

# **Diplomarbeit**

## **Untersuchung zum Abbau überlangkettiger Fettsäuren bei Patienten mit bekannter Nebenniereninsuffizienz**

eingereicht von

**Sandra Haslinger**

Mat. Nr.: 0211175

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin**

unter der Anleitung von

**Ao. Univ. Prof. Dr. Hermann Toplak**

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 5. Mai 2008*

## Danksagungen

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Hermann Toplak für die Überlassung des Themas und das entgegengebrachte Vertrauen. Seine Unterstützung und Betreuung haben es mir ermöglicht wissenschaftliches Arbeiten kennen zu lernen.

Weiterhin danke ich Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Hans Dimai für die Übernahme der Zweitbetreuung und die Bereitschaft den Patienten bei etwaigen Fragen von Seiten der Endokrinologischen Ambulanz zur Verfügung zu stehen.

Außerdem danke ich Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Harald Dobnig für die Überlassung der klinischen und persönlichen Daten der untersuchten Patienten sowie für die Hilfestellung bei der Verfassung des Informationsschreibens.

Allen Diplomkrankenschwestern der Endokrinologischen Ambulanz möchte ich für das freundliche Arbeitsklima, die herzliche Aufnahme und die spontane Hilfestellung bei der Arbeit mit den Karteikarten sowie das zur Verfügung stellen der Räumlichkeiten der Ambulanz für die Patientengespräche und die Blutabnahmen danken.

Mein besonderer Dank gilt Ass. Prof. Dr. Wolfgang Erwa für die Anleitung zur Durchführung der Erdnussbelastungstests sowie die Befundung der erhobenen Laborwerte.

Allen Mitarbeiterinnen des Stoffwechsellabors der Kinderklinik möchte ich für die Auswertung der Blutproben, ihre ständige Hilfsbereitschaft und für das Überlassen der Laborwerte sehr herzlich danken.

Für die Teilnahme als Kontrollperson am Erdnussbelastungstest möchte ich mich bei Herrn Georg Wenko für die Geduld und das Durchhaltevermögen bedanken.

Meinen Eltern, die mir durch ihre finanzielle Unterstützung das Studium erst ermöglicht haben, möchte ich auf diesem Weg den größten Dank aussprechen. Besonders dankbar bin ich ihnen für die Ermutigungen und die emotionale Unterstützung.

## Zusammenfassung

Im Zuge der vorliegenden Studie wurden aus 13.992 Patienten der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Universitätsklinik Graz 25 Patienten mit primärer Nebennierenrindeninsuffizienz identifiziert. Ziel der Untersuchung war es herauszufinden, ob sich in diesem Patientenkollektiv Personen befinden, deren Nebenniereninsuffizienz durch die X-chromosomal vererbte Adrenoleukodystrophie (X-ALD) bedingt ist.

Die ALD gehört zu den peroxisomalen Stoffwechselerkrankungen und ist gekennzeichnet durch eine Demyelinisierung des Zentralnervensystems sowie eine Nebenniereninsuffizienz, ausgelöst durch die Akkumulation von überlangkettigen Fettsäuren (VLCFA) im Gewebe und den Körperflüssigkeiten.

Um die Prävalenz der ALD unter diesen 25 Patienten festzustellen, wurde eine laborchemische Analyse der überlangkettigen Fettsäuren im Serum durchgeführt. Bei einem der untersuchten Patienten ergaben sich deutlich erhöhte Nüchternwerte, bei weiteren fünf zeigten sich grenzwertige Erhöhungen. Ergänzend wurde bei diesen Patienten ein VLCFA Belastungstest durchgeführt und im Anschluss der zeitliche Verlauf der Parameter mit jenem einer gesunden Kontrollperson verglichen. Dabei zeigten sich bei den fünf Patienten leichte Abweichungen von den Referenzwerten. Der bei Vorliegen einer ALD zu erwartende massive Anstieg der VLCFA sowie der fehlende Abfall der Werte, konnten allerdings bei keinem der fünf untersuchten Patienten beobachtet werden.

Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen die Ansicht anderer Autoren, dass die in Form eines Screeningverfahrens durchgeführte Bestimmung der VLCFA bei Patienten mit primärer Nebennierenrindeninsuffizienz zur ALD Diagnostik von großer Bedeutung ist.

## **Abstract**

In this study 25 patients diagnosed with primary adrenal insufficiency were recruited. The subjects were selected from a group of 13.992 patients representing the total number of patients treated in the endocrine out-patient clinic of Medical University Graz.

The study`s aim was to find out, if there are patients with adrenal insufficiency caused by X-linked ALD in this group.

X-linked ALD is a genetic disease associated with demyelination of the central nervous system and adrenal insufficiency caused by the accumulation of very long chain fatty acids in tissue and body fluids.

To evaluate the prevalence of ALD among the 25 patients we performed analysis of very long chain fatty acids in serum. In one of 25 patients extremely elevated plasma concentrations of very long chain fatty acids were detected, in 5 patients concentrations with borderline values were found. Furthermore an oral VLCFA tolerance test was performed with these 5 patients and the chronological sequence of the parameters were compared with those of a healthy test person. Small deviations could be detected compared with the reference level. But the high increase of the values and the missing decrease afterwards as it would be expected in case of ALD couldn`t be noticed in any of the patients.

The results of our study underline other authors` opinion that the determination of very long chain fatty acids by screening in patients with primary adrenal insufficiency in the course of ALD diagnostics is absolutely necessary.

# Inhaltsverzeichnis

Danksagungen .....	ii
Zusammenfassung .....	iii
Abstract.....	iv
Inhaltsverzeichnis .....	v
Glossar und Abkürzungen .....	vii
Abbildungsverzeichnis .....	viii
Tabellenverzeichnis.....	ix
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Zum Thema.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Ziel der Untersuchung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.3 Adrenoleukodystrophie.....</b>	<b>2</b>
<i>1.3.1 Pathogenese.....</i>	<i>2</i>
1.3.1.1 VLCFA .....	2
1.3.1.2 Vorkommen und Metabolismus der VLCFA .....	2
1.3.1.3 Genetik .....	3
1.3.1.4 Effekt der VLCFA auf die Struktur und Funktion der Zellmembranen.....	4
1.3.1.5 Pathogenese der Nebenniereninsuffizienz.....	5
1.3.1.6 Effekt der VLCFA auf die Struktur des zentralen Nervensystems .....	6
<i>1.3.2 Phenotypen .....</i>	<i>6</i>
1.3.2.1 Die kindlich cerebrale Form der ALD.....	7
1.3.2.2 Die jugendlich cerebrale Form der ALD .....	8
1.3.2.3 Die cerebrale Form der ALD beim Erwachsenen .....	8
1.3.2.4 Die Adrenomyeloneuropathie .....	9
1.3.2.5 Isolierte Nebenniereninsuffizienz.....	9
1.3.2.6 Asymptomatische Patienten .....	10
<i>1.3.3 Diagnostik.....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.4 Therapie.....</i>	<i>12</i>
1.3.4.1 Hormonersatztherapie.....	12
1.3.4.2 Therapie mit Lorenzo`s Öl .....	13
1.3.4.3 Knochenmarktransplantation.....	14

<b>2</b>	<b>Methodik</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Prinzip der Datenerhebung</b> .....	<b>15</b>
2.1.1	<i>Erfassung der Patienten</i> .....	15
2.1.2	<i>Kontaktaufnahme</i> .....	17
2.1.3	<i>Probenentnahme</i> .....	18
2.1.4	<i>Bestimmung der VLCFA im Nüchternserum</i> .....	18
2.1.5	<i>Erdnussbelastungstest</i> .....	19
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>VLCFA Werte im Nüchternserum</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2</b>	<b>Bestimmung der VLCFA in den Fibroblasten</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Erdnussbelastungstest bei einer gesunden Kontrollperson</b> .....	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Erdnussbelastungstest bei den Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA im Nüchternserum</b> .....	<b>24</b>
<b>3.5</b>	<b>Lipidwerte der Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA im Nüchternserum</b> .....	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>VLCFA Werte im Nüchternserum</b> .....	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Erdnussbelastungstest bei den Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA im Nüchternserum</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3</b>	<b>Bedeutung der Bestimmung der VLCFA bei Patienten mit idiopathischem Mb. Addison</b> .....	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>37</b>
	Anhang – Informationsschreiben für die Patienten .....	41
	Lebenslauf .....	42

## Glossar und Abkürzungen

ABC	ATP-binding cassette
ACALD	Adult cerebral Adrenoleukodystrophie
Adol CALD	Adolescent cerebral Adrenoleukodystrophie
AGS	Adrenogenitales Syndrom
ALD	Adrenoleukodystrophie
ALDP	ALD Protein
AMN	Adrenomyeloneuropathie
BMT	Bone Marrow Transplantation
CCER	Childhood cerebral Adrenoleukodystrophie
NNINS	Nebennierenrindeninsuffizienz
ÜLFS	überlangkettige Fettsäuren
VLCFA	very long chain fatty acids
VLCS	very long chain acyl-CoA synthetase

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Schematische Darstellung der Einbindung des C26:0 Moleküls in die Phospholipiddoppelschicht [9].....	5
Abb. 2:	Normale Immunfärbung d. Fibroblasten m. getüpfeltem Erscheinungsbild [14],	
Abb. 3:	Fehlende Immunreaktivität inf. Mangels an ALDP bei Patienten m. ALD [14],	
Abb. 4:	Zwei Fibroblasten einer heterozygoten Frau-einer mit normaler ALDP Immunreaktivität & einer ohne jegliche ALDP Expression [14].....	11
Abb. 5:	Diagramm der Ausschlussgründe.....	17
Abb. 6:	Diagramm-Diagnosen der 25 Studienpatienten laut Endokrinologieambulanz ..	20
Abb. 7:	Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 300min .....	23
Abb. 8:	Verlauf der C2422 und C2622 Quotienten.....	24
Abb. 9:	Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 240min .....	25
Abb. 10:	Verlauf der C2422 und C2622 Quotienten.....	26
Abb. 11:	Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 180min. ....	27
Abb. 12:	Verlauf der Ratios C2422 und C2622 .....	27
Abb. 13:	Verlauf der Parameter C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 240min. ....	28
Abb. 14:	Verlauf der Ratios C2422 und C2622 .....	28
Abb. 15:	Verlauf der C22, C24 und C26 über den gesamten Testzeitraum.....	29
Abb. 16:	Verlauf der Ratios C2422 und C2622 .....	30

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Phenotypen der ALD [5;9] .....	7
Tabelle 2: VLCFA Werte der Patienten mit Autoimmunpolyendokrinopathie .....	21
Tabelle 3: VLCFA Werte der Patienten mit idiopathischem Mb. Addison .....	21
Tabelle 4: VLCFA Werte der Patienten mit AGS mit/ohne Salzverlustsyndrom.....	22
Tabelle 5: Verlauf der Parameter der VLCFA im Zuge des Erdnussbelastungstests bei einem gesunden Probanden .....	23
Tabelle 6: Vollständige Aufstellung der ermittelten Laborparameter im Zuge des Erdnussbelastungstest Patient 2.....	25
Tabelle 7: Im Zuge des Erdnusstests ermittelte Parameter von Patient 5 .....	26
Tabelle 8: Im Zuge des Erdnusstests ermittelte Parameter von Patient H.....	28
Tabelle 9: Vollständige Auflistung der ermittelten Parameter über einen Zeitraum von 240min. ....	29
Tabelle 10: Lipidwerte ermittelt im Zuge von Routinekontrollen in der Endokrinologischen Ambulanz .....	30
Tabelle 11: VLCFA Werte von Patienten mit peroxisomalen Erkrankungen sowie einer Kontrollgruppe [26].....	32
Tabelle 12: Variabilität der C24 Werte bei ALD Patienten & gesunden Kontrollperson [28] .....	33

# **1 Einleitung**

## **1.1 Zum Thema**

Die Nebennierenrindeninsuffizienz ist eine seltene Erkrankung mit einer Prävalenz von 5 zu 100 000 Einwohnern. Sie ist gekennzeichnet durch die Reduktion oder den totalen Ausfall der Sekretion der Nebennierenhormone bedingt durch die chronische bilaterale Destruktion der hormonproduzierenden Zellen. [1] In den westlichen Ländern ist die Autoimmunadrenalitis mit einem Anteil von 70% der Fälle die häufigste Ursache. Weiters kann die Nebennierenrindeninsuffizienz das Resultat einer Tuberkulose, einer Nebennierenmetastasierung, einer Beteiligung der Nebennierenrinde bei HIV oder der Adrenoleukodystrophie sein. [2]

Schätzungsweise 70-80% der Fälle mit primärer Nebenniereninsuffizienz werden als idiopathisch klassifiziert. Um den Patienten eine korrekte und kausale Therapie anbieten zu können, ist eine ätiologische Zuordnung allerdings Voraussetzung. [1]

In Studien konnte gezeigt werden, dass die Adrenoleukodystrophie mit einem Prozentsatz zwischen 13% und 62% in Ländern mit geringer Verbreitung der Tuberkulose, bei Männern der häufigste Grund für die Entwicklung des Morbus Addison ist. [3] Bei der Adrenoleukodystrophie handelt es sich um eine X-chromosomal vererbte Fettstoffwechselstörung, welche einerseits durch das Auftreten einer Nebennierenrindeninsuffizienz und andererseits durch eine Demyelinisierung der weißen Substanz und des peripheren Nervensystems gekennzeichnet ist. [4] Durch eine rechtzeitige Diagnostik und Therapie dieser Stoffwechselstörung könnte das Auftreten von neurologischen Symptomen verhindert und in weiterer Folge die Lebensqualität der Patienten erhalten werden.

## **1.2 Ziel der Untersuchung**

Hereditäre Fettstoffwechselstörungen dieser Art sind nicht nur für den Patienten, sondern auch für dessen Familienmitglieder von großer Bedeutung. Das Wissen um das Vorhandensein dieser Fettstoffwechselstörung als Ursache für die Nebennierenrindeninsuffizienz kann nicht nur für den Patienten, sondern auch für dessen Kinder den Beginn einer kausalen Therapie bedeuten. Diese könnten insofern von einem früheren Therapiebeginn profitieren, als dass das Ausmaß etwaiger Funktionsstörungen nicht nur verringert, sondern eventuell verhindert werden kann.

## 1.3 Adrenoleukodystrophie

Der Begriff Adrenoleukodystrophie bezeichnet eine genetisch bedingte Erkrankung, welche sowohl eine neurologische als auch endokrine Funktionsstörung nach sich zieht. Charakteristisch für dieses Krankheitsbild ist eine sehr hohe Konzentration an überlangkettigen Fettsäuren (VLCFA) im Gewebe und den Körperflüssigkeiten. Die Inzidenz liegt bei Männern zwischen 1 von 20.000 und 1 von 50.000 und scheint in allen ethnischen Gruppen gleich zu sein. Die Prävalenz von Männern und Frauen in den Vereinigten Staaten von Amerika liegt bei 1 von 18.000 und erreicht somit die Häufigkeit der Phenylketonurie. [5]

### 1.3.1 Pathogenese

Bei Patienten mit ALD führt eine gestörte peroxisomale  $\beta$ -Oxidation von VLCFA zu einer abnormen Ansammlung dieser gesättigten überlangkettigen Fettsäuren im Gewebe und in sämtlichen Körperflüssigkeiten. Besonders betroffen sind die weiße Substanz des zentralen Nervensystems, die Nebennierenrinde und der Hoden sowie die Erythrozytenmembran, die Leukozyten und das Plasma. [6] Die Akkumulation der VLCFA hat eine Demyelinisierung des zentralen und peripheren Nervensystems sowie in einigen Fällen eine Nebennierenrindeninsuffizienz und einen Hypogonadismus zur Folge. [3,7]

#### 1.3.1.1 VLCFA

VLCFA werden definiert als gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren mit einer Kohlenstoffkette von mehr als 22 Atomen. Normalerweise kommen gesättigte VLCFA in höheren Konzentrationen nur in den Lipiden der Myelinscheiden und den Erythrozyten vor. Bei der ALD kommt es hauptsächlich zu einer Akkumulation von gesättigten VLCFA mit einer Kohlenwasserstoffkette von 24 (C24:0) oder 26 (C26:0) Atomen. [5]

#### 1.3.1.2 Vorkommen und Metabolismus der VLCFA

Grundsätzlich gibt es zwei verschiedene Quellen für VLCFA: einerseits die exogene Zufuhr mit der Nahrung, andererseits die endogene Synthese mittels eines Fettsäure-elongationssystems. [5] Die Biosynthese der VLCFA findet in erster Linie in den Mikrosomen, in einem geringeren Ausmaß aber auch in den Mitochondrien, statt und erfolgt durch die Verlängerung von kürzeren Fettsäurevorstufen mit Kohlenstoffseitenketten. [8] 1982 konnte Brown et al in einer diätetischen Studie mit sechs

Patienten zeigen, dass die endogene Synthese quantitativ bei Patienten mit ALD die größere Rolle spielt. Die Patienten erhielten über einen Zeitraum von 3 Monaten bis 2 Jahren eine Kost mit einem C26:0 Anteil von < 3mg/Tag . Bei den anschließend durchgeführten Blutuntersuchungen konnte kein relevanter Effekt auf den Plasmaspiegel der VLCFA nachgewiesen werden.

