

## **Licht- und Elektronenmikroskopische Leberbefunde beim Cerebro-Hepato-Renalen Syndrom nach Zellweger (Peroxisomen-Defizienz)**

U. Pfeifer und K. Sandhage

Pathologisches Institut (Direktor: Professor Dr. H.-W. Altmann) und Kinderklinik (Direktor: Professor Dr. J. Ströder) der Universität, Luitpoldkrankenhaus, D-8700 Würzburg, Bundesrepublik Deutschland

### **Light and Electron Microscopic Liver Changes in the Cerebro-Hepato-Renal Syndrome of Zellweger (Peroxisome Deficiency)**

**Summary.** For histologic differential diagnosis of fibrotic and cirrhotic liver changes in early infancy Zellweger's cerebro-hepato-renal syndrome has to be considered. A case is reported where a female newborn failed to thrive and developed severe muscular hypotonia, defective intelligence, and seizures. At an age of 12 months an open biopsy was taken from the enlarged liver. Biochemical tests for disorders of carbohydrate metabolism were negative. The light microscopic examination showed severe fibrosis, lobular disarray, and single cell necroses. Neither siderin nor bile pigment could be detected. There were no changes of the small bile ducts and no signs of inflammation – the child died at 18 months. A postmortem needle biopsy of the liver showed the advanced stage of micronodular cirrhosis.

The electron microscopic examination of the first biopsy revealed hypertrophy of smooth endoplasmic reticulum, probably induced by anticonvulsive drugs. The mitochondria showed an increase in the density of their matrix and in the number of sometimes tubular cristae. In accordance with reports in literature, no regular peroxisomes (microbodies) could be found in the hepatocytes. Only a very few profiles with an average diameter of 0.16  $\mu\text{m}$  looked like rather small peroxisomes. The cytoplasmic volume fraction of those organelles, however, amounted to  $3 \times 10^{-5}$  which is only  $1/500$  of the normal value in human hepatocytes.

Although the significance of the absence of peroxisomes is not yet definitively proved, the term 'Peroxisome Deficiency' is proposed as a name which probably is more closely related to the pathogenetic mechanism than the hitherto usual designation cerebro-hepato-renal syndrome.

**Key words:** Cerebro-hepato-renal syndrome – Zellweger's syndrome – Peroxisome deficiency – Liver cirrhosis – Liver biopsy – Electron microscopy.

## Einleitung

Bei zusammenfassenden Darstellungen der Pathologie von Lebererkrankungen ist das cerebro-hepato-renale Syndrom (Zellweger-Syndrom) bisher noch nicht berücksichtigt worden. Zwar manifestiert sich die Erkrankung, wie schon der Name besagt, keineswegs nur an der Leber. Wegen der nicht selten auftretenden Hepatomegalie kann aber die diagnostische Aufmerksamkeit früh auf dieses Organ gelenkt werden. Soweit aus bisherigen Berichten hervorgeht (Passarge und McAdams, 1967; Danks et al., 1975; Gilchrist et al., 1976), erlauben oft bereits die lichtmikroskopisch erkennbaren Veränderungen des Lebergewebes, das cerebro-hepato-renale Syndrom differentialdiagnostisch in Erwägung zu ziehen. Für die morphologische Diagnostik von besonderem Interesse ist eine erstmals von Goldfischer et al. (1973) beschriebene Veränderung des Leberzellprotoplasmas, die allerdings nur elektronenmikroskopisch faßbar ist, nämlich das Fehlen der Peroxisomen (=microbodies).

Da dieser Befund inzwischen bisher nur einmal, bei einem „atypischen“ Zellweger-Syndrom, bestätigt worden ist (Versmold et al., 1977), kann seine diagnostische Bedeutung noch nicht als endgültig erwiesen gelten. Ebenso ist offen, welche Rolle das Fehlen der Peroxisomen in der Pathogenese der Erkrankung spielt. Im folgenden soll deshalb über einen Fall berichtet werden, bei dem der elektronenmikroskopisch gefundene Peroxisomenmangel in der Leberbiopsie eine diagnostische Zuordnung zum cerebro-hepato-renalen Syndrom gestattet hatte.

## Fallbericht

*Familienanamnese.* Vorgeschichte seitens der Eltern (Vater 48 Jahre, Mutter 36 Jahre) und Großeltern unauffällig. Das 1. männliche Kind der Familie verstarb im Alter von 9 Monaten an einem schweren Ikterus mit hämolytischer Komponente (?), aber ungeklärter Genese. 4 weitere Geschwister – jetzt 16, 15, 11 und 9 Jahre alt – sind gesund.

*Schwangerschaftsverlauf.* Die Mutter habe im 4. Monat Wehen gehabt und sei überdies wegen einer Anämie mit Eisenpräparaten behandelt worden.

*Eigenanamnese.* Die Geburt des weiblichen Kindes erfolgte 4 Wochen vor dem errechneten Termin wegen vorzeitigen Blasensprungs. Geburtsgewicht 2380 g, Körperlänge 57 cm. Unmittelbar post partum mehrwöchige Inkubatoraufzucht des dystrophen Kindes. – Bereits zu diesem Zeitpunkt Einleitung krankengymnastischer Übungsbehandlungen wegen auffälliger Muskelhypotonie und geringer Agilität. Auch in der Folgezeit deutliche Hinweise cerebraler Bewegungsstörung mit: Muskelhypotonie, fehlender Kopfkontrolle, schwachen Muskeleigenreflexen sowie Apathie und Bewegungsarmut.

Erst ab 7. bis 8. Lebenswoche vermehrte Spontanaktivität, jedoch in Form pathologischer Bewegungsmuster mit einschließenden Streckphasen und Nystagmus. Weiterhin schlechtes Gedeihen. Im 3. bis 4. Monat Beginn sozialen Verhaltens mit Lächeln und Lallen, jedoch kein Fixieren oder Verfolgen mit den Augen. Nystagmus. Auffallend ausdruckslose Mimik. Relativ große Zunge. Grau-blasser Hautfarbe. Allgemein schlaffer Muskeltonus, jedoch jetzt mit Hypertonie der unteren Extremitäten. Häufiges und schrilles, unbeeinflussbares Schreien. – Zu diesem Zeitpunkt Erstdnachweis einer Lebervergrößerung mit pathologischem Ausfall der Leberwerte und zusätzlicher Hyperaminoazidurie. Im 6. bis 7. Lebensmonat erstes Auftreten cerebraler Krampfanfälle (ca. 3mal/die) mit Zuckungen der Extremitäten, Abspreizen der Finger, Augenverdrehung und Schreien, jedoch nur von kurzer Dauer. Nach wie vor bestanden eine ausgeprägte Bewegungsarmut sowie schwere neurologische Störungen. Da die klinischen und laborchemischen Untersuchungen den Verdacht auf eine Speicherkrankheit ergaben, erfolgte stationäre Einweisung.

*Aufnahmebefund.* Stationäre Aufnahme des dystrophen weiblichen Säuglings im Alter von 9 Monaten. Dünne, schütterte, mittelblonde Haare. Längliche Kopfform. Dysplastische Ohrmuscheln. Plump geformte Nase. Große Zunge. Fahlgraue bis gelbliche Hautfarbe. Intensiver und eigenartiger Körpergeruch. Wenig subcutanes Fettgewebe. Kleiner Nabelbruch. Extreme Muskelhypotonie und Bewegungsarmut. Athetotische Finger- und Zehenbewegungen sowie auffällige Kau- und Zungenbewegungen. Extremer statomotorischer Entwicklungsrückstand (einem 2 Monate alten Kind entsprechend). Schwerer Intelligenzdefekt und schwere neurologische Störungen: kaum Spontanbewegungen, fehlende Sehnenreflexe, kaum Saugreflex, keine Kopfkontrolle, kein Abstützen, Greifen oder aktives Drehen, kein Interesse, kein Lachen, keine Zuwendung oder Blickverfolgung.

Bei der internistischen Untersuchung war die derbe Leber um Handbreite vergrößert, die Milz eben am linken Rippenbogen tastbar. An den übrigen Organen sonst kein auffälliger Befund.

*Laborwerte.* Bei Aufnahme waren rotes und weißes Blutbild (Hb, Erythrocyten, Färbeindex, HbE, Hämatokrit, Leukocyten, Differentialblutbild, Reticulocyten und Thrombocyten) unauffällig. Auch andere Laborwerte: Blutzucker-Tagesprofil, Gesamt-Eiweiß, Elektrolyte, Harnstoff N, Kreatinin und Harnsäure lagen im Normbereich, Bilirubin jeweils im oberen Normbereich.

