

Sphingolipidspeicherkrankheiten als Beispiel einer molekularen Neuropathologie*

HORST JATZKEWITZ und KONRAD SANDHOFF

Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Neurochemische Abteilung,
Kraepelinstraße 2, D-8000 München, Bundesrepublik Deutschland

Eingegangen am 16. Februar 1976

SPHINGOLIPID STORAGE DISEASE AS AN EXAMPLE OF A MOLECULAR NEUROPATHOLOGY

SUMMARY. A short survey on the sphingolipid storage diseases is presented. The chemical nature of the accumulated substances is related to the genetically induced enzymic blocks in their biodegradation. Two disorders are stressed which alter the nervous system: metachromatic leukodystrophy and familiar infantile amaurotic idiocy (G_{M2} -gangliosidosis). The difficulties in the causal interpretation of three variants of the latter disease due to the involvement of isoenzymes are dealt with. The relationship between the enzyme defect in these disorders and their time of clinical onset is discussed. Finally, the diagnostic possibilities are presented which are a prerequisite for preventing a further dissemination of these therapy-resistant inborn errors of metabolism.

KEY WORDS: Sphingolipidoses - Metachromatic Leukodystrophy - G_{M2} -gangliosidosis - Enzyme Defect - Diagnosis.

ZUSAMMENFASSUNG. Es wird ein kurzer Überblick über die Sphingolipidspeicherkrankheiten gegeben. Die chemische Natur der gespeicherten Substanzen und die Ursache ihrer Speicherung durch einen genetisch bedingten Defekt im abbauenden Enzymsystem wird dargelegt. Der Schwerpunkt liegt auf zwei Sphingolipidosen, die das Nervensystem alterieren, der metachromatischen Leukodystrophie und familiären infantilen amaurotischen Idiotie (G_{M2} -Gangliosidose). Die Komplikation in der Deutung der Ursache von 3 Varianten der G_{M2} -Gangliosidose durch Isoenzyme wird behandelt. Die Beziehungen zwischen Enzymdefekt und Erkrankungsbeginn werden diskutiert und schließlich die Diagnosemöglichkeiten als Hilfsmittel zur Verhinderung der weiteren Verbreitung dieser therapieresistenten angeborenen Stoffwechselstörungen angegeben.

SCHLÜSSELWÖRTER: Sphingolipidosen - Metachromatische Leukodystrophie - G_{M2} -Gangliosidose - Enzymdefekt - Diagnose.

* Herrn Professor Dr. med. Gerd Peters zu seinem 70. Geburtstag gewidmet.

Beim Menschen können fast alle biochemisch bekannten Stoffklassen pathologisch gespeichert werden, und viele dieser Speicherkrankheiten haben Schwachsinn oder neurologische Ausfälle zur Folge, doch bleibt der biochemische Faden von der Speicherung einer Substanz und ihrem Eingriff in das nervale Geschehen in den meisten Fällen unbekannt. Als Beispiel sei die Phenylketonurie genannt, wo eine Störung im Aminosäurestoffwechsel zur Speicherung von Phenylalanin und deren Stoffwechselprodukt Phenylbrenztraubensäure führt. Die Folge ist Schwachsinn, der in vielen Fällen mit einer Hemmung der Markscheidenreifung einhergeht. Sowohl die qualitativen als auch die quantitativen Beziehungen zwischen der Erhöhung des Phenylalaninspiegels im Organismus (er kann im Serum bis zum Dreißigfachen der Norm betragen) und Schwachsinn oder Markscheidenreifungshemmung sind unbekannt.

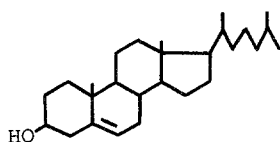
Eine zumindestens qualitative Korrelation zwischen neuropathologischem Befund und gespeicherter Substanz ist jedoch bei einigen Lipidspeicherkrankheiten, die das Nervensystem alterieren, möglich. Mit zwei von ihnen, ihren biochemischen Grundlagen und den molekularbiologischen Konsequenzen befaßt sich der folgende Aufsatz. Die klinisch-diagnostischen Gesichtspunkte treten dabei in den Hintergrund.

SPHINGOLIPIDE ALS GEHIRNLIPIDE

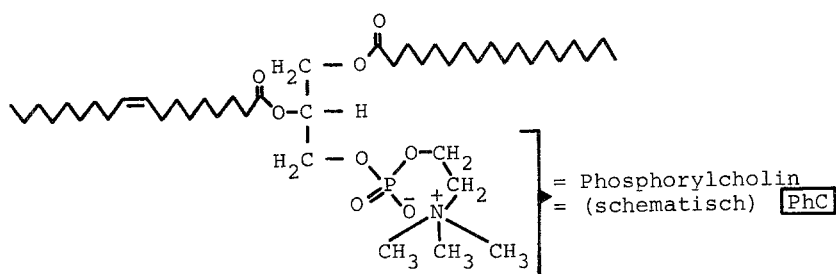
Lipide gehören heterogenen chemischen Substanzklassen an; ihnen gemeinsam ist eine physikalische Eigenschaft: die Löslichkeit in Lipidlösungsmitteln. Im Gehirn als dem lipidreichsten Organ der Säuger setzen sie sich aus drei Substanzklassen zusammen, die in Abb. 1 aufgeführt sind. Die erste besteht aus einer einzigen Substanz, dem Cholesterin, die zweite umfaßt die Gruppe der Glycerinphosphatide, von denen hier nur ein Vertreter, das Lecithin, gezeigt wird. Wie schon der Name sagt, ist in dieser Gruppe der Akzeptor für die hydrophoben Fettsäurereste ein wasserlöslicher dreiwertiger Alkohol mit einer Kette von nur 3 Kohlenstoffatomen, das Glycerin. Die dritte Klasse umfaßt die Sphingolipide. Hier ist der Akzeptor für einen hydrophoben Fettsäurerest ein Fettaminoalkohol, das Sphingosin, mit 18 C-Atomen. Der hydrophobe Anteil, also Sphingosin + amidgebundene Fettsäure heißt Ceramid. Der hydrophile Anteil ist entweder ein Zuckerrest oder eine Oligosaccharidkette (mit oder ohne N-Acetylneuraminsäure) oder wie beim Lecithin Phosphorylcholin (Abb. 1). Die zuckerhaltigen Lipide des Gehirns sind demnach Sphingolipide. Sie werden daher auch Glykolipide genannt.