Allerdings kann das Vorhandensein von einfach ungesättigten Fettsäuren die Synthese gesättigter Fettsäuren vermindern. Es wird angenommen, dass es sich um eine Art kompetitiver Hemmung des Elongationssystems in den Mikrosomen handelt. [9]

Der Abbau der VLCFA findet fast ausschließlich in den Peroxisomen und nur zu einem geringen Anteil in den Mitochondrien statt. Bevor jedoch die  $\beta$ -Oxidation stattfinden kann, müssen die Fettsäuren durch ein Enzym namens Acyl-CoA Synthetase aktiviert werden. Da die Fettsäuren in ihrer Größe sehr stark variieren, existieren verschiedene Acyl-CoA Synthetasen, die in der Lage sind, Fettsäuren bestimmter Länge unter Bildung eines energiereichen Thioesters mit dem Coenzym A in die aktive Form umzuwandeln.

In Zellpräparaten von Patienten mit ALD konnte in einigen unabhängigen Laboren eine verminderte Fähigkeit zur peroxisomalen  $\beta$ -Oxidation der VLCFA in Folge verminderter Aktivität der VLCS in den Peroxisomen, bei normaler Aktivität in den Mikrosomen, nachgewiesen werden. Tsuji und seine Forschungsgruppe konnten eine erhöhte Bildungsrate von C26:0 Vorstufen in Fibroblasten von Patienten mit ALD nachweisen. Somit dürften die erhöhten VLCFA Werte bei den Patienten einerseits durch den verminderten Abbau in den Peroxisomen und andererseits durch eine vermehrte Bildung in den Mikrosomen verursacht werden. Der Mechanismus der VLCFA Überproduktion ist allerdings noch ungeklärt. [5]

### *1.3.1.3 Genetik*

ALD wird durch eine Mutation des ABCD1 Genes, welches am Xq28 lokalisiert ist, verursacht. Dieses Gen codiert ein peroxisomales Protein (ALDP), welches 745 Aminosäuren enthält und einen Bestandteil der Peroxisomenmembran darstellt. [4,9] ALDP wird an freien Polysomen synthetisiert, posttranslationell zu den Peroxisomen transportiert und in deren Zellmembran eingebaut. [10] Es gehört zur Familie der ABC-Transmembrantransporter (ATP binding-cassette transporter) und ist für die Aufnahme der VLCFA vom Zytoplasma in das Lumen der Peroxisomen verantwortlich.

Ein Defekt des ALDP führt zu einer Akkumulation der VLCFA, dem diagnostischen Marker der ALD. [11]

Der typische ABC Transporter besitzt je zwei hydrophobe und hydrophile Transmembran-domänen mit jeweils einer Nukleotidbindungsstelle. ALDP besitzt hingegen nur je eine hydrophobe und hydrophile Domäne und wird daher als Half-Transporter bezeichnet. Sein hydrophober amino-terminaler Anteil mit sechs Transmembransegmenten ist in der Membran der Peroxisomen und der hydrophile carboxy-terminale Anteil mit der ATP bindenden Domäne im Zytoplasma lokalisiert. [5,6]

Um seine Funktion entfalten zu können, muss das ALDP mit einem Partner ein Dimer bilden. [12] Ob es sich bei diesem Bindungspartner um ein weiteres ALDP oder um einen anderen ABC Transporter handelt, ist bisher unbekannt.

Es wurden bereits mehr als 200 verschiedene Mutationen des ABCD1 Genes identifiziert. Einige Mutationen betrafen die Nukleotidbindungsstelle, andere den „Hot Spot“ auf Exon 5 oder das C-terminale Aminosäureende. H. W. Moser et al untersuchten 81 ALD Patienten bezüglich der Art, der Lokalisation und der Frequenz ihrer Mutation. Bei 55% der Patienten handelte es sich um Missense-Mutationen. [9] Im Zuge dieser Mutationen kommt es infolge eines Basenaustausches zum Einbau einer falschen Aminosäure in des entsprechende Protein. [13] Bei 23% der Untersuchten konnten Frameshiftmutationen mit einer Verschiebung des Leserasters durch Deletion oder Insertion einer Base nachgewiesen werden, Nonsensemutationen wurden bei 8% identifiziert und bei 5% handelte es sich um Splicingdefekte. [9] De Novo Mutationen wurden von Feigenbaum et al bei einer Untersuchung von 37 französischen ALD Patienten mit nachgewiesenen genetischen Veränderungen nur in 5,4% der Fälle nachgewiesen. [14] Allerdings konnte bisher keine Korrelation zwischen der Art der Mutation des ABCD1 Genes und dem Phenotyp festgestellt werden. [5] Daher wird bis dato vermutet, dass einerseits so genannte Modifieregene für die Variabilität der Phenotypen verantwortlich sind, andererseits neben den genetischen Faktoren die Umwelteinflüsse eine Rolle spielen. [9]

#### *1.3.1.4 Effekt der VLCFA auf die Struktur und Funktion der Zellmembranen*

Aufgrund der Länge ihrer aliphatischen Ketten sind die VLCFA extrem unlöslich und haben veränderte physiologische Eigenschaften. So erfolgt die Desorption von C26:0 an den Phospholipidmembranen 10.000 mal langsamer als die von Fettsäuren mit einer Kohlenwasserstoffseitenkette von 14 bis 18 Atomen.

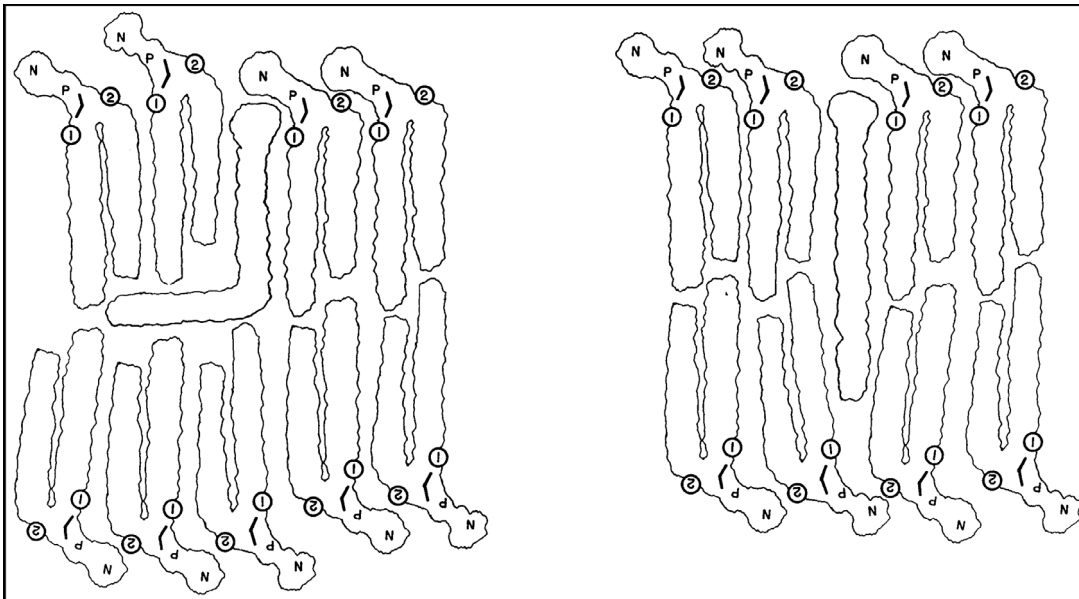


Abb. 1: Schematische Darstellung der Einbindung des C26:0 Moleküls in die Phospholipiddoppelschicht [9]

Mikrokalorimetrische Studien haben gezeigt, dass der Einschluss von C26:0 in die Zellmembran deren Struktur zerstört und die Mikroviskosität erhöht. [5]

Der Grund dafür ist, dass das C26:0 Molekül nicht gerade in die Phospholipiddoppelschicht passt, sondern entweder bis zur Hälfte in die gegenüberliegende Phospholipidschicht reicht oder in der Mitte zwischen den beiden Schichten abgeknickt wird. [9]

#### 1.3.1.5 Pathogenese der Nebenniereninsuffizienz

Witcomb und seine Kollegen fügten 1995 zu einer in Zellkultur gezüchteten, menschlichen Nebennierenrindenzellen jene Menge an C26:0 und C24:0 hinzu, die der Plasmakonzentration von ALD Patienten entspricht. Es zeigte sich einerseits eine erhöhte Mikroviskosität der Zellmembranen und andererseits eine verminderte Cortisolsekretion. Daraus konnte geschlossen werden, dass die Erhöhung der VLCFA und deren Ansammlung in der Plasmamembran nicht nur die Membranstruktur der Nebennierenrindenzellen zerstört, sondern auch die Funktion der ACTH-Rezeptoren beeinträchtigt. [9] Der genaue Mechanismus der Unterdrückung der ACTH-Rezeptoren durch die VLCFA wurde noch nicht geklärt. Es liegt jedoch die Vermutung nahe, dass die VLCFA durch kompetitive Hemmung die Rezeptoren blockieren und so die normale Wirkung des ACTHs verhindern. [15]

In den Zellen der Nebennierenrinde kommt es infolge des verminderten Abbaus der

VLCFA zu einem erhöhten Anteil an Cholesterinestern, die VLCFA enthalten. Diese Cholesterinester sind allerdings nicht für die Steroidhormonproduktion geeignet, sodass es in weiterer Folge zu einer steigenden Akkumulation dieser Ester in den Zellen der Nebennierenrinde und bei Fortschreiten der Erkrankung zur Atrophie derselben kommt. Das Vollbild der Erkrankung ist eine primäre Nebennierenrindeninsuffizienz mit verminderter Cortisolsekretion bei erhöhten ACTH Plasmaspiegeln. [5]

#### *1.3.1.6 Effekt der VLCFA auf die Strukturen des zentralen Nervensystems*

Das Nervensystem betreffend existieren bei ALD Patienten offensichtlich zwei verschiedene Manifestationsformen. Die eine betrifft die distalen Axone und ist mit der AMN, welche sich meist in der späten Adoleszenz oder im Erwachsenenalter manifestiert, assoziiert. [9] Der Mechanismus, welcher infolge der erhöhten Konzentrationen an VLCFA im Nervensystem zur Demyelinisierung führt, ist noch nicht geklärt. [6] Es wird vermutet, dass die Struktur der Zellmembran und deren Funktion ebenfalls durch die Akkumulation der VLCFA verändert werden. Beweise für diese Hypothese gibt es allerdings keine. Die andere Verlaufsform führt zu einer entzündlich bedingten Demyelinisierung und ist mit der CCER assoziiert. Die CCER verläuft rapid progressiv und führt meist vor dem Einsetzen der Adoleszenz zum Tod der Patienten. Die cerebralen Veränderungen, die im Zuge dieser Erkrankung auftreten, ähneln dem Erscheinungsbild der Multiplen Sklerose. In der weißen Substanz können mittels CT oder MRT perivaskuläre Lymphozyteninfiltrate und eine Zerstörung der Blut-Hirnschranke mit einer Kontrastmittelansammlung im betroffenen Areal nachgewiesen werden. Diese entzündliche Reaktion fehlt bei Patienten mit AMN. [9]

### **1.3.2 Phentypen**

Die Klassifikation der verschiedenen Phentypen der ALD ist willkürlich und basiert auf der Unterscheidung nach dem Erstmanifestationsalter, der Neuropathologie und der Überlebenszeit. Zurzeit werden sechs Varianten unterschieden, die von der rapid progressiven kindlich cerebralen Form (CCER) mit totaler Behinderung innerhalb der ersten Lebensdekade bis zur milden AMN mit annähernd normaler Lebenserwartung reichen. [16,9]

Die CCER und AMN sind die häufigsten Manifestationsformen der ALD und sind gemeinsam für 80% der Fälle verantwortlich. [16]

Beide Phenotypen sind sehr häufig mit einem Mb. Addison assoziiert, wobei die Nebenniereninsuffizienz den neurologischen Symptomen vorausgehen, mit ihnen parallel auftreten oder sich nach ihnen entwickeln kann. Bei 39% der Patienten mit ALD wurde das Vorhandensein einer Nebenniereninsuffizienz vor dem Auftreten der neurologischen Defizite und bei 61% der Patienten mit AMN zum Zeitpunkt der Diagnosestellung beobachtet. [17]

Phenotyp	Häufigkeit	Manifestationsalter	Beschreibung
Kindheit cerebral (CCER)	31-35%	vor dem 10.LJ	progressive Verhaltensänderungen und Auftreten kognitiver Defizite entzündliche Veränderungen des Gehirns totale Behinderung meist innerhalb von 3 Jahren
Adoleszenz cerebral	4-7%	10-21.LJ	ähnlich der CCER aber mit langsamerer Progression
Erwachsenenalter cerebral	2-5%	nach dem 21.LJ	Verhaltensauffälligkeiten, Demenz, mit vorausgehender AMN entzündliche Veränderungen der weißen Substanz Progression ähnlich der der CCER
AMN	40-46%	28.+/- 9 LJ	hauptsächlich Rückenmark betroffen, keine Entzündungsreaktion 40% haben oder entwickeln eine cerebrale Beteiligung
nur NNRI	altersabhängig bis zu 50% in der Kindheit	vor dem 8.LJ	primäre NNRI ohne neurologische Defekte
asymptomatisch	häufig<4.LJ selten>40.LJ		genetischer Defekt ohne neurologische oder endokrinologische Auffälligkeiten

*Tabelle 1: Phenotypen der ALD [5;9]*

### *1.3.2.1 Die kindlich cerebrale Form der ALD*

Die CCER ist charakterisiert durch eine rasch verlaufende Demyelinisierung beider Gehirnhälften, beginnend in der parieto-occipitalen Region, sowie einer perivaskulären Infiltration mit Leukozyten und Makrophagen, ähnlich den Veränderungen, wie sie bei der Multiplen Sklerose beobachtet werden können. [9] Die Erstmanifestation der Erkrankung tritt meist zwischen dem 3. und 10. Lebensjahr auf und ist charakterisiert durch Verhaltensauffälligkeiten, schwache schulische Leistungen, eine Gesichtsfeld-einschränkung, Visusminderung und Probleme im Verständnis der Sprache in lauter Umgebung oder am Telefon. [5,16] Oft werden frühe Verhaltensänderungen wie emotionale Instabilität, Zurückgezogenheit oder Hyperaktivität als Aufmerksamkeitsdefizit

missgedeutet und mit Stimulanzen therapiert. [5] Nach dem Auftreten der ersten neurologischen Symptome kommt es innerhalb weniger Monaten zum Auftreten von Krampfanfällen, einer spastischen Tetraparese und der Entwicklung einer Demenz. Die meisten Patienten sterben innerhalb von zwei bis drei Jahre nach der Manifestation neurologischer Symptome. [16] Patienten mit einer längeren Überlebenszeit verbringen diese im Wachkoma. Dieser Zustand kann mehrere Jahre, in Einzelfällen länger als fünf Jahre, dauern. Die Diagnostik wurde durch die breite Verfügbarkeit der MRT und verlässliche biochemische Verfahren in den letzten Jahren erleichtert. Davor stellte die Abgrenzung der CCER gegenüber einer subakut sklerosierenden Panencephalitis, einer Encephalitis oder einem Gehirntumor eine große Herausforderung dar. [5] In der Magnetresonanztomographie zeigen sich ausgedehnte periventrikuläre Demyelinisierungen der weißen Substanz besonders im Lobus occipitalis. Die Pyramidenbahnen sind zu Beginn nicht betroffen, letzten Endes kommt es jedoch meistens zu deren Mitbeteiligung. [16]