Die Serum-Enzyme waren mit Werten von 85–143 U/l für die SGPT, mit 103–203 U/l für die SGOT und mit 125 U/l für die Aldolase deutlich erhöht, während alkalische Phosphatase mit 826 U/l und Gamma GT mit 25 U/l mäßig erhöht waren. Auffällige Erhöhung auch des Transferins auf 487 mg/ml. Erhebliche Störung des Gerinnungsstatus mit deutlicher Verminderung sämtlicher lebensabhängiger Faktoren (Protrombin, Faktor VII, Faktor IX und Stuart-Prower-Faktor). Deutliche Erhöhung sämtlicher Immunglobuline, besonders der IgA-Globuline.

Im Urin inkonstanter Nachweis von Eiweiß. Sonst Harnbefund chemisch und mikroskopisch o.B. Elektrolytexkretion regelrecht. Stuhluntersuchungen sämtlich unauffällig.

Serologische Untersuchungen auf Toxoplasmose und Lues sowie virologische Untersuchungen auf Cytomegalie, Hepatitis, Herpes, Varicellen- und Enteroviren negativ.

Sämtliche Stoffwechseluntersuchungen und Tests zum Ausschluß bekannter Stoffwechselstörungen auf häufige und seltene Stoffwechselerkrankungen (Cystinuria-, Mucopolysaccharid- und Methylmalonattest, Alpha-1-Antitrypsin, Alpha-1-Foetoprotein, Arylsulphatase, erweiterter Guthrie-Test sowie Leukocyten- und Erythrocytenenzyme) waren entweder normal oder ergaben ein negatives Ergebnis.

Auch die halbquantitative dünnschichtchromatische Aminosäurenbestimmung im Serum sowie die quantitative Fraktionierung sämtlicher Aminosäuren im Serum ergab keine Besonderheiten.

Haarstatus unauffällig. Im Knochenmarkspunktat kein Hinweis auf Speicherung oder malignen Prozeß, lediglich etwas auffällige Lymphocytose mit leicht atypischen Formen und Vacuolisierung.

Die Röntgenaufnahmen des Thorax, des Schädels und des uropoetischen Systems waren insgesamt unauffällig. Im Handwurzelskelett Asymmetrie und retardierte Knochenkernentwicklung. Die Röntgenaufnahmen der unteren Extremitäten zeigten neben einer ausgeprägten Osteoporose fleckförmige Veränderungen der Epiphysen, unscharfe Strukturierungen im Bereich der Metaphysenendplatten mit deutlichen Periostreaktionen sowie Wachstumsstillstandslinien.

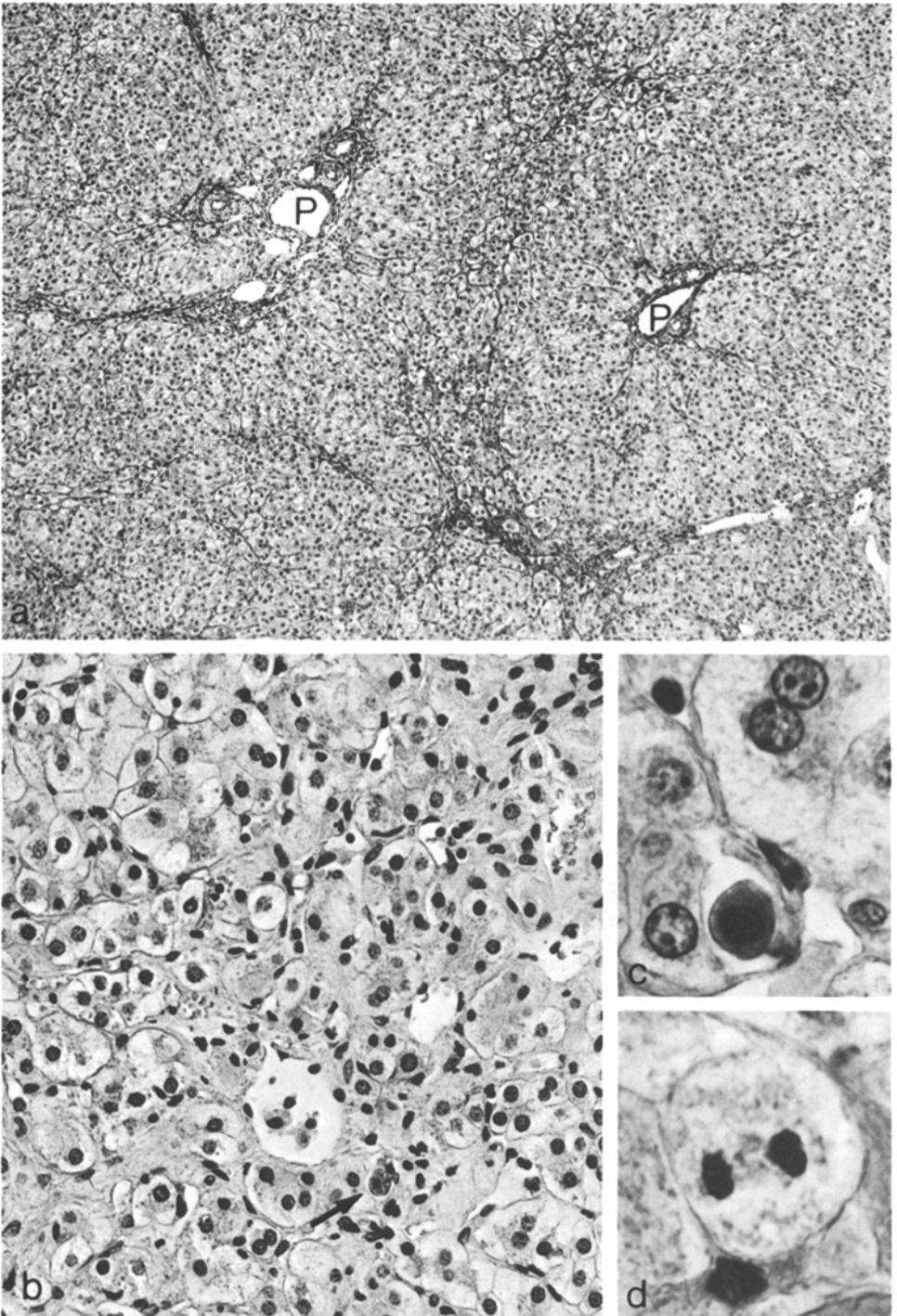
EKG und Phonokardiogramm insgesamt unauffällig. Elektromyographie und elektrische Nervenleitgeschwindigkeit ohne Hinweis auf Störung der peripheren Nerven.

Im EEG hypersynchrone Aktivität in Form kontinuierlicher relativ spitzenarmer Hypsarrhythmie.

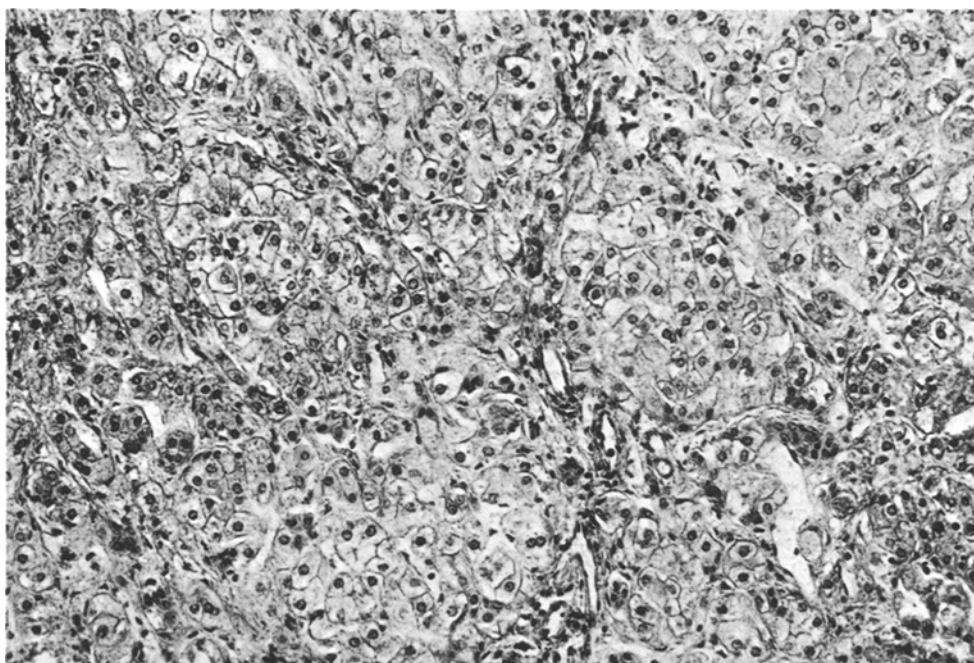
Da alle bisherigen Untersuchungen zu keiner Diagnose geführt hatten, wurde im Alter von 12 Monaten eine *offene Leberbiopsie* durchgeführt. Makroskopisch zeigte sich die Leber stark vergrößert, fleischfarben und blaßgrau mit einzelnen eingezogenen weißlichen Arealen und diffuser Fibrosierung bei der Keilexcision.

