

Fascinerad av acidosens mysterier och det lilla barnets hjärna

VINETA FELLMAN

Forskningsbaserad diagnostik och vård av nyfödda

Under professor Niilo Hallmans ledning var pediatriken vid Barnkliniken i Helsingfors präglad av de vetenskapliga målen att utreda orsaken till barns symtom, ställa noggrann diagnos och sedan planera bästa möjliga behandling och vård. Det var självklart att under efterkrigsdecennierna sända svåra patientfall till Helsingfors barnklinik för centraliserade etiologiska utredningar. Det visade sig vara en lyckad strategi för att identifiera genetiska sjukdomar som var vanligare i Finland än i andra länder. Den första av dem var det finländska nefrotiska syndromet. När ytterligare sjukdomar kunde identifieras myntades begreppet det finländska genetiska arvet (Finish disease heritage)(1). Ett imponerande antal sjukdomar har kunnat identifieras för att observanta kliniker dokumenterade kliniska och histopatologiska fynd, sjukjournaler och vävnadspreparat sparades och patienternas namn registrerades för senare utredningar. Sjukdomarna katalogiserades enligt det årtal då de först hade beskrivits i en publikation

FÖRFATTAREN

MKD **Vineta Fellman** är nordisk professor i neonatologi vid Lunds universitet och Helsingfors universitet.

(2), vilket skapade begreppet ”Perheentupas trappor”. Det eskalerande från år 1956 till att i dag omfatta sammanlagt 36 sjukdomar (3). Den senaste togs med år 1998, då vi beskrev sjukdomsbilden på tillväxthämmade nyfödda barn med laktacidosis (GRACILE syndromet, Fellmans sjukdom MIM 603358) (4).

Incitamentet till min forskningskarriär kommer alltså från den miljö som existerade då jag specialiserade mig till barnläkare i Helsingfors. Min första patient på neonatalavdelningen var en vacker, intensivt blåögd flicka född på skottdagen. Hon var intagen pga. fluktuerande respiratorisk acidosis. Senior-kollegerna förundrade sig över sjukdomstillståndet och kom till konklusionen att det inte fanns någon möjlig behandling att upprätthålla hennes liv om hon inte kunde andas tillräckligt själv. Hennes vädjande blick och mysteriet kring hennes andningsuppehåll sporrade mig att beskriva patofysiologin och hitta orsaken. Många nätter vakade jag med olika prototyper för att mäta endtidal och transkutan koldioxidhalt. Så småningom klarnade det att hon blev acidotisk, drabbades av hypoxi och uppvisade ökad koldioxidhalt pga. hypoventilationssyndrom, dvs. ”Ondine’s curse” (Undines förbannelse), (Figur 1). Hon var den första patienten i Norden med den sjukdomen. Det var ett litet äventyr för mig att i USA hitta en diafragma- och membran- och utvecklas normalt (5). Detta hade inte kunnat utföras av en novissjukhusläkare om inte



Figur 1.
Undine, havsnymfen som fick en själ av sin älskade men som förbannade honom så att han skulle ge upp andan om han somnade, den s.k. Undines förbannelse "Ondine's curse" (pärmbilden till en roman från 1811 av Friedrich de la Motte Fouqué, <http://www.gutenberg.org/etext/18752>)

Barnklinkens chef aktivt stött arbetet och allokerat de nödvändiga resurserna.

