

Von Roscoe O. Brady^[*]

Die Natur der biochemischen Anomalien bei über hundert menschlichen Erbkrankheiten ist überzeugend nachgewiesen worden. Diese beeindruckende Leistung hat viele segensreiche Auswirkungen gehabt; dazu gehören: 1. genaue Methoden für die Diagnose solcher Krankheiten; 2. Identifizierung von symptomfreien heterozygoten Trägern defekter Gene; 3. Verfahren zur pränatalen Ermittlung zahlreicher solcher Störungen an Feten. Für die Zukunft sind ähnliche eindrucksvolle Fortschritte bei der Therapie von Patienten zu erwarten, bei denen derartige Krankheiten pränatal nicht festgestellt wurden, oder für den Fall, daß ein affizierter Fetus zwar ermittelt, aber nach dem Willen der Eltern ausgetragen wurde. Im vorliegenden Fortschrittsbericht werden die gegenwärtigen Auffassungen vor allem am Beispiel der Therapie erblicher Lipid-Speicherkrankheiten umrissen, und es wird auf mögliche Ansätze für zukünftige therapeutische Verfahrensweisen hingewiesen.

1. Einleitung

Um die Jahrhundertwende begann Sir Archibald Garrod seine klassischen Untersuchungen über die Alkaptonurie, eine menschliche Krankheit, die durch allmähliche Verdunkelung des Urins beim Stehenlassen in alkalischem Milieu, durch graue bis bläulich-schwarze Pigmentierung im Gewebe des Patienten und durch eine in ungewöhnlich frühem Alter beginnende Arthritis charakterisiert ist. Garrod analysierte den Urin der erkrankten Personen und konnte nachweisen, daß sie große Mengen Homogentisinsäure ausschieden, die im menschlichen Urin normalerweise nur in Spuren vorhanden ist^[1]. Er stellte außerdem fest, daß diese Störung auch bei Verwandten des Patienten auftrat. Dasselbe familienweise Vorkommen entdeckte er u. a. bei den folgenden menschlichen Krankheiten: a) Albinismus, der durch fehlende Pigmentbildung gekennzeichnet ist; b) Pentosurie, bei der die Pentose-Konzentration im Urin erhöht ist; c) Cystinurie, bei der Urin abnorm viel Cystin enthält.

Aus diesen Beobachtungen zog Garrod den bemerkenswerten Schluß, daß diese Individuen an einem erblichen Mangel des Enzyms litten, welches bei jeder dieser Krankheiten für die Katalyse eines spezifischen metabolischen Schritts erforderlich ist^[2]. Den Mangel an Homogentisinsäure-Oxidase bei der Alkaptonurie sagte er richtig voraus (Abb. 1). Etwa 50 Jahre später wurde Garrods Hypothese von La Du et al.^[3] bestätigt.

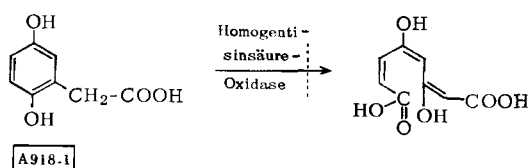


Abb. 1. Homogentisinsäure wird normalerweise durch Homogentisinsäure-Oxidase in Maleylacetyllessigsäure (3,5-Dihydroxy-2,4,6-octatriensäure) überführt. Bei der Alkaptonurie fehlt das Enzym, und der Abbau unterbleibt.

[*] Dr. R. O. Brady
Developmental and Metabolic Neurology Branch,
National Institute of Neurological Diseases and Stroke,
National Institutes of Health
Bethesda, Maryland 20014 (USA)

Angeborene Fehler im Stoffwechsel sind direkt an mehr als hundert menschlichen Krankheiten beteiligt. Zu diesen Störungen gehören Anomalien des Aminosäurestoffwechsels wie Phenylketonurie, Histidinämie und Hyperprolinämie; des Purinmetabolismus wie bei Orotacidurie (Ausscheidung von Orotsäure), Xanthinurie und beim Lesch-Nyhan-Syndrom; des Kohlenhydratmetabolismus wie Fructosurie, Galaktosämie und Glykogen-Speicherkrankheiten; des Porphyrinstoffwechsels; der Proteinsynthese wie bei der Sichelzellenanämie, Agammaglobulinämie und Abetalipoproteinämie sowie erbliche Störungen des Lipidstoffwechsels, z. B. die Gauchersche und Tay-Sachssche Krankheit.

Es ist nicht möglich, alle bekannten Störungen im menschlichen Stoffwechsel in diesem Fortschrittsbericht zu diskutieren oder auch nur aufzuzählen. Hierfür stehen ausgezeichnete Standardwerke zur Verfügung, in welchen diese Störungen und ihre klinische Manifestation zusammengestellt sind^[4, 5]. In dieser Arbeit soll vielmehr aufgezeigt werden, wie einige der äußerst verwirrenden Probleme bei der Entdeckung der Enzymdefekte bei derartigen Krankheiten gelöst wurden, und der praktische Nutzen beschrieben werden, der aus diesen Untersuchungen resultierte. Ebenfalls sollen die Therapiemöglichkeiten zusammengestellt werden, die jetzt Erfolg versprechen, und Forschungswege diskutiert werden, die später weiterhelfen könnten. In der Hauptsache wird sich diese Arbeit mit Lipidosen befassen, da während der Erforschung der Pathogenese und Behandlung dieser Störungen einige wichtige, universell anwendbare Konzepte entwickelt wurden.

2. Die Sphingolipidosen

2.1. Allgemeine Beschreibung

Gegenwärtig kennt man zehn verschiedenartige Störungen des Lipidstoffwechsels, deren Ätiologie gesichert ist. Die wichtigsten klinischen Manifestationen dieser Krankheiten sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Kennzeichnend ist die Akkumulation jeweils eines Lipids; alle diese Lipide haben

einen Teil des Moleküls gemeinsam. Dieser Teil wird als Ceramid (*N*-Acyl-sphingosin)

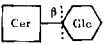
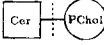
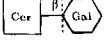
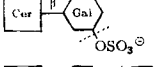
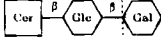
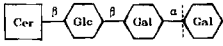
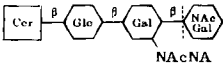
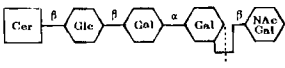
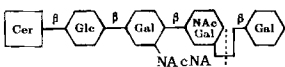
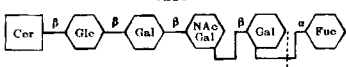


bezeichnet (COR ist ein Fettsäurerest). Diese Sphingolipide sind hauptsächlich in Zellmembranen überall im Körper lokalisiert. An die primäre Hydroxygruppe sind ein oder mehrere Kohlenhydratreste gebunden (Tabelle 2).

Tabelle 1. Wichtigste klinische Merkmale der Sphingolipidosen.

Gauschersche Krankheit	Geistige Retardierung (nur bei der infantilen Form), Leber- und Milzvergrößerung, Hüft- und Röhrenknochenerosion, Knochenmarkszellen mit hohem Lipidgehalt und Reaktion auf Kohlenhydrate, erhöhter Serumspiegel an saurer Phosphatase, schwache Anämie und verminderter Gehalt an Blutplättchen.
Niemann-Picksche Krankheit	Im allgemeinen ähnlich der Gaucherschen Krankheit; kirschrote Flecken in der Makula (bei 30% der Patienten); Xanthomzellen (Schaumzellen) im Knochenmark mit Reaktion auf Lipide und Phosphor, starke Abmagerung.
Sklerosierende Leukoencephalitis (Krabbesche Krankheit)	Geistige Retardierung; fast vollständige Abwesenheit von Myelin, starke Narbenbildung im Gehirn; vielkernige „Globoid-Körper“ in der weißen Gehirns substanz.
Metachromatische Leukodystrophie	Geistige Retardierung; psychische Störungen, verminderte Leitungszeit der Nerven; gelbbraune Tröpfchen in den Nervenfasern bei der Färbung mit Kresolviolett (Metachromasie).
Ceramid-lactosid-Lipidose	Allmählich fortschreitende Zerstörung des Gehirns; Leber- und Milzvergrößerung, Anämie, verringerte Anzahl weißer Blutkörperchen und Blutplättchen.
Fabrysche Krankheit	Rötlich bis purpurnes Vorexanthem an Abdomen und Skrotum; Nierenschäden; Hornhauttrübung; periphere Nervenschmerzen und elektrokardiographische Anomalien.
Tay-Sachssche Krankheit (amaurotische Idiotie)	Geistige Retardierung, Blindheit, kirschrote Flecken in der Retina, vergrößertes Cranium, ausgedehnte Nervenzellen mit „membranösen Cytoplasmakörpern“.
Generalisierte Gangliosidose	Geistige Retardierung, kirschrote Flecken in der Makula (bei 50% der Patienten), Leber- und Milzvergrößerung, Xanthomzellen (Schaumzellen) im Knochenmark, Rarefizierung der Knochen und Skelettmißbildungen.
Fucosidose	Fortschreitende geistige Degeneration, Muskelschwäche und Spastik, Abmagerung, Hautverdickung und Herzvergrößerung.

Tabelle 2. Akkumulierende Sphingolipide und fehlende Enzyme bei Sphingolipidosen. Cer = Ceramid, Glc = Glucose, PChol = Phosphorylcholin, Gal = Galaktose, NAcNA = *N*-Acetylneuraminsäure, NAcGal = *N*-Acetylglucosamin, Fuc = Fucose, NAcGlc = *N*-Acetylglucosamin. Die Stelle des normalen Abbaus ist eingezeichnet.

Krankheit	wichtigstes akkumulierendes Sphingolipid	fehlendes Enzym
1 Gaucher		Ceramid-glucosid (Glucocerebroside) β-Glucosidase
2 Niemann-Pick		Sphingomyelin Sphingomyelinase
3 Krabbe		Ceramid-galaktosid (Galactocerebroside) β-Galaktosidase
4 Metachromatische Leukodystrophie		Ceramid-galaktosyl-3-sulfat (Sulfatid) Sulfatidase = Arylsulfatase A
5 Ceramid-lactosid-Lipidose		Ceramid-lactosid β-Galaktosidase
6 Fabry		Ceramid-trihexosid α-Galaktosidase
7 Tay-Sachs		Gangliosid G _{M2} Hexosaminidase A
8 Tay-Sachs-Variante		Globosid (plus G _{M2}) alle Hexosaminidasen
9 Generalisierte Gangliosidose		Gangliosid G _{M1} β-Galaktosidase
10 Fucosidose		H-Isoantigen α-Fucosidase

Mit Ausnahme der Fabryschen Krankheit werden alle diese Sphingolipid-Speicherkrankheiten als autosome rezessive Mutationen vererbt. Das bedeutet, daß beide Elternteile Träger des Defekts (Heterozygoten) sein müssen, um die Krankheit auf ihr Kind zu übertragen. Solche Träger zeigen normalerweise keinerlei Anzeichen und Symptome dieser Krankheit. Wenn beide Elternteile Heterozygoten sind, wird die Krankheit, statistisch betrachtet, auf eines von vier Kindern übertragen. Solch ein Kind wird Homozygot genannt. Zwei Kinder werden wie die Eltern Heterozygoten, während ein Kind in keiner Weise erblich belastet wird.

Die genetische Übertragung der Fabryschen Krankheit erfolgt durch das weibliche Geschlechtschromosom (X-Chromosom). Die Hälfte der Söhne einer Trägerin der Fabryschen Krankheit wird die Krankheit mit voll entwickelten Symptomen erben. 50% ihrer Töchter sind Trägerinnen, die übrigen Töchter sind erblich nicht belastet.

Im Unterschied zu anderen Sphingolipidosen können weibliche Fabry-Heterozygoten einige klinische Manifestationen der Krankheit aufweisen, wenn auch normalerweise viel schwächer als die betroffenen männlichen Hemizygoten.

Bei allen Sphingolipidosen basiert die Stoffwechselstörung auf der Abschwächung oder Abwesenheit einer spezifischen Hydrolase für den Katabolismus von Lipiden, die im Körper als Folgeprodukt des normalen Umsatzes (turn-over) von Zellen und Geweben auftreten. Die zweite wichtige Tatsache ist, daß das *Ausmaß* des Enzymmangels in allen Organen und Zellen des Patienten ähnlich ist. Drittens weisen Zellen, die von Lipidose-Patienten stammen und in Gewebekulturen gezüchtet wurden, im Verhältnis denselben Enzymmangel auf wie Zellen, die direkt aus den Organen des betreffenden Patienten stammen. Dieses Ergebnis ermöglicht nun eine genaue Diagnose von Personen, die an einer der Lipidosen^[6] erkrankt sind, die Identifizierung von heterozygoten Trägern dieser Störungen^[7] und die pränatale Erkennung von Feten mit diesen Krankheiten^[8].

Die Kenntnis des spezifischen Enzymdefekts bei Erbkrankheiten ist für die Entwicklung von therapeutischen Maßnahmen zur Besserung dieser Störungen unbedingt erforderlich. Soweit möglich, werden hier potentiell nützliche Behandlungsmethoden für Patienten besprochen, bei denen eine pränatale Identifizierung unterblieb oder deren Eltern sich entschieden, die Schwangerschaft trotz der nachgewiesenen Erkrankung des Fetus fortzusetzen.

2.2. Gauchersche Krankheit

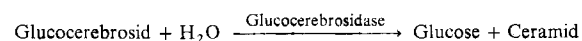
Die Gauchersche Krankheit war die erste Sphingolipidodystrophie, bei welcher die Natur der Stoffwechselstörung aufgeklärt werden konnte. Bei Untersuchungen dieser Krankheit wurden zahlreiche wichtige Konzepte entwickelt, die sich auch auf die anderen Lipid-Speicherkrankheiten anwenden lassen. Da die Kenntnis der Ätiologie vieler anderer Erbkrankheiten auf die gleiche Art gewonnen wurde, soll nun die historische Entwicklung kurz dargestellt werden.

Das Lipid, das sich im Gewebe von Patienten mit Gaucherscher Krankheit anhäuft, ist Glucocerebrosid (Tabelle 2, Zeile 1). Galaktocerebrosid (Tabelle 2, Zeile 3), das vorherrschende Glykolipid in der Myelinscheide der Nerven, besitzt einen anderen Hexoserest als Glucocerebrosid. Dies war der Anlaß für mehrere Hypothesen über die Ätiologie der Gaucherschen Krankheit:

1. Anomalie des Kohlenhydrat- (Galaktose-) Metabolismus;
2. Überproduktion von Glucocerebrosid im Gewebe;
3. Mangel eines Enzyms für den Abbau von Glucocerebrosid.

Die ersten beiden Hypothesen erwiesen sich nach Untersuchungen von *Thannhauser*^[9] bzw. *Trams* und *Brady*^[10] als unhaltbar. Die Natur des metabolischen Defekts bei der Gaucherschen Krankheit wurde durch die folgenden Versuchsreihen aufgeklärt:

Zunächst wurde Glucocerebrosid mit ¹⁴C im D-Glucose-Teil des Moleküls synthetisiert^[11]. Mit dieser markierten Verbindung als Substrat ließ sich ein Enzym in allen Geweben des Körpers nachweisen, das die Hydrolyse von Glucocerebrosid katalysiert:

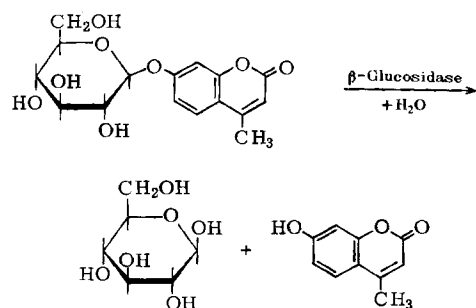


Dieses Enzym konnte in hoher Aktivität in der Milz gefunden und aus diesem Gewebe isoliert werden. Es wurden die optimalen Inkubationsbedingungen, die Kinetik und die Reaktionsprodukte bestimmt. Dann wurde die Aktivität der Glucocerebrosidase in Proben menschlichen Milzgewebes gemessen, die bei Operationen von Kontrollpersonen und Patienten mit Gaucherscher Krankheit entnommen wurden. Die mittlere Glucocerebrosidase-Aktivität in den Proben von Patienten mit der „Erwachsenenform“ der Gaucherschen Krankheit betrug 15% des Wertes bei der Kontrollgruppe^[12-15]. Proben aus dem Milzgewebe von Patienten mit der sich schneller entwickelnden „infantilen“ Form ergaben allenfalls eine äußerst niedrige Glucocerebrosidase-Aktivität.

Das Glucocerebrosid, das sich in der Milz, der Leber und dem Knochenmark akkumuliert, stammt aus den Lipiden der Membranen alternder roter und weißer Blutkörperchen. Das wichtigste neutrale Glykolipid der Leukocyten ist das Ceramid-lactosid (Tabelle 2, Zeile 5). Eine zweite wichtige Glucocerebrosid-Quelle im peripheren Gewebe ist das Globosid (Tabelle 2, Zeile 8), das wichtigste Glykolipid der Erythrocyten. Diese Substanzen werden enzymatisch stufenweise zu Ceramid-glucosid (Glucocerebrosid) abgebaut, das sich bei Patienten mit Gaucherscher Krankheit wegen des β -Glucosidasemangels akkumuliert. Glucocerebrosid sammelt sich auch in den Nervenzellen von Patienten mit der infantilen Form der Gaucherschen Krankheit an; es stammt wahrscheinlich aus dem Gangliosidumsatz (Tabelle 2, Zeilen 7 und 9).

Die Diagnose auf Gauchersche Krankheit kann durch Messung der Glucocerebrosidase-Aktivität mit ¹⁴C-markiertem Glucocerebrosid entweder in Gewebeproben, die durch Biopsie erhalten wurden, oder in Leukocyten aus kleinen Mengen venösen Blutes gesichert werden^[16]. Präparationen von Leukocyten und Kulturen von Fibro-

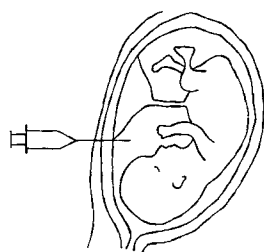
blasten aus der Haut leisten bei der Ermittlung von Gaucher-Heterozygoten ebenfalls nützliche Dienste^[7]. Das fluorogene künstliche Substrat 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucosid (Abb. 2) wurde kürzlich für den Nachweis von Homozygoten und Heterozygoten herangezogen^[17, 18].



A918.2

Abb. 2. 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucopyranosid, ein künstliches Substrat zur Messung der β -Glucosidase-Aktivität. Das entstehende 4-Methylumbelliferon fluoresziert.

Diagnostische Enzymtests sind von größtem Nutzen bei der Überwachung von Schwangerschaften, bei denen die Gefahr erblicher Stoffwechselkrankheiten besteht. Die Methode der Wahl ist gegenwärtig die Bestimmung der Aktivität in Extrakten aus Kulturen fetaler Zellen, die durch Amniozentese erhalten wurden (Abb. 3). Diese Technik kann für



Transabdominale
Amniozentese
(10–20 ml)

Zentrifugation zur
Zellkonzentration

Gewebekultur
(4–5 Wochen)

Ernte

Analyse

A918.3

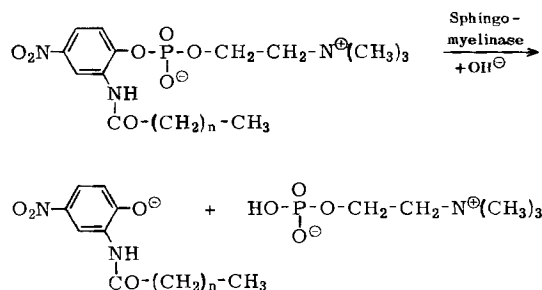
Abb. 3. Pränatale Diagnose genetischer Anomalien.

die Identifizierung von Feten verwendet werden, die heterozygot^[7] und homozygot^[19] in bezug auf die Gauchersche Krankheit sind. Es ist zu erwarten, daß sich künstliche Substrate bei der pränatalen Diagnose auf Gauchersche Krankheit bewähren werden.

2.3. Niemann-Picksche Krankheit

Klenk war der erste, der Sphingomyelin als akkumulierendes Lipid bei Patienten mit der Niemann-Pickschen Krankheit identifizierte^[20]. Wieder wurde der Mangel eines katabolischen Enzyms durch Stoffwechseluntersuchungen nachgewiesen, wobei Sphingomyelin verwendet wurde, das im Choleinteil des Moleküls markiert war^[21]. Die mittlere Sphingomyelinase-Aktivität in Leberpräparationen von Niemann-Pick-Patienten betrug 7% der bei der Kontrollgruppe ermittelten Aktivität^[22]. Wiederum ist wahrscheinlich Erythrocytenstroma die Quelle des akkumulierenden Sphingomyelins, da es neben Lecithin und Phosphatidyläthanolamin das vorherrschende Phospholipid in der Zellmembran der roten Blutkörperchen ist. Ebenso ist Sphingomyelin ein Hauptlipid aller subzellulären Elemente und der Plasmamembranen der Zellen; daher kann man annehmen, daß Sphingomyelin als Folgeprodukt des Umsatzes (turnover) von Zellbestandteilen in den meisten, wenn nicht in allen Geweben auftritt.

Die Diagnose auf Niemann-Picksche Krankheit kann durch Bestimmung der Sphingomyelinase-Aktivität in durch Biopsie entnommenem Gewebe, in beschallten Leukocyten^[16] oder in Extrakten von Hautfibroblasten-Kulturen gesichert werden^[23]. Ein künstliches chromogenes Substrat zur Messung der Sphingomyelinase-Aktivität, 2-N-Acylamido-4-nitrophenylphosphorylcholin, ist kürzlich vorgeschlagen worden (Abb. 4)^[24]. Es muß sich zeigen, ob mit dieser Verbindung genaue Werte der Sphingomyelinase-Aktivität in Zellen und Geweben erhalten werden können. Zufriedenstellende Testverfahren für die



A918.4

Abb. 4. 2-N-Acylamido-4-nitrophenylphosphorylcholin, ein künstliches Substrat zur Messung der Sphingomyelinase-Aktivität. Das entstehende 2-N-Acylamido-4-nitrophenolat-Ion ist gelborange.

Erkennung heterozygoter Träger der Niemann-Pickschen Krankheit sind kürzlich entwickelt worden^[6, 7]. Die pränatale Diagnose dieser Krankheit ist inzwischen ein anerkanntes Verfahren^[25].

2.4. Sklerosierende Leukoencephalitis: Krabbesche Krankheit

Der metabolische Defekt bei Patienten mit dieser Krankheit ist ein Mangel an β -Galaktosidase, welche die Hydrolyse von Galaktocerebrosiden (Tabelle 2, Zeile 3) katalysiert^[26]. Das akkumulierende Galaktocerebroside stammt

vermutlich aus dem Umsatz (turnover) und der Restrukturierung des Myelins während der Entwicklung des Nervensystems. Patienten mit dieser Störung können durch Bestimmung der Galaktocerebrosidase-Aktivität in zirkulierenden Leukocyten und Hautfibroblasten-Kulturen diagnostiziert werden^[27]. Heterozygoten werden am besten durch ähnliche Tests an Serumproben nachgewiesen. Über den pränatalen Nachweis der Krabbeschen Krankheit bei einem Fetus wurde kürzlich berichtet^[28].

2.5. Metachromatische Leukodystrophie (MLD)

Bei Patienten mit dieser Krankheit wird Ceramid-galaktosyl-3-sulfat (Sulfatid; Tabelle 2, Zeile 4) in verschiedenen Geweben akkumuliert. Der biochemische Defekt bei MLD ist der Mangel eines Enzyms, das die Sulfatid-Hydrolyse katalysiert^[29,30]. Das Enzym bezeichnet man im allgemeinen als Arylsulfatase A, da seine katalytische Aktivität häufig mit Arylsulfaten als Substrat bestimmt wird (Abb. 5). Patienten und heterozygote Träger lassen sich durch Bestimmung der Arylsulfatase-A-Aktivität in zirkulierenden

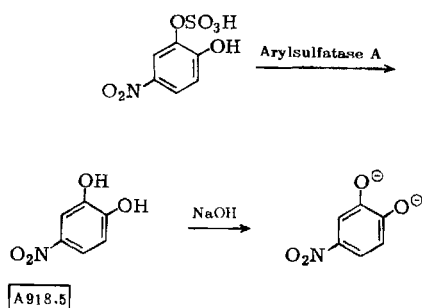


Abb. 5. 2-Hydroxy-5-nitrophenylsulfat, ein künstliches Substrat zur Messung der Arylsulfatase-A-Aktivität. Das Sulfat und das 4-Nitro-brenzcatechin sind gelb, das Anion (pH = 11–12) ist rot.

Leukocyten^[31–33] und in Extrakten von Hautfibroblasten-Kulturen^[34] ermitteln. Vermutlich wird sich dieses Testverfahren auch für die pränatale Diagnose der MLD eignen.

2.6. Ceramid-lactosid-Lipidosen

Kürzlich wurde über einen Patienten berichtet, bei dem Ceramid-lactosid (Tabelle 2, Zeile 5) das hauptsächlich akkumulierende Lipid war. Der metabolische Defekt ist ein Mangel an β -Galaktosidase, welche die hydrolytische Abspaltung des Galaktosemoleküls vom Ceramid-lactosid katalysiert^[35]. Zur genauen Identifizierung von Homozygoten und Heterozygoten^[36] muß derzeit im Galaktose-teil markiertes Ceramid-lactosid^[37] verwendet werden.

2.7. Fabrysche Krankheit

Hier handelt es sich um eine Lipidose, bei der Ceramid-trihexosid (Tabelle 2, Zeile 6) in verschiedenen Geweben, besonders in der Niere, akkumuliert wird. Der enzymatische Defekt ist ein Mangel an Ceramid-trihexosid- α -Galaktosidase^[38]. Hochgereinigtes Enzym wurde aus Dünndarmgewebe gewonnen^[39]. Die Hauptquelle des akku-

mulierenden Ceramid-trihexosids ist Globosid (Tabelle 2, Zeile 8) aus alternden Erythrocyten.

Enzymtests an Proben, die durch Biopsie der Dünndarmschleimhaut gewonnen werden, bieten eine befriedigende Möglichkeit für die Diagnose von Patienten und Heterozygoten^[38]. Ein vorteilhaftes Verfahren, bei dem künstliche chromogene oder fluorogene α -Galaktopyranoside verwendet werden, ist vor kurzem beschrieben worden^[40]. Verbesserte Methoden wurden auch für die Glykolipidbestimmung im Urinsediment entwickelt, ein Verfahren, das sowohl zur Diagnose der Fabryschen Krankheit als auch anderer Sphingolipidosen geeignet ist^[41]. Der pränatale Nachweis der Fabryschen Krankheit ist inzwischen ein anerkanntes Verfahren^[42].

2.8. Tay-Sachssche Krankheit

Diese Krankheit tritt ungefähr bei einem von 6000 Neugeborenen der Aschkenas-Juden auf, wurde aber auch bei vielen anderen Bevölkerungsgruppen beobachtet, jedoch ist sie dort um ca. zwei Größenordnungen weniger häufig. Histologische Untersuchungen des Gehirns zeigten geschwollene Ganglienzellen in verschiedenen Stadien der Degeneration. Viele von ihnen enthielten konzentrisch geschichtete „membranöse Cytoplasmakörper“, die sich dunkel in der elektronenmikroskopischen Aufnahme abzeichnen (Abb. 6). Sie bestehen aus Eiweiß, Cholesterin, Phospholipid und Tay-Sachs-Gangliosid (G_{M2}) (Tabelle 2, Zeile 7), den pathognomonischen Substanzen, die sich im Gehirn der Patienten anhäufen. Ein anderes Sphingolipid,

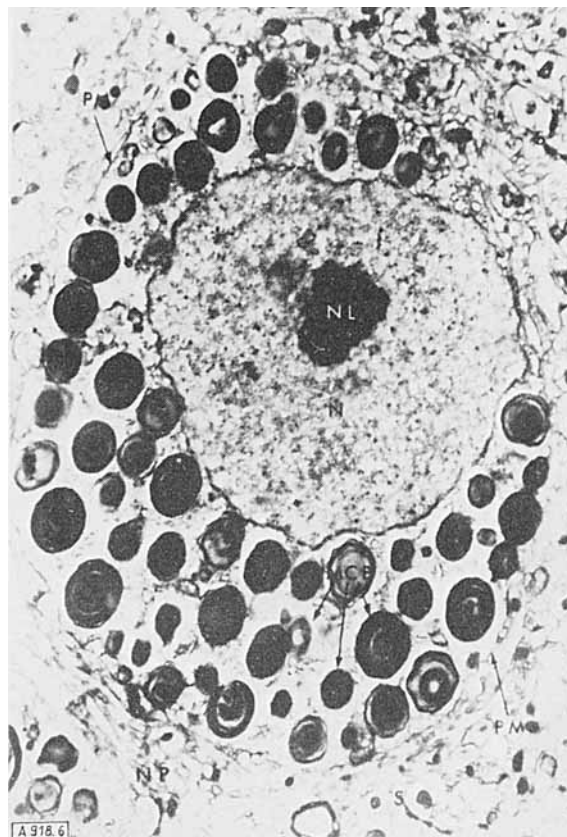


Abb. 6. Membranöse Cytoplasmakörper (MCB) in den Nervenzellen eines Patienten mit Tay-Sachsscher Krankheit [43]. N = Nucleus, NL = Nucleolus, PM = Plasmamembran.

das sialinsäure-freie^[3] Tay-Sachs-Gangliosid (Ceramid-glucose-galaktose-*N*-acetylgalaktosamin), wird ebenfalls verstärkt im Gehirn solcher Kinder gefunden, jedoch nur zu einem Fünftel der Konzentration von G_{M_2} . Die Lipide werden im wesentlichen nur im Zentralnervensystem akkumuliert mit der bemerkenswerten Ausnahme, daß häufig auch die Neuronen des Darms einbezogen sind.

Die Aufklärung des spezifischen enzymatischen Defekts bei der Tay-Sachsschen Krankheit wurde durch Schwierigkeiten bei der Herstellung von markiertem G_{M_2} für metabolische Untersuchungen behindert. Die Synthese dieses Moleküls durch Organiker steht immer noch aus. G_{M_2} mit ^3H -markiertem *N*-Acetylneuraminsäure-Teil wurde bereits durch Kombination von Biosynthese in vivo und selektivem enzymatischem Abbau des Gemisches radioaktiver Ganglioside gewonnen^[44]. Eine ^{14}C -Markierung von G_{M_2} im *N*-Acetylgalaktosