

# Pyruvat-Dehydrogenase-(PDHc)-Defizienz – genetische und klinische Präsentation

Simone Kerstin Klemm

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health  
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades einer

**Doktorin der Medizin**

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Lars Mägdefessel

Prüfer\*innen der Dissertation:

1. Prof. Dr. Julia Höfele
2. Priv.-Doz. Dr. Fabian Geisler

Die Dissertation wurde am 13.01.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht  
und durch die TUM School of Medicine and Health am 08.11.2023 angenommen.

# Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung .....	3
1.1 Mitochondriopathien .....	3
1.2 Energiegewinnung in der Zelle .....	3
1.3 Der Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex .....	5
1.4. Genetik .....	6
1.5 Klinisches Spektrum (Phänotyp).....	7
1.6 Therapeutische Ansätze der PDHc-Defizienz .....	7
1.7 Zielsetzung der Arbeit .....	8
2 Material und Methoden .....	9
2.1 Studiendesign .....	9
2.2 Literaturrecherche .....	9
2.3 Case-Report-Formular (Prüfbogen).....	9
2.4 Datenanalyse .....	9
2.5 Ethischer Aspekt.....	10
3 Ergebnisse .....	11
3.1 Patientenkohorte .....	11
3.2 Patientencharakteristika.....	12
3.3 Genetik .....	13
3.4 Klinik.....	19
3.5 Metabolische Auffälligkeiten .....	24
3.6 Überleben .....	28
3.7 Behandlungsansätze .....	33
4 Diskussion .....	34
4.1 Kongruentes Geschlechterverhältnis .....	34
4.2 Genetisches Spektrum .....	35
4.3 Klinisches Spektrum.....	36
4.4 Interpretation von Überlebensdaten .....	38
5 Zusammenfassung .....	40
6 Abkürzungsverzeichnis .....	41
7 Abbildungsverzeichnis .....	42
8 Tabellenverzeichnis.....	43
9 Literaturverzeichnis.....	44
10 Titel der Literaturrecherche.....	49
11 Anhang .....	56
12 Danksagung.....	77

# 1 Einleitung

## 1.1 Mitochondriopathien

Mitochondriopathien umfassen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen, welche genetisch bedingte Dysfunktionen der Mitochondrien aufweisen. Sie beinhalten alle primären Störungen, die die Funktion des gesamten Pyruvat-Oxidationsprozesses (OXPHOS) beeinträchtigen. Dieser beinhaltet den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex (PDHc), den Citratzyklus ebenso wie die Atmungskette mit den entsprechenden Komplexen I-V. In diesem Zusammenhang werden auch die für die mitochondriale DNA-Proteinbiosynthese benötigten Einheiten und der Stoffwechsel mitochondrialer Kofaktoren berücksichtigt. Bislang sind krankheitsverursachende Mutationen in >400 von den betreffenden 1500 mitochondrialen Genen bekannt (Wortmann et al. 2017; Klopstock et al. 2021).

Da alle Zellen, mit Ausnahme von Erythrozyten, Mitochondrien enthalten und diese für die Energieproduktion von großer Wichtigkeit sind, ist die klinische Bandbreite mitochondrialer Erkrankungen sehr heterogen. Es kann zur Ausprägung eines jeden Symptoms in jedem Gewebe, auftretend in jedem Alter und bei jedem Vererbungsmodus kommen. Die Diagnosestellung stellt deshalb häufig eine große Herausforderung dar. Dennoch sind vor allem Gewebe mit hohem Energiebedarf wie das zentrale Nervensystem (ZNS), die Herz- oder Skelettmuskulatur in erhöhtem Maße anfällig für mitochondriale Defekte (Munnich et al. 1996). Mit einer geschätzten Prävalenz von mindestens 1:5000 zählen mitochondriale Störungen zu einer schnell wachsenden Gruppe häufiger angeborener Stoffwechselstörungen und werden mutmaßlich sogar unterdiagnostiziert (Schaefer et al. 2004). Generell sind sie nicht heilbar, es gibt jedoch einige wenige pathomechanismusbasierte Therapieansätze (Sperl 2009).

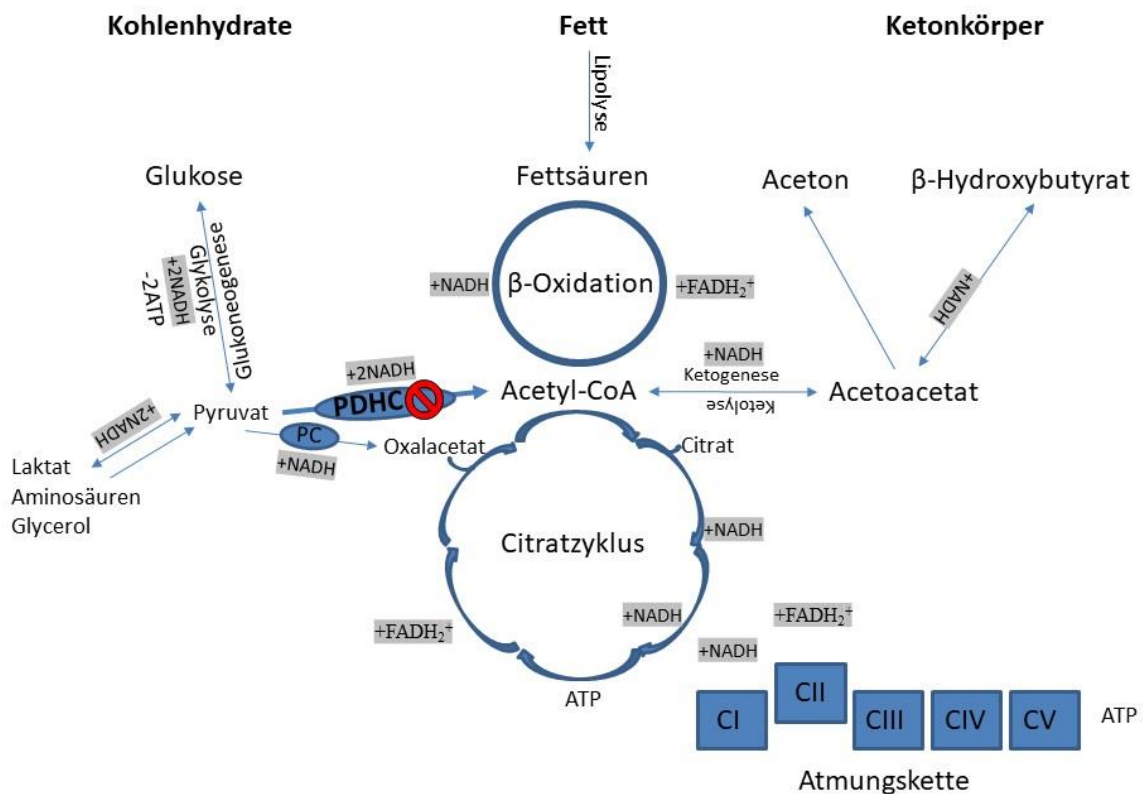
Ein bekanntes Beispiel für eine häufige mitochondriale Erkrankung ist die Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex-(PDHc)-Defizienz.

## 1.2 Energiegewinnung in der Zelle

Adenosintriphosphat (ATP) gilt als universeller Energieträger aller Organismen. Es kann unter anderem durch den Abbau von Fettsäuren, Proteinen und Kohlenhydraten generiert werden. Der Abbau der Kohlenhydrate erfolgt über die Glykolyse von Glukose zu Pyruvat. Durch diesen aufwändigen Prozess können netto jedoch lediglich zwei ATP-Einheiten gewonnen werden.

Die weitere Verstoffwechslung des Pyruvats ist im anaeroben Milieu durch die Lactatdehydrogenase und deren Reduktion von Pyruvat zu Lactat möglich.

Bei aeroben Verhältnissen wird Pyruvat mit Hilfe des PDHc zu Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) oxidiert. Dieser Schritt ermöglicht die Einspeisung der verarbeiteten Glukose in den Citratzyklus, der wiederum mit der mitochondrialen Atmungskette verknüpft ist. Durch diese und den anschließenden ATP-Synthase-Komplex kann die Energieausbeute pro Molekül Glukose auf insgesamt bis zu 32 ATP gesteigert werden. Eine Darstellung der genannten Stoffwechselwege zeigt Abbildung 1. Wenn der PCHc, welcher eine Schlüsselfunktion des Stoffwechsels einnimmt, nicht funktioniert, entfällt ein großer Teil der Energiebeschaffung (Abbildung 1: Stoffwechselwege Richtung Atmungskette) (Rassow et al. 2012).



ATP - Adenosintriphosphat, C - Atmungskettenkomplex, PDHc - Pyruvate Dehydrogenase Komplex, PC - Pyruvate Carboxylase

Abbildung 1: Stoffwechselwege Richtung Atmungskette (vgl. (Zweers et al. 2021))

### 1.3 Der Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex

Der PDHc ist ein großer Multienzymkomplex bestehend aus den drei Enzymen Pyruvat-Dehydrogenase (E1), Dihydroliponamid-Acetyltransferase (E2) und Dihydroliponamid-Dehydrogenase (E3)). Hierbei wird in einem ersten Schritt Pyruvat mit Hilfe von Thiaminpyrophosphat (TPP) und unter Abspaltung von  $H_2O$  zu Hydroxyethyl-TPP decarboxyliert. Anschließend wird die Hydroxyethylgruppe zur Acetylgruppe oxidiert und auf Liponamid übertragen. Diese Schritte werden von E1 katalysiert. Die Bildung von Acetyl-CoA wird durch die Übertragung der Acetylgruppe auf Coenzym A von E2 angetrieben. Die E3-Einheit oxidiert mit Hilfe von FAD Dihydroliponamid wieder zu Liponamid. Das dadurch entstandene  $FADH_2$  überträgt die überschüssigen Elektronen in einem letzten Schritt auf  $NAD^+$ , wodurch  $NADH+H^+$  entsteht. Die Reaktion des PDHc ist ein irreversibler Prozess (Berg et al. 2018) (Abbildung 2: Enzymkomponenten der PDHc).

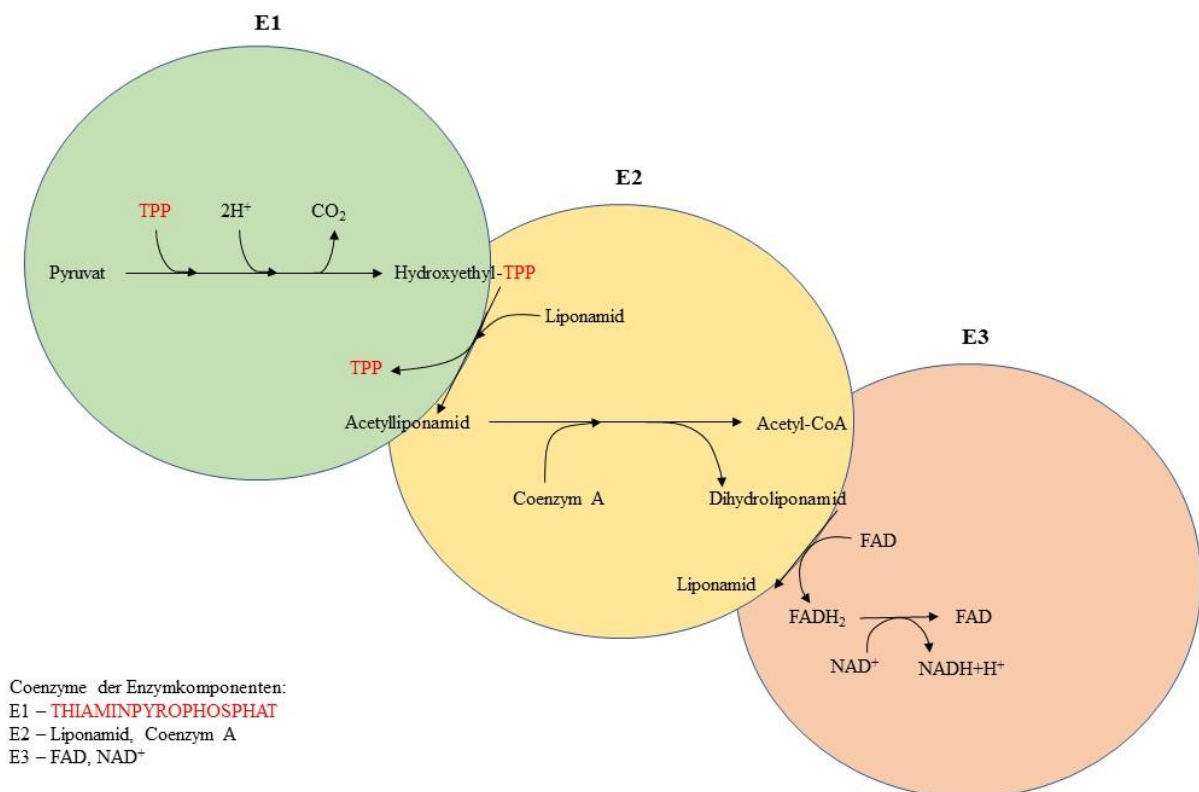


Abbildung 2: Enzymkomponenten der PDHc (vgl. Berg et al., 2018)

Diesem Prozess kommt somit eine Schlüsselrolle in zentralen aeroben Stoffwechselwegen zu. Besonders bedeutend ist der Komplex für die Aktivität des Gehirns, da dieses seine gesamte Energie aus aerober Oxidation von Glukose zieht. Eine Pyruvat-Dehydrogenase-Defizienz führt somit zu neurologischen Beeinträchtigungen.

## 1.4. Genetik

Defekte des PDHc gehören zu den häufigsten Erkrankungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels (Brown et al. 1994). Am häufigsten findet sich eine Mutation im *PDHA1*-Gen, das für die Pyruvat-Dehydrogenase-E1-Alphauntereinheit (PDHA) codiert (Robinson et al. 1996). Das Gen ist auf Xp22.1 des X-Chromosoms lokalisiert (Brown et al. 1994). Aufgrund dessen, dass Männer nur ein X-Chromosom pro Zelle besitzen, erkranken sie, sobald dieses einen Defekt aufweist. Bei Frauen, welche zwei X-Chromosomen pro Zelle besitzen, kann es bedingt durch die X-Inaktivierung dazu kommen, dass das mutierte X-Chromosom inaktiv ist und somit die Variante auf Zellebene nicht sichtbar wird. Die X-Inaktivierung beschreibt den epigenetischen Prozess, bei dem in weiblichen Patienten eines der beiden X-Chromosomen zum großen Teil inaktiviert wird. Je nach Ausmaß dieser Stillschaltung unterscheidet sich auch der Schweregrad der Symptome. Der Anteil der durch X-Inaktivierung bedingten aktiven veränderten Gene, sogenannte Mosaik, kann in den verschiedenen Gewebetypen einer Person variieren (Brown et al. 1994). Gene welche auf dem X-Chromosom bei Männern angelegt sind, gelten als hemizygot. Trotz der Tatsache, dass es sich um eine X-chromosomal vererbte Erkrankung handelt, besteht die Patientenkohorte zu etwa gleichen Teilen aus Männern und Frauen (Lissens et al. 2000). Klassischerweise treten Erkrankungen mit dem oben genannten Vererbungstypus vermehrt bei männlichen Patienten phänotypisch in Erscheinung (beispielsweise Muskeldystrophie Duchenne oder Rot-Grün-Blindheit). Für die Verteilung der Varianten entlang des Exons ist das verwendete Transkript und die nachfolgend exprimierte Isoform in den Zellen von Bedeutung. Die verschiedenen Transkripte eines Gens entstehen durch Unterschiede in den Splicingvorgängen. Abhängig vom verwendeten Transkript werden verschiedene Isoformen exprimiert (PDHA1 pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI 2022).

## 1.5 Klinisches Spektrum (Phänotyp)

Klassischerweise äußert sich ein PDHA1-Mangel mit einer schweren Lactatazidose und daraus folgenden Symptomen (Kußmaul-Atmung, Erbrechen, Bewusstseinsstörung) direkt nach der Geburt. Hiermit gehen Lactaterhöhung im Liquor cerebrospinalis und vermehrte Ausscheidung über den Urin einher. Als neurologische Symptome sind in der Neonatalphase vorrangig epileptische Krampfanfälle und muskuläre Hypo- und Hypertonie zu erwähnen. Später ist die verzögerte Entwicklung das häufigste Symptom. Weniger häufig werden Dysmorphiezeichen, Nystagmus oder Strabismus beschrieben (Patel et al. 2012).

Sollten Säuglinge und Kleinkinder die oben genannten Auffälligkeiten zeigen und kann keine anderweitig erklärbare Ursache gefunden werden, sollte dementsprechend die PDHc-Defizienz als Diagnose in Betracht gezogen werden (Brown et al. 1994). Neben dem oben beschriebenen Spektrum an Symptomen zeichnet sich die Erkrankung durch eine große Varianz phänotypischer Schweregrade aus.

## 1.6 Therapeutische Ansätze der PDHc-Defizienz

Aufgrund der gestörten Weiterverwertung des in der Glykolyse gewonnenen Pyruvats bei Patienten mit PDHc-Defizienz muss die Energieversorgung der Zelle anderweitig gesichert werden. Durch den Abbau von Fettsäuren kann ebenfalls Energie generiert werden. Bei einem Fehlen von Kohlenhydraten werden hauptsächlich Fettsäuren in der  $\beta$ -Oxidation abgebaut. Die im Anschluss daran in den Mitochondrien der Hepatozyten gebildeten Ketonkörper können wiederum zur Energiegewinnung im extrahepatischen Gewebe genutzt werden (siehe Abbildung 1). Somit kann der PDHc umgangen werden (Rassow et al. 2012). Ketogene Diäten (KD) weisen klassischerweise ein Verhältnis 4:1 von Fett- zu Kohlenhydrat-Anteilen auf. Sie führen so dazu, dass der Körper hauptsächlich Fettverbrennung betreibt. Dadurch wird der Stoffwechsel von der sonst vorrangig durchgeführten Glykolyse zur Ketogenese und Ketolyse verschoben. Der Erfolg dieser Diäten ist u.a. abhängig vom Plasma-Ketonkörper-Spiegel, dem Alter bei Erstauftreten der Symptome sowie vom Phänotyp der Erkrankung (Sofou et al. 2017).

Thiamin ist in seiner aktiven Form TPP ein Coenzym der E1-Untereinheit des PDHc. In hohen Dosen kann es die Aktivität des Komplexes verstärken und somit zu einer höheren Restaktivität des Enzyms beitragen. Die Supplementation von Thiamin kann in bestimmten Fällen, abhängig vom  $K_m$ -Wert des Enzyms für Thiamin, ebenfalls positive Effekte auf den Verlauf der

Erkrankung herbeiführen. Dadurch können sich die klinische sowie die biochemische Symptomatik von Patienten nachhaltig verbessern (Naito et al. 2002).

### 1.7 Zielsetzung der Arbeit

Als eine der häufigeren Erkrankungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels und gleichzeitig eine der wenigen, für die es einen pathomechanismusbasierten Therapieansatz gibt, kommt dem PDHA1-Mangel eine besondere Bedeutung zu.

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Überblick über das genetische und klinische Spektrum der Erkrankung zu geben. Im Besonderen steht dabei die Erweiterung des genetischen Spektrums um bis heute (Stichtag der Literaturrecherche 31.07.2017, Stichtag des Case-Report-Formulars 17.01.2020) nicht veröffentlichte Varianten sowie die Ausarbeitung der klinischen Bandbreite. Außerdem erfolgt eine Analyse in Hinblick auf Genotyp-Phänotyp Korrelationen.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die Studie ist als retrospektive Querschnittsstudie angelegt. In einem zweistufigen Verfahren wurden zunächst mittels Literaturrecherche alle weltweit bisher veröffentlichten Fälle von *PDHAI*-bedingtem PDHc-Mangel zusammengetragen. Anschließend wurden weitere Fälle über internationale Zusammenarbeiten rekrutiert. Die letzten so in die Studie eingeschlossenen Fälle wurden am 17.01.2020 erhoben.

### 2.2 Literaturrecherche

Anhand einer Literaturrecherche wurde der aktuelle Forschungsstand dokumentiert. Es wurden alle bereits publizierten Artikel zum Thema *PDHAI* der Datenbank Pubmed untersucht (Datum der Abfrage: 31.07.2017). Suchkriterien waren das Schlagwort ‚*PDHAI*‘ - mit dem Filter ‚Language: English‘ und ‚Species: Human‘. In die Studie eingeschlossen werden konnten alle Artikel, die vollständige genetische Informationen über den jeweiligen Patienten enthielten und in denen die klinischen und laborchemischen Krankheitssymptome beschrieben wurden.

### 2.3 Case-Report-Formular (Prüfbogen)

Anhand der in der Literaturrecherche erhobenen Daten zum Genotyp und Phänotyp der Patienten wurde ein Case-Report-Formular erstellt (*Tabelle 1: Kategorien des Prüfbogens*). Dieser Prüfbogen enthält 8 Haupt- und 72 Unterkategorien und wurde für alle in der Literatur beschriebenen Patienten ausgefüllt. Zusätzlich wurde der Prüfbogen für alle weiteren bisher unpublizierten Patienten von den jeweils betreuenden Ärzten des Instituts für Humangenetik der Technischen Universität München sowie von internationalen Kollaboratoren ausgefüllt.

### 2.4 Datenanalyse

Die Analyse der Daten aus Literatur und Case-Report-Formular erfolgte mit Microsoft Excel und IBM SPSS Statistics 19. Fehlende Werte wurden von der Analyse ausgeschlossen. Es wurden Mittelwerte und Mediane mit Spannweitenangabe, Zählwerte, Anova, Chi-Quadrat

sowie Kaplan-Meier-Überlebenskurven für normalverteilte sowie nicht normalverteilte metrische und ordinale Variablen dargestellt. P-Werte von  $<0,05$  gelten als statistisch signifikant.

## 2.5 Ethischer Aspekt

Alle Daten wurden im Rahmen der regulären Patientenversorgung erhoben, anonymisiert übermittelt und ausgewertet. Die in München diagnostizierten Patienten willigten der Verwendung ihrer Daten für wissenschaftliche Zwecke sowie der Veröffentlichung dieser schriftlich ein (Ethikvotum München Exome Seq.: 5360/12 S). Für die anderen Patienten galten die lokalen Regelungen. Die Verantwortung der Einhaltung dieser oblag den jeweiligen Einsendern der Daten.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Patientenkohorte

Durch eine Literaturrecherche in 56 Artikeln konnten 378 Patienten aus 363 Familien identifiziert werden. Nach einer Reklassifizierung ihrer *PDHAI*-Varianten als nicht pathogen anhand der Kriterien des American College of Medical Genetics (ACMG) (Richards et al. 2015) wurden neun Patienten aus sieben Familien ausgeschlossen.

Nach Ausschluss der oben erwähnten Patienten konnten insgesamt 369 Patienten aus 356 Familien in die Studie eingeschlossen werden. Die hierzu verwendeten Artikel sind im Literaturverzeichnis gesondert ausgewiesen.

Durch Einschluss von Patienten aus dem Institut für Humangenetik der Technischen Universität München und mittels internationaler Kooperationen konnten weitere 219 Patienten aus 218 Familien zusätzlich eingeschlossen werden. Die Gesamtkohorte umfasste somit 588 Patienten aus 574 Familien (Abbildung 3).

