**Abbildung 9** P1 zeigt eine diskrete Facies myopathica mit bilateraler Ptosis (A). Es bestehen keine Atrophien der oberen und unteren Extremitäten (A-D).



**Abbildung 10** P2 hat ebenfalls eine Facies myopathica, jedoch keine Ptosis (A). Weiterhin sind Atrophien der unteren Extremität (► in C) sowie der kleinen Handmuskulatur mit Betonung der Thenarmuskulatur (► in D) zu sehen.

Paresen: Die Prüfung der Muskelkraft deutete bei P1, P2 und P3 auf eine alle Gliedmaßen weitgehend gleichmäßig betreffende, leichte Minderung der Kraft hin, nur P1 und P2 zeigten eine leicht distale Betonung der oberen Extremität. P5 und P6 hingegen zeigten eine eher proximale Betonung der Kraftminderung an allen Extremitäten, wobei P5 an der distalen unteren und P6 an der distalen oberen Extremität gar keinen Kraftverlust aufwiesen. Auch schienen bei P5 die oberen, bei P6 die unteren

Extremitäten etwas stärker betroffen zu sein. Am stärksten betroffen waren P4a und P4b mit einer Kraftminderung um bis zu 3 Kraftgrade. In den Armen war die Muskelschwäche bei P4a geringfügig distal betont, die ebenfalls distal schwächeren Beine schienen etwas stärker betroffen zu sein. P4b zeigte in den Armen eine proximale, in den Beinen eine distale Betonung in gleichem Maße. Bis auf P5 konnte bei allen Patienten eine Kraftminderung der axialen Muskulatur festgestellt werden, am stärksten bei P4a mit Kraftgrad 3. Die Ergebnisse der Prüfung der Muskelkraft sind detailliert in Tabelle 5 zu finden.



**Abbildung 11** P6 zeigt eine faziale Schwäche mit bilateraler Ptosis und Trismus (E). A-D dokumentiert die Ophthalmoplegie bei Blick nach oben (A), unten (B), rechts (C) und links (D).

Atrophien: Bis auf P1 (Abb.9) und P4a (Abb.13) konnten bei allen Patienten Atrophien gefunden werden. P2 (Abb.10), P3 (Abb.12) und P4b (Abb.13) zeigten diese am Ober- und Unterschenkel, zusätzlich fanden sich bei P2 Atrophien der paravertebralen Muskulatur, des Unterarms und der kleinen Handmuskulatur, insbesondere der Thenarmuskulatur und der Interphalangealmuskulatur (Abb.10). P5 und P6 hatten Atrophien der Oberschenkelmuskulatur. Darüber hinaus war bei P6 die Muskulatur des Oberarms sowie des Schultergürtels schwächlich ausgeprägt. Hypertrophien wies keiner der Patienten auf.

Beteiligung der Augen- und Gesichtsmuskulatur: Eine Facies myopathica mit vermindertem Wangenaufblasen, Zilienzeichen und schwachem bis unmöglichem Pfeifen war bei allen

Patienten bis auf P5 zu finden, bei P1 und P3 jedoch nur in diskretem Ausmaß. Eine Ptosis bei gleichzeitigem Vorliegen einer Ophthalmoplegie zeigten P4b und P6, während P1 und P3 nur eine Ptosis und P4a nur eine Ophthalmoplegie zeigten. Besonders bei P6 war die Ophthalmoplegie stark ausgeprägt mit nahezu vollständiger vertikaler Blickparese (Abb. 11). Bei P2 und P5 fand sich kein Hinweis auf eine Beteiligung der Augenmuskulatur.



**Abbildung 12** P3 zeigt eine Facies myopathica mit bilateraler Ptosis (A), einen Pes cavus (B), einen hohen Gaumen (D) und eine Unterschenkelatrophie (▶ in E). Atrophien an den oberen Extremitäten bestehen nicht (C).



**Abbildung 13** P4a (A, C) und P4b (B, D) weisen beide eine faziale Schwäche auf (A, B). P4b hat zusätzlich eine bilaterale Ptosis (B). Beide Patienten sind rollstuhlpflichtig (C, D). Atrophien der oberen Extremitäten sind nicht zu sehen.

**Dysmorphien:** Bis auf P1 wiesen alle Patienten Dysmorphien auf. So hatten P2 und P6 eine Hyperlordose und P4a und P5 eine Skoliose. Der bei CNM häufig beschriebene hohe Gaumen kam bei P3 und P5 vor, Veränderungen der Füße zeigten sich bei P3 und P4b als Pes cavus und als Pes equinus bei P5. P4b wies zudem eine Trichterbrust auf.

**Kontrakturen:** Als häufigste Kontraktur wurde bei 4 Patienten eine Achillessehnenkontraktur gefunden (P1, P2, P3, P5). P3 zeigte außerdem noch eine Kontraktur der Fingerflexoren. Bei den restlichen drei Patienten war das Kiefergelenk betroffen und sie konnten daher den Mund nur eingeschränkt öffnen: es lag ein Trismus mit einer maximalen Distanz der Schneidezahnkanten von 8 mm (P6) bzw. 10 mm (P4a, P4b) vor. Dies führte bei beiden Patienten zu einer Dysarthrie. Dysphagie und andere bulbäre Symptome waren aber weder bei diesen noch bei den anderen Patienten festzustellen. Zusätzlich zum Trismus hatten P4a und P4b Kontrakturen des Hüftgelenkes.

Peripheres und zentrales Nervensystem: Die muskulären Eigenreflexe konnten nur schwach und zum Teil gar nicht ausgelöst werden, bei P4a, P5 und P6 waren alle Reflexe erloschen. Eine Prüfung der Pallästhesie ergab eine Verminderung bei allen Patienten außer bei P2, mit 2/8 (P1, P3), 4/8 (P5) und 6/8 (P4a, P4b, P6). Die Sensibilitätsprüfung zeigte bei keinem der Patienten eine Veränderung. Die kognitiven Fähigkeiten schienen nur bei P1 leicht eingeschränkt zu sein. So ergab der DemTect Test mit 8 von 18 Punkten einen Anhalt für kognitive Defizite, der Mini-Mental-Status-Test fiel jedoch mit 27 von 30 Punkten normal aus.

### **3.9 Paraklinische Daten der Patienten**

Die paraklinischen Daten sind in Tabelle 6 zusammenfassend dargestellt.

#### **3.9.1 Laborergebnisse**

Sowohl die Creatinkinase als auch die GGT waren bei allen Patienten im Normbereich, nur bei P6 war die GGT (Referenzwert  $<0,63 \mu\text{mol/lxs}$ ) mit  $2,41 \mu\text{mol/lxs}$  pathologisch um den Faktor 4 erhöht. Im Labor fand sich bei P1 außerdem ein Mangel an Vitamin B12 mit einem leicht erniedrigten Wert von  $123 \text{ pmol/l}$  (Referenzwert:  $133\text{-}675 \text{ pmol/l}$ ). Weitere abnormale Laborwerte konnten nicht gefunden werden.

#### **3.9.2 Ergebnisse der elektromyographischen Untersuchung**

Die Ergebnisse der Elektromyographie deuteten bei allen 7 Patienten auf einen myopathischen Prozess hin. P1 stand für diese Untersuchung aktuell nicht zur Verfügung, es lag jedoch ein ca. ein Jahr alter Fremdbefund vor. Es fanden sich hier kleine und schmale Willkürpotentiale mit Amplituden bis unter  $100 \mu\text{V}$ . Welche Muskeln bei P1 untersucht worden waren war nicht bekannt. Bei 5 Patienten (P2, P3, P4a, P4b, P5) fand sich eine vorzeitige Rekrutierung motorischer Einheiten, 3 Patienten (P2, P4a, P4b, P5) zeigten zusätzlich pathologische Spontanaktivitäten in Form von Fibrillationen und zum Teil Serienentladungen. Eine Amplitudenerhöhung fand sich nur bei P2 im M. biceps brachii, eine verminderte Amplitude bei P3 im M. vastus lateralis mit verlängerter Amplitudendauer sowie bei P4b im M. tibialis anterior und bei P6 im M. biceps brachii, beide mit verkürzter Amplitudendauer. Bei P5 war nur die Amplitudendauer im M. tibialis verkürzt, bei P4a waren Amplitude und Dauer im Normbereich.

**Tabelle 6** Zusammenfassung der paraklinischen Daten der Patienten mit histologischer Diagnose einer CNM. Pathologische EMG- und ENG-Werte sind fett hervorgehoben.

Patient	P1	P2	P3	P4a	P4b	P5	P6
Mutation	c.C1393T p.R465W	c.C1393T p.R465W	c.C1393T p.R465W	c.G1102A p.E368K	c.G1102A p.E368K	-	-
Mutter / Vater	† / -	- / -	† / †	- / -	- / -	Ø / Ø	Ø / Ø
Spirometrie: VC (% Soll)	70	65	59	34	61	90	55
FEV1 (% Soll)	69	69	61	27	51	107	54
Abfall VC im Liegen	Ø	+ (26%)	+ (9%)	Ø	Ø	Ø	-
EKG	n	n	SVES	n	n	n	n
Langzeit-EKG	Ø	n	n	Ø	n	Ø	Ø
Echokardiographie	Ø	n	n	Ø	Ø	Ø	n
CK (µmol/lxs)	0,50 <sup>1</sup>	1,05 <sup>1</sup>	2,02 <sup>2</sup>	0,54 <sup>2</sup>	0,60 <sup>1</sup>	2,76 <sup>2</sup>	0,62 <sup>1</sup>
EMG <sup>3</sup>	m <sup>5</sup>	m, pSA, snV	m	m, pSA	m, pSA	m, pSA	m
Amplitude (mV) / Dauer (ms):							
M. biceps brachii	Ø	<b>1,24</b> / 11,3	0,40 / 10,4	Ø	Ø	0,48 / 9,3	<b>0,19</b> / <b>6,3</b>
M. tibialis anterior	Ø	Ø	0,43 / 10,2	Ø	<b>0,33</b> / <b>7,0</b>	0,46 / <b>8,9</b>	Ø
M. vastus lateralis	Ø	0,74 / 9,7	<b>0,40</b> / <b>17,1</b>	Ø	Ø	Ø	Ø
M. gastrocnemius	Ø	Ø	Ø	0,43 / 8,1	Ø	Ø	Ø
ENG <sup>4</sup>							
NLG (m/s):							
N. suralis l/r	0 / 0	42,5 / 42,6	42,5 / 43,5	<b>38,7</b> / Ø	<b>41,7</b> / Ø	44,2 / Ø	<b>40,0</b> / <b>40,7</b>
N. tibialis l/r	48,3 / 46,2	46,2 / 50,6	46,9 / 50,0	44,6 / <b>36,2</b>	40,7 / 39,9	43,6 / 48,8	47,1 / 50,6
N. peroneus l/r	47,9 / 46,5	46,6 / 47,1	47,4 / 49,3	Ø / Ø	Ø / Ø	Ø / Ø	53,2 / 52,4
Amplitude:							
N. suralis l/r (µV)	0 / 0	30,5 / 28,2	<b>3,3</b> / <b>2,2</b>	22,4 / Ø	26,6 / Ø	<b>5,5</b> / Ø	20,3 / 16,4
N. tibialis l/r (µV)	10,1 / 10,0	9,7 / 11,9	<b>5,9</b> / <b>7,4</b>	<b>1,7</b> / <b>1,8</b>	8,4 / <b>5,5</b>	14,7 / 16,0	13,6 / 20,7
N. peroneus l/r (mV)	6,6 / 6,5	<b>2,0</b> / <b>1,9</b>	6,0 / <b>4,3</b>	Ø / Ø	Ø / Ø	Ø / Ø	8,9 / 10,9
Sonstige Befunde	Vit. B12 ↓	-	-	-	-	-	GGT ↑

Ø: nicht durchgeführt; †: verstorben; CK: Creatinkinase; EKG: Elektrokardiographie; EMG: Elektromyographie; ENG: Elektroneurographie; FEV1: forcierte Einsekundenkapazität; GGT: Gamma-Glutamyl-Transferase; m: myopathisch; n: normal; NLG: Nervenleitgeschwindigkeit; pSA: pathologische Spontanaktivität; snV: sekundäre neurogene Veränderungen; SVES: supraventrikuläre Extrasystolen; VC: Vitalkapazität;

<sup>1</sup> Laboreigener Referenzwert: < 2,41 µmol/lxs

<sup>2</sup> Laboreigener Referenzwert: < 2,85 µmol/lxs

<sup>3</sup> Referenzwerte Amplitude / Dauer (Bischoff et al., 2003): M. biceps brachii: 0,44 mV ± 0,12 / 9,8 ms ± 1,4; M. tibialis anterior: 0,67 mV ± 0,25 / 11,4 ms ± 1,2; M. vastus lateralis: 0,69 mV ± 0,24 / 11,7 ms ± 1,9; M. gastrocnemius: 0,33 mV ± 0,14 / 9,4 ms ± 1,7

<sup>4</sup> Referenzwerte NLG / Amplitude (Bischoff et al., 2003): N. suralis: ≥ 42 m/s / ≥ 10 µV; N. tibialis: ≥ 40 m/s / ≥ 8 mV; N. peroneus: ≥ 42 m/s / ≥ 5 mV

<sup>5</sup> EMG wurde bei P1 in dieser Studie nicht durchgeführt. Die Daten wurden einem ein Jahre alten EMG-Befund entnommen

### 3.9.3 Ergebnisse der elektroneurographischen Untersuchung

Es konnten in der elektroneurographischen Untersuchung bei allen Patienten pathologische Veränderungen gemessen werden. Bei P1 gab es beim N. suralis beidseits keine sichere Reizantwort, ein Fremdbefund aus dem vorherigen Jahr hatte bei diesem Nerven dasselbe Ergebnis. P2 zeigte beidseits eine verminderte Amplitude des des N. peroneus und bei P3 waren alle Amplituden außer des linken N. peroneus vermindert. Bei P4a, P4b und P5 wurde kein ENG an den N. peronei beidseits und dem rechten N. suralis durchgeführt. P4a zeigte eine verminderte NLG des linken N. suralis und des rechten N. tibialis

sowie eine verminderte Amplitude des N. tibialis an beiden Extremitäten. Die NLGs befanden sich bei P4b allesamt im unteren Normbereich, die Amplitude des rechten N. tibialis war zu gering. P5 hatte eine verringerte Amplitude des linken N. suralis. Die NLG des N. suralis bei P6 war beidseits nur sehr geringfügig unter dem Normbereich gesenkt.

### **3.9.4 Ergebnisse der Lungenfunktionsprüfung und der Elektro- und Echokardiographie**

Lungenfunktionsprüfung: Die Lungenfunktionsprüfung ergab bei allen Patienten bis auf P5 (VC 90 %, FEV1 107 %) Ergebnisse, die auf eine respiratorische Beeinträchtigung hindeuten, wobei alle Werte auf mindestens 70 % des Sollwertes abgefallen waren. Die stärkste Einschränkung zeigte sich bei P4a: hier entsprachen VC und FEV1 nur noch 1/3 des Sollwertes. Bei drei der Patienten (P2, P3, P6) wurde die Messung sowohl im Sitzen als auch im Liegen durchgeführt. Bei P2 fiel die VC im Liegen um 26 % ab (von 56% auf 30%), was auf eine diaphragmale Schwäche hinweist (Normwert: Abfall um 5 - 10%. Abfall um 30% gilt schon als schwere diaphragmale Schwäche. Brewis et al., 1995). Der Abfall um 9% (von 59% auf 50%) bei P3 lag noch im Normbereich. Bei P6 war kein Abfall festzustellen.

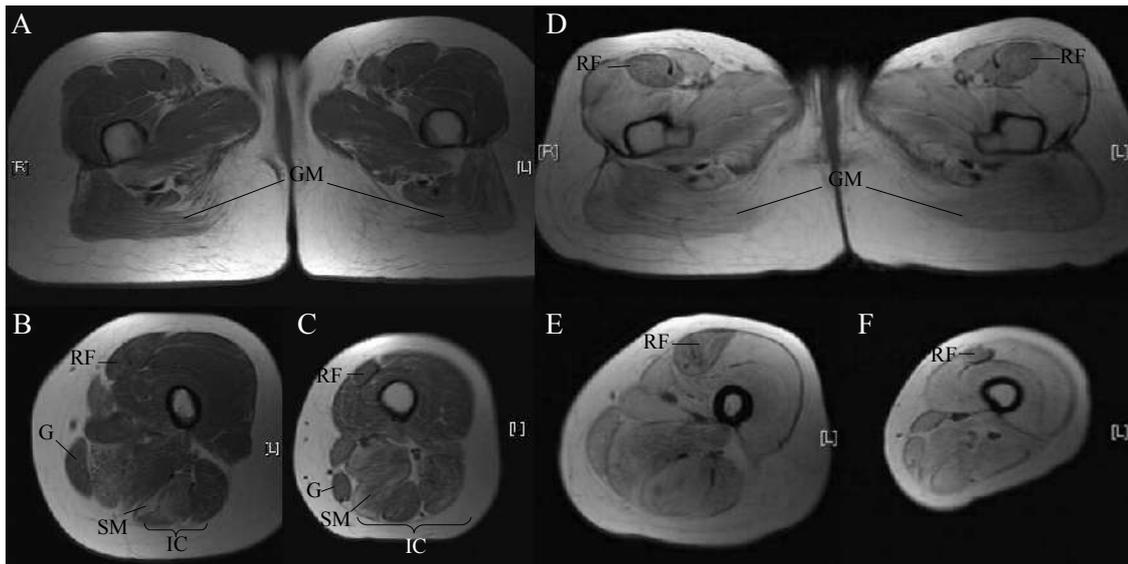
Elektro- und Echokardiographie: Die Elektrokardiographie ergab bei allen Patienten keinen Anhalt auf eine Erkrankung des Herzens, nur bei P3 fanden sich einige supraventrikulären Extrasystolen, die jedoch im Langzeit-EKG nicht mehr zu sehen waren. Auch bei P2 und P4b war das Langzeit-EKG normal, bei den restlichen Patienten wurde diese Untersuchung jedoch nicht durchgeführt. Echokardiographische Daten standen nur von P2, P3 und P6 zur Verfügung und waren unauffällig. Insgesamt ist eine kardiale Beteiligung bei allen Patienten unwahrscheinlich.

### **3.9.5 Ergebnisse der MRT-Untersuchung**

Die MRT-Untersuchung (Abb. 14) der proximalen unteren Extremitäten zeigte bei P2 beidseits eine diffuse septale Verdickung und streifige fettige Indurationen der glutealen Muskulatur sowie der Oberschenkelmuskulatur. Besonders betroffen war die ischiocrurale Muskulatur mit einem punctum maximum im M. semimembranosus. Insgesamt war das hintere Kompartiment weitaus mehr betroffen als das vordere, der

M. gracilis war im hinteren Kompartiment im Vergleich zu den anderen Muskeln relativ ausgespart. Die fettige Degeneration schien nach distal hin zuzunehmen. Eine fokal asymmetrische Atrophie konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei P4b konnte im MRT des Oberschenkels beidseits eine fast komplette fettige Degeneration sowie Atrophie der Muskulatur festgestellt werden. Nur der M. rectus femoris zeigte beidseits noch Muskelfasern, die normal erschienen



**Abbildung 14** MRT-Aufnahmen des Beckens (P2: A; P4b: D) und des linken Oberschenkels (P2: B,C; P4b: E, F) der Patienten P2 und P4b. A: Die Muskulatur zeigt streifige Verfettung und diffuse septale Verdickung. Die Glutealmuskulatur (GM) ist besonders betroffen. B und C: Das vordere Kompartiment ist weniger betroffen als das hintere. Die ischiocrurale Muskulatur (IC) zeigt die meisten Veränderungen mit einem punctum maximum im M. semimembranosus (SM). Der M. gracilis (G) erscheint im hinteren Kompartiment relativ ausgespart. Die fettige Degeneration nimmt von proximal (A2) nach distal (A3) zu. D-E: Die Muskulatur ist fast komplett fettig degeneriert. Der M. rectus femoris (RF) zeigt noch einige normale Fasern.