*Verlauf.* Unter symptomatischer Therapie, diätetischen Maßnahmen, krankengymnastischer Übungsbehandlung und antikonvulsiver Therapie (Phenobarbital, Clonazepam) keine Änderung des klinischen Zustandsbildes. Das Kind verfiel zusehends, die Krampfbereitschaft nahm zu. Auffallende Größenzunahme der derben Leber, Blutungsneigung. Anstieg der Serumenzyme auf: SGOT 827 U/l, SGPT 425/l und Gamma-GT 51 U/l.

Das Kind lag in den letzten Wochen nur noch extrem apathisch im Bett, mußte mit Dauersonde ernährt und mit Infusionen behandelt werden und entwickelte – wahrscheinlich aufgrund



**Abb. 1a-d.** Lichtmikroskopische Befunde in der Leberkeilexcision. **a** Im Übersichtsbild zwei mäßig fibrosierte Periportalfelder (P) mit verzweigten Ausläufern. Dazwischen zentrale Fibrosezonen zu straßenähnlicher Formation verbunden. Stellenweise beginnende Ausgliederung inselförmiger Parenchymbezirke. Färbung nach Ladewig,  $70\times$ . **b** Unregelmäßig angeordnete und unterschiedlich große Hepatocyten, teilweise mit wenig anfärbbarem Cytoplasma. Einzelzellnekrose (Pfeil) und mäßige Vermehrung der Sternzellen. HE,  $310\times$ . **c** Koagulationsnekrose partiell umgeben von einer Sternzelle. Ladewig,  $1000\times$ . **d** Reparativer Kernteilungsfigur (Telophase). Ladewig,  $1400\times$



**Abb. 2.** Postmortale Leberbiopsie. Die Bindegewebsvermehrung ist zum kleinherdigen cirrhotischen Umbau fortgeschritten. HE, 176 ×

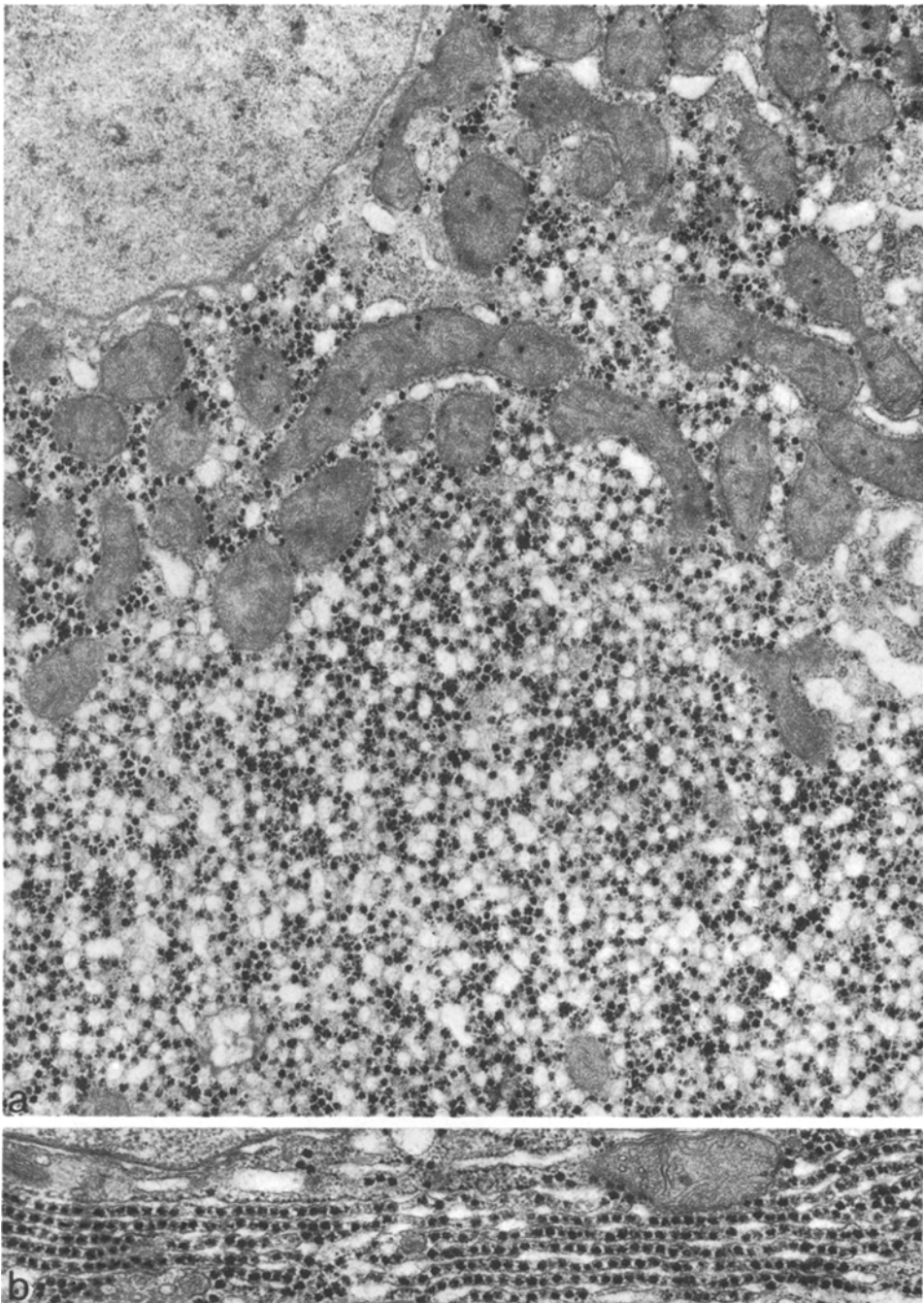
einer pulmonalen Komplikation – unbeeinflussbares Fieber und Cyanose und verstarb schließlich im Alter von 18 Monaten. Eine Obduktion konnte nicht durchgeführt werden, es wurde lediglich eine postmortale Biopsie aus der Leber entnommen.

### **Leberbiopsie**

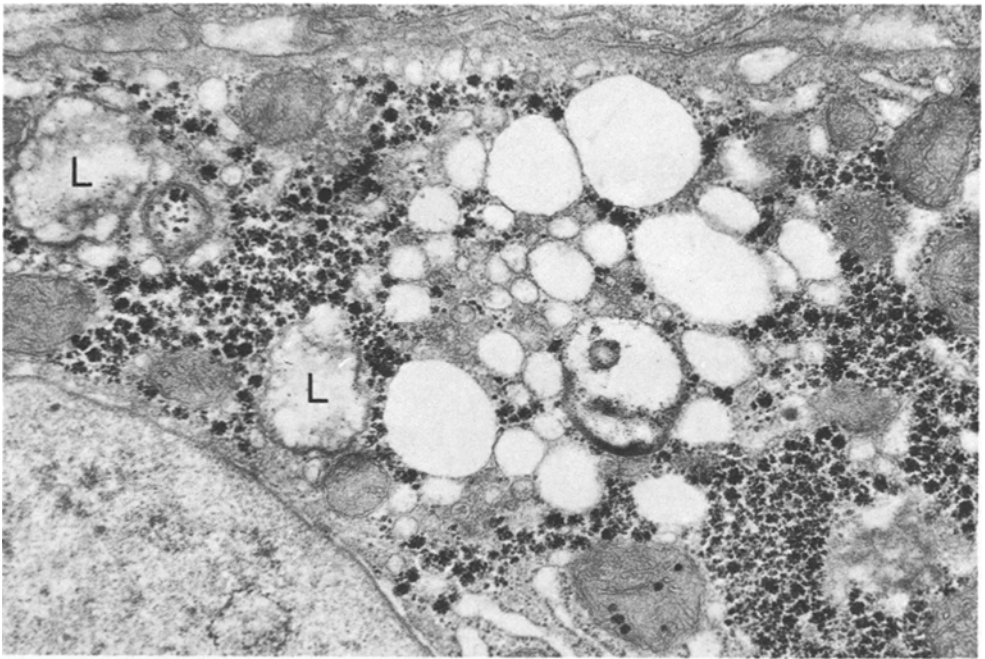
*Gewebsverarbeitung.* Ein Teil der Leberkeilexcision wurde unmittelbar nach der Entnahme in kleine Würfel von etwa 1 mm Kantenlänge zerschnitten und in Osmium-Tetroxid (1,5% in Phosphatpuffer, pH 7,2) für 2 h fixiert. Nach Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe (70, 90, 100%) erfolgte die Einbettung über Propylenoxyd in Epon. Semidünnschnitte wurden in verdünnter Giemsa-Lösung gefärbt; Nachkontrastierung der Dünnschnitte mit Bleicitrat.

Der größere Teil des Excisates und die postmortal entnommene Leberbiopsie wurden in 4%igem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet.

*Lichtmikroskopie.* In den Paraffinschnitten der Probeexcision (Abb. 1) imponiert eine beträchtliche Fibrose, die nur teilweise von den Periportalfeldern ihren Ausgang nimmt. Auffälliger ist eine Fibrosierung des zentralen Gitterfaserwerkes, manchmal bereits mit beginnender Sklerosierung. Durch straßenähnliche Verbindungen solcher Faserformationen kann das Bild der sogenannten Läppchenum-



**Abb. 3a und b.** Veränderungen am glatten endoplasmatischen Reticulum (ER). **a** Stark vermehrtes vesiculär angeordnetes glattes ER mit dazwischen gelagerten Glycogenpartikeln (untere Bildhälfte). Zahlreiche, etwas verdichtete Mitochondrien (obere Bildhälfte) und Zellkern (oben links). 16500  $\times$ . **b** Parallel verlaufende Cisternen des glatten ER, gleichmäßig dazwischen liegende Glycogenpartikel. Derartige Formationen kommen oft auch in konzentrischer Anordnung vor. 24600  $\times$



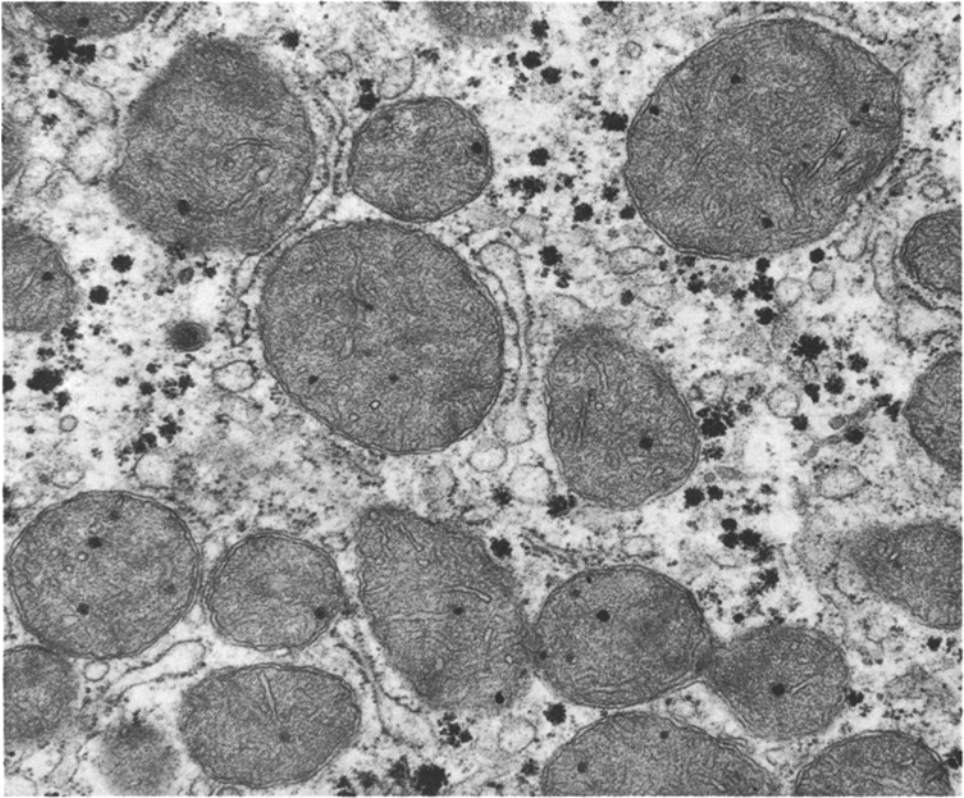
**Abb. 4.** Stark erweiterte „hydropische“ Vesikel als Zeichen einer umschriebenen Cytoplasmaschädigung. Daneben vereinzelte, lichtmikroskopisch nicht faßbare Lipidtropfen (L). 25200 ×

kehr entstehen. An einigen Stellen wird aber auch eine Verbindung zwischen zentralen und portalen Faserzügen angedeutet, also ein beginnender cirrhotischer Umbau. – Nennenswerte entzündliche Infiltrate kommen in den Periportalfeldern nicht vor. Die Leberzellen sind praktisch nirgendwo mehr regelhaft in Form von Zellplatten angeordnet (Abb. 1 b). Oft bilden sie mehrreihige, manchmal auch pseudotubuläre Komplexe. Die Größe der Leberzellen schwankt erheblich. Viele zeigen ein aufgetriebenes und nur wenig anfärbares Cytoplasma; andere sind klein und mäßig basophil. Einzelzellnekrosen (Abb. 1 b, c) kommen immer wieder vor, sind aber nicht an eine bestimmte Läppchenregion gebunden. Daneben sind auch einzelne reparative Mitosen vorhanden (Abb. 1 d). Die mesenchymalen Zellen des Parenchyms sind mäßig vermehrt und manchmal auch in kleinen Gruppen angeordnet. Gallepigment ist nicht erkennbar; auch läßt sich kein Eisenpigment nachweisen. Die kleinen Gallengänge sind regelhaft entwickelt. In den Bindegewebsfeldern sind keine nennenswerten entzündlichen Infiltrate vorhanden.

Im postmortalen Leberpunktat ist die Fibrosierung weiter fortgeschritten, an vielen Stellen bis zum kompletten, sehr kleinherdigen cirrhotischen Umbau (Abb. 2). Nur sehr selten sind kleine Regeneratknoten vorhanden.

*Elektronenmikroskopie.* Im Protoplasma der Leberepithelien sind in vielen Fällen sehr große Areale mit glattem ER vorhanden, welches überwiegend vesiculär angeordnet ist. Dazwischen liegen immer Glykogenpartikel (Abb. 3 a). Der Befund entspricht einer Hypertrophie des glatten ER, wie es in menschlichen



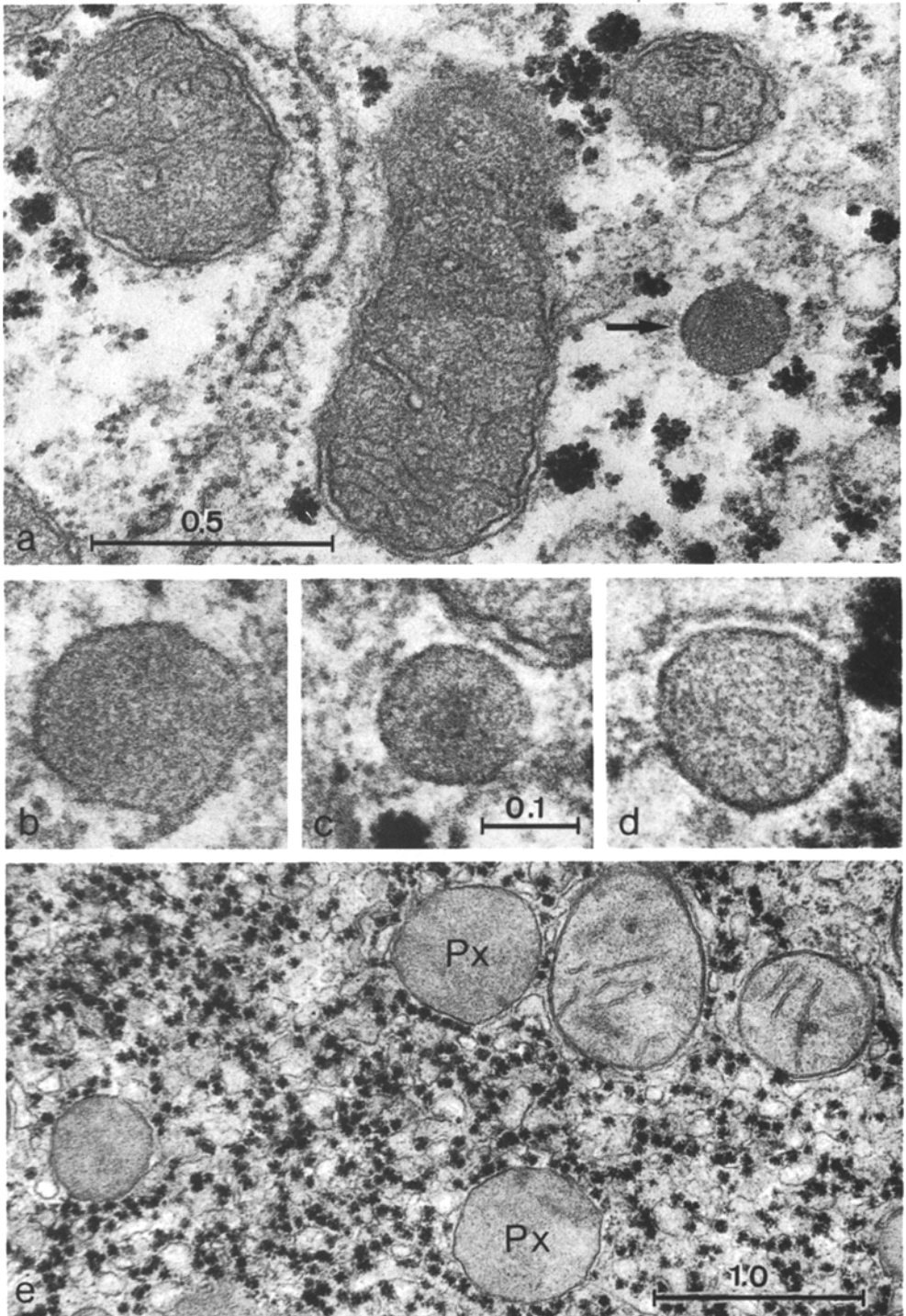


**Abb. 5.** Mitochondrien unterschiedlicher Größe mit verdichteter Matrix und relativ zellreichen, teilweise tubulär geformten Cristae (siehe auch Mitochondrien in Abb. 6e). 30000 ×

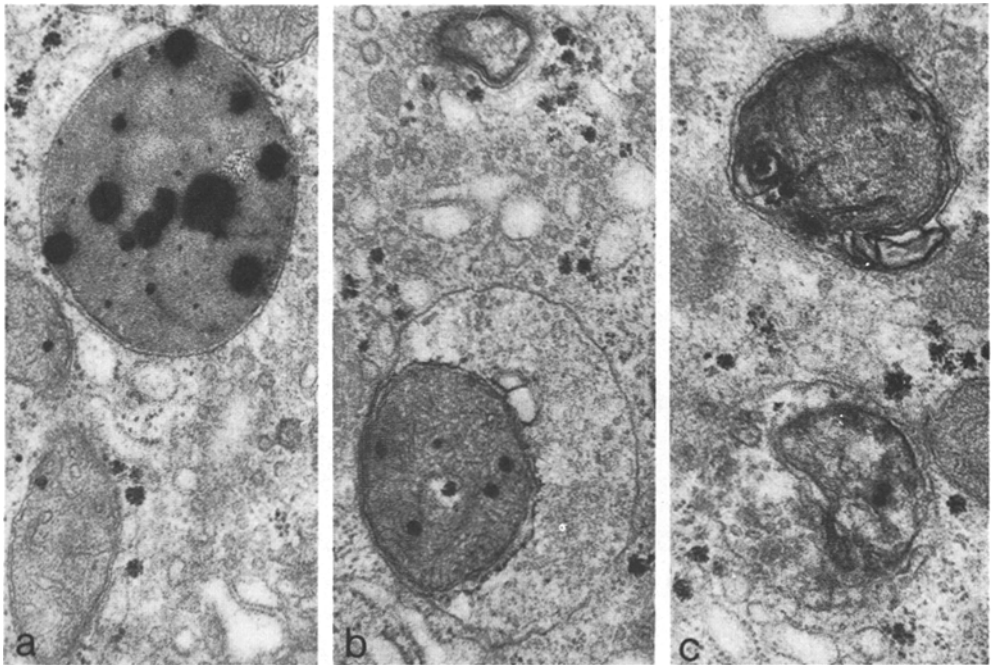
Leberpunktaten bei medikamentöser Induktion bekannt ist (Altmann und Klinge, 1972); auch im vorliegenden Fall läßt er sich durch die über lange Zeit durchgeführte antikonvulsive Therapie erklären. Die genannten Areale dürften für das lichtmikroskopische Bild der Zellschwellung (Abb. 1) mitverantwortlich sein. Gelegentlich sind parallel verlaufende glatte Membranen mit dazwischen gelagerten Glykogenpartikeln zu sehen (Abb. 3b), die, wie auch bei Versmold et al. (1977) abgebildet, konzentrisch angeordnet sein können. Derartige Formationen sind bei vielen anderen Schädigungen in Leberzellen bekannt und daher als uncharakteristisch zu bezeichnen. Umschriebene Bereiche mit manchmal stark erweiterten glatten Vesikeln (Abb. 4) legen den Verdacht einer lokalen Cytoplasmaschädigung nahe (vgl. Pfeifer und Aterman, 1979). Lipidtropfen (Abb. 4) sind im Cytoplasma nur sehr selten zu sehen.

Meist räumlich getrennt vom glatten ER findet man Areale mit normal strukturiertem rauhem ER und mit Mitochondrien (Abb. 5, 6a). Manche Abschnitte sind ausgesprochen mitochondrienreich. Die Matrix der Mitochondrien erscheint gegenüber dem sonst nach Osmium-Fixation üblichen Bild verdichtet (vgl. Abb. 5 mit Abb. 6e). Die Cristae sind vermehrt, wobei tubuläre Crista-Profile vergleichsweise häufig vorkommen (Abb. 5).



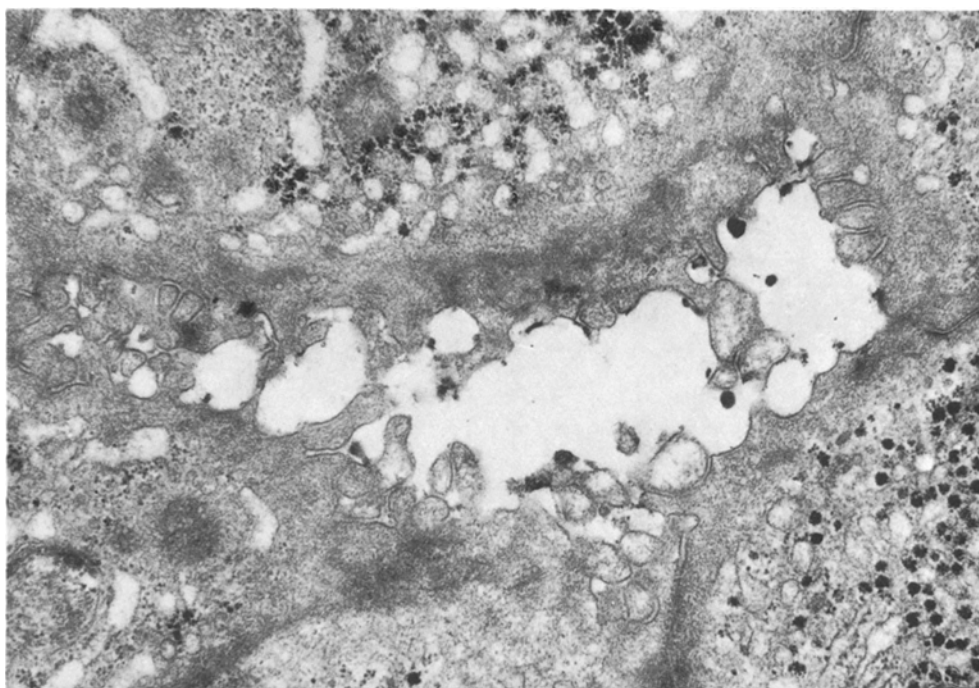


**Abb. 6a-e.** Peroxisomen(?) -Profile. **a** Neben Mitochondrien mit den in Abb. 5 beschriebenen Veränderungen kleines, von einfacher Membran umgebenes Organellenprofil (*Pfeil*) mit feinflockiger Matrix.  $70000\times$ . **b-d** Weitere peroxisomenverdächtige Profile bei stärkerer Vergrößerung.  $140000\times$ . **e** Normale Peroxisomen (*Px*) im Hepatocyten eines lebergesunden, 8 Wochen alten Kindes.  $30000\times$



**Abb. 7a-c.** Hepatocelluläre Lysosomen und autophage Vacuolen. **a** Vergrößertes Lysosom mit unterschiedlich dichter Matrix und osmiophilen Einschlüssen. 38000 $\times$  **b** und **c** Autophage Vacuolen mit segregierten Mitochondrien, in **7c** oben bereits im Abbau begriffen, und Anteilen des ER in **7c** unten. 34000 $\times$

Peroxisomen (microbodies) wurden zunächst nicht gefunden. Bei der vergleichenden Untersuchung eines Leberpunktates von einem 6 Monate alten, lebergesunden Kind waren sie ohne weiteres zu erkennen (Abb. 6e). Nach Vermold et al. (1977) sind auch bei kindlichen Cirrhosen anderer Ätiologie die Peroxisomen stets leicht zu identifizieren. Die systematische Untersuchung des Lebergewebes in mehreren Blöcken ergab dann aber, daß ganz vereinzelt sehr kleine rundliche Organellenprofile vorhanden sind, die von einer einfachen Membran umgeben werden und eine ziemlich homogene, mäßig elektronendichte Matrix aufweisen (Abb. 6a-d). Ihr Durchmesser betrug im Mittel 0,16  $\mu\text{m}$ . Peroxisomen normaler menschlicher Leberzellen haben demgegenüber einen mittleren Profildurchmesser von 0,58–0,64  $\mu\text{m}$  (Sternlieb und Quintana, 1977). Um den Volumenanteil dieser Organellenprofile im Cytoplasma abzuschätzen, wurden große Cytoplasmaflächen (insgesamt 45000  $\mu\text{m}^2$  von 3 Gewebsblöcken) systematisch abgesucht. Insgesamt 65 dieser Profile wurden bei 20000facher Vergrößerung mit der Kleinbildkamera aufgenommen und in einer Projektionseinrichtung der Firma Kontron mit Hilfe des Punktzählverfahrens vermessen. Der Quotient aus Gesamtprofilfläche und Gesamtcytoplasmafläche ergab den Volumenanteil von  $3,11 \text{ (s.e.m. } 0,53) \times 10^{-5}$ , d.h. etwa 0,003%. Im Cytoplasma normaler



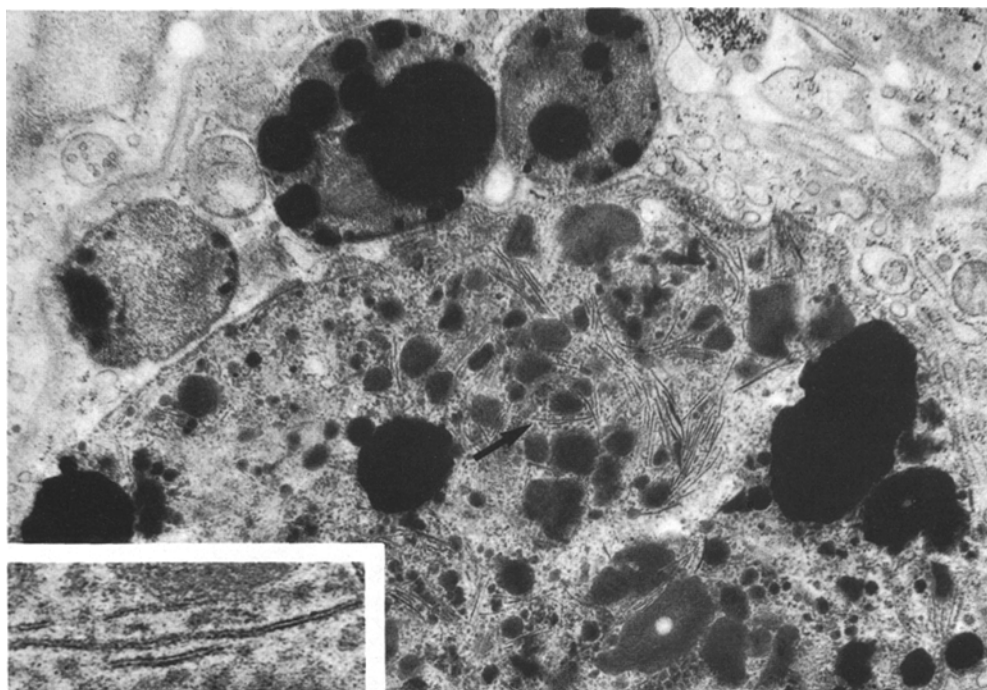
**Abb. 8.** Dilatierte Gallencapillare mit relativer Reduktion der Mikrovilli und osmiophilen Partikeln im Lumen. 24000  $\times$

menschlicher Leberzellen liegt der Volumenanteil der Peroxisomen bei 1,3% (Rohr et al., 1976).

Die Lysosomen sind hauptsächlich in der peribiliären Zone angeordnet. Sie sind nicht selten deutlich vergrößert (Durchmesser bis 1,5  $\mu\text{m}$ ) und enthalten neben homogener Matrix auch tropfiges elektronendichtes Material (Abb. 7a). Autophagische Vacuolen mit noch identifizierbarem Cytoplasmamaterial sind vergleichsweise häufig zu finden (Abb. 7b, c).

Die Gallencapillaren sind gelegentlich regelhaft strukturiert, oft aber deutlich erweitert, wobei die Mikrovilli reduziert erscheinen (Abb. 8). Die Abdichtung gegen den übrigen Interzellularspalt ist intakt. Im Lumen der Capillaren sind häufig kleine osmiophile Ablagerungen vorhanden. Naturgemäß selten ist der Übergang zwischen einer Gallencapillare und einem Ductulus getroffen; auffällige Veränderungen sind hier nicht zu erkennen.

Unter den mesenchymalen Zellen findet man des öfteren aktivierte Makrophagen mit großen lysosomalen Vacuolen, in denen unterschiedlich dichtes, manchmal stark osmiophiles, tropfig oder membranartig gespeichertes Material enthalten ist (Abb. 9). Daneben kommen gelegentlich Fibroblasten mit weiten Zisternen des rauen ER vor. An den Fettspeicherzellen (Ito-Zellen) sind keine Veränderungen nachweisbar.



**Abb. 9.** Lysosomale Einschlüsse in einer Kupfer-Zelle. Heterogener Inhalt mit tropfigen Anteilen unterschiedlicher Dichte und eigenartigen doppeltkonturierten membranartigen Profilen (*Pfeil*, und *Inset*). 19 500  $\times$  ; Inset 120 000  $\times$

## Diskussion

Das von Bowen et al. (1964) erstmals beschriebene cerebro-hepato-renale Syndrom ist eine angeborene, meist binnen weniger Monate tödliche Erkrankung, die sich in einem schweren, durch Störung der neuronalen Migration bedingten Hirnschaden (Volpe und McAdams, 1972; Agamanolis et al., 1976; Evrard et al., 1978), einer oft bis zur Cirrhose fortschreitenden Leberschädigung und in einer mit multiplen Cysten einhergehenden Fehlbildung des Nierenparenchyms äußert (z.B. Passarge und McAdams, 1967; Opitz et al., 1969; Danks et al., 1975; Gilchrist et al., 1976).

Bei dem hier beschriebenen Krankheitsfall waren zwar einige der sonst als charakteristisch geltenden Veränderungen des Schädelskeletts, wie hohe Stirn, weite Fontanellen und abgeflachte Supraorbitalbögen, nicht vorhanden. Äußerlich waren lediglich dysplastische Ohrmuscheln und eine plumpe Nase aufgefallen. Die röntgenologisch nachgewiesenen Skelettveränderungen, insbesondere die fleckförmigen Verdichtungen in den Epiphysen, sind aber mit einem Zellweger-Syndrom ebenso vereinbar wie die klinisch ganz im Vordergrund stehende muskuläre Hypotonie, für die keine andere Ursache – nach Ausweis der Leberbiopsie vor allem keine Glycogenose Typ II – ausfindig zu machen war. Charakteristisch für das Zellweger-Syndrom sind weiterhin die hochgradige Gedeihstö-

rung, der schwere Intelligenzdefekt und die seit dem 6. Lebensmonat aufgetretenen Krampfanfälle. Die Frage einer Nierenveränderung muß trotz des normalen Ausscheidungsurograms offenbleiben, da eine autopsische Klärung nicht möglich war.

Die Leberschädigung, soweit lichtmikroskopisch faßbar, wird beim Zellweger-Syndrom erst postpartal manifest und verläuft dann progredient. Bis zu einem Alter von 9 Wochen kann das Lebergewebe histologisch unauffällig sein (Passarge und McAdams, 1967; Opitz et al., 1969; Danks et al., 1975). Eine leichte Fibrose wurde allerdings schon ab der 6. Lebenswoche beobachtet (Goldfischer et al., 1973). Bei Kindern, die ein Alter von mehr als 20 Wochen erreichten, sind dann schwere Fibrosen (Danks et al., 1975), unter Umständen mit Störung der Läppchenarchitektur (Opitz et al., 1969) oder bereits komplette Cirrhosen (Passarge und McAdams, 1967) beschrieben. Diese zeitabhängige Entwicklung von normalem oder nur leicht fibrosiertem Lebergewebe vor der 20. Lebenswoche bis zu schweren Fibrosen oder Cirrhosen nach diesem Zeitpunkt haben Gilchrist et al. (1976) in ihrer, bisher umfangreichsten, Kasuistik überzeugend bestätigt.

Bei der lichtmikroskopischen Beurteilung von Lebergewebe beim Zellweger-Syndrom ist die Bedeutung einer Siderinspeicherung immer wieder diskutiert worden. Jedoch ist die oft beschriebene übermäßige Siderose nur für ein frühes Stadium der Erkrankung bis etwa zur 20. Lebenswoche kennzeichnend (Gilchrist et al., 1976). Später ist dann das Lebergewebe, wie auch im vorliegenden Falle, meist frei von Siderinpigment. Demnach ist die früher vertretene Hypothese, beim Zellweger-Syndrom bestünde primär eine Störung des Eisenstoffwechsels, heute nicht mehr aufrechtzuerhalten. Wie auch in anderen Fällen hat sich kein Hinweis für die früher geäußerte Vermutung ergeben, es läge eine Fehlbildung der intrahepatischen Gallengänge vor. Schließlich ist eine entzündliche Infiltration, wie sie bei Fällen mit sehr kurzer Überlebenszeit gelegentlich beschrieben worden ist (Sommer et al., 1974; Danks et al., 1975) in fortgeschrittenen Fällen kaum von Bedeutung, so daß die Abgrenzung gegenüber einer chronischen Hepatitis nicht schwierig ist.

Dennoch ist das histologische Bild unspezifisch. Das feinverteilte Schädigungsmuster mit dem schließlich ausgesprochen kleinherdigen Umbau läßt allenfalls den Schluß zu, daß hier eine weitgehend gleichbleibende Noxe auf das Parenchym einwirkt, wie es am ehesten bei angeborenen metabolischen Defekten erwartet werden kann. Für eine morphologisch diagnostische Aussage relevant ist nach heutiger Kenntnis nur der elektronenmikroskopische Befund eines Fehlens der Peroxisomen, wie es erstmals von Goldfischer et al (1973) beschrieben worden ist.

Anders als bei den in der Zellpathologie gut bekannten Zuständen mit abnormer *Vermehrung* einer bestimmten Organellenart, etwa der Mitochondrien in „Onkocyten“ sowie des glatten ER oder der Peroxisomen bei der Metabolisierung bestimmter Fremdsubstanzen, oder mit *Vergrößerung* von Organellen, wie bei Speicherlysosomen (Übersicht bei Altmann und Pfeifer, 1979), gibt es für das *Fehlen* einer sonst obligaten Zellorganelle bis jetzt noch keine weiteren Beispiele. Im vorliegenden Falle ergab die systematische Suche zwar einige wenige Organellen, die von sehr kleinen Peroxisomen nicht sicher zu unterscheiden

sind (Abb. 6a–d). Da sie aber mengenmäßig nur etwa  $1/500$  des normalen Bestandes an Peroxisomen ausmachen, kann man einen solchen Befund kaum mit Zuständen vergleichen, bei denen Peroxisomen als Reaktion auf irgendeine Noxe an Menge abnehmen, beispielsweise auf die Hälfte des Normwertes bei experimenteller Pneumokokken-Sepsis (Canonica et al., 1975) oder nach verschiedenen anderen experimentellen Schäden (Riede und Rohr, 1974). Während bei den Fällen von Goldfischer et al. (1973) sowie von Versmold et al. (1977) von einem vollständigen Fehlen der Peroxisomen gesprochen wird, muß man also im vorliegenden Fall an die Möglichkeit denken, daß eine kleine Restfähigkeit der Peroxisomenbildung erhalten geblieben sein könnte. Möglicherweise wird dadurch die vergleichsweise lange Überlebenszeit erklärt. Überlebenszeiten von mehr als einem Jahr sind bisher nur ganz vereinzelt beschrieben worden (Gilchrist et al., 1976; Versmold et al., 1977).

Wegen der genannten Unsicherheit ist es schwierig, schon jetzt eine geeignete Bezeichnung für die vorliegende Störung zu finden. Da nicht ganz sicher ist, daß die Peroxisomen vollständig fehlen, wird man den Begriff „Aplasie“ vermeiden, der an sich angebracht wäre; denn die vermutliche Bildungsstätte der Peroxisomen, das glatte ER (Novikoff und Shin, 1964; Essner, 1967; Kartenbeck und Franke, 1974), ist zwar in Einzelfällen nur spärlich entwickelt, aber eben doch vorhanden (Goldfischer et al., 1973). Wie der vorliegende Fall zeigt, ist es jedenfalls auch in der Lage, auf Medikamente mit einer Hyperplasie zu reagieren. Der Begriff „Hypoplasie“ wäre sinnvoll, wenn die hier beschriebenen Organellen (Abb. 6) tatsächlich Peroxisomen sind, was letztlich nur durch enzymcytochemische Befunde zu untermauern wäre. In dieser Situation erscheint die Bezeichnung *Defizienz* am besten geeignet, wie sie bei verschiedenen Stoffwechselerkrankungen verwandt wird, wenn ein Enzym fehlt oder in zu geringer Menge vorhanden ist.

Bei den bis jetzt publizierten 3 einschlägigen Fällen ist mit Recht offengelassen worden, ob dem Fehlen der Peroxisomen eine pathogenetische Bedeutung zukommt, oder ob vielleicht die Störung der mitochondrialen Energiegewinnung (Goldfischer et al., 1973; Versmold et al., 1977) als die primäre Störung anzusehen ist. Über die Funktion der Peroxisomen (De Duve, 1969; Hruban und Rechigl, 1969; Masters und Holmes, 1977) ist noch immer viel zu wenig bekannt, als daß man voraussagen könnte, welche funktionellen oder morphologischen Konsequenzen bei ihrem Fehlen zu erwarten sind. Und ebenso wenig kann man bis jetzt irgendwelche Symptome beim Zellweger-Syndrom ursächlich auf die Peroxisomendefizienz zurückführen.

Grundsätzlich wäre es durchaus zu verstehen, daß eine Defizienz der Peroxisomen an vielen verschiedenen Organen zu Schäden führt. Denn die Peroxisomen gehören zur Organellenausstattung nicht nur des Leber- und Nierenparenchyms, sondern – wenn auch wegen ihrer Kleinheit viel weniger leicht zu erkennen – in vielen anderen Zellarten (Novikoff et al., 1973; Hruban et al., 1972), darunter auch in Neuronen und Gliazellen (Hruban et al., 1972) sowie in der quergestreiften Muskulatur (Hand, 1974; Herzog und Fahimi, 1974). Vorausgesetzt, daß beim Zellweger-Syndrom die Peroxisomen auch in diesen Zellarten fehlen – nachgewiesen ist die Defizienz bis jetzt nur in Leber und Niere (Goldfischer et al., 1973) – so könnte man die Funktionsstörungen beispielsweise im Zentral-

nervensystem oder in der Skelettmuskulatur ebenfalls als Folge der Peroxisomen-defizienz interpretieren.