Hypoxi och acidosis blev sedan den röda tråden i mitt doktorandprojekt. I början av 1980-talet var det ännu inte rutin att mäta navelsträngs-pH. Syftet var därför att göra det i en tillräckligt stor kohort och hitta prognostiska markörer för postasfyktisk hjärnskada. Vi var de första som visade att uttalad acidosis vid födseln inte i sig är prognostisk för hjärnskada, utan att andra markörer också behövs (6). Forskningsområdet har utvecklats under det kvartssekel som har gått sedan dess och är kontinuerligt synnerligen aktuellt, då en bra prognostisk algoritm ännu inte finns. Fortfarande är jag involverad i forskning som avser att tidigt definiera riskgrupper för perinatal hjärnskada, bl.a. inom ett EU-projekt, men med betydligt bättre metoder än på 1980-talet, som metabolomik, elektrofysiologi, och magnetundersökning med traktografi och volymetri (EU-FP6-projektet NEOBRAIN/PL 036534). Våra nationella epidemiologiska studier i Finland (7) och Sverige (8) visar en allt högre överlevnad för de mest omogna prematurerna men med en betydande risk

för neurokognitiv dysfunktion (9). I samarbete med psykologiska institutionen vid Helsingfors universitet har vi gjort ett flertal studier för att utreda om man med EEG- eller MEG-registreringar kan påvisa avvikande auditiva händelserelaterade potentialer med prognostisk betydelse (10, 11).

Sammantaget kan man säga att händelseförloppet vid födseln, dvs. asfyxi med hypoxi och acidosis, har betydelse för prematurers morbiditet under neonatalperioden, men det är många andra postnatala faktorer som spelar en viktig roll för hur hjärnan utvecklas. Brist på tillväxtfaktorer, dålig nutrition, infektioner, stress och smärta är viktiga riskfaktorer, men å andra sidan kan hjärnans plasticitet korrigera skador till en viss grad. Därför kan det vara svårt att hitta en algoritm för markörer med prognostisk betydelse.

Kylbehandling av fullgångna svårt (pH under 7,00 är ett av kriterierna) asfyktiska barn har i tre stora multicenterstudier visats vara effektiv när det gäller att minska dödlighet och skador. Den kan anses vara den viktigaste nya behandlingsåtgärden som introducerats inom neonatalvården under det senaste decenniet. Flera av våra nordiska universitetskliniker har deltagit i en av studierna, den s.k. TOBY-studien (12), som har möjliggjort att vi tidigt både i Helsingfors och Lund haft tillgång till behandlingen.

Postdoktoral träning

Enligt traditionen vid Barnkliniken i Helsingfors var det naturligt att söka en postdoktoral forskartjänst i ett annat land efter disputationen. Valet föll på Washington University Medical School i St. Louis pga. möjligheten till experimentella studier där. Betydelsen av hypoglykemi för hjärnskada vid hypoxisk ischemi var föremålet för mitt projekt. I hjärnan på nyfödda grisar studerade vi förändringar i energi- och kolhydratmetabolismen, speciellt ATP-degradationen med hjälp av mikrodialys och s.k. cranial-window-teknik, som då var nya avancerade metoder (13). Erfarenheten har varit viktig för mina nuvarande experimentella studier.

Extrem metabol acidosis och tillväxthämning

På avdelningen för neonatal intensivvård på Barnkliniken i Helsingfors behandlade jag 1985 det första nyfödda barnet med extrem

metabol acidosis och uttalad tillväxthämning. Samma år intogs en likadan patient på avdelningen och då sporrades jag att utreda sjukdomen med tillgängliga metoder. Småningom var patientmaterialet tillräckligt stort för att vi skulle kunna karakterisera sjukdomen som ett specifikt syndrom (4).

Redan på 1960-talet hade barnläkare vid Barnkliniken i Helsingfors observerat en uttalad mjölksyraacidosis hos två nyfödda barn i samma familj och därför misstänkt att det var fråga om en autosomalt recessiv sjukdom. Med hjälp av neonatalavdelningens hålkortsregister kunde jag hitta misstänkta fall, patienter födda på 1970-talet. Sammanlagt har jag identifierat två patienter från 1960-talet och fyra från 1970-talet, där diagnosen senare är verifierad med gendiagnostik från sparade paraffinblock (4, 14). Antalet prospektivt diagnostiserade patienter under de tre följande decennierna var 4, 13, och 9. Neonatalmortaliteten var hög under 1960- och 1970-talen, andningssvårigheter med hypoxi och metabol acidosis var en vanlig dödsorsak hos nyfödda med låg födelsevikt. Antagligen har därför några patienter fått orätt diagnos, som fallet var med ett barn under 1980-talet. Mitt aktiva letande efter patienter förklarar det stora antalet under 1990-talet. Möjlighet till prenatal diagnos med hjälp av haplotypbestämning från slutet av 1990-talet (15) resulterade i att antalet nyfödda med syndromet sjönk. Vi har uppskattat att förekomsten i Finland är åtminstone 1/50 000 (16) på basis av 1990-talets incidens. Troligtvis får alla nyfödda med sjukdomen rätt diagnos sedan millennieskiftet.

Intrauterin tillväxthämning har många orsaker, men de vanligaste som man önskar utreda för att kunna ta beslut om en optimal förlossning är kromosomavvikelser, betydande anomalier och kronisk syrebrist. Vid avsaknad av dessa får graviditeten vanligtvis fortsätta till nära beräknad tidpunkt, vilket har varit regel med de "gracila" barnen (Tabell I) (17). Typiskt för syndromet, är att barnet är mycket tillväxthämmat men piggt och symptomfritt genast efter födseln med normala värden för navelsträngs-pH och Apgar-poäng, vilket gör att både personal och föräldrar lättade konstaterar att det är frågan om ett friskt men litet barn. Men under första dygnet svänger pendeln, barnet börjar utveckla uttalad metabol acidosis och försöker kompensera den med hyperventilation utan att lyckas och sedan uppstår en dramatisk försämring som kräver intensivvård.

Blodvärdena uppvisar en markant laktat- och pyruvatförhöjning, avvikelser i lever- och njurfunktionen och förändringar i järnmetabolismen (Tabell I)(4). Levern har haft en klart ökad järnhalt hos alla nyfödda barn (18). Vi har också konstaterat järnupplagring hos ett 13-veckors foster (19).

Redan tidigt misstänkte vi att orsaken kunde vara en störning i andningskedjan, men att påvisa defekten var svårt. Först från 1990 hade vi möjlighet att mäta syrekonsumtionen från isolerade mitokondrier och bestämma aktiviteten på andningskedjans olika komplex (20). Men till vår förvåning och besvikelse kunde vi inte hitta någon signifikant defekt trots den extremt höga laktat-/pyruvat-kvoten (Tabell I)(4).

Efter att vi publicerat de karakteristiska kliniska fynden (4) inkluderade Victor McKusick sjukdomen i MIM-registret (Fellmans sjukdom, MIM 603358) också med det enligt mitt tycke negativa namnet "letal finländsk metabol sjukdom" (15, 21). Eftersom man frångått den gamla traditionen att benämna nya sjukdomar med namnet på den centrala person som beskrivit dem och i stället använder akronymer, ville jag lansera ett namn med en mer positiv innebörd. Med tanke på de små barnens gracila utseende och sköra uppenbarelse skapade jag akronymen GRACILE, som är härlett från de viktigaste fynden på engelska (och också en ordlek i de anglosaxiska språken): Growth Retardation, Aminoaciduria (orsakad av Fanconi typs tubulopati), Cholestasis, Iron overload, Lactacidosis, och Early death (Tabell I).

Jakten efter genmutationen

I de släktutredningar som gjordes för att utreda sannolikheten för recessivt ärftlig sjukdom, hittade vi släktskap eller grannskap mellan förfäder till indexbarnet (4, 15). Det motiverade oss att påbörja en jakt efter genen under professor Leena Peltonens ledning. Området där genen befann sig klarnade inom kort (15), men påvisandet av vilken gen som hade en mutation var svårare med de metoder som var tillgängliga i slutet av 1990-talet. Nukleotidförändringen i BCS1L 232A>G hittades rätt snart, men det var arbetskrävande att bevisa att den aminosyraförändring det ledde till (Serin78Glycin, S78G) i homozygoter verkligen orsakade en funktionell defekt.