PATHOLOGISCHE VERMEHRUNG

Obwohl die Gruppe der Glycerinphosphatide die mengenmäßig bedeutendste ist, ist eine Erkrankung, die durch eine primäre Speicherung eines solchen Phosphatids hervorgerufen wird, nicht bekannt. Merkwürdigerweise kann jedoch nahezu jedes Sphingolipid beim Menschen pathologisch angehäuft werden. Die entstandenen Speicherkrankheiten heißen Sphingolipidosen (Tabelle 1). Sphingolipide sind typische Hirn-Lipide, was man schon am Wortstamm einzelner Vertreter erkennen kann. Ebenso deutet die Bezeichnung der durch ihre Anhäufung entstandenen Krankheiten auf das Gehirn hin. Wir verdanken Ernst Klenk sowohl in bezug auf die chemische Struktur dieser Substanzen als auch der Erkennung ihrer Speicherung im Gehirn grundlegende

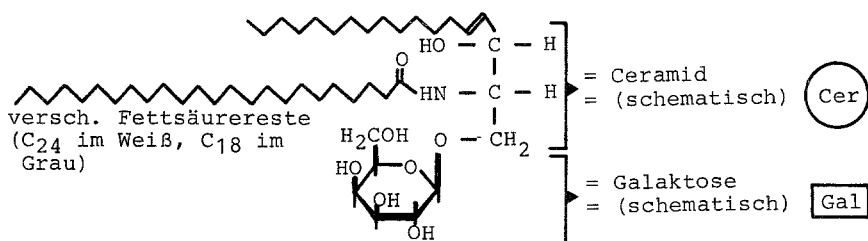


CHOLESTERIN



Lecithin = Phosphatidylcholin

GLYCERINPHOSPHATID



Cerebrosid

SPHINGOLIPID

Abb. 1. Vertreter der drei Hauptlipidklassen des Gehirns: Cholesterin, Glycerinphosphatide und Sphingolipide

Arbeiten (vgl. [5, 19]). Bei den Sphingolipidosen lassen sich zunächst einige kausale Zusammenhänge zwischen Substanzspeicherung und dem neuropathologischen Befund herstellen. So sind sowohl das Galaktocerebrosid als auch das Sulfatid Inhaltsstoffe der weißen Substanz. Entsprechend führt ihre Speicherung zum Zerfall der Markscheiden. Die Ganglioside sind, wie schon der Name sagt, Inhaltsstoffe der grauen Substanz. Entsprechend führt ihre Speicherung primär zu morphologischen Veränderungen der Nervenzellen.

Die Sphingolipidosen sind seltenere Erkrankungen, die progredient verlaufen. Da nahezu alle generalisierte Erkrankungen sind, wird der Tod des Patienten meistens durch die Funktionsuntüchtigkeit desjenigen Organs hervorgerufen, in dem die Speicherung am höchsten ist, z. B. in den viszerale Organen bei der Niemann-Pick'schen und Gaucher'schen Erkrankung. Sind Strukturen des Nervensystems mitbetroffen, deren Intaktheit besonders wichtig für die Aufrechterhaltung des Lebens ist, so wird ihre Beteiligung die Länge des Lebens entscheidend mitbestimmen. Das zeigt sich besonders bei der amaurotischen Idiotie, wo der Tod nach etwa einjähriger Dauer eintritt, und bei der metachomatischen Leukokystrophie, wo das Leben nach etwa zwei und mehrjähriger Dauer endet. Allerdings sind auch von diesen Krankheiten juvenile und adulte Fälle bekannt, die qualitativ die gleichen Substanzspeicherungen wie die infantilen Fälle zeigen.

Eine Ausnahme machen juvenile und einzelne Fälle der adulten amaurotischen Idiotie: Hier können einerseits dieselben Substanzen vom Gangliosidtyp - wenn auch in geringerer Menge - wie bei der infantilen Form gespeichert werden (vgl. [8]). Ähnliche klinische Bilder können jedoch auch durch die Vermehrung von Substanzen im Gehirn erzeugt werden, deren chemische Natur weitgehend ungeklärt ist (Ceroid-Lipofuszinose). Infantile amaurotische Idiotie, Morbus Gaucher und Niemann-Pick sind besonders bei Juden osteuropäischer Abstammung verbreitet.

Die Niemann-Pick'sche Krankheit ist insofern bemerkenswert, als sie zwar durch eine Speicherung von Sphingomyelin gekennzeichnet ist, der bei einigen Formen auf enzymatischer Ebene Ursachen zugrunde liegen, wie sie für die anderen Sphingolipide im nächsten Abschnitt beschrieben werden ([3, 5]; vgl. auch Tabelle 1), aber auch Varianten, wo die Ursache für die Sphingomyelinspeicherung noch ungeklärt ist [5].