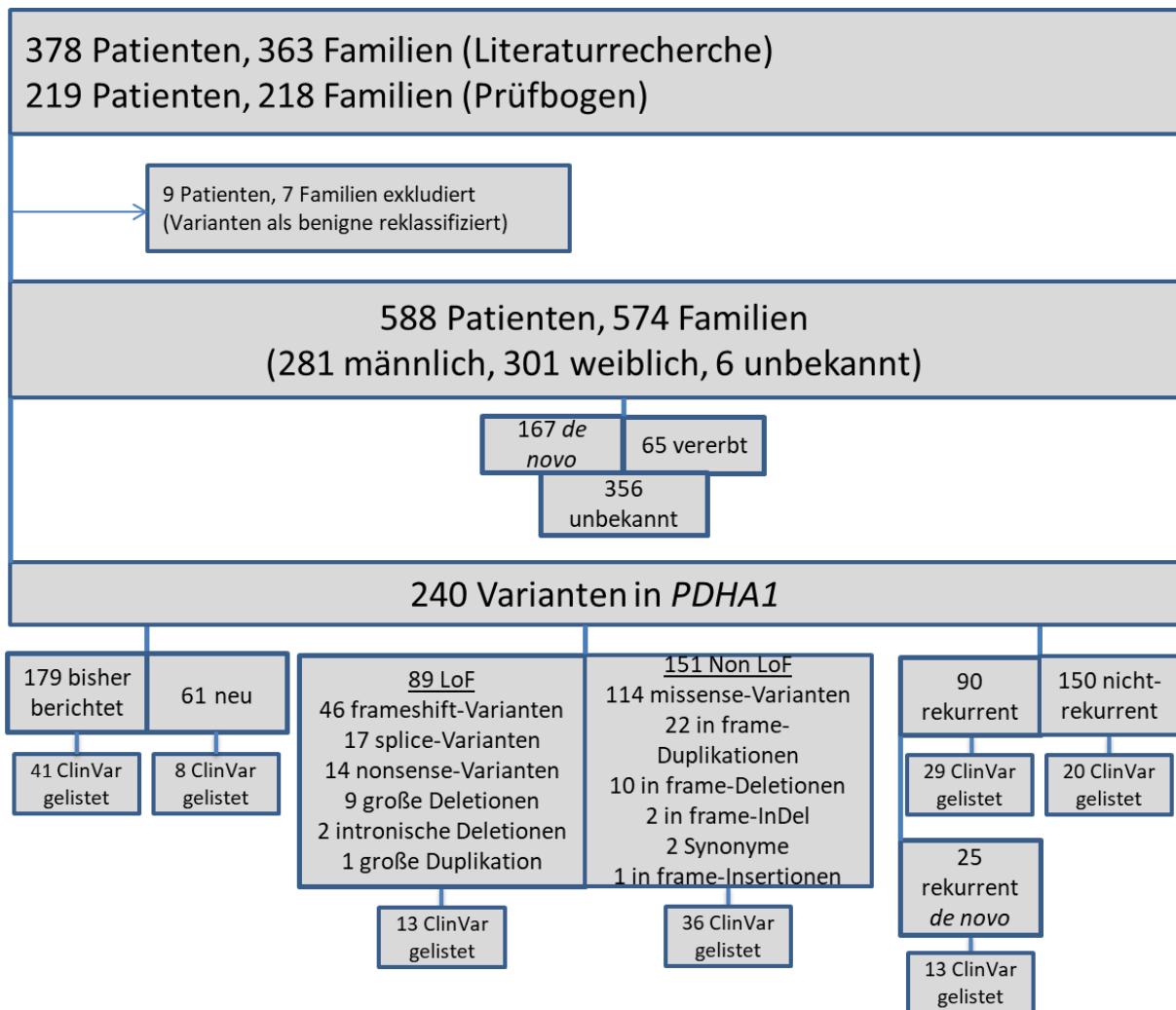


Abbildung 3: Patientenkohorte: Darstellung zeigt alle inkludierten und exkludierten Patienten sowie einen Überblick der gefundenen Varianten

### 3.2 Patientencharakteristika

Die Patientenkohorte umfasst 301 weibliche und 281 männliche Patienten. Für sechs Patienten konnte bezüglich des Geschlechts keine Angabe (k. A.) gemacht werden. Der Altersmedian bei Erstsymptomen betrug 9 Monate (n = 240), die Spannweite betrug einen Tag bis 28 Jahre. Aufgrund der fehlenden Vollständigkeit aller Angaben für alle Patienten wird die Anzahl der jeweils verfügbaren Daten mit ‘n‘ angegeben. Für eine kleinere Gruppe von Patienten (n = 65) wurde kein exaktes Alter, sondern nur eine Alterskategorie bei Beginn der Erstsymptome erfasst. Acht zeigten Symptome bereits pränatal, 28 im neonatalen Zeitraum (bis 28 Tage postnatal). 20 wurden im infantilen Zeitraum (ein Monat bis ein Jahr postnatal) auffällig, acht im Laufe der Kindheit (Zeitraum nach vollendetem 1. Lebensjahr bis vollendetem 11. Lebensjahr) und ein Patient erst während der Adoleszenz (Zeitraum vom 11. Geburtstag bis

Vollendung des 22. Lebensjahres). Der Median des Alters zum Studienzeitpunkt betrug sieben Jahre (n = 214), die Spannweite betrug sieben Tage bis 56 Jahre. Insgesamt wurde von 63 Patienten berichtet, dass sie verstorben waren. Das mediane Alter zum Todeszeitpunkt betrug 1,1 Jahre (n = 63), die Spannweite des Todesalters reichte von einem Tag bis 28 Jahre.

### 3.3 Genetik

Die Art des genetischen Tests war für 561 Patienten bekannt. Es ist festzuhalten, dass 91% (n = 511) der Varianten mittels Sanger-Sequenzierung gefunden wurden, 5% (n = 30) über Exom- oder Genom-Sequenzierung und 4% (n = 20) mit Hilfe von Gen-Panel-Diagnostik.

Insgesamt wurden 240 verschiedene genetische Varianten gefunden. Das in dieser Arbeit verwendete PDH-Referenztranskript hat die Bezeichnung NM\_000284.3 Insgesamt waren zum Untersuchungszeitpunkt (11/2019) 49 der Varianten in ClinVar gelistet. Im Anhang findet sich eine Tabelle mit allen ermittelten Varianten sowie deren Listung in ClinVar (Anhang Tabelle 2).

Folgende Varianten mussten aufgrund der Reklassifizierung als VUS (Variant of unknown significance) ausgeschlossen werden:

Die Variante c.406 G>A, p.A136T ((Ligt et al. 2012); n = 1) ist bereits in ClinVar (ClinVar ID: VCV000445760.3) als VUS/benigne eingeordnet, zudem ist sie häufig in GnomAD (5 von 100.000 Fällen, GnomAD AF: 6.37e-5) zu finden. GnomAD ist eine Datenbank, bei der eine Vielzahl von sequenzierten Varianten unterschiedlichster Pathogenität zusammengetragen werden. Eine häufige Nennung einer Variante ist in der Regel mit einer niedrigeren Pathogenität dieser Variante assoziiert. Anhand der ACMG-Kriterien wird die oben erwähnte Variante ebenfalls als VUS eingeordnet. Aus diesem Grund wurde die Variante hier als benigne eingeordnet.

Die Variante c.604-10 C>G, p.? ((van Dongen et al. 2015); n = 1) ist bisher nicht in ClinVar oder GnomAD gelistet. Da die Variante c.604-10 C>T, p.? jedoch benigne in ClinVar (ClinVar ID: VCV000214930.4) und häufig in GnomAD (zwei von 1000 Fällen, GnomAD AF: 1.93e-3) vorkommt, wurde hier entsprechend ACMG-Kriterien davon ausgegangen, dass auch die Variante c.604-10C>G als VUS zu werten ist.

Die Variante c.759+26 G>A, p.? ((Barnerias et al. 2010), n = 1) ist als VUS in ClinVar aufgeführt (ClinVar ID: VCV000533401.1), ebenfalls ist sie nach ACMG als VUS einzuordnen. In GnomAD ist die Variante nicht gelistet. Deshalb wurde sie auch hier als VUS eingestuft.

Die Variante c.844 A>C, p.M282L ((Matthews et al. 1994); n = 1) wird von ClinVar (ClinVar ID: VCV000010885.4) als benigne eingeschätzt und gehört laut GnomAD (ca 15 aus 1000 Fällen, GnomAD AF: 2.07e-2) nicht zu den sehr seltenen Varianten. Nach ACMG-Kriterien ist die Variante ebenfalls als benigne einzuordnen, deshalb wurde die Variante c.844 A>C, p.M282L auch hier als benigne gewertet.

Die Variante c.1159 A>C, p.K387Q ((Traboulee et al. 2017); n = 5) welche als likely benigne/VUS in ClinVar (ClinVar ID: VCV000214937.4) eingeordnet wird, findet sich mit einer Häufigkeit von 9 aus 100.000 Fällen in GnomAD (GnomAD AF: 1.22e-4). Ebenso ist sie anhand der ACMG-Kriterien als VUS einzuordnen. In dieser Arbeit wurde die Variante deshalb als benigne eingeschätzt, auch aufgrund der Tatsache, dass sie im oben genannten Artikel ohne funktionelle Studien mit der Multiplen Sklerose verknüpft wurde.

Die 5 häufigsten Varianten waren: c.787 C>G, p.R263G (n = 41, bisher nicht in GnomAD gelistet), c.1133 G>A, p.R378H (n = 28, bisher kein beschriebener Fall in GnomAD), c.904 C>T, p.R302C (n = 26, ist bisher nicht in GnomAD gelistet), c.491 A>G, p.N164S (n = 20, ist bisher ebenfalls nicht in GnomAD gelistet) und c.934\_940del, p.S312Vfs\*12 (n = 19, bisher kein beschriebener Fall in GnomAD aufgeführt). Die Liste aller Varianten findet sich im Anhang (*Tabelle 2: Liste aller verschiedenen ermittelten Varianten*). 61 der aufgeführten Varianten sind bis dato noch nicht in der Literatur beschrieben worden. Die folgende Abbildung 4 zeigt alle bisher unpublizierte Varianten und ihre Verteilung innerhalb des Gens. Ebenfalls in dieser Abbildung aufgelistet ist die Häufigkeit der unpublizierten Varianten sowie die Darstellung der Geschlechterverteilung dieser.

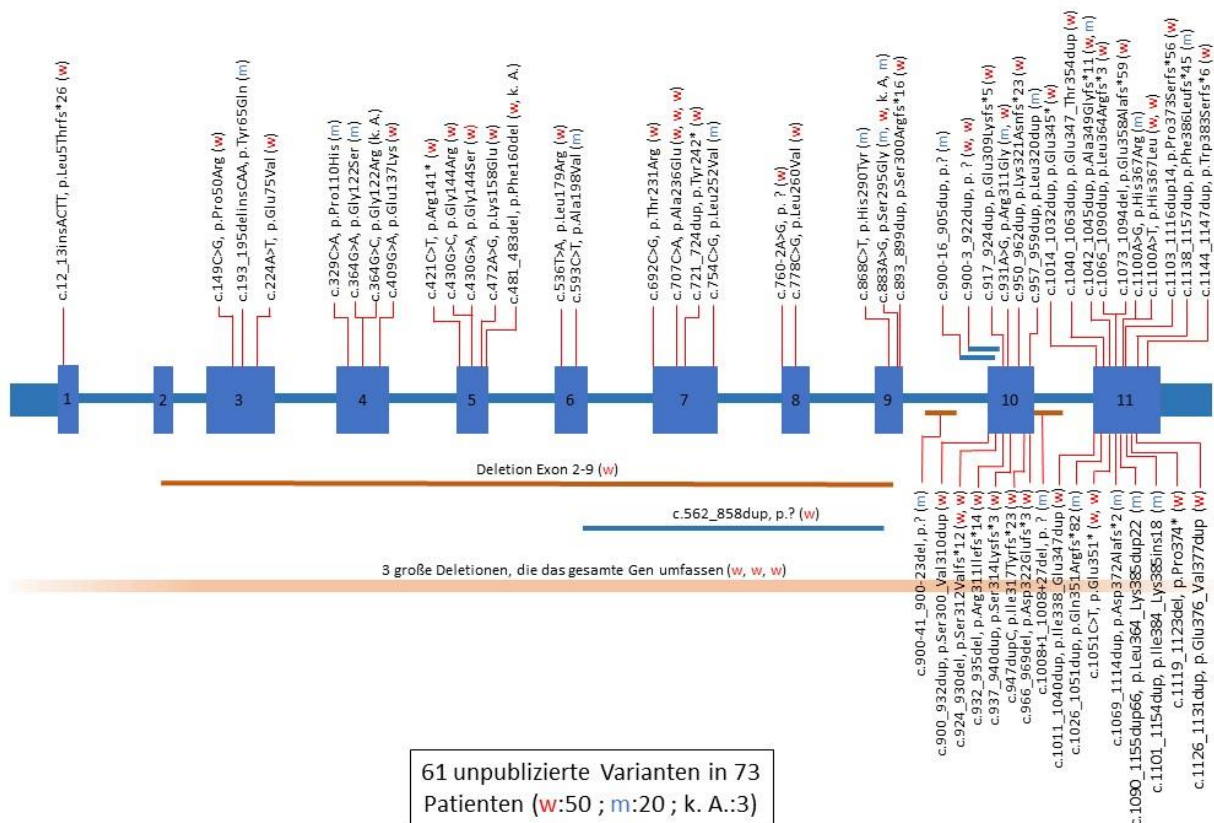


Abbildung 4: Verteilung der bisher unpublizierten Varianten über PDHA1

Von 232 Patienten waren Informationen über den jeweiligen Vererbungsmodus bekannt. 28% (n = 65) der Varianten in den untersuchten Patienten wurden maternal vererbt, 72% (n = 167) der Patienten zeigten eine *de novo* entstandene Variante. Eine solche Variante konnte nicht im Blut der Mutter nachgewiesen werden, ein Keimzellmosaik bleibt dadurch jedoch immer noch möglich. Unter diesen 167 Patienten konnte bei rund 57% (n = 95) eine rekurrente Variante festgestellt werden, diese wurde mindestens in einem weiteren Patienten bisher entdeckt. Häufiges wiederkehrendes Auftreten von Varianten ist deshalb interessant, weil so Hotspot-Regionen ausgemacht werden und Stellen im Gen detektiert werden können, an denen es vermehrt zu Mutationen kommt. Die häufigsten rekurrenten *de novo*-Varianten waren: c.787 C>G, p.R263G (n = 9), c.934\_940del, p.S312Vfs\*12 (n = 9) und c.1133 G>A, p.R378H (n = 9). Alle rekurrenten *de novo* hervorgebrachten Varianten sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Auflistung aller gefundenen rekurrenten de novo-Varianten. NA = nicht in ClinVar gelistet, P = pathogen, LP = vermutlich pathogen

<u>Nummerierung der rekurrenten de novo-Variante</u>	<u>Gefunden in n Personen</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>
1	9	c.787C>G	p.R263G	P
2	9	c.934_940del	p.S312Vfs*12	P
3	9	c.1133G>A	p.R378H	P
4	7	c.491A>G	p.N164S	P
5	6	c.904C>T	p.R302C	P
6	6	c.1132C>T	p.R378C	P
7	6	c.1142_1145dup	p.W383Sfs*6	P
8	4	c.1159_1162dup	p.S388*	P
9	3	c.214C>T	p.R72C	P
10	3	c.379C>T	p.R127W	NA
11	3	c.498C>T	p.I166I	NA
12	3	c.592G>A	p.A198T	NA
13	3	c.679T>C	p.Y227H	NA
14	2	c.262C>T	p.R88C	NA
15	2	c.302G>T	p.C101F	NA
16	2	c.483C>T	p.Y161Y	NA
17	2	c.499G>A	p.V167M	NA
18	2	c.506C>T	p.A169V	P
19	2	c.584G>C	p.G195A	NA
20	2	c.647T>C	p.L216S	NA
21	2	c.707C>A	p.A236E	LP
22	2	c.787C>T	p.R263*	NA
23	2	c.856_859dup	p.R288Lfs*10	P
24	2	c.933_935del	p.R311del	P
25	2	c.1105_1107delinsCAA	p.Y369Q	NA

Die 240 verschiedenen pathogenen Varianten lassen sich in Loss of function (Lof) und Non Loss of function (NLoF) einteilen. Lof-Varianten (welche mit einem Funktionsverlust des Gens einhergehen) werden im Gegensatz zu NLoF-Varianten eine höhere Pathogenität zugeschrieben. Dies zeigt sich unter anderem in der Genotyp-Phänotyp-Korrelation, wobei Patienten mit Lof-Varianten schwerere Verläufe zeigen. Es wurden 89 Lof-Varianten gefunden, davon 46 frameshift-Varianten (in 90 Patienten; Pat. n = 90), 17 splice-Varianten (Pat. n = 25), 14 nonsense-Varianten (Pat. n = 39), neun große Deletionen (Pat. n = 9), zwei intronische Deletionen (Pat. n = 3) sowie eine große Duplikation (Pat. n = 1). Die anderen 151 Varianten werden zu den NLoF-Varianten gezählt und setzen sich zusammen aus 114 missense-Varianten (Pat. n = 358), 22 inframe-Duplikationen (Pat. n = 26), 10 inframe-Deletionen (Pat. n = 17),



zwei inframe-Insertionen/Deletionen (Pat. n = 3), zwei synonymen Varianten (Pat. n = 16) und einer inframe-Insertion (Pat. n = 1).

Bei Gegenüberstellung der Auftretenshäufigkeiten von LoF- zu NLoF-Varianten im Exom zeigt sich, dass das Aufkommen der Varianten in gewissen Exons häufiger zu beobachten ist ( $p = 0,000004$ ). Diese Feststellung wird in Abbildung 5 dargestellt. LoF-Varianten treten zunehmend am Ende des Gens auf. NLoF-Varianten dominieren in den Exonen 1–10.

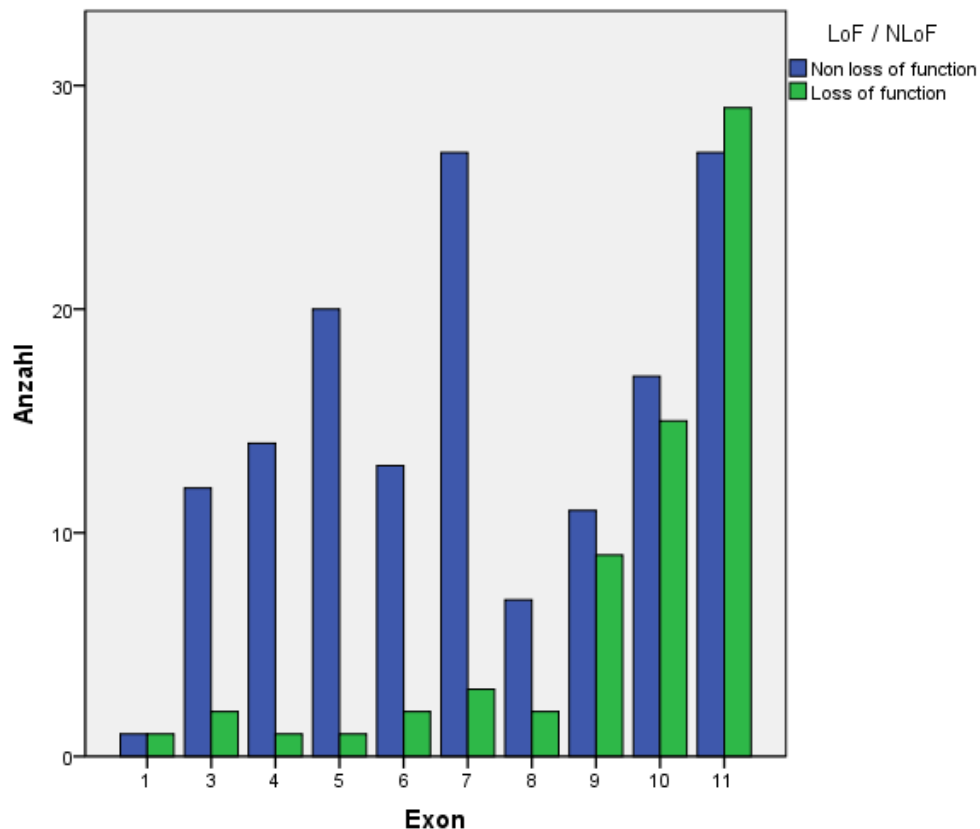


Abbildung 5: Einfluss des Mutationstyps auf die Verteilung der Anzahl der LoF- und NLoF-Varianten über die Exons (nicht beachtet wird hierbei die Länge der einzelnen Exons)

Bei Betrachtung der Verteilung der pathogenen Varianten über die verschiedenen Genabschnitte fällt eine Streuung dieser über das gesamte Gen auf. Dennoch gibt es Regionen mit besonders großer Mutationshäufigkeit, sogenannte Hotspot-Regionen. In den Exons 9 und 10 finden sich 0,30 Varianten pro Basenpaar (v/b), in Exon 11 0,34 v/b. Die übrigen Exons zeigen deutlich weniger häufig pathogene Varianten (Exon 1 – 0,04 v/b, Exon 3 – 0,08 v/b, Exon 4 – 0,12 v/b, Exon 5 – 0,23 v/b, Exon 6 – 0,16 v/b, Exon 7 – 0,19 v/b, Exon 8 – 0,13 v/b). In Exon 2 hingegen findet sich keine einzige Variante. Mögliche Gründe dafür sind die relative Kürze dieses Exons sowie die Verteilung der Transkript-Isoformen von *PDHAI*. Insgesamt werden 9 verschiedene Transkripte für *PDHAI* verwendet. In allen Transkripten finden sich

keine Varianten in Exon 2, die zum Funktionsverlust des Gens führen. Das seltenste exprimierte Transkript (ENST00000417819.1) besteht nur aus den Exons eins, zwei, vier und fünf. Auch in den Intronen 3 (n = 1), 4 (n = 1), 5 (n = 1), 7 (n = 1) 8 (n = 1), 9 (n = 3) und 10 (n = 1) wurden pathogene Varianten gefunden. Über die Exon-Grenzen hinausreichende Varianten wurden in Exon 5 – Intron 9 (n = 1), Exon 6 – Exon 7 (n = 1), Intron 9 – Exon 10 (n = 6) und Exon 10 – Intron 10 (n = 1) gefunden. Zudem wurden acht große Deletionen ausfindig gemacht.

Des Weiteren besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Geschlecht (männlich/weiblich) und auftretendem Mutationstyp (Chi Quadrat Test  $p = 10^{-12}$ ), grafisch dargestellt in Abbildung 6. Männliche Patienten zeigen deutlich mehr NLoF-Varianten als LoF-Varianten. Außerdem weisen diese öfters NLoF-Varianten auf als weibliche Patienten. Weibliche Patienten präsentieren sich im Gesamten ebenfalls häufiger mit NLoF-Varianten als LoF-Varianten. Sie weisen im Vergleich zu männlichen Patienten jedoch häufiger LoF-Varianten auf. Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass männliche Patienten LoF-Varianten nur in den C-terminalen Exons (10 und 11) aufweisen, in den N-terminalen Exons (1-9) finden sich ausschließlich Missense-Varianten. Weibliche Patienten weisen über alle Genabschnitte LoF- als auch NLoF-Varianten auf (vgl. Abbildung 4).