#### *1.3.2.2 Die jugendlich cerebrale Form der ALD*

Dieser Phenotyp tritt wesentlich seltener in Erscheinung. Die Adol CALD ähnelt in ihrem Verlauf und in ihrer klinischen Präsentation der CCER, die ersten Symptome treten jedoch erst zwischen dem 11. und 21. Lebensjahr auf. [5,16]

#### *1.3.2.3 Die cerebrale Form der ALD beim Erwachsenen*

Diese Bezeichnung bezieht sich auf Patienten, die erst nach dem 21. Lebensjahr cerebrale Symptome, jedoch ohne Beteiligung des Rückenmarks, entwickeln. [5] Es handelt sich um eine sehr seltene Form der ALD, deren Erscheinungsbild einer Schizophrenie mit Demenz, einer paranoiden Psychose oder anderen psychiatrischen Erkrankungen ähnelt. [16] Zu den häufigsten Frühsymptomen zählen manische Episoden mit Enthemmung, Impulsivität, Hypersexualität und Perseverationen. Die Prognose dieses Phenotyps ist ähnlich schlecht wie die der beiden oben genannten. Die ACALD führt innerhalb von drei bis vier Jahren nach Auftreten der ersten neurologischen Symptome zum Tod oder Wachkoma. Differentialdiagnostisch sollte bei erwachsenen Addisonpatienten mit auftretenden psychotischen Störungen daher immer an die Möglichkeit des Vorhandenseins einer ALD gedacht werden. [5]

#### *1.3.2.4 Die Adrenomyeloneuropathie*

Mit einer relativen Häufigkeit von 25 bis 46% ist die AMN der häufigste Phenotyp der ALD. [16] Die neurologischen Symptome treten in der Regel in der dritten oder vierten Dekade auf, betreffen hauptsächlich die langen Bahnen des Rückenmarkes und zu einem geringeren Anteil die peripheren Nerven. [18] Die Patienten entwickeln allmählich eine spastische Paraparese, eine gestörte Vibrationsempfindung der Beine und eine erektile Dysfunktion sowie Blasenentleerungsstörungen. [5,16] Obwohl AMN Patienten in der Regel keine klinischen Zeichen einer Gehirnbeteiligung haben, zeigen sich in der MRT bei 50% der Männer mit AMN milde bis mittelschwere Veränderungen des Gehirns. In einigen Fällen ähneln die Veränderungen der weißen Substanz den Demyelinisierungen der CCER. [16] Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind die Plasma ACTH Spiegel normalerweise stark erhöht. Jene sind vermutlich der Grund für die relativ lange Aufrechterhaltung der normalen Funktion der Nebennierenrinde. [5]

#### *1.3.2.5 Isolierte Nebenniereninsuffizienz*

Bei 10 bis 15% der Patienten mit ALD ist nur die Nebenniereninsuffizienz nachweisbar. [19] Patienten mit diesem Phenotyp präsentieren sich klinisch mit Müdigkeit, Hypotonus und einer bronzenen Verfärbung der Haut bzw. der Schleimhäute. Laborchemisch zeigt sich eine Erhöhung der ACTH Spiegel im Plasma sowie erniedrigte Cortisolwerte oder eine verminderte Cortisolausschüttung nach ACTH Stimulation. [16] Bei genauer neurologischer Untersuchung lässt sich bereits bei einigen dieser Patienten eine geringfügige neurologische Beteiligung im Sinne einer Hyperreflexie, eines verminderten Vibrationsempfindens in den Beinen sowie geringgradiger Veränderungen im MRT nachweisen. [5]

Studien haben gezeigt, dass 4 bis 63% der Patienten mit einem Morbus Addison in Wirklichkeit unter diesem Phenotyp der ALD leiden. [16] Daher ist eine routinemäßige Bestimmung der VLCFA im Plasma, vor allem bei männlichen Patienten mit Nebenniereninsuffizienz, besonders wichtig.

Viele der Patienten mit diesem Phenotyp entwickeln im Laufe der Zeit neurologische Symptome. Bei einigen treten jene bereits während der Kindheit auf, meistens manifestieren sie sich ähnlich der AMN im Erwachsenenalter. Das Intervall zwischen dem Auftreten der Nebenniereninsuffizienz und dem der neurologischen Veränderungen kann sehr variabel sein und in Einzelfällen sogar bis zu 32 Jahre betragen. [5]

#### *1.3.2.6 Asymptomatische Patienten*

Im Zuge von Screeninguntersuchungen bei Familien mit symptomatischen ALD Patienten wurden von der Arbeitsgruppe um Hugo Moser Patienten mit genetischem Defekt aber ohne neurologische oder endokrine Symptome identifiziert. [5] Bei diesen Patienten, die insgesamt 5 bis 10% aller ALD Fälle ausmachen, ist die Erhöhung der VLCFA im Plasma die einzige Manifestation der Erkrankung. [19] Das Risiko dieser Patienten eine Symptomatik ähnlich der der AMN zu entwickeln ist sehr hoch. [16]

#### **1.3.3 Diagnostik**

Die Diagnostik der ALD erfolgt gewöhnlich mittels Bestimmung der VLCFA C22, C24 und C26 sowie den dazugehörigen Quotienten im Plasma oder Serum. Eine kombinierte Erhöhung der Quotienten C24/22 und C26/22 ist hierbei der verlässlichste Marker für das Vorhandensein der Erkrankung. [20]

Der erste diagnostische Schritt ist die Durchführung der Untersuchung in Nüchternserum oder Nüchternplasma, welche seit 2003 hauptsächlich mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie durchgeführt wird. Bei pathologisch erhöhten Werten wird die Analyse in einer zweiten Probe wiederholt um auszuschließen, dass die Proben vertauscht wurden. Ergeben sich auch bei wiederholter Bestimmung erhöhte Werte, so wird abschließend eine Bestimmung in Fibroblasten, welche aus einer kleinen Hautbiopsie gezüchtet werden, durchgeführt. [16,21]

Die Immunfluoreszenz Mikroskopie dient der Bestimmung der ALDP Expression und wird ebenfalls in kultivierten Hautfibroblasten durchgeführt. Die Fibroblasten von gesunden Kontrollpersonen zeigen eine getüpfelte Immunfluoreszenz der Peroxisomen. Diese Immunreaktivität fehlt bei bis zu 70% der männlichen ALD Patienten. [5,21]

Zwischen 5 und 15% der heterozygoten Frauen haben normale VLCFA Spiegel und so wäre die Bestimmung der Genmutation der verlässlichste Weg um den Erbträgerstatus in einer ALD Verwandtschaft zu bestimmen. Da diese Analyse bei noch unbekannter Mutation einerseits sehr arbeitsaufwendig ist, andererseits routinemäßig nicht durchgeführt wird, ist die Immunfluoreszenz eine schnelle und günstige Alternative. Heterozygote Frauen mit fehlendem ALDP haben im Gegensatz zu ihren männlichen Verwandten auf Grund der X-Inaktivierung eine gemischte positive und negative ALDP Immunreaktivität. [14,16]

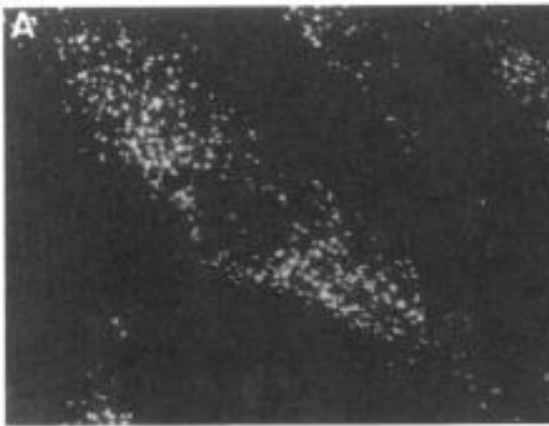


Abb. 2: normale Immunfärbung der Fibroblasten mit getüpfeltem Erscheinungsbild [14]

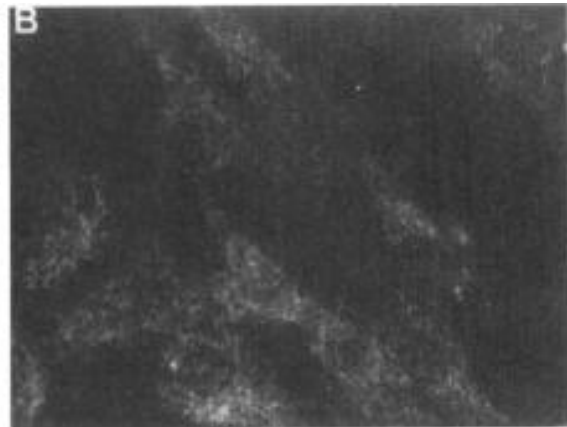


Abb. 3: fehlende Immunreaktivität infolge des Mangels an ALDP bei einem Patienten mit ALD [14]

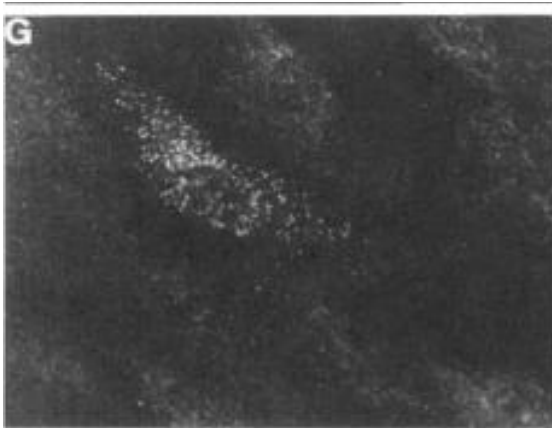


Abb. 4: zwei Fibroblasten einer heterozygoten Frau-einer mit normaler ALDP Immunreaktivität und einer ohne jegliche ALDP Expression [14]

Die MRT des Gehirns liefert häufig den ersten Hinweis zur Diagnostik der ALD. Eine Gehirnbeteiligung kann bereits sehr früh festgestellt werden. Des Weiteren liefert die MRT bei der Beurteilung der Schwere der Entzündungsreaktion und der Demyelinisierung einen wesentlichen Beitrag. Zusätzlich erhält man Informationen über die Prognose und eine Hilfestellung in der Auswahl des entsprechenden Therapieverfahrens. Im Zuge der Behandlung wird die MRT zur Evaluierung eingesetzt.

Hyperdense Areale in der weißen Substanz kennzeichnen Teile des Gehirns, in denen das Myelin bereits zerstört und durch Gliazellen ersetzt wurde. Diese Veränderungen sind in vielen Fällen bereits vor dem Auftreten von neurologischen oder neuropsychologischen Defekten sichtbar. Nach einer Kontrastmittelapplikation zeigt sich in jenen Arealen mit

einer akuten Entzündungsreaktion eine Kontrastmittelanreicherung infolge der erhöhten Durchlässigkeit der Bluthirnschranke.

Neurophysiologische Untersuchungen zeigen abnorme auditorisch evozierte Potenziale bei 98% der Patienten mit AMN und 42% der heterozygoten Frauen. Die häufigste Veränderung ist das Auftreten von Prolongationen der Wellen und deutet auf eine Beteiligung der medullopontinen Bahnen hin. Auch die motorische und sensorische Nervenleitgeschwindigkeit der peripheren Nerven ist in Folge der multifokalen Demyelinisierung sowie des Axonverlustes vor allem in den unteren Extremitäten beeinträchtigt. [5,22]

Die Bestimmung der Cortisol- und ACTH-Spiegel, die Durchführung eines ACTH Stimulationstestes sowie die Bestimmung der Testosteron- und Gonadotropin-Spiegeln spielen in der Diagnostik einer bestehenden Nebenniereninsuffizienz sowie eines primären Hypogonadismus eine wesentliche Rolle. [18] Das Nichterkennen einer primären Nebenniereninsuffizienz kann zum Tod der betroffenen Patienten führen. Daher ist es essentiell sich über den Umfang dieser Funktionsstörung, welche in erster Linie die Glukocorticoide und nur zu einem geringeren Anteil die Mineralocorticoide betrifft, bewusst zu werden, um möglichst bald mit der Hormonersatztherapie beginnen zu können. [5,9]

### **1.3.4 Therapie**

Obwohl das für die ALD verantwortliche Gen identifiziert wurde, ist die Durchführung der Gentherapie mittels retroviralen Transfers des ALD Genes in C34+ Zellen der ALD Patienten in naher Zukunft nicht realistisch. Daher wurde der Versuch unternommen alternative Therapiemöglichkeiten zu entwickeln. Hierzu gehören einerseits die Hormonsubstitution einer begleitenden Nebenniereninsuffizienz oder eines primären Hypogonadismus andererseits die Therapie mit Lorenzo's Öl, die Knochenmarkstransplantation und schließlich alternative Therapieveruche mit Lovastatin und 4-Phenylbutyraten. [5,23]

#### *1.3.4.1 Hormonersatztherapie*

Die Steroidersatztherapie kann zwar nicht das Fortschreiten der neurologischen Symptome verhindern, aber das Allgemeinbefinden verbessern und in einzelnen Fällen beim Auftreten einer Addisonkrise lebensrettend sein.

Im Allgemeinen erhalten die Patienten dieselbe Glukocorticoiddosis, die auch bei anderen Formen der primären Nebenniereninsuffizienz eingesetzt wird. Zu Beginn der Therapie erhalten die Patienten Informationen über die Erhöhung ihrer Tagesdosis in Stresssituationen oder bei sportlichen Aktivitäten sowie über die Notwendigkeit der parenteralen Verabreichung von Methylprednisolon bei Erbrechen. [5]

#### *1.3.4.2 Therapie mit Lorenzo`s Öl*

Die diätetische Therapie hat zum Ziel den VLCFA Spiegel zu senken und wurde erstmals 1981 angewandt. Da die reduzierte Aufnahme der gesättigten VLCFA mit der Nahrung die Plasmaspiegel nicht senken konnte, wurde versucht zusätzlich die endogene Synthese zu vermindern. Dies geschieht durch die Verabreichung einfach ungesättigter Fettsäuren, welche durch kompetitive Hemmung die Elongation der gesättigten Fettsäuren zu VLCFA in den Mikrosomen hemmen. [24] Der Nahrung wird ein 4:1 Gemisch aus Oleinsäure C18:1 (GOT) und Erukasäure C22:1 (GTO), welches als Lorenzo`s Öl bekannt ist, zugesetzt. [16] Durch die Kombination aus verminderter exogener Zufuhr und einer geringeren endogenen Synthese kam es in zahlreichen Studien zu einer signifikanten Reduktion der VLCFA Plasmaspiegel und schließlich innerhalb von 4 Wochen zu deren Normalisierung. [18] Trotz dieser bemerkenswerten Auswirkungen auf die Plasmaspiegel konnte weder die Progression der neurologischen Symptome verhindert, noch die endokrine Funktion verbessert werden. Diese Tatsache lässt sich dadurch erklären, dass die Erukasäure, der aktive Teil des Lorenzo`s Öl, nicht in ausreichender Menge in das Gehirn gelangen kann. [5]