Bcs1-proteinet har först påvisats i jäst. I jästexperiment leder bcs1-mutationer till

Tabell I.

Kliniska data på nyfödda barn med GRACILE-syndrom och verifierad homozygotisk 232A>G-mutation i *BCS1L*. Om antalet observationer är färre än 29 anges antalet.

GRACILE-patienter (n = 29)			
	median	interkvartilintervall	Referensvärde
Födelsedata			
Gestationsålder, veckor	37,9	36,6–39	
Födelsevikt, g	1 715	1 430–1 850	
Standardavvikelse	-3,7	-4,2 – -3,5	
Födelselängd, cm	44	41–45	
Apgar-poäng vid 1 minut	8,5	7,25–9	
Acidos (i plasma)			
pH, första dygnet (n = 23)	7,00	6,96–7,09	7,35–7,43
Base Excess, första dygnet (n = 19)	-22	-25 – -20	-5; 5
Laktat, mmol/l (n = 22)	12,8	8,5–20,3	0,7–1,8
Laktat/Pyruvat (n = 16)	81	54–140	< 25
Leverfunktion (i serum)			
ASAT, U/l (n = 13)	135	80–210	< 80
ALAT, U/l (n = 14)	65	50–100	< 40
Järnmetabolism (i serum)			
Järn, mikromol/l (n = 10)	16	13–17	19–48
Transferrin, g/l (n = 8)	0,74	0,70–0,90	1,1–1,8
Järnsaturation i transferrin, % (n = 6)	83	66–90	30–60
Ferritin, mikrog/l (n = 10)	1 310	1 030–2 080	< 150
Ålder vid död, dagar	36	2,75–68	

att Rieske FeS-proteinet inte inkorporeras i andningskedjans komplex III (CIII) och därför uppstår funktionsbrist i komplexet (22). Genom att införa S78G-mutationen i jäst kunde vi visa en komplementeringsdefekt som tecken på CIII-brist (16). Hos patienterna kunde vi trots uttalad laktacidosis däremot inte påvisa någon signifikant aktivitetsbrist i CIII, men vi kunde verifiera en homozygotisk *BCS1L* 232A>G-mutation hos alla nyfödda barn med typisk GRACILE syndrombild (14). Däremot hittade vi inga andra mutationer i genen hos andra barn med misstanke om metabol eller mitokondriell sjukdom. Den konsekventa genotyp-fenotyp-motsvarigheten gjorde att en SNP-metod kunde tas i kliniskt bruk för 232A>G-mutation (14), vilket har varit ett stort framsteg för diagnostiken, spe-

ciellt vid antenatal diagnostik för familjer med ett drabbat barn.

Samtidigt som vi beskrev GRACILE-mutationen, gjorde en fransk grupp mutationscreening på patienter med påvisad CIII-defekt och hittade ett flertal mutationer, både i närliggande område till 232A>G-mutationen och i andra delar av genen (23). Intresset för genen har ökat under de senaste åren och nu har sammanlagt 65 patienter (14 vuxna och 51 barn, av vilka över hälften är GRACILE-barn) påvisats ha en sjukdom orsakad av *BCS1L*-mutationer (24–26). De andra mutationerna än 232A>G är associerade med ett brett spektrum av fenotyper, från mild kongenital neurosensorisk dövhet (27) till enbart tubulopati eller tubulopati i kombination med leversjukdom, eller encefalopati (28).