Daß die cerebralen und die renalen Veränderungen bereits bei der Geburt vorhanden sind, spricht nicht gegen die pathogenetische Rolle der Peroxisomen-defizienz; denn die Peroxisomen werden bereits im fetalen Organismus gebildet (Essner, 1967, 1969; Schneeberger, 1972; Goeckermann und Vigil, 1975). Man könnte allenfalls spekulieren, ob ihr Ausfall für die pränatale Entwicklung von Niere und Gehirn bedeutsamer ist als für die der Leber, in der das, noch völlig unbekannte, schädigende Prinzip (toxische Metaboliten?) hauptsächlich erst postpartal zu Veränderungen führt (Gilchrist et al., 1977).

Ob das Phänomen „Peroxisomendefizienz“ als Krankheitsbezeichnung sinnvoll ist, wird erst in Zukunft zu entscheiden sein, wenn eine noch größere Zahl von Fällen mit elektronenmikroskopischen Befunden vorliegt. Dabei müßten mit entsprechender enzymhistochemischer Methodik auch andere Gewebe untersucht werden, z.B. Biopsien aus der Darmschleimhaut oder der Skelettmuskulatur. In Anbetracht des von Versmold et al. (1977) mitgeteilten „atypischen“ Falles muß man damit rechnen, daß das Spektrum der Krankheitserscheinungen bei der Peroxisomendefizienz größer sein könnte, als beim klassischen Zellweger-Syndrom.

## Literatur

- Agamanolis, D.P., Robinson, H.B., Timmons, G.D.: Cerebro-hepatorenal Syndrome. Report of a case with histochemical and ultrastructural observations. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **35**, 226–246 (1976)
- Altmann, H.-W., Klinge, O.: Drogen-Hepatopathie. Morphologische Reaktionen menschlichen Lebergewebes auf Pharmaka. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* **56**, 194–214 (1972)
- Altmann, W.-W., Pfeifer, U.: Patho-morphologische Grundreaktionen menschlichen Leberparenchyms. In: *Klinische Hepatologie*, H.A. Kühn u. H. Wernze (Hrsg.), 1.19–1.42. Stuttgart: Georg Thieme 1979
- Bowen, P., Lee, C.S.N., Zellweger, H., Lindenberg, R.: A familial syndrome of multiple congenital defects. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **114**, 402–414 (1964)
- Canonica, P.G., White, J.D., Powanda, M.C.: Peroxisome Depletion in Rat Liver during Pneumococcal Sepsis. *Lab. Invest.* **33**, 147–150 (1975)
- Danks, D.M., Tippet, P., Adams, C., Campbell, P.: Cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger. A report of eight cases with comments upon the incidence. The liver lesion, and a fault in pipelicolic acid metabolism. *J. Pediatr.* **86**, 382–387 (1975)
- De Duve, C.: The peroxisome: a new cytoplasmic organelle. *Proc. Roy. Soc. B* **173**, 71–83 (1969)
- Essner, E.: Endoplasmic reticulum and the origin of microbodies in fetal mouse liver. *Lab. Invest.* **17**, 71–87 (1967)
- Evrard, P., Caviness, V.S., Prats-Vinas, J., Lyon, G.: The mechanism of arrest of neuronal migration in the Zellweger malformations. An hypothesis based upon cytoarchitectonic analysis. *Acta Neuropath.* **41**, 109–117 (1978)
- Gilchrist, K.W., Gilbert, E.F., Goldfarb, S., Goll, U., Spranger, J.W., Opitz, J.M.: Studies of malformation syndromes of man XI B: The cerebro-hepato-renal Syndrome of Zellweger: Comparative Pathology. *Eur. J. Pediatr.* **121**, 99–118 (1976)
- Goeckermann, J.A., Vigil, E.L.: Peroxisome development in the metanephric kidney of mouse. *J. Histochem. Cytochem.* **23**, 957–973 (1975)
- Goldfischer, S., Moore, C.L., Johnson, A.B., Spiro, A.J., Valsamis, M.P., Wisniewski, H.K., Ritch, R.H., Norton, W.T., Rapin, J., Gartner, L.M.: Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science* **182**, 62–64 (1973)



- Hand, A.R.: Peroxisomes (microbodies) in striated muscle cells. *J. Histochem. Cytochem.* **22**, 207–209 (1974)
- Herzog, V., Fahimi, H.D.: Microbodies (Peroxisomes) containing catalase in myocardium: morphological and biochemical evidence. *Science* **185**, 271–273 (1974)
- Hruban, Z., Rechcigl, M.: Microbodies and related particles. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* **1**, 1969
- Hruban, Z., Vigil, E.L., Slesers, A., Hopkins, E.: Microbodies: Constituent organelles of animal cells. *Lab. Invest.* **27**, 184–191 (1972)
- Kartenbeck, J., Franke, W.W.: Membrane relationships between endoplasmic reticulum and peroxisomes in rat hepatocytes and Morris hepatoma cells. *Cytobiologie* **10**, 152–156 (1974)
- Masters, C.J., Holmes, R.S.: The metabolic roles of peroxisomes in mammalian tissues. *Int. J. Biochem.* **8**, 549–553 (1977)
- Novikoff, A.B., Shin, W.Y.: The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relation to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cells. *J. Microscopie* **3**, 187–206 (1964)
- Novikoff, A.B., Novikoff, P.M., Davis, C., Quintana, N.: Studies on microperoxisomes. V. Are microperoxisomes ubiquitous in mammalian cells? *J. Histochem. Cytochem.* **21**, 737–755 (1973)
- Opitz, J.M., Zu Rhein, G.M., Vitale, L., Shahidi, N.T., Howe, J.J., Chon, S.M., Shanklin, D.R., Sybers, H.D., Dood, A.R.: The Zellweger Syndrome (cerebro-hepato-renal syndrome). *Birth Defects. Original Article Series* **5**, 144–158 (1969)
- Passarge, E., McAdams, A.J.: Cerebro-hepato-renal syndrome. A newly recognized hereditary disorder of multiple congenital defects, including sudanophilic leukodystrophy, cirrhosis of the liver, and polycystic kidneys. *J. Pediatr.* **71**, 691–702 (1967)
- Pfeifer, U., Aterman, K.: Shedding of peripheral cytoplasm – a mechanism of liver cell atrophy in human amyloidosis. *Virchows Arch. B Cell Path.* **29**, 229–243 (1979)
- Riede, U.N., Rohr, H.P.: Das Reaktionsmuster der Leber-Peroxisomen (= Microbodies) im Verlaufe einer Zellschädigung. *Beitr. Path.* **151**, 111–133 (1974)
- Rohr, H.P., Luthy, J., Gudat, F., Oberholzer, M., Gysin, C., Bianchi, L.: Stereology of liver biopsies from healthy volunteers. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* **371**, 251–263 (1976)
- Schneeberger, E.E.: Development of peroxisomes in granular pneumocytes during pre- and postnatal growth. *Lab. Invest.* **27**, 581–589 (1972)
- Sommer, A., Bradel, E.J., Hamoudi, A.B.: The cerebro-hepato-renal syndrome (Zellweger's syndrome). *Biol. Neonate* **25**, 219–229 (1974)
- Sternlieb, I., Quintana, N.: The peroxisomes of human hepatocytes. *Lab. Invest.* **36**, 140–149 (1977)
- Versmold, H.T., Bremer, H.J., Herzog, V., Siegel, G., v. Bassewitz, D.B., Irle, U., v. Voss, H., Lombeck, J., Brauser, B.: A metabolic disorder similar to Zellweger Syndrome with hepatic acatalasia and absence of peroxisomes, altered content and redox state of cytochromes, and infantile cirrhosis with hemosiderosis. *Eur. J. Pediatr.* **124**, 261–275 (1977)
- Volpe, J.J., Adams, R.D.: Cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger: An inherited disorder of neuronal migration. *Acta Neuropathol.* **20**, 175–198 (1972)

Eingegangen am 16. Juli 1979