

Zur Morphologie und Diagnostik des Zellweger Syndroms

**Ein Beitrag zum kombiniert cytochemisch-feinstrukturellen Nachweis
der Peroxisomen in autoptischem und tiefgefrorenem Lebergewebe
mit Fallbericht**

J. Müller-Höcker, K. Bise, W. Endres und G. Hübner

Pathologisches Institut (Direktor: Prof. Dr. M. Eder),
Institut für Neuropathologie (Direktor: Prof. Dr. O. Stochdorph) und
Kinderklinik (Direktor: Prof. Dr. K. Betke) der Universität München,
Federal Republic of Germany

Morphology and Diagnosis of Zellweger Syndrome

**A Contribution to Combined Cytochemical-Finestructural Identification of Peroxisomes
in Autopsy Material and Frozen Liver Tissue with Case Report**

Summary. A female newborn, the second child of healthy non consanguineous parents, exhibited muscular hypotonia, areflexia, apathy, seizures, hepatomegaly and failure to thrive since birth. The peculiar skull shape was lacking. In the urine pipecolic acid and trihydroxycoprostanic acid were excreted. At the age of seven weeks she died of bronchopneumonia. Lightmicroscopy revealed malformations and deficiency of myelinisation in the brain, renal cysts and fatty metamorphosis in the enlarged liver, which showed only minimal siderosis. Ultrastructurally no peroxisomes could be found in liver and kidney. No peroxisomes were detected by histochemical demonstration of catalase in frozen liver tissue which was taken immediately after death and stored for three months.

Absence of peroxisomes is pathognomonic for the cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger and occurs in the liver irrespective of duration and degree of liver damage. It is best demonstrated by enzymehistochemical electron microscopy. With this method peroxisomes can be visualized even 30 h post mortem. In deep frozen normal liver tissue the activity of catalase remains very stable and enables the identification of peroxisomes even after a 12 months period of storage.

In the cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger, frozen liver tissue should be stored for biochemical and diagnostic enzymehistochemical studies.

Key words: Cerebro-hepato-renal (Zellweger-) syndrome – Morphological diagnosis – Ultrastructure – Peroxisomes – Autopsy – Catalase

Offprint requests to: Dr. J. Müller-Höcker, Pathologisches Institut der Universität München, Thalkirchner Str. 36, D-8000 München 2, Federal Republic of Germany

Einleitung

Das nach Zellweger benannte cerebro-hepato-renale Syndrom ist eine autosomal recessiv vererbte (Danks et al. 1975) Erkrankung unklarer Ätiologie, die häufig bereits in den ersten Lebensmonaten zum Tode führt. Sie ist klinisch in der Regel gekennzeichnet durch eine ausgeprägte neurologische Symptomatik, eine Hepatomegalie, Gedeihstörungen sowie durch craniofaciale Dysmorphien: Eine hohe Stirn, Hypertelorismus und abgeflachte Supraorbitalbögen verleihen den Kindern ein charakteristisches Aussehen. Seit den Erstbeschreibungen (Bowen et al. 1964; Smith et al. 1965; Passarge und McAdams 1967; Opitz et al. 1969; Vitale et al. 1969) liegen mehrere Untersuchungen vor (Goldfischer et al. 1973; Versmold et al. 1977; Hanson et al. 1979; Monnens et al. 1980), die auf möglicherweise pathogenetisch bedeutsame subzelluläre Defekte hinweisen. So ist bekannt, daß die Peroxisomen eine sowohl im Tier- als auch im Pflanzenreich vorkommende Zellorganelle (Hruban und Rechcigl 1969; Hruban et al. 1972; Novikoff et al. 1973), deren Bedeutung (De Duve und Bauduin 1966; Masters und Holmes 1977a; Masters und Holmes 1977b; Böck et al. 1980) letztlich noch nicht voll erfaßt ist, bei der Erkrankung in Leber und Niere fehlen.

Der Nachweis dieses *Organellendefektes* gelingt am sichersten mittels einer kombinierten enzymhistochemisch-feinstrukturellen Untersuchung. In den drei bisher derartig untersuchten Fällen (Goldfischer et al. 1973; Versmold et al. 1977) wurde die histochemische Darstellung der Katalase – des Leitenzyms der Peroxisomen – jeweils an frischem Lebergewebe vorgenommen. Bei dem von uns beobachteten Fall stand hierfür lediglich unmittelbar postmortal entnommenes, für drei Monate tiefgefrorenes Lebergewebe zur Verfügung. Wir haben deshalb im Vorfeld der Falldiagnostik die Nachweisbarkeit der Peroxisomen in autoptisch gewonnenem und Langzeit-tiefgefrorenem Lebergewebe überprüft.

Fallbericht

K.B., ein Mädchen, wurde als zweites Kind nicht blutsverwandter Eltern, deren erstes Kind gesund ist, nach komplikationslosem Schwangerschaftsverlauf in der 39. Schwangerschaftswoche geboren. Das Geburtsgewicht betrug 3040 g. Unmittelbar postpartal bestand eine dreiminütige Asphyxie. Der weitere klinische Verlauf wurde beherrscht durch ausgeprägte neurologische Symptome, wie allgemeine Muskelschlaffheit, Reflexlosigkeit (einschließlich der Saugreflexe), Apathie sowie durch cerebrale Krampfanfälle. Seit dem 13. Lebenstag bestand zudem eine verlangsamte flache periodische Atmung, die eine maschinelle Beatmung erforderlich machte.

Außerlich konnten bei dem Kind keine für das Zellweger Syndrom typischen craniofacialen Veränderungen festgestellt werden. Die Leber war 3 cm unter dem rechten Rippenbogen tastbar. Pathologische Leberfunktionswerte lagen nicht vor. Laborchemisch wurde zunächst lediglich eine unspezifische Hyperaminoacidurie diagnostiziert. Noch bevor eine sichere klinische Diagnose gestellt werden konnte, verstarb das stark untergewichtige Kind im Alter von 7 Wochen an den Folgen einer ausgedehnten Bronchopneumonie. Bei nach dem Tode vorgenommenen biochemischen Analysen wurde unter anderem eine Ausscheidung von Trihydroxykoprostanol- und Pipecolinsäure im Urin festgestellt.

Material und Methoden

Lichtmikroskopie. Fixation von Organgewebsproben (Entnahme 14 h nach dem Tod) in 10%igem Formol; Paraffineinbettung, Färbungen mit Hämalaun-Eosin, PAS-Alcian, Berliner Blau, Scharlachrot, Kresylviolett und nach van Gieson.

Elektronenmikroskopie. Glutaraldehydfixation, 6,25% in Phosphatpuffer, pH 7,4 für 2 h; Spülung in gepufferten 0,2 M Rohrzuckerlösung für mehr als 24 h, Nachfixation in 2% gepufferter Osmium-säurelösung; Eponeinbettung und Kontrastierung in üblicher Weise.

Derart präpariert wurden: 1. normales menschliches Leberfrischgewebe; 2. Gewebsproben einer Leichenleber (Untersuchungszeitraum 2–44 h nach dem Tod); 3. autoptisch gewonnene Leber- und Nierengewebsproben des Kindes K.B.

Enzymhistochemie – Elektronenmikroskopie (Katalasenachweis). Fixation mit 3%igem Glutaraldehyd in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer, pH 7,4, versetzt mit 0,05% CaCl₂, für 2 h bei 4° C. Anschließend Spülung mit 0,15 M Tris-HCl, pH 7,4 für 30 min, und Präinkubation ca 50 µm dicker, im Gewebe-schneider hergestellter Schnitte in H₂O₂-freiem Inkubationsmedium für 2 h bei Zimmertemperatur, gleichlange Inkubation im Vollmedium (3 mg DAB/ml, 0,3% H₂O₂ in 10 ml Tris-Stammlösung 0,1 M und destilliertem Wasser auf 50 ml Gesamtmenge) bei pH 10,5 (Herzog und Fahimi 1973) und Zimmertemperatur zur Darstellung der peroxidatischen Aktivität der peroxisomalen Katalase. Anschließend Spülung in 0,15 M Tris-HCl, Nachfixation in ungepuffertem 1%igem Osmiumtetroxid für 1 h bei 4° C, Dehydrierung in Äthanol, Einbettung über Propylen, Propylen/Epon-Gemisch (50/50) in Epon und feinstrukturelle Untersuchung unkontrastierter und Bleicitrat-kontrastierter Ultradünnschnitte.

Auf diese Weise untersucht wurden außer den oben unter 1 und 2 aufgeführten Gewebsproben: 4. 2 und 12 Monate tiefgefrorenes normales menschliches Leberfrischgewebe (Tieffrierung mit flüssigem N₂, Lagerung bei ca. -30° C); 5. unmittelbar postmortal für 3 Monate eingefrorenes Lebergewebe des Kindes K.B.

Ergebnisse

I. Methodischer Teil – Peroxisomennachweis

A. Feinstruktur

Im frischen Lebergewebe besitzen die von einer ca. 50 Å breiten Membran umgebenen und gleichmäßig über die Zelle verteilten Peroxisomen (0,4–0,8 µm Ø) eine homogen feingranulierte Matrix (Abb. 1a).

Im autoptischen Lebergewebe kommt es mit zunehmender Autolysedauer zu herdformigen Matrixaufhellungen und -verklumpungen sowie zu stellenweisen Unterbrechungen der Peroxisomenmembran. Häufig finden sich Zisternen des endoplasmatischen Reticulum an die Peroxisomen angelagert (Abb. 1b). Selbst bis zu 44 h nach dem Tod konnten noch einzelne peroxysothenverdächtige Profile dargestellt werden. Mit fortschreitender Autolyse ist die Identifizierung der Peroxisomen jedoch ohne den histochemischen Nachweis der Katalase sichtlich erschwert.

B. Histochemische Peroxisomendarstellung – Katalasenachweis

Lichtmikroskopie. Im frischen Lebergewebe findet sich nach der Katalasereaktion ein uniform partikuläres Reaktionsprodukt, das gleichmäßig über die Zelle verteilt ist und die lichtmikroskopische Identifizierung der Peroxisomen ermöglicht (Abb. 2a Inset).

Autoptisches Lebergewebe weist 2–4 h nach dem Tod gegenüber dem Nativgewebe nur eine geringfügige Verminderung der Reaktionsintensität auf. Auch innerhalb 8–14 h nach dem Tod ist die Reaktion noch gut erkennbar. Hingegen können die Peroxisomen 30 h nach dem Tod aufgrund des schwachen Ausfalls der Katalasereaktion lichtmikroskopisch nicht mehr eindeutig identifiziert wer-

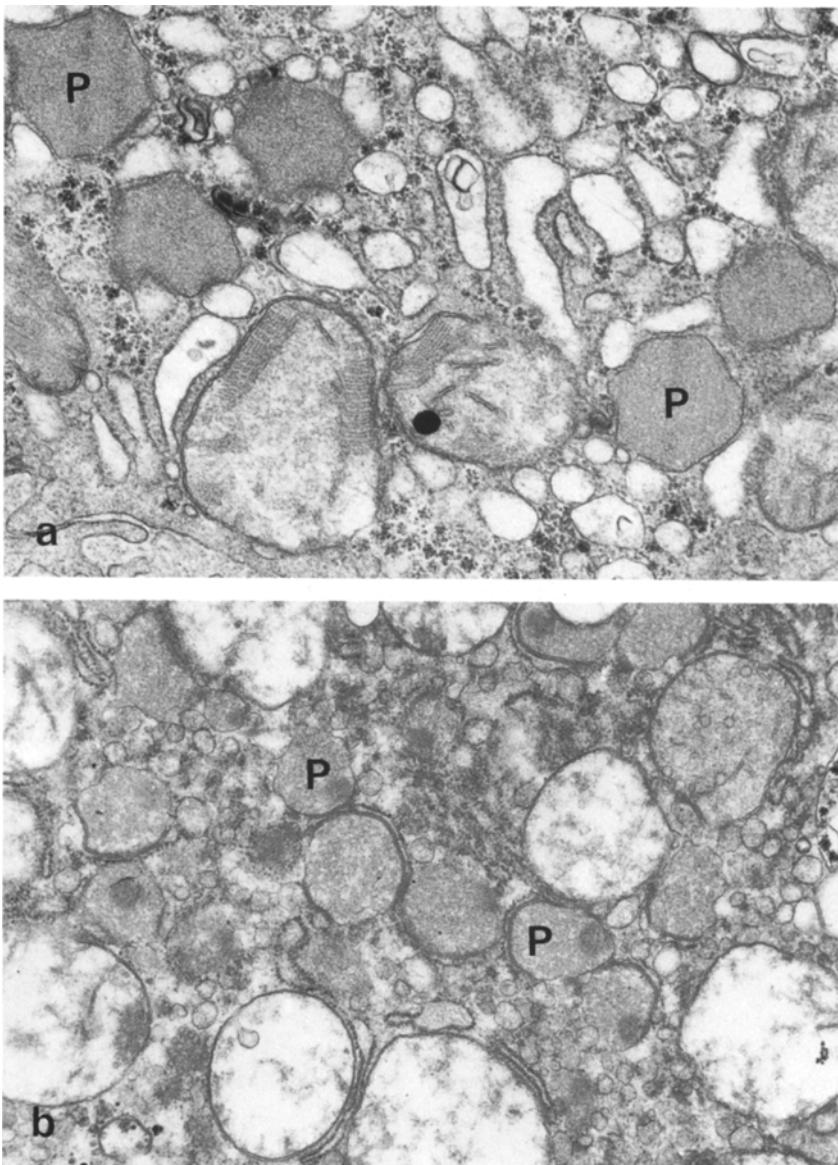


Abb. 1 a, b. Normale Leber Mensch. Feinstruktur der Peroxisomen. **a** Biopsiematerial. Peroxisomen (P) mit feingranulärer Matrix. $33\,000\times$; **b** Autopsiematerial, 14 h post mortem entnommen. Fleckige Aufhellung und Verklumpung der Matrix; herdförmige Unterbrechungen der Peroxisomenmembran und Anlagerung von Zisternen des endoplasmatischen Reticulums. $21\,500\times$

den. 44 h nach dem Tod ließ sich histochemisch keine katalatische Aktivität mehr nachweisen.

Im *tiefgefrorenen* Leberfrischgewebe blieb die Aktivität der Katalase nach 2 und 12 Monaten nahezu unverändert. Allerdings waren die Reaktionsniederschläge aufgrund erheblicher Gefrierartefakte unregelmäßig im Cytoplasma ver-

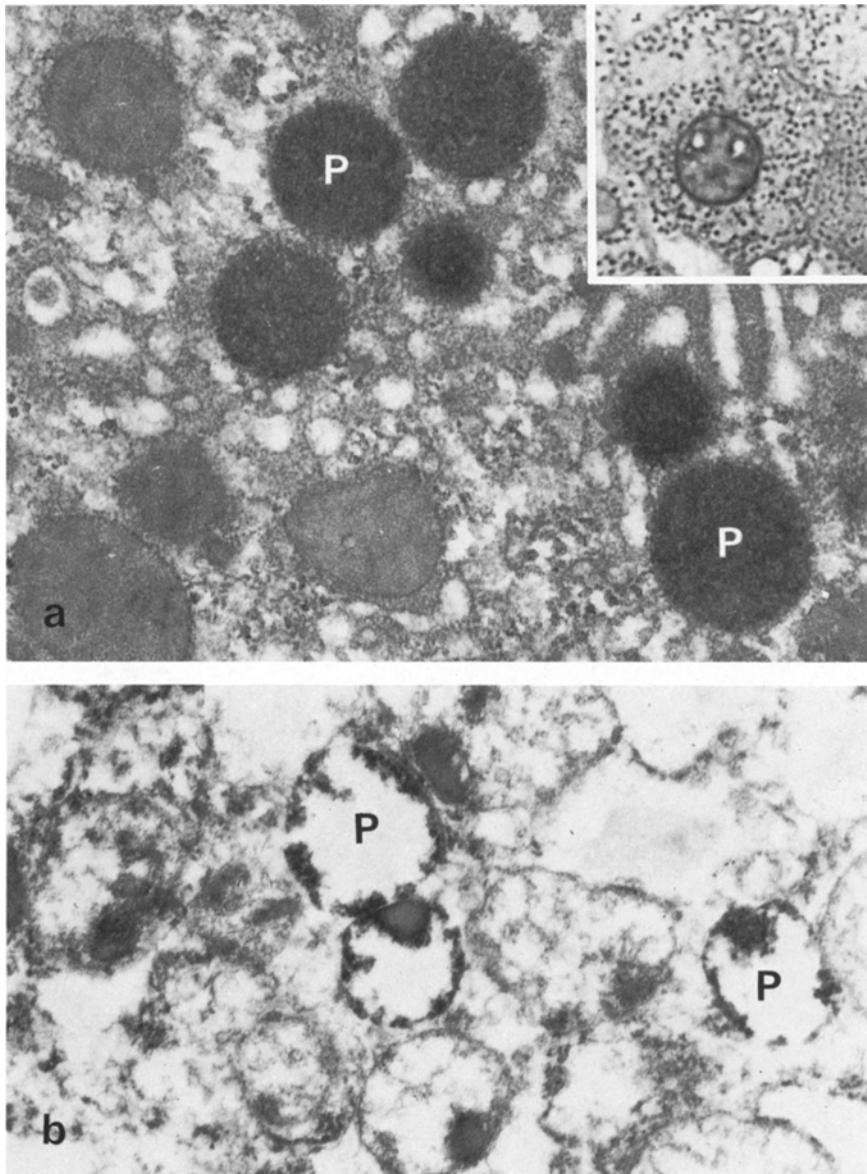


Abb. 2a, b. Normale Leber Mensch. Cytochemischer Katalasenachweis. **a** Biopsiematerial. Homogenes elektronendichthes Reaktionsprodukt über den Peroxisomen (P). $33\,000\times$; Inset: Gleichmäßige Verteilung der partikulären Niederschläge im Cytoplasma. $1\,200\times$; **b** Autopsiematerial, 24 h post mortem entnommen. Restaktivität an Katalase in Nähe der Peroxisomenmembran. $26\,400\times$

teilt und deutlich verformt, so daß sie nicht mit Sicherheit als Peroxisomen identifiziert werden konnten.

Elektronenmikroskopie. Im frischen Lebergewebe erscheint die Peroxisomenmatrix durch das Reaktionsprodukt homogen verdichtet (Abb. 2a).

Im *Autopsiematerial* weist das Reaktionsprodukt 2 und 4 h nach dem Tod vor allem eine gröbere Körnung auf. 8 bzw. 14 h nach dem Tod liegt das Reaktionsprodukt bevorzugt in scholliger Form vor. Mit fortschreitender Autolyse treten vermehrt Peroxisomen auf, in denen das Reaktionsprodukt unter Aussparung membrannaher Matrixverdichtungen bevorzugt randständig und diskontinuierlich abgelagert ist (Abb. 2b). Andere Peroxisomen weisen selbst 24 bzw. 30 h nach dem Tod noch eine intensivere, allerdings unscharf begrenzte partikuläre Reaktion auf.

44 h nach dem Tod waren cytochemisch-feinstrukturell keine eindeutigen Peroxisomen mehr darstellbar.

Im *tiefgefrorenen* Leberfrischgewebe kamen nach 2 Monaten neben runden elektronendichten Peroxisomen solche mit wetzsteinförmiger Gestalt vor. Letztere waren besonders häufig nach 12 Monaten vorzufinden. Die Katalasereaktion führte auch unter diesen Bedingungen zu einer intensiven Darstellung der Peroxisomen (Abb. 3a, b). Diffusionsphänomene wurden nicht beobachtet.

II. Autopsiebefunde

Makroskopie. Makroskopisch fiel bei dem zum Zeitpunkt der Obduktion 60 cm großen und 3750 g schweren Kind K.B. eine brüchige Konsistenz der Lungen auf. Die Leber war deutlich vergrößert; sie wog mit 220 g etwa das Doppelte der Norm. An den übrigen Organen konnte makroskopisch kein pathologischer Befund erhoben werden.

Histologie. Mikroskopisch wiesen die *Lungen* (130 g) eine reaktionsarme, fibrinreiche Bronchopneumonie auf. Vereinzelt bot sich das Bild einer Bronchiolitis obliterans.

Am *Gehirn* (570 g) waren neben einer Polymikrogyrie mehrfach paraventriculäre Heterotopien im Marklager des Kleinhirns vorhanden. Die untere Olive hatte eine plume, unregelmäßige Konfiguration. Darüber hinaus bestand im Marklager des Großhirns eine astrocytäre Gliose, eine mikrogliale Neutralfettspeicherung und eine Rarefizierung der Oligodendroglia. In den nicht vergrößerten *Nieren* (35 g) mit regelrechtem Organaufbau fanden sich in den subcapsulären Rindenabschnitten einzelne, z.T. mit Sekret gefüllte tubuläre und glomeruläre Cysten.

Die *Leber* (220 g) zeigte eine normale Läppchenstruktur. Es bestand keine Fibrose. In den Sinus fanden sich hämatopoetische Zellnester. Eisenpigment war in geringem Umfang, bevorzugt in den Kupfferschen Sternzellen, nachweisbar. Die Leberzellen wiesen eine diffuse feintropfige Verfettung sowie mehrfach hypoxische Vacuolen auf.

Alle anderen untersuchten Organe, insbesondere Thymus und Pankreas, waren lichtmikroskopisch unauffällig.

Ultrastruktur. Feinstrukturell enthielten die hypoxischen Vacuolen in den Leberzellen z.T. elektronendichthes Material. Soweit am Leichenmaterial feststellbar, waren sowohl die Mitochondrien als auch das rauhe endoplasmatische Reti-

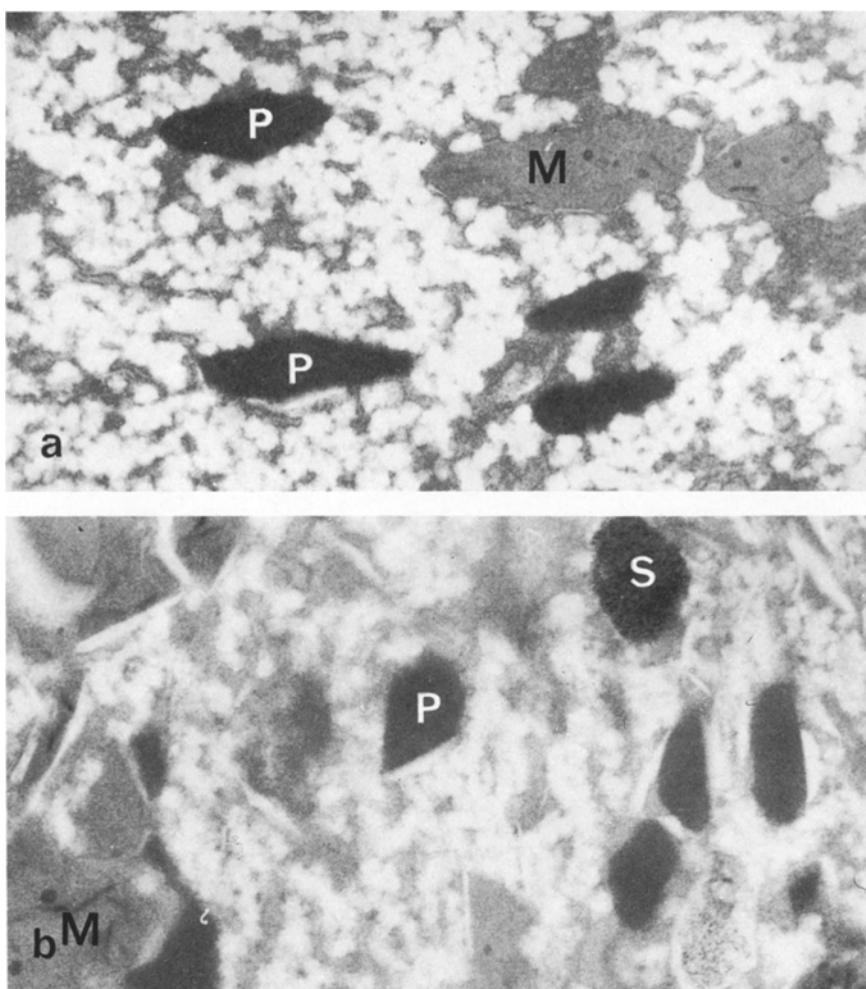


Abb. 3a, b. Cytochemischer Katalasenachweis an tiefgefrorenem normalem Lebergewebe, Biopsiematerial. a 2 Monate, b 12 Monate tiefgefroren. Intensive Darstellung der wetzsteinartig deformierten Peroxisomen (P). Keine Diffusion des Reaktionsprodukts. (M Mitochondrium; S Siderosom). a 25660 \times ; b 3300 \times

culum regelrecht ausgebildet; das glatte endoplasmatische Reticulum konnte dagegen nicht sicher beurteilt werden. Auffällig war das Fehlen der Peroxisomen (Abb. 4a). Ebenso waren in den Nieren keine Peroxisomen nachweisbar.

In Übereinstimmung mit dem an der Leichenleber des Kindes erhobenen feinstrukturellen Befund konnten auch nach Durchführung der Katalasereaktion an dem unmittelbar postmortal für 3 Monate tiefgefrorenem Lebergewebe licht- und elektronenmikroskopisch keine Peroxisomen nachgewiesen werden (Abb. 4b).

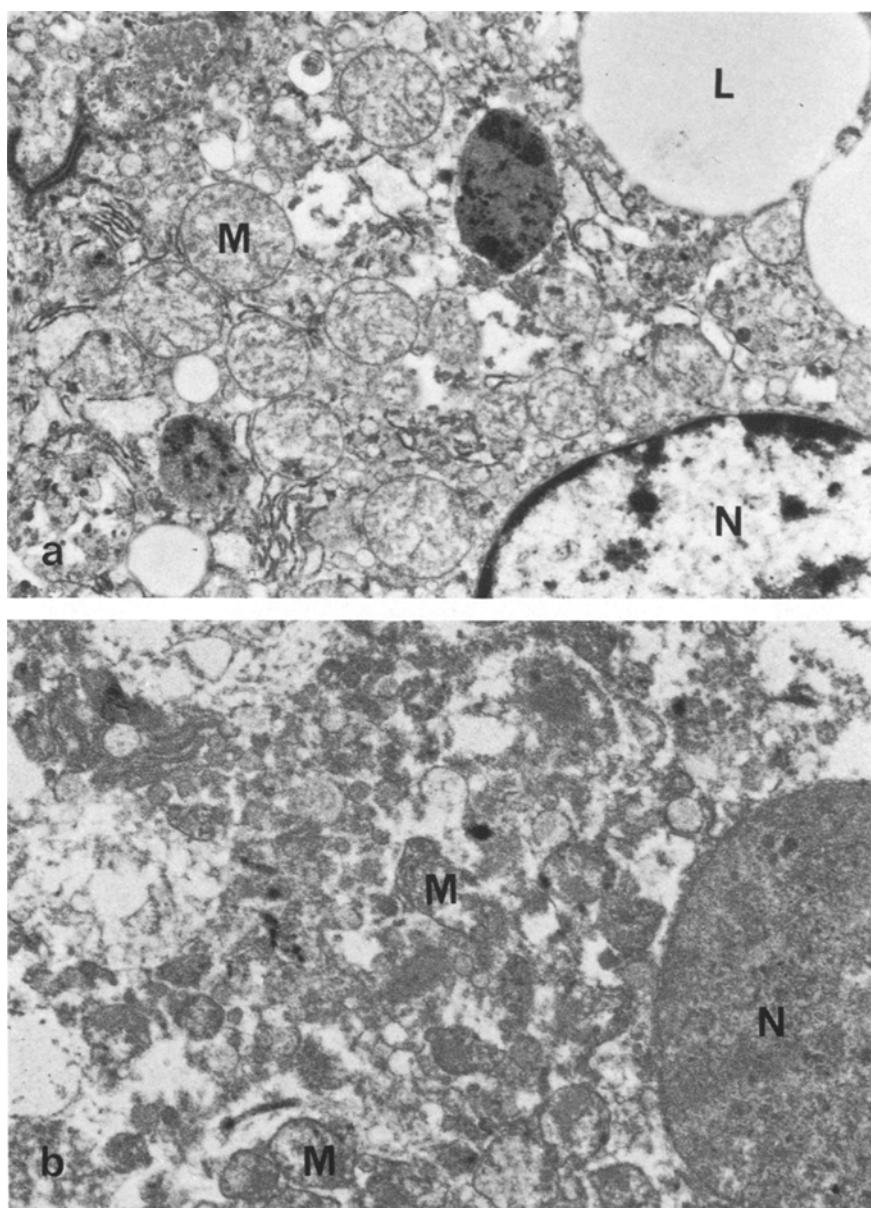


Abb. 4a, b. Leber Kind KB. Zellweger Syndrom. **a** Im Autopsiematerial (14 h post mortem entnommen) keine Peroxisomen nachweisbar. **b** Katalasereaktion an unmittelbar post mortem entnommenem und für 3 Monate eingefrorenem Lebergewebe. Kein Reaktionsprodukt vorhanden. **a** 11000 \times ; **b** 13000 \times (**N** Nucleus; **M** Mitochondrium; **L** Lipidtropfen)

Diskussion

Trotz klinisch weitgehend gleichartigem Verlauf weist das cerebro-hepato-renale Syndrom, wie die bis jetzt etwa 80 beschriebenen Fälle belegen (Bowen et al. 1964; Smith et al. 1965; Passarge und McAdams 1967; Punnett und Kirkpatrick 1968; Kohn und Mundel 1969; Opitz et al. 1969; Vitale et al. 1969; Jan et al. 1970; Poznanzky et al. 1970; Patton et al. 1972; Stanescu und Dralands 1972; Volpe und Adams 1972; Cotero et al. 1973; Goldfischer et al. 1973; Vincens et al. 1973; Vuia et al. 1973; Bernstein et al. 1974; Garzuly et al. 1974; Sommer et al. 1974; Danks et al. 1975; Agamanolis et al. 1976; Gilchrist et al. 1976; Haddad et al. 1976; Liu et al. 1976; Variend et al. 1976; Camera et al. 1977; de Leon et al. 1977; Versmold et al. 1977; Brun et al. 1978; Carlson und Weinberg 1978; Evrad et al. 1978; Agamanolis und Patre 1979; Hanson et al. 1979; Pfeifer und Sandhage 1979; Trijbels et al. 1979; Monnens et al. 1980), ein breites Spektrum an biochemischen Befunden auf, nämlich Erhöhung des Serum-eisen-spiegels, Pipecolinsäureausscheidung im Urin, unspezifische Hyperaminacidurien, Störungen der Gallensäuresynthese sowie der Atmungskette in den Mitochondrien. Ebenso breit gefächert ist die Palette morphologischer Veränderungen: Sie umfaßt Gehirn- und Herzmißbildungen, Cysten in den Nieren, bis zur Cirrhose reichende Leberveränderungen, Epiphysenverkalkungen, Thymushypoplasie, Inselzellhyperplasie, Retinaveränderungen, Hornhaut- und Linsentrübungen sowie das Fehlen der Peroxisomen in Leber und Niere. Angesichts einer derartigen Befundkonstellation erhebt sich die Frage, inwieweit das cerebro-hepato-renale Syndrom eine pathogenetische Einheit darstellt, zumal nach wie vor nicht geklärt ist, ob es aus zahlreichen congenitalen Entwicklungsanomalien zusammengesetzt ist, oder ob es sich ausschließlich bzw. zusätzlich aus einem angeborenen Stoffwechseldefekt entwickelt (Gilchrist et al. 1975; Versmold et al. 1977).

In der Diagnostik des Syndroms kommt der Morphologie neben klinisch-biochemischen Parametern eine entscheidende Bedeutung zu. Allerdings besitzen die meisten der Organbefunde für sich genommen kaum eine diagnostische Relevanz. Dies gilt in gleicher Weise für die Veränderungen am Gehirn, die Störungen in der neuronalen Migration (Volpe und Adams 1972; Garzuly et al. 1974) und möglicherweise hypoxisch bzw. destruktiv bedingte Myelinisationsdefekte im Marklager (Volpe und Adams 1972; Agamanolis et al. 1976; Brun et al. 1978) umfassen, wie für die glomerulären und tubulären Cysten in der Niere. Derartige Befunde können unter einer Vielzahl von Bedingungen, etwa bei der Trisomie D beobachtet werden. Auch die an der häufig vergrößerten Leber lichtmikroskopisch faßbaren Veränderungen besitzen für sich genommen keinen ausreichenden diagnostischen Wert, da sie ebenfalls uncharakteristisch sind; zudem können sie in Abhängigkeit vom Alter sogar völlig fehlen. So reicht das Alter der Kinder mit lichtmikroskopisch unauffälliger Leberhistologie von Stunden (Passarge und McAdams 1967) bis zu 15 Wochen (Vincens et al. 1973). Umgekehrt wird über das Vorkommen von Cirrhosen, wenngleich bevorzugt ab dem 6. Lebensmonat und mehr (Punnett und Kirkpatrick 1968; Gilchrist et al. 1976; Versmold et al. 1977; Pfeifer und Sandhage 1979) bereits vereinzelt

am ersten Lebenstag (Gilchrist et al. 1976) sowie in der 10. (Gilchrist et al. 1976) und der 16. Lebenswoche (Carlson und Weinberg 1978) berichtet.

Altersunabhängig scheint hingegen das Fehlen der Peroxisomen in der Leber zu sein. Die Altersspanne in den bisher feinstrukturell untersuchten Fällen (Goldfischer et al. 1973; Versmold et al. 1977; Brun et al. 1978; Carlson und Weinberg 1978; Hanson et al. 1979; Pfeifer und Sandhage 1979; Monnens et al. 1980) erstreckt sich von der 6. (Goldfischer et al. 1973) bis zur 56. Lebenswoche (Versmold et al. 1977). Zudem ist die Ausprägung des Organellendefektes offenbar nicht vom morphologisch faßbaren Ausmaß der Leberschädigung abhängig: Die microbodies fehlen sowohl in nahezu normalen (Monnens et al. 1980) wie in bereits cirrhotisch umgebauten (Versmold et al. 1977) Lebern. Darüber hinaus berechtigen die bisher feinstrukturell untersuchten Fälle zu der Annahme, daß es sich bei dem Peroxisomendefekt, der bisher noch bei keinem anderen Krankheitsbild beschrieben worden ist, um einen festen Bestandteil des Syndroms handelt.

Obwohl die Entstehung und pathogenetische Bedeutung des gelegentlich in inkompletter Form (Carlson und Weinberg 1978; Pfeifer und Sandhage 1979) auftretenden Organellendefektes noch weitgehend ungeklärt ist, kommt ihm also aus morphologischer Sicht eine besondere diagnostische Bedeutung zu.

In einer Untersuchungsreihe an autoptisch gewonnenem bzw. Langzeit-tiefgefrorenem menschlichen Lebergewebe konnten wir zeigen, daß zum Peroxisomen-nachweis nicht unbedingt Frischgewebe erforderlich ist. Zwar kommt es ähnlich wie *in vitro* (Trump et al. 1965) und wie nach vorangegangener Clofibratgabe (Svoboda und Reddy 1972) mit fortschreitender Autolyse durch Verlust an Matrix und durch Unterbrechungen der Peroxisomenmembran zu einer allmählichen Auflösung der Organelle. Dennoch können die Peroxisomen selbst 30 h nach dem Tod noch mittels des histochemischen Katalasen-nachweises ultrastrukturrell sicher erfaßt werden. Zu diesem Zeitpunkt ist die histochemisch nachweisbare Aktivität der in der Peroxisomenmatrix (De Duve und Bauduin 1966) lokalisierten Katalase entsprechend dem Verlust an Matrixsubstanz in der Mehrzahl der Fälle nur noch randständig in Nähe der Membran vorhanden.

Im tiefgefrorenen Lebergewebe hingegen bleibt die Katalase, ähnlich wie biochemisch gereinigte Rattenleberkatalase (Price et al. 1962) über Monate hinweg erhalten; damit ist noch nach einem Jahr eine diffusionsfreie, intensive histochemische Darstellung der Peroxisomen möglich.

Man sollte daher bei unklaren Stoffwechselerkrankungen oder bei Verdacht auf ein Zellweger Syndrom stets Lebergewebe einfrieren, um gegebenenfalls nicht nur biochemische, sondern auch diagnostische enzymhistochemische Untersuchungen durchführen zu können. Schließlich bietet sich darüber hinaus aufgrund der Stabilität der Katalase die Möglichkeit, in autoptisch gewonnenem und tiefgefrorenem Lebergewebe die Peroxisomen an einem breiten Untersuchungsgut darzustellen und somit einen tieferen Einblick in die Bedeutung dieser Organelle bei verschiedenartigen Krankheitsbildern zu erlangen.

Für ihre wertvolle technische Hilfe sind wir Herrn Prof. Dr. W. Herzog (Institut für Zellbiologie der Universität München), Frl. D. Münsterer und Frau A. Scheiber zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

- Agamanolis DP, Robinson HB, Timmons GD (1976) Cerebro-hepatorenal syndrome. Report of a case with histochemical and ultrastructural observations. *J Neuropathol Neurol* 35:226-246
- Agamanolis DP, Patre S (1979) Glycogen accumulation in the central nervous system in the cerebro-hepato-renal syndrome. *J Neurol Sci* 41:325-342
- Bernstein J, Brough AJ, McAdams AJ (1974) The renal lesions in syndromes of multiple congenital malformations. *Birth Defects: Original Article Series* X:35-43
- Bowen P, Lee CSN, Zellweger H, Lindenberg R (1964) A familial syndrome of multiple congenital defects. *Bull Johns Hopkins Hosp* 114:402-414
- Böck P, Kramar R, Pavelka M (1980) Peroxisomes und related particles in animal tissue. *Cell Biol Monographs*, vol 7. Springer, Wien, New York
- Brun A, Gilboa M, Meeuwisse GW, Nordgren H (1978) The Zellweger syndrome: Subcellular pathology, neuropathology, and the demonstration of pneumocystis carinii pneumonitis in two siblings. *Eur J Pediatr* 127:229-245
- Camera G, Centa A, Canepa M (1977) Su di un caso di sindrome cerebro-epatorenale di Zellweger. *Minerva Pediat.* 29:2473-2478
- Carlson BR, Weinberg AG (1978) Giant cell transformation. Cerebro-hepatorenal syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 102:596-599
- Cotero A, Prats JM, Bilbao F, Camarero C, Larrea F, Soriano JR (1973) Sindrome cerebro-hepatorenal de Zellweger. *Rev Esp Pediat* 29:455-470
- Danks DM, Tippet P, Adams C, Campbell P (1975) Cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger. A report of eight cases with comments upon the incidence, the liver lesion, and a fault in pipecolic acid metabolism. *J Pediatr* 86:382-387
- De Duve C, Baudhuin P (1966) Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol Rev* 46:323-357
- De Leon GA, Grover WD, Huff DS, Morinigo-Mestre G, Punnett HH, Kistenmacher M (1977) Globoid cells, glial nodules, and peculiar fibrillary changes in the cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger. *Ann Neurol* 2:473-484
- Evrad P, Caviness VS, Prats-Vinas J, Lyon G (1978) The mechanism of arrest of neuronal migration in the Zellweger malformation: an hypothesis based upon cytoarchitectonic analysis. *Acta Neuropathol (Berl.)* 41:109-117
- Garzuly F, Szabo L, Kadas L (1974) Neuronale Migrationsstörung bei cerebrohepatorenalem Syndrom "Zellweger". *Neuropädiatrie* 5:318-328
- Gilchrist KW, Gilbert EF, Shahidi NT, Opitz JM (1975) The evaluation of infants with the Zellweger (cerebro-hepato-renal) syndrome. *Clin Genet* 7:413-416
- Gilchrist KW, Gilbert EF, Goldfarb S, Goll U, Spranger JW, Opitz JM (1976) Studies of malformation syndromes of man XI B: The cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger: Comparative pathology. *Eur J Pediatr* 121:99-118
- Goldfischer S, Moore CL, Johnson AB, Spiro AJ, Valsamis MP, Wisniewski HK, Ritch RH, Norton WT, Rapin J, Gartner LM (1973) Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science* 182:62-64
- Haddad R, Font RL, Friendly DS (1976) Cerebro-hepato-renal syndrome of Zellweger. Ocular histopathologic findings. *Arch Ophthalmol* 94:1927-1930
- Hanson RF, Szczepanik-Vanleeuwen P, Williams GC, Grabowski G, Sharp HL (1979) Defects of bile acid synthesis in Zellweger's syndrome. *Science* 203:1107-1108
- Herzog W, Fahimi HD (1973) An improved method for demonstration of the peroxidatic activity of beef liver catalase. *J Histochem Cytochem* 21:412
- Hruban Z, Rechcigl M (1969) Microbodies and related particles. *Int Rev Cytol Supp* 1
- Hruban Z, Vigil EL, Slesers A, Hopkins E (1972) Microbodies: Constituent organelles of animal cells. *Lab Invest* 27:184-191
- Jan JE, Hardwick DF, Lowry RB, McCormick AQ (1970) Cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger. *Am J Dis Child* 119:274-277
- Kohn R, Mundel G (1969) Cerebro-hepatorenal syndrome. Report of a case. *Helv. Paediat Acta* 24:352-360

- Liu HM, Bangaru BS, Kidd J, Boggs J (1976) Neuropathological considerations on cerebro-hepatorenal syndrome (Zellweger's syndrome). *Acta Neuropathol* 34:115-123
- Masters CJ, Holmes RS (1977a) The metabolic roles of peroxisomes in mammalian tissues. *Int J Biochem* 8:549-553
- Masters CJ, Holmes RS (1977b) Peroxisomes: New aspects of cell physiology and biochemistry. *Physiol Rev* 57:816-882
- Monnens L, Bakkeren J, Parmentier G, Janssen G, van Haelst U, Trijbels F, Eyssen H (1980) Disturbances in bile acid metabolism of infants with the Zellweger (cerebro-hepatorenal) syndrome. *Eur J Pediatr* 133:31-35
- Novikoff AB, Novikoff PM, Davis D, Quinatana N (1973) Are microperoxisomes ubiquitous in mammalian cells? *J Histochem Cytochem* 21:737-755
- Opitz JM, Zu Rhein GM, Vitale L, Shahidi NT, Howe JJ, Chou SM, Shanklin DR, Sybers HD, Dood AR, Gerritsen T (1969) The Zellweger syndrome (cerebro-hepatorenal syndrome). *Birth Defects. Original Article Series* 5:144-158
- Passarge E, McAdams AJ (1967) Cerebro-hepatorenal 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
- Patton RG, Christie DL, Smith DW, Beckwith JB (1972) Cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger. Two patients with islet cell hyperplasia, hypoglycemia and thymic abnormalities, and comments on iron metabolism. *Am J Dis Child* 114:840-844
- Pfeifer U, Sandhage K (1979) Licht- und elektronenmikroskopische Leberbefunde beim cerebro-hepatorenalen Syndrom nach Zellweger (Peroxisomendefizienz). *Virchows Arch. [Pathol Anat]* 384:269-284
- Poznanzky AK, Nosanchuk JS, Baublis J, Holt JF (1970) The cerebro-hepatorenal syndrome (CHRS); (Zellweger's syndrome). *Am J Roentgenol* 109:313-322
- Price VE, Sterling WR, Tarantola VA, Hartley RW, Rechgigl M (1962) The kinetics of catalase synthesis and destruction in vivo. *J Biol Chem* 237:3468-3475
- Punnett HH, Kirkpatrick JA (1968) A syndrome of ocular abnormalities, calcification of cartilage, and failure to thrive. *J Pediatr* 73:602-606
- Smith DW, Opitz JM, Inhorn SL (1965) A syndrome of multiple developmental defects including polycystic kidneys and intrahepatic biliary dysgenesis in 2 siblings. *J Pediatr* 67:617-624
- Sommer A, Bradel EJ, Hamoudi AB (1974) The cerebro-hepatorenal syndrome (Zellweger's syndrome). *Biol Neonate* 25:219-229
- Stanescu B, Dralands L (1972) Cerebro-hepatorenal (Zellweger's) syndrome. *Arch Ophthalmol* 87:590-592
- Svoboda D, Reddy J (1972) Microbodies in experimentally altered cells. *Am J Pathol* 67:541-554
- Trijbels JMF, Monnens LAH, Bakkeren JAJM, Van Raay-Selten AHJ, Corstiaensen JMB (1979) Biochemical studies in the cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger: A disturbance in the metabolism of pipecolic acid. *J Inher Metab Dis* 2:39-42
- Trump BF, Goldblatt PJ, Stowell RE (1965) Studies of necrosis in vitro of mouse hepatic parenchymal cells. Ultrastructural and cytochemical alterations of cytosomes, cytosegresomes, multivesicular bodies and microbodies and their relation to the lysosome concept. *Lab Invest* 14:1946-1968
- Variend S, Timperly WR, Hill S, Taitz LS (1976) Cerebro-hepatorenal syndrome with parental consanguinity. *Develop Med Child Neurol* 18:660-665
- Versmold HT, Bremer HJ, Herzog V, Siegel G, v. Bassewitz DB, Irle U, v. Voss H, Lombeck J, Brauser B (1977) A metabolic disorder similar to Zellweger syndrome with hepatic acatalasias and absence of peroxisomes, altered content and redox state of cytochromes, and infantile cirrhosis with hemosiderosis. *Eur J Pediatr* 124:261-275
- Vincens A, Guiliat JC, Gatin G, Rodier J, Graveleau D (1973) A propos d'un cas de syndrome de Zellweger (syndrome hepatocérebral). *Ann Pediatr* 20:553-560
- Vitale L, Opitz JM, Shahidi NT (1969) Congenital and familial iron overload. *N Engl J Med* 280:642-645
- Volpe JJ, Adams RD (1972) Cerebro-hepatorenal syndrome of Zellweger: An inherited disorder of neuronal migration. *Acta Neuropathol* 20:175-198
- Vuia O, Hager H, Rupp H, Koch F (1973) The neuropathology of a peculiar form of cerebro-renal syndrome in a child. *Neuropediatric* 4:322-337

Angenommen am 6. Mai 1981