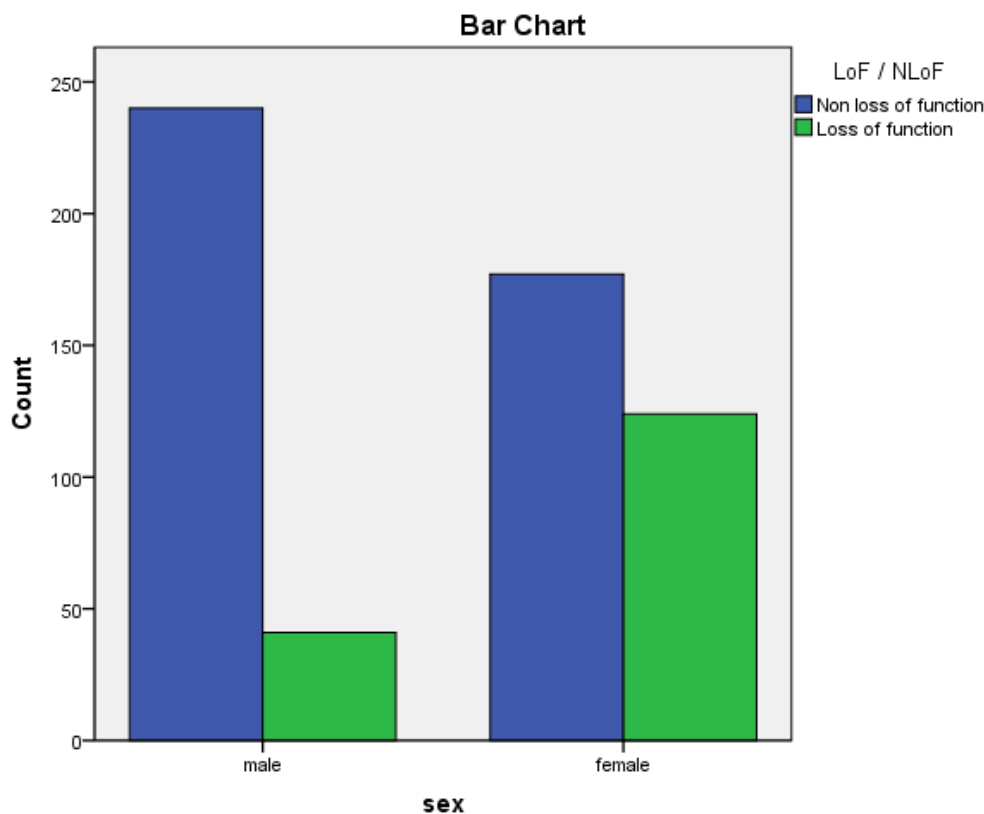


Abbildung 6: Unterschied zwischen den Gruppen Geschlecht und Mutationstyp

### 3.4 Klinik

Die meisten der Patienten unserer Studie waren minderjährig (83,6%). Der Median des Alters zum Studienzeitpunkt betrug 7 Jahre (n = 214; Spannweite sieben Tage – 56 Jahre). Eine detaillierte Darstellung der verschiedenen Altersgruppen findet sich in Abbildung 7.

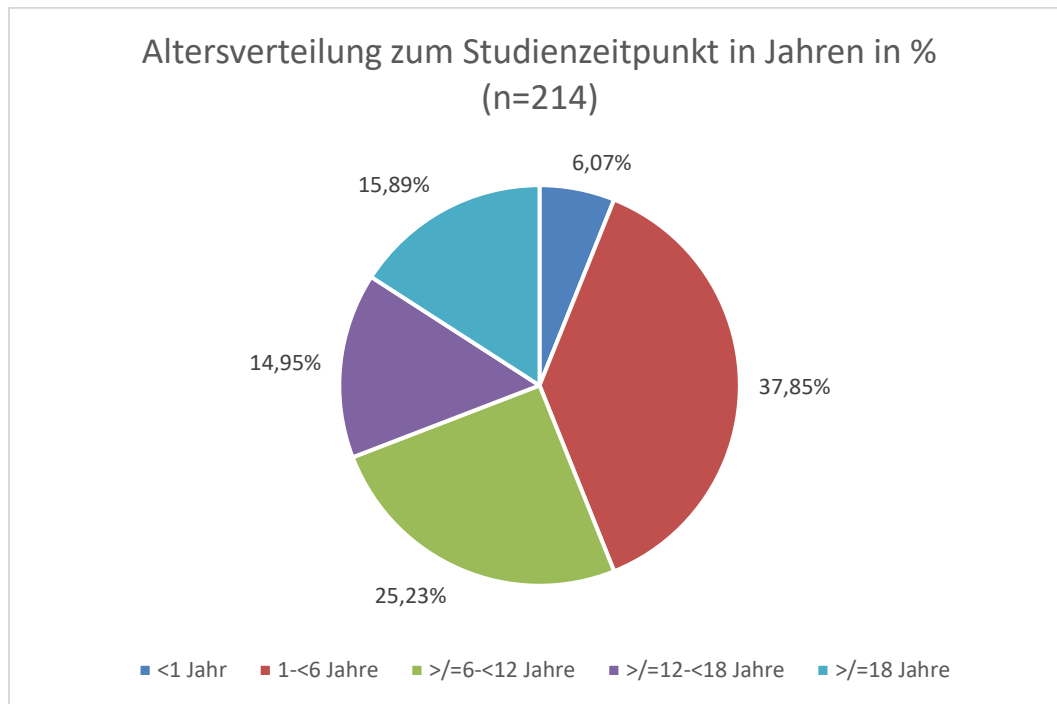


Abbildung 7: Altersverteilung der Patientenkohorte zum Studienzeitpunkt

Bei einigen Patienten konnten schon *in utero* klinische Auffälligkeiten festgestellt werden. 36% (30/84; w: 41% – m: 29%) zeigten intrauterine Wachstumsretardierung, bei 11% (7/61; w: 19% – m: 3%) wurden verminderte Kindsbewegungen berichtet. Bei 9% (6/68; w: 6% – m: 12%) wurde ein Oligohydramnion, bei 3% (2/68; w: 0% – m: 6%) ein Polyhydramnion entdeckt. Insgesamt zeigten 47% (36/76; w: 61% – m: 28%) der Patienten eine auffällige fetale Ultraschalluntersuchung. In 59% (46/78; w: 50% – m: 69%) der Fälle wurde die Schwangerschaft durch eine normale vaginale Entbindung (jede vaginale Entbindung unabhängig davon, ob sie assistiert wurde oder nicht) beendet, 41% (32/78; w: 50% – m: 31%) der Patienten kamen per Sectio zur Welt. Eine assistierte Entbindung wurde in 12% (10/81; w: 12% – m: 13%) der Fälle durchgeführt. Während 81% (92/114; w: 84% – m: 77%) der Neugeborenen am Termin geboren wurden, wurden 19% (22/114; w: 16% – m: 23%) vor Vollendung der 36. Schwangerschaftswoche geboren (vgl. Allgemeinbevölkerung: 5–13% (Goldenberg et al. 2008)). 11% (8/70; w: 13% – m: 9%) wiesen nach der Geburt einen reduzierten APGAR-Score (Score zur Beurteilung der postnatalen Adaptation, (Speer et al.

2019)) unter fünf Punkten auf (vgl. Allgemeinbevölkerung: 1% (Tweed et al. 2016)) und 20% (16/81; w: 17% – m: 24%) wurden unter oder kurz nach der Geburt reanimationspflichtig (vgl. Allgemeinbevölkerung: 1% (Aziz et al. 2021)). Unter Betrachtung der Perzentile für Gewicht, Größe und Kopfumfang bei Geburt ist festzustellen, dass 21% (23/111; w: 21% – m: 20%) der Neugeborenen ein niedriges Geburtsgewicht, 18% (14/77; w: 20% – m: 15%) eine verminderte Größenentwicklung und 18% (14/76; w: 23% – m: 11%) einen verringerten Kopfumfang unter der 3. Perzentile ihrer altersentsprechenden Norm aufwiesen.

Diverse neurologische Symptome zeigten sich in einer Vielzahl von Patienten. 88% (174/198; w: 93% – m: 84%) der Patienten fielen durch eine verminderte Intelligenz auf. Das verwendete Testverfahren bei der Kohorte der Literaturpatienten war zu 99% (n = 105/106) Sanger-Sequenzierung, 1% der Fälle wurde mit Exom-Diagnostik (n = 1/106) diagnostiziert. Die Patienten des Case-Report-Formulars wurden in 63% (n = 43/68) der Fälle mittels Sanger-Sequenzierung, 18% (n = 12/68) mittels Gene Panel und ebenfalls in 18% (n = 12/68) mit Hilfe von Exom-Diagnostik diagnostiziert. Bei 1% (n = 1/68) war das Testverfahren unbekannt. Die meisten Kinder mit Intelligenzminderung, bei denen das Alter bei Erstauftreten von Symptomen bekannt war (Literatur n = 13/106; Case-Report-Formular n = 63/68), wurden bis zum Ende des ersten Lebensjahres erstmalig symptomatisch (Literatur 92% (n = 12/13), Case-Report-Formular 84% (n = 53/63)). Ein geringer Anteil wurde erst später in der Kindheit oder Adoleszenz symptomatisch (Literatur 8% (n = 1/13), Case-Report-Formular 16% (n = 10/63)). Die Auswertung der Daten des Case-Report-Formulars ergab detailliertere Informationen bezüglich des Intellekts der Befragten als aus der Literaturrecherche gewonnen werden konnten. So wurden innerhalb der Gruppe der neuen Patienten 9% (7/75) der Personen ohne Intelligenzminderung (im Alter von 6,9–22 Jahren) ermittelt.

Im Folgenden werden diese Patienten kurz skizziert:

Fall 1: Ein zwölfjähriger Junge, der sich erstmalig im Alter von vier Jahren mit paroxysmaler, belastungsinduzierter Dyskinesie vorstellte. Es wurde eine pathogene *de novo*-Variante (c.193\_195delinsCAA, p.Y65Q) festgestellt.

Fall 2: Ein 19-jähriger junger Mann mit einer *de novo*-Variante (c.262C>T, p.R88C), der sich zunächst im Alter von einem Jahr und sechs Monaten mit schneller Ermüdbarkeit, Tachypnoe, verzögerter Sprachentwicklung, erhöhten Lactatwerten im Blut sowie Basalganglienläsionen im MRT vorstellte.

Fall 3: Ein sechs Jahre und elf Monate alter Junge mit einer pathogenen *de novo*-Variante (c.262C>T, p.R88C). Der Grund für die Einleitung diagnostischer Untersuchungen war eine akute Gangstörung im Alter von 22 Monaten mit vollständiger Genesung, hohen Lactatwerten im Liquor und Basalganglienläsionen im MRT.

Fall 4: Ein 15-jähriges Mädchen, das sich erstmalig mit muskulärer Hypotonie, Regression und Basalganglienläsionen, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer Impfung auftraten, vorstellte. Daraufhin wurde eine pathogene Variante (c.472A>G, p.K158E) identifiziert, es lag jedoch keine Information über den Vererbungsmodus vor.

Fall 5: Eine 22-jährige Frau mit einer *de novo* entstandenen pathogenen Variante (c.491A>G, p.N164S). Die Diagnostik wurde aufgrund enzephalopathischer und ataktischer Episoden mit reversiblen Basalganglienläsionen eingeleitet.

Fall 6: Eine junge Frau im Alter von 17 Jahre und fünf Monate mit einer pathogenen Variante (c.787C>G, p.R263G) bei unbekanntem Vererbungsmodus. Die Patientin zeigte erstmalig im Alter von zwei Jahren und vier Monaten Symptome einer akuten Gangstörung sowie Basalganglienläsionen.

Fall 7: Ein sieben Jahre und neun Monate alter Junge mit einer *de novo* entstandenen pathogenen Variante (c.1159\_1162dup, p.S388\*). Grund für die Einleitung diagnostischer Untersuchungen war eine episodische Ataxie im Alter von zwei Jahren.

84% (140/167) aller Patienten waren in ihrer Entwicklung verzögert. 82% (163/199) zeigten eine muskuläre Hypotonie. Zerebrale Atrophie, Läsionen der Basalganglien sowie Mikrozephalie konnten bei 77% (125/162), 71% (118/166) und 63% (86/137) der Patienten aufgefunden werden. Zu Krampfereignissen oder epileptischen Anfällen kam es bei 61% (120/198). Das Alter bei erstem Krampfereignis bzw. Epilepsiebeginn war für 49 dieser Patienten bekannt. Im Mittel betrug das Alter bei Erstereignis 1,52 Jahre, der Median lag bei 0,5 Jahren. Eine Zusammenfassung aller erhobenen neurologischen Symptome bietet Abbildung 8.

## Neurologische und neuroradiologische Symptome

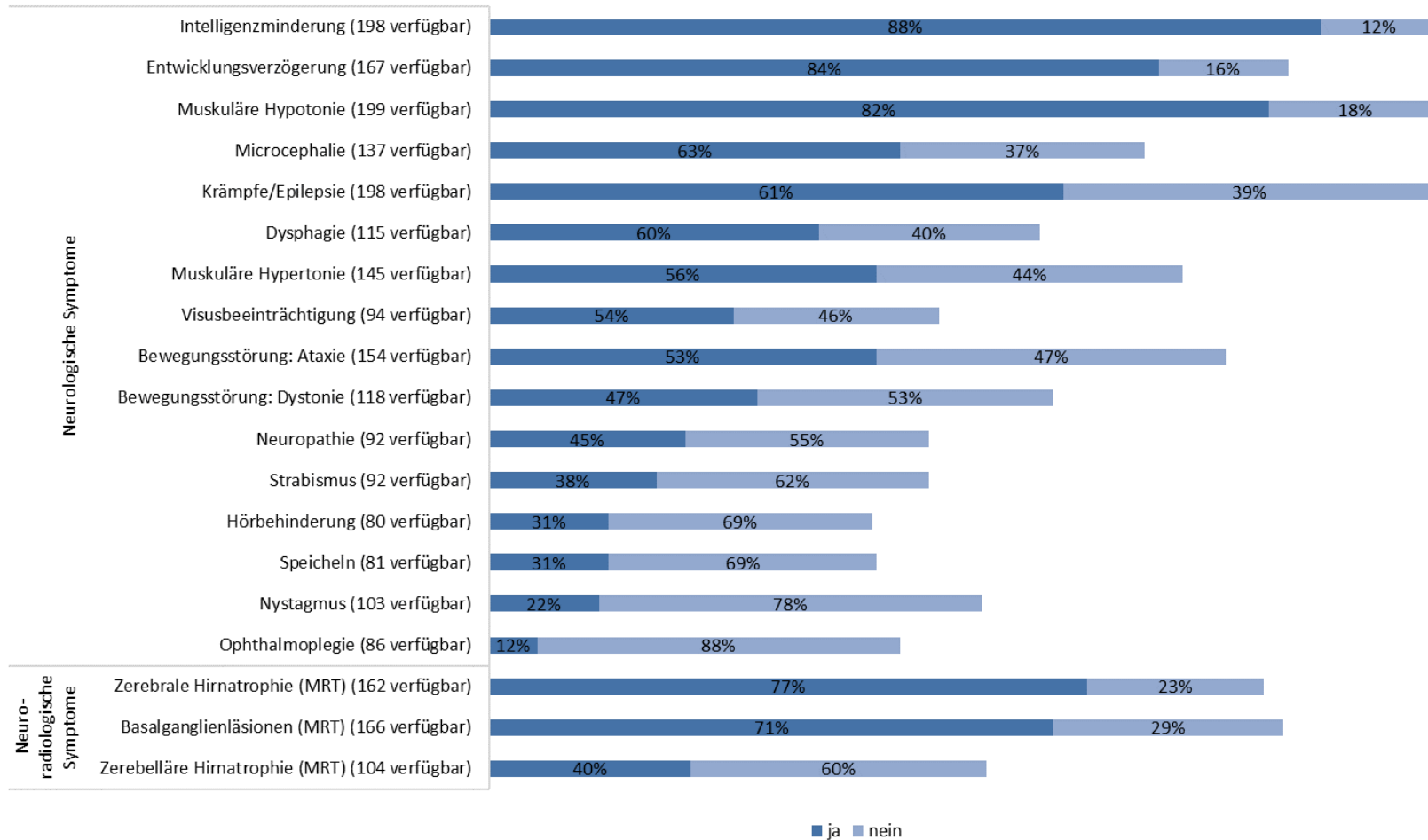


Abbildung 8: Auftretenshäufigkeit der verschiedenen neurologischen Symptome

Bei weiterer Betrachtung der neurologischen und neuroradiologischen Symptome fällt auf, dass sich die Geschlechter im Phänotyp unterschiedlich darstellen. Frauen zeigen vorrangig Intelligenzminderung (93% - 111/119), Entwicklungsverzögerung (93% - 86/86), muskuläre Hypotonie (80% - 81/101), Mikrozephalie (79% - 67/85) sowie Krampfanfälle/epileptische Anfälle (69% - 79/114). Die fünf häufigsten Symptome von männlichen Patienten sind: Muskuläre Hypotonie (84% - 82/98), Intelligenzminderung (79% - 61/77), Entwicklungsverzögerung (73% - 58/79), Neuropathie (64% - 36/56) und Ataxie (60% - 51/85). Symptome, die vorrangig die Sensibilität und Motorik beeinträchtigen, sind bei Frauen deutlich seltener zu beobachten als bei Männern (Bsp.: Neuropathie w: 14% (5/36) – m: 64% (36/56); Ataxie; w: 43% (30/69) – m: 60% (51/85)). Symptome, welche potentiell die Aktivität im Gehirn beeinträchtigen, sind bei weiblichen Patienten häufiger ausgeprägt als bei männlichen Patienten (Bsp.: Mikrozephalie m: 37% (19/52) - w: 79% (67/85); Krampfereignisse m: 48% (40/83) - w: 69% (79/114)). Im Anhang werden in Abbildung 9 und Abbildung 10 alle neurologischen und neuro-radiologischen Symptome für Frauen und Männer getrennt dargestellt

Des Weiteren wurden Dysmorphiezeichen bei 40% (44/111), Skelettdeformitäten bei 38% (39/103) und Osteopenie bei 27 % (10/37) der Patienten festgestellt.

Einschränkungen für die Teilnahme an Aktivitäten des täglichen Lebens wurden in unterschiedlichem Ausmaß festgestellt. 71% (69/97) der Patienten konnten ohne fremde Hilfe eine sitzende Position einnehmen und halten, 61 % (54/89) konnten selbstständig laufen und 57% (40/70) bewerkstelligten die Nahrungsaufnahmen ohne fremde Hilfe.

Die Kommunikation mit Lauten war für 79% (64/80) der Personen möglich, 58% (45/77) war es zudem möglich sich mit Wörtern zu verständigen und 50% (35/70) konnten mit vollständigen Sätzen kommunizieren. Die eigenständige Durchführung der Körperpflege wurde von 48% (20/42) der Patienten bewerkstelligt.

43% (23/54) der Patienten besuchen eine Regelschule oder haben diese bereits abgeschlossen. Berücksichtigt wurden in diesem Zusammenhang nur Patienten, welche sich schon im schulpflichtigen Alter befanden. 57% (31/54) der Studienteilnehmer gaben an, keine reguläre Schule zu besuchen oder abgeschlossen zu haben. Von diesen 31 Patienten besuchte ein Großteil (84%, 26/31) eine spezielle Schule für Kinder mit besonderem Förderungsbedarf. 16% (5/31) der im Schulalter befindlichen Kinder besuchen/besuchten weder eine Regelschule noch eine Schule für Kinder mit besonderem Förderungsbedarf. Dies lässt vermuten, dass diese

Patienten sich nicht in der körperlichen und/oder geistigen Verfassung befinden/befanden, um am Schulunterricht teilzunehmen.

### 3.5 Metabolische Auffälligkeiten

Die Erkrankung geht in der Regel mit Veränderungen in biochemischen Stoffwechselwegen einher. Bei 93% (244/262) der Patienten konnte ein erhöhter Lactatwert im Serum festgestellt werden, 93% (109/117) und 73% (66/90) zeigten angestiegene Lactatwerte in der Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) und im Urin. Über das Vorliegen einer Lactatazidose wurde in 81% (189/232) der Fälle berichtet. Bei 82% (98/119) wurden erhöhte Pyruvat-Werte beschrieben, in 77% (82/106) der Fälle wurden erhöhte Alanin-Werte ermittelt.

Die in Fibroblasten gemessene Enzymaktivität von PDHA1 wird in 88% (376/429) der Patienten als vermindert berichtet. Bei 240 Patienten ist außerdem der exakte Wert der Restaktivität bekannt. Als Schwellenwert wurde eine Restenzymaktivität von 20% festgelegt. Erfahrungen früherer Studien zeigten, dass Patienten mit Restaktivitäten von  $>20\%$  selten/nicht symptomatisch waren. In dieser Studie wiesen 34% (82/240) eine Restaktivität  $\leq 20\%$  auf, 66% (158/240) weisen eine Restaktivität von  $> 20\%$  auf und präsentieren sich trotzdem symptomatisch. Eine grafische Darstellung der Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten findet sich in Abbildung 11. Im Anhang finden sich zudem die Darstellung der gemessenen Enzymaktivitäten getrennt nach Frauen (Abbildung 12) und Männer (Abbildung 13).