ENZYM-DEFEKT

All diese Erkrankungen folgen dem rezessiven Erbgang. Um es mit Garrod (1909) zu sagen: Es sind "inborn errors of metabolism", angeborene Stoffwechselstörungen. Garrod vermutete, daß solche Krankheiten auftreten, weil ein Enzym, das einen einzigen Stoffwechselschritt katalysiert, eine verminderte Aktivität zeigt oder überhaupt abwesend ist.

Damit erhebt sich die Frage, wie ein defektes Enzym die Anhäufung einer Substanz hervorrufen kann. Die Antwort ist an die Tatsache geknüpft, daß die Menge einer vorhandenen Substanz nicht statisch festgelegt ist, sondern das Ergebnis eines fortwährenden dynamischen Prozesses, "Turn-over" genannt, der im wesentlichen von zwei Biokatalysatoren gesteuert wird: von dem Enzym, das die Substanz aufbaut, und demjenigen, das sie abbaut (Abb. 2). Vermehrung einer Substanz ist also durch Aktivierung des sie aufbauenden Enzyms möglich oder durch Inaktivierung des sie abbauenden. Die letztgenannte Möglichkeit scheint bei allen Krankheiten mit rezessivem Erbgang verwirklicht zu sein. Im Lichte des 1945 von Beadle postulierten Prinzips "ein Gen produziert ein Enzym" und neuerer molekularbiologischer Erkenntnisse formuliert man folgendermaßen: Bei der angeborenen Stoffwechselstörung führt eine Änderung in der DNS des Strukturgens (z. B. Punktmutation) zu einem katalytisch inaktiven Enzymprotein oder zum Ausfall der Bildung von Enzymprotein. Das defekte (oder nicht vorhandene) Enzymprotein kann die von ihm normalerweise umgesetzte Substanz nicht

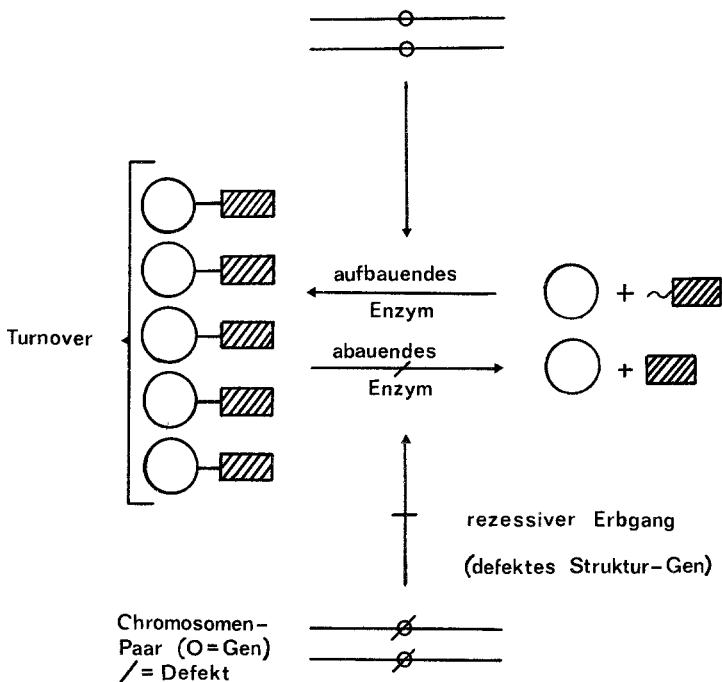










Abb. 2. Störungen im Turnover einer Substanz als Ursache menschlicher Erkrankungen. Rezessiv vererbte progrediente Speicherkrankheit: Defektes Strukturgen induziert defektes abbauendes Enzym







abbauen. Sie wird sich überall da anhäufen, wo sie physiologischerweise synthetisiert wird. Ihre Speicherung kann zum tödlich wirkenden Strukturzerfall führen (Markscheide bei der metachromatischen Leukodystrophie), kann aber auch ohne Funktionsbeeinträchtigung (Niere bei der metachromatischen Leukodystrophie) vertragen werden.

Das Turnover der Sphingolipide ist niedrig. Sie erfüllen biochemisch nicht so zentrale Funktionen z. B. als allgemeine Bestandteile der tierischen Zellmembran wie die Glycerinphosphatide. Vielleicht ist darum bisher mit Sicherheit kein Fall mit primärer Glycerinphosphatidspeicherung bekannt geworden, weil hier ein ähnlicher Enzymausfall die Bildung eines Embryos nicht zulassen oder zum frühzeitigen Abort führen würde.

Im allgemeinen werden sich keine pathologischen Veränderungen dort zeigen, wo die Speichersubstanz nicht synthetisiert wird. Der Defekt im abbauenden Enzymsystem ist allerdings überall nachweisbar, da er hier in den ubiquitär vorkommenden "Lysosomen" lokalisiert ist. Lysosomen sind subzelluläre Partikel bis zu Mitochondriengröße, die der subzellulären Verdauung dienen. Die Krankheiten werden daher auch lysosomale Krankheiten genannt (Hers, 1965) [7].