Die Therapie mit Lorenzo`s Öl hat als Nebenwirkung unter anderem die Entwicklung einer Thrombozytopenie, welche jedoch nicht zu hämorrhagischen Diathesen führt. Obwohl bei symptomatischen Patienten kein förderlicher Effekt des Lorenzo`s Öl bemerkt werden konnte, darf nicht automatisch daraus geschlossen werden, dass dessen Verabreichung die Erstmanifestation der neurologischen Symptome bei asymptomatischen Patienten ebenfalls nicht hinauszögert. Aus diesem Grund wird infolge der relativ milden Nebenwirkungen und des Fehlens anderer Therapieoptionen die Verabreichung von Lorenzo`s Öl von van Geel et al für präsymptomatische und asymptomatische Patienten weiterhin empfohlen. [16] Um unter der Therapie einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zu vermeiden, sollten laut Empfehlungen von Aubourg et al täglich 10-15ml Saforöl und 2 Fischölkapseln, welche Eicosapentensäure und Dokosahexaensäure enthalten, der Nahrung zugesetzt werden. [22]

#### *1.3.4.3 Knochenmarkstransplantation*

Aubourg zeigte 1990 erstmals, dass die BMT in der Lage ist die Veränderungen in der MRT zu mindern oder zu stabilisieren und somit einen Erhalt der mentalen Fähigkeiten der Patienten zu gewährleisten. [16]

Die BMT ist gegenwärtig der effektivste Therapieansatz bei Patienten mit cerebralen Formen der ALD, in deren Pathogenese Entzündungsreaktionen und Autoimmunphänomene eine essentielle Rolle spielen. [5,9] Der genaue Mechanismus der Wirkung der BMT bei Patienten mit ALD ist noch unklar. Aus der Sicht von HW Moser et al ist die wahrscheinlichste Erklärung für den positiven Effekt auf die neurologische Symptomatik und die Veränderungen in der MRT, dass das transplantierte Knochenmark funktionstüchtige Mikrogliazellen enthält, welche die VLCFA metabolisieren. In weiterer Folge wird deren Konzentration im Gehirn vermindert und die fortschreitende Kaskade der Demyelinisierung unterbrochen. Ein positiver Effekt tritt frühestens sechs Monate nach der BMT auf. Diese Tatsache lässt sich durch den langsamen Umsatz der Mikrogliazellen erklären, welche nur sukzessive abgebaut werden. Entsprechend dieser Hypothese wäre die Reduktion der VLCFA im Gehirn der entscheidende Faktor für die Besserung des Krankheitsbildes. [9] Ob die BMT auch für Patienten mit AMN einen Benefit bringen würde, ist derzeit noch ungewiss. Langzeituntersuchungen mit Patienten, welchen in ihrer Kindheit Knochenmark transplantiert wurde, werden zeigen, ob jene Personen im Erwachsenenalter eine AMN entwickeln. [5]

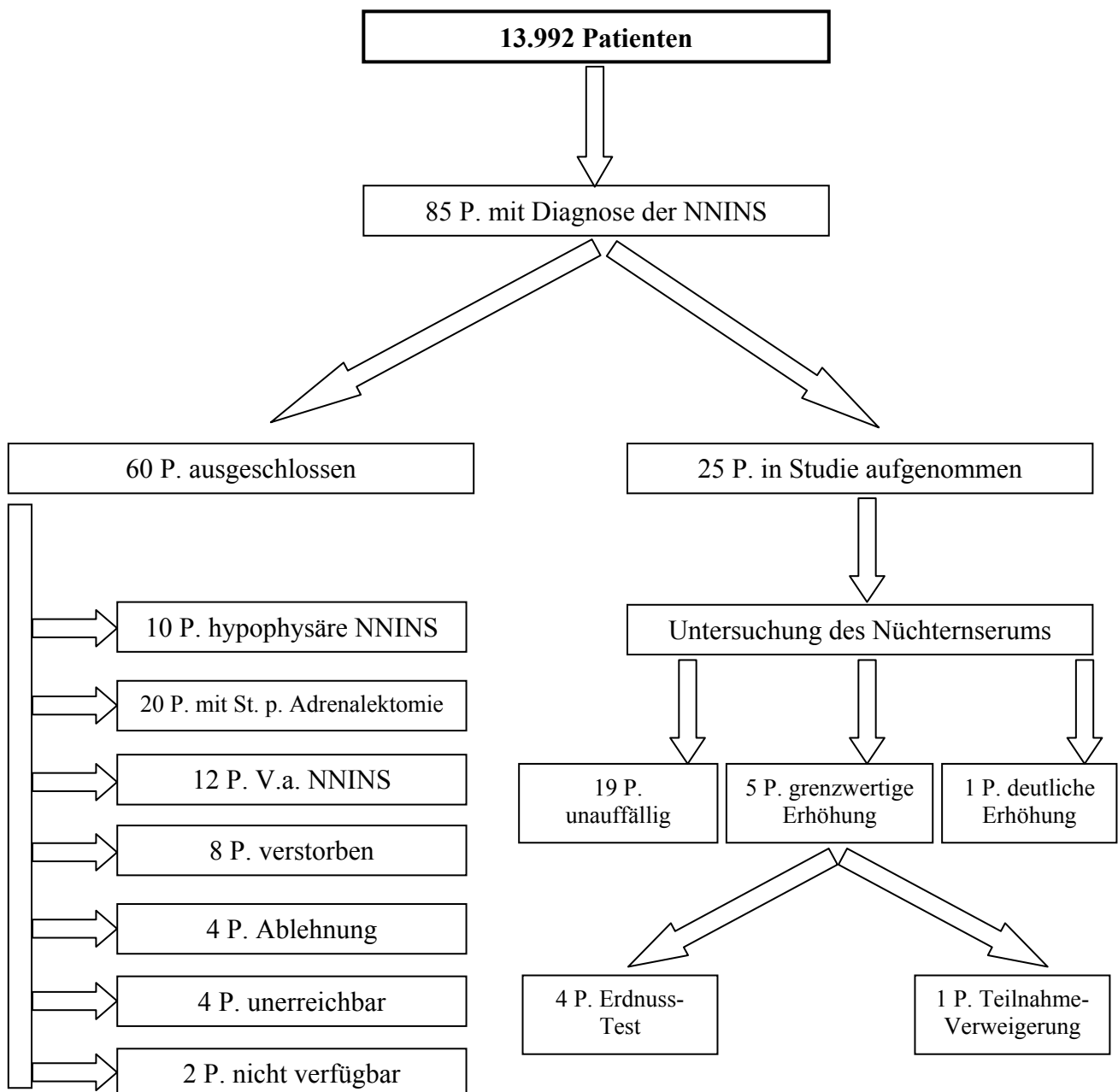
Zurzeit wird die BMT in erster Linie für Patienten empfohlen, die eine geringe cerebrale Beteiligung entweder in Form von MRT Veränderungen oder Auffälligkeiten in den neuropsychologischen Tests zeigen. Patienten mit bereits fortgeschrittenen, schweren Veränderungen profitieren nicht von dieser Therapiemöglichkeit; da sie die vorübergehende Verschlechterung ihres Krankheitszustandes, hervorgerufen durch die mit der Therapie verbundene Stressreaktion, nicht tolerieren. [9] Aus oben genannten Gründen ist somit eine sorgfältige Selektion und anschließendes Monitoring der in Frage kommenden Patienten von Nöten. In sechs monatigen Intervallen werden eine MRT und neuropsychologische Tests durchgeführt, um auch noch so kleine Veränderungen möglichst rasch erkennen und bei deren Auftreten mit einer schnellen Durchführung der BMT reagieren zu können. [5]

## 2 Methodik

### 2.1 Prinzip der Datenerfassung

Die Studie wurde mit Patienten, die im Zeitraum von Jänner 2002 bis Jänner 2007 zumindest einmal wegen einer Störung ihrer Nebennierenrindenfunktion in der endokrinologischen Ambulanz der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz in Betreuung waren, retrospektiv durchgeführt.

#### 2.1.1 Erfassung der Patienten



Im Rahmen der Sichtung von 13.992 Karteikarten ambulanter und stationärer Patienten der Jahre 2002 bis 2007 der endokrinologischen Ambulanz der Universitätsklinik für Innere Medizin in Graz wurden 85 Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz identifiziert.

Von diesen 85 Patienten konnten 25 im Alter zwischen 24 und 72 Jahren (mittleres Alter 49,52 Jahre) mit primärer Nebennierenrindeninsuffizienz in die Studie aufgenommen werden. Bei diesen 25 Patienten handelte es sich um 17 Frauen im Alter zwischen 24 und 72 Jahren (mittleres Alter 53 Jahre) und acht Männer im Alter von 24 bis 62 Jahren (mittleres Alter 46,63 Jahre). 60 Patienten wurden nach genauer Sichtung ihrer Krankengeschichte aus der Studie ausgeschlossen.

Gründe für den Ausschluss waren:

- Das Vorhandensein einer hypophysären Nebennierenrindeninsuffizienz bei zehn Patienten
- Eine verminderte Hormonproduktion bedingt durch eine Adrenalectomie bei 20 Patienten
- 12 Patienten mit Verdacht auf Nebennierenrindeninsuffizienz, welcher durch genaue Abklärung nicht bestätigt werden konnte
- Acht Patienten waren in der Zwischenzeit verstorben
- Vier Patienten lehnten eine Teilnahme ab
- Vier Patienten waren sowohl schriftlich als auch telefonisch nicht zu erreichen
- Zwei Patienten erschienen auch auf wiederholte Anfrage nicht zum vereinbarten Termin

Die Einzeldaten der Ausschlussgründe sind mit prozentueller Verteilung in Abb. 5 sichtbar.

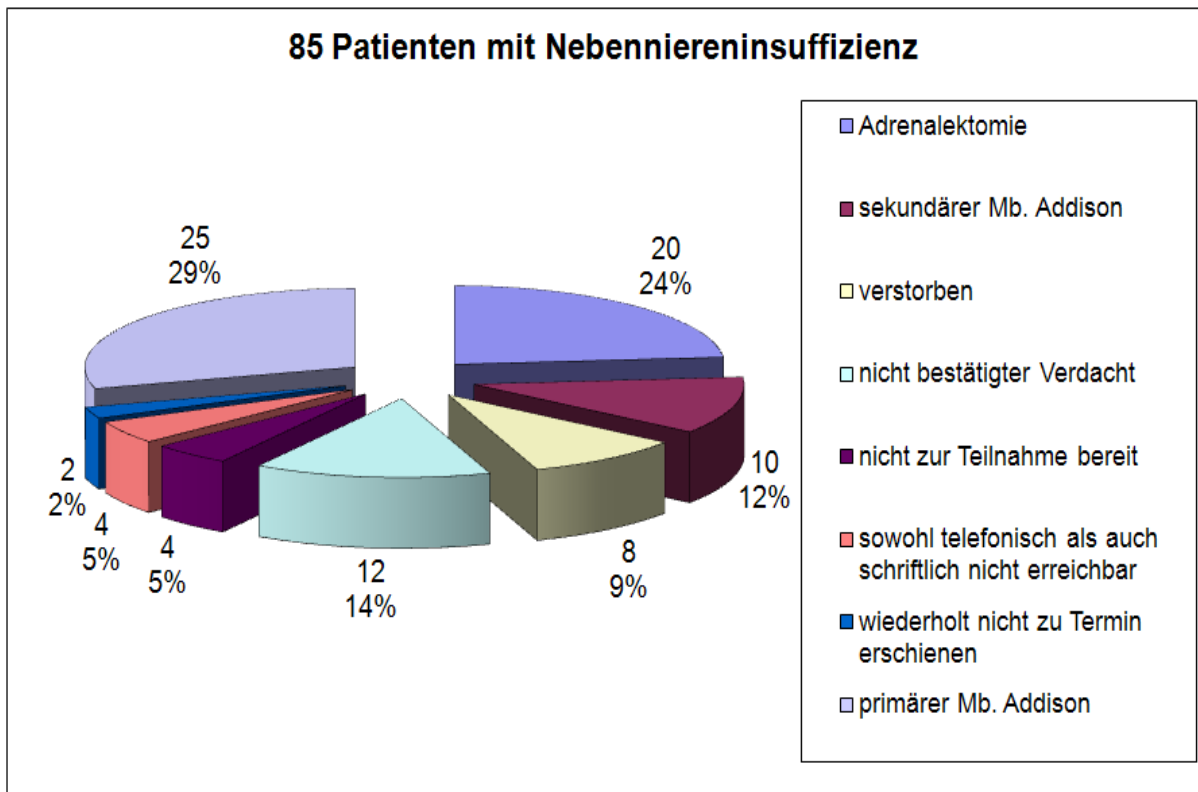


Abb.5: Diagramm der Ausschlussgründe

Im Rahmen einer zweiten Phase der Studie könnten diejenigen Patienten, welche auf Grund einer Adrenalektomie und des hypophysär bedingten Mb. Addison primär aus der Studie ausgeschlossen wurden, ebenfalls in die Untersuchung aufgenommen werden.

### 2.1.2 Kontaktaufnahme

Zu den ermittelten Patienten wurde schriftlich Kontakt aufgenommen. Zu diesem Zweck wurde in Zusammenarbeit mit Univ. Prof. Dr. Harald Dobnig, welcher die betroffenen Patienten ambulant betreut, ein Schreiben verfasst. Dieser Brief erklärte detailliert den Sinn und Ablauf der geplanten Untersuchung, enthielt eine kurze Beschreibung des Krankheitsbildes der Adrenoleukodystrophie und wies auf die Wichtigkeit der Identifizierung der betroffenen Patienten sowie deren Verwandten hin.

Anschließend wurde in einem telefonischen Gespräch eine ausführliche Information über die geplante Untersuchung, welche sich im Wesentlichen aus einem umfangreichen Aufklärungsgespräch und einer Blutabnahme zusammensetzte, durchgeführt. Nach der Einwilligung des Patienten erfolgte die Terminvereinbarung.

### 2.1.3 Probenentnahme

Für die Bestimmung der VLCFA wurde das zu untersuchende Blut bei nüchternen Patienten abgenommen, um falsch positive Werte, welche durch einen erhöhten Konsum von VLCFA mit der Nahrung auftreten können, weitgehend zu minimieren. Um genügend Material für die Bestimmung zur Verfügung zu haben, wurden 9ml pro Patient in einem Serumröhrchen ohne Gel abgenommen.

### 2.1.4 Bestimmung der VLCFA im Nüchternserum

Die Auswertung samt anschließender Befundung der Laborwerte erfolgte in Zusammenarbeit mit Ass. Prof. Dr. Wolfgang Erwa, dem stellvertretenden Leiter des Stoffwechsellabors der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde in Graz sowie seinen Mitarbeiterinnen.

Die Bestimmung der VLCFA wurde mittels Dünnschichtchromatographie und anschließender Messung mithilfe der Gaschromatographie Massenspektrometrie durchgeführt. Nach dem Vorwaschen der 10x10cm großen Platten wurden diese getrocknet. In der Zwischenzeit wurden ein interner Standard, bestehend aus D4-C22, D4-C24 und D4-C26 von Dr. Brink aus Amsterdam sowie ein externer Standard, bestehend aus C22 Sigma B-7644, C24 Sigma L-6641 und C26 Sigma H-0388 und die Serumproben aufbereitet. Die Proben wurden im Anschluss auf die vorbereiteten Platten aufgetragen, getrocknet und die Dünnschichtchromatographie durchgeführt. Bei der Auswertung wurden die entsprechenden Konzentrationen der VLCFA in den Proben mit Hilfe der jeweiligen Konzentrationen des internen und externen Standards berechnet. Zu diesem Zweck wurde primär die Ratio der Massen der jeweiligen Fettsäure in der Probe und im internen Standard ermittelt. Im Anschluss erfolgte die Berechnung des jeweiligen Fettsäurefaktors mit Hilfe des Quotienten der Fettsäurenmasse aus den Proben und dem externen Standard. Die Konzentration der VLCFA ergab sich schließlich aus dem Produkt der beiden ermittelten Werte, dessen Einheit in  $\mu\text{g/ml}$  angegeben wird. Der letzte Schritt war die Ermittlung der Ratios C24/C22 und C26/C22.

#### Verwendete Formeln:

$$\text{Masse C22/Masse D4-C22} = 354/358$$

$$\text{Masse C24/Masse D4-C24} = 382/386$$

$$\text{Masse C26/Masse D4-C26} = 410/414$$

*Berechnung des Faktors der drei VLCFA:*

C22 Faktor =  $10/\text{Ratio C22 vom externen Standard} \times 2$

C24 Faktor =  $10/\text{Ratio C24 vom externen Standard} \times 2$

C26 Faktor =  $\text{Ratio C26 vom externen Standard}/0,4$

*Berechnung der jeweiligen Fettsäure in den Proben:*

$\text{Ratio } 354/358 \times \text{C22 Faktor} = \text{C22 Konzentration in } \mu\text{g/ml}$

$\text{Ratio } 382/386 \times \text{C24 Faktor} = \text{C24 Konzentration in } \mu\text{g/ml}$

$\text{Ratio } 410/414 / \text{C26 Faktor} = \text{C26 Konzentration in } \mu\text{g/ml [25]}$

#### **2.1.4 Erdnussbelastungstest**

Bei Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA Nüchternwerten wurde zum eindeutigen Ausschluss bzw. Nachweis einer Adrenoleukodystrophie ein Erdnussbelastungstest durchgeführt. Unter physiologischen Bedingungen ist nach dem Verzehr von 13dag ungesalzene Erdnüssen ein postprandialer Anstieg und nach einigen Stunden durch den peroxisomalen Abbau ein erneuter Abfall der VLCFA Werte im Serum zu verzeichnen. Bei Patienten mit ALD kommt es primär zu einem massiven Anstieg der Laborwerte und sekundär durch den gestörten Abbau der VLCFA zu einem Persistieren der erhöhten Werte. Zur Verlaufsbeobachtung der VLCFA Werte erfolgte die erneute Abnahme der Nüchternwerte und nach dem Verzehr von 13dag gerösteten, ungesalzene Erdnüssen wurde in regelmäßigen Abständen 9ml Blut in Serumröhrchen ohne Gel abgenommen. Um diese Werte nicht zu verfälschen, durften die Patienten während des gesamten Tests weder Flüssigkeit noch Nahrung zu sich nehmen. Zur Feststellung der relevanten Abstände zwischen den Blutabnahmen und der erforderlichen Dauer des Testes wurde primär der Test mit einem gesunden Probanden durchgeführt. Bei dieser Kontrollperson handelte es sich um einen männlichen Erwachsenen. Nach Verabreichung der Erdnüsse wurde in halbstündigen Intervallen bis zu fünf Stunden nach Testbeginn je ein 9ml Serumröhrchen ohne Gel abgenommen und anschließend im Labor analysiert.

Aufgrund des Verlaufes der ermittelten Parameter, wurde beschlossen bei den Erdnusstests mit den Patienten die Blutabnahmen in einstündigen Intervallen bis zu vier Stunden nach der Erdnussverabreichung durchzuführen. Anschließend wurden die Blutproben wieder in das Blocklabor 3 zur Analyse und nachfolgender Befundung übermittelt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 VLCFA Werte im Nüchternserum

Die 25 Patienten mit primärer Nebenniereninsuffizienz, welche in die Studie aufgenommen wurden, konnten entsprechend der Diagnose der Endokrinologieambulanz in drei Gruppen eingeteilt werden.

- Bei elf Patienten wurde als Ursache der Nebenniereninsuffizienz eine Autoimmunpolyendokrinopathie angenommen
- 9 Patienten wurden als primärer Mb. Addison mit idiopathischer Ursache eingestuft
- Bei fünf Patienten wurde ein adrenogenitales Syndrom mit/ohne Salzverlustsyndrom diagnostiziert

Die Zuteilung zu den jeweiligen Diagnosegruppen ist mit prozentuellen Angaben in Abb. 6 zu sehen.

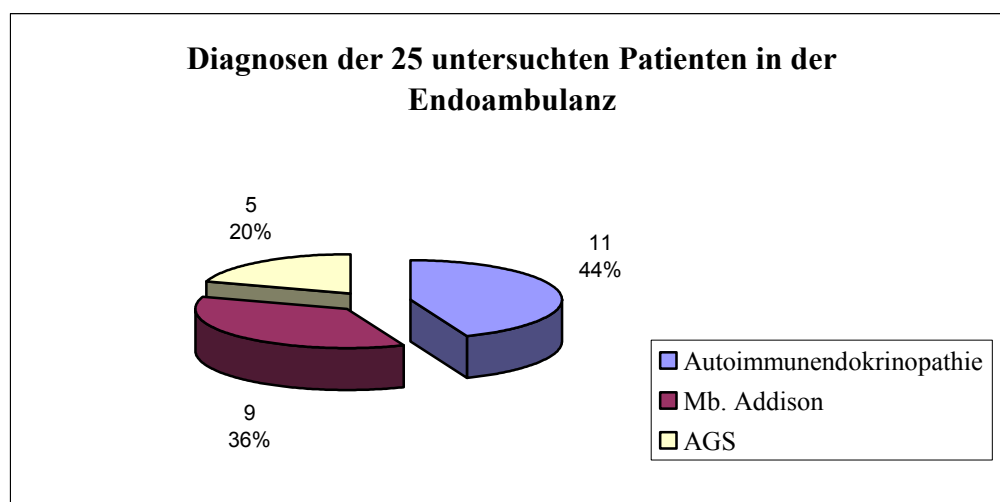


Abb. 6: Diagramm-Diagnosen der 25 Studienpatienten laut Endokrinologieambulanz

Die Auswertung der Nüchternserumproben ergab folgende Ergebnisse:

Bei 76% der Patienten (n = 19) lagen sämtliche VLCFA Werte innerhalb der Normbereiche, bei 4% (n = 1) zeigte sich eine eindeutige Erhöhung sowohl der C26 auf 0.690 µg/ml (0.18-0.48 µg/ml) als auch der Ratio 2622 auf 0.167 (0.007-0.030). Bei den restlichen 20% (n = 5) lagen grenzwertig erhöhte Konzentrationen der VLCFA vor.

So zeigte sich bei der Diagnosegruppe Autoimmunpolyendokrinopathie bei Patient 2 eine C24 Konzentration von 29.00 µg/ml (7.10-28.90 µg/ml) und bei Patient 5 eine Ratio 2422 von 1.10 (0.68-0.98).

In der Gruppe der primären Mb. Addison Fälle mit unklarer Ätiologie ergab die Untersuchung bei Patient F deutlich erhöhte Werte der C26 auf 0.690 µg/ml und der Ratio 2622 auf 0.167 sowie bei Patient H eine Erhöhung der C24 auf 35.00 µg/ml.

Bei den Patienten mit diagnostiziertem AGS waren bei Patient IV der Wert der Ratio 2422 mit 1.03 und bei Patient V die C24 Konzentration mit 42.70 µg/ml sowie die Ratio 2422 mit 1.04 über dem Normbereich.

Die vollständige Auswertung der untersuchten Laborwerte der 25 Patienten zeigen die Tabellen 2-4 nach entsprechenden Diagnosegruppen sortiert.

	<b>Alter</b>	<b>ÜLFS C22</b>	<b>ÜLFS C24</b>	<b>ÜLFS C26</b>	<b>Ratio 2422</b>	<b>Ratio 2622</b>
		<b>(11.20-48.70)</b>	<b>(7.10-28.90)</b>	<b>(0.18-0.48)</b>	<b>(0.68-0.98)</b>	<b>(0.007-0.030)</b>
Patient 1	24	22.30	21.20	0.24	0.95	0.011
Patient 2	36	33.00	29.00 +	0.24	0.88	0.007
Patient 3	48	33.70	23.20	0.23	0.69	0.007
Patient 4	49	21.20	15.70	0.20	0.74	0.009
Patient 5	55	24.20	26.50	0.30	1.10 +	0.012
Patient 6	55	25.20	19.40	0.20	0.77	0.008
Patient 7	56	35.50	23.90	0.16	0.67	0.005
Patient 8	58	30.30	22.40	0.23	0.74	0.007
Patient 9	66	20.40	17.90	0.22	0.88	0.011
Patient 10	68	27.00	24.70	0.22	0.91	0.008
Patient 11	68	18.70	17.20	0.20	0.92	0.011

*Tabelle 2: VLCFA Werte der Patienten mit Autoimmunpolyendokrinopathie  
Patient 1,5 = männlich Patient 2,3,4,6,7,8,9,10 = weiblich*

	<b>Alter</b>	<b>ÜLFS C22</b>	<b>ÜLFS C24</b>	<b>ÜLFS C26</b>	<b>Ratio 2422</b>	<b>Ratio 2622</b>
		<b>(11.20-48.70)</b>	<b>(7.10-28.90)</b>	<b>(0.18-0.48)</b>	<b>(0.68-0.98)</b>	<b>(0.007-0.030)</b>
Patient A	37	16.10	12.70	0.26	0.79	0.016
Patient B	40	27.90	23.10	0.28	0.83	0.010
Patient C	43	18.00	15.80	0.28	0.88	0.016
Patient D	47	26.00	23.90	0.24	0.92	0.009
Patient E	53	25.50	20.90	0.22	0.82	0.009
Patient F	58			0.69 +		0.167 +
Patient G	59	24.80	20.30	0.15	0.82	0.006
Patient H	62	42.00	35.00 +	0.29	0.83	0.007
Patient I	72	29.50	25.00	0.36	0.85	0.012

*Tabelle 3: VLCFA Werte der Patienten mit idiopathischem Mb. Addison  
Patient A,D,F,G,H = männlich Patient B,C,E,I = weiblich*

	Alter	ÜLFS C22	ÜLFS C24	ÜLFS C26	Ratio 2422	Ratio 2622
		(11.20-48.70)	(7.10-28.90)	(0.18-0.48)	(0.68-0.98)	(0.007-0.030)
Patient I	24	25.80	23.10	0.24	0.90	0.009
Patient II	28	17.70	17.00	0.33	0.96	0.019
Patient III	31	23.80	23.10	0.26	0.97	0.011
Patient IV	44	23.90	24.50	0.28	1.03 +	0.012
Patient V	57	40.90	42.70 +	0.34	1.04 +	0.008

*Tabelle 4: VLCFA Werte der Patienten mit AGS mit/ohne Salzverlustsyndrom  
Patient III = männlich Patient I,II,IV,V = weiblich*

### 3.2 Bestimmung der VLCFA in den Fibroblasten

Aufgrund der deutlich erhöhten Serumwerte bei Patient F wurde eine Hautstanze mit einem Durchmesser von 4 mm zur Bestimmung der C26 Konzentration entnommen. Die Gaschromatographische Untersuchung der VLCFA in den Fibroblasten ergab eine C26 von 0.269 µg/ml ( $\leq 0.101$  µg/ml) sowie einen C26/22 Quotienten von 0.733 ( $\leq 0.150$ ). Dieses Ergebnis in Kombination mit der klinischen Symptomatik bestätigt die Werte im Serum und spricht somit eindeutig für das Vorliegen einer Adrenoleukodystrophie/ Adrenomyeloneuropathie. In weiterer Folge wurde bei den beiden Kindern des Patienten eine Bestimmung der VLCFA im Nüchternserum an der Abteilung für Neurologie im LKH Klagenfurt durchgeführt. Die Werte beider Söhne lagen innerhalb der Normbereiche und somit konnte bei ihnen ein Vorliegen der ALD ausgeschlossen werden. Die Schwester des Patienten war zu einer Untersuchung nicht bereit, da sie keine Kinder hat und für sie somit keine Notwendigkeit einer genauen Abklärung besteht. Sie selbst ist bis dato in neurologischer, neuropsychologischer und endokrinologischer Hinsicht beschwerdefrei.

### 3.3 Erdnussbelastungstest bei einer gesunden Kontrollperson

Die VLCFA Ausgangswerte der gesunden Kontrollperson sind generell sehr niedrig. 60min nach der Verabreichung von 13dag Erdnüssen konnte ein leichter Anstieg der Werte der C22 von 9.5 µg/ml auf 12.7 µg/ml, der C24 von 9.5 µg/ml auf 12.4 µg/ml und der C26 von 0.2 µg/ml auf 0.32 µg/ml verzeichnet werden. Die Maximalwerte zeigten sich bei C22 nach 90 min mit 25.5 µg/ml, bei C24 und C26 nach 150 min mit einer Konzentration von 19.00 µg/ml C24 und 1.05 µg/ml C26. Ab diesem Zeitpunkt konnte schließlich ein leichter Abfall der Parameter beobachtet werden, sodass mit Ende des Versuches nach 300 min die Werte der drei untersuchten

Fettsäuren bereits wieder deutlich unter dem jeweiligen Maximum zu finden waren (C22 21.6 µg/ml, C24 17.2 µg/ml und C26 0.85 µg/ml).

Das Testprotokoll mit sämtlichen Einzelwerten des Erdnussbelastungstests ist in nachfolgender Tabelle dargestellt.

**Gesunde Kontrollperson**

	ÜLFS C22 (11.20-48.70)	ÜLFS C24 (7.10-28.90)	ÜLFS C26 (0.18-0.48)	Ratio 2422 (0.68-0.98)	Ratio 2622 (0.007-0.030)
0	9.50	9.50	0.20	1.00	0.021
30	10.60	9.70	0.20	0.92	0.019
60	12.70	12.40	0.32	0.98	0.025
90	25.50	18.50	1.04	0.73	0.041
120	24.80	18.00	1.00	0.73	0.040
150	24.80	19.00	1.05	0.77	0.042
180	23.40	17.30	0.95	0.74	0.041
210	23.90	18.20	0.95	0.76	0.040
240	22.30	16.20	0.90	0.73	0.040
270	23.10	17.30	0.86	0.75	0.037
300	21.60	17.20	0.85	0.80	0.039

Tabelle 5: Verlauf der Parameter der VLCFA im Zuge des Erdnussbelastungstests bei einem gesunden Probanden

In den folgenden Diagrammen wurde auf der Ordinate die Zeit in Minuten, auf der Abszisse die Konzentration der VLCFA im Serum in µg/ml aufgetragen.

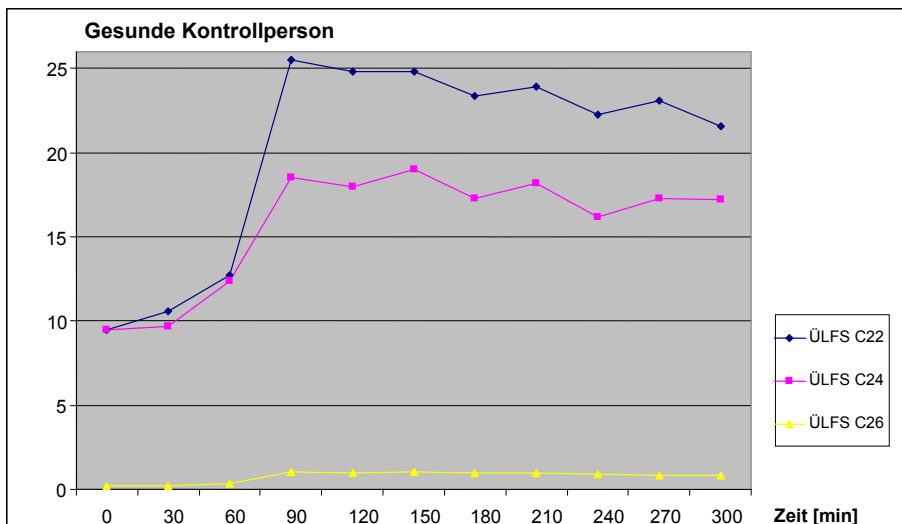


Abb. 7: Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 300 min nach Testbeginn

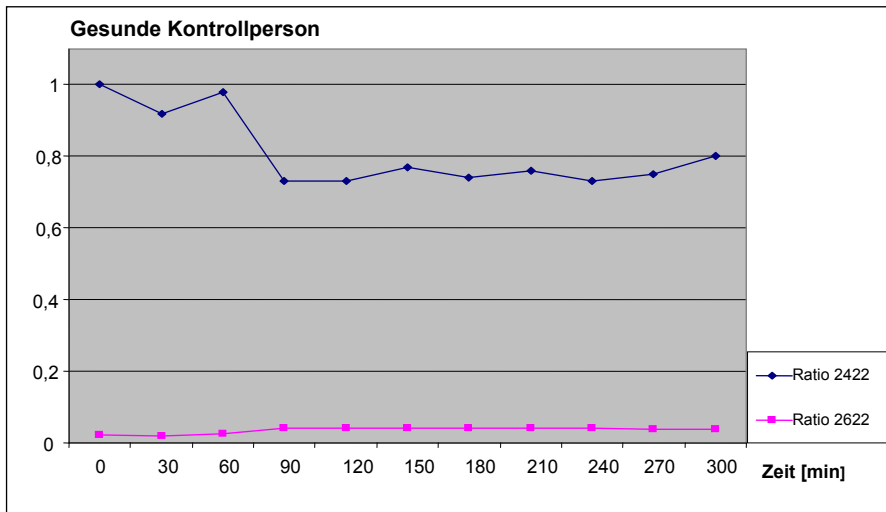


Abb. 8: Verlauf der C2422 und C2622 Quotienten

### 3.4 Erdnussbelastungstest bei den Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA im Nüchternserum

Von den in Frage kommenden fünf Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA Nüchternwerten erklärten sich vier zur Teilnahme am Erdnussbelastungstest bereit. Patient V sah auf Grund der bis dato bestehenden Beschwerdefreiheit keine Notwendigkeit einer weiteren Abklärung. Auch im Verwandtenkreis war die Diagnostik einer eventuell bestehenden ALD nicht erwünscht.