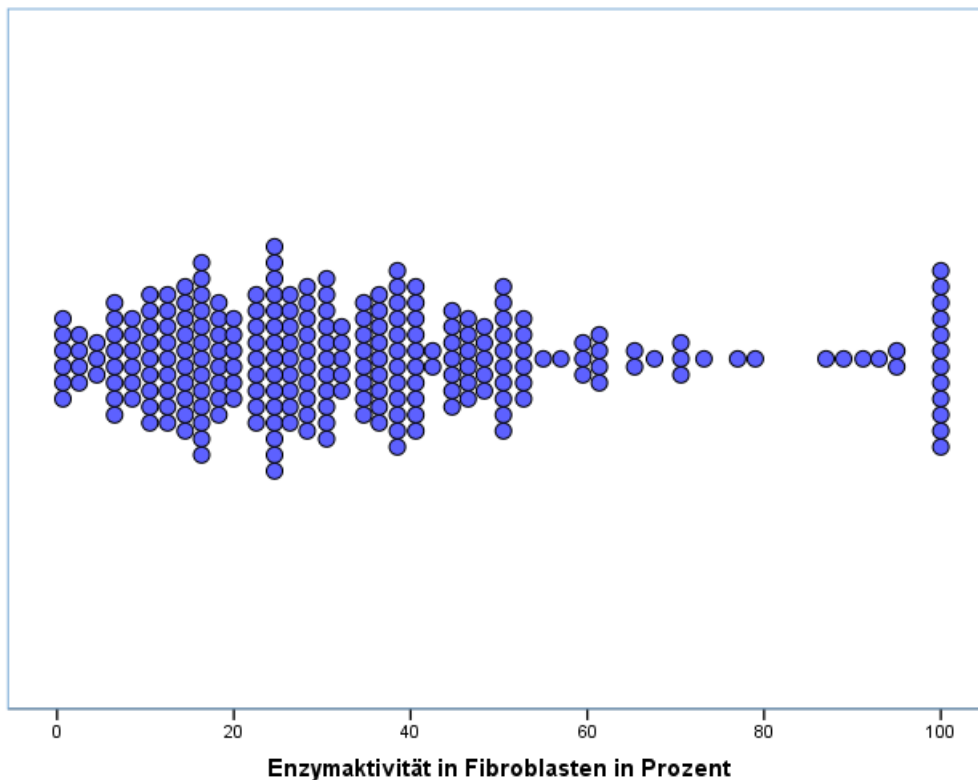


Abbildung 11: Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten von PDHA1 in Fibroblasten in Prozent ( $n=252$ , davon 240 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 12 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

61% (65/107) der Erkrankten zeigen eine Verminderung der in Muskelzellen gemessenen Enzymaktivität von PDHA1. Hierbei ist der Wert der reduzierten Restaktivität für 44 Patienten bekannt. Von 43% (19/44) ist bekannt, dass der Wert der Restenzymaktivität kleiner oder gleich 20% liegt, 57% (25/44) zeigen eine Restaktivität größer als 20% und sind trotzdem symptomatisch. Eine grafische Darstellung der Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten findet sich in Abbildung 14. Die Abbildung 15 und die Abbildung 16 veranschaulichen die gemessene Enzymaktivität bei Frauen bzw. Männern und finden sich im Anhang.

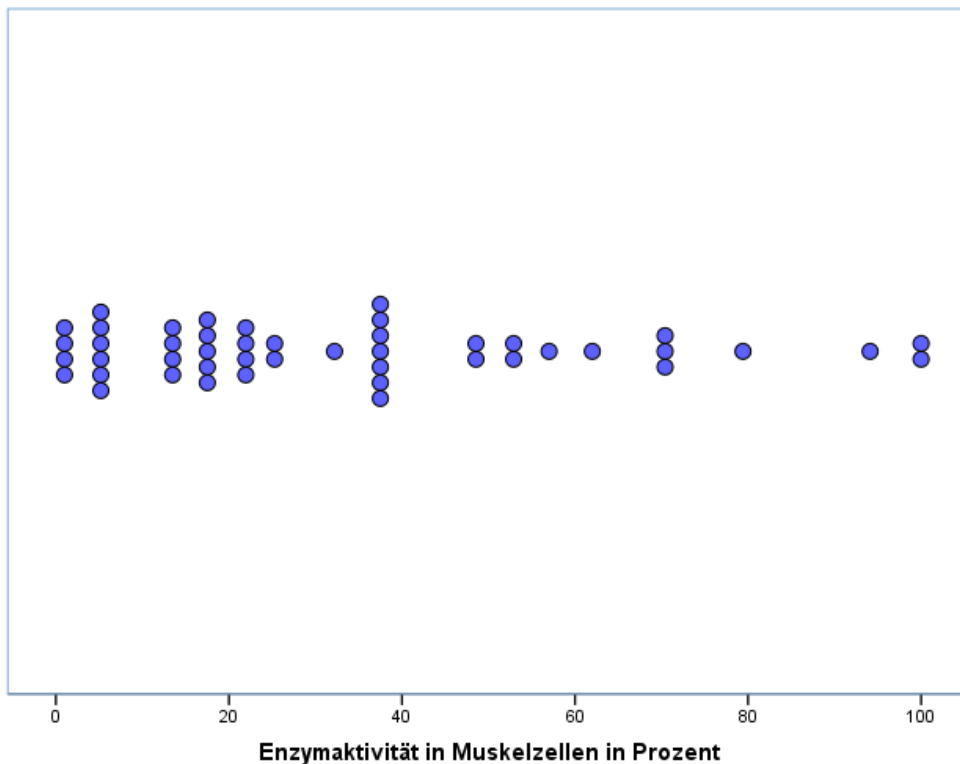


Abbildung 14: Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten von PDHA1 in Muskelzellen in Prozent ( $n=46$ , davon 44 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 2 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

Es lässt sich kein signifikanter Zusammenhang (Chi Quadrat:  $p = 0,138$ ) zwischen den verschiedenen Gruppen von Enzymaktivitäten (0%–19%, 20%–40%, 41%–60%, 61%–100%) und dem Alter bei Auftreten von Erstsymptomen (pränatal–neonatal, infantil, Kindheit–Adoleszenz) ausmachen. Patienten mit niedriger Restaktivität werden nicht automatisch früher symptomatisch als solche mit höherer Restaktivität. Dargestellt wird dieser Zusammenhang in Abbildung 17.

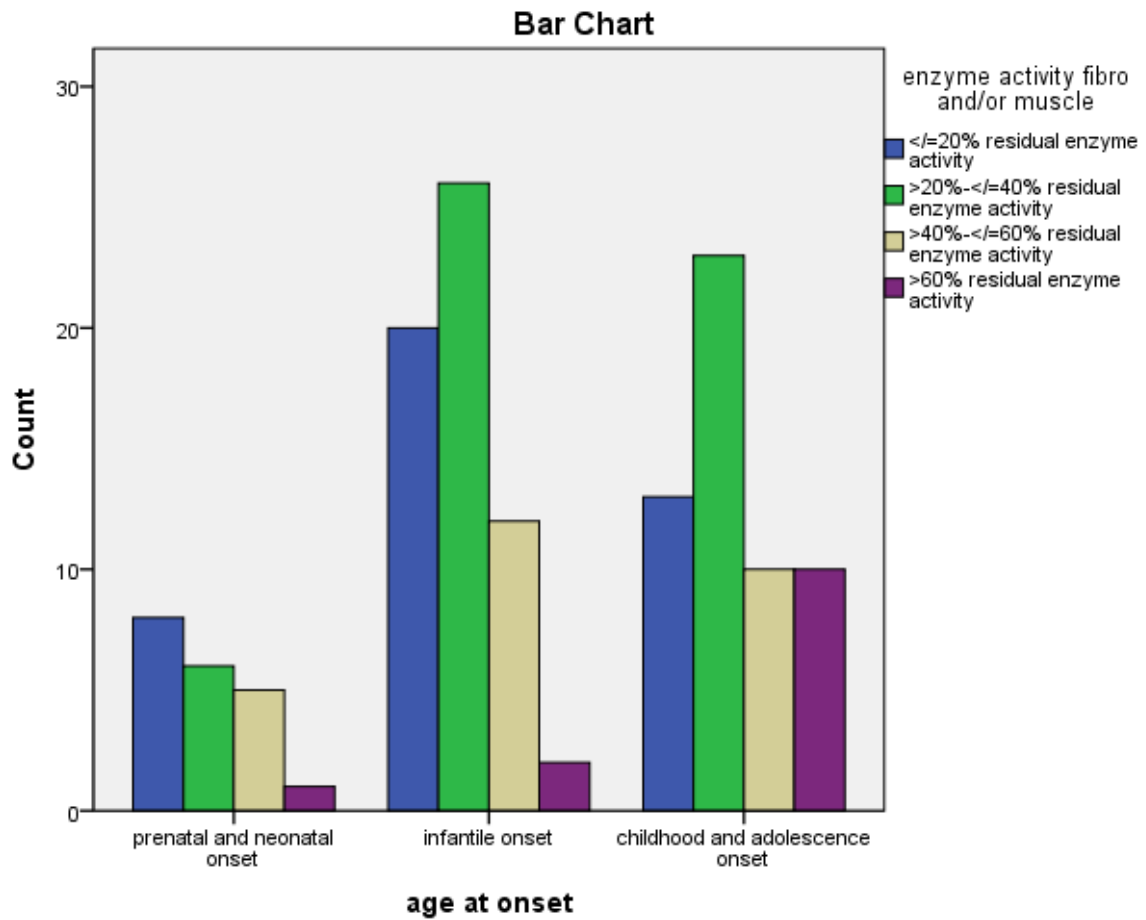


Abbildung 17: Vergleich der Gruppen-Enzymaktivität von PDHA1 und Alter bei Auftreten von Erstsymptomen

### 3.6 Überleben

Die Kaplan-Meier-Überlebenskurven von Patienten bezogen auf das Geschlecht konnten für insgesamt 270 Personen (n = 178 weiblich, n = 142 männlich) berechnet werden. 61 von ihnen (n = 22 weiblich, n = 39 männlich) sind verstorben. Es lässt sich kein signifikanter Unterschied im Überleben zwischen den Geschlechtern feststellen (Log-Rank-Test  $p = 0,073$ , Abbildung 18).

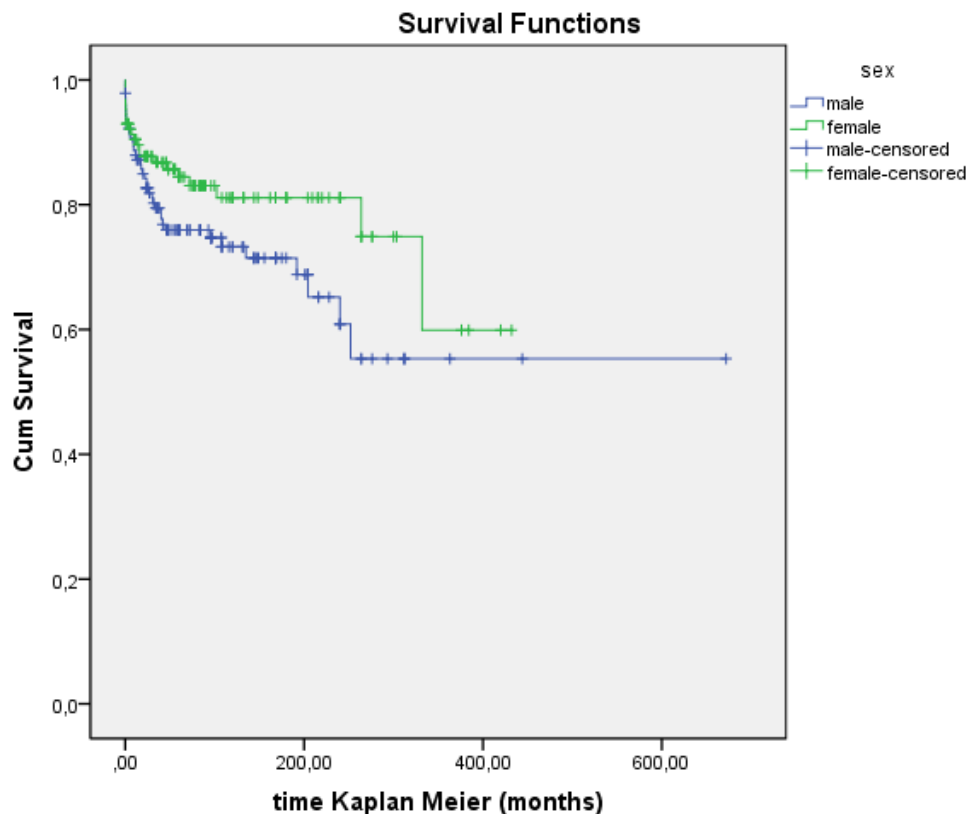


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf das Geschlecht, censored= zensierte Beobachtung - Ausscheiden einer Person aus der Beobachtungsgruppe ohne Erreichen des Outcomes,  $n=270$  (w:178; m:142), verstorben=61 (w:22; m:39)

Die Überlebensdauer von Patienten mit Varianten mit Funktionsverlust (LoF) und Patienten mit Varianten ohne Funktionsverlust (NLoF) konnten für 274 Patienten (n = 67 LoF, n = 207 NLoF) verglichen werden. Insgesamt sind 62 Personen (n = 13 LoF, n = 49 NLoF) zum Studienzeitpunkt verstorben. Der Log-Rank-Test ( $p = 0,515$ ) zeigt hier keinen signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit, grafisch dargestellt in Abbildung 19.

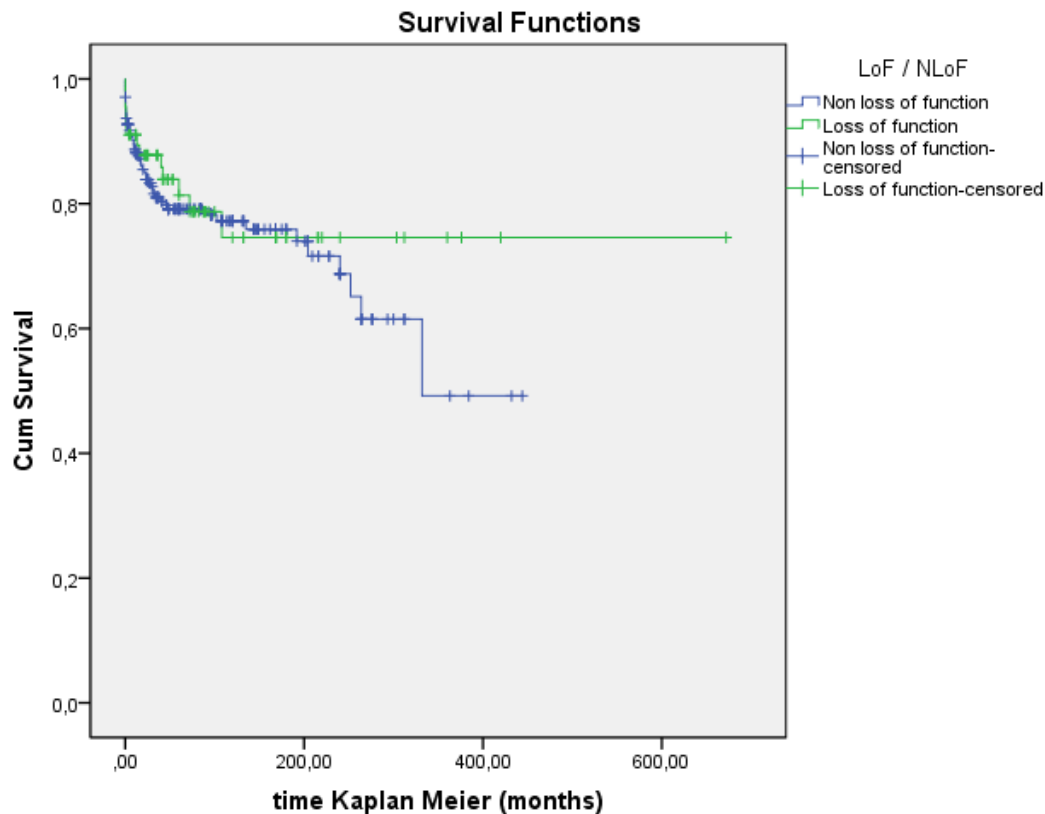


Abbildung 19: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Art der auftretenden Variante, censored= zensierte Beobachtung - Ausscheiden einer Person aus der Beobachtungsgruppe ohne Erreichen des Outcomes, n=274 (LoF:67; NLoF:207), verstorben=62 (LoF:13; NLoF:49)

Der Einfluss der Höhe der Restenzymaktivitäten in Fibroblasten bzw. Muskelzellen auf das Patientenüberleben wurde getrennt untersucht. Dabei wurden Werte  $\leq 20\%$  Restenzymaktivität mit Aktivitäten  $> 20\%$  verglichen (Mann-Whitney-U-Test  $p < 10^{-12}$ ). Für die Gruppe der Patienten mit Enzymaktivitäten in Fibroblasten konnten 109 Datensätze ( $n = 35 \leq 20\%$  Restenzymaktivität,  $n = 74 > 20\%$  Restenzymaktivität) verwendet werden. 35 der Patienten ( $n = 20 \leq 20\%$  Aktivität,  $n = 15 > 20\%$  Aktivität) verstarben. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit von Patienten mit niedriger im Vergleich zu Patienten mit höherer Enzymrestaktivität in Fibroblasten (Log-Rank-Test  $p = 0,0005$ , Abbildung 20).

Für die Überlebensanalyse in Bezug auf die Enzymaktivität in der Muskelbiopsie waren Daten von 36 Patienten ( $n = 17 \leq 20\%$  Restenzymaktivität,  $n = 19 > 20\%$  Restenzymaktivität) verfügbar. Elf dieser Patienten ( $n = 8 \leq 20\%$  Aktivität,  $n = 3 > 20\%$  Aktivität) sind verstorben. Auch hier ist ein signifikanter Unterschied der Überlebenszeiten zu verzeichnen (Log-Rank-Test  $p = 0,048$ ). Patienten mit einer höheren Enzymrestaktivität im Muskel zeigen ein längeres Überleben als solche mit niedrigerer Enzymaktivität von  $\leq 20\%$ . Die Abbildungen 20 und 21 veranschaulichen die Überlebenszeit aufgetrennt nach Enzymrestaktivitäten in Fibroblasten und Muskelzellen mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven.

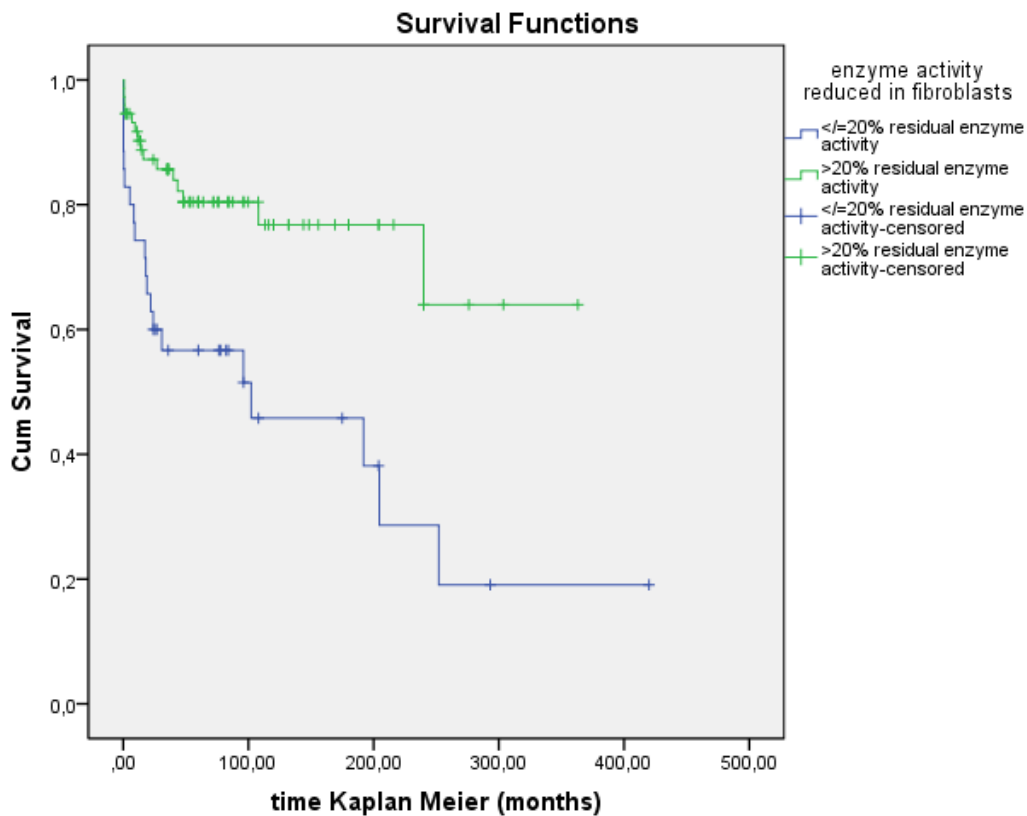


Abbildung 20: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Restenzymaktivität von Fibroblasten, censored= zensierte Beobachtung - Ausscheiden einer Person aus der Beobachtungsgruppe ohne Erreichen des Outcomes,  $n=109$  ( $\leq 20\%:35$ ;  $>20\%:74$ ), verstorben= $35$  ( $\leq 20\%:20$ ;  $>20\%:15$ )

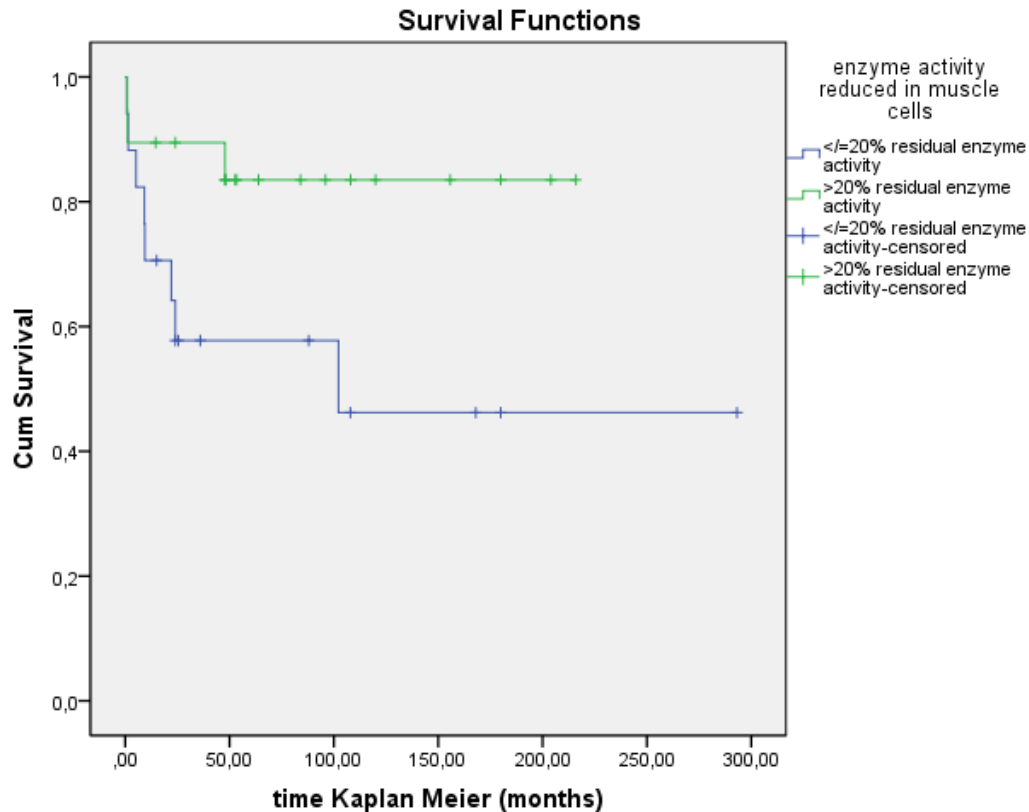


Abbildung 21: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Restenzymaktivität in Muskelzellen, censored= zensierte Beobachtung - Ausscheiden einer Person aus der Beobachtungsgruppe ohne Erreichen des Outcomes,  $n=36$  ( $\leq 20\%:17$ ;  $>20\%:19$ ), verstorben=11 ( $\leq 20\%:8$ ;  $>20\%:3$ )

Für 169 Personen konnte der Zusammenhang zwischen Überleben und Erstauftreten von Symptomen analysiert werden. Bei 58 wurden Symptome erstmals bereits pränatal oder neonatal berichtet, 67 zeigten Auffälligkeiten während der infantilen Entwicklungsperiode und 44 wurden während der Kindheit oder Adoleszenz symptomatisch. Insgesamt starben 35 dieser Patienten (23 pränatale/neonatale Todesfälle, elf infantile Todesfälle, ein Tod während Kindheit/Adoleszenz). Der Log-Rank-Test ergab einen signifikanten Unterschied im Überleben der verschiedenen Patientengruppen ( $p = 10^{-7}$ ). Ein frühes Auftreten von Symptomen (pränatal/neonatal) ist mit einer signifikant kürzeren Überlebenszeit der Patienten assoziiert (Abbildung 22).