Nya rön skapar nya frågor

När mutationen påvisats, blev det tidigt uppenbart att experimentella studier behövdes för att klarlägga sjukdomsmekanismerna. Första försöken att skapa en knockoutmodell misslyckades, och det har senare visat sig att utslagning av någon komponent i andningskedjan leder till embryonal död. Därför har konditionella musmodeller producerats under de senaste åren för studier av andningskedjans defekter (29). Att skapa en djurmodell är ett omfattande och kostsamt projekt, vilket för mig blev möjligt för att jag blev rekryterad till Lunds universitet och erbjöds ett för forskningsändamålet lämpligt startkapital. Öresundsbron hade redan varit i bruk ett par år och erbjöd en realistisk pendlingsmöjlighet. Att bygga upp en egen laboratorieverksamhet från "scratch" för ett riskprojekt var ett spännande och krävande företag.

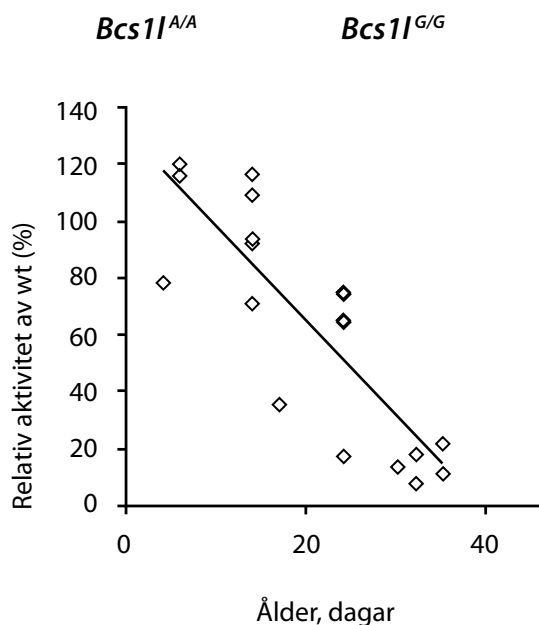
Med metoder vi själva satte upp och andra i samarbete med andra grupper kunde vi göra framsteg. Vi har visat att BCS1L är lokaliserat till mitokondriernas inre membran i human vävnad liksom även i jästmitokondrier (24). Vi har också bl.a. äntligen med säkerhet kunnat påvisa brist på Rieske i CIII och därför låg CIII-aktivitet i patientvävnader (24).

Med "gene targeting" har vi skapat en musmodell som har 232A>G-mutationen införd i *Bcs1l* (30). Homozygoter för mutationen uppvisar en postnatal tillväxthämning från ca tre veckors ålder och utvecklar sedan en sjukdomsbild med leverpåverkan (steatos, fibros och cirros), men har ingen tydlig järnupplagring (Figur 2). I njuren ses proximal tubulopati. Vi har visat att fenotypen utvecklas efter att CIII-aktiviteten har sjunkit under ett tröskelvärde (30) (Figur 2). Fynden är mycket intressanta och visar att vår transgena musmodell är lämpad för klarläggande av lever- och njurpatologin vid sjukdomen GRACILE.

Framtidsplaner

Forskningsprojektet sker nu som ett nordiskt samarbete mellan Lund och Helsingfors, då jag har haft möjligheten att etablera en forskargrupp vid Biomedicum på Folkhälsans genetiska institut.

Vilken betydelse BCS1L har för normal hepatocytfunktion är oklart, men BCS1L-mutationer med neonatala manifestationer leder i regel till leverpatologi. En allmänt godtagen hypotes är att CIII-defekt leder till ökad produktion av syreradikaler och oxi-



Figur 2. Transgen mus med homozygotisk 232A>G-mutation i *Bcs1l*-genen (*Bcs1l^{G/G}*) är signifikant tillväxthämmad vid fyra veckors ålder jämfört med vild typ av mus (wt, *Bcs1l^{A/A}*) och har sänkt komplex III-aktivitet (CIII) i isolerade levermitokondrier.

dativ stress, vilket vi bör utreda i modellen. Varför 232A>G-mutation leder till det grava syndromkomplexet är oklart men ger belegg för hypotesen att BCS1L har en annan cellulär funktion än att bara vara chaperon för uppbyggnaden av CIII. Dubbelfunktionen stöds också av studier som antyder att BCS1L interagerar med en eller flera andra faktorer (22).

Betydelse

Behandlingen och vården av sjuka nyfödda, de mest värnlösa i vårt samhälle, blir ständigt föremål för prioriteringsdiskussioner, dvs. vårdbehovet ifrågasätts om barnet är ”för litet, för sjukt, har för stor risk för skador” eller har en oidentifierad sjukdom som ”troligtvis leder till bestående skador/död”. Jag ser det som en viktig uppgift för oss neonatologer att alltid kämpa för en bättre diagnostik och vård av dem. Musmodellen är idealisk för att utreda sjukdomsmekanismer och testa behandlingsstrategier experimentellt eftersom mössen föds och utvecklas normalt under de första veckorna och sedan får en snabbt progredierande sjukdom. Ett terapeutiskt fönster existerar alltså från ca två veckors ålder, och effekten bör bli synlig inom en begränsad tid.

Jag hoppas och tror att musmodellen kommer att leda till resultat som kan tillämpas i behandlingen och vården av barn med mitokondriesjukdomar. Klarläggandet av cellulära mekanismer kommer också att ha en mer allmän betydelse, då sekundära funktionsavvikelser i mitokondrierna är vanliga vid många kroniska sjukdomar, t.ex. diabetes och icke-alkoholrelaterad fettlever.

Med stor tacksamhet till alla familjer, samarbetspartner, forskare, kolleger och vårdgivare som har bidragit till att projekten framskridit. Forskningsanslag har beviljats för GRACILE-projektet vid Helsingfors universitet från Finska Läkaresällskapet, Stiftelsen för Pediatrisk forskning och Sigrid Jusélius Stiftelse.

Prof. Vineta Fellman
Lunds universitet
Helsingfors universitet
vineta.fellman@helsinki.fi

Referenser

- Norio R. Finnish Disease Heritage I: characteristics, causes, background. *Hum Genet* 2003;112:441–456.
- Norio R. The Finnish Disease Heritage III: the individual diseases. *Hum Genet* 2003;112:470–526.
- Kestila M, Ikonen E, Lehesjoki A. Suomalainen tautiperintö. *Duodecim* 2010;126:2311–20.
- Fellman V, Rapola J, Pihko H, Varilo T, Raivio KO. Iron-overload disease in infants involving fetal growth retardation, lactic acidosis, liver haemosiderosis, and aminoaciduria. *Lancet* 1998;351:490–493.
- Ruth V, Pesonen E, Raivio KO. Congenital central hypoventilation syndrome treated with diaphragm pacing. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:295–297.
- Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. *BMJ* 1988;297:24–7.
- Tommiska V, Heinonen K, Lehtonen L, et al. No improvement in outcome of nationwide extremely low birth weight infant populations between 1996–1997 and 1999–2000. *Pediatrics* 2007;119:29–36.
- Fellman V, Hellstrom-Westas L, Norman M, et al. One-year survival of extremely preterm infants after active perinatal care in Sweden. *JAMA* 2009;301:2225–33.
- Mikkola K, Ritari N, Tommiska V, et al. Neurodevelopmental outcome at 5 years of age of a national cohort of extremely low birth weight infants who were born in 1996–1997. *Pediatrics* 2005;116:1391–400.
- Mikkola K, Kushnerenko E, Partanen E, et al. Auditory event-related potentials and cognitive function of preterm children at five years of age. *Clin Neurophysiol* 2007;118:1494–502.
- Sambeth A, Pakarinen S, Ruohio K, Fellman V, van Zuijen TL, Huotilainen M. Change detection in newborns using a multiple deviant paradigm: a study using magnetoencephalography. *Clin Neurophysiol* 2009;120:530–538.
- Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, et al. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med* 2009;361:1349–58.
- Ruth VJ, Park TS, Gonzales ER, Gidday JM. Adenosine and cerebrovascular hyperemia during insulin-induced hypoglycemia in newborn piglet. *Am J Physiol* 1993;265:H1762–768.
- Fellman V, Lemmela S, Sajantila A, Pihko H, Jarvela I. Screening of BCS1L mutations in severe neonatal disorders suspicious for mitochondrial cause. *J Hum Genet* 2008.
- Visapaa I, Fellman V, Varilo T, Palotie A, Raivio KO, Peltonen L. Assignment of the locus for a new lethal neonatal metabolic syndrome to 2q33–37. *Am J Hum Genet* 1998;63:1396–403.
- Visapaa I, Fellman V, Vesa J, et al. GRACILE syndrome, a lethal metabolic disorder with iron overload, is caused by a point mutation in BCS1L. *Am J Hum Genet* 2002;71:863–876.
- Fellman V. De Gracila barnen (The GRACILE infants). *Finska Läkaresällskapet Handlingar* 2006;166:75–80.
- Rapola J, Heikkilä P, Fellman V. Pathology of lethal fetal growth retardation syndrome with aminoaciduria, iron overload, and lactic acidosis (GRACILE). *Pediatr Pathol Mol Med* 2002;21:183–193.
- Fellman V, Visapaa I, Vujic M, Wennerholm UB, Peltonen L. Antenatal diagnosis of hereditary fetal growth retardation with aminoaciduria, cholestasis, iron overload, and lactic acidosis in the newborn infant. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002;81:398–402.
- Majander A, Suomalainen A, Vettenranta K, et al. Congenital hypoplastic anemia, diabetes, and severe renal tubular dysfunction associated with a mitochondrial DNA deletion. *Pediatr Res* 1991;30:327–330.
- Pitkanen S, Robinson BH. Mitochondrial complex I deficiency leads to increased production of superoxide radicals and induction of superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1996;98:345–351.
- Nouet C, Truan G, Mathieu L, Dujardin G. Functional analysis of yeast *bcs1* mutants highlights the role of *Bcs1p*-specific amino acids in the AAA domain. *J Mol Biol* 2009.
- de Lonlay P, Valnot I, Barrientos A, et al. A mutant mitochondrial respiratory chain assembly protein causes complex III deficiency in patients with tubulopathy, encephalopathy and liver failure. *Nat Genet* 2001;29:57–60.
- Kotarsky H, Karikoski R, Mörgelin M, et al. Characterization of complex III deficiency and liver dysfunction in GRACILE syndrome caused by a BCS1L mutation. *Mitochondrion* 2010;10:497–509.
- Moran M, Marin-Buera L, Gil-Borlado MC, et al. Cellular pathophysiological consequences of BCS1L mutations in mitochondrial complex III enzyme deficiency. *Hum Mutat* 2010;31:930–41.
- Tuppen HA, Fehmi J, Czermin B, et al. Long-term survival of neonatal mitochondrial complex III deficiency associated with a novel BCS1L gene mutation. *Mol Genet Metab* 2010;100:345–348.
- Hinson JT, Fantin VR, Schonberger J, et al. Missense mutations in the BCS1L gene as a cause of the Björnstad syndrome. *N Engl J Med* 2007;356:809–819.
- Benit P, Lebon S, Rustin P. Respiratory-chain diseases related to complex III deficiency. *Biochim Biophys Acta* 2009;1795:181–185.
- Vempati UD, Torraco A, Moraes CT. Mouse models of oxidative phosphorylation dysfunction and disease. *Methods* 2008;46:241–247.
- Levéen P KH, Mörgelin M, Karikoski R, Elmér E, Fellman V. The GRACILE mutation introduced into *Bcs1l* causes postnatal complex III deficiency; a viable mouse model for mitochondrial hepatopathy. *Hepatology* 2010, in press.