Die vollständige Auflistung der im Zuge des durchgeführten Tests ermittelten Daten ist jeweils im Anschluss an eine kurze Beschreibung der wichtigsten Parameter des jeweiligen Patienten in Form einer Tabelle und zweier Diagramme sichtbar. In den Diagrammen wurde, wie bereits oben erwähnt, auf der Ordinate die Zeit in Minuten, auf der Abszisse die Konzentration der VLCFA in  $\mu\text{g/ml}$  aufgetragen.

#### *Patient 2*

Bei Patient 2 zeigte sich im Gegensatz zur ersten Bestimmung (C24 29.00  $\mu\text{g/ml}$ ) eine innerhalb der Norm liegende Konzentration an C24 Fettsäuren im Basiswert (C24 20.20  $\mu\text{g/ml}$ ). Im Vergleich zu den Ausgangswerten der Kontrollperson finden sich allerdings deutlich höhere Konzentrationen der C22 und C24 im Nüchternserum.

Nach dem Verzehr der Erdnüsse war ein kontinuierlicher Anstieg sämtlicher Fettsäurekonzentrationen mit einem Maximum von 31.50 µg/ml bei den C22, von 24.50 µg/ml bei den C24 und von 1.56 µg/ml bei den C26 240 min nach Testbeginn zu verzeichnen.

Das Erreichen der höchsten Konzentrationen an VLCFA im Serum trat zwar im Vergleich zu den anderen Patienten um 60 min verspätet auf, jedoch liegen die Maximalwerte weit unter den Werten, welche bei Vorliegen einer eindeutigen ALD zu erwarten wären.

### Patient 2

	ÜLFS C22 (11.20-48.70)	ÜLFS C24 (7.10-28.90)	ÜLFS C26 (0.18-0.48)	Ratio 2422 (0.68-0.98)	Ratio 2622 (0.007-0.030)
0	20.00	20.20	0.19	1.01	0.010
60	20.70	16.40	0.25	0.79	0.012
120	24.70	20.20	0.78	0.82	0.032
180	25.50	21.30	1.02	0.84	0.040
240	31.50	24.50	1.56	0.78	0.050

Tabelle 6: Vollständige Aufstellung der ermittelten Laborparameter im Zuge des Erdnussbelastungstest bei Patient 2

Patient 2 = weiblich, Alter: 36Jahre

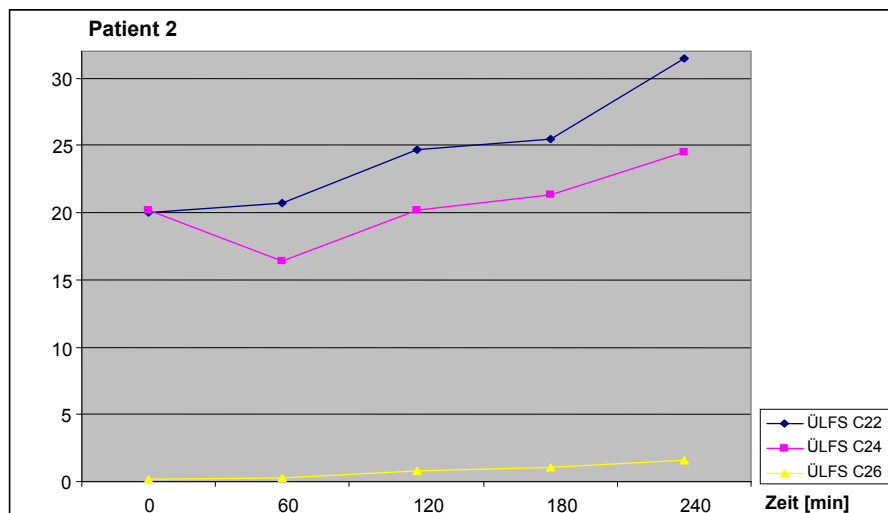


Abb. 9: Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 240 min nach Testbeginn

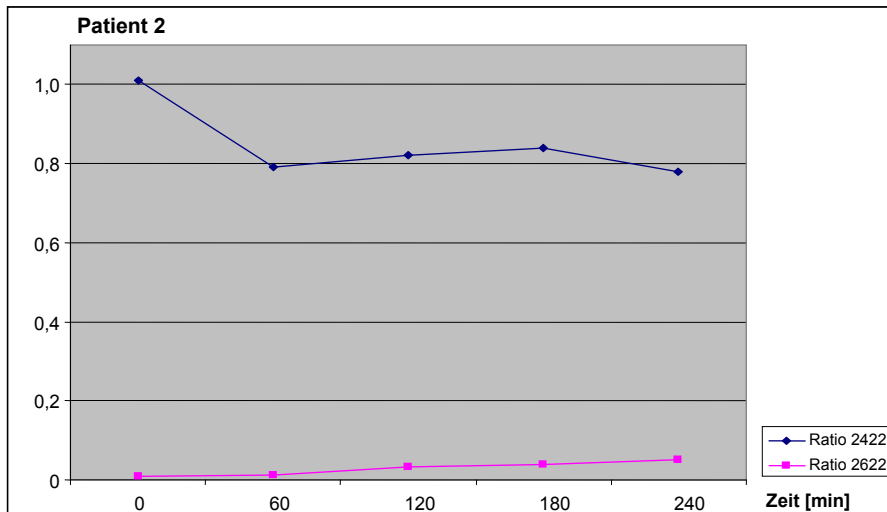


Abb. 10: Verlauf der C2422 und C2622 Quotienten

### Patient 5

Auch bei Patient 5 liegen die im Zuge des Belastungstests ermittelten Basiswerte deutlich unter den Werten der ersten Untersuchung. So findet sich bei der C22 eine Konzentration von 21.70 µg/ml statt der ursprünglichen 24.20 µg/ml, bei der C24 lag der Wert bei 20.80 µg/ml statt 26.50 µg/ml und dementsprechend liegt nun auch die Ratio 2422 mit 0.96 innerhalb der Norm. 120 min nach Erdnussverzehr wurden nach steilem Ansteigen der Werte die Maxima aller VLCFA erreicht. Auffällig ist, dass die ermittelten Maximalwerte (C22 82.70 µg/ml, C24 51.40 µg/ml und C26 3.60 µg/ml) deutlich über den Maximalwerten der Kontrollperson liegen. Allerdings konnte 180 min nach Testbeginn bereits ein deutlicher Abfall aller Parameter verzeichnet werden. Der Endpunkt der Untersuchung lag bei Patient 5 bei 180 min, da er die letzte Blutabnahme nicht mehr abwarten wollte.

### Patient 5

	ÜLFS C22 (11.20-48.70)	ÜLFS C24 (7.10-28.90)	ÜLFS C26 (0.18-0.48)	Ratio 2422 (0.68-0.98)	Ratio 2622 (0.007-0.030)
0	21,70	20,80	0,25	0,96	0,012
60	38,60	28,60	1,00	0,74	0,026
120	82,70	51,40	3,60	0,62	0,044
180	67,90	51,20	3,30	0,75	0,049
240	Wert nicht möglich, da der Patient nicht mehr länger warten wollte				

Tabelle 7: Im Zuge des Erdnusstests ermittelte Parameter von Patient 5  
Patient 5= männlich, Alter: 55Jahre

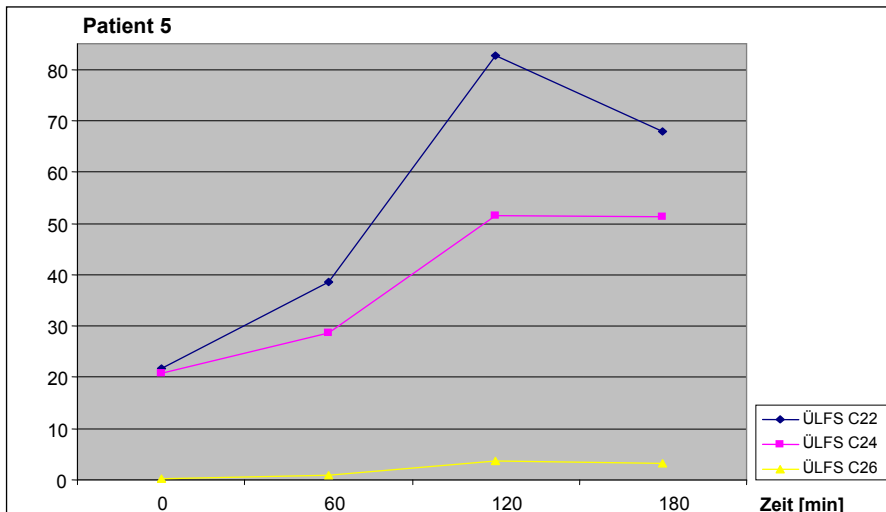


Abb. 11: Verlauf der C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 180 min

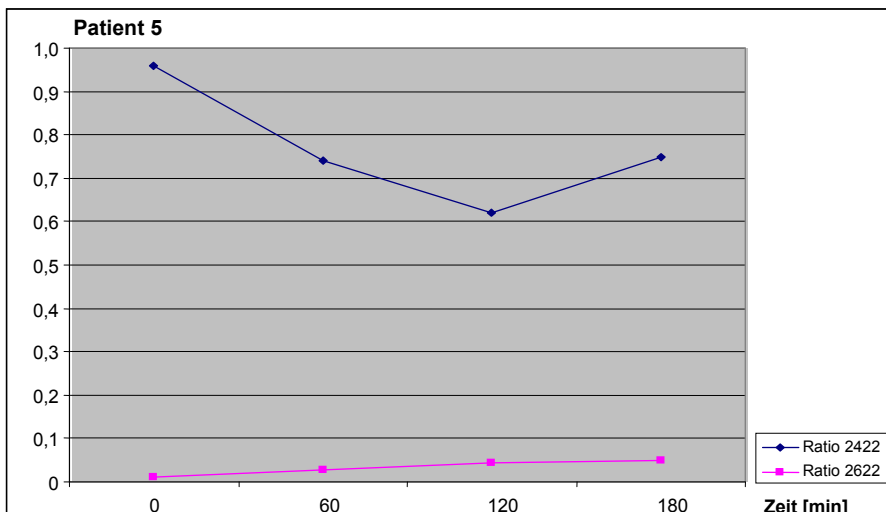


Abb. 12: Verlauf der Ratios C2422 und C2622

### Patient H

Bei Patient H stimmen die Basiswerte des Erdnusstests annähernd mit den Nüchternwerten der Voruntersuchung überein. Die C22 ist im Vergleich zum Vorwert (42.00 µg/ml) mit einer Konzentration von 34.90 µg/ml deutlich niedriger. Auffällig ist jedoch die generell sehr hohe Konzentration an Fettsäuren im Serum und die dadurch bedingten hohen Maximalwerte von C22 mit 49.00 µg/ml, C24 mit 44.10 µg/ml und C26 mit 1.61 µg/ml 180 min nach Testbeginn. Bereits 240 min nach der Erdnussverabreichung lässt sich allerdings ein Abfall aller Parameter verzeichnen.

## Patient H

	ÜLFS C22 (11.20-48.70)	ÜLFS C24 (7.10-28.90)	ÜLFS C26 (0.18-0.48)	Ratio 2422 (0.68-0.98)	Ratio 2622 (0.007-0.030)
0	34,90	35,60	0,33	1,02	0,009
60	39,40	35,50	0,82	0,90	0,021
120	44,90	40,60	1,24	0,90	0,028
180	49,00	44,10	1,61	0,90	0,033
240	45,90	40,00	1,40	0,87	0,031

Tabelle 8: Im Zuge des Erdnusstests ermittelte Parameter von Patient H  
Patient H = männlich, Alter: 62Jahre

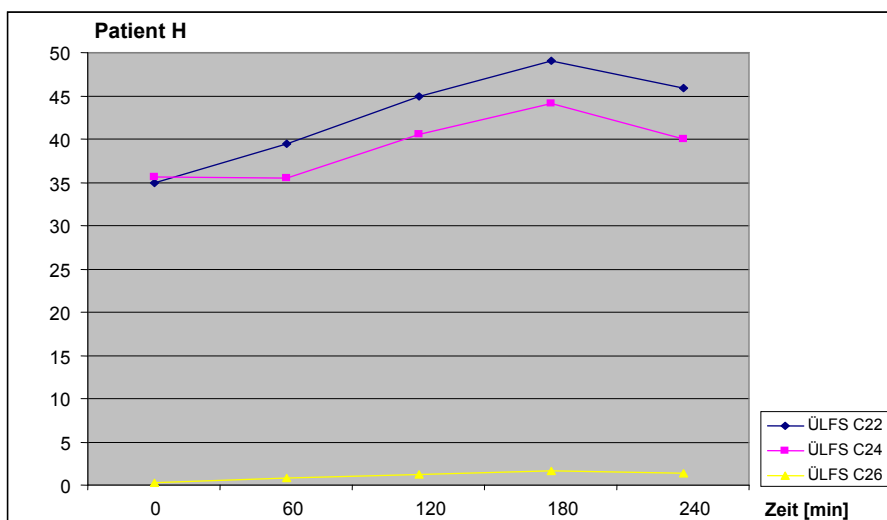


Abb. 13: Verlauf der Parameter C22, C24 und C26 über einen Zeitraum von 240 min

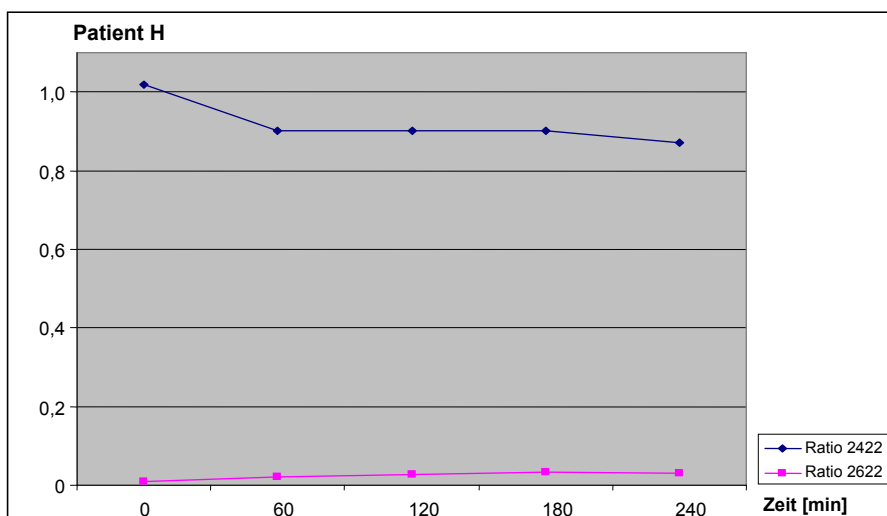


Abb. 14: Verlauf der Ratios C2422 und C2622

### Patient IV

Bei Patient IV liegen die Ausgangswerte der C22 (26.70 µg/ml), der C24 (28.40 µg/ml) und damit auch der Quotient C2422 (1.06) deutlich über den im Zuge der ersten Untersuchung ermittelten Nüchternwerten. Im Kurvenverlauf zeigt sich ein stetiger Anstieg der Parameter bis zu den Maxima von C22 (36.80 µg/ml), C24 (37.00 µg/ml) und C26 (1.43 µg/ml) 180 min nach Testbeginn. Die Werte, welche 60 min später ermittelt wurden, verzeichneten bereits einen deutlichen Rückgang der Fettsäurekonzentrationen im Serum.