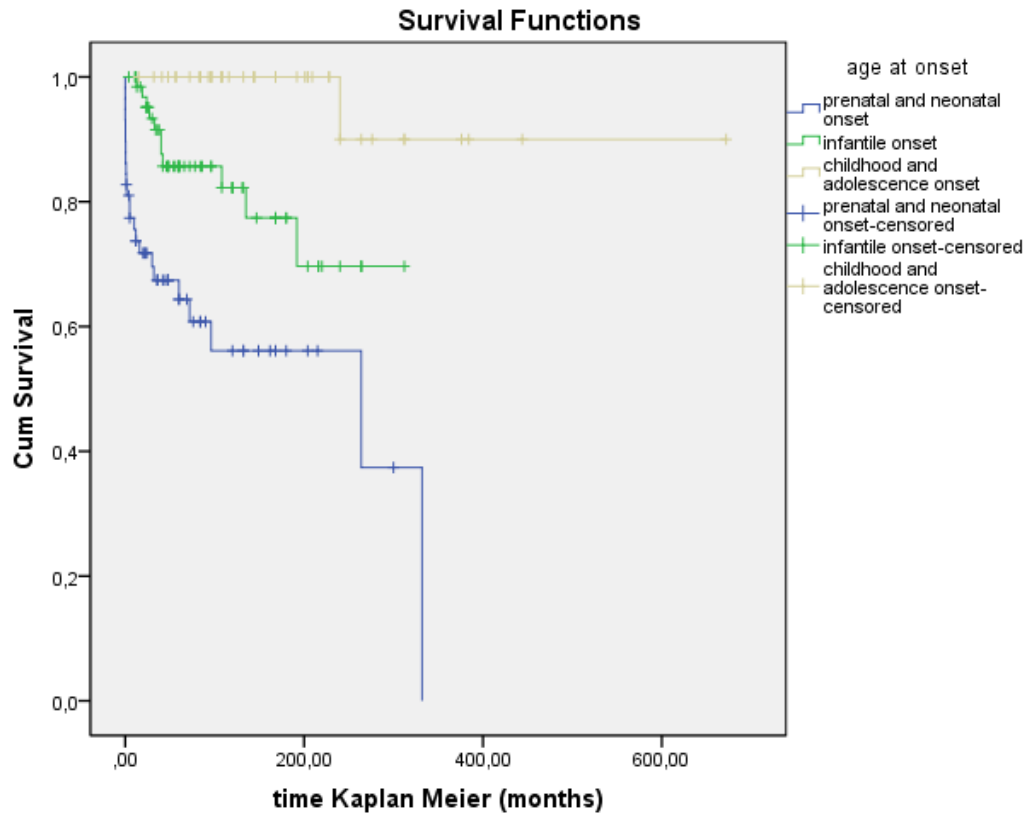


Abbildung 22: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf das Alter bei Erstauftreten von Symptomen, censored=zensierte Beobachtung - Ausscheiden einer Person aus der Beobachtungsgruppe ohne Erreichen des Outcomes, n=169 (pränatal/neonatal:58; infantil:67, Kindheit und Adoleszenz:44), verstorben=35 (pränatal/neonatal:23; infantil:11; Kindheit und Adoleszenz:1)



### 3.7 Behandlungsansätze

Vorherrschend unter den Behandlungsansätzen sind verschiedene Formen der ketogenen Diät sowie die Supplementation von Thiamin. Klassischerweise enthält eine ketogene Diät ein Verhältnis von vier Fettanteilen zu einem Kohlenhydratanteil. Die Supplementation von Thiamin, einem Cofaktor des PDHc, welche sich ebenfalls positiv auf die Symptomatik von Patienten auswirken kann, ist jedoch abhängig vom Km-Wert des Enzyms für Thiamin. 78% (134/172) der erfassten Patienten erhielten eine Art der ketogenen Diät. Der Effekt dieser Ernährungsform auf den Krankheitsverlauf wurde von 77% (57/74) der behandelnden Ärzte als „positiv“ bewertet. 88% (162/184) der Patienten nahmen regelmäßig Thiamin. Diese Behandlung wurde in 51% (59/115) der Fälle vom zuständigen Arzt als „positiv“ eingeschätzt. Über die detaillierte Dosis der Behandlungen sowie die Länge der Anwendungen kann hier keine Aussage getroffen werden.

## 4 Diskussion

### 4.1 Kongruentes Geschlechterverhältnis

In der vorliegenden Studie von 588 Patienten mit pathologischen *PDHA1*-Varianten wurden die Daten im Hinblick auf das Geschlecht spezifisch untersucht. Obwohl es sich um eine X-chromosomale Erkrankung handelt, ist das Verhältnis von weiblichen zu männlichen Patienten ausgeglichen (301 weibliche, 281 männliche). Unsere Studie bestätigt somit, was bereits in kleineren Studien vermutet wurde (Lissens et al. 2000).

Ein Erklärungsversuch für das Auftreten von symptomatischen weiblichen Patienten bietet die These der verzerrten X-Inaktivierung. Eine alternative Erklärung könnte ein unvollständig penetranter dominanter Phänotyp verbunden mit einer vollständigen penetranten Ausprägung bei Hemizygotie sein. Hierbei sind heterozygote Frauen betroffen und Männer kommen bedingt durch die verstärkte intrauterine Letalität bei Hemizygotie weniger häufig vor (Martin et al. 2021). Daten von > 11000 Exomen von Personen mit schwerer geistiger Behinderung zeigten eine ähnliche Wahrscheinlichkeit für X-chromosomale Störungen bei Männern und Frauen (ca. 6% (Martin et al. 2021)). Es ist anzunehmen, dass im Falle von *PDHA1*-Mangel Frauen in der Zeit vor der Methode von Next Generation Sequencing deutlich unterdiagnostiziert waren. Dies führt möglicherweise zu einer Stichprobenverzerrung der Studie im Sinne eines Erhebungsfehlers.

Diese These der unterschiedlichen Penetranz wird von den hier gemachten Beobachtungen der geschlechterspezifischen unterschiedlichen Geno- und Phänotypen gestützt.

Es lassen sich Unterschiede im Genotyp sowie im Phänotyp der beiden Gruppen erkennen. Zwar zeigen beide Patientengruppen mehr NLoF- als LoF-Varianten, Patientinnen zeigen im Vergleich zu männlichen Patienten jedoch signifikant mehr Varianten, die zu einem Funktionsverlust führen als männliche Patienten. Die zwei häufigsten Varianten, die in weiblichen Probanden gefunden wurden, sind c.904C>T, p.R302C (NLoF, n = 25/301) und c.934\_940del, p.S312Vfs\*12 (LoF, n = 19/301). Beide Varianten werden in männlichen Patienten sehr selten beziehungsweise gar nicht gesehen (n = 1/281, n = 0/281). Die zwei häufigsten in männlichen Patienten gefundenen Varianten sind: c.787C>G, p.R263G (NLoF n = 35/281), c.1133G>A, p.R378H (NLoF n = 21/281). Beide Varianten werden in weiblichen Patientinnen jeweils 6-mal (n = 6/301) gefunden. Ebenfalls tragen Männer in den N-terminalen Proteinabschnitten nur NLoF-Varianten, erst in den C-terminalen Exons zeigen sich in dieser

Gruppe LoF-Varianten. Die wahrscheinlichste Erklärung hierfür ist, dass bei hemizygoten Männern die LoF-Varianten im N-terminalen Bereich letal sind, während im C-terminalen Bereich eine Restfunktion des Enzymkomplexes erhalten bleibt. Bei weiblichen Patienten hingegen ermöglicht mutmaßlich der Mechanismus der X-Inaktivierung das Überleben.

Untersuchungen unserer Studie von Unterschieden im Phänotyp zeigten, dass weibliche Patienten in höherem Maß von schweren neurologischen Störungen wie Intelligenzminderung (w: 93%, m: 79%), Entwicklungsverzögerung (w: 93%, m: 73%), zerebraler Atrophie (w: 88%, m: 58%), Mikrozephalie (w: 79%, m: 37% =) oder Krampfereignissen/Epilepsie (w: 69% =, m: 48%) betroffen sind als männliche Patienten. Möglicherweise ist dies durch die Tatsache beeinflusst, dass weibliche Kinder mit schwerwiegenderen Lof-Varianten, bedingt durch die verzerrte X-Inaktivierung, zur Geburt kommen, während männliche Kinder mit schwerem Phänotyp intrauterin versterben und deshalb nicht berichtet werden.

Unsere Studie zeigte neben 301 symptomatischen Patientinnen auch 65 asymptotische Mütter auf, die Anlageträgerinnen sind. Daraus lässt sich abschätzen, dass 82% der Frauen mit PDHA1-Mangel symptomatisch sind. Dieser Prozentsatz ist vergleichbar mit dem Anteil erkrankter Frauen bei M. Fabry, hier sind ca. 70% der anlagetragenden Frauen symptomatisch (Deegan et al. 2006). Es zeigt sich aber ein deutlicher Unterschied zu den Prozentsätzen symptomatischer Frauen beim Ornithin-Transcarbamylase-Mangel (15% symptomatisch (Batshaw et al. 1986)) oder beim Barth-Syndrom (keine symptomatischen Frauen bekannt, mit Ausnahme einer Person mit Monosomie X (Cosson et al. 2012)).

## 4.2 Genetisches Spektrum

In unserer Kohorte von 588 Patienten konnten 240 verschiedene pathogene Varianten im *PDHA1*-Gen gefunden werden. Diese Studie umfasst dabei 219 bis dato nicht publizierte Patienten und kann das genetische Spektrum um 61 Varianten erweitern. Die 240 gefundenen Varianten erstrecken sich über fast alle Genabschnitte. Insgesamt lassen sich mehr Patienten mit Erbgutveränderungen ohne Funktionsverlust (NLoF) feststellen. Die Häufigkeit von Erbgutveränderungen, die zu einem Funktionsverlust (LoF) des Gens führen, nimmt in Richtung Ende des Gens kontinuierlich zu. Vermutlich sind LoF-Varianten gegen Ende des Gens nicht so letal wie am Anfang des Gens.

Nach einer von uns durchgeführten Neukategorisierung der Varianten gemäß ACMG-Kriterien mussten die folgenden Varianten erneut eingeordnet werden: c.406 G>A; p.A136T, c.604-10 C>G; p.?, c.759+26 G>A; p.? und c.844 A>C; p.M282L wurden aufgrund der Allelfrequenz reklassifiziert, c.1159 A>C; p.K387Q wurde in einem Paper ohne funktionelle Studien mit MS verknüpft und wird deshalb ebenfalls nicht in unsere Studie berücksichtigt. Die Diagnose einer PDHc-Defizienz war nicht haltbar. Möglicherweise waren die genannten Varianten zum Zeitpunkt ihrer Veröffentlichung noch nicht häufig genug beschrieben worden und/oder noch nicht als benigne in ClinVar gelistet. Die Reklassifizierung ist somit wichtig in Bezug auf zukünftige genetische Untersuchungen potentieller Patienten.

Die meisten der von uns identifizierten Patienten (91%) wurden mittels Sanger-Sequenzierung diagnostiziert. Heute und in Zukunft ist die Sanger-Sequenzierung jedoch nicht mehr die erste Methode der Wahl zur Diagnostik der PDHc-Defizienz. Exom-Sequenzierungen sind heute und wahrscheinlich auch in Zukunft wichtige Elemente für die Diagnostik von PDHc-Defizienz.

Ein Großteil der Patienten (72% = 167/232; w: 79%, m: 67%) zeigt nicht vererbte – *de novo* entstandene – Varianten. Hierbei fällt ein großer Anteil (57% = 95/167) an rekurrent auftretenden *de novo*-Varianten auf. Der Anteil bei anderen X-chromosomal vererbten Erkrankungen ist mit circa 30% deutlich geringer (Beispiele: Lesch-Nyhan-Syndrom 30% (Torres und Puig 2007), Hämophilie A 30% (Mannucci und Tuddenham 2001), Barth-Syndrom 37% (Spencer et al. 2006), Muskeldystrophie Typ Duchenne 24% (Tuffery-Giraud et al. 2009)). Die *de novo* Rate ist abhängig von der Überlebensfähigkeit der Mutation. Wenn Träger einer dominanten Mutation nicht überleben bzw. sich nicht fortpflanzen, wie es beispielsweise bei männlichen Trägern der Muskeldystrophie Typ Duchenne der Fall ist, bleibt die *de novo* Rate konstant bei 30%. Im Falle der PDHc-Defizienz sind jedoch auch Frauen häufig so schwer betroffen, dass eine Fortpflanzung nicht stattfindet, deshalb ist hier eine höhere *de novo* Rate zu erwarten.

#### 4.3 Klinisches Spektrum

Das klinische Spektrum der vorrangig neurologischen Symptome, welches in früheren, kleineren Studien berichtet wurde, wird durch diese Arbeit bestätigt.

Eine Verminderung der Intelligenz ist das insgesamt am häufigsten festgestellte neurologische Symptom bei Patienten mit pathologischer *PDHAI*-Variante (88%, 174/189). Dennoch ist hervorzuheben, dass Patientinnen etwas häufiger unter Intelligenzminderung leiden (w:93%;

m:79%). Außerdem weisen Frauen öfters als Männer Symptome auf, welche die Gehirnaktivität möglicherweise in größerem Maße beeinflussen (Mikrozephalie, Krampfereignisse). Zusammenfassend zeigt sich, dass Frauen einen ungünstigeren Phänotyp als Männer aufweisen. Dieser ist dadurch zu erklären, dass Patientinnen häufiger als männliche Betroffene Varianten aufweisen, die zum Funktionsverlust des Gens führen.

Auffällig ist jedoch, dass 9% (7/75) der mittels Case-Report-Formular erhobenen Patienten keine Beeinträchtigung ihrer intellektuellen Fähigkeiten (drei weiblich, vier männlich, Altersspannweite 7,75–22 Jahre) zeigten. Dadurch lässt sich das klinische Spektrum der Erkrankung um den Phänotyp der Patienten ohne Intelligenzminderung erweitern. Alle diese Personen besuchen eine Regelschule oder schlossen diese ab. Beratungsanlässe, die zur Diagnostikeinleitung führten, waren paroxysmale belastungsbedingte Dyskinesie (n = 1), Belastungsintoleranz und Tachypnoe (n = 1), akut einsetzende Bewegungsstörungen (n = 2), episodisch auftretende Ataxie (n = 1), episodisch auftretende Enzephalopathie mit reversiblen Basalganglienläsionen (n = 1) sowie muskuläre Hypotonie, Regression der Entwicklung und Basalganglienläsionen im zeitlichen Zusammenhang mit einer Impfung (n = 1). Die Patienten wiesen sechs verschiedene Varianten auf (c.193\_195delinsCAA, c.262C>T (n = 2), c.472A>G, c.491A>G, c.787C>G und c.1159\_1162dup). Die genannten Aminosäuren-Veränderungen betreffen sowohl evolutionär hoch konservierte als auch niedrig konservierte Positionen. Da die Varianten nicht auf das Vorliegen einer Mosaikvariante hin untersucht wurden, lässt sich nur mutmaßen, dass Mosaikvarianten ein Grund für den Erhalt der intellektuellen Fähigkeiten der Patienten darstellen.

Die Tatsache, dass ein frühes Auftreten von Symptomen signifikant früher zum Versterben der Patienten führt, lässt die Schlussfolgerung zu, dass Patienten mit schwerwiegenderen Symptomen auch früher Symptome zeigen. Eine niedrigere Restenzymaktivität führt ebenfalls signifikant zu einem kürzeren Überleben. Dennoch lassen sich niedrigere Enzymaktivitäten unter 20% ebenso wie solche über 20% messen, in beiden Fällen zeigen die Patienten erkrankungstypische Symptome. Eine hohe Restenzymaktivität schützt deshalb nicht vor dem Auftreten von Symptomen, sie beeinflusst lediglich den Grad der Ausprägung. Auch hier liegt die Vermutung nahe, dass Mosaikvarianten für die Ausbildung von Symptomen eine entscheidende Rolle spielen.

Unsere Studie kann einen Zusammenhang zwischen PDHc-Defizienz und Multipler Sklerose, wie von einer kanadischen Arbeitsgruppe postuliert (Traboulee et al. 2017), nicht reproduzieren. Sowohl in unserer Literaturrecherche „Multiple Sklerose“ als auch im Case-

Report-Formular konnte ein solcher Zusammenhang nicht dargestellt werden. Ebenso lässt sich das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) nicht sicher als ein Merkmal der PDHc-Defizienz darstellen. Es werden Fälle von GBS imitierenden Episoden beschrieben, diese lassen sich jedoch nicht als eindeutiges GBS diagnostizieren.

#### 4.4 Interpretation von Überlebensdaten

Zur besseren prognostischen Einordnung des Krankheitsverlaufs der Patienten stellt die Analyse von Überlebensdaten eines der Kernelemente dieser Arbeit dar. Es konnten Faktoren beobachtet werden, welche mit einem kürzeren Überleben assoziiert waren (früher Symptombeginn und niedrige Restenzymaktivität in Fibroblasten oder Muskelzellen) und solche ausgemacht werden, die für das Überleben keine Signifikanz zeigten (Geschlecht und Erbgutveränderungen mit oder ohne Funktionsverlust).

Zwischen den Geschlechtern lässt sich kein signifikanter Unterschied im Überleben feststellen (LogRank-Test  $p = 0,073$ ). Es ist zu erwarten, dass ein Kind – unabhängig vom Geschlecht –, das intrauterin nicht infolge seines schweren Phänotyps verstorben ist, generell dieselben Überlebenschancen hat. Es ist zu erwarten, dass andere Faktoren wie Umwelteinflüsse und Modifier-Gene das individuelle Überleben zusätzlich beeinflussen.

Im Vergleich des Überlebens von Patienten mit Erbgutveränderungen, die zum Funktionsverlust des Gens führen, zu solchen mit Erbgutveränderung, die nicht zum Funktionsverlust führen, lässt sich kein Vorteil im Überleben einer der Gruppen ausmachen. Der Genotyp hat somit keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben (Log-Rank-Test  $p = 0,515$ ). Naheliegend ist deshalb, dass Mosaikvarianten Einfluss auf den Phänotyp haben und so die Überlebensprognose beeinflussen.

Das Überleben und die Schwere des Krankheitsverlaufs von Patienten mit PDHA1-Defizienz ist assoziiert mit dem Alter des ersten Auftretens von Symptomen: Bei Patienten mit früherem Manifestationsalter lassen sich schwerere Symptome, ein schwererer Verlauf und ein kürzeres Überleben beobachten. Patienten mit kindlichem bis adoleszentem Symptombeginn zeigen ein signifikant besseres Langzeitüberleben als Patienten mit infantilem Symptombeginn. Ebenso zeigen diese jedoch ein signifikant besseres Überleben als Patienten mit pränatalem bis neonatalem Symptombeginn. Möglicherweise ist dies multifaktoriell auch durch Umwelteinflüsse oder den Einfluss von Modifikator-Genen bedingt. Hiermit einher geht, dass ein früherer Symptombeginn auch häufiger mit schwererer neurologischer Symptomatik

verbunden ist, z.B. Intelligenzminderung bei Patienten mit pränatalem/neonatalem Beginn 100% vs. 97% bei infantilem, 50% bei kindlichem Beginn. Auch die folgenden Symptome sind erheblich häufiger bei Patienten mit frühem Symptombeginn zu finden: Entwicklungsverzögerung, zerebrale Atrophie, Mikrozephalie, Krampfereignisse/Epilepsie. Dieser Zusammenhang zwischen Erstmanifestationsalter und Verlauf wurde bereits bei anderen mitochondrialen Erkrankungen wie beispielsweise Polymerase Gamma-Defizienz (POLG) (Hikmat et al. 2020) oder Caseinolytische Protease B-Defizienz (CLPB) (Pronicka et al. 2017) beschrieben und ist bedeutend für das Gespräch und die Aufklärung der Eltern über den zu erwartenden Krankheitsverlauf.

Ebenso zeigte die Studie eine Korrelation zwischen der Restenzymaktivität der PDHc in Fibroblasten oder Muskel und der Überlebensrate. Eine höhere Enzymrestaktivität in Fibroblasten oder Muskelzellen von größer 20% ist mit einem längeren Überleben der Patienten assoziiert. Die Messung der Restenzymaktivität in Fibroblasten sollte daher auch bei genetisch gesicherten Patienten veranlasst werden. Diese stellt ein wenig invasives Verfahren mit erheblichem zusätzlichem Beratungswert dar.

## 5 Zusammenfassung

Die hier zusammengetragene Patientenkohorte von fast 600 Patienten mit PDH-Mutationen ist die bisher umfangreichste publizierte Kohorte und umfasst sowohl eine Auswertung aller 369 publizierten Fällen wie auch von 219 neuen Fällen. Das genetische Spektrum ist mit über 200 verschiedenen Varianten äußerst heterogen. Zusätzlich wurden einzelne zuvor als pathogen publizierte Varianten neu interpretiert, als nicht pathogen reklassifiziert und dadurch einige Patienten aus der Studie ausgeschlossen. Diesem Prozess der Reklassifizierung kommt eine hohe Bedeutung zu für zukünftige genetische Untersuchungen von potentiellen Patienten.

Die gleiche Verteilung von männlichen und weiblichen Patienten, welche in früheren kleinen Studien gezeigt wurde, konnte bestätigt werden. Gründe dafür sind ein variierendes Muster an Mutationstypen mit unterschiedlichen Penetranzen bei Männern und Frauen, welche durch verschiedene pränatale Sterberaten bei männlichen und weiblichen Feten bedingt sind.

Das häufige Auftreten von rekurrenten Varianten zeigt, dass es in sogenannten Hotspotregionen häufiger zu Veränderungen im Gen kommt als an anderen Stellen.

Die vorliegende Arbeit beschreibt innerhalb der mittels Prüfbogen gewonnenen Patienten 7 Patienten ohne Intelligenzdefizit. Dieser Anteil kann durch Mosaikvarianten bedingt sein und die Differentialdiagnose einer PDHc-Defizienz sollte bei normaler Intelligenz nicht ausgeschlossen werden.

Ein wesentlicher Bestandteil dieser Arbeit war es, Faktoren herauszufinden, welche den Krankheitsverlauf und das Überleben vorhersagen und somit für die Beratung der Familie genutzt werden können. Es konnte gezeigt werden, dass der Genotyp allein keinen Einfluss auf das Überleben hat. Vielmehr ist das frühe Alter bei Erstauftreten von Symptomen ebenso wie eine niedrige Enzymrestaktivität der PDHA1 in Fibroblasten oder Muskelzellen assoziiert mit einem schwereren Krankheitsverlauf und einem kürzeren Überleben. Aufgrund dessen ist eine Bestimmung der Enzymrestaktivität in Fibroblasten auch bei genetisch gesicherten Patienten zu empfehlen.



## 6 Abkürzungsverzeichnis

Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ACMG	American College of Medical Genetics
ATP	Adenosintriphosphat
C	Atmungskettenkomplex
CoA	Coenzym A
CSF	Cerebrospinal fluid
GBS	Guillain-Barré-Syndrom
gnomAD	The Genome Aggregation Database
I	infantil
k. A.	keine Angabe
K/A	Kindheit/Adoleszenz
KD	ketogene Diäten
Lof	loss of function
LP	vermutlich pathogen
MRT	Magnetresonanztomographie
n	number
NA	nicht in ClinVar gelistet
NLof	Non loss of function
OXPHOS	Pyruvat-Oxidationsprozess
P	Pathogen
PC	Pyruvat Carboxylase
PDHA1	Pyruvat-Dehydrogenase-E1-Alphauntereinheit
<i>PDHA1</i>	Gen, das für die PDHA1 codiert
PDHc	Pyruvat Dehydrogenase Komplex
P/N	pränatal/neonatal
POLG	DNA-Polymerase Gamma
TPP	Thiaminpyrophosphat
v/b	Varianten pro Basenpaar
VUS	Variant of unknown significance
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 7 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Stoffwechselwege Richtung Atmungskette
- Abbildung 2: Enzymkomponenten der PDHc
- Abbildung 3: Patientenkohorte
- Abbildung 4: Verteilung der bisher unpublizierten Varianten über *PDHA1*
- Abbildung 5: Einfluss des Mutationstyps auf das Auftreten über die Exons
- Abbildung 6: Unterschied zwischen den Gruppen Geschlecht und Mutationstyp
- Abbildung 7: Altersverteilung der Patientenkohorte zum Studienzeitpunkt
- Abbildung 8: Auftretenshäufigkeit der verschiedenen neurologischen Symptome
- Abbildung 9: Neurologische und neuro-radiologische Symptome bei Frauen
- Abbildung 10: Neurologische und neuro-radiologische Symptome bei Männern
- Abbildung 11: Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten von PDHA1 in Fibroblasten in Prozent
- Abbildung 12: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Frauen gemessen in Fibroblasten in Prozent
- Abbildung 13: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Männern gemessen in Fibroblasten in Prozent
- Abbildung 14: Verteilung der gemessenen Enzymaktivitäten von PDHA1 in Muskelzellen in Prozent
- Abbildung 15: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Frauen gemessen in Muskelzellen in Prozent
- Abbildung 16: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Männern gemessen in Muskelzellen in Prozent
- Abbildung 17: Vergleich der Gruppen-Enzymaktivität von PDHA1 und Alter bei Auftreten von Erstsymptomen
- Abbildung 18: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf das Geschlecht
- Abbildung 19: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Art der auftretenden Variante
- Abbildung 20: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Restenzymaktivität von Fibroblasten
- Abbildung 21: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf die Restenzymaktivität von Muskelzellen
- Abbildung 22: Kaplan-Meier-Überlebenskurve bezogen auf das Alter bei Erstauftreten von Symptomen

## 8 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Kategorien des Prüfbogens
- Tabelle 2: Liste aller verschiedenen ermittelten Varianten.
- Tabelle 3: Auflistung aller gefundenen rekurrenten *de novo*-Varianten.

## 9 Literaturverzeichnis

### Literaturverzeichnis

Aziz, Khalid; Lee, Chair Henry C.; Escobedo, Marilyn B.; Hoover, Amber V.; Kamath-Rayne, Beena D.; Kapadia, Vishal S. et al. (2021): Part 5: Neonatal Resuscitation 2020 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. In: *Pediatrics* 147 (Suppl 1). DOI: 10.1542/peds.2020-038505E.

Barnerias, Christine; Saudubray, Jean-Marie; Touati, Guy; Lonlay, Pascale de; Dulac, Olivier; Ponsot, Gerard et al. (2010): Pyruvate dehydrogenase complex deficiency: four neurological phenotypes with differing pathogenesis. In: *Developmental medicine and child neurology* 52 (2), e1-9. DOI: 10.1111/j.1469-8749.2009.03541.x.

Batshaw, Mark L.; Msall, Michael; Beaudet, Arthur L.; Trojak, Joseph (1986): Risk of serious illness in heterozygotes for ornithine transcarbamylase deficiency. In: *The Journal of pediatrics* 108 (2), S. 236–241. DOI: 10.1016/s0022-3476(86)80989-1.

Berg, Jeremy M.; Tymoczko, John L.; Gatto, Gregory J.; Stryer, Lubert (2018): Stryer Biochemie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Brown, G. K.; Otero, L. J.; LeGris, M.; Brown, R. M. (1994): Pyruvate dehydrogenase deficiency. In: *Journal of medical genetics* 31 (11), S. 875–879. DOI: 10.1136/jmg.31.11.875.

Cosson, Laure; Toutain, Annick; Simard, Gilles; Kulik, Willem; Matyas, Gabor; Guichet, Agnès et al. (2012): Barth syndrome in a female patient. In: *Molecular genetics and metabolism* 106 (1), S. 115–120. DOI: 10.1016/j.yimgme.2012.01.015.

Deegan, P. B.; Baehner, A. F.; Barba Romero, M-A; Hughes, D. A.; Kampmann, C.; Beck, M. (2006): Natural history of Fabry disease in females in the Fabry Outcome Survey. In: *Journal of medical genetics* 43 (4), S. 347–352. DOI: 10.1136/jmg.2005.036327.

Goldenberg, Robert L.; Culhane, Jennifer F.; Iams, Jay D.; Romero, Roberto (2008): Epidemiology and causes of preterm birth. In: *The Lancet* 371 (9606), S. 75–84. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60074-4.

Hikmat, Omar; Naess, Karin; Engvall, Martin; Klingenberg, Claus; Rasmussen, Magnhild; Tallaksen, Chantal Me et al. (2020): Simplifying the clinical classification of polymerase gamma (POLG) disease based on age of onset; studies using a cohort of 155 cases. In: *Journal of inherited metabolic disease* 43 (4), S. 726–736. DOI: 10.1002/jimd.12211.

Klopstock, Thomas; Priglinger, Claudia; Yilmaz, Ali; Kornblum, Cornelia; Distelmaier, Felix; Prokisch, Holger (2021): Mitochondrial Disorders. In: *Deutsches Arzteblatt international* 118 (44), S. 741–748. DOI: 10.3238/arztebl.m2021.0251.

Ligt, Joep de; Willemsen, Marjolein H.; van Bon, Bregje W M; Kleefstra, Tjitske; Yntema, Helger G.; Kroes, Thessa et al. (2012): Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. In: *The New England journal of medicine* 367 (20), S. 1921–1929. DOI: 10.1056/NEJMoa1206524.

Lissens, W.; Meirleir, L. de; Seneca, S.; Liebaers, I.; Brown, G. K.; Brown, R. M. et al. (2000): Mutations in the X-linked pyruvate dehydrogenase (E1) alpha subunit gene (PDHA1) in patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency. In: *Human mutation* 15 (3), S. 209–219. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1004(200003)15:3<209::AID-HUMU1>3.0.CO;2-K.

Mannucci, P. M.; Tuddenham, E. G. (2001): The hemophilias--from royal genes to gene therapy. In: *The New England journal of medicine* 344 (23), S. 1773–1779. DOI: 10.1056/NEJM200106073442307.

Martin, Hilary C.; Gardner, Eugene J.; Samocha, Kaitlin E.; Kaplanis, Joanna; Akawi, Nadia; Sifrim, Alejandro et al. (2021): The contribution of X-linked coding variation to severe developmental disorders. In: *Nature communications* 12 (1), S. 627. DOI: 10.1038/s41467-020-20852-3.

Matthews, P. M.; Brown, R. M.; Otero, L. J.; Marchington, D. R.; LeGris, M.; Howes, R. et al. (1994): Pyruvate dehydrogenase deficiency. Clinical presentation and molecular genetic characterization of five new patients. In: *Brain : a journal of neurology* 117 (Pt 3), S. 435–443. DOI: 10.1093/brain/117.3.435.

Munnich, A.; Rötig, A.; Chretien, D.; Cormier, V.; Bourgeron, T.; Bonnefont, J. P. et al. (1996): Clinical presentation of mitochondrial disorders in childhood. In: *Journal of inherited metabolic disease* 19 (4), S. 521–527. DOI: 10.1007/BF01799112.

Naito, Etsuo; Ito, Michinori; Yokota, Ichiro; Saijo, Takahiko; Matsuda, Junko; Ogawa, Yukiko et al. (2002): Thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency in two patients caused by a point mutation (F205L and L216F) within the thiamine pyrophosphate binding region. In: *Biochimica et biophysica acta* 1588 (1), S. 79–84. DOI: 10.1016/s0925-4439(02)00142-4.

Patel, Kavi P.; O'Brien, Thomas W.; Subramony, Sankarasubramon H.; Shuster, Jonathan; Stacpoole, Peter W. (2012): The spectrum of pyruvate dehydrogenase complex deficiency:

clinical, biochemical and genetic features in 371 patients. In: *Molecular genetics and metabolism* 106 (3), S. 385–394. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.03.017.

PDHA1 pyruvate dehydrogenase E1 subunit alpha 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI (2022). Online verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=5160#gene-expression>, zuletzt aktualisiert am 12.11.2022, zuletzt geprüft am 12.11.2022.

Pronicka, Ewa; Ropacka-Lesiak, Mariola; Trubicka, Joanna; Pajdowska, Magdalena; Linke, Markus; Ostergaard, Elsebet et al. (2017): A scoring system predicting the clinical course of CLPB defect based on the foetal and neonatal presentation of 31 patients. In: *Journal of inherited metabolic disease* 40 (6), S. 853–860. DOI: 10.1007/s10545-017-0057-z.

Rassow, Joachim; Hauser, Karin; Netzker, Roland; Deutzmann, Rainer (2012): Biochemie. 3., vollst. überarb. und erw. Aufl. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe). Online verfügbar unter <http://www.dualereihe.thieme.de/html/startseite.html>.

Richards, Sue; Aziz, Nazneen; Bale, Sherri; Bick, David; Das, Soma; Gastier-Foster, Julie et al. (2015): Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. In: *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 17 (5), S. 405–424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.

Robinson, B. H.; MacKay, N.; Chun, K.; Ling, M. (1996): Disorders of pyruvate carboxylase and the pyruvate dehydrogenase complex. In: *Journal of inherited metabolic disease* 19 (4), S. 452–462. DOI: 10.1007/BF01799106.

Schaefer, Andrew M.; Taylor, Robert W.; Turnbull, Douglass M.; Chinnery, Patrick F. (2004): The epidemiology of mitochondrial disorders--past, present and future. In: *Biochimica et biophysica acta* 1659 (2-3), S. 115–120. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2004.09.005.

Sofou, Kalliopi; Dahlin, Maria; Hallböök, Tove; Lindfeldt, Marie; Viggedal, Gerd; Darin, Niklas (2017): Ketogenic diet in pyruvate dehydrogenase complex deficiency: short- and long-term outcomes. In: *Journal of inherited metabolic disease* 40 (2), S. 237–245. DOI: 10.1007/s10545-016-0011-5.

Speer, Christian P.; Gahr, Manfred; Dötsch, Jörg (2019): Pädiatrie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Spencer, Carolyn T.; Bryant, Randall M.; Day, Jane; Gonzalez, Iris L.; Colan, Steven D.; Thompson, W. Reid et al. (2006): Cardiac and clinical phenotype in Barth syndrome. In: *Pediatrics* 118 (2), e337-46. DOI: 10.1542/peds.2005-2667.

Sperl, W. (2009): Diagnostik und Therapieansätze bei Mitochondriopathien im Kindes- und Jugendalter. Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS). Ergebnisse von 3 Expertenkonferenzen Dzt. Stand der Leitlinienentwicklung: Entwicklungsstufe 2. Unter Mitarbeit von P. Burgard, P. Freisinger, H. Mayr und B. Rolinsky. Online verfügbar unter [http://www.mito-center.org/mito-center.org/fileadmin/user\\_upload/LLUpdateAWMF2009Final.pdf](http://www.mito-center.org/mito-center.org/fileadmin/user_upload/LLUpdateAWMF2009Final.pdf).

Torres, Rosa J.; Puig, Juan G. (2007): Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome. In: *Orphanet journal of rare diseases* 2, S. 48. DOI: 10.1186/1750-1172-2-48.

Traboulee, Anthony L.; Sadovnick, A. Dessa; Encarnacion, Mary; Bernales, Cecily Q.; Yee, Irene M.; Criscuoli, Maria G.; Vilariño-Güell, Carles (2017): Common genetic etiology between "multiple sclerosis-like" single-gene disorders and familial multiple sclerosis. In: *Human genetics* 136 (6), S. 705–714. DOI: 10.1007/s00439-017-1784-9.

Tuffery-Giraud, Sylvie; Bérout, Christophe; Leturcq, France; Yaou, Rabah Ben; Hamroun, Dalil; Michel-Calemard, Laurence et al. (2009): Genotype-phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase. In: *Human mutation* 30 (6), S. 934–945. DOI: 10.1002/humu.20976.

Tweed, Emily J.; Mackay, Daniel F.; Nelson, Scott M.; Cooper, Sally-Ann; Pell, Jill P. (2016): Five-minute Apgar score and educational outcomes: retrospective cohort study of 751,369 children. In: *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 101 (2), F121-6. DOI: 10.1136/archdischild-2015-308483.

van Dongen, Sanne; Brown, Ruth M.; Brown, Garry K.; Thorburn, David R.; Boneh, Avihu (2015): Thiamine-Responsive and Non-responsive Patients with PDHC-E1 Deficiency: A Retrospective Assessment. In: *JIMD reports* 15, S. 13–27. DOI: 10.1007/8904\_2014\_293.

Wortmann, Saskia B.; Mayr, Johannes A.; Nuoffer, Jean Marc; Prokisch, Holger; Sperl, Wolfgang (2017): A Guideline for the Diagnosis of Pediatric Mitochondrial Disease: The Value of Muscle and Skin Biopsies in the Genetics Era. In: *Neuropediatrics* 48 (4), S. 309–314. DOI: 10.1055/s-0037-1603776.

Zweers, Heidi; van Wegberg, Annemiek M. J.; Janssen, Mirian C. H.; Wortmann, Saskia B. (2021): Ketogenic diet for mitochondrial disease: a systematic review on efficacy and safety. In: *Orphanet journal of rare diseases* 16 (1), S. 295. DOI: 10.1186/s13023-021-01927-w.



## 10 Titel der Literaturrecherche

Ah Mew, N., Loewenstein, J. B., Kadom, N., Lichter-Konecki, U., Gropman, A. L., Martin, J. M. et al. (2011). MRI features of 4 female patients with pyruvate dehydrogenase E1 alpha deficiency. *Pediatric Neurology*, 45(1), 57–59.

Asencio, C., Rodríguez-Hernandez, M. A., Briones, P. [Paz], Montoya, J., Cortés, A., Emperador, S. et al. (2016). Severe encephalopathy associated to pyruvate dehydrogenase mutations and unbalanced coenzyme Q10 content. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 24(3), 367–372.

Bachmann-Gagescu, R., Merritt, J. L. & Hahn, S. H. (2009). A cognitively normal PDH-deficient 18-year-old man carrying the R263G mutation in the PDHA1 gene. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 32 Suppl 1.

Barnerias, C. [Christine], Saudubray, J.-M. [Jean-Marie], Touati, G., Lonlay, P. de [Pascale], Dulac, O., Ponsot, G. et al. (2010). Pyruvate dehydrogenase complex deficiency: four neurological phenotypes with differing pathogenesis. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 52(2), e1-9.

Benelli, C., Fouque, F., Redonnet-Vernhet, I., Malgat, M., Fontan, D., Marsac, C. [C.] et al. (2002). A novel Y243S mutation in the pyruvate dehydrogenase E1 alpha gene subunit: correlation with thiamine pyrophosphate interaction. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 25(4), 325–327.

Boichard, A., Venet, L. [L.], Naas, T., Boutron, A. [A.], Chevret, L., Baulny, H. O. de et al. (2008). Two silent substitutions in the PDHA1 gene cause exon 5 skipping by disruption of a putative exonic splicing enhancer. *Molecular Genetics and Metabolism*, 93(3), 323–330.

Brivet, M. [Michèle], Moutard, M.-L., Zater, M. [Mokhtar], Venet, L. [Lydia], Chenel, C., Mine, M. et al. (2005). First characterization of a large deletion of the PDHA 1 gene. *Molecular Genetics and Metabolism*, 86(4), 456–461.

Brown, R. M. [R. M.], Head, R. A., Boubriak, I. I., Leonard, J. V. & Brown, G. K. [G. K.]. (2003). A pathogenic glutamate-to-aspartate substitution (D296E) in the pyruvate dehydrogenase E1 subunit gene PDHA1. *Human Mutation*, 22(6), 496–497.

- Cameron, J. M., Levandovskiy, V., Mackay, N., Tein, I. & Robinson, B. H. [Brian H.]. (2004). Deficiency of pyruvate dehydrogenase caused by novel and known mutations in the E1alpha subunit. *American Journal of Medical Genetics. Part a*, 131(1), 59–66.
- Castiglioni, C., Verrigni, D., Okuma, C., Diaz, A., Alvarez, K., Rizza, T. et al. (2015). Pyruvate dehydrogenase deficiency presenting as isolated paroxysmal exercise induced dystonia successfully reversed with thiamine supplementation. Case report and mini-review. *European Journal of Paediatric Neurology : EJPN : Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, 19(5), 497–503.
- Chao, Y.-H., Robak, L. A., Xia, F., Koenig, M. K., Adesina, A., Bacino, C. A. et al. (2016). Missense variants in the middle domain of DNMI1 in cases of infantile encephalopathy alter peroxisomes and mitochondria when assayed in *Drosophila*. *Human Molecular Genetics*, 25(9), 1846–1856.
- Ciara, E. [E.], Rokicki, D. [D.], Halat, P. [P.], Karkucińska-Więckowska, A. [A.], Piekutowska-Abramczuk, D. [D.], Mayr, J. et al. (2016). Difficulties in recognition of pyruvate dehydrogenase complex deficiency on the basis of clinical and biochemical features. The role of next-generation sequencing. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 7, 70–76.
- Coughlin, C. R., Krantz, I. D., Schmitt, E. S., Zhang, S., Wong, L.-J. C., Kerr, D. S. et al. (2010). Somatic mosaicism for PDHA1 mutation in a male with pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*, 100(3), 296–299.
- Debray, F.-G. [F-G], Lambert, M. [M.], Gagne, R., Maranda, B., Laframboise, R., MacKay, N. et al. (2008). Pyruvate dehydrogenase deficiency presenting as intermittent isolated acute ataxia. *Neuropediatrics*, 39(1), 20–23.
- Debray, F.-G. [Francois-G], Lambert, M. [Marie], Vanasse, M., Decarie, J.-C., Cameron, J., Levandovskiy, V. et al. (2006). Intermittent peripheral weakness as the presenting feature of pyruvate dehydrogenase deficiency. *European Journal of Pediatrics*, 165(7), 462–466.
- DeBrosse, S. D., Okajima, K., Zhang, S., Nakouzi, G., Schmotzer, C. L., Lusk-Kopp, M. et al. (2012). Spectrum of neurological and survival outcomes in pyruvate dehydrogenase complex (PDC) deficiency: lack of correlation with genotype. *Molecular Genetics and Metabolism*, 107(3), 394–402.

- Deeb, K. K., Bedoyan, J. K., Wang, R., Sremba, L., Schroeder, M. C., Grahame, G. J. et al. (2014). Somatic mosaicism for a novel PDHA1 mutation in a male with severe pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 1, 362–367.
- Egel, R. T., Hoganson, G. E., Katerji, M. A. & Borenstein, M. J. (2010). Zonisamide ameliorates symptoms of secondary paroxysmal dystonia. *Pediatric Neurology*, 43(3), 205–208.
- Ferriero, R., Boutron, A. [Audrey], Brivet, M. [Michele], Kerr, D., Morava, E. [Eva], Rodenburg, R. J. et al. (2014). Phenylbutyrate increases pyruvate dehydrogenase complex activity in cells harboring a variety of defects. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 1(7), 462–470.
- Giribaldi, G., Doria-Lamba, L., Biancheri, R., Severino, M., Rossi, A., Santorelli, F. M. et al. (2012). Intermittent-relapsing pyruvate dehydrogenase complex deficiency: a case with clinical, biochemical, and neuroradiological reversibility. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 54(5), 472–476.
- Glushakova, L. G., Judge, S., Cruz, A., Pourang, D., Mathews, C. E. & Stacpoole, P. W. (2011). Increased superoxide accumulation in pyruvate dehydrogenase complex deficient fibroblasts. *Molecular Genetics and Metabolism*, 104(3), 255–260.
- Haug, V., Horvath R., Kuehr J., Korinthenberg R. & Kirschner J. (2008). Mutation in PDHA1 gene mimicking a Guillain-Barré-Syndrome. *Neuromuscular Disorders*, (18), 754.
- Head, R. A., Goede, C. G. E. L. de, Newton, R. W. N., Walter, J. H. [J. H.], McShane, M. A., Brown, R. M. [R. M.] et al. (2004). Pyruvate dehydrogenase deficiency presenting as dystonia in childhood. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 46(10), 710–712.
- Imbard, A., Boutron, A. [A.], Vequaud, C., Zater, M. [M.], Lonlay, P. de [P.], Baulny, H. O. de et al. (2011). Molecular characterization of 82 patients with pyruvate dehydrogenase complex deficiency. Structural implications of novel amino acid substitutions in E1 protein. *Molecular Genetics and Metabolism*, 104(4), 507–516.
- João Silva, M., Pinheiro, A., Eusébio, F., Gaspar, A., Tavares de Almeida, I. & Rivera, I. (2009). Pyruvate dehydrogenase deficiency: identification of a novel mutation in the PDHA1 gene which responds to amino acid supplementation. *European Journal of Pediatrics*, 168(1), 17–22.

- Kara, B., Genç, H. M., Uyur-Yalçın, E., Sakarya-Güneş, A., Topçu, U., Mülayim, S. et al. (2017). Pyruvate dehydrogenase-E1 $\alpha$  deficiency presenting as recurrent acute proximal muscle weakness of upper and lower extremities in an 8-year-old boy. *Neuromuscular Disorders : NMD*, 27(1), 94–97.
- Koene, S., Kozicz, T. L., Rodenburg, R. J. T. [R. J. T.], Verhaak, C. M., Vries, M. C. de, Wortmann, S. et al. (2009). Major depression in adolescent children consecutively diagnosed with mitochondrial disorder. *Journal of Affective Disorders*, 114(1-3), 327–332.
- Koga, Y., Povalko, N., Katayama, K., Kakimoto, N., Matsuishi, T., Naito, E. [Etsuo] et al. (2012). Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 $\alpha$  gene. *Brain & Development*, 34(2), 87–91.
- Lee, E.-H., Ahn, M.-S., Hwang, J.-S., Ryu, K.-H., Kim, S.-J. & Kim, S.-H. (2006). A Korean female patient with thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase complex deficiency due to a novel point mutation (Y161C) in the PDHA1 gene. *Journal of Korean Medical Science*, 21(5), 800–804.
- Ligt, J. de, Willemsen, M. H., van Bon, Bregje W M, Kleefstra, T., Yntema, H. G., Kroes, T. et al. (2012). Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *The New England Journal of Medicine*, 367(20), 1921–1929.
- Lissens, W. [W.], Meirleir, L. de [L.], Seneca, S., Liebaers, I., Brown, G. K. [G. K.], Brown, R. M. [R. M.] et al. (2000). Mutations in the X-linked pyruvate dehydrogenase (E1) alpha subunit gene (PDHA1) in patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Human Mutation*, 15(3), 209–219.
- Magner, M., Vinšová, K., Tesařová, M., Hájková, Z., Hansíková, H., Wenchich, L. et al. (2011). Two patients with clinically distinct manifestation of pyruvate dehydrogenase deficiency due to mutations in PDHA1 gene. *Prague Medical Report*, 112(1), 18–28.
- Mayr, J. A., Koch, J. [Johannes], Fauth, C., Zimmermann, F. A., Rauscher, C., Zschocke, J. et al. (2012). A 1.1 million base pair X-chromosomal deletion covering the PDHA1 and CDKL5 genes in a female patient with West syndrome and pyruvate oxidation deficiency. *Neuropediatrics*, 43(3), 130–134.
- Naito, E. [E.], Ito, M. [M.], Yokota, I. [I.], Saijo, T. [T.], Ogawa, Y. [Y.], Shinahara, K. et al. (2001). Gender-specific occurrence of West syndrome in patients with pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Neuropediatrics*, 32(6), 295–298.

Naito, E. [Etsuo], Ito, M. [Michinori], Yokota, I. [Ichiro], Saijo, T. [Takahiko], Matsuda, J., Ogawa, Y. [Yukiko] et al. (2002). Thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency in two patients caused by a point mutation (F205L and L216F) within the thiamine pyrophosphate binding region. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1588(1), 79–84.

Naito, E. [Etsuo], Ito, M. [Michinori], Yokota, I. [Ichiro], Saijo, T. [Takahiko], Ogawa, Y. [Yukiko] & Kuroda, Y. [Yasuhiro]. (2002). Diagnosis and molecular analysis of three male patients with thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Journal of the Neurological Sciences*, 201(1-2), 33–37.

Okajima, K., Warman, M. L., Byrne, L. C. & Kerr, D. S. (2006). Somatic mosaicism in a male with an exon skipping mutation in PDHA1 of the pyruvate dehydrogenase complex results in a milder phenotype. *Molecular Genetics and Metabolism*, 87(2), 162–168.

Ostergaard, E., Moller, L. B., Kalkanoglu-Sivri, H. S., Dursun, A., Kibaek, M., Thelle, T. et al. (2009). Four novel PDHA1 mutations in pyruvate dehydrogenase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 32 Suppl 1, S235-9.

Pirot, N., Crahes, M., Adle-Biassette, H., Soares, A., Bucourt, M., Boutron, A. [Audrey] et al. (2016). Phenotypic and Neuropathological Characterization of Fetal Pyruvate Dehydrogenase Deficiency. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 75(3), 227–238.

Prasad, C., Rupar, T. & Prasad, A. N. (2011). Pyruvate dehydrogenase deficiency and epilepsy. *Brain & Development*, 33(10), 856–865.

Pronicka, E. [Ewa], Piekutowska-Abramczuk, D. [Dorota], Ciara, E. [Elżbieta], Trubicka, J. [Joanna], Rokicki, D. [Dariusz], Karkucińska-Więckowska, A. [Agnieszka] et al. (2016). New perspective in diagnostics of mitochondrial disorders: two years' experience with whole-exome sequencing at a national paediatric centre. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 174.

Qin, L., Wang, J., Tian, X., Yu, H., Truong, C., Mitchell, J. J. et al. (2016). Detection and Quantification of Mosaic Mutations in Disease Genes by Next-Generation Sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 18(3), 446–453.

Quintana, E., Gort, L., Busquets, C., Navarro-Sastre, A., Lissens, W. [W.], Moliner, S. et al. (2010). Mutational study in the PDHA1 gene of 40 patients suspected of pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *Clinical Genetics*, 77(5), 474–482.

- Ridout, C. K. [C. K.], Keighley, P., Krywawych, S., Brown, R. M. [R. M.] & Brown, G. K. [G. K.]. (2008). A putative exonic splicing enhancer in exon 7 of the PDHA1 gene affects splicing of adjacent exons. *Human Mutation*, 29(3), 451.
- Ridout, C. K. [Cheryl K.], Brown, R. M. [Ruth M.], Walter, J. H. [John H.] & Brown, G. K. [Garry K.]. (2008). Somatic mosaicism for a PDHA1 mutation in a female with pyruvate dehydrogenase deficiency. *Human Genetics*, 124(2), 187–193.
- Sedel, F., Challe, G., Mayer, J.-M., Boutron, A. [A.], Fontaine, B., Saudubray, J. M. et al. (2008). Thiamine responsive pyruvate dehydrogenase deficiency in an adult with peripheral neuropathy and optic neuropathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 79(7), 846–847.
- Seyda, A., Chun, K., Packman, S. & Robinson, B. H. [B. H.]. (2001). A case of PDH-E1 alpha mosaicism in a male patient with severe metabolic lactic acidosis. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 24(5), 551–559.
- Singer, B. H., Iyer, R. K., Kerr, D. S. & Ahmad, A. (2010). Deletion at chromosomal band Xp22.12-Xp22.13 involving PDHA1 in a patient with congenital lactic acidosis. *Molecular Genetics and Metabolism*, 101(1), 87–89.
- Soares-Fernandes, J. P., Teixeira-Gomes, R., Cruz, R., Ribeiro, M., Magalhães, Z., Rocha, J. F. et al. (2008). Neonatal pyruvate dehydrogenase deficiency due to a R302H mutation in the PDHA1 gene: MRI findings. *Pediatric Radiology*, 38(5), 559–562.
- Steller, J., Gargus, J. J., Gibbs, L. H., Hasso, A. N. & Kimonis, V. E. (2014). Mild phenotype in a male with pyruvate dehydrogenase complex deficiency associated with novel hemizygous in-frame duplication of the E1 $\alpha$  subunit gene (PDHA1). *Neuropediatrics*, 45(1), 56–60.
- Strassburg, H. M., Koch, J. [J.], Mayr, J., Sperl, W. [W.] & Boltshauser, E. (2006). Acute flaccid paralysis as initial symptom in 4 patients with novel E1alpha mutations of the pyruvate dehydrogenase complex. *Neuropediatrics*, 37(3), 137–141.
- Tulinius, M., Darin, N., Wiklund, L.-M., Holmberg, E., Eriksson, J. E., Lissens, W. [Willy] et al. (2005). A family with pyruvate dehydrogenase complex deficiency due to a novel CT substitution at nucleotide position 407 in exon 4 of the X-linked Epsilon1alpha gene. *European Journal of Pediatrics*, 164(2), 99–103.

Van Dongen, S., Brown, R. M. [Ruth M.], Brown, G. K. [Garry K.], Thorburn, D. R. & Boneh, A. (2015). Thiamine-Responsive and Non-responsive Patients with PDHC-E1 Deficiency: A Retrospective Assessment. *JIMD Reports*, 15, 13–27.

Wada, N., Matsuishi, T., Nonaka, M., Naito, E. [Etsuo] & Yoshino, M. (2004). Pyruvate dehydrogenase E1alpha subunit deficiency in a female patient: evidence of antenatal origin of brain damage and possible etiology of infantile spasms. *Brain & Development*, 26(1), 57–60.

Willemsen, M., Rodenburg, R. J. T., Teszas, A., van den Heuvel, L., Kosztolanyi, G. & Morava, E. [Eva]. (2006). Females with PDHA1 gene mutations: a diagnostic challenge. *Mitochondrion*, 6(3), 155–159.

Winters, L., van Hoof, E., Catte, L. de, van den Bogaert, K., Ravel, T. de, Waele, L. de et al. (2017). Massive parallel sequencing identifies RAPSN and PDHA1 mutations causing fetal akinesia deformation sequence. *European Journal of Paediatric Neurology : EJPN : Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, 21(5), 745–753.

# 11 Anhang

*Tabelle 1: Kategorien des Prüfbogens. Dieser beinhaltet 8 Haupt- und 72 Unterkategorien. Mögliche Antworten sind ja/nein/keine Angabe/Freitext.*

Main categories	Sub categories		
general patient characteristics	<ul style="list-style-type: none"> <li>-sex</li> <li>-affected family member</li> <li>-age at onset/study/death</li> </ul>		
genetic analysis	<ul style="list-style-type: none"> <li>-nucleotide change</li> <li>-amino acid change (1 letter/3 letter)</li> <li>-type of mutation</li> <li>-mode of inheritance</li> <li>-type of testing</li> </ul>		
neurological symptoms	<ul style="list-style-type: none"> <li>-basal ganglia lesions</li> <li>-cerebral brain atrophy</li> <li>-cerebellar brain atrophy</li> <li>-microcephaly</li> <li>-intellectual disability</li> <li>-developmental delay</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-seizures (+age at first seizures)</li> <li>-ataxia</li> <li>-dystonia</li> <li>-muscular hypertonia</li> <li>-muscular hypotonia</li> <li>-neuropathy</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-impaired hearing</li> <li>-impaired vision</li> <li>-strabismus</li> <li>-nystagmus</li> <li>-ophthalmoplegia</li> <li>-dysphagia/feeding difficulties</li> <li>-drooling</li> </ul>
other non specific anomalies	<ul style="list-style-type: none"> <li>-osteopenia</li> <li>-Guillain Barré syndrome</li> <li>-dysmorphic features</li> <li>-skeletal deformities</li> </ul>		
pregnancy and delivery	<ul style="list-style-type: none"> <li>-intrauterine growth retardation</li> <li>-poor child movements</li> <li>-polyhydramnios</li> <li>-oligohydramnios</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-natural vaginal delivery</li> <li>-assisted delivery</li> <li>-cesareans section</li> <li>-preterm birth</li> <li>-delivery at term</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-low APGAR scores (&lt; 5)</li> <li>-resuscitation at birth</li> <li>-low birth weight (&lt; 3rd percentile)</li> <li>-low birth length (&lt; 3rd percentile)</li> </ul>



Main categories	Sub categories	
	-abnormal fetal ultrasound	-small head circumference (< 3rd percentile)
activities of daily living	<ul style="list-style-type: none"> <li>-able to sit independently</li> <li>-able to walk independently</li> <li>-able to eat independently</li> <li>-able to communicate with sounds</li> <li>-able to communicate with words</li> <li>-able to communicate with sentences</li> <li>-able to perform personal hygiene independently</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-attending/finished regular school</li> <li>-attending/finished school for children with special needs</li> </ul>
Laboratory findings	<ul style="list-style-type: none"> <li>-blood: elevated lactate</li> <li>-blood: elevated pyruvate</li> <li>-blood: elevated alanine</li> <li>-cerebrospinal fluid: elevated lactate</li> <li>-urine: elevated lactate</li> <li>-lactic acidosis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-enzyme activity: reduced in fibroblasts</li> <li>-enzyme activity: reduced in muscle cells</li> </ul>
treatment	<ul style="list-style-type: none"> <li>-ketogenic diet</li> <li>-success of ketogenic diet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-thiamine diet</li> <li>-success of thiamine diet</li> <li>-other specific treatment</li> </ul>

Tabelle 2: Liste aller verschiedenen ermittelten Varianten. Diese umfasst 240 Varianten mit Literaturnachweis. Fett markierte Varianten sind erstmalig in dieser Studie beschrieben. NA = nicht in ClinVar gelistet, P = pathogen, LP = vermutlich pathogen, VUS = Variante mit ungewisser Bedeutung

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
<b>1</b>	<b>c.12_13insACTT</b>	<b>p.L5Tfs*26</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
2	c.29G>C	p.R10P	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
3	c.131A>G	p.H44R	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>4</b>	<b>c.149C&gt;G</b>	<b>p.P50R</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>5</b>	<b>c.193_195delinsCAA</b>	<b>p.Y65Q</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
6	c.212T>C	p.V71A	NA	LP	Naito, Ito et al. 2002
7	c.214C>T	p.R72C	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
8	c.224A>C	p.E75A	NA	LP	Sedel, Challe et al. 2008
<b>9</b>	<b>c.224A&gt;T</b>	<b>p.E75V</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
10	c.249dup	p.Q84Tfs*12	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
11	c.261T>G	p.I87M	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015
12	c.262C>A	p.R88S	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
13	c.262C>T	p.R88C	NA	LP	Debray, Lambert et al. 2008
14	c.265G>A	p.G89S	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
15	c.269T>C	p.F90S	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
16	c.291G>A	p.?	NA	LP	Pronicka, Piekutowska-Abramczuk et al. 2016
17	c.292-2A>G	p.?	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
18	c.301T>C	p.C101R	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
19	c.302G>T	p.C101F	NA	LP	Naito, Ito et al. 2002
20	c.328delinsAGA	p.P110Rfs*71	NA	LP	Ligt, Willemsen et al. 2012
<b>21</b>	<b>c.329C&gt;A</b>	<b>p.P110H</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
22	c.337C>G	p.H113D	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
23	c.355C>T	p.R119W	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
24	c.363C>A	p.H121Q	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>25</b>	<b>c.364G&gt;A</b>	<b>p.G122S</b>	<b>LP</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>26</b>	<b>c.364G&gt;C</b>	<b>p.G122R</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
27	c.379C>T	p.R127W	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
28	c.380G>A	p.R127Q	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
29	c.383G>A	p.G128D	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
30	c.407C>T	p.A136V	NA	LP	Tulinus, Darin et al. 2005
<b>31</b>	<b>c.409G&gt;A</b>	<b>p.E137K</b>	<b>LP</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
32	c.412C>T	p.L138F	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
33	c.419-17_419-14delTGTT	p.?	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015
<b>34</b>	<b>c.421C&gt;T</b>	<b>p.R141*</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
35	c.422G>A	p.R141Q	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
36	c.422G>T	p.R141L	NA	LP	Seyda, Chun et al. 2001
37	c.429_431delAGG	p.G144del	NA	LP	Ostergaard, Moller et al. 2009
<b>38</b>	<b>c.430G&gt;A</b>	<b>p.G144S</b>	<b>LP</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>39</b>	<b>c.430G&gt;C</b>	<b>p.G144R</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
40	c.431G>A	p.G144D	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
41	c.448G>A	p.G150R	VUS	LP	Chao, Robak et al. 2016
42	c.449G>A	p.G150E	NA	LP	Ah Mew, Loewenstein et al. 2011
43	c.451G>A	p.G151R	NA	LP	Qin, Wang et al. 2016
44	c.457A>G	p.M153V	NA	LP	Ostergaard, Moller et al. 2009
45	c.464T>C	p.M155T	VUS	LP	Ciara, Rokicki et al. 2016
<b>46</b>	<b>c.472A&gt;G</b>	<b>p.K158E</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
<b>47</b>	<b>c.481_483del</b>	<b>p.F160del</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
48	c.482A>G	p.Y161C	P	P	Lee, Ahn et al. 2006
49	c.483C>T	p.Y161Y	NA	LP	Boichard, Venet et al. 2008
50	c.484G>A	p.G162R	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
51	c.491A>G	p.N164S	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
52	c.498C>T	p.I166I	NA	LP	Boichard, Venet et al. 2008
53	c.499G>A	p.V167M	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
54	c.506C>T	p.A169V	P	P	Quintana, Gort et al. 2010
55	c.511-30G>A	p.?	NA	LP	Quintana, Gort et al. 2010
56	c.511_759del	p.P172_V254del	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
57	c.511G>A	p.V171M	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015
58	c.515C>T	p.P172L	NA	LP	Quintana, Gort et al. 2010
59	c.523G>A	p.A175T	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
60	c.523G>C	p.A175P	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
61	c.530T>C	p.I177T	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
<b>62</b>	<b>c.536T&gt;A</b>	<b>p.L179R</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
63	c.555A>G	p.G185G	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>64</b>	<b>c.562_858dup</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
65	c.562G>A	p.E188K	NA	LP	Cameron, Levandovskiy et al. 2004
66	c.584G>C	p.G195A	NA	LP	Cameron, Levandovskiy et al. 2004
67	c.588T>A	p.D196E	NA	LP	Haug, Horvath R. et al. 2008
68	c.592G>A	p.A198T	NA	LP	Okajima, Warman et al. 2006
<b>69</b>	<b>c.593C&gt;T</b>	<b>p.A198V</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
70	c.595G>A	p.A199T	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
71	c.599A>C	p.N200T	NA	LP	Koga, Povalko et al. 2012
72	c.615C>A	p.F205L	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
73	c.615C>G	p.F205L	P	P	Naito, Ito et al. 2002
74	c.616G>A	p.E206K	NA	LP	Ostergaard, Moller et al. 2009
75	c.629T>C	p.M210T	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
76	c.628A>G	p.M210V	VUS	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
77	c.640T>C	p.W214R	LP	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
78	c.642G>T	p.W214C	NA	LP	Glushakova, Judge et al. 2011
79	c.647T>C	p.L216S	NA	LP	Strassburg, Koch et al. 2006
80	c.648A>C	p.L216F	P	P	Naito, Ito et al. 2002
81	c.650C>G	p.P217R	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
82	c.650C>T	p.P217L	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
83	c.666_667del	p.C222*	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
84	c.679T>C	p.Y227H	NA	LP	Coughlin, Krantz et al. 2010
85	c.680A>G	p.Y227C	NA	LP	Ah Mew, Loewenstein et al. 2011
86	c.691A>G	p.T231A	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
87	c.692C>A	p.T231K	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>88</b>	<b>c.692C&gt;G</b>	<b>p.T231R</b>	<b>VUS</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
89	c.703A>G	p.R235G	NA	LP	Barnerias, Saudubray et al. 2010

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
<b>90</b>	<b>c.707C&gt;A</b>	<b>p.A236E</b>	<b>LP</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>91</b>	<b>c.721_724dup</b>	<b>p.Y242*</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
92	c.727_729del	p.Y243del	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
93	c.727T>A	p.Y243N	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
94	c.728A>C	p.Y243S	NA	LP	Benelli, Fouque et al. 2002
95	c.728A>G	p.Y243C	NA	LP	Barnerias, Saudubray et al. 2010
96	c.729C>A	p.Y243*	NA	LP	Ridout, Keighley et al. 2008
97	c.733A>G	p.R245G	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
98	c.748C>A	p.P250T	NA	LP	Cameron, Levandovskiy et al. 2004
99	c.749C>T	p.P250L	NA	LP	Magner, Vinšová et al. 2011
<b>100</b>	<b>c.754C&gt;G</b>	<b>p.L252V</b>	<b>LP</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
101	c.757A>G	p.R253G	NA	LP	João Silva, Pinheiro et al. 2009
102	c.760_831del	p.V254_K277del	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>103</b>	<b>c.760-2A&gt;G</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
104	c.773A>C	p.D258A	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>105</b>	<b>c.778C&gt;G</b>	<b>p.L260V</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>



<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
106	c.784G>T	p.V262F	NA	LP	Cameron, Levandovskiy et al. 2004
107	c.787C>G	p.R263G	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
108	c.787C>T	p.R263*	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
109	c.788G>A	p.R263Q	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
110	c.788G>C	p.R263P	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
111	c.831G>A	p.?	NA	LP	Glushakova, Judge et al. 2011
112	c.831+1G>A	p.?	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
113	c.832G>A	p.G278R	LP	LP	Asencio, Rodríguez-Hernandez et al. 2016
114	c.832G>C	p.G278R	LP	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
115	c.839T>G	p.I280S	VUS	LP	Egel, Hoganson et al. 2010
116	c.844A>G	p.M282V	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
117	c.847G>A	p.E283K	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
118	c.853C>T	p.Q285*	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
119	c.856_859dup	p.R288Lfs*10	P	P	Ciara, Rokicki et al. 2016
120	c.858_861dup	p.R288Lfs*10	P	P	Cameron, Levandovskiy et al. 2004
121	c.859_862dup	p.R288Lfs*10	NA	LP	Willemsen, Rodenburg et al. 2006
122	c.861_862insT	p.R288Sfs*9	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
123	c.862C>T	p.R288C	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
124	c.863G>A	p.R288H	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>125</b>	<b>c.868C&gt;T</b>	<b>p.H290Y</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
126	c.871G>A	p.G291R	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
127	c.875A>T	p.H292L	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>128</b>	<b>c.883A&gt;G</b>	<b>p.S295G</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
129	c.888C>G	p.D296E	NA	LP	Brown, Head et al. 2003
130	c.890dup	p.G298Wfs*16	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
<b>131</b>	<b>c.893_899dup</b>	<b>p.S300Rfs*16</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
132	c.893G>A	p.G298E	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
133	c.899_918del	p.S300Nfs*7	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
134	c.899+1G>C	p.?	NA	LP	Ah Mew, Loewenstein et al. 2011
<b>135</b>	<b>c.900_932dup</b>	<b>p.S300_V310dup</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
136	c.900-1_903dup	p.?	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
137	c.900-12_920dup	p.?	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>138</b>	<b>c.900-16_905dup</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
139	c.900-1G>A	p.?	NA	LP	Ridout, Brown et al. 2008
<b>140</b>	<b>c.900-3_922dup</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>141</b>	<b>c.900-41_900-23del</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
142	c.900-6_958dup	p.?	NA	LP	Ostergaard, Moller et al. 2009
143	c.904C>T	p.R302C	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
144	c.905G>A	p.R302H	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
145	c.905G>T	p.R302L	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
146	c.910C>T	p.R304*	P	P	Imbard, Boutron et al. 2011
147	c.915_916ins21	p.E305_E306ins7	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>148</b>	<b>c.917_924dup</b>	<b>p.E309Kfs*5</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>149</b>	<b>c.924_930del</b>	<b>p.S312Vfs*12</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
150	c.924G>T	p.Q308H	NA	LP	Ferriero, Boutron et al. 2014
151	c.929_932del	p.S312Vfs*12	P	P	van Dongen, Brown et al. 2015
<b>152</b>	<b>c.931A&gt;G</b>	<b>p.R311G</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>153</b>	<b>c.932_935del</b>	<b>p.R311Ifs14*</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
154	c.933_935del	p.R311del	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
155	c.934_940del	p.S312Vfs*12	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>156</b>	<b>c.937_940dup</b>	<b>p.S314Kfs*3</b>	<b>P</b>	<b>P</b>	<b>this study</b>
157	c.937_942dup	p.K313_S314dup	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
158	c.938_940del	p.K313del	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
159	c.943G>A	p.D315N	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
160	c.947C>T	p.P316L	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>161</b>	<b>c.947dup</b>	<b>p.I317Yfs*23</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
162	c.949_950del	p.I317Yfs*22	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
163	c.949_952dupATTA	p.M316Nfs*20	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
164	c.949_963dup	p.I317_K321dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
<b>165</b>	<b>c.950_962dup</b>	<b>p.K321Nfs*23</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>166</b>	<b>c.957_959dup</b>	<b>p.L320dup</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
167	c.960_1008+5dup	p.?	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
168	c.963_977dup	p.K321_V325dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>169</b>	<b>c.966_969del</b>	<b>p.D322Efs*3</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
170	c.968_980dup	p.S327Rfs*17	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
171	c.969_1004dup	p.M324_L335dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
172	c.983_986dupATCT	p.A330Sfs*11	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
173	c.986T>G	p.L329R	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
174	c.986_998dup13	p.E333Dfs*11	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
<b>175</b>	<b>c.1008+1_1008+27del</b>	<b>p.?</b>	<b>P</b>	<b>P</b>	<b>this study</b>
176	c.1011_1031dup	p.I338_K344dup	NA	LP	Ah Mew, Loewenstein et al. 2011
<b>177</b>	<b>c.1011_1040dup</b>	<b>p.I338_E347dup</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>178</b>	<b>c.1014_1032dup</b>	<b>p.E345*</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>179</b>	<b>c.1026_1051dup</b>	<b>p.Q351Rfs*82</b>	NA	<b>LP</b>	<b>this study</b>
180	c.1026_1130dup	p.K344_R378dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
181	c.1033_1078dup	p.P360Rfs*3	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>182</b>	<b>c.1040_1063dup</b>	<b>p.E347_T354dup</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>183</b>	<b>c.1042_1045dup</b>	<b>p.A349Gfs*11</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
184	c.1045G>A	p.A349T	VUS	LP	Giribaldi, Doria-Lamba et al. 2012
185	c.1050_1133dup	p.Q351_R378dup	LP	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
<b>186</b>	<b>c.1051C&gt;T</b>	<b>p.Q351*</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
187	c.1057G>A	p.A353T	NA	LP	Kara, Genç et al. 2017
188	c.1057G>C	p.A353P	NA	LP	Naito, Ito et al. 2001
189	c.1063_1068del	p.A355_D356del	NA	LP	Glushakova, Judge et al. 2011
<b>190</b>	<b>c.1066_1090dup</b>	<b>p.L364Rfs*3</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>191</b>	<b>c.1069_1114dup</b>	<b>p.D372Afs*2</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
192	c.1071_1088dup	p.E362_E363ins NEPPLE	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
193	c.1072G>A	p.E358K	NA	LP	Strassburg, Koch et al. 2006
194	c.1072_1091del	p.E358Gfs*12	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>195</b>	<b>c.1073_1094del</b>	<b>p.E358Afs*59</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
196	c.1083_1102dup20	p.I368Rfs*63	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
197	c.1083_1124dup	p.L361_P374dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
198	c.1085_1093dup	p.E362_L364dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
199	c.1087_1119dup33	p.E363_P373dup11	NA	LP	Steller, Gargus et al. 2014
<b>200</b>	<b>c.1090_1155dup</b>	<b>p.L364_K385dup</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
201	c.1100_1112dup	p.S371Rfs*10	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>202</b>	<b>c.1100A&gt;G</b>	<b>p.H367R</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>203</b>	<b>c.1100A&gt;T</b>	<b>p.H367L</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>204</b>	<b>c.1101_1154dup</b>	<b>p.I384_K385ins18</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>205</b>	<b>c.1103_1116dup</b>	<b>p.P373Sfs*56</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
206	c.1105_1107delinsCA A	p.Y369Q	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>207</b>	<b>c.1119_1123del</b>	<b>p.P374*</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
208	c.1121_1159dup39	p.F386_K387ins13	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
209	c.1124_1125dup	p.E376Lfs*49	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
<b>210</b>	<b>c.1126_1131dup</b>	<b>p.E376_V377dup</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
211	c.1132C>T	p.R378C	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
212	c.1133G>A	p.R378H	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000

<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
213	c.1134_1159dup	p.K387Mfs*46	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
214	c.1137_1159dup23	p.K387Mfs*45	NA	LP	DeBrosse, Okajima et al. 2012
<b>215</b>	<b>c.1138_1157dup</b>	<b>p.F386Lfs*45</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
216	c.1139_1142dupCCA A	p.W383Sfs*6	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015
217	c.1142_1145dup	p.W383Sfs*6	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
218	c.1142_1164del	p.N381Sfs*43	NA	LP	Ferriero, Boutron et al. 2014
219	c.1121_1144dup	p.N381_Q382ins 8	NA	LP	Quintana, Gort et al. 2010
<b>220</b>	<b>c.1144_1147dup</b>	<b>p.W383Sfs*6</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
221	c.1144_1159dup	p.K387Tfs*6	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
222	c.1146_1153del	p.W383Vfs*2	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
223	c.1147_1158dup	p.W383_F386dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
224	c.1148G>A	p.W383*	NA	LP	Barnerias, Saudubray et al. 2010
225	c.1157_1162del	p.F386_L387del	NA	LP	Barnerias, Saudubray et al. 2010
226	c.1157_1162dup	p.F386_K387dup	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000



<u>Nummerierung der Variante</u>	<u>Nukleotid-Veränderung</u>	<u>Aminosäuren-Veränderung</u>	<u>Einschätzung ClinVar (Stand: 11/2019)</u>	<u>Eigene Einschätzung</u>	<u>Literaturangabe</u>
227	c.1158dup	p.K387*	NA	LP	van Dongen, Brown et al. 2015
228	c.1159_1160del	p.K387Vfs*44	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
229	c.1159_1162dup	p.S388*	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
230	c.1163C>A	p.S388*	NA	LP	Lissens, Meirleir et al. 2000
231	c.1167_1170del	p.S390Kfs*33	P	P	Lissens, Meirleir et al. 2000
232	g.19354075_1935829del	p.?	NA	LP	Brivet, Moutard et al. 2005
233	g.16418964_19815605del	p.?	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
234	g.17808565_1994809del	p.?	NA	LP	Imbard, Boutron et al. 2011
235	g.18588606_1967194del	p.?	NA	LP	Singer, Iyer et al. 2010
236	1.1 Mb deletion	p.?	NA	LP	Mayr, Koch et al. 2012
<b>237</b>	<b>14Mb deletion</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>238</b>	<b>19kb deletion exons 2-9</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>239</b>	<b>Large deletion</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>
<b>240</b>	<b>Large deletion</b>	<b>p.?</b>	<b>NA</b>	<b>LP</b>	<b>this study</b>

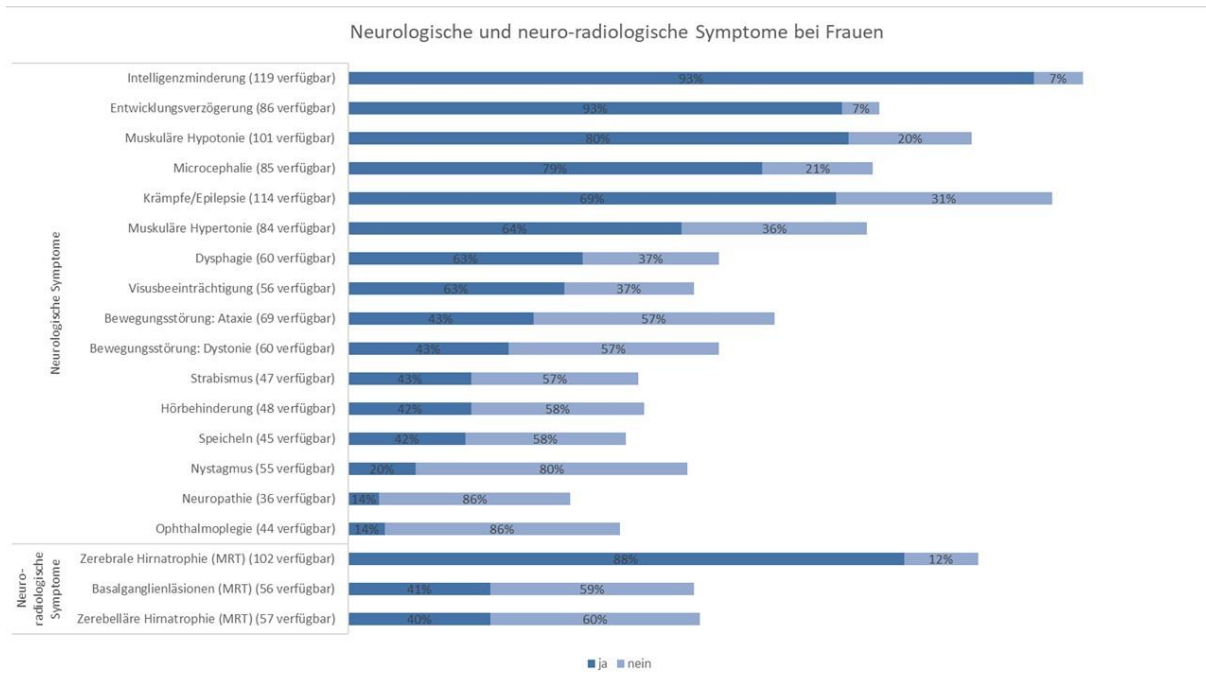


Abbildung 9: Neurologische und neuro-radiologische Symptome bei Frauen

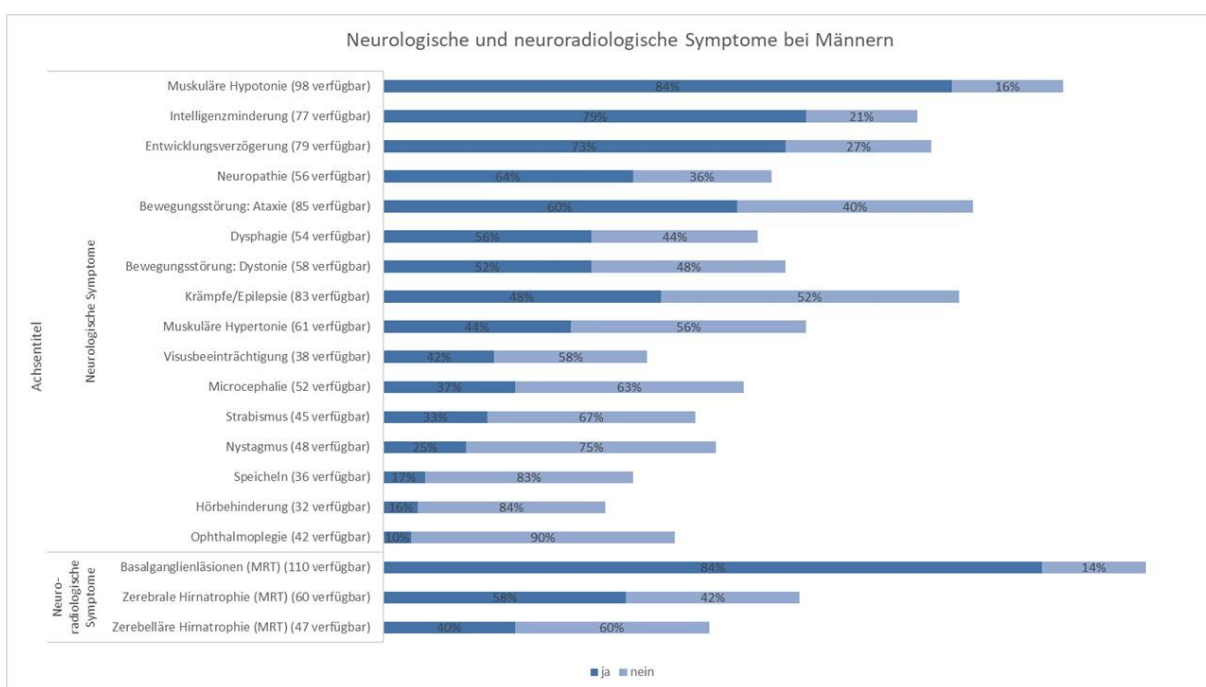


Abbildung 10: Neurologische und neuro-radiologische Symptome bei Männern

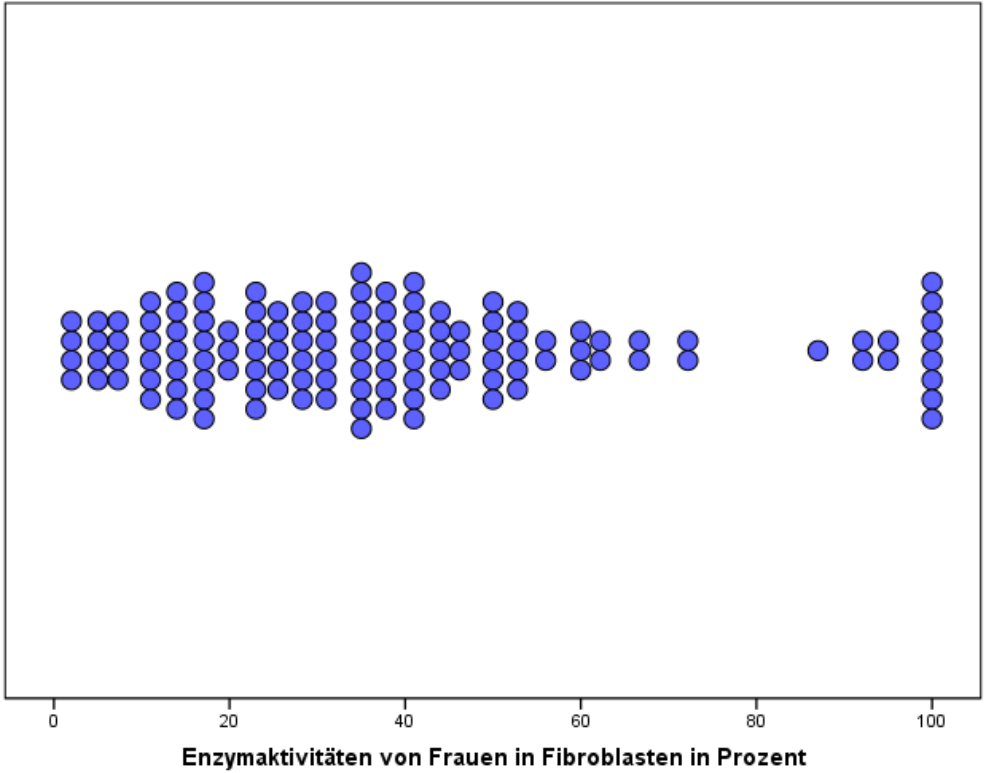


Abbildung 12: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Frauen gemessen in Fibroblasten in Prozent (n=127, davon 119 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 8 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

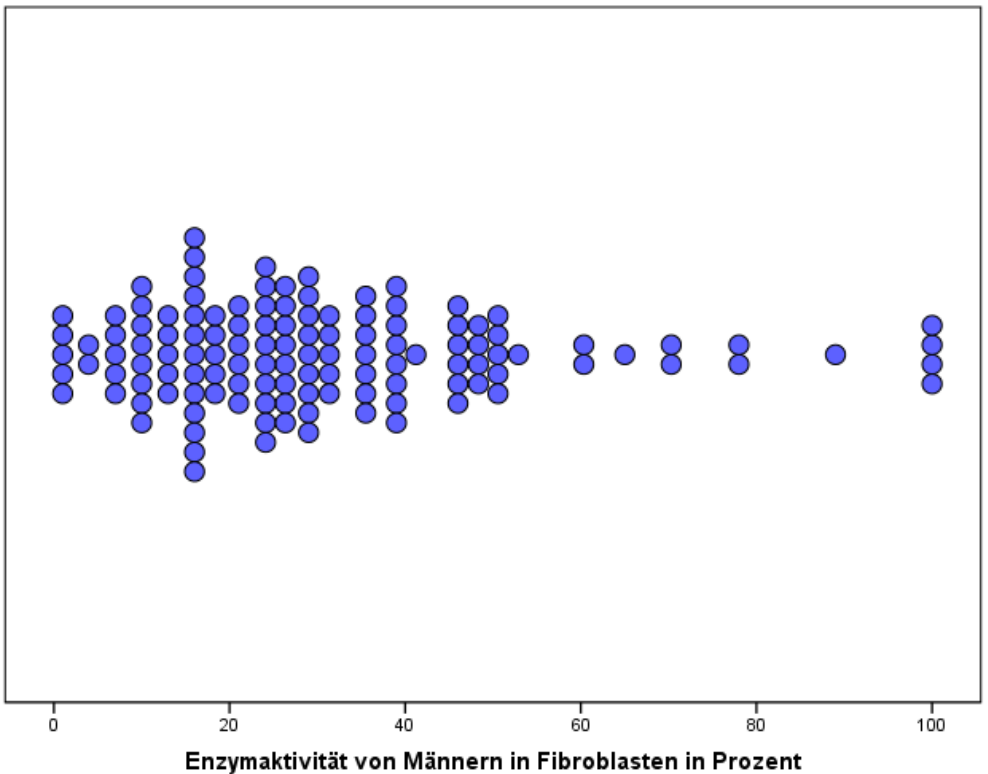


Abbildung 13: Verteilung der Enzymaktivitäten von PDHA1 in Männern gemessen in Fibroblasten in Prozent (n=125, davon 121 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 4 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

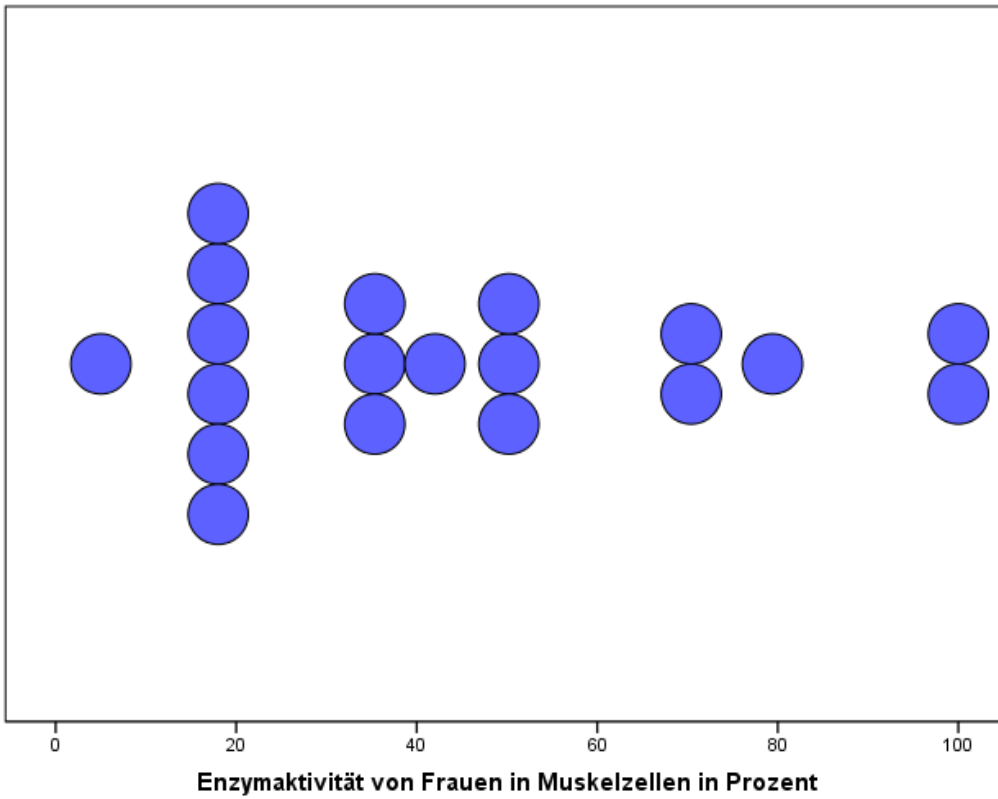


Abbildung 15: Verteilung der Enzymaktivität von PDHA1 in Frauen gemessen in Muskelzellen in Prozent (n=19, davon 17 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 2 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

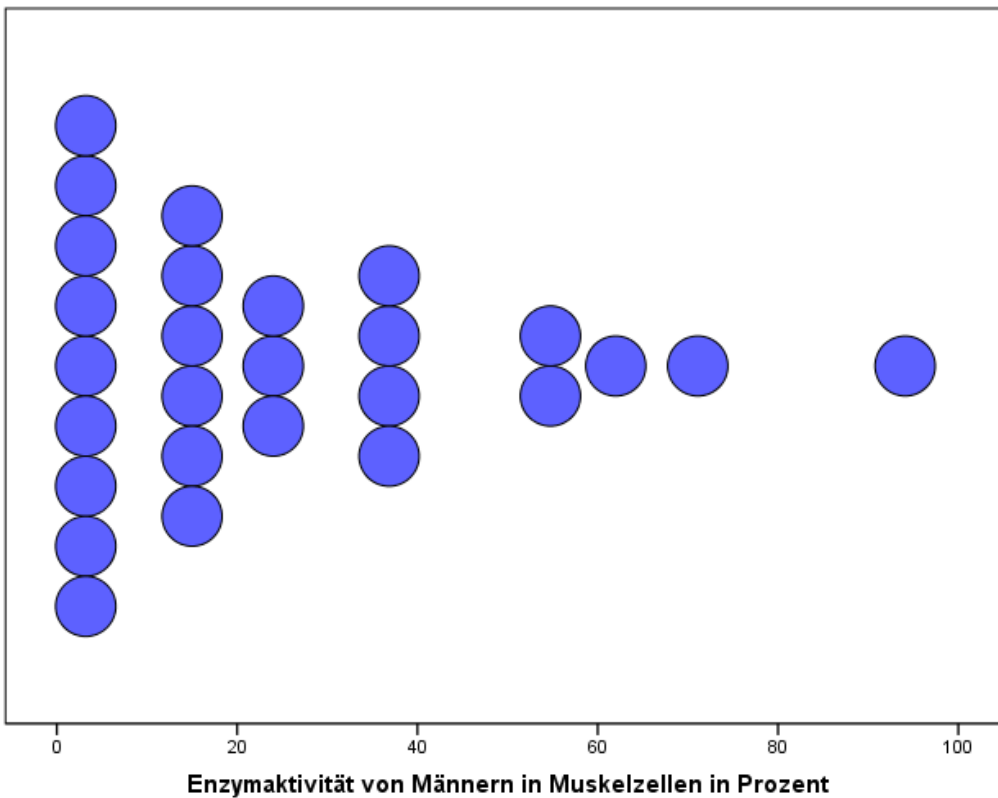


Abbildung 16: Verteilung der Enzymaktivität von PDHA1 in Männern gemessen in Muskelzellen in Prozent (n=27, davon 27 Fälle mit reduzierter Enzymaktivität, 0 Fälle ohne reduzierte Enzymaktivität)

## 12 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas Meitingner sowie Frau PD Dr. Saskia Wortmann für die Überlassung des Themas, die fachliche Unterstützung sowie die Betreuung der Arbeit.

Außerdem möchte ich meinen Freunden und meiner Familie danken für die ausdauernde Unterstützung während dieses langen Arbeitsprozesses.

Insbesondere gilt mein Dank meinen Eltern, für die unaufhörliche Motivation und die wertvollen Ratschläge, besonders an Tagen, an denen ich mich sehr weit weg vom Ziel gesehen habe.

Meinem Großvater danke ich für das große Vertrauen, welches er in mich setzte.

Zum Schluss möchte ich Martin danken für die anhaltende Unterstützung und Begleitung während der Arbeit sowie für die bedingungslose Verbundenheit während der letzten 6 Jahre und freue mich auf das, was kommt.