Tabelle 1. Vereinfachte Darstellung der Sphingolipide, ihre Speicherung infolge eines Enzymdefekts und die dadurch verursachten Erkrankungen

Sphingolipid	Durch Speicherung verursachte Krankheit	Vorwiegende Ablagerung der Speichersubstanzen	Enzymdefekt, der die Abspaltung von  verhindert
 Gangliosid C _{M1}	C _{M1} -Gangliosidose	Gehirn (graue Substanz), viszerale Organe	β-Galaktosidase
 Gangliosid C _{M2}	Infantile amaurotische Idiotie = C _{M2} -Gangliosidose	Gehirn (graue Substanz)	β-N-Acetylhexosaminidase
 Glucocerebrosid	Morbus Gaucher (Glucocerebrosidose)	viszerale Organe (bei infantilen Fällen auch Gehirn)	β-Glucosidase
 Sulfatid	Metachromatische Leukodystrophie (Sulfatidose)	Gehirn (weiße Substanz), Niere	Sulfatase A
 Galactocerebrosid	Morbus Krabbe = Globoidzell-Leukodystrophie (Galactocerebrosidose)	Gehirn (weiße Substanz)	β-Galaktosidase
 Ceramid-trisaccharid	Morbus Fabry (glycolipid-lipidose)	Niere (andere Gewebe und Gehirn)	α-Galaktosidase
 Sphingomyelin	Morbus Niemann-Pick (Sphingomyelinose)	viszerale Organe (bei infantilen Fällen auch graue und weiße Substanz des Gehirns)	Sphingomyelinase

 = Ceramid;  = Glucose;  = Galaktose;  = N-Acetylgalaktosamin;  = N-Acetylneuraminsäure = Sialsäure;  = Phosphorylcholin

METACHROMATISCHE LEUKODYSTROPHIE UND FAMILIÄRE AMAUROTISCHE IDIOTIE (INFANTILE G_{M2} -GANGLIOSIDOSE)

Hier sollen zunächst die allgemeineren Betrachtungen abgeschlossen werden, um etwas mehr ins Detail auf molekularer Ebene einzugehen, und zwar am Beispiel der metachromatischen Leukodystrophie und der infantilen G_{M2} -Gangliosidose. Bei der metachromatischen Leukodystrophie wurde in unserem Laboratorium die chemische Natur der Speichersubstanzen erkannt und das Enzym angereichert und charakterisiert, dessen Ausfall die Speicherung verursacht [9]. Bei der G_{M2} -Gangliosidose wurden Varianten im chemischen Muster der gespeicherten Ganglioside und ihnen verwandter Glykolipide entdeckt, denen verschiedene Enzymdefekte zugeordnet werden konnten. Es ergaben sich vertiefte Einblicke und zum Teil rätselhafte Befunde auf molekularer Ebene [16, 18].

Sieht man sich Tabelle 1 genauer an, so erkennt man, daß der enzymatische Block bei den Sphingolipidosen immer am hydrophilen Teil ansetzt. Wenn dieser aus mehreren Komponenten besteht, erfolgt die Blockierung am Ende der Kette. Diese Blocks sind nach Thannhauser Schlüssellocher, durch die man in das normale Stoffwechselgeschehen schauen kann. Wir haben einen Teil der in Tabelle 1 aufgeführten gespeicherten Substanzen so gruppiert und mit stärkeren Querstrichen markiert, daß man erkennen kann, daß bei Aufhebung des Sulfatase A-Blocks aus Sulfatid Galaktocerebrosid werden würde, aus Gangliosid G_{M1} nach Aufhebung des β -Galaktosidase-Blocks das Gangliosid G_{M2} . Demnach greifen die Blocks in Reaktionsketten ein, die den Abbau der Sphingolipide vom Ende der Kette einleiten. Man studiert Abbau und enzymatischen Block gewöhnlich nicht mit den natürlichen Substanzen als Substrate, sondern mit künstlichen, sog. chromogenen Substraten, d. h. man ersetzt den Sphingolipidanteil bis auf den enzymatisch abspaltbaren Rest durch eine Gruppe, die nach Abspaltung des Restes eine Farbe gibt, durch die man Geschwindigkeit und Ausmaß der Spaltung mit dem Photometer bestimmen kann. Diese Substrate haben überdies noch den Vorteil, daß sie monomer wasserlöslich sind und oft um Größenordnungen schneller gespalten werden als die natürlichen Substrate, die zu demselben Zweck radioaktiv markiert werden müssen, um die Empfindlichkeit des Nachweises für die enzymatische Reaktion zu steigern. Abb. 3 zeigt die chemischen Unterschiede zwischen chromogenem und natürlichem Substrat, die zum Nachweis der Sulfatase A (bei der metachromatischen Leukodystrophie) und der N-Acetylhexosaminidase (bei der G_{M2} -Gangliosidose) benutzt werden.

Wenn, wie eingangs beschrieben, ein mutiertes Strukturgen zu einem mutierten Enzymprotein führt, dann könnte der Austausch einer Aminosäure im Enzymprotein an einer Stelle erfolgen, wo die richtige Aminosäuresammensetzung für die katalytische Aktivität unbedingt notwendig ist (aktive Stelle). Er könnte aber auch an einer anderen Stelle erfolgen, wo ein Austausch toleriert wird oder nur zu geringer Aktivitätsverminderung führt (z. B. Bindungsstelle). Im ersten Fall würde man eine starke Speicherung von Sulfatiden oder Gangliosiden erwarten und damit frühe klinische Manifestation und Tod. Im zweiten Fall sollte die Speicherung der Substrate infolge der verbleibenden Restaktivität des abbauenden Enzyms langsamer erfolgen und damit Ursache der juvenilen und adulten Fälle sein. Solch eine Beziehung auf Substratebene (Höhe des Sulfatidspiegels) war in den Gehirnen