### Patient IV

	ÜLFS C22 (11.20-48.70)	ÜLFS C24 (7.10-28.90)	ÜLFS C26 (0.18-0.48)	Ratio 2422 (0.68-0.98)	Ratio 2622 (0.007-0.030)
0	26,70	28,40	0,26	1,06	0,010
60	29,40	32,30	0,57	1,10	0,019
120	35,60	35,10	1,13	0,99	0,032
180	36,80	37,00	1,43	1,01	0,039
240	34,50	35,50	1,07	1,03	0,031

Tabelle 9: Vollständige Auflistung der ermittelten Parameter über einen Zeitraum von 240min.  
Patient IV = weiblich, Alter: 44Jahre

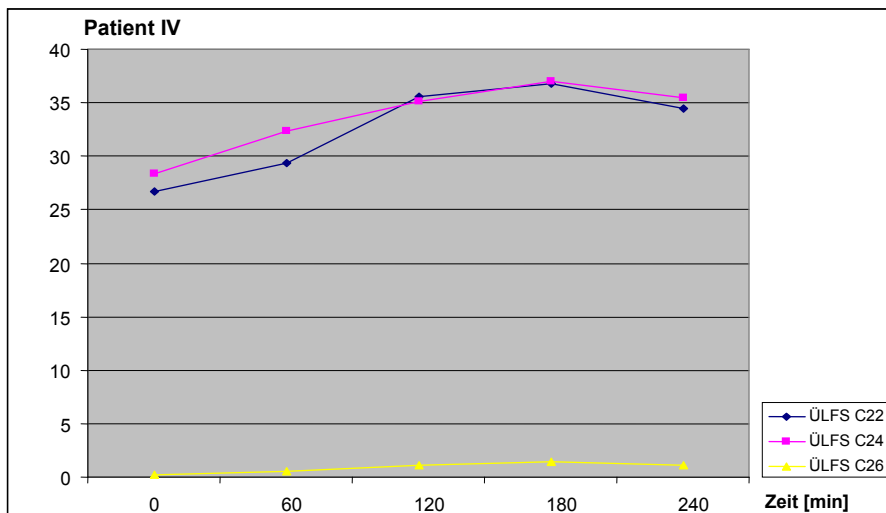


Abb. 15: Verlauf der C22, C24 und C26 über den gesamten Testzeitraum

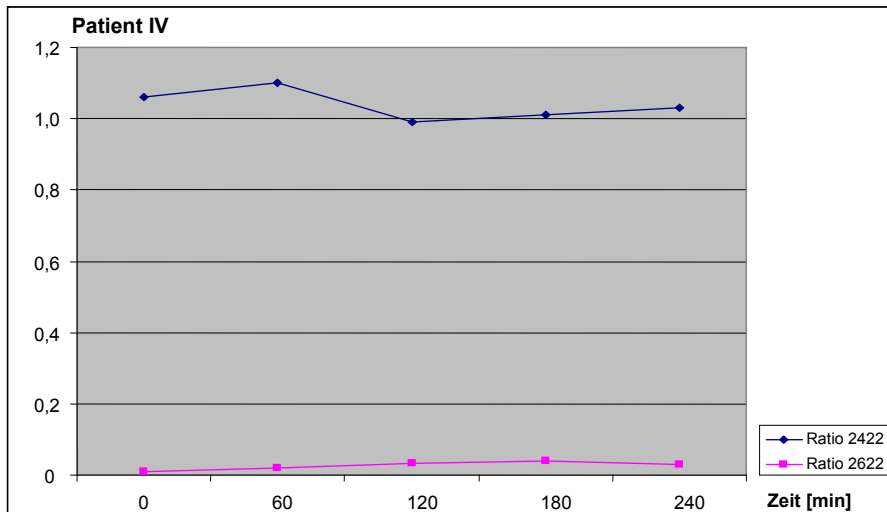


Abb. 16: Verlauf der Ratios C2422 und C2622

### 3.5 Lipidwerte bei Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA Werten im Nüchternserum

Im Zuge der Durchführung der Erdnusstests zeigten sich bei den vier untersuchten Patienten im Vergleich zur Kontrollperson hohe Ausgangswerte bei normalem Verlauf der Parameter nach Erdnussverabreichung. Dies führte zu der Überlegung die gesamten Lipidwerte der Patienten aus früheren Routinekontrollen zu betrachten, da die Vermutung nahe lag, dass bei den untersuchten Patienten eine generelle Hyperlipidämie vorliegen könnte. Die genaue Auflistung der Lipidwerte enthält die Tabelle 10.

#### Lipidwerte

	<b>Cholesterin gesamt</b> (-200mg/dl)	<b>LDL</b> (-160mg/dl)	<b>HDL</b> (>40mg/dl)	<b>Cholesterin gesamt/HDL</b> (-4)	<b>Triglyceride</b> (-150mg/dl)
Patient 2	217	144	39	5.6	172
Patient 5	293	172	67	4.4	272
Patient H	269	189	60	4.5	100
Patient IV					

Tabelle 10: Lipidwerte ermittelt im Zuge von Routinekontrollen in der Endokrinologischen Ambulanz  
Patient 2,IV = weiblich      Patient 5,H = männlich

## 4 Diskussion

Ziel der Diplomarbeit war die Untersuchung des Patientenkollektives der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Universitätsklinik Graz auf Patienten mit primärer Nebenniereninsuffizienz infolge einer ALD.

25 Patienten konnten in die Studie aufgenommen werden, wobei sich im Zuge der Ermittlung der Nüchternwerte der C22, C24 und C26 sowie deren Ratios C24/22 und C26/22 im Serum bei einem Patienten die Diagnose der ALD und bei fünf Patienten infolge der grenzwertig erhöhten Werte der Verdacht auf das Vorliegen einer ALD ergab. Als nächster diagnostischer Schritt wurde bei diesen fünf Patienten ein Erdnussbelastungstest durchgeführt. Erdnüsse enthalten eine große Menge an überlangkettigen Fettsäuren und können somit verwendet werden um die Verstoffwechslung der VLCFA im Körper zu überprüfen. Ziel des Testes war die Darstellung des Verlaufes der VLCFA im Serum. Bei Vorliegen einer ALD ist in erster Linie ein sehr starker Anstieg sowie ein fehlender Rückgang der Fettwerte einige Stunden nach dem Verzehr der Erdnüsse zu erwarten.

### 4.1 VLCFA Werte im Nüchternserum

Patient F, ein 58 jähriger Mann aus der Gruppe der idiopathischen Mb. Addison Fälle, zeigte als einziger der 25 Testpersonen mit einer C26 von 0.69  $\mu\text{g/ml}$  und einer C26/22 Ratio von 0.167 deutlich erhöhte Nüchternwerte. In Kombination mit der klinischen Symptomatik und den erhöhten Werten der C26 sowie auch der C26/22 in den Fibroblasten konnte die Diagnose einer Adrenoleukodystrophie/Adrenomyeloneuropathie gestellt werden.

Moser et al verglichen 1999 in einer Studie den Plasmaspiegel der VLCFA von 3.000 Patienten mit peroxisomalen Erkrankungen mit dem von 29.000 Kontrollpersonen. Verglichen mit diesen Ergebnissen, ist ersichtlich, dass der C26 Wert der als ALD Patient identifizierten Versuchsperson mit jenen Werten der ALD Patienten aus der Studie in Baltimore übereinstimmen. Der C26/22 Wert von Patient F liegt deutlich über den Werten der amerikanischen ALD Patienten.

Die C26 und C26/22 Werte der restlichen 24 Patienten liegen mit C26 Werten zwischen 0.15-0.36  $\mu\text{g/ml}$  sowie C26/22 Werten von 0.005-0.019 in jenem Bereich der Kontrollgruppe aus Baltimore.

In der Studie von Moser et al zeigen sich bei jenen Patienten der Kontrollgruppe, welche eine ketogene Diät erhielten mit einem C26 Wert von 1.049 µg/ml im Vergleich zu den anderen gesunden Personen deutlich erhöhte Werte. [26]

Dieses Faktum lässt die Vermutung zu, dass die Patienten I (0.36 µg/ml), Patient II (0.33 µg/ml) und Patient V (0.34 µg/ml) ebenfalls eine sehr fettreiche Kost zu sich nehmen.

Die vollständigen Daten der amerikanischen ALD Patienten sowie der Kontrollgruppe sind in der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Category	n	C26:0 µg/ml	C26:0/C22:0	C24:0/C22:0
1. X-ALD				
1a. Hemizygoten	1,084	1.18 (0.53)	0.070 (0.040)	1.49 (0.45)
1b. Obligate heterozygoten	379	0.70 (0.40)	0.030 (0.020)	1.09 (0.34)
1c. Women at risk with abnormal VLCFA levels	903	0.70 (0.38)	0.030 (0.050)	1.06 (0.34)
2. Peroxisome biogenesis disorders				
2a. ZS-NALD-IRD phenotypes				
2a1. Zellweger	256	3.30 (1.63)	0.52 (0.24)	1.95 (0.42)
2a2. NALD	152	2.31 (1.43)	0.35 (0.31)	1.74 (0.49)
2a3. IRD	28	1.26 (0.73)	0.14 (0.11)	1.39 (0.71)
2a4. Survival >21 years	7	0.75 (0.28)	0.060 (0.01)	1.05 (0.13)
2b. RCDP	82	0.25 (0.14)	0.020 (0.01)	0.85 (0.15)
3. Single enzyme defects of peroxisomal fatty acid oxidation other than ALD				
3a. Acyl-CoA oxidase	9	1.99 (0.97)	0.11 (0.08)	1.38 (0.32)
3b. Bifunctional enzyme	61	3.58 (1.60)	0.42 (0.23)	2.08 (0.42)
3c. 3-Oxoacyl-CoA thiolase	1	4.56	0.499	2.42
3d. Unspecified single-enzyme defect	19	2.81 (1.47)	0.37 (0.24)	1.97 (0.50)
4. Unspecified defect of peroxisomal fatty acid oxidation	93	2.28 (1.55)	0.34 (0.24)	1.70 (0.56)
5. Controls				
5a. Adult normal males	55	0.29 (0.29)	0.01 (0.01)	0.85 (0.17)
5b. Adult normal females	29	0.27 (0.22)	0.01 (0.01)	0.83 (0.22)
5c. Men at risk X-ALD, normal VLCFA	6,845	0.25 (0.11)	0.01 (0.01)	0.85 (0.22)
5d. Women at risk X-ALD, normal VLCFA	4,278	0.25 (0.12)	0.01 (0.01)	0.83 (0.22)
5e. Ketogenic diet	26	1.049 (0.01)	0.035 (0.02)	
5f. All other men	11,048	0.26 (0.15)	0.01 (0.02)	0.86 (0.22)
5g. All other women	7,331	0.26 (0.15)	0.01 (0.01)	0.85 (0.20)

Data are mean (SD) values. See text for discussion.

VLCFA = very long chain fatty acid(s); X-ALD = X-linked adrenoleukodystrophy; ZS = Zellweger syndrome; NALD = neonatal adrenoleukodystrophy; IRD = infantile Refsum's disease; RCDP = rhizomelic chondrodysplasia punctata; CoA = coenzyme A.

Tabelle 11: VLCFA Werte von Patienten mit peroxisomalen Erkrankungen sowie einer Kontrollgruppe [26]

Die C24 und C24:22 Werte der 25 untersuchten Patienten zeigen eine große Variabilität. So reichen die C24 Werte von 15.70-42.70 µg/ml. Bei den sieben untersuchten Männern reichten die Werte von 12.70-35.00 µg/ml und bei den Frauen von 15.70-42.70 µg/ml. Eine ähnliche Bandbreite findet sich auch bei den C24:22 Werten. Diese reichen von 0.67-1.10.

Aufgegliedert nach den Geschlechtern ergeben sich bei den Männern Werte von 0.79-1.10 und bei den Frauen von 0.67-1.04.

Paik MJ et al zeigten 2001 in einer Studie, in der die VLCFA Werte von 58 gesunden Probanden mit jenen von 19 ALD Patienten verglichen wurden, dass die C24 und C2422 Werte sowohl bei den ALD Patienten als auch bei den Gesunden von Person zu Person sehr stark variieren.

So ergaben sich bei den gesunden Probanden C2422 Werte von 0.68-1.06 bei den Männern und von 0.70-0.98 bei den Frauen. Bei den 16 ALD Patienten zeigte sich vergleichsweise eine Bandbreite der C2422 Werte von 1.21-2.41. [27]

Ähnliche Ergebnisse finden sich bereits in einer Arbeit von Paik et al aus dem Jahre 1999. Auch hier wurden die VLCFA Werte von drei ALD Patienten mit jenen von drei gesunden Personen verglichen. Hier zeigte sich, dass bei einem der ALD Patienten der C24 Wert mit 4.96 µg/ml sogar unter jenen Werten der gesunden Personen lag. [28]

Die Tabelle 12 zeigt die vollständige Auflistung der Werte, die 1999 ermittelt wurden.

Result of VLCFA analysis in patient with X-ALD and a normal person

Diagnostic category	Concentration (µg/ml)			Concentration ratio	
	C <sub>22:0</sub>	C <sub>24:0</sub>	C <sub>26:0</sub>	C <sub>24:0</sub> /C <sub>22:0</sub>	C <sub>26:0</sub> /C <sub>22:0</sub>
<i>X-ALD</i> <sup>a</sup>					
1	7.60	16.57	1.14	2.18	0.15
2	2.94	4.94	0.50	1.68	0.17
3	12.00	20.76	1.32	1.73	0.11
Mean±SD				1.86±0.28	0.14±0.03
<i>Normal controls</i> <sup>b</sup>					
1	8.00	7.36	0.16	0.92	0.02
2	6.50	5.27	0.13	0.81	0.02
3	7.00	5.74	0.14	0.82	0.02
Mean±SD				0.85±0.06	0.02±0.00

<sup>a</sup> Heterozygotes for X-linked ALD.

<sup>b</sup> 1=Adult male; 2=Adult female; 3=Adult female.

Tabelle 12: Variabilität der C24 Werte bei ALD Patienten und gesunden Kontrollpersonen [28]

Aufgrund dieser großen Variabilität der C24 und C2422 Werte weisen diese beiden Werte eine relativ geringe diagnostische Aussagekraft auf. Im Gegensatz dazu sieht man bei den C26 und C2622 Werten sowohl in Tabelle 12 als auch bei dem Patienten F einen deutlichen Unterschied zwischen ALD Patienten und gesunden Probanden.

Aus diesem Grund werden von Paik et al in beiden Artikeln diese beiden Werte für die ALD Diagnostik empfohlen. [28]

Da es sich bei den Patienten 2, 5, H und IV um eine Erhöhung der C24 bzw. der C2422 bei innerhalb der Normbereiche liegenden C26 bzw. C2622 Werten im Nüchternserum handelt, wurde zum sicheren Ausschluss/Nachweis einer ALD ein Erdnussbelastungstest durchgeführt.

#### **4.2 Erdnussbelastungstest bei den Patienten mit grenzwertig erhöhten VLCFA im Nüchternserum**

Die vier untersuchten Patienten wiesen alle im Vergleich zur Kontrollperson sehr hohe Ausgangswerte der C22 und C24 Fettsäuren auf. Allerdings konnte bei drei Patienten nach dem Erreichen der Maximalwerte bereits ein deutlicher Abfall sämtlicher Werte verzeichnet werden. Bei Patient 2 wurden die Maxima erst 240min. nach Testbeginn erreicht, da der Test zu diesem Zeitpunkt bereits beendet wurde, konnte ein Abfallen der Parameter nicht ermittelt werden. Es zeigte sich jedoch auch bei diesem Patienten kein überdurchschnittlicher Anstieg der C26 und C2622, sodass das Vorliegen einer ALD weitgehend ausgeschlossen werden kann. Die C26 und C2622 Werte der restlichen drei Patienten zeigten ebenfalls keine signifikante Abweichung von jenen der Kontrollperson. Zusätzlich war bei allen drei Personen bereits ein deutlicher Rückgang der C26 Werte bei Testende zu verzeichnen. Somit zeigten sich auch bei diesen drei Patienten keine Hinweise auf das Vorliegen einer ALD. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass alle vier Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung klinisch sowohl neurologisch als auch neuropsychologisch beschwerdefrei waren und sich daher auch von klinischer Seite kein Hinweis auf das Vorhandensein einer ALD ergibt.