## 4. Diskussion

In der Tabelle 7 wurden Daten von *DNM2*-CNM-Patienten aus 16 Publikationen zusammengefasst, um eine Vorstellung über die Häufigkeit bestimmter Symptome und Befunde zu geben. Diese Tabelle bildet die Grundlage für die Diskussion dieser Arbeit. Publikationen über *DNM2*-CNM-Fälle, bei denen Patienten nur oberflächlich bzw. nicht individuell sondern nur als Gruppe beschrieben wurden, sind nicht in diese Tabelle aufgenommen worden. So ist z.B. die Mutation R465W durchaus häufiger als sich aus der Tabelle schließen lässt. Bitoun et al. allein erwähnt 26 Individuen aus 6 Familien mit der Mutation R465W (Bitoun et al., 2005), während in Tabelle 7 nur 19 Patienten aus 8 Publikationen mit Mutation R465W aufgeführt sind.

### 4.1 Diskussion des klinischen Teils

#### 4.1.1 Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Die *DNM2*-CNM wird nach ihrer klinischen Präsentation in 3 Formen aufgeteilt (Bitoun et al., 2009b; Romero, 2010):

1. Die schwere neonatale Form mit sporadischen Auftreten
2. Die intermediäre Form (bisher ein Fall von Bitoun et al., 2009b beschrieben)
3. Die milde, langsam progressive adulte Form mit überwiegend familiärem Auftreten

Mutationen in der PH-Domäne: Die meisten Fälle der sporadisch auftretenden, schweren neonatalen Form hatten Mutationen im C-terminalen Ende der PH-Domäne des *DNM2*-Gens (siehe hierzu auch Abb. 1): 6 der 9 Mutationen in dieser Domäne (A618T, S619L, S619W, L621P, V625del, P627H) waren bei Patienten mit schwerem Verlauf und neonataler Manifestation zu finden (Bitoun et al., 2007; Jungbluth et al., 2009a; Susman et al., 2010). Ebenso in dieser Region wurde die Mutation A618D gefunden, jedoch bei einem familiären Fall mit mildem Phänotyp mit neonataler Manifestation und darauf folgender Besserung der Erkrankung (Melberg et al. 2009). Dieser Fall ist eher der oben unter Punkt 3 genannten Form zuzuordnen. Eine weitere Mutation der PH-Domäne mit familiären Fällen ist die Mutation R522H und ist auch am ehesten zur 3. Form zugehörig (Susman et al., 2010). Hier wurde ein milder Verlauf beschrieben, wobei das Manifestationsalter von neonatal bis ins Kindheitsalter reichte. Diese Mutation sowie die sporadische Mutation E560K befinden sich im N-terminalen Ende der PH-Domäne (Bitoun et al., 2009b). In diesem Bereich wurden bisher die meisten *DNM2*-Mutationen beschrieben, die mit einer Charcot-Marie-Tooth-Neuropathie des axonalen sowie intermediären Typs assoziiert sind (Bitoun et al., 2008; Fabrizi et al., 2007; Züchner et al.,

2005). Der Phänotyp der Mutation E560K, bisher nur bei einem einzigen Patienten bekannt, wird als intermediär beschrieben, mit Manifestation am Ende der 1. Lebensdekade und schnellerer Progression als die milde *DNM2*-CNM-Form mit späterer Manifestation (Bitoun et al., 2009b).

Mutationen in der Mitteldomäne: Die meisten Mutationen, die mit einem milderem Verlauf mit adulter Manifestation korrelieren, befinden sich in der Mitteldomäne des *DNM2*-Gens. Die häufigste Mutation R465W (28 % der in Tabelle 7 aufgeführten Patienten) zeigte bisher immer einen milden bis moderaten Verlauf und manifestiert sich überwiegend in der Adoleszenz und im Erwachsenenalter. Es gibt jedoch Berichte mit früheren Beginn der Erkrankung bei dieser Mutation: ein Fall mit neonataler Hypertonie sowie schwachem Saugen und Schreien, ein Patient mit infantiler Manifestation sowie 3 Fälle mit Beginn in der Kindheit (die Mutationen dieser 4 Fälle wurden erst später von Bitoun et. al, 2005 beschrieben) und einen weiteren Fall mit Manifestation im Kindheitsalter (Jeannet et al. 2004; Susman et al., 2010; Zanoteli et al. 2009).

Auch 2 der 3 Patienten mit R465W in dieser Studie hatten eine frühe Manifestation: P1 hatte einen Krankheitsbeginn im Kindesalter, P2 zeigte die ersten Symptome mit einem Jahr. Bei P3 lag das Manifestationsalter in der Adoleszenz. Wie im Abschnitt 3.3 bereits erwähnt scheint bei diesen Patienten die Mutation sporadisch aufgetreten zu sein: beide Elternteile von P2 sowie der Vater von P1 zeigten keine Mutation, die Mutter von P1 sowie beide Elternteile von P3 waren verstorben, die Familienanamnese ergab aber keinen Hinweis auf eine CNM. Während der Rechercharbeit zu dieser Arbeit konnte kein publizierter sporadischer Fall mit dieser Mutation gefunden werden. Im Gegensatz zu den sporadischen Fällen mit Mutationen in der PH-Region lag bei diesen 3 Patienten kein schwerer oder intermediärer, sondern milder Verlauf vor.

Von Patienten mit der Mutation E368K, ebenfalls in der Mitteldomäne, sind bisher 5 Fälle publiziert worden (Bitoun et al., 2005; Jeub et al., 2008; Susman et al., 2010; Tosch et al., 2006). Hierbei handelt es sich ausschließlich um sporadisch aufgetretene Fälle, jedoch mit unterschiedlichem Phänotyp: Tosch et al., 2006 publizierten eine Patientin mit neonatalem Beginn und mildem Verlauf bei nicht progredienter Muskelschwäche. Neben der *DNM2*-Mutation E368K konnte bei dieser Patientin eine sporadische Mutation im *hJUMPY*-Gen (kodiert eine PPI<sub>n</sub>-Phosphatase, siehe auch Abschnitt 1.5.1) identifiziert werden. Der Autor vermutete, dass die Beeinträchtigung der hJUMPY-Funktion als Ursache oder Modifikator einer autosomalen CNM möglich sein könnte. So war vorher nur 1 weiterer Fall mit E368K bekannt (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004), jedoch mit adultem Beginn (s.u.), so dass der Autor von einer möglichen Akzelerierung des Erkrankungsbeginns durch eine Mutation im *hJUMPY*-Gen ausging. Leider wurden die anderen Fällen mit der Mutation E368K nicht auf eine *hJUMPY*-Mutation hin untersucht, um diese Vermutung zu bestätigen. Ein weiterer Fall mit E368K-Mutation und neonatalem Beginn, jedoch schwerem Verlauf mit verminderter fetaler

Bewegung, neonataler Hypotonie und respiratorischer Insuffizienz wurde beschrieben (Susman et al., 2010). Einen ebenfalls schweren Verlauf mit respiratorischer Störung und kognitiver Beeinträchtigung, aber infantiler Manifestation zeigte ein anderer Fall (Bitoun et al., 2005; Jeannot et al., 2004). Die übrigen 2 Patienten hatten einen milden Verlauf mit Beginn in der Kindheit (Susman et al., 2010) und im späten Erwachsenenalter (Jeub et al., 2008). Von den 5 Mutationen der MD-Region des *DNM2*-Gens ist die Mutation E368K bisher die einzige, bei der auch Fälle mit schwerer Ausprägung der Erkrankung beschrieben wurden.

Die beiden Patienten in dieser Studie mit der Mutation E368K sind möglicherweise der erste bisher berichtete familiäre Fall mit dieser Mutation, wobei jedoch die Eltern dieses Geschwisterpaares die Mutation nicht aufwiesen. Die Mutation scheint mit einer überwiegend frühen Manifestation assoziiert zu sein mit Ausnahme des oben beschriebenen adulten Patienten (siehe Tabelle 6), und auch diese beiden Patienten zeigten einen kongenitalen bzw. infantilen Erkrankungsbeginn. Der Schweregrad kann bei beiden als moderat bis schwer umschrieben werden. Auch diese Patienten wurden nicht auf eine Mutation im *hJUMPY*-Gen untersucht.

An derselben Stelle wie E368K wurde auch die Mutation E368Q bei einer Familie mit 5 Fällen beschrieben (Echaniz-Laguna et al. 2007). Alle Betroffenen zeigten einen milden Phänotyp mit adoleszenten Beginn. Nur eine Aminosäurestelle weiter wurden 2 weitere Mutationen (R369Q und R369W) gefunden, die ebenso wie die MD-Mutationen E368K und R465W eine überwiegend späte Manifestation im adoleszenten und adulten Alter und einen milden Verlauf haben. Bei beiden, häufiger vorkommenden Mutationen sind sowohl sporadische Fälle (Fischer et al., 2006; Jeub et al., 2008; Liewluck et al., 2010) als auch familiäre Fälle bekannt. So berichtet Bitoun et al., 2005 über 3 Familien mit 9 Individuen mit der Mutation R369Q sowie einer Familie mit 14 Individuen mit der Mutation R369Q.

Mutationen in der GED-Region: In der GTPase-Effektor-Domäne des Dynamin-2-Proteins wurde bisher eine CNM-assoziierte Mutation (E650K) bei einer Familie mit 5 Betroffenen gefunden, deren Ausprägungsgrad der Erkrankung mit dem der 2 häufigsten Mutationen R465W und R369Q vergleichbar ist (Bitoun et al., 2009a).

Auch wenn bisher keine klare Genotyp-Phänotyp-Korrelation möglich ist (Bitoun et al., 2009a), so scheint sich doch folgender möglicher Zusammenhang heraus zu kristallisieren: die *DNM2*-Mutationen mit mild verlaufender, langsam progressiver CNM mit Spätmanifestation liegen überwiegend in den MD-, GED- und N-terminalen PH-Bereichen des *DNM2*-Gens, die Mutationen mit schwerem neonatalen Verlauf konzentrieren sich auf den C-terminalen Bereich der PH-Domäne (Bitoun et al., 2009a; Jungbluth et al., 2009b; Melberg et al., 2009). 85% von 95 genotypisierten *DNM2*-CNM-Patienten zeigten einen milden Verlauf mit Spätmanifestation, wobei die meisten Mutationen in der MD zu finden waren (Jungbluth et al., 2009b).

#### 4.1.2 Erstsymptome

Erstsymptome bei später Manifestation: In einer Publikation, in der 10 CNM-Patienten mit Mutationen in der Mitteldomäne des *DNM2*-Gens und zumeist später Manifestation untersucht wurden, sind als Erstsymptome Myalgien nach Bewegung (7 Patienten), Probleme beim Laufen mit häufigen Fallen (4 Patienten), beim Treppensteigen (3 Patienten) und beim Schulsport (2 Patienten) aufgeführt (Fischer et al., 2006). Diese Merkmale werden auch in anderen Publikationen als häufige Erstsymptome genannt (Bitoun et al., 2005, 2009b; Jeannet et al., 2010; Jeub et al., 2008; Schessler et al., 2007; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009). Einige Patienten zeigen jedoch andere Erstsymptome: ein Patient mit *DNM2*-CNM wurde zuerst durch eine Greifschwäche auffällig, ein weiterer hatte bei einem als adult eingestuften Beginn schon seit früher Kindheit einen beidseitigen Pes cavus (Jeub et al., 2008; Schessler et al., 2007). Anders als bei Fischer et al. (s.o.) sind Myalgien sowohl als Erstsymptom als auch im späteren Verlauf bei *DNM2*-CNM-Patienten eher selten beschrieben, werden aber trotzdem von Jungbluth et al. als ein wichtiger differentialdiagnostischer Hinweis auf eine *DNM2*- und *RYR1*-CNM aufgeführt (Jungbluth et al., 2009b).

Erstsymptome bei früher Manifestation: Patienten mit früher Manifestation werden eher durch neonatale Hypotonie, schwaches Saugen und Schreien, verzögerter motorischer Entwicklung und früher Augenbeteiligung und auch postnataler respiratorischer Insuffizienz auffällig, worauf eine vorübergehende Besserung folgen kann (Bitoun et al., 2007; Jeub et al., 2008; Jungbluth et al., 2008, 2009a; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Es kann auch schon in der Schwangerschaft eine verminderte fetale Bewegung festgestellt werden (Susman et al., 2010).

Reduzierte fetale Bewegungen in Verbindung mit Oligohydramnion wurde auch bei 3 Patienten mit einer AR-CNM und Mutation im *BINI*-Gen beschrieben (Nicot et al., 2007). Zusätzlich zeigten diese Patienten auch eine intrauterine Wachstumsretardierung und kongenitale Kontrakturen, ein Patient verstarb postnatal an Atemversagen (Nicot et al., 2007). 3 weitere AR-CNM-Fälle hatten eine neonatale Hypotonie und eine verzögerte motorische Entwicklung (Bitoun et al., 2010; Claeys et al., 2010).

Symptome während der Schwangerschaft wurden auch bei einigen *RYR1*-CNM-Fällen beschrieben, hier in Form von Polyhydramnion und verminderter fetaler Bewegung (Jungbluth et al., 2007; Wilmschurst et al., 2010).

Bei der Myotubulären Myopathie (XLMTM), welche in den ersten Lebensmonaten meist tödlich verläuft, finden sich ebenfalls häufig Zeichen eines antenatalen Beginns wie reduzierte fetale Bewegungen und Polyhydramnion (Jungbluth et al., 2008). In der mütterlichen Linie finden sich gehäuft Fehl- oder Todgeburten mit männlichem Geschlecht (Dubowitz und Sewry,

2007). Männliche Neugeborene mit XLMTM imponieren zumeist als floppy-infants mit schwerer generalisierter Hypotonie und Schwäche, respiratorischer Insuffizienz bis zur Asphyxie, Areflexie, Saug- und Schluckstörung, Ophthalmoplegie und fazialer Schwäche (Jungbluth et al., 2008; Pierson et al., 2005). Häufig findet sich auch eine Makrosomie mit einer Körperlänge über der 90. Perzentile sowie ein großer Kopfumfang (Jungbluth et al., 2008). Konduktorinnen können in seltenen Fällen im adulten Alter eine langsam progressive Muskelschwäche ausbilden, eventuell ist die CK leicht erhöht (Pierson et al., 2005). Bei X-chromosomalen Abnormalitäten können jedoch weibliche Neugeborene mit *MTMI*-Mutation ebenfalls eine schwere Manifestation zeigen, wobei der Verlauf etwas milder ist als bei männlichen Neugeborenen (Dubowitz und Sewry, 2007; Pierson et al., 2005).

Bei den Patienten in dieser Studie (die Fälle ohne Mutation eingeschlossen) konnten alle von Fischer et al. aufgeführten Erstsymptome festgestellt werden (s.o.), am häufigsten Probleme beim Schulsport und erschwertes Treppensteigen. Bei 4 Patienten kamen noch Kontrakturen der Achillessehne und bei einem Patienten ein Torticollis als frühes Symptom hinzu. 3 Patienten zeigten ausserdem eine verzögerte motorische Entwicklung. Die von Jungbluth et al. als wichtiger klinischer Hinweis auf eine *DNM2*-CNM dargestellte Myalgie (Jungbluth et al., 2009b) wurde nur bei 2 Patienten mit *DNM2*-CNM festgestellt (und wurde von diesen auch als Erstsymptom angegeben), sowie bei einem der Patienten ohne Mutation.

#### **4.1.3 Augenbeteiligung und Facies myopathica**

Augenbeteiligung: Die extraokulären Muskeln unterscheiden sich durch strukturelle und funktionelle Merkmale von der Skelett- und Herzmuskulatur, was möglicherweise eine Rolle dabei spielt, ob die äußere Augenmuskulatur bei bestimmten Muskelerkrankungen mit betroffen sind oder nicht (Jones und North, 1997; Porter und Baker, 1996). Bei der Muskulären Dystrophie Typ Duchenne zum Beispiel sind die Augen eher nicht beteiligt (Jones und North, 1997). Bei mitochondrialen Myopathien oder der oculopharyngodistalen Myopathie ist die Augenbeteiligung eher progressiv, während bei der CNM, der congenitalen myotonen Dystrophie, der Myasthenie, der nemalinen Myopathie oder der Multicore-Myopathie die Beteiligung der externen Augenmuskeln eher nicht progressiv erscheint (Jones und North, 1997).

In dieser Studie fehlte eine Augenbeteiligung bei den 5 Patienten mit *DNM2*-Mutation nur bei einem Fall (P2, Mutation R465W). Diese Patientin war jedoch mit einem Alter von 21 Jahren die Jüngste aller Patienten, ein späterer Befall der Augenmuskulatur kann durchaus möglich sein. Die beiden anderen Patienten mit dieser Mutation (P1, P3) hatten zwar eine Ptosis, aber keine Ophthalmoplegie.

Eine Ptosis scheint bei dieser Mutation (R465W) allgemein häufiger als eine Ophthalmoplegie aufzutreten: von 19 beschriebenen Fällen (Tabelle 7) hatten 13 eine Ptosis, aber nur 5 eine Ophthalmoplegie (Bitoun et al., 2005; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008; Pirra et al., 2007; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009 ). Bei der ebenso häufigen Mutation R369Q verhält es sich ähnlich: von 10 beschriebenen Fällen (Tabelle 7) hatten 9 eine Ptosis, aber nur einer eine Ophthalmoplegie (Bitoun et al., 2005; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008 ). Bei den wenigen Patienten mit den Mutationen R522H und E650K wurde bisher sogar nur das Vorliegen einer Ptosis beschrieben, bei dem bisher einzigen Fall mit der Mutation S619W lag gar keine Augenbeteiligung vor (Bitoun et al., 2007, 2009a; Susman et al., 2010). Von 6 beschriebenen Patienten mit der Mutation R369W (Tabelle 7), welche sich an derselben Stelle wie die oben erwähnte Mutation R369Q befindet, hatte nur ein einziger Patient eine Ptosis und eine Ophthalmoplegie, die restlichen 5 zeigten keine Augenbeteiligung (Bitoun et al., 2005; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Liewluck, 2010).

Die Geschwister P4a und P4b mit der Mutation E368K zeigten beide eine Ophthalmoplegie, jedoch nur P4b hatte eine zusätzliche Ptosis. Bei 5 beschriebenen Fällen mit dieser seltenen Mutation hatten 4 Patienten ebenfalls eine Ptosis, 3 hatten eine Ophthalmoplegie (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008; Susman et al., 2010; Tosch et al., 2006).

Bei den übrigen 8 mit CNM assoziierten *DNM2*-Mutationen (bis auf E368Q in der PH-Domäne) hatten die Patienten beide Symptome vorliegen (Tabelle 7). Bis auf E368Q und A618D handelt es sich um sporadische Einzelfälle mit neonatalem onset und schwerem Verlauf (Echaniz-Laguna et al. 2007; Melberg et al. 2009).

Der Patient P5 dieser Studie, bei dem keine Mutation nachgewiesen werden konnte, zeigte weder eine Ptosis noch eine Ophthalmoplegie. P6, ebenfalls ohne Mutation, zeigte hingegen beide Merkmale.

*Beteiligung der Gesichtsmuskulatur:* In dieser Studie war bei allen Patienten mit einer *DNM2*-Mutation eine Gesichtsschwäche vorhanden. Eine Facies myopathica ist ein häufiges Merkmal einer *DNM2*-CNM, nur bei den Mutationen E368Q, S619W und V625del ist diese bisher nicht beschrieben worden (Bitoun et al., 2005, 2007; Echaniz-Laguna et al. 2007). Bei den häufigsten MD-Mutationen erscheint sie jedoch seltener als eine Beteiligung der Augen (Tabelle 7): von 19 beschriebenen Patienten mit der Mutation R465W hatten nur 5 eine Facies myopathica (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010). Auch bei der Mutation R369W wurde eine Facies myopathica nur bei einem von 6 beschriebenen Patienten erwähnt, bei der Mutation R369Q bei 4 von 10 Patienten (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008).

Bei Patienten mit *RYRI*-CNM ist eine Beteiligung der Augen- und Gesichtsmuskulatur häufig zu finden: 17 von 18 beschriebenen Patienten zeigten eine Facies myopathica und eine

Ophthalmoparese, 7 hatten eine Ptosis (Jungbluth et al., 2007; Wilmschurst et al., 2010).

Ähnlich verhält es sich bei der *BINI*-CNM: 5 der 8 bisher beschriebenen Fälle hatten eine Ophthalmoparese und Ptosis, 4 eine Facies myopathica (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010; Mejaddam et al., 2009; Nicot et al., 2007).

Bei Patienten mit XLMTM kann meist schon in der neonatalen Periode eine bilaterale Ptosis, faziale Diplegie und externe Ophthalmoplegie festgestellt werden (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Auch bei der *DNM2*-CMT-Neuropathie wurde eine Augenbeteiligung und Ptosis beschrieben (Bitoun et al., 2008).

#### **4.1.4 Bulbäre Symptomatik**

Bulbäre Symptome wie Dysphagie oder Dysarthrie lagen bei keinem der 7 untersuchten Patienten in dieser Studie vor. Solche Symptome wurden bei einer *DNM2*-CNM bisher bei einer Patientin mit der Mutation R465W in Form einer milden Dysphagie, bei einem Fall mit der Mutation E560K mit Dysphagie, bei einer Patientin mit der Mutation L621P mit schwerer Dysarthrie sowie bei einem Patienten mit der Mutation P627H mit Dysphagie (Bitoun et al., 2009; Jungbluth et al., 2009; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009). Häufig wird auch von Schwierigkeiten beim Füttern im Säuglingsalter, z.B. in Form von schwachem Saugen berichtet (in Tabelle 7 nicht als bulbäres Symptom gewertet, da sich die Fütterprobleme in den meisten Fällen bessern und zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Dysphagie mehr beschrieben wurde). In manchen dieser Fälle war sogar eine Tubusernährung erforderlich (Bitoun et al., 2007).

Auch bei der *RYRI*-CNM wird häufig von bulbären Symptomen berichtet: 12 von 18 beschriebenen Patienten hatten dysphagische und/oder dysarthrische Schwierigkeiten, die zum Teil eine Gastrotomie notwendig machte (Jungbluth et al., 2007; Wilmschurst et al., 2010).

Schwere Dysphagie und schwaches Saugen sind häufige Probleme bei Neonaten und Kleinkinder mit XLMTM und erfordern meist eine Tubusernährung (Pierson et al., 2005).

#### **4.1.5 Dysmorphien und Kontrakturen**

Dysmorphien und Kontrakturen wurden bisher bei allen CNM-assoziierten *DNM2*-Mutationen beschrieben, mit Ausnahme der seltenen Mutationen E560K, V625del und E650K. Patienten mit diesen Mutationen hatten weder Dysmorphien noch Kontrakturen. Insgesamt wurden bei 35 der 68 (51%) in Tabelle 7 aufgenommenen Patienten Kontrakturen beschrieben, 28 (41%) hatten Dysmorphien vorzuweisen.

Von den 7 Patienten dieser Studie hatte nur P1 keine Dysmorphien, alle hatten Kontrakturen.

Dysmorphien: Die häufigsten Dysmorphien bei einer *DNM2*-CNM betreffen den Gaumen und den Fuß: 13 (19%) der 68 in Tabelle 7 aufgeführten Patienten hatten einen hohen Gaumen, 10

(15%) hatten Veränderungen der Fußstruktur, zumeist in Form eines Pes cavus.

*Hoher Gaumen:* In dieser Studie hatten 2 der 5 Patienten mit Mutation einen hohen Gaumen: P3 mit der Mutation R465W und P4b mit der Mutation E368K. Von 19 bisher beschriebenen Patienten mit der Mutation R465W wurde nur bei einem ein hoher Gaumen berichtet (Zanoteli et al. 2009), bei der Mutation E368K war dieser ebenfalls nur bei einem von 5 Patienten zu finden (Susman et al., 2010). Mit 5 von 6 Patienten ist dieses Merkmal bisher am häufigsten bei der Mutation R522H beschrieben (Susman et al., 2010).

*Fußdeformitäten:* Von den 5 Patienten mit Mutation in dieser Studie hatte nur P3 (R465W) einen Pes cavus. Dieser wurde bei dieser Mutation bei 3 von 19 Patienten gefunden, wobei bei einem dieser Patienten ein Pes cavus equinovarus vorlag (Jeub et al., 2008; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009). Ein reiner Pes equinovarus wurde bei einer Patientin mit der Mutation L621P sowie bei einer Patientin mit der Mutation R369Q beschrieben (Jeub et al., 2008; Jungbluth et al., 2009).

Von den Patienten ohne Mutation hatte P6 weder einen hohen Gaumen, noch einen Pes cavus. P5 zeigte sowohl einen hohen Gaumen als auch eine Fußdysmorphie im Sinne eines Pes equinus.

*Wirbelsäulendeformitäten:* Von den 68 Patienten der Tabelle 7 hatten auch 14 Patienten (21%) Veränderungen der Wirbelsäule: 8 Patienten wiesen eine Hyperlordose, 6 eine Skoliose auf. Auch in dieser Studie konnten Wirbelsäulenveränderungen gefunden werden: von den Patienten mit Mutation hatten P2 (R465W) und P4b (E368K) eine Hyperlordose und P4a (E368K) eine Skoliose. Einer der 5 Patienten mit derselben Mutation E368K aus der Tabelle 7 hatte eine Wirbelsäulenveränderung in Form einer Skoliose (Susman et al., 2010), von den aufgeführten 19 Patienten mit der Mutation R465W hatte keiner dieses Merkmal.

Beide Patienten ohne Mutation wiesen ebenfalls eine Skoliose (P5) bzw. Hyperlordose (P6) auf.

*Seltene Dysmorphien:* Weitere, bei Einzelfällen beschriebene Dysmorphien sind Schädel- und Thoraxveränderungen: Ein Patient mit der seltenen Mutation A618T zeigte einen Kahnschädel, eine Retrognathie sowie eine Kielbrust, ein Fall mit der Mutation S619L hatte eine Hypoplasie der Maxilla und ebenfalls eine Kielbrust (Susman et al., 2010). Beide Patienten zeigten einen schweren Phänotyp mit neonatalem Beginn. In dieser Studie wies P4b (E368K) ebenfalls Veränderungen des Thorax in Form einer Trichterbrust auf.

Bei den wenigen Patienten mit einer *RYRI*-CNM wurden bei 4 von 18 betroffenen Patienten eine Skoliose und bei einem ein Pes equinovarus gefunden (Jungbluth et al., 2007; Wilmschurst et al., 2010).

Auch bei Patienten mit der seltenen autosomal-rezessiven *BINI*-CNM sind Dysmorphien beschrieben worden: ein Patient hatte einen beidseitigen Pes equinovarus adductus und eine Scoliosis, ein anderer zeigte einen hohen Gaumen, einen Pes cavus equinovarus, eine Retrognathie und eine Hyperlordose bei gleichzeitiger Kyphoskoliose (Claeys et al., 2010;

Mejaddam et al., 2009).

Patienten mit XLMTM fallen ebenfalls häufig durch Dysmorphien wie Kielbrust, Mikrognathie, Vierfingerfurche und schmale Rippen auf (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Ausserdem zeigt sich bei Neonaten mit XLMTM häufig eine Makrosomie über die 90. Perzentile sowie ein großer Kopfumfang (Jungbluth et al., 2008). Es kann auch rasch zur Ausbildung einer Kyphoskoliose kommen (Engel und Franzini-Armstrong, 1994).

Skelettdeformitäten sind auch sehr häufig bei der *DNM2*-assoziierten CMT zu finden, zumeist als Pes cavus, Hammerzehen und Skoliose (Bitoun et al 2008; Claeys et al., 2009; Fabrizi et al., 2007; Gallardo et al., 2008).

Kontrakturen: *Achillessehne:* Eine Kontraktur ist bei *DNM2*-CNM-Patienten am häufigsten an der Achillessehne festzustellen: 31 (46%) der 68 Patienten der Tabelle 7 waren davon betroffen. Auch in dieser Studie hatten die 3 Patienten mit der Mutation R465W (P1, P2, P3) sowie P5 (ohne Mutation) eine Achillessehnenkontraktur. Von den 19 Patienten mit der Mutation R465W aus Tabelle 7 waren 4 von dieser Kontraktur betroffen (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Susman et al., 2010; Zanuteli et al., 2009).

*Fingerflexoren:* Weniger häufig ist eine Kontraktur der langen Fingerflexoren: 9 (13%) der Patienten aus Tabelle 7 hatten diese Kontraktur. In dieser Studie wies nur P3 (R465W) diese Kontraktur auf. 3 von den 19 Patienten mit derselben Mutation (Tabelle 7) haben ebenfalls einen Fingerflexorenkontraktur (Bitoun et al., 2005; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Susman et al., 2010).

*Trismus:* Sehr selten findet sich eine Versteifung des Kiefergelenkes (Trismus), was zu einer verminderten Öffnungsfähigkeit des Mundes führt. Nur bei 4 Patienten mit *DNM2*-CNM wurde dieses Symptom bisher beschrieben: bei einer Patientin mit der sporadischen Mutation R369Q und einer Manifestation in später Kindheit, bei einer Patientin mit der Mutation A618D und einem neonatalen Beginn mit intermittierender spontaner Besserung und anschließender Progredienz der Schwäche, bei einem Patienten mit der Mutation R465W und mit mildem Verlauf sowie bei einer Patientin mit der Mutation R522H und ebenfalls mildem Verlauf (Jeub et al., 2008; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Ältere, genetisch ungeklärte CNM-Fällen mit limitierter Kieferöffnung sind beschrieben worden (Ortiz de Zarate et al., 1970; Zanuteli et al., 2000). Zum Teil konnten hier im cranialen MRT-Bild eine fettige Degeneration der Kaumuskulatur sowie eine Fibrose der temporomandibulären Gelenke gesehen werden (Zanuteli et al., 2000). In dieser Studie konnte bei 3 der 7 Patienten ein Trismus festgestellt werden: beim Geschwisterpaar P4a und P4b mit der Mutation E368K (Erstbeschreibung bei dieser Mutation) sowie bei P6 (ohne Mutation). Dies lässt vermuten, dass das Kiefergelenk bzw. die Kaumuskulatur weitaus häufiger betroffen ist als bisher angenommen.

Auch bei anderen Myopathien sind Veränderungen im Kauapparat beschrieben worden, wie bei

der Myotonen Dystrophie und der nemalinen Myopathie (Gold, 1966; Kiliaridis et al., 1989; Powers et al., 1980).

*Sonstige Kontrakturen:* Es wird auch von Kontrakturen anderer Körperteilen berichtet. Eine Versteifung der Wirbelsäule wurde bei 3 Patienten mit der Mutation R369Q und bei einem mit der Mutation R465W beobachtet (Fischer et al., 2006). Ein Patient mit der Mutation R465W hatte eine Handgelenkskontraktur (Zanoteli et al., 2009). Eine schwer betroffene Patientin mit der Mutation L621P mit Achillessehnen- und Fingerflexorenkontraktur hatte zusätzlich eine bilaterale Hüft- und Kniekontraktur (Jungbluth et al., 2009). Auch die zwei Patienten mit der Mutation E368K in dieser Studie hatten eine Kontraktur des Hüftgelenkes. Des weiteren kann auch das Ellenbogengelenk betroffen sein, was bei Einzelfällen mit der Mutation E368K, R369Q, R522H und P627H berichtet wurde (Bitoun et al. 2005; Jeannet et al., 2004; Susman et al., 2010).

Eine versteifte Wirbelsäule durch postnatale Kontrakturen der paravertebralen Muskulatur findet sich neben weiteren Kontrakturen und axial betonter Muskelschwäche als Hauptsymptom der kongenitalen Muskeldystrophie mit rigid-spine (engl.: rigid-spine-syndrome), hervorgerufen durch eine Mutation im *SEPNI*-Gen, welches das Selenoprotein N1 codiert (Moghaddazadeh et al., 2001).

*Torticollis:* Ein Bericht über einen Torticollis im Zusammenhang mit einer CNM konnte nicht gefunden werden, so dass es sich bei der Patientin P2 möglicherweise um den ersten CNM-Fall mit dieser Kontraktur handelt.

Kongenitaler muskulärer Torticollis (CMT) ist die dritthäufigste kongenitale Anomalie des Muskel-Skelett-Apparates (Bredenkamp et al., 1990) mit einer Inzidenz von 0,3 - 1,9% (Cheng et al., 2001; Wei et al., 2001). CMT kann zum Beispiel geburtstraumatisch (Raco et al., 1999), durch kongenitale Anomalien der Halswirbelsäule (Bolton 1985) oder genetische Defekte, welche zu einseitiger Muskelverkürzungen führen (Krauss et al., 1997), entstehen. Eine weitere kongenitale Muskelerkrankung, bei der ein kongenitaler Torticollis beschrieben wurde, ist die Bethlem-Myopathie (Bethlem und van Wijngaarden, 1976). Es handelt sich hierbei um eine autosomal-dominant vererbte, langsam progressive kongenitale muskuläre Dystrophie mit Kontrakturen, verursacht durch eine Mutation des Kollagen-Typ-VI-Gens (Jöbsis et al., 1994).

Etwas weniger häufig scheinen Kontrakturen bei der *BINI*-CNM vorzukommen. Nur 3 der 8 bisher beschriebenen Patienten hatten Kontrakturen, die jedoch kongenital und zum Teil sehr schwer waren (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010; Mejaddam et al., 2009; Nicot et al., 2007).

Patienten mit XLMTM bilden häufig rasch Kontrakturen v.a. der Hüfte und der Kniegelenke aus (Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Pierson et al., 2005). Bei Langzeitüberlebenden kann auch der Kieferapparat mit erschwertem Kieferschluß betroffen sein (Pierson et al., 2005).

Bei der *DNM2*-CMT-Neuropathie sind ebenfalls Kontrakturen der Achillessehne beschrieben worden (Fabrizi et al., 2007).

#### 4.1.6 Muskelatrophie

In Tabelle 7 hatten 22 der 68 Patienten (32%) erkennbare Atrophien der Muskulatur. Explizit beschrieben wurden sie hierbei nur bei Patienten mit der Mutation E368Q, R465W, R522H, P627H und E650K (Bitoun et al., 2009; Echaniz-Laguna et al., 2007; Jeub et al., 2008; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010; Zanuteli et al., 2009). Die unteren Extremitäten sind dabei fast doppelt so häufig betroffen als die oberen. Die Atrophien sind distal gelegen, nur bei 2 Fällen wird von zusätzlichen proximalen Atrophien berichtet (Jeub et al., 2008; Susman et al., 2010). Ein zusätzlicher Schwund der paraspinalen Muskulatur wurde bei 2 Patienten mit der Mutation R522H beschrieben (Susman et al., 2010). Bei einem Patienten mit der Mutation R465W wurde neben einem distalen Muskelschwund eine Atrophie der Kaumuskulatur gefunden, wobei eine eingeschränkte Mundöffnung nicht erwähnt wird (Zanuteli et al., 2009).

In dieser Studie hatten 3 der Patienten mit *DNM2*-Mutation Atrophien der Muskulatur: bei P2 mit der Mutation R465W waren beide Extremitäten betont distal betroffen, die Beine zeigten aber zusätzlich proximale Atrophien. Zudem kamen bei diesem Patienten paraspinale Atrophien hinzu. P3 mit derselben Mutation zeigte nur distale Atrophien der Beine. Bei P4b mit der Mutation E368K zeigte einen Muskelschwund der proximalen und distalen unteren Extremität. Es spiegeln sich hier die Erkenntnisse aus Tabelle 7 wieder: bei einer *DNM2*-CNM finden sich Atrophien vor allem distal, die Beine sind überwiegend betroffen.

Die beiden Patienten ohne Mutation zeigten zwar Atrophien der Beine (P5, P6) und der Arme (P6), diese befanden sich jedoch ausschließlich proximal.

Bei den Fällen mit *BINI*-CNM wird nur bei einem Patienten eine diffuse Atrophie beschrieben, keiner der bisher beschriebenen *RYR1*-CNM-Fälle hatte sichtbare Muskelatrophien (Claeys et al., 2010; Jungbluth et al., 2007; Wilmshurst et al., 2010). Auch bei Patienten mit XLMTM werden Atrophien nicht beschrieben, bei Langzeitüberlebenden bleibt jedoch die Muskulatur meist dünn ausgebildet und schwach (Pierson et al., 2005).

Wie für die CMT-Neuropathie typisch haben auch die Patienten mit *DNM2*-CMT distale Atrophien, vor allem peroneal und an den Waden sowie an den Händen und Füßen (Bitoun et al., 2008; Fabrizio et al., 2007; Gallardo et al., 2008; Harding und Thomas, 1980).

#### 4.1.7 Muskelhypertrophie

Die Patienten dieser Studie zeigten keine Muskelhypertrophie. Man findet dies auch nur sehr selten bei Patienten mit einer CNM. Eine diffuse Pseudohypertrophie bei einem sporadischen adulten CNM-Fall und eine Pseudohypertrophie der Waden bei drei Familien mit spät manifester AD-CNM ist beschrieben worden (Bill et al., 1979; Ferrer et al., 1992; Lovaste et al., 1987; Matsushita et al., 1991). Von einer Muskelhypertrophie bei Patienten mit *DNM2*-CNM wurde bisher in 2 Publikationen berichtet. In eine Familie mit der Mutation R369Q gab es 6 Betroffene mit einer echten, diffusen Muskelhypertrophie und einem zur Muskelschwäche kontrastierenden athletischen Habitus (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004). Ein weiterer Fall mit der Mutation R369W zeigte bei völligem Fehlen einer Muskelschwäche eine paravertebrale Pseudohypertrophie (Liewluck et al., 2010).

#### 4.1.8 Muskelschwäche: Verteilung und Betonung

Es gilt, dass bei einer AD-CNM die Muskulatur des Gliedergürtels und des Stammes von der Muskelschwäche am meisten betroffen sind, eine distale Muskelschwäche kann jedoch insbesondere bei *DNM2*-CNM der proximalen Schwäche vorausgehen, v.a. in den unteren Extremitäten (Jungbluth et al., 2008). In einer späteren Publikation erwähnen Jungbluth et al. eine distale Muskelschwäche als diagnostischen Hinweis auf eine *DNM2*-CNM (Jungbluth et al., 2009b).

Eine Analyse der 16 für Tabelle 7 verwendeten Publikationen ergab, dass bei 48 der 68 Patienten eine Betonung der Muskelschwäche vorlag. Bei den restlichen Patienten lag entweder eine diffuse Schwäche ohne Betonung vor oder es wurde keine Aussage über die Verteilung gemacht.

36 Patienten zeigten eine distal, 13 eine proximal betonte Muskelschwäche, wobei bei einem Patienten die Arme proximal und die Beine distal betroffen waren und bei einem weiteren Patienten es sich anders herum verhielt (Bitoun et al., 2005, 2007, 2009a; Echaniz-Laguna et al., 2007; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008; Jungbluth et al., 2009a; Pirra et al., 2007; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009). Bei 2 Patienten war die Schwäche initial distal und im weiteren Krankheitsverlauf dann mehr proximal zu finden, 1 Patient zeigte eine umgedrehte Entwicklung der Muskelschwäche (Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010).

Bei 23 Patienten waren Arme und Beine in unterschiedlichem Maße betroffen: 10 Fälle zeigten eine armbetonte, 13 Fälle eine beinbetonte Schwäche (Bitoun et al., 2005, 2007, 2009a; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008; Pirra et al., 2007; Susman et al., 2010).

21 Patienten zeigten zudem eine ausgeprägte axiale Schwäche, wobei vor allem meist die

Halsflexoren betroffen waren (Bitoun et al., 2009a; 2009b; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010).

Es ist auch möglich, dass ein Patient keinerlei Anzeichen einer Muskelschwäche zeigt, wie ein 21-jähriger Fall mit der Mutation R369W (Liewluck et al., 2010).

Die Verteilung der Muskelschwäche entspricht in etwa der der Atrophien, welche sich zumeist ebenfalls distal befinden und die Beine häufiger betreffen als die Arme (s.o.).

Die Patienten dieser Studie zeigten alle bis auf einen (P3) eine Betonung der Muskelschwäche. Bei den Patienten mit Mutation (ausgenommen P3) war diese überwiegend distal zu finden, P4a und P4b hatten jedoch gleichzeitig auch proximal betonte Schwächen. Bei P1 und P2 waren die Arme, bei P4a die Beine stärker betroffen. Die zwei Patienten ohne Mutation hatten eine proximal betonte Kraftminderung in beiden Extremitäten, bei P5 waren die Arme und bei P6 die Beine etwas stärker betroffen. Eine axiale Kraftminderung war bei allen Patienten nachzuweisen, bei 3 von ihnen (P2, P4a, P4b) in stärkerem Maße.

Insgesamt führt dies zu der Annahme, dass zumindest bei der *DNM2*-CNM eine Muskelschwäche häufiger distal als proximal zu finden und häufig ein Extremitätenpaar (Arme oder Beine) stärker betroffen ist. Eine axiale Schwäche lässt sich ebenfalls oft feststellen.

Bei der *BINI*- und *RYRI*-CNM findet sich überwiegend eine proximale Betonung der Muskelschwäche, eine axiale und seltener ein distale Schwäche können vorkommen (Bitoun et al., 2008; Fabrizi et al., 2007; Gallardo et al., 2008; Mejaddam et al., 2009; Wilmshurst et al., 2010). Die Muskelschwäche bei Patienten mit XLMTM ist meist schon bei Geburt generalisiert vorhanden, über eine Betonung wird im Allgemeinen nicht berichtet (Pierson et al., 2005).

#### **4.1.9 Veränderungen der Muskulatur in bildgebenden Verfahren**

Fischer et al. führten bei 10 Patienten mit *DNM2*-CNM CT-Untersuchungen der unteren Extremität und Hüftregion nach Veränderungen im Sinne einer fettigen Degeneration durch und stellten hierbei ein spezifisches zeitliches Befallsmuster der Muskulatur fest: die distale posteriore Muskulatur des Unterschenkels, allen voran der *M. gastrocnemius medialis*, wird als erstes und am schwersten betroffen (Fischer et al., 2006). Eine spätere und mildere Beteiligung zeigen die posteriore Oberschenkelmuskulatur und der *M. gluteus minimus*. Nur in den schwersten Fällen werden der *M. sartorius*, *M. gracilis* und *M. rectus femoris* betroffen und sind somit meist ausgespart (Fischer et al., 2006). 7 weitere Patienten mit *DNM2*-CNM wurden beschrieben, die im CT oder MRT ein ähnliches Muster zeigten (Bitoun et al., 2009b; Jeub et al., 2008; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010). Bei drei dieser Patienten wurden auch die oberen Extremitäten untersucht, die weniger betroffen waren als die Beine: ein Patient zeigte Veränderungen im posterioren Kompartiment des Unterarms, die anderen beiden nur spärliche

Infiltration der tiefen Unterarm-Muskulatur und z.T. des Schultergürtels (Bitoun et al., 2009b; Susman et al., 2010). Die letzten beiden Patienten erhielten auch ein MRT des Kopfes. Hier war besonders der *M. pterygoideus lateralis* verändert, ebenso der *M. temporalis* (Susman et al., 2010). Ein Patient mit starker fettiger Infiltration aller Beinmuskeln ohne selektivem Befallsmuster zeigte im cranialen MRT ebenfalls starke Veränderung des *M. pterygoideus lateralis* (er hatte passend dazu eine limitierte Kieferöffnung), sowie der Augen- und Nackenmuskulatur (Susman et al., 2010). Veränderungen in der Kaumuskulatur könnten somit ein weiterer diagnostischer Hinweis auf eine *DNM2*-CNM darstellen.

Bei einem Patienten war lediglich ein CT-Abdomen vorhanden, wobei eine fettige Degeneration der paravertebralen Muskulatur und der vorderen Bauchmuskeln prominent erkennbar war (Liewluck et al., 2010).

In dieser Studie erhielten 2 der Patienten mit *DNM2*-CNM ein MRT des proximalen Oberschenkels (P2, P4b). P4b zeigte eine fast vollständige Degeneration der Muskulatur mit nur noch wenigen normalen Muskelfasern im *M. rectus femoris*. Letzterer gehört laut Fischer et al. zu den Muskeln, die als letztes betroffen werden (Fischer et al., 2006). Bei P2 lag der Schwerpunkt der fettigen Degeneration im hinteren Kompartiment mit relativer Aussparung des *M. gracilis* und Zunahme der Veränderung nach distal (siehe Abb. 14). Beide Patienten zeigten also weitgehend das von Fischer et al. als typisch für *DNM2*-CNM erachtete Befallsmuster.

Das MRT und CT kann ein nützliches Werkzeug zur Differenzierung der *DNM2*-CNM von anderen kongenitalen Myopathien sein (Fischer et al., 2006). So zeigen *RYR1*-assoziierte Myopathien ein spiegelbildliches Muster mit frühem Befall der anterioren Oberschenkelmuskulatur und selektiver Veränderung des *M. soleus* (Jungbluth et al., 2004a). Die Nemale Myopathie zeigt ebenfalls ein umgedrehtes Muster mit Befall der anterioren Ober- und Unterschenkelmuskulatur (Jungbluth et al., 2004b).

Bei Patienten mit *BINI*-assoziierte AR-CNM sind bisher 2 Patienten beschrieben worden, bei denen eine MRT-Untersuchung durchgeführt wurde. Bei einem waren die Veränderungen mit Befall der anterioren und peronealen Unterschenkelmuskulatur bei Aussparung des *M. gastrocnemius* und unselektiver Degeneration der Oberschenkelmuskulatur unterschiedlich zu den Veränderungen bei *DNM2*-CNM (Böhm et al., 2010). Der andere Fall zeigte jedoch ein zum Teil ähnliches Muster wie bei *DNM2*-CNM (auch wenn der Autor von einem unterschiedlichen Muster spricht): hier zeigten sich im Oberschenkel eine starke fettige Infiltration sowohl im vorderen als auch hinteren Kompartiment, wobei jedoch wie bei der *DNM2*-CNM der *M. gracilis* und *M. sartorius* relativ ausgespart waren. Im Unterschied zur *DNM2*-CNM war jedoch im Unterschenkel bei fast vollständig degenerierter Muskulatur der *M. tibialis posterior* nur wenig betroffen (Claeys et al., 2010).

Berichte über MRT-Befunde bei Patienten mit XLMTM sind selten. Bei einer 77-jährigen

manifestierenden Konduktorin waren im MRT die gluteale Muskulatur, die posteriore Oberschenkelmuskulatur unter Aussparung des M. sartorius und M. gracilis, die M. gastrocnemii und der rechte M. soleus betroffen (Pénisson-Besnier et al., 2007). Dieses Muster ist dem sehr ähnlich, das Fischer et al. für DNM2-CNM beschreibt, nur dass hier die M. gastrocnemii (bei *DNM2*-CNM als erstes und am schwersten betroffen) relativ ausgespart bleiben (s.o.). Manifestationsbeginn dieser Patientin war zwar in der Kindheit, zur signifikanten Muskelschwäche kam es jedoch erst ab dem 30. Lebensjahr. Die Patientin verstarb im Alter von 84 Jahren und wird vom Autor als bisher älteste manifestierende Konduktorin einer *MTM1*-Mutation aufgeführt (Pénisson-Besnier et al., 2007). Ein weiterer weiblicher, aber schwer betroffener XLMTM-Patient hatte schon im 6. Lebensjahr schwere Veränderungen der Muskulatur mit relativer Aussparung des M. adductor longus sowie der Mm. gastrocnemii und des M. tibialis anterior (Jungbluth et al., 2003). Ein von diesem Autor beobachteter, jedoch nicht publizierter, männlicher XLMTM-Fall soll ein ähnliches Befallsmuster gehabt haben (Jungbluth et al., 2003).

Patienten mit einer *DNM2*-assoziierten Neuropathie (CMT) zeigen im MRT weitgehend ein Muster, das bei einer chronisch-progressiven distalen Muskeldenervation zu erwarten ist: starker Befall der vier Kompartimente der Wadenmuskulatur mit partieller Aussparung im posterioren Kompartiment sowie kaum Veränderungen der Oberschenkelmuskulatur (Gallardo et al., 2008).

#### **4.1.10 Abnormalitäten in der Elektromyographie**

Die meisten Patienten mit einer *DNM2*-CNM zeigen im EMG prominente myopathische Veränderungen (Jungbluth et al., 2008). Nur in seltenen Fällen werden keine pathologischen Veränderungen gefunden oder zeigen sich zusätzliche neuropathische Abnormalitäten. So hatte eine Patientin mit der *DNM2*-Mutation L621P trotz schwererem Phänotyps ein normales EMG (Jungbluth et al., 2009a). Bei 5 Patienten mit der Mutation E368Q wurden pathologische Spontanaktivitäten in Form von Fibrillationen gesehen, 3 weitere Patienten mit der Mutation R369Q zeigten im EMG Fibrillationspotentiale und pseudomyotone Entladungen (Echaniz-Laguna et al., 2007; Fischer et al., 2006). Diese pathologischen Befunde wurden von den jeweiligen Autoren als neuropathisch interpretiert. Dies wurde jedoch von Foye (Foye 2007) angezweifelt: die von Fischer et al. beschriebene Befundkonstellation spreche eher für einen rein myopathischen Prozess. Pathologische Spontanaktivitäten wie Fibrillationen, positive scharfe Wellen und repetitive Entladungen können sowohl bei myogenen als auch bei neurogenen Prozessen gemessen werden (Bischoff et al., 2003; Foye 2007).

Die elektromyographischen Befunde aller Patienten in dieser Studie weisen ebenfalls keine primär neuropathischen Veränderungen auf, bei einem Patienten (P2) konnten aber neben den myopathischen auch sekundär neuropathische Veränderungen festgestellt werden.

Normale EMG-Befunde wurden auch bei Patienten mit *BINI*-CNM beschrieben, bei einem Patienten mit *BINI*-CNM konnten pseudomyotone und myotone Entladungen und Fibrillationen als Hinweis auf eine neuromuskuläre Übertragungsstörung gemessen werden (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010; Mejaddam et al., 2009). Auch bei Patienten mit XLMTM ist der EMG-Befund normal oder es werden allenfalls unspezifische myopathische Veränderungen gefunden (Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Pierson et al., 2005).

*DNM2*-Mutationen in der PH-Region können auch mit einer CMT-Neuropathie assoziiert sein. Patienten mit dieser Erkrankung zeigen im EMG jedoch stets rein neurogene Muster ohne myopathische Veränderungen (Bitoun et al., 2008; Claeys et al., 2009; Fabrizi et al., 2007; Gallardo et al., 2008).

#### **4.1.11 Abnormalitäten in der Elektroneurographie**

In den meisten beschriebenen Fällen einer *DNM2*-CNM ist die Nervenleitgeschwindigkeit im Normbereich, manche elektroneurographischen Befunde geben jedoch Hinweis auf eine milde axonale periphere Nervenbeteiligung (Jungbluth et al., 2008). So hatten 2 Patienten mit der Mutation R522H eine leichte Reduktion der motorischen NLG und des Muskelsummenpotentials bei normaler sensibler Neurographie, 5 Patienten mit der Mutation E368Q hatten bei normaler motorischer und sensibler NLG ein zwischen 10% und 30% des Normwertes vermindertes motorisches und ein sehr leicht vermindertes sensibles Summenpotential (Echaniz-Laguna et al., 2007; Susman et al., 2010). Bei letzteren handelte es sich um eine Mutter mit 5 Kindern, wobei eines nicht betroffen war und auch keinerlei Abnormalitäten des peripheren Nervensystems zeigte. Diese Tatsache untermauert laut Autor die Annahme eines möglichen Zusammenhangs der *DNM2*-Mutation und der Beteiligung des peripheren Nervensystems sowie einer möglichen Überlappung des Phänotyps einer *DNM2*-CNM und *DNM2*-CMT (Echaniz-Laguna et al., 2007). Die Reduktion der NLG und des Muskelsummenpotentials könnte aber auch sekundär als Ausdruck einer Muskelatrophie und nicht primär durch eine Nervenbeteiligung verursacht sein (Susman et al., 2010).

In dieser Studie waren bei 4 der 5 Patienten mit Mutation (P2-4b) ebenfalls leichtgradige elektroneurographische Abnormalitäten festzustellen, die mit dem Vorliegen einer milden axonalen peripheren (überwiegend motorischen, z.T. aber auch sensiblen) Neuropathie vereinbar wären: bei 4 Patienten war das motorische, bei einem zusätzlich das sensible Summenpotential vermindert, die NLG (motorisch und sensibel) war nur bei P4a leicht herabgesetzt (Tabelle 6). Auch die fehlende sensible Reizantwort des N. suralis bei P1, die schon bei einer elektrophysiologischen Untersuchung im Jahr zuvor bestanden hatte, kann als Hinweis auf eine leichtgradige periphere Polyneuropathie interpretiert werden. Bei einem der Patienten ohne Mutation (P5) war das sensible Summenpotential vermindert (Tabelle 6). Bei P6

ergab sich eine nur sehr geringfügig verminderte sensible NLG bei normaler Amplitude, so dass man nicht unbedingt von einem pathologischen Wert sprechen muss.

Schwache bis nicht auslösbare Reflexe, meist generalisiert, fanden sich bei der Literaturschau bei 47 (80%) von 59 getesteten Patienten (Bitoun et al., 2004, 2007, 2009a, 2009b; Echaniz-Laguna et al., 2007; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Jeub et al., 2008; Jungbluth et al., 2009a; Melberg et al., 2009; Schessl et al., 2007; Susman et al., 2010; Zanoteli et al., 2009). Bei einer 28-jährigen Patientin sowie deren Vater mit der Mutation R465W (ENG nicht durchgeführt) wurden eine distale Sensibilitätsminderung festgestellt, was ein häufiges Symptom einer CMT-Neuropathie darstellt (Claeys et al., 2009; Schessl et al., 2007).

Verminderte bis nicht auslösbare Reflexe waren in dieser Studie bei allen Patienten festzustellen, ebenso hatten alle bis auf einen eine malleoläre Hypopallästhesie (siehe Tabelle 5), was häufig bei einer peripheren Neuropathie wie der CMT zu finden ist (Claeys et al., 2009). So wurden auch bei Fällen mit *DNM2*-CMT strumpffartige Hypopallästhesien und distale Sensibilitätsstörungen sowie Hypo- und Areflexie beschrieben (Bitoun et al., 2008; Fabrizi et al., 2007; Gallardo et al., 2008).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei einigen Patienten mit *DNM2*-CNM eine milde, überwiegend axonale sensomotorische periphere Polyneuropathie vorliegen kann.

Auch bei *BINI*- und *RYR1*-CNM liegt häufig eine Hypo- bzw. Areflexie vor (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010; Mejaddam et al., 2009; Wilmshurst et al., 2010). 3 Patienten mit *BINI*-CNM erhielten ein ENG, welches jeweils normal ausfiel (Böhm et al., 2010; Mejaddam et al., 2009).

Bei der XLMTM ist ebenso eine Areflexie häufig, das ENG zeigt aber in der Regel keine Abnormalitäten (Engel und Franzini-Armstrong, 1994).

#### **4.1.12 Beteiligung des zentralen Nervensystems**

Zusätzlich zu den ENG-Veränderungen hatten die von Echaniz-Laguna et al. beschriebene *DNM2*-CNM-Patientin und ihre 4 betroffenen Kinder (s.o.) eine milde mentale Retardierung und Lernschwierigkeiten, während das gesunde Kind davon nicht betroffen war (Echaniz-Laguna et al., 2007). Eine kognitive Beeinträchtigung findet sich häufig bei einer *DNM2*-CNM: 10 der 68 Patienten (15%) der Tabelle 7 zeigten eine Einschränkung der mentalen Fähigkeiten, wobei die meisten eine Mutation in der MD-Region aufwiesen (Bitoun et al., 2005, 2009a; Jeannet et al., 2004). Im Schädel-MRT eines Kindes mit der Mutation A618T konnten leichte Veränderungen der weißen Substanz gesehen werden, eine mentale Beeinträchtigung wurde jedoch nicht berichtet (Susman et al., 2010). *DNM2* ist ausserdem als ein neues Anfälligkeitgen für Late-onset Morbus Alzheimer identifiziert (Aidaraliev et al., 2008) worden. Weitere Fälle mit mentaler Retardierung wurden bei genetisch ungeklärten CNM-Fällen beschrieben (Jeannet

et al., 2004; Olivé et al., 1993).

Eine leicht eingeschränkte Kognition wurde nur bei einem Patienten in dieser Studie mit Hilfe des DemTect Test festgestellt (P1), da aber der Minimental-Test bei diesem Patienten normal ausfiel ist das Vorliegen einer mentalen Retardierung nicht eindeutig.

Bei 3 der wenigen bisher beschriebenen *BINI*-CNM-Fälle wurden ebenfalls kognitive Defizite beschrieben (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010).

Bei Patienten mit XLMTM scheinen die kognitiven Funktionen im Allgemeinen nicht eingeschränkt zu sein, aber eine kleine Anzahl an XLMTM-Patienten mit Demenz und Anfällen ist beschrieben worden, wobei die Ursache jedoch auf eine Hypoxämie oder andere metabolische Störungen zurückzuführen sein soll (McCrea et al., 2009; McEntagart et al., 2002). Bei einem 8-jährigen Jungen mit XLMTM und progressiver Demenz sowie subklinischen Anfällen konnte jedoch keine metabolische Ursache gefunden werden (McCrea et al., 2009).

#### **4.1.13 Kreatinkinase**

Im Allgemeinen ist die Kreatinkinase (CK) bei allen CNM-Formen normal bis leicht erhöht (Jungbluth et al., 2008). Aus der Literaturlauswertung (siehe Tabelle 7) geht hervor, dass bei 13 (23%) von 56 Patienten, bei denen die CK untersucht wurde, diese leicht erhöht war (Bitoun et al., 2005, 2007; Fischer et al., 2006; Jeannet et al., 2004; Liewluck et al., 2010; Pirra et al., 2007; Susman et al., 2010). Der höchste genannte Wert lag beim 5-fachen des Normalwertes (Fischer et al., 2006). Bei 77% war die CK im Normbereich.

In dieser Studie war bei keinem der Patienten eine CK-Erhöhung zu messen.

Auch bei den wenigen CNM-Fällen mit *BINI*- oder *RYRI*-Mutation wurden normale bis allenfalls leicht erhöhte CK-Werte gemessen, ebenso bei der *DNM2*-assoziierten CMT (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2009, 2010; Fabrizi et al., 2007; Jungbluth et al., 2007; Mejaddam et al., 2009).

Auch bei Patienten mit XLMTM ist die CK meist im Normbereich, sie kann aber auch leicht erhöht sein (Pierson et al., 2005). Eine leichte CK-Erhöhung kann gelegentlich bei Konduktorinnen mit heterozygoter *MTMI*-Mutation beobachtet werden (Pierson et al., 2005).

#### **4.1.14 Beteiligung des Herzens**

In dieser Studie gab es bei keinem der 7 Patienten einen Hinweis auf eine Kardiomyopathie. Die EKG- und Echokardiographiebefunde waren normal, mit Ausnahme des Patienten P3 mit

supraventrikulären Extrasystolen, wobei das Alter von P3 zum Zeitpunkt der Untersuchung 65 Jahren betrug und wohl eher als altersdegenerative Erkrankung des Herzens zu werten ist. Auch von den 68 Patienten der Tabelle 7 sind die EKG- und Echokardiographiebefunde zumeist unauffällig, insofern diese Untersuchung durchgeführt wurde. Nur bei 2 Fällen wird von Beteiligung des Herzens berichtet: eine Patientin mit der Mutation A618T zeigte im Alter von ca. 6 Jahren eine milde Apexdilatation, jedoch ohne Funktionseinschränkung des Herzens, ein Patient mit der Mutation R465W und einem Manifestationsbeginn in der Kindheit zeigte im Alter von 36 Jahren eine progrediente biventrikuläre dilatative Kardiomyopathie, im Alter von 45 Jahren lag die Ejektionsfraktion nur noch bei 25% (Bitoun et al., 2007; Susman et al., 2010). Eine Kardiomyopathie scheint somit kein häufiges und typisches Merkmal einer *DNM2*-CNM zu sein.

Es gibt jedoch mehrere Berichte über Kardiomyopathien bei genetisch ungeklärten CNM-Fällen. So hatte ein 15-jähriger CNM-Patient eine diffuse progressive kardiale Dilatation und extensive Fibrose des Myokards, sein ebenfalls betroffener Bruder zeigte neben einer leichten Vergrößerung des Herzens eine leichte kongenitale Aortenstenose (Verhies et al., 1976). Bei einem weiteren 15-jährigen CNM-Patienten konnte ebenfalls eine dilatative Kardiomyopathie mit hydroper Degeneration und Fibrose des Myokards nachgewiesen werden (Gospe et al., 1987). Bei einem 5-jährigen Mädchen mit CNM machte die dilatative Kardiomyopathie eine Transplantation notwendig, wobei sich in der Biopsie hypertrophe Myokardiozyten, fokale Infarkte und eine endokardiale Fibroelastose zeigte (Al-Ruwaishid et al., 2003). Weitere CNM-Fälle mit Beteiligung des Herzens sind beschrieben worden, wobei dies zum Teil jedoch auch auf eine sekundäre Genese aufgrund ventilatorischer Dysfunktion durch Schwäche der Atemmuskulatur zurückzuführen sein könnte (Bethlem et al., 1969; Bradley und Watanabe, 1970; Brooke und Williamson, 1969; Manouvrier et al., 1986; Verhies et al., 1976).

Bei den wenigen CNM-Fällen mit *BINI*- oder *RYR1*-Mutation wurden keine Erkrankungen des Herzens berichtet (Böhm et al., 2010; Claeys et al., 2010; Jungbluth et al., 2007; Mejaddam et al., 2009).

Obwohl bei Patienten mit XLMTM neben der Skelettmuskulatur auch häufig andere Organe betroffen sind und Komplikationen wie Pylorusstenose, Sphärozytose, Gallen- und Nierensteine, hepatische Dysfunktionen (Pierson et al., 2005) und Inkontinenz durch Beteiligung der glatten Muskulatur auftreten (Jungbluth et al., 2008), so wird doch eine Beteiligung des Herzens nicht erwähnt.

#### 4.1.15 Beteiligung des respiratorischen Systems

Eine Einschränkung der Lungenfunktion ist bei den schweren neonatalen Fällen einer *DNM2*-CNM in Form eines restriktiven respiratorischen Syndroms sehr häufig. Bei allen Mutationen der PH-Region des *DNM2*-Gens mit Ausnahme der MD-nahen R522H-Mutation wurden respiratorische Dysfunktionen beschrieben (Bitoun et al., 2007, 2009b; Jungbluth et al., 2009a; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Auch einige Fälle mit den häufigen MD-Mutationen E368K, R369W, R369Q und R465W zeigten eine Beteiligung der Lunge (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Pirra et al., 2007; Susman et al., 2010).

Von den 68 in Tabelle 7 aufgeführten Patienten hatten 16 zumindest zeitweilig eine eingeschränkte Lungenfunktion. Bei 14 dieser Patienten war die *DNM2*-CNM früh manifest (neonatal bis Kindheit), die Respirationsstörung entwickelte sich meist schon während der Kindheit (Bitoun et al., 2005, 2007, 2009b; Jeannet et al., 2004; Jungbluth et al., 2009a; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Bei 1 Fall trat jedoch ein restriktives respiratorisches Syndrom erst im frühen und bei 4 Fällen im späten Erwachsenenalter auf (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Ein Patient musste postnatal für einen Tag maschinell beatmet werden, eine nicht-invasive nächtliche Beatmung war bei 4 Patienten notwendig: ein Patient vom 2 bis 4 Lebensjahr, die anderen ab dem 8., 38. bzw. 64. Lebensjahr (Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010).

Die Werte für die funktionelle Vitalkapazität (FVC), insofern diese in der jeweiligen Publikation angegeben waren, waren stets in einem Intervall von 40-70 % angesiedelt. Ein schwerer Fall mit der Mutation L621P jedoch zeigte im 13. Lebensjahr eine stärker verminderte Lungenfunktion mit einer FVC von 14 %, nächtlicher Hypoventilation und rezidivierenden Atemwegsinfekten (Jungbluth et al., 2009a). Rezidivierende respiratorische Infekte werden häufig als Komplikation berichtet (Jungbluth et al., 2009a; Susman et al., 2010).

Eine restriktiv eingeschränkte Lungenfunktion war auch in dieser Studie häufig festzustellen. Bei 6 der 7 Patienten war diese nachzuweisen, nur einer der Patienten ohne Mutation hatte normale Werte. Der FVC-Wert bewegte sich bei den Betroffenen zwischen 55 % und 70 %, ein Fall hatte eine stärkere respiratorische Dysfunktion mit einer FVC von 34 %. Ein Patient zeigte eine diaphragmale Schwäche mit einem Abfall der VC vom Sitzen zum Liegen um 26%.

Auch bei Patienten mit *RYRI*-CNM ist Beteiligung der Lunge bekannt. In einer Studie von Wilmshurst et al. hatten 12 von 17 Patienten mit *RYRI*-CNM (Alter 2 - 23 Jahre; Durchschnitt 9 Jahre) eine Beteiligung der Lunge: 9 hatten rezidivierende Infektionen des Respirationstraktes, 3 mussten postnatal beatmet werden (Wilmshurst et al., 2010). Ein weiterer Fall mit *RYRI*-CNM leidete ebenfalls an wiederkehrenden Infektionen der Atemwege und wurde nächtlich nicht-invasiv beatmet (Jungbluth et al., 2007).

Patienten mit einer AR-CNM zeigen allgemein keine schwere respiratorische Einschränkung, bei den zu dieser Gruppe gehörigen wenigen bisher beschriebenen *BINI*-Fällen war jedoch häufig eine nächtliche respiratorische Unterstützung notwendig (Böhm et al., 2010; Jungbluth et al., 2008; Mejaddam et al., 2009; Nicot et al., 2007). Ein Fall mit *BINI*-CNM verstarb kurz nach der Geburt an respiratorischem Versagen bei bestehender Lungenhypoplasie (Nicot et al., 2007). Bei der Myotubulären Myopathie gehört eine respiratorische Störung zu den Hauptproblemen der Erkrankung, das Überleben hängt hierbei meist von einer effizienten invasiven Beatmung ab (Jungbluth et al., 2008).

#### 4.1.16 Seltene Befunde bei *DNM2*-CNM-Patienten

Bei einer Patientin mit neonataler *DNM2*-CNM mit der Mutation L621P in der PH-Region des *DNM2*-Gens und schwerem Verlauf der Erkrankung konnte im 9. Lebensjahr eine bilaterale lamelläre Katarakt festgestellt werden (Jungbluth et al., 2009a). Eine kongenitale Katarakt ist auch bei der neuropathischen Form einer *DNM2*-Mutation in der PH-Domäne beschrieben worden, ein Zusammenhang zwischen *DNM2*-Mutationen und Katarakt wird als möglich erachtet (Bitoun et al., 2008). Weitere CNM-Fälle mit Katarakt, jedoch ohne genetischen Befund, sind publiziert worden (Hawkes und Absolon, 1975; Hulsmann et al., 1981; Vallat et al., 1985). Die oben genannte Patientin mit der L621P-Mutation hatte ausserdem neben zahlreichen Kontrakturen eine Hyperlaxizität der Ellenbogengelenke, ein weiterer Fall mit Gelenkshyperlaxizität wird bei einem neonatalen Fall mit der Mutation S619L beschrieben (Jungbluth et al., 2009; Susman et al., 2010).

Bei 2 Patienten mit *DNM2*-CNM und den Mutationen A618T bzw. S619L wurde ein bilateraler Kryptorchidismus gefunden, bei einem weiteren Fall mit *DNM2*-CNM und der Mutation P627H zeigten sich Zwerchfelldefekte in Form einer Eventration (Susman et al., 2010). Ein Patient mit der Mutation R465W hatte eine rechtsseitige Zwerchfellparese (Jeub et al., 2008). Kryptorchidismus wird bei Patienten mit XLMTM häufig gefunden. So hatten in 2 publizierten Studien 57 % bzw. 58 % der männlichen XLMTM-Fälle nicht-deszendierte Hoden (Herman et al., 1999; McEntagart et al., 2002).

Bei einem Patienten mit *DNM2*-CNM (Mutation R369W) wurde eine seit 3 Jahren bestehende Neutropenie beschrieben (Liewluck et al., 2010). Als einzige weitere Myopathie mit einer Neutropenie gilt das Barth-Syndrom (Schlame et al., 2006; Liewluck et al., 2010). Eine Neutropenie fand sich auch bei Patienten mit CMT2-Neuropathie und Mutationen im *DNM2*-Gen (Züchner et al., 2005; Bitoun et al., 2008; Claeys et al., 2009).

Eine Patientin mit der *DNM2*-Mutation E368K hatte zusätzlich eine Mutation im *hJUMPY*-Gen, welches eine PPI $\alpha$ -Phosphatase kodiert, die in vitro und ex vivo die gleichen Substrate wie Myotubularin phosphoryliert (Tosch et al., 2006). Bei einem weiteren CNM-Patient konnte

ebenfalls eine *hJUMPY*-Mutation nachgewiesen werden, eine Mutation im *DNM2*- und *MTM1*-Gen wurde jedoch nicht gefunden (Tosch et al., 2006). Bei beiden Patienten zeigte sich ein Abfall der *hJUMPY*-Enzymaktivität, was an eine mögliche Beteiligung des Enzyms an der Pathogenese der autosomalen CNM denken lässt (Tosch et al., 2006).

## 4.2 Diskussion des histologischen Teils

### 4.2.1 Die Bedeutung der Unterscheidung von zentralen und dezentralen binnenständigen Kernen

Laut Jungbluth et al. kann man Patienten mit CNM in 2 Gruppen unterteilen (die klassische XLMTM wird hierbei vom Autor nicht dazu gezählt): Patienten, bei denen eine *DNM2*-Mutation nachgewiesen werden konnte, und solche, bei denen dies nicht der Fall war (Jungbluth et al., 2009b). Der Anteil beider Gruppen liegt jeweils bei 50% (Jungbluth et al., 2009b; Romero, 2010). Für die *DNM2*-Gruppe ist in der Muskelbiopsie die histopathologische Trias, bestehend aus einer signifikanten Zentralisierung der Zellkerne, dem radiären Speichenmuster und einer Prädominanz der Typ-1-Fasern, ein typisches Merkmal (Jungbluth et al., 2009b). Die andere Gruppe ohne *DNM2*-Mutation kann, basierend auf die Muskelbiopsie, in 5 Subgruppen unterteilt werden (Jungbluth et al., 2009b; Romero, 2010):

1. CNM mit Necklace-Fasern (engl. *necklace*: Halskette). Hier finden sich unter dem Sarkolemm ringförmig angeordnete Ablagerungen mit integrierten, kettenförmig aufgereihten Kernen. Patienten dieser Subgruppe wiesen Mutationen im *MTM1*-Gen auf, es zeigte sich jedoch ein milderer Verlauf mit späterer Manifestation als die klassische Myotubuläre Myopathie. Der Anteil der Fasern mit dezentralen Kernen war höher als der mit zentralen Kernen. Es konnte weiterhin eine Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Fasern gefunden werden. Der Anteil der Necklace-Fasern sowie der anderen histopathologischen Merkmale scheint mit dem Alter zuzunehmen.
2. Kongenitale Myopathie mit prominenter Kerninternalisierung und weite Areale mit myofibrillärer Desorganisation. Diese Areale sind als helle Zonen mit Mangel an ATPase-Aktivität zu sehen, erscheinen jedoch erst in späteren wiederholten Biopsien. Hier findet sich ebenso wie bei der 1. Subgruppe ein höherer Anteil an Fasern mit dezentralen Kernen im Gegensatz zu denen mit zentralen Kernen. Eine Prädominanz (eventuell auch Uniformität) und Hypotrophie der Typ-1-Fasern wird ebenso gesehen. Bei der Hälfte der Patienten dieser Subgruppe konnte eine rezessive Mutation im *RYR1*-Gen nachgewiesen werden. Klinisch zeigt sich frühe Manifestation mit deutlich axialer Schwäche sowie proximaler Gliederschwäche, Kontrakturen und häufigen Ophthalmoplegien.
3. CNM mit sarkomerischer zentraler Desorganisation und kranzartigem (engl. *rimmed*)

Subsarkolemm. Die Muskelfasern haben fasrige, unscharfe Areale im Sarkoplasma und einen subsarkolemmalen Kranz mit Streifen zum Zentrum hin. Es zeigt sich eine vermehrte nukleäre Internalsierung mit z.T. multiplen Kernen, sowie eine Prädominanz/Uniformität und Hypotrophie der Typ-1-Fasern. Klinisch stellt sich eine milde kongenitale Myopathie mit früher Manifestation dar.

4. CNM mit core-targetoiden Fasern. Diese sehr kleine Gruppe zeigt zentrale schießscheibenförmige Läsionen.

5. CNM ohne zusätzliche morphologische Abnormalitäten. Hier finden sich als einzige histologische Abnormalität nur Fasern mit zentralen und dezentralen Kernen. Diese Gruppe stellt ca. 20% der CNM-Fälle.

Bei den Subgruppen 3 bis 4 konnten bisher keine Mutationen gefunden werden. Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten konnte für die *BINI*-CNM noch kein morphologisches Muster definiert werden (Jungbluth et al., 2009b).

Einer Differenzierung zwischen zentralen und dezentralen binnenständigen Kernen scheint eine größere Bedeutung zuzukommen, um vor allem bei unklaren Fällen die richtige molekulargenetische Untersuchung einzuleiten (Romero, 2010). Die Subgruppen 1 und 2 (assoziiert mit *MTM1* und *RYR1*) zeigen einen höheren Anteil an dezentralen als zentralen Kernen, während es sich bei *DNM2*- und *BINI*-CNM gegenteilig verhält (Romero, 2010).

In dieser Studie war der Anteil der Fasern mit zentralen Kernen an allen Fasern mit binnenständigen Kernen bei den Patienten mit nachgewiesener *DNM2*-Mutation stets über 90% und somit übermäßig höher als der Anteil an Fasern mit dezentralen binnenständigen Kernen (Tabelle 3). Dies entspricht der Beobachtung von Romero, 2010. Bei den anderen beiden Patienten war jedoch der Anteil der zentralen Kerne ebenfalls höher, wenn auch nur geringfügig (62 bzw. 63% der Fasern mit binnenständigen Kernen). Eine Mutation im *DNM2*- und *BINI*-Gen wurde jedoch nicht gefunden. Bei beiden Patienten war aber der absolute Anteil an Fasern mit zentralen Kernen sehr viel niedriger als der der Patienten mit Mutation (Tabelle 3).

Die Anzahl der Fasern mit zentralen Kernen bei *DNM2*-CNM-Patienten ist sehr variabel und reicht von 3% bei einem neonatalen Fall bis zu nahezu 100% bei einem adulten Fall mit Biopsie im 50. Lebensjahr (Bitoun et al., 2007; Jeub et al., 2008). Weitere Fälle mit *DNM2*-CNM und einem Anteil an Fasern mit zentralen Kernen über 90% sowie unter 5% am Gesamtpräparat wurden beschrieben (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004; Liewluck et al., 2010; Pirra et al., 2007). Der Anteil zentraler Kerne ist auch innerhalb einer Familie sehr variabel und es scheint auch keine Korrelation zum Alter bei der Biopsie zu geben (Jeannet et al., 2004). So hatte ein Patient mit neonataler *DNM2*-CNM schon mit 7 Monaten 20% Fasern mit zentralen Kernen (Susman et al., 2010). In dieser Studie hatte P4a in einem Alter von 15 Jahren bei der Biopsie mit 59% mehr Fasern mit zentralen Kernen, als der älteste Patient P3 mit 52% in einem Alter

von 58 Jahren (siehe Tabellen 2 und 3).

Bei der *DNM2*-CNM liegen die zentralen Kerne im Längsschnitt eng beieinander (vgl. Abb. 5B und 5F), sodass im Querschnitt viele zentrale Kerne angeschnitten werden.

Bei der XLMTM liegen die zentralen Kerne jedoch in regulären Abständen zueinander, weshalb die Schnittebene die Anzahl zentraler Kerne beeinflusst, die letztendlich im transversalen Anschnitt zu sehen sind (Dubowitz und Sewry, 2007). Der Anteil an Fasern mit zentralen Kernen variiert bei XLMTM sehr stark und kann zwischen 2% und 60% liegen oder auch bei Geburt gänzlich fehlen (Dubowitz und Sewry, 2007; Pierson et al., 2005). Die zentralen Kerne sind bei XLMTM relativ groß, so dass die kleinen, meist abgerundeten Muskelfasern den fetalen Myotuben ähneln (Engel und Franzini-Armstrong, 1997).

#### 4.2.2 Die *DNM2*-typischen Trias

Die typische histopathologische Triade aus zentralen Kernen, radiärem Speichenmuster und Typ-1-Prädominanz findet sich fast ausschließlich bei *DNM2*-CNM und selten bei *BINI*-CNM (Jungbluth et al., 2009b). Diese Trias kann jedoch bei jüngeren *DNM2*-CNM-Patienten unterhalb des 5. Lebensjahres fehlen (Bitoun et al., 2007). Häufig fehlt in Muskelbiopsien von Neugeborenen oder Kleinkindern mit *DNM2*-CNM das radiäre Speichenmuster, so dass es sich um ein altersabhängiges Merkmal handeln könnte (Bitoun et al., 2007; Jungbluth et al., 2009b, 2009a; Susman et al., 2010).

Diese Triade scheint aber nicht nur bei CNM mit *DNM2*- oder *BINI*-Mutation zu finden sein. In einer Studie, welche vor der Erstbeschreibung von *DNM2*-Mutationen als CNM-Ursache publiziert wurde, wurden 23 Biopsien von 13 Patienten aus 3 AD-CNM-Familien und von 10 Patienten mit sporadischem Auftreten oder aus AR-CNM-Familien untersucht (Jeannet et al., 2004). Es zeigte sich, dass bei der AR- und sporadischen CNM-Gruppe die klassischen CNM-Abnormalitäten, inklusive des radiären Speichenmusters (insgesamt gesehen bei 19 der 23 Biopsien), häufiger zu sehen ist als in der AD-CNM-Gruppe. Bei den 3 AD-CNM-Familien sowie mindestens einem der sporadischen Fällen konnten später *DNM2*-Mutationen als Ursache nachgewiesen werden (Bitoun et al., 2005). Ob die übrigen Patienten genetisch untersucht wurden konnte nicht eruiert werden, jedoch wäre ein autosomal-rezessiver Erbgang mit einer *BINI*-Mutation vereinbar. Bei der *BINI*-assoziierten AR-CNM können radiäre Speichenmuster ebenfalls gesehen werden, gelten hier jedoch als sehr selten (Claeys et al., 2010; Romero, 2010). Es könnten eventuell bei den sporadischen Fällen der oben genannten Studie *DNM2*- und bei den AR-CNM-Fällen *BINI*-Mutationen vorliegen (womit das radiäre Speichenmuster bei *BINI*-Mutationen häufiger wäre als angenommen), oder aber es gibt noch andere Gene, deren Mutation eine CNM mit radiärem Speichenmuster hervorruft. So verhielt es sich in dieser

Studie: die beiden Patienten, bei denen keine *DNM2*-, *BINI*- und *MTM1*-Mutation nachgewiesen werden konnte (P5, P6) hatten zahlreiche Fasern mit radiärem Speichenmuster. Bei beiden war jedoch die komplette *DNM2*-typische Trias nicht vorhanden: beide hatten keine Typ-1-Prädominanz.

Die Prädominanz der Typ-1-Fasern ist charakteristisch für die CNM, ebenso die Hypotrophie dieser Fasern, wobei der deutliche Kontrast der Durchmesser von Typ-1- und Typ-2-Fasern für CNM mit *DNM2*-Mutation am ehesten typisch ist (Romero, 2010). Bei *BINI*-CNM ist der Faserdurchmesser eher uniform, was als wichtiges differentialdiagnostisches Merkmal gewertet wird (Romero, 2010). Die Typ-1-Faser-Prädominanz bei *DNM2*-CNM kann sehr ausgeprägt sein: so zeigte ein Patient mit intermediärer *DNM2*-CNM in der Muskelbiopsie 98% Typ-1-Fasern (Bitoun et al, 2009). Sie kann aber auch fehlen, wie bei einem 5-jährigen Patienten, der weder eine Typ-1-Prädominanz noch radiäre Speichenmuster im Präparat zeigte (Susman et al., 2010). In der oben erwähnten Studie von Jeannet et al. war bei 22 der 23 Biopsien eine Typ-1-Prädominanz zu finden, nur ein Patient aus einer der AD-Familie mit der später entdeckten *DNM2*-Mutation zeigte eine Prädominanz der Typ-2-Fasern (Bitoun et al., 2005; Jeannet et al., 2004). Bei 20 Biopsien war eine Typ-1-Hypotrophie vorhanden, der durchschnittliche Durchmesser der Typ-1-Fasern betrug bei den 13 Patienten der AD-Familien 32  $\mu\text{m}$  ( $\pm 10,8$ ) und bei den anderen 10 Patienten 37  $\mu\text{m}$  ( $\pm 16,8$ ) (Jeannet et al., 2004). Eine Typ-1-Prädominanz lag auch bei 3 der 5 Patienten mit *DNM2*-Mutation in dieser Studie vor (von den anderen beiden waren keine Präparate vorhanden), während bei den Patienten ohne Mutation der Anteil beider Fasertypen nahezu gleich war (P5) bzw. eine Typ-2-Prädominanz vorlag (P6; siehe Tabellen 2 und 3). Eine mäßig bis starke Typ-1-Hypotrophie lag bei allen Präparaten vor. Ebenso war aber auch eine leicht bis mäßige Hypotrophie der Typ-2-Fasern vorhanden. Letzteres war bei einem Patienten ohne Mutation (P5) sogar sehr stark ausgeprägt, der durchschnittliche Durchmesser der Typ-2-Fasern lag sogar unter dem der Typ-1-Fasern (siehe Tabelle 3). Der laut Romero für *DNM2*-CNM typische deutliche Kontrast der Durchmesser von Typ-1- und Typ-2-Fasern (Romero, 2010) war bei P6 am stärksten ausgefallen (siehe Tabelle 3), aber eine *DNM2*-Mutation wurde hier nicht gefunden. Eine Hypotrophie und gleichzeitige Hypertrophie beider Fasertypen bei *DNM2*-CNM ist beschrieben worden (Melberg et al., 2009) und auch in einer Biopsie der *DNM2*-CNM-Patienten dieser Studie lag eine mäßige Hyper- und Hypotrophie der Typ-2-Fasern vor.

Bei der klassischen XLMTM findet sich üblicherweise eine Prädominanz der meist hypotrophen Typ-1-Fasern (Pierson et al., 2005). Größere Fasern, ebenfalls meist vom Typ 1 verteilen sich unter die anderen kleinen Fasern (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Es soll auch eine Korrelation der Prognose mit dem Kaliber der Muskelfasern bestehen: Patienten mit größeren

Fasern sollen ein besseres outcome haben als solche mit kleinkalibrigen Fasern (Pierson et al., 2007).

#### **4.2.3 Weitere häufige histopathologische CNM-Merkmale**

Im Raum zwischen den zentralen Kernen und zum Teil auch perinucleär sammeln sich meist Mitochondrien, rauhe endoplasmatische Reticuli, Golgi-Komplexe, Lipofuscin und Glykogen-Partikel (Engel und Franzini-Armstrong, 1994). Dies stellt sich häufig als zentrale Aktivitätssteigerung oder perinukleärer Halo in der entsprechenden Färbung dar und ist bei den centronucleären und myotubulären Myopathien häufig zu sehen (Dubowitz und Sewry 2007; Engel und Franzini-Armstrong, 1994; Jungbluth et al., 2008, 2009a; Melberg et al., 2009; Romero, 2010). So konnten auch in dieser Studie bei 5 Patienten perinukleäre enzymreiche Halos und zentrale Aktivitätssteigerung in der NADH-Färbung gesehen werden, bei den anderen beiden wurde diese Färbung nicht durchgeführt (siehe Tabelle 2 und Abb. 4). Bei 2 der 4 biopsierten Patienten mit *DNM2*-Mutation sowie den beiden Patienten ohne Mutation konnte außerdem in der PAS-Färbung eine pathologische, zentral akkumulierte Glykogenspeicherung nachgewiesen werden, welche sich zum Teil sternförmig um den zentralen Kern anordnet (siehe Tabelle 2 und Abb 6). Dies ist auch bei der XLMTM häufig zu beobachten (Dubowitz und Sewry, 2007).

Die Intensität der oxidativen Färbung kann aber auch zentral vermindert sein (Dubowitz und Sewry 2007). Dies war in dieser Studie bei 3 Patienten, davon einer mit Mutation, in einigen Fasern zu sehen (siehe Tabelle 2 und Abb 4).

#### **4.2.4 Elektronenmikroskopische Merkmale bei *DNM2*-CNM**

Elektronenmikroskopisch erscheinen die zentralen Kernen normal strukturiert, im internukleären Raum sowie zwischen den Myofibrillen finden sich Mitochondrien, Golgi-Komplexe, sarkoplasmatische Reticuli und Glykogenpartikel (Romero, 2010). Der aderförmige intermyofibrilläre sarkoplasmatische Raum ordnet sich radiär von der Peripherie zum Zentrum an, wobei der Durchmesser der Myofibrillen zum Zentrum hin abnimmt (Fardeau, 1982; Fischer et al., 2006; Romero, 2010). Ähnliche Befunde finden sich auch bei *BINI*-CNM (Romero, 2010).

In dieser Studie sind bei 3 Patienten mit *DNM2*-Mutation sowie bei einem ohne Mutation Untersuchungen am Elektronenmikroskop durchgeführt worden. Neben den oben erwähnten Veränderungen fanden sich auch Vacuolen und Z-Bandenstörungen (siehe Tabelle 2). Auch bei mehreren genetisch unklaren CNM-Fällen wird von leeren oder autophagischen Vacuolen und myofibrillärer Desorganisation mit Z-Bandenstörung berichtet (Engel und Franzini-Armstrong,

1994; Romero, 2010).

Bei einem Fall mit *DNM2*-CNM konnten schießscheibenartige Fasern sowie Zeichen neurogener Atrophie in Form von Schwanzzellabnormalitäten und Schwund nichtmyelinisierter Nervenfasern gesehen werden (Jeub et al., 2008).

#### **4.2.5 Seltene histopathologische Befunde bei *DNM2*-CNM**

In einigen Präparaten von *DNM2*-CNM-Patienten wurden Zeichen gesehen, die eher für mitochondriale Muskelerkrankungen und andere Erkrankungen mit Störungen der Mitochondrien typisch sind. So wurden Patienten mit der Mutation R465W beschrieben, die einen geringen Anteil an Ragged-Red-Fasern in der COX-Färbung sowie zum Teil COX-negative Fasern zeigten (Pirra et al., 2007; Zanuteli et al., 2009). Jüngere Verwandte, ebenso von *DNM2*-CNM betroffen, zeigten jedoch nicht diese Merkmale, so dass die mitochondriale Dysfunktion bei *DNM2*-Mutation möglicherweise vom Alter des Patienten abhängt (Zanuteli et al., 2009). Ragged-Red-Fasern können aber auch zu einem geringen Anteil in Biopsien von gesunden älteren Menschen gesehen werden (Pirra et al., 2007). Weitere CNM-Fälle mit Ragged-Red-Fasern, aber ohne molekulargenetische Untersuchung sind beschrieben worden (Naumann et al., 1995).

In einem Fall mit *DNM2*-CNM und der Mutation R369W wurden im Präparat Fasern gesehen, die ähnliche Veränderungen zeigten wie die Necklace-Fasern bei der spätmanifesten Form der Myotubulären Myopathie (siehe 4.2.1). Deshalb wurde der Patient auch zuerst auf Mutationen im *MTM1*-Gen gescreent (Liewluck et al., 2010). Es gab jedoch einige Unterschiede zu den Necklace-Fasern der Myotubulären Myopathie: die Kerne dieser Fasern befanden sich im Zentrum und waren nicht perlenkettenartig aufgereiht und die Fasern mit dieser Struktur waren nicht kleiner im Durchmesser als die übrigen Fasern (Liewluck et al., 2010).

Bei einem Patienten mit *DNM2*-CNM und der Mutation R465W wurden im Muskelpräparat Läsionen gesehen, die den Cores in der *RYR1*-assoziierten Central-Core-Disease (CCD) ähneln (Schessl et al., 2007). Im Elektronenmikroskop stellten sich die Core-ähnlichen Läsionen als Zonen myofibrillärer Desorganisation dar (Schessl et al., 2007). Auch bei *RYR1*-CNM werden Cores häufig beschrieben (Wilmshurst et al., 2010). In dieser Studie konnten bei P6 Core-ähnliche Strukturanomalitäten gesehen werden (siehe Abb. 4 G), aber weder eine *RYR1*- noch eine *DNM2*-Mutation konnten hier gefunden werden.

Regenerationsfasern werden bei der centronukleären Myopathie in der Regel nicht beobachtet (Engel und Franzini-Armstrong, 1994), waren in dieser Studie aber bei 2 der Patienten mit Mutation zu finden.

Nekrotische Fasern werden häufiger in Dystrophien und metabolischen Myopathien, aber selten in kongenitalen Myopathien gesehen (Dubowitz und Sewry 2007). In dieser Studie waren bei 2

der Patienten mit *DNM2*-Mutation nekrotische Fasern nachzuweisen (Tabelle 2). Weitere CNM-Fälle mit Fasernekrosen sind beschrieben worden (Zanoteli et al., 1998).

#### **4.2.6 Histologische Differentialdiagnose Muskuläre Dystrophie**

Allgemein sind die typischen CNM-Merkmale bei jüngeren Patienten oft nicht zu finden und die Pathologie in der Biopsie erscheint eher als milder bis moderater dystrophischer Prozess mit leicht erhöhter Anzahl binnenständiger Kerne, Kalibervarianz, endomysialer Fibrose und Vermehrung des Fett- und Bindegewebes (Susman et al., 2010). So wurde bei einem Patienten im 3. Lebensjahr aufgrund der Histologie eine kongenitale Dystrophie diagnostiziert. Erst im 12. Lebensjahr zeigten sich bei einer Wiederholungsbiopsie keine dystrophischen Veränderungen mehr, es wurde die Diagnose einer CNM gestellt und eine *DNM2*-Mutation konnte nachgewiesen werden (Susman et al., 2010). Bei einem weiteren Patienten mit *DNM2*-CNM wurden in 3 Biopsien (im 1., 6. und 10. Lebensjahr) stets Merkmale einer muskulären Dystrophie gesehen, Fasern mit zentralen Kernen wurden als Regenerationsfasern interpretiert (Susman et al., 2010). Das *DNM2*-Gen sollte deshalb als mögliche Ursache bei Patienten mit undeterminierter muskulärer Dystrophie in Erwägung gezogen werden (Susman et al., 2010).

Eine Vermehrung des Fett- und Bindegewebes wird bei *DNM2*-CNM häufig beschrieben und reicht von einem milden bis zu einem starken Ausprägungsgrad (Bitoun et al., 2007; Jeub et al., Jungbluth et al., 2009a; 2008; Liewluck et al., 2010; Melberg et al., 2009; Susman et al., 2010). Ein Zusammenhang zwischen dem Ausprägungsgrad der Vermehrung des Fett- und Bindegewebes und der Schwere sowie des Verlaufs der Erkrankung wird angenommen (Bitoun et al., 2007; Romero, 2010). Eine leichte bis mäßige Bindegewebsvermehrung war in dieser Studie bei 5 der 6 biopsierten Patienten zu sehen, eine Vermehrung des Fettgewebes bei 3 dieser Patienten (Tabelle 2). Bei P1 (mit Mutation) und P5 (ohne Mutation) war letzteres stark ausgeprägt, eine Korrelation zur Schwere der Erkrankung war jedoch nicht zu beobachten.

Bei CNM mit *BINI*-Mutation ist die Fett- und Bindegewebsvermehrung konsistent (Romero, 2010), auch bei CNM-Fällen mit *RYR1*-Mutation kann dies häufig gesehen werden und reicht hier bis zu einem massiven Ausprägungsgrad (Wilmshurst et al., 2010).

Bei der XLMTM ist selten eine Fibrose zu beobachten, eine Vermehrung des Fettgewebes wird jedoch nicht gesehen (Jungbluth et al., 2009b).

**Tabelle 7** Übersicht über die wichtigsten klinischen Daten aller bisher beschriebenen CNM-assoziierten DMN2-Mutationen. Die Daten stammen aus 16 Publikationen. Veröffentlichungen, bei denen eine klare individuelle Zuordnung von Symptomen nicht vorlag wurden in dieser Tabelle nicht berücksichtigt. Zahlenangaben sind wie folgt zu interpretieren: die 1. Zahl gibt die Anzahl der Patienten wieder, bei der das jeweils aufgeführte Symptom bzw. Ergebnis vorlag, die 2. Zahl die Gesamtzahl der Patienten, bei denen die jeweilige Untersuchung durchgeführt wurde.

Mutation <i>Domäne</i>	E368Q <i>MD</i>	E368K <i>MD</i>	R369Q <i>MD</i>	R369W <i>MD</i>	R465W <i>MD</i>	R522H <i>PH</i>	E560K <i>PH</i>	A618D <i>PH</i>	A618T <i>PH</i>	S619L <i>PH</i>	S619W <i>PH</i>	L621P <i>PH</i>	V625del <i>PH</i>	P627H <i>PH</i>	E650K <i>GED</i>
Quelle (s.u.)	5	1,7,8,14,15	1,6,7,8	1,6,7,10	1,6,7,8,12, 13,14,16	14	4	11	2,14	2,14	2	9	2	14	3
Patientenzahl Familien	5 1	5 5	10 2	6 4	19 6	6 2	1 1	2 1	2 2	3 3	1 1	1 1	1 1	1 1	5 1
familiär sporadisch	+ -	- +	+ 1/10	+ 2/6	+ -	+ -	- +	+ -	- +	- +	- +	- +	- +	- +	+ -
neonatal infantil Kindesalter adoleszent adult	- - - + -	2/5 1/5 1/5 - 1/5	- 1/10 1/10 4/10 4/10	- - - - +	1/17 1/17 4/17 6/17 5/17	1/6 4/6 1/6 - -	- - + - -	+ - - - -	- - + - -						
Schweregrad	mild	mild + schwer	mild	mild	mild	mild	intermediär	mild	schwer	schwer	schwer	schwer	schwer	schwer	mild
Facies myop.	-	4/5	4/10	1/6	5/19	3/6	+	2/2	2/2	3/3	-	+	-	+	5/5
Ptosis	5/5	4/5	9/10	1/6	13/19	2/6	+	2/2	2/2	3/3	-	+	+	+	5/5
EOM	5/5	3/5	1/10	1/6	6/19	-	+	2/2	2/2	3/3	-	+	+	+	-
bulbär	n	n	n	n	1/19	n	+	n	n	n	n	+	n	+	n
Hypertrophie	-	-	6/10	1/6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Atrophie:</u> oE proximal oE distal uE proximal uE distal paraspinal Kaumuskeln	5/5 - 5/5 - 5/5 - -	- - - - - -	- - - - - -	- - - - - -	8/19 1/6 1/19 - 7/19 - 1/19	3/6 1/6 2/6 1/6 1/6 2/6 -	- - - - - -	1/1 + - - - -	5/5 - - - 5/5 - -						
<u>Betonung</u> <u>Schwäche:</u> proximal distal	5/5 - 5/5	1/5 1/5 1/5	10/10 1/10 9/10	5/6 2/6 2/6	13/19 1/19 12/19	5/6 5/6 -	k.A. k.A.	k.A. k.A.	2/2 - 2/2	3/3 1/3 2/3					

Arm > Bein	-	1/5	7/10	-	-	-	-	k.A.	1/2	1/3					
Bein > Arme	-	-	1/10	5/6	2/19	-	-	k.A.	1/2	2/3					
Schwäche axial	-	1/5	2/10	1/6	2/19	4/6	+	2/2	1/2	1/3	-	-	-	+	5/5
<b>Kontraktur:</b>	5/5	2/5	8/10	3/6	5/19	3/6		1/2	2/2	3/3	1/1	1/1		1/1	
Achillessehne	5/5	1/5	7/10	3/6	4/19	3/6	-	-	2/2	3/3	+	+	-	+	-
Fingerflexoren	-	-	2/10	1/6	3/19	1/6	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Trismus	-	-	1/10	-	1/19	1/6	-	1/2	-	-	-	-	-	-	-
Ellenbogen	-	1/5	1/10	-	-	1/6	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Wirbelsäule	-	-	3/10	-	1/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sonstige	-	-	-	-	Hand	-	-	-	-	-	-	Knie, Hüfte	-	-	-
<b>Dysmorphien:</b>	5/5	1/5	2/10	1/6	4/19	5/6		2/2	2/2	3/3	1/1	1/1		1/1	
Fuß	-	-	1/10	-	3/19	1/6	-	2/2	1/2	-	+	+	-	-	-
hoher Gaumen	-	1/5	-	-	1/19	5/6	-	-	2/2	2/3	-	+	-	+	-
Hyperlordose	5/5	-	2/10	1/6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Scoliose	-	1/5	-	-	-	1/6	-	-	2/2	1/3	-	-	-	+	-
Schädel	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2	1/3	-	-	-	-	-
Kielbrust	-	-	-	-	-	-	-	-	1/2	1/3	-	-	-	-	-
Lunge	n	2/3	1/10	1/5	3/19	n	+	2/2	1/2	1/3	+	+	+	+	n
Herz	n	n	n	n	1/19	n	n	n	1/2	n	n	n	n	n	n
iM	5/5	1/5	1/10	-	2/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5
Hypo-/Areflexie	5/5	3/3	4/4	2/5	17/19	3/6	+	2/2	1/2	2/3	+	+	+	+	3/5
EMG	mp (5/5) np (5/5)	mp (4/4)	mp (8/8) np (3/8)	mp (1/1)	mp (5/5)	mp (3/3)	mp	mp (2/2)	mp (1/1)	mp (3/3)	Ø	n	mp	Ø	n - mp (5/5)
NLG	np (5/5)	n (3/3)	n (9/9)	n (1/1)	n (5/5)	n (1/3) np (2/3)	n	n	n (1/1)	n (3/3)	Ø	n	n	Ø	Ø
EKG	n	n	n	n	n	Ø	n	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Echokard.	n	n	n	n	n	Ø	n	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
CK-Erhöhung	0/5	1/3	5/10	1/6	2/12	2/5	-	Ø	1/2	1/3	-	-	-	-	0/5
Rollstuhl	-	2/5	1/10	-	2/19	1/6	+	1/2	1/2	-	-	+	-	+	-
Sonstiges	<b>Bei Einzelfällen:</b> hJUMPY-Mutation (E368K); Neutropenie (R369W); Zwerchfellparese (R465W); distale Sensibilitätsminderung (R465W); Kryptorchidismus (A618T, S619L); Gelenkshyperlaxizität (S619L, L621P); Katarakt (L621P); Eventration des Zwerchfells (P627H);														

Ø : Untersuchung nicht durchgeführt; CK: Creatin-Kinase; EOM: extraokuläre Muskulatur; k.A.: keine Angaben; iM: intellektuelle Minderbegabung; mp: myopathisch; n: normal; np: neuropathisch; oE: obere Extremität; uE: untere Extremität;

Quelle: Bitoun et al., 2005 (1), 2007 (2), 2009a (3), 2009b (4); Echaniz-Laguna et al. 2007 (5); Fischer et al., 2006 (6); Jeannet et al., 2004 (7); Jeub et al., 2008 (8); Jungbluth et al., 2009a (9); Liwluck, 2010 (10); Melberg et al. 2009 (11); Pirra et al., 2007 (12); Schessl et al., 2007 (13); Susman et al., 2010 (14); Tosch et al., 2006 (15); Zanoteli et al., 2009 (16);

**Tabelle 8** Übersicht über histologische Daten aller bisher beschriebenen CNM-assoziierten DMN2-Mutationen (für Mutation E650K keine histologischen Daten verfügbar). Quellen: siehe Tabelle 7.

Mutation	E368Q	E368K	R369Q	R369W	R465W	R522H	E560K	A618D	A618T	S619L	S619W	L621P	V625del	P627H*
zentrale Kerne	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3 %	+
Typ-1-Prädominanz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	k.A.	+	k.A.
Typ-1-Hypotrophie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	k.A.
Radspeichenmuster	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	-	(+)	-
Fettgewebsinfiltration	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Bindegewebsinfiltration	-	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+	+	-	+	-	+
necklace fibres	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ragged red fibres	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cores	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elektronenmikroskop	Zeichen neurogener Atrophie bei einem adulten Patienten mit der Mutation E368K: Schwanzzellabnormalitäten und Schwund nichtmyelinisierter Nervenfasern (Jeub et al., 2008)													

k.A.: keine Angaben

\* Bei diesem Patienten (bisher nur ein CNM-Fall mit dieser Mutation bekannt) wurden 3 Biopsien in mehreren Jahren Abstand angefertigt. Diese hatten stets Merkmale einer muskulären Dystrophie (Susman et al. 2010).

## 5. Zusammenfassung

Die zentronukleäre Myopathie (CNM) ist eine seltene kongenitale Muskelerkrankung, welche myohistologisch durch zahlreiche zentrale Kerne sowie Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Muskelfasern gekennzeichnet ist. Bei der autosomal-dominant vererbten Form der CNM können in ca. 50% der Fälle Mutationen im *Dynammin-2*-Gen (*DNM2*) gefunden werden. Für diese *DNM2*-CNM ist zusätzlich zu den oben genannten histopathologischen CNM-Merkmalen ein radiär um das Zentrum der Muskelfaser angeordnetes sarkoplasmatisches Speichenmuster typisch. Manifestationsbeginn der *DNM2*-CNM liegt überwiegend im Erwachsenenalter mit mildem bis moderatem Verlauf. Vor allem bei den sporadischen Fällen kann die Erkrankung jedoch schon neonatal und mit schwererem Ausprägungsgrad auftreten.

Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung ist eine Unterscheidung zu anderen CNM-Formen schwierig, sowohl auf klinischer als auch auf histologischer Ebene. In dieser Arbeit wurde versucht, Patienten mit *DNM2*-CNM phänotypisch zu charakterisieren, den Phänotyp nach neuen Aspekten zu untersuchen und Genotyp-Phänotyp-Korrelationen sowie Unterschiede zu anderen CNM-Formen herauszuarbeiten. Speziell das Verhältnis von Fasern mit zentralen Kernen zu Fasern mit dezentralen Kernen wurde untersucht. Bis vor kurzem ist dies in der Diagnostik der CNM nicht beachtet worden, erst Romero hat 2010 in einer Arbeit die mögliche Bedeutung der Unterscheidung zwischen zentralen und dezentralen Kernen hervorgehoben. Eine weitere Arbeit ist hierüber bisher noch nicht veröffentlicht worden.

Hierzu wurden 1.582 konsekutive Muskelbiopsien von adulten Patienten (Alter  $\geq 18$  Jahre) auf morphologisch charakteristische Zeichen einer CNM untersucht. Patienten mit der histologischen Diagnose einer CNM wurden auf Mutationen in *DNM2* gescreent. Die Ergebnisse aus der klinischen und paraklinischen Untersuchung dieser Patienten (Elektromyo-, Elektroneuro-, Elektrokardio- und Echokardiographie, Lungenfunktionsprüfung, Muskel-MRT) wurden analysiert. 6 Patienten (0,38%) hatten histopathologische Zeichen einer CNM. 3 dieser Patienten wiesen die heterozygote *DNM2*-Mutation p.R465W auf. Ein weiterer Patient sowie dessen nachträglich in die Studie eingegliederte Schwester hatten die heterozygote *DNM2*-Mutation p.E368K. Bei den übrigen 2 Patienten konnte weder eine Mutation in *DNM2* noch in den ebenfalls mit CNM assoziierten Genen *BINI*, *MTM1* und *RYR1* gefunden werden. Manifestationsbeginn war bei allen Patienten noch vor dem Erwachsenenalter, bei 3/5 der Patienten mit Mutation sogar neonatal. Klinisch zeigten sich eine bilaterale Ptosis (n=3), eine externe Ophthalmoparese (n=2), eine axonale Neuropathie (n=4), eine restriktive Respirationsstörung (n=5) und Kontrakturen (n=5), z.T. mit Beteiligung der Kaumuskulatur (n=2) und einem Torticollis (n=1). Bei 2 Patienten mit *DNM2*-Mutation konnte im Muskel-MRT der Oberschenkel das für *DNM2*-CNM typische Befallsmuster nachgewiesen werden.

Erstmals wird hier über einen Fall mit einem Torticollis in Verbindung mit *DNM2*-CNM

berichtet. Zudem konnten bei 2 der Patienten mit *DNM2*-Mutation sowie bei einem CNM-Patienten ohne Mutation Kontrakturen der Kiefergelenke mit limitierter Kieferöffnung (Trismus) beobachtet werden, was bei CNM bisher nur in wenigen Fällen beschrieben wurde. Der Phänotyp einer *DNM2*-CNM scheint breiter zu sein als bisher vermutet.

Klinisch waren die Patienten mit und ohne *DNM2*-Mutation nicht zu unterscheiden. Aber sowohl der absolute Anteil der Muskelfasern mit zentralen Kernen am Gesamtpräparat (53% vs 18%), als auch deren Anteil an Muskelfasern mit binnenständigen Kernen war bei den Patienten mit *DNM2*-CNM höher als bei den Patienten ohne Mutation (93% vs. 63%). Zusätzlich zu dem für *DNM2*-CNM als typisch geltendes radiales Speichenmuster könnte der Anteil der Fasern mit zentralen Kernen an den Fasern mit binnenständigen Kernen helfen, die *DNM2*-CNM von anderen Formen der CNM zu differenzieren. Ausserdem scheinen auch andere Gene außer den bisher bekannten den klinischen und histopathologischen Phänotyp einer CNM zu verursachen. Vor allem das radiäre sarkoplasmatische Speichenmuster, welches fast ausschließlich bei CNM mit *DNM2*-Mutationen und in seltenen Fällen bei *BINI*-CNM beobachtet wird, war bei den beiden Patienten ohne *DNM2*- und *BINI*-Mutation zahlreich vorhanden, so dass auch andere Gene dieses Merkmal zu verursachen scheinen.

## Literaturverzeichnis

- Aidaraliev NJ, Kamino K, Kimura R, et al. (2008): Dynamin 2 gene is a novel susceptibility gene for late-onset Alzheimer disease in non-APOE-epsilon4 carriers. *J Hum Genet* 53:296-302
- Al-Ruwaishid A, Vajsar J, Tein I, et al. (2003): Centronuclear myopathy and cardiomyopathy requiring heart transplant. *Brain Dev* 25(1):62-66.
- Banker BQ (1967). Discussion of the presentation by Sher JH, Rimalovski AB, Athanassiades TJ, Aronson SM. Familial myotubular myopathy, a clinical, pathological, histochemical and ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 26:133
- Bethlem J, van Wijngaarden GK (1976): Benign myopathy, with autosomal dominant inheritance: a report on three pedigrees. *Brain* 99:91-100.
- Bethlem J, Van Wijngaarden GK, Meijer AEFH und Hülsmann WC (1969): Neuromuscular disease with type I fiber atrophy, central nuclei and myotube-like structures. *Neurology (Minneapolis)* 19:705
- Biancalana V, Caron O, Gallati S, Baas F, Kress W, Novelli G, et al. (2003): Characterization of mutations in 77 patients with X-linked myotubular myopathy, including a family with a very mild phenotype. *Hum Genet* 112:135-142
- Bill P, Cole G, Proctor NSF, et al. (1979): Crural hypertrophy associated with centronuclear myopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 42:542-547.
- Bischoff C, Dengler R, Hopf HC (2003). *EMG NLG*. Thieme, Stuttgart New York
- Bitoun M, Maugendre S, Jeannet P-Y, et al. (2005): Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy. *Nat Genet* 2005;37:1207-1209.
- Bitoun M, Bevilacqua JA, Eymard B, et al. (2009b): A new centronuclear myopathy phenotype due to a novel dynamin 2 mutation. *Neurology* 2009;72:93-95.
- Bitoun M, Bevilacqua JA, Prudhon B, et al. (2007): Dynamin 2 mutations cause sporadic centronuclear myopathy with neonatal onset. *Ann Neurol* 2007;62:666-670.
- Bitoun M, Durieux AC, Prudhon B, et al (2009a): Dynamin 2 mutations associated with human diseases impair clathrin-mediated receptor endocytosis. *Hum Mutat* 30:1419-1427
- Bitoun M, Stojkovic T, Prudhon B, et al. (2008): A novel mutation in the dynamin 2 gene in a Charcot-Marie-Tooth type 2 patient: Clinical and pathological findings. *Neuromuscul Disord* 18:334-338
- Böhm J, Yis U, Ortac R, Cakmakci H, Hiz Kurul S, Dirik E, Laporte J. (2010): Case report of intrafamilial variability in autosomal recessive centronuclear myopathy associated to a novel BIN1 stop mutation. *Orphanet J Rare Dis* 5:35
- Bolton PS (1985). Torticollis: a review of etiology, pathology, diagnosis and treatment. *J Manipulative Physiol Ther* 8:29-32.
- Bradley WG, Price DL und Watanabe CK (1970): Familial centronuclear myopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 33:687

- Bredenkamp JK, Hoover LA, Berke GS, Shaw A (1990): Congenital muscular torticollis. A spectrum of disease. *Arch Otolaryngol Head. Neck Surg* 116(2):212-216.
- Brewis RAL, Corrin B, Geddes DM, Gibson GJ (1995): *Respiratory Medicine. Second Edition.* WB Saunders, London; p1656.
- Brooke MH und Engel WK (1969b): The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fibre types. 4. Children's biopsies. *Neurology (Minneap.)*, 19:591-605
- Brooke MH und Williamson T (1969): An adult case of type I muscle fiber hypotrophy: an abnormality of monosynaptic reflex function. *Neurology (Minneapolis)* 19:280.
- Cheng JC, Wong MW, Tang SP, et al. (2001): Clinical determinants of the outcome of manual stretching in the treatment of congenital muscular torticollis in infants. A prospective study of eight hundred and twenty-one cases. *J Bone Joint Surg Am* 83(5):679-687.
- Claeys KG, Maissonobe T, Böhm J, et al. (2010): Phenotype of a patient with recessive centronuclear myopathy and a novel bin1 mutation. *Neurology* 2010;74:519-521.
- Claeys KG, Züchner S, Kennerson M, et al. (2009): Phenotypic spectrum of dynamin 2 mutations in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* 132:1741-1752.
- Dubowitz V, Brooke MH (1973): *Muscle biopsy: A modern approach.* Saunders, London: 1973; 231-241
- Dubowitz V, Sewry CA (2007): *Muscle Biopsy, 3rd Edition. A Practical Approach.* WB Saunders, Philadelphia; 76-92
- Durieux AC, Prudhon B, Guicheney P, Bitoun M (2010): Dynamin 2 and human diseases. *J Mol Med* 88;4:339-350.
- Echaniz-Laguna A, Nicot AS, Carre S, et al. (2007): Subtle central and peripheral nervous system abnormalities in a family with centronuclear myopathy and a novel dynamin 2 gene mutation. *Neuromuscul Disord* 17:955-959
- Engel AG, Franzini-Armstrong C: *Myology. Basic and Clinical. Vol 2, 2nd edn.* McGraw-Hill, New York, 1994, p1052
- Fabrizi GM, Ferrarini M, Cavallaro T, et al. (2007): Two novel mutations in dynamin 2 cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 69:291-295
- Fardeau M. In: Mastaglia FL, Walton Sir John, editors. *Congenital myopathies.* London: Churchill Livingstone; 1982. p161-203
- Ferlinz R (1994). *Pneumologie in Praxis und Klinik.* Thieme, Stuttgart New York
- Ferrer X, Vital C, Coquet M, et al. (1992): Autosomal dominant centronuclear myopathy. *Rev Neurol* 1992; 148:622-630.
- Fischer D, Herasse M, Bitoun M, et al. (2006): Characterization of the muscle involvement in dynamin 2 related centronuclear myopathy. *Brain* 2006;129:1463-1469.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975): Mini-Mental State (a practical method for grading the state of patients for the clinician). *Journal of Psychiatric Research*, 12, 189-198.

- Foye PM (2007): Letter to the editor. Myopathic (not neuropathic) electrophysical abnormalities in dynamin 2-related centronuclear myopathy. *Brain* 130(Pt 2):e63; author reply e64.
- Fujimura-Kiyono C, Racz GZ, Nishino I (2009): Myotubular(centronuclear myopathy and central core disease. *Neurology India* 56(3):325-332
- Gallardo E, Claeys KG, Nelis E, et al. (2008): Magnetic resonance imaging findings of leg musculature in Charcot-Marie-Tooth disease type 2 due to dynamin 2 mutation. *J Neurol* 255:986-992
- Gold GN (1966): Temporomandibular joint dysfunction in myotonic dystrophy. *Neurology* 16:212-216.
- Gospe SM Jr, Armstrong DL, Gresik MV, et al. (1987): Life-threatening congestive heart failure at the presentation of centronuclear myopathy. *Pediatr Neurol* 3(2):117-120
- Hawkes CH, Absolon MJ (1975): Myotubular myopathy associated with cataract and electrical myotonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 38:761-764.
- Herman GE, Finegold M, Zhao W, de Gouyon B, Metzenberg A (1999): Medical complications in long-term survivors with X-linked myotubular myopathy. *J Pediatr* 134:206-214.
- Hulsmann N, Gullotta F, Okur H (1981): Cytopathology of an unusual case of centronuclear myopathy. *J Neurol Sci* 50:311-333
- Jeannot PY, Bassez G, Eymard B, et al. (2004): Clinical and morphological heterogeneity in 29 patients with autosomal centronuclear myopathy. *Neurology* 2004;62:1484-1490
- Jeub M, Bitoun M, Guicheney P, et al. (2008): Dynamin 2-related centronuclear myopathy: clinical, histological and genetic aspects of further patients and review of the literature. *Clin Neuropathol* 2008;27:430-438.
- Jöbsis GJ, Barth PG, Wolterman RA, et al. (1994): Bethlem myopathy: clinical and genetic aspects [abstract]. *Clin Neurol Neurosurg* 96:199.
- Jones KJ, North KN (1997): External ophthalmoplegia in neuromuscular disorders: Case report and review of literature. *Neuromusc Disord* 7:143-151.
- Jungbluth H, Cullup T, Lillis S, et al. (2009a): Centronuclear myopathy with cataracts due to a novel dynamin 2 (DNM2) mutation. *Neuromuscul Disord* 20:49-52
- Jungbluth H, Davis MR, Muller C, et al. (2004a): Magnetic resonance imaging of muscle in congenital myopathies associated with RYR1 mutations. *Neuromuscul Disord* 14:785-790
- Jungbluth H, Sewry CA, Buj-Bello A., Kristiansen M, et al. (2003): Early and severe presentation of X-linked myotubular myopathy in a girl with skewed X-inactivation. *Neuromusc Disord* 13(1):55-59.
- Jungbluth H, Sewry CA, Counsell S, Allsop J, Chattopadhyay A, Mercuri E, et al. (2004b): Magnetic resonance imaging of muscle in nemaline myopathy. *Neuromusc Disord* 14:779-784.
- Jungbluth H, Wallgren-Pettersson C, Laporte J (2008): Centronuclear (myotubular) myopathy. *Orphanet J Rare Dis* 3:26-38

- Jungbluth H, Wallgren-Pettersson C, Laporte JF, et al. (2009b): 164<sup>th</sup> ENMC International workshop: 6<sup>th</sup> workshop on centronuclear (myotubular) myopathies, 16-18<sup>th</sup> January 2009, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 19:721-729.
- Jungbluth H, Zhou H, Sewry CA, et al. (2007): Centronuclear myopathy due to a de novo dominant mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *Neuromuscul Disord* 2007;17:338-345.
- Kiliaridis S, Mejersjö C, Thilander B (1989): Muscle function and craniofacial morphology: a clinical study in patients with myotonic dystrophy. *Eur J Orthod* 11:131-138.
- Kessler J, Calabrese P, Kalbe E, Berger F (2000): DemTect. Ein neues Screening-Verfahren zur Unterstützung der Demenzdiagnostik. *Psycho*, 6, 343-347.
- Krauss JK, Toups EG, Jankovic J, Grossman RG (1997): Symptomatic and functional outcome of surgical treatment of cervical dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 63:642-648
- Laporte J, Hu LJ, Kretz C, Mandel JL, Kioschis P, Coy JF, Klauck SM, Poustka A, Dahl N. (1996): A gene mutated in X-linked myotubular myopathy defines a new putative tyrosine phosphatase family conserved in yeast. *Nat Genet* 13:175-182.
- Liewluck T, Lovell TL, Bite AV, Engel AG (2010): Sporadic centronuclear myopathy with muscle pseudohypertrophy, neutropenia, and necklace fibers due to a DNMT2 mutation. *Neuromuscul Disord*. 2010 Dec;20(12):801-804.
- Lovaste MG, Aldovini D, Ferrari G (1987): Centronuclear myopathy with unusual clinical picture. *Eur Neurol* 1987;26:153-160.
- Lutz S, Stiegler B, Kress W, von der Hagen M, Schara U (2009): Kongenitale Strukturmyopathien. *Med Gen* 21:316-321
- Manouvrier J, Leys D, Ducloux G, et al. (1986): Myocardiopathy disclosing a centronuclear myopathy in an adult. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 35(9):557-559.
- Matsushita S, Ikeda S, Hanyu N, Yamamoto K, Yanagisawa N (1991): Muscular pseudohypertrophy in an adult case with centronuclear myopathy. *Eur Neurol* 1991;31:172-174.
- McEntagart M, Parsons G, Buj-Bello A, Biancalana V, et al. (2002): Genotype-phenotype correlations in X-linked myotubular myopathy. *Neuromusc disord* 12:939-946
- McCrea HJ, Kretz C, Laporte I, Rent LR (2009): Dementia in a child with myotubular myopathy. *Pediatr Neurol* 40(6):483-485.
- Mejaddam AY, Nennesmo I, Sejersen T. (2009): Severe phenotype of patient with autosomal recessive centronuclear myopathy due to a BIN1 mutation. *Acta Myol* 28:91-93
- Melberg A, Kretz C, Kalimo H, et al. (2009): Adult course in a dynamin 2 dominant centronuclear myopathy with neonatal onset. *Neuromuscul Disord* 20:53-56
- Moghaddazadeh B, Petit N, Jaillard C, et al. (2001): Mutations in SEP1 cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nat Genet* 29:17-18.
- Naumann M, Reiners K, Gold R, et al. (1995): Mitochondrial dysfunction in adult-onset myopathies with structural abnormalities. *Acta Neuropathol* 89:152-157.

- Nicot AS, Toussaint A, Tosch V, et al. (2007): Mutations in amphiphysin 2 (BIN1) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nat Genet* 2007;33:1134-1139.
- Olivé M, Ferrer I, Jauma S, Montero J, Martínez-Matos JA (1993): Centronuclear myopathy. *Neurologia* 1993;8(3):122-124
- Ortiz de Zarate JC, Maruffo A (1970): The descending ocular myopathy of early childhood: myotubular or centronuclear myopathy. *Eur Neurol* 3:1-12.
- Pénisson-Besnier I, Biancalana V, Reynier P, Cossée M, Dubas F (2007): Diagnosis of myotubular myopathy in the oldest known manifesting female carrier: A clinical and genetic study. *Neuromusc Disord* 17(2):180-185
- Pierson CR, Agrawal PB, Blasko J, Beggs AH (2007): Myofiber size correlates with MTM1 mutation type and outcome in X-linked myotubular myopathy. *Neuromuscul Disord* 17:562-568
- Pierson CR, Tomczak K, Agrawal P, Moghadaszadeh B, Beggs AH (2005): X-linked Myotubular and Centronuclear Myopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 64(7):555-564.
- Pirra L, Dubrovsky A, Bitoun M, et al. (2007): Ragged red fibres finding in muscle biopsy of dynamin 2-related centronuclear myopathy. *Neuromuscul Disord* 17:881-882
- Pongratz D, Heuser M, Mittelbach F, Struppler A (1975): Die sogenannte congenitale centronucleäre Myopathie - eine primäre Neuropathie? *Acta neuropath* 32:9-19
- Porter JD, Baker RS (1996): Muscles of a different color: The unusual properties of the extraocular muscles may predispose or protect them in neurogenic and myogenic disease. *Neurology* 46:30-37.
- Powers JM, Young GF, Bass EB, Reed FE (1980): Atypical nemaline myopathy with temporomandibular ankylosis. *Neurology* 30:971-975.
- Raco A, Raimondo AJ, DePonte FS, et al. (1999): Congenital torticollis in association with craniosynostosis. *Childs Nerv Syst* 15:163-168.
- Romero NB (2010): Centronuclear myopathies: A widening concept. *Neuromuscul Disord* 20:223-228
- Schessl J, Medne L, Hu Y, et al. (2007): MRI in DNM2-related centronuclear myopathy: evidence for highly selective muscle involvement. *Neuromuscul Disord* 17:28-32
- Schlame M, Ren M (2006): Barth syndrome, a human disorder of cardiolipin metabolism. *FEBS Lett* 2006;580:5450-5455.
- Sher JH, Rimalovski AB, Athanassiades TJ, Aronson SM (1967a): Familial myotubular myopathy: a clinical, pathological, histochemical and ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1967;6:132-133.
- Sher JH, Rimalovski AB, Athanassiades TJ, Aronson SM (1967b): Familial centronuclear myopathy: a clinical and pathological study. *Neurology* 1967;17:727-742.
- Susman RD, Quijano-Roy S, Yang N, et al. (2010): Expanding the clinical, pathological and MRI phenotype of DNM2-related centronuclear myopathy. *Neuromuscul Disord* 20:229-237.

- Spiro AJ, Shy GM, Gonatas NK (1966): Myotubular myopathy: persistence of fetal muscle in an adolescent boy. *Arch Neurol* 14:1-14
- Tosch V, Rohde HM, Tronchere H, et al. (2006): A novel PtdIns3P and PtdIns(3,5)P<sub>2</sub> phosphatase with an inactivating variant in centronuclear myopathy. *Hum Mol Genet* 15:3098-3106.
- Tosch V, Vasli N, Kretz C, et al. (2010): Novel molecular diagnostic approaches for X-linked centronuclear (myotubular) myopathy reveal intronic mutations. *Neuromuscul Disord.* 2010 Jun;20(6):375-381.
- Tosi C, Jerusalem F (1976). Selective muscle fiber type anomalies in neuromuscular disorders. An analysis of 124 consecutive muscle biopsies. *J Neurol* 214: 13-34
- Ulmer WT, Nolte D, Lecheler J (2003): *Die Lungenfunktion*. Thieme, Stuttgart
- Vallat JM, Hugon J, Fressinaud C, et al. (1985): Centronuclear myopathy, cataract and electrical myotonia: a new case. *Muscle Nerve* 8:807-809.
- Van Wijngaarden G.K., Freury P, Bethlem J, Meijer A.E.F.H. (1969): Familial "myotubular" myopathy. *Neurology* 19:901-908
- Verhiest W, Brucher JM, Goddeeris P, et al. (1976): Familial centronuclear myopathy associated with "cardiomyopathy". *Br Heart J* 38:504-509.
- Wei JL, Schwartz KM, Weaver AL, Orvidas LJ (2001): Pseudotumor of infancy and congenital muscular torticollis: 170 cases. *Laryngoscope* 111(4 Pt 1):688-695.
- Wilmshurst JM, Lillis S, Zhou H, et al. (2010): RYR1 mutations are a common cause of congenital myopathies with central nuclei. *Ann Neurol.* 2010 Nov;68(5):717-726.
- Zanoteli E, Guimarães A, Martins R, et al. (2000): Temporomandibular joint involvement in a patient with centronuclear myopathy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90:118-121.
- Zanoteli E, Oliveira AS, Kiyomoto BH, et al. (1998): Centronuclear myopathy. Histopathological aspects in ten patients with childhood onset. *Arq Neuropsiquiatr* 56(1):1-8
- Zanoteli E, Vergani N, Campos Y, Vainzof M, Oliveira AS, d'Azzo A. (2009): Mitochondrial alterations in dynamin 2-related centronuclear myopathy. *Arq Neuropsiquiatr.* 67:102-104
- Züchner S, Nouredine M, Kennerson M, et al. (2005): Mutations in the pleckstrin homology domain of dynamin 2 cause dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth disease. *Nat Genet* 37:289-294

## Thesen

1. Die zentronukleäre Myopathie (CNM) mit Mutation im *Dynammin-2*-Gen ist eine seltene autosomal-dominant vererbte Muskelerkrankung, die myohistologisch durch zahlreiche zentrale Kerne, Prädominanz und Hypotrophie der Typ-1-Muskelfasern sowie häufiges Vorkommen radialer sarkoplasmatischer Speichenmuster charakterisiert ist. Diese Trias kann jedoch v.a. bei jüngeren Patienten unterhalb des 5. Lebensjahres fehlen. Perinukleäre enzymreiche Halos und zentrale Aktivitätssteigerung sind bei der *DNM2*-CNM häufig zu sehen.
2. Das in oxidativen Färbungen zu sehende radiäre sarkoplasmatische Speichenmuster gilt als sehr typisch für *DNM2*-Mutationen und wird nur selten bei CNM mit *BINI*-Mutation gesehen. Es scheint aber auch bei CNM-Formen vorzukommen, die keine *DNM2*- oder *BINI*-Mutation aufweisen.
3. Die Anzahl der Fasern mit zentralen Kernen bei *DNM2*-CNM-Patienten ist sehr variabel. Der Anteil der Fasern mit zentralen Kernen an allen Fasern mit binnenständigen Kernen ist bei *DNM2*-CNM höher als bei anderen CNM-Formen, so dass die Unterscheidung von zentralen und dezentralen binnenständigen Kernen als Differenzierungskriterium genutzt werden könnte.
4. *DNM2*-Mutationen mit mild verlaufender, langsam progressiver CNM mit Spätmanifestation liegen überwiegend in der Mitteldomäne, GTPase-Domäne und N-terminalen Bereichen der Pleckstrin-Homologie-Domäne des *DNM2*-Gens, die Mutationen mit schwerem neonatalen Verlauf konzentrieren sich auf den C-terminalen Bereich der Pleckstrin-Homologie-Domäne. Mutationen in der Mitteldomäne sind am häufigsten, allen voran die Mutationen R465W und R369Q.
5. *DNM2*-CNM mit früher Manifestation zeigt als Erstsymptom neonatale Hypotonie, schwaches Saugen und Schreien, verzögerte motorische Entwicklung, frühe Augenbeteiligung und postnatale respiratorische Insuffizienz. *DNM2*-CNM mit später Manifestation zeigt sich erstmals durch Myalgien nach Bewegung sowie Probleme beim Laufen mit häufigen Fallen, beim Treppensteigen und beim Schulsport.
6. Eine Beteiligung der Augen- und Gesichtsmuskulatur ist ein häufiges Merkmal der *DNM2*-CNM. Eine Ptosis scheint häufiger als eine Ophthalmoparese aufzutreten, eine Facies myopathica zeigt sich seltener als eine Augenbeteiligung.

7. Häufige Dysmorphien bei *DNM2*-CNM sind (in abnehmender Häufigkeit) hoher Gaumen, Fußdefomitäten, Hperlordose und Skoliose. Kontrakturen betreffen am häufigsten die Achillessehne und die langen Fingerflexoren. Kontrakturen des Kiefergelenks bzw. der Kaumuskulatur mit Trismus scheint bei *DNM2*-CNM weitaus häufiger aufzutreten als bisher angenommen.
8. Bei *DNM2*-CNM finden sich Atrophien vor allem distal, die Beine sind häufiger betroffen als die Arme. Die Verteilung der Muskelschwäche entspricht in etwa der der Atrophien und ist häufiger distal als proximal zu finden und häufig ist ein Extremitätenpaar (Arme oder Beine) stärker betroffen ist. Eine axiale Schwäche lässt sich ebenfalls oft feststellen.
9. Eine Einschränkung der Lungenfunktion ist bei den schweren neonatalen Fällen einer *DNM2*-CNM in Form eines restriktiven respiratorischen Syndroms sehr häufig, bei späterer Manifestation ist eine Lungenbeteiligung selten.
10. Im MRT der Beine zeigt sich bei *DNM2*-CNM ein spezifisches zeitliches Befallsmuster der Muskulatur: die distale posteriore Muskulatur des Unterschenkels, allen voran der M. gastrocnemius medialis, wird als erstes und am schwersten betroffen. Nur in den schwersten Fällen werden der M. sartorius, M. gracilis und M. rectus femoris betroffen und sind somit meist ausgespart. Dies kann bei der Differenzierung der *DNM2*-CNM von anderen kongenitalen Myopathien helfen.

## Curriculum Vitae

### **Persönliche Daten:**

Name: Alexander Dietz  
Anschrift: Böllberger Weg 27  
06110 Halle  
Telefon: 0177 / 62 41 422  
E-mail: [dietzinger@gmx.de](mailto:dietzinger@gmx.de)  
Geburtsdatum und -ort: 13.05.1982 in Frankfurt am Main  
Familienstand: ledig

### **Lebenslauf:**

#### Schulische Ausbildung:

1988 – 1992 Volksschule Volkach (Grundschule)  
1992 – 2001 Franken-Landschulheim Schloss Gaibach (Gymnasium),  
Abschluss: Abitur (2,4)

#### Grundwehrdienst:

2001 – 2002 Wehrpflichtiger, Tätigkeit als Hilfsausbilder im Instandsetzungs-  
bataillon 12 der Mainfrankenkasernen Volkach

#### Studium:

2002 – 2003 Geologiestudium an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
2004 – 2005 Berufsfachschule für technische Assistenten der Medizin an der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
2005 – 2012 Medizinstudium an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,  
Abschluß: Staatsexamen  
seit 10/2012 Assistenzarzt in der Klinik für Neurologie, Krankenhaus Martha-  
Maria Dölau  
Praktisches Jahr: Gastroenterologie (KH Martha-Maria Dölau/Halle)  
Neurologie (Uniklinikum Halle)  
Unfallchirurgie (BG-Klinik Bergmannstrost Halle)  
Auslandspraktika:  
2009 (Famulatur) Pokhara / Nepal, Western Regional Hospital  
2010 (Famulatur) Ulaanbaatar / Mongolei, State central clinic

Halle, den 18.03.2013

gez. Alexander Dietz

### **Erklärung zur Selbstständigkeit und früheren Promotionsversuchen**

Ich versichere hiermit, dass ich die dieser Arbeit zugrunde liegende Datenerhebung und Auswertung selbstständig durchgeführt und niedergeschrieben habe.

Ich habe keine anderen als die von mir aufgeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt und die inhaltlich übernommenen Abschnitte des verwendeten Schrifttums einzeln kenntlich gemacht.

Ich versichere, dass ich die Dissertation bisher keiner anderen Fakultät zur Zulassung vorgelegt und keine weiteren Promotionsversuche unternommen habe.

Halle, den 18.03.2013

gez. Alexander Dietz

## Publikationen

1. Teile der vorgelegten Arbeit wurden bereits Juni 2011 in der unten angegeben Ausgabe des Journal of Neurology unter folgendem Titel präsentiert:

Phenotype variability and histopathological findings in centronuclear myopathy due to *DNM2* mutations.

Hanisch F, Müller T, Dietz A, Bitoun M, Kress W, Weis J, Stoltenburg G, Zierz S  
J Neurol. 2011 Jun;258(6):1085-90.

2. Auf dem 1. Doktorandenkongreß der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle Wittenberg am 25.11.2011 wurde die Arbeit als Posterbeitrag unter gleichnamigen Titel vorgestellt.

## **Danksagungen**

Meinem Doktoranden-Betreuer, Herrn Dr. med. Frank Hanisch, danke ich für das Thema der Arbeit, für die geduldige Betreuung und für die nützlichen Anregungen und Hinweise

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Stephan Zierz, danke ich für das Korrekturlesen und die wertvollen Tips.

Meinen Eltern danke ich für die seelische Unterstützung und stetige Ermutigung.