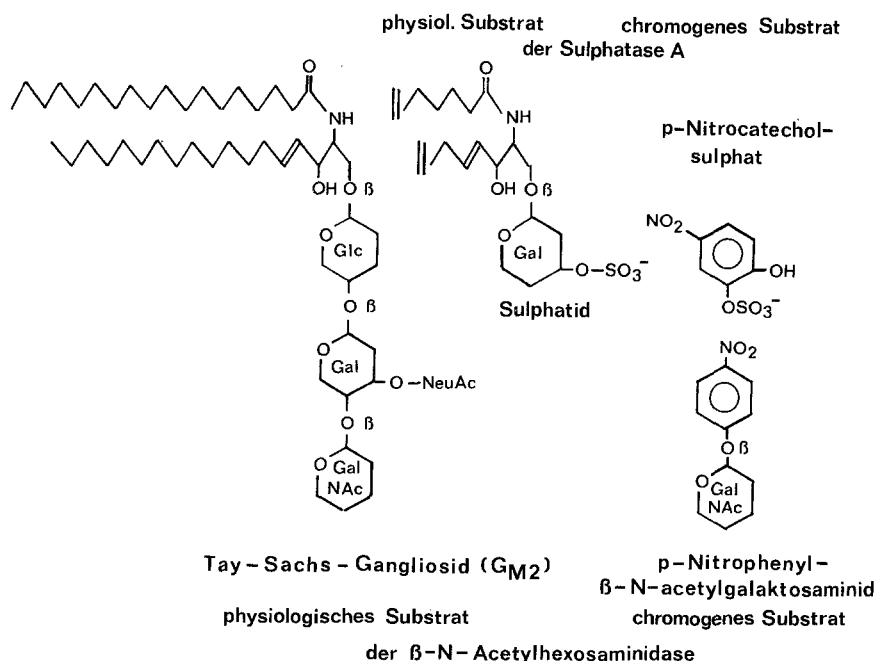


Abb. 3. Chromogenes und natürliches Substrat für die Sulfatase A und für die β -N-Acetylhexosaminidase

bei adulten Fällen, verglichen mit juvenilen und infantilen zu beobachten (der Sulfatidgehalt des Gehirns kann um das doppelte bis sechsfache zunehmen). Eine Korrelation der Restaktivitäten zum Erkrankungsalter konnten wir aber weder bei Verwendung von natürlichem noch chromogenem Substrat feststellen [9]. Einer unserer Fälle erkrankte erst mit 17 Jahren bei völligem Fehlen von Sulfataseaktivität [9]. Pilz [12] und Pilz & Hopf [13] fanden einen fast vollständigen Sulfatase A-Mangel in den Leukozyten und im Urin und entsprechend eine starke Sulfatidausscheidung im Urin bei Erwachsenen mit metachromatischer Leukodystrophie ohne irgendwelche klinischen Symptome. Eine Abhängigkeit der Rest-Sulfatase A-Aktivität vom Erkrankungsalter ließ sich jedoch in Fibroblastenkulturen erkennen, die von den Erkrankten angelegt wurden. Dem Medium wurden Sulfatide zugesetzt, deren Sulfatrest im Schwefel radioaktiv markiert war. Die Fibroblasten nahmen die markierten Sulfatide auf, bauten sie intrazellulär zu Cerebrosiden und markiertem Sulfat ab, das wieder in das Kulturmedium abgegeben wurde. Die Geschwindigkeit dieser Abgabe korrelierte mit dem Alter der klinischen Manifestation [11].

Diskrepanzen beim Vergleich der Bestimmung der Sulfatase A-Aktivität mit physiologischem und chromogenem Substrat können sich auch daraus ergeben, daß reine Sulfatase A das physiologische Substrat bei der physiologischen Osmolarität in der Zelle erst in Gegenwart eines spezifischen Aktivators abbaut, im Gegensatz zum chromogenen Substrat. Der

Aktivator für die Sulfatase A, ein Protein von niedrigem Molekulargewicht, wurde in unserem Laboratorium eingehend charakterisiert [4]. Es konnte gezeigt werden, daß in einem Fall von metachromatischer Leukodystrophie die Sulfatase A abwesend, der Aktivator aber noch anwesend war [10].

Ähnliche Aktivatoren scheinen auch für den Abbau der Ganglioside notwendig zu sein, z. B. für die N-Acetylhexosaminidase A, deren Mangel die infantile G_{M2} -Gangliosidose Variante B verursacht (Tabelle 1). Wir sagen N-Acetylhexosaminidase A (in Analogie zur Sulfatase A) und kommen damit zu einer weiteren Komplikation, die durch das Auftreten von Isoenzymen verursacht wird.

ISOENZYME

Unter Isoenzymen versteht man Enzyme, die zwar prinzipiell gleiche Reaktionen katalysieren, aber unterschiedliche enzymkinetische Eigenschaften haben. Sie zeigen Verschiedenheiten im molekularen Aufbau, von dem später die Rede sein soll, und können daher auch verschiedene Nettoladungen haben.

Bei der infantilen G_{M2} -Gangliosidose müßte nach dem im allgemeinen Teil Gesagten (Tabelle 1, Abb. 2) ein Enzym mutiert sein oder ausfallen, das normalerweise vom Gangliosid G_{M2} das N-Acetylgalaktosamin abspaltet. Es müßte also eine N-Acetylhexosaminidase ausfallen. Diese tritt in normalen menschlichen Organen in einer sauren Form auf, Hexosaminidase A genannt und einer basischen, Hexosaminidase B genannt. Man kann daher beide Formen durch Elektrofokussierung trennen und erhält dann gegenüber chromogenem Substrat Muster der enzymatischen Aktivitäten, wie sie in der ersten waagerechten Reihe der Abb. 4 angedeutet sind [14]. Im Normalgehirn sind demnach etwa gleiche A- und B-Aktivitäten vorhanden. Bei einer Variante O der infantilen G_{M2} -Gangliosidose fehlen sowohl das A- als auch das B-Enzym. Als Folge tritt im Gehirn eine starke Vermehrung des sonst nur in Spuren vorhandenen Gangliosids G_{M2} (= Tay-Sachs-Gangliosid) auf und seines sialsäurefreien Abkömmlings, des Asialogangliosids G_{A2} . Gleichzeitig steigt in der Niere der Globosidgehalt um ein Mehrfaches an. Die Variante B stellt den klassischen Fall der Tay-Sachs'schen Erkrankung dar, von dem die Juden osteuropäischer Abstammung befallen werden. Hier fehlt das A-Enzym. Die Speicherung von G_{A2} im Gehirn und die von Nierenglobosid ist geringer als bei der O-Variante, bei der sowohl das A- als auch das B-Enzym fehlen. Und schließlich gibt es noch als dritte Variante die AB-Variante, in der sowohl das A-Enzym als auch das B-Enzym, mit optischem Substrat vermessen, größere Aktivität als in den Kontrollen zeigen, und trotzdem die Speicherung von G_{M2} und G_{A2} zusammen im Gehirn größer ist als bei den anderen Fällen: eine paradoxe Situation.

Diesen Messungen der Enzymaktivitäten mit chromogenem Substrat und der Bestimmung der angehäuften Substanzen in autoptischem Gewebe folgte die Enzymanreicherung aus den Geweben, die Isolierung der pathologisch gespeicherten Substanzen und der Vergleich der Aktivitätsbestimmungen gegenüber dem chromogenen und den physiologischen Substraten [15]. Dabei zeigte sich, daß Hexosaminidase A- und B-Präparationen aus Kontrollen sehr ähnliche katalytische Eigenschaften sowohl gegenüber den wasserlöslichen chromogenen Substraten (Abb. 3) als auch gegenüber dem in Abb. 4

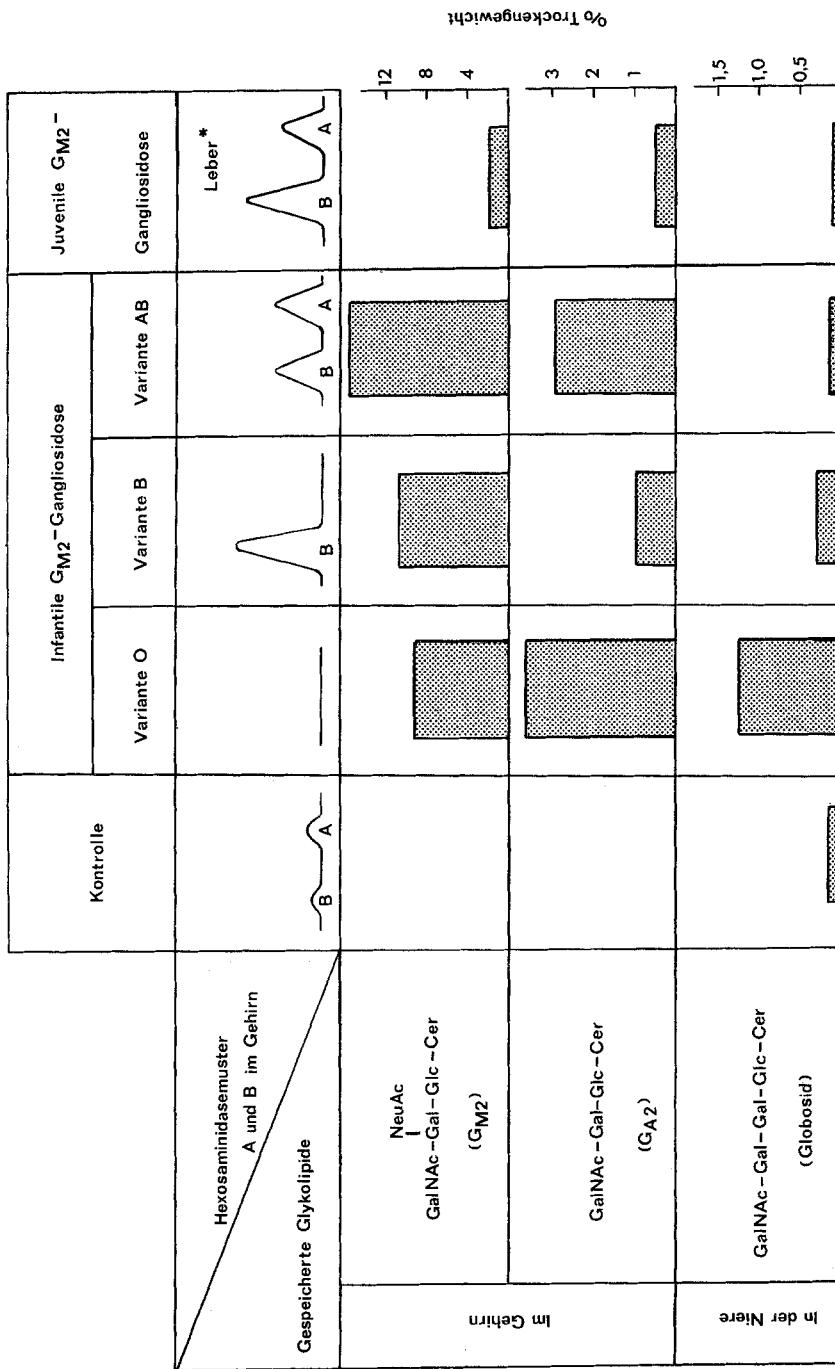


Abb. 4. Glykolipidspeicherung und Hexosaminidase-Muster bei Varianten der familiären amaurotischen Idiotie (G_{M2} -Gangliosidose). - Muster der Hexosaminidaseaktivitäten gegenüber chromogenem Substrat nach Auftrennung durch Elektrofokussierung in die Isoenzyme A und B (erste waagerechte Kolumne). Darunter: Den Aktivitätsmustern entsprechende Glykolipidmengen in % Trockengewicht. G_{M2} = Gangliosid G_{M2} (auch Tay-Sachs-Gangliosid genannt); GA_2 = Asialogangliosid G_{M2} = G_{M2} -Rest ohne NeuAc