Das Vorliegen von leichten Verlaufsformen ist schwer auszuschließen, da zum derzeitigen Zeitpunkt nicht bekannt ist, ob nicht bereits VLCFA Spiegel, die zwar innerhalb der Norm aber dennoch deutlich über dem Durchschnitt liegen, die Nebennierenrindenfunktion und die zentrale Strukturen beeinträchtigen.

Die hohen Ausgangswerte der C22 und C24 könnten durch eine generelle Hyperlipidämie in Folge einer fettreichen Ernährung bedingt sein.

In Tabelle 10 ist zu erkennen, dass bei Patient 2 das Gesamtcholesterin (217mg/dl) leicht erhöht und infolge des minimal unter dem Normbereich liegenden HDL auch der Cholesterin/HDL Koeffizienten (5.6) vergrößert ist.

Deutlich über der Norm befinden sich die Triglyceride mit einem Wert von 172mg/dl.

Bei Patient 5 liegen sowohl das Gesamtcholesterin (293mg/dl) als auch das LDL (172mg/dl) und die Triglyceride (272mg/dl) weit über dem Normbereich. Bei Patient H befinden sich zwar die Triglyceride (100mg/dl) innerhalb der Norm, das Gesamtcholesterin (269mg/dl) und LDL (189mg/dl) liegen jedoch deutlich höher. Bei Patient IV konnten die Lipidwerte nicht ermittelt werden. Es wird allerdings angenommen, dass sich die Werte nicht wesentlich von jenen der anderen Patienten unterscheiden.

### **4.3 Bedeutung der Bestimmung der VLCFA bei Patienten mit idiopathischem Mb. Addison**

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde ein Patient aus einer Gruppe von 25 Patienten (4%) mit fraglicher ALD identifiziert, welcher sowohl erhöhte VLCFA im Nüchternserum als auch in den Fibroblasten aufwies. Gemeinsam mit der klinischen Symptomatik konnte auf Grund dieser Laborbefunde die Diagnose Adrenoleukodystrophie/Adrenomyeloneuropathie gestellt werden.

Die 25 Patienten wurden auf Grund der Diagnose der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Universitätsklinik Graz der Ätiologie entsprechend in drei Gruppen eingeteilt. Der ersten Gruppe wurden elf Patienten mit Autoimmunpolyendokrinopathie zugeteilt, der zweiten Gruppe wurden neun Patienten mit idiopathischem Mb. Addison zugewiesen und die dritte Gruppe bildeten fünf Patienten mit AGS.

Ähnliche Untersuchungen wurden auch von Laureti et al 1996 durchgeführt. Bei dieser Studie wurde bei 14 jungen, männlichen Erwachsenen mit idiopathischem Mb. Addison die VLCFA im Plasma untersucht. Bei fünf der untersuchten Patienten zeigten sich erhöhte Werte der C26 ( $0.932 \pm 0.285 \text{ mg/L}$  normal:  $< 0.60 \text{ mg/L}$ ) sowie der C26:22 und der C24:22. Diese biochemischen Daten begründen die Diagnose der ALD dieser fünf Patienten. In der Studie waren somit 35.71% der untersuchten Patienten von ALD betroffen. Der Grund für die höhere Prozentzahl der identifizierten Patienten liegt in der Selektion der Patienten vor Studienbeginn.

Die 14 Patienten, welche in die Studie letzten Endes aufgenommen wurden, wurden aus einer Gruppe von 72 Addisonpatienten selektiert. Bei diesen 72 Patienten handelte es sich um 36 Frauen und 36 Männer. Die Frauen wurden primär von der Studie ausgeschlossen, da sie als Träger einer ALD oft keine Nebennierenrindeninsuffizienz entwickeln. Von den männlichen Patienten wurden 14 auf Grund einer durch TBC bedingten Nebennierenrindeninsuffizienz, fünf auf Grund einer endokrinen Autoimmunpolyendokrinopathie und drei auf Grund einer bilateralen Adrenalektomie ausgeschlossen. [4]

Eine ähnliche Vorselektion fand bei der Studie von Ronghe MD et al im Jahre 2002 statt. Hier wurden 12 männliche Patienten unter 16 Jahren auf das Vorhandensein einer ALD untersucht. Bei zehn dieser Patienten (83%) konnte tatsächlich eine ALD nachgewiesen werden, bei den beiden anderen war die Nebenniereninsuffizienz von autoimmuner Genese.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden ebenfalls sowohl weibliche Patienten als auch Patienten mit bekannter Ätiologie der Nebenniereninsuffizienz (u.a. endokrine Autoimmunpolyendokrinopathie) ausgeschlossen. [29]

Hätte man auch im Rahmen dieser Diplomarbeit die weiblichen Patienten sowie die Patienten mit AGS und Autoimmunpolyendokrinopathie ausgeschlossen, so wäre einer von fünf männlichen Patienten mit idiopathischem Mb. Addison (20%) tatsächlich von ALD betroffen.

Diese Daten deuten auf die Wichtigkeit der Bestimmung der VLCFA als initiales Screening zur ALD Diagnostik bei Patienten mit idiopathischem Mb. Addison hin. Spurek et al machten ebenfalls in ihrem 2004 publizierten Artikel auf Bedeutung des Screenings vor allem männlicher Patienten mit Mb. Addison idiopathischer Genese sowie Männer und Frauen mit unbekanntem, fortschreitenden neurologischen Funktionsstörungen, das Rückenmark oder das Gehirn betreffend, aufmerksam.

Eine rechtzeitige Identifikation der von ALD betroffenen Patienten durch ein Screening würde die Möglichkeit des Einschreitens und somit des Aufschubes der Manifestation von neurologischen Symptomen in sich bergen. Zusätzlich ergäbe sich noch die Möglichkeit der Früherkennung von asymptomatischen Familienmitgliedern. [18]

## 5 Literaturverzeichnis

- [1] Laureti St, Aubourg P, Calcinaro F, Rocchicciolo F, Casucci G, Angletti G et al  
Etiological Diagnosis of Primary Adrenal Insufficiency using an original Flowchart of immune and biochemical Markers  
The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 1998 83 (9):3163-3168
- [2] Bob A, Bob K  
Innere Medizin Sonderausgabe  
Duale Reihe, Thieme, New York 2001 S. 877
- [3] Korenke G. Ch, Roth Ch, Krasemann E, Hüfner M, Hunnemann D.H  
Variability of endokrinological dysfunction in 55 patients with X-linked adrenoleukodystrophy: clinical, laboratory and genetic findings  
European Journal of Endocrinology 1997 137:40-47
- [4] Laureti St, Casucci G, Santeusanio F, Angeletti G, Aubourg P, Brunetti P  
X-linked adrenoleukodystrohy is a frequent cause of idiopathic addison`s disease in young adult male patient  
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1996 81 (2):470-474
- [5] Moser H. W, Smith K. D, Watkins P. A, Powers J, Moser A. B  
X-linked Adrenoleukodystrophy in Scriver CV, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, The Metabol. & Mol. Basis of Inher. Disease  
Mc Graw Hill, New York 2001, 8<sup>th</sup> edition S. 3257-3301
- [6] Takano H, Koike R, Onodera O, Sasaki R, Tsuji S  
Mutational Analysis and Genotype-Phenotype correlation of 29 unrelated Japanese patients with X-linked adrenoleukodystrohy  
Arch Neurol 1999 Mar. 56:295-300
- [7] Girard S, Bruckert E, Turpin G  
Endokrine disease in adrenoleukodystrophy  
Ann Med Interné (Paris) 2001 Feb. 152 (1):15-26
- [8] Poulos A  
Very long chain fatty acids in higher animals-a review  
Lipids 1995 Jan. 30(1):1-14
- [9] Moser H. W  
Adrenoleukodystrohy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy  
Brain 1997 120:1485-1508

- [10] Takahashi N, Morita M, Imanaka T  
Adrenoleukodystrophy: Structure and Function of ALDP and intracellular behaviour of mutant ALDP with naturally occurring missense mutations  
Yakugaku Zasshi Japan 2007 127(1):163-172
- [11] Berger J, Gärtner J  
X-linked adrenoleukodystrophy: clinical, biochemical and pathogenetic aspects  
Biochim Biophys Acta. 2006 Dec. 1763(12):1721-32 Epub 2006 Jul 26
- [12] Asheur M, Bieche I, Laurendeau I, Moser A, Hainque B, Vidaud M, Aubourg P  
Decreased expression of ABCD4 and BG1 genes early in the pathogenesis of X-linked adrenoleukodystrophy  
Human Molecular Genetics 2005 14 (10):1293-1303
- [13] Institut für Humangenetik, Technische Universität München und Helmholtz Zentrum München  
Neuherberg, Deutschland; GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GmbH 2003  
Available from: <http://ihg.gsf.de/ihg>
- [14] Feigenbaum V, Lombard-Platet G, Guidoux S, Sarde C-O, Mandel J-L et al  
Mutational and protein analysis of patients and heterozygous women with X-linked adrenoleukodystrophy  
Am. J. Genet. 1996 58:1135-1144
- [15] Kreutner J  
Zürich 1997 Adrenoleukodystrophie  
Available from: [http://www.homepage.swissonline.ch/joniweb/ALD/ald\\_frame.html](http://www.homepage.swissonline.ch/joniweb/ALD/ald_frame.html)
- [16] van Geel BM, Assies J, Wanders RJA, Barth PG  
X-linked adrenoleukodystrophy: clinical presentation, diagnosis and therapy  
Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 1997 63:4-14
- [17] Korenke GCH, Roth CH, Krasemann E, Hübner M, Hunnemann DH, Hanefeld F  
Variability of endocrinological dysfunction in 55 patients with X-linked Adrenoleukodystrophy: clinical, laboratory and genetic findings  
European Journal of Endocrinology 1997 137:40-47
- [18] Spurek M, Taylor-Gjevne R, Van Uum St, Khandwala HM  
Adrenomyeloneuropathy as a cause of primary adrenal insufficiency and spastic paraparesis  
CMAJ October 26, 2004 171(9):1073-1077

- [19] Van Geel BM, Assies J, Haverkort EB, Koelman JHTM, Verbeeten Jr B, Wanders RJA, Barth PG  
Progression of abnormalities in adrenomyeloneuropathy and neurologically asymptomatic X-linked adrenoleukodystrophy despite treatment with Lorenzo's oil  
J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999 67:290-299
- [20] Hall N, Lynes GW, Hjeim M  
Ratios for very-long-chain-fatty acids in plasma of subjects with peroxisomal disorders as determined by HPLC and validated by gas chromatography-mass spectrometry  
Clinical Chemistry 1988 34(6):1041-1045
- [21] Klinisches Institut für Neurologie, Obersteiner Institut, Medizinische Universität Wien  
Wien, Österreich; Klinische Neurochemie  
Available from: <http://www.meduniwien.ac.at/kin>
- [22] Aubourg P, Adamsbaum C, Lavallard-Rousseau MC, Rocchiccioli F, Cartier N et al  
A two year trail of oleic and erucic acids ("Lorenzo's Oil") as treatment for adrenomyeloneuropathy  
The New England Journal of Medicine September 1993 329(11):745-752
- [23] Pahan K, Khan M, Singh I  
Therapy for X-adrenoleukodystrophy: normalization of very long chain fatty acids and inhibition of induction of cytokines by cAMP  
Journal of Lipid Research 1998 39:1091-1100
- [24] Moser HW, Raymond GV, Lu SE, Muenz LR, Moser AB et al  
Follow-up of 89 asymptomatic patients with adrenoleukodystrophy treated with Lorenzo's oil  
Archives of Neurology July 2005 62(7):1073-1080
- [25] Moser HW, Moser AB  
Measurement of saturated very long chain fatty acids in plasma in  
Hommes FA (Ed.), Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics  
Wiley-Liss, New York 1991 S.177-191
- [26] Moser AB, Kreiter N, Bezman L, Lu S, Raymond GV, Naidu S et al  
Plasma very long chain fatty acids in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls  
Ann Neurol 1999 45:100-110

- [27] Paik MJ, Kim KR, Yoon HR, Kim HJ  
Diagnostic patterns of very-long-chain fatty acids in plasma of patients with X-linked adrenoleukodystrophy  
Journal of Chromatography B 2001 760:149-157
- [28] Paik MJ, Lee KO, Shin HS  
Determination of very-long-chain fatty acids in serum by gas chromatography-nitrogen-phosphorus detection following cyanomethylation  
Journal of Chromatography B 1999 721:3-11
- [29] Ronghe MD, Barton J, Jardine PE, Crowne EC, Webster MH, Armitage M et al  
The importance of testing for adrenoleucodystrophy in males with idiopathic Addison`s disease  
Arch Dis Child 2002 86:185-189

## **Anhang – Informationsschreiben für die Patienten**

Graz, 23.3.2007

### **Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient der Endokrinologischen Ambulanz!**

Sie waren in den letzten Jahren zumindest einmal wegen einer Störung Ihrer Nebennierenfunktion in der Ambulanz unserer Abteilung in Betreuung.

Wir führen nun auf Grund neuester Forschungsergebnisse gemeinsam mit der "Ambulanz für Diabetes und Stoffwechselkrankheiten" (unserer Nachbarambulanz) eine weiterführende Untersuchung durch, die eine wichtige Stoffwechselstörung aus dem Bereich des Fettstoffwechsels betrifft. Im Rahmen dieser Fettstoffwechselstörung verbinden sich Cholesterin und gewisse Fette in der Nebenniere und erzeugen dort eine Entzündung und Störung der Hormonbildung der Nebenniere. Dies ist selten, aber oft das einzige mit dieser Stoffwechselstörung verbundene Krankheitsbild.

Es wäre wichtig zu wissen, ob Sie diese Störung in sich tragen, da dann auch andere Mitglieder Ihrer Familie an einer solchen Störung erkranken könnten.

Herr Professor Hermann Toplak oder seine Mitarbeiterin, Frau Sandra Haslinger, von der Diabetes- und Stoffwechselambulanz werden sich an Sie wenden, um einen Termin für eine solche Untersuchung (im Wesentlichen ein Gespräch und eine Blutabnahme) mit Ihnen zu vereinbaren. Die Teilnahme ist selbstverständlich freiwillig und es erwachsen Ihnen keine Kosten.

Bei etwaigen Fragen diesbezüglich wenden Sie sich bitte gerne an Prof. Toplak unter 0316-385-80246 oder an Prof. Dimai unter 0316-385-81790, der das Projekt von Seiten unserer Abteilung mitbetreut.

Mit freundlichen Grüßen

Univ. Prof. Dr. Harald Dobnig

# Lebenslauf

## Persönliche Daten:

**Name:** Sandra Haslinger

**Geburtsdatum:** 06.04.1984

**Geburtsort:** Linz/Österreich

**Eltern:** Sonja Haslinger, 14.02.1948, kaufmännische Angestellte i. R.  
Claus Haslinger, 07.07.1947, technischer Angestellter

**Familienstand:** ledig

**Staatsbürgerschaft:** Österreich

## Schulbildung:

1990-1994 Volksschule der Kreuzschwestern, Linz

1994-2002 Gymnasium der Kreuzschwestern, Linz  
Abschluss mit Reifeprüfung Juni 2002

## Studium:

seit Oktober 2002 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen  
Universität Graz

30. Juni 2003 Abschluss des ersten Studienabschnittes an der MUG

20. September 2007 Abschluss des zweiten Studienabschnittes an der MUG

derzeit Dritter Studienabschnitt an der MUG