* Der Spiegel der Hexosaminidase B ist normal, während die Aktivität der Hexosaminidase A nur 50% beträgt

dargestellten Nierenglobosid und dem Asialogangliosid G_{A2} haben. Sie unterscheiden sich aber in ihrer Spezifität gegenüber dem Gangliosid G_{M2} , das schneller vom A- als vom B-Enzym gespalten wird. Allerdings wird das Gangliosid auch vom A-Enzym nur äußerst langsam umgesetzt; diese Reaktion läßt sich durch den Zusatz eines natürlichen Aktivatorproteins etwas steigern. Untersucht man die Hexosaminidase-Fraktion aus dem AB-Fall, so findet man eine stark erniedrigte Aktivität gegenüber der Speichersubstanz G_{M2} . Man könnte annehmen, daß hier, wie eingangs besprochen, die Mutation die Bindungsstelle für das G_{M2} -Gangliosid, nicht aber die aktive Stelle betroffen hat.

Das Hexosaminidase-Muster bei einem juvenilen Fall der G_{M2} -Gangliosidose (Abb. 4) demonstriert das, was hier angesprochen wurde: Der partielle Defekt der Hexosaminidase A liegt, mit synthetischen Substraten bestimmt, bei etwa 50% der Norm, fällt aber bei Messung mit natürlichen Substraten wesentlich niedriger aus [21]. Die Restaktivität genügt immerhin, um den Tod durch Gangliosidspeicherung hinauszuschieben.

Wir hatten eingangs bei der molekularen Ursache angeborener Stoffwechselstörungen von der Ein Gen-ein Enzym-Hypothese gesprochen. Viele Enzyme einschließlich der Isoenzyme der N-Acetylhexosaminidase bestehen jedoch nicht aus einem einzigen Protein, sondern aus mehreren nicht identischen Polypeptidketten, die im Zusammenwirken die Eigenschaften des Enzyms bestimmen. Die funktionelle Einheit der DNS, die die Struktur einer einzigen Polypeptidkette bestimmt, wird Cistron genannt. Auf der Ebene Ein Cistron-eine Polypeptidkette würde daher eine Untereinheit des Enzyms defekt werden. Dafür spricht bei der Hexosaminidase, daß das A-Enzym sich in B-Enzym und eine andere enzymatisch aktive Komponente (S-Enzym) disproportionieren kann und umgekehrt wieder aus B- und S-Enzym A-Enzym entstehen kann [17, 1]. Diese, sowie andere Ergebnisse lassen vermuten, daß die Hexosaminidasen A, B und S aus den z. T. gemeinsamen Untereinheiten α und β aufgebaut sind. Die Hexosaminidase B läßt sich als Homopolymeres $(\beta\beta)_n$, das S-Enzym als Homopolymeres $(\alpha\alpha)_n$ und das A-Enzym als Heteropolymeres $(\alpha\beta)_n$ verstehen. Immunologische und genetische Befunde stützen diese Vorstellung. So präzipitieren Antikörper gegen das A-Enzym, wie erwartet, auch die Enzyme B und S. Hingegen reagieren Antikörper gegen das B-Enzym zwar mit dem A-, aber nicht mit dem S-Enzym [1, 2].

Gemäß diesen Vorstellungen dürfte der klassischen Tay-Sachs' schen Erkrankung (B-Variante) eine Störung in der α -Untereinheit der Hexosaminidasen zu Grunde liegen, die zum Ausfall der α -enthaltenden Enzyme A und S führt. Eine Mutation in der β -Untereinheit führt dann entsprechend zu einem Ausfall der β -enthaltenden Enzyme A und B bei der O-Variante. Bei beiden Varianten B und O kommt es also zu einem Hexosaminidase A-Mangel, weil jeweils eine Untereinheit α , bzw. β defekt ist. Hybridisierungsexperimente zwischen Fibroblasten der beiden Varianten O und B haben auch, wie erwartet, zum Wiederauftreten der Hexosaminidase A in den Hybridzellen geführt [20, 6]. Ungeklärt bleiben noch die Genloci der Enzyme A und B bzw. deren Untereinheiten α und β . Somatische Hybridisierungsversuche haben bisher zu einander widersprechenden Ergebnissen geführt.

DIAGNOSE UND THERAPIE

Die Bestimmung spezifischer Enzymdefekte wie z. B. in Leukozyten, kultivierten Fibroblasten bzw. Amnionzellen dient heute als einfachste Methode zur post- bzw. pränatalen Diagnose von Patienten und Überträgern. Bei Überträgern liegen die Enzymspiegel in der Regel zwischen denen von Normalen und Patienten. Die Bestimmung von Enzymspiegeln hat bestätigt, daß die meisten Lipidspeicherkrankheiten autosomal rezessiv vererbt werden. Eine Ausnahme bildet die Fabry'sche Erkrankung, die einem rezessiven x-chromosomal erbgen folgt.

Enzymmessungen zur Diagnose dieser Erkrankungen erfolgen soweit wie möglich mit synthetischen Substraten, da diese wesentlich leichter zu handhaben sind. Es bleibt aber nach wie vor fraglich, ob ein mit chromogenen Substraten bestimmter Enzymdefekt für eine eindeutige Krankheitsdiagnose ausreicht. Über Fehldiagnosen mit synthetischen Substraten wurde von verschiedenen Seiten berichtet. Daher erscheint es notwendig, in Zukunft für die diagnostischen Enzymbestimmungen Tests mit natürlichen Lipidsubstraten zu entwickeln. Dies erscheint umso dringender, da bis heute keine spezifische Therapie für die Lipidspeicherkrankheiten zur Verfügung steht. Pränatale Diagnose und genetische Beratung bilden bis heute die einzigen Möglichkeiten, um ein weiteres Auftreten dieser Krankheiten in belasteten Familien zu verhindern.

Therapeutische Versuche mit Hilfe von Enzymsubstitution und Organtransplantation haben zu wenig befriedigenden Ergebnissen geführt. Einerseits werden die durch Infusion oder Organtransplantation applizierten Enzyme vom kranken Organismus zu schnell inaktiviert, andererseits können die applizierten Enzyme nur schwer oder gar nicht die Bluthirnschranke überwinden, um die im Nervengewebe akkumulierten Lipide abzubauen.

LITERATUR

1. Beutler, E., Kuhl, W.: Subunit structure of human hexosaminidase verified: interconvertibility of hexosaminidase isoenzymes. *Nature* 258, 262-264 (1975)
2. Beutler, E., Kuhl, W., Comings, D.: Hexosaminidase isoenzyme in Type O GM_2 -Gangliosidosis (Sandhoff-Jatzkewitz Disease). *Am. J. Human Genet.* 27, 628-638 (1975)
3. Callahan, J. W., Khalil, M., Gerrie, J.: Isoenzymes of sphingomyelinase and the genetic defect in Niemann-Pick disease, Type C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 58, 384-390 (1974)
4. Fischer, G., Jatzkewitz, H.: The activator of cerebroside sulphatase. Purification from human liver and identification as a protein. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 356, 605-613 (1975)
5. Fredrickson, D. S., Sloan, H. R.: Sphingomyelin lipidoses: Niemann-Pick disease. In: *The metabolic basis of inherited disease* (Eds. Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S.), 3. Aufl. Mc Graw-Hill, New York, 783-807 (1972)
6. Galjaard, H., Hoogeveen, A., de Wit-Verbeek, H. A., Reuser, A. J. J., Keijzer, W., Westerveld, A., Bootsma, D.: Tay-Sachs and Sandhoff's disease: Intergenic complementation after somatic cell hybridization. *Exptl. Cell Res.* 87, 444-448 (1974)

7. Hers, H. G. : Inborn lysosomal diseases. *Gastroenterology* 48, 625-633 (1965)
8. Jatzkewitz, H. : Zerebrale Sphingolipidosen als angeborene Stoffwechselstörungen. *Dtsch. med. Wschr.* 95, 131-139 (1970)
9. Jatzkewitz, H., Mehl, E. : Cerebroside-sulphatase and aryl-sulphatase A deficiency in metachromatic leukodystrophy (ML). *J. Neurochem.* 16, 19-28 (1969)
10. Jatzkewitz, H., Stinshoff, K. : An activator of cerebroside sulphatase in human normal liver and in cases of congenital metachromatic leukodystrophy. *FEBS Letters* 32, 129-131 (1973)
11. Porter, M. T., Fluharty, A. L., Trammell, J., Kihara, H. : A correlation of intracellular cerebroside sulfatase activity in fibroblasts with latency in metachromatic leukodystrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 44, 660-666 (1971)
12. Pilz, H. : Late adult metachromatic leukodystrophy: aryl-sulphatase A activity of leukocytes in two families. *Arch. Neurol.* 27, 87-90 (1972)
13. Pilz, H., Hopf, H. C. : A preclinical case of late adult metachromatic leukodystrophy?; manifestation only with lipid abnormalities in urine, enzyme deficiency, and decrease of nerve conduction velocity. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 35, 360-364 (1972)
14. Sandhoff, K., Harzer, K., Wässle, W., Jatzkewitz, H. : Enzyme alterations and lipid storage in three variants of Tay-Sachs disease. *J. Neurochem.* 18, 2469-2489 (1971)
15. Sandhoff, K., Wässle, W. : Anreicherung und Charakterisierung zweier Formen der menschlichen N-Acetyl- β -D-hexosaminidase. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 352, 1119-1133 (1971)
16. Sandhoff, K., Jatzkewitz, H. : The chemical pathology of Tay-Sachs disease. In: *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. (Eds. Volk, B. W., Aronson, S. M.), Plenum Publishing Co., New York, 305-320 (1972)
17. Sandhoff, K. : Multiple human hexosaminidases. *Birth Defects (Original Article Series, No. IX)* 214-222 (1973)
18. Sandhoff, K. : Sphingolipidoses. *J. clin. Path.* 27, Suppl. (Roy. Coll. Path.), 8, 94-105 (1974)
19. Sloan, H. R., Fredrickson, D. S. : G_{M2} -Gangliosidoses: Tay-Sachs disease. In: *The metabolic basis of inherited disease* (Eds. Stanbury, J. B.; Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S.), 3. Aufl., McGraw-Hill, New York, 615-638 (1972)
20. Thomas, G. H., Taylor, H. A. Jr., Miller, C. S., Axelmann, J., Migeon, B. R. : Genetic complementation after fusion of Tay-Sachs and Sandhoff cells. *Nature* 250, 580-582 (1974)
21. Zerfowski, J., Sandhoff, K. : Juvenile G_{M2} -Gangliosidose mit veränderter Substratspezifität der Hexosaminidase A. *Acta neuropath.* (Berl.) 27, 225-232 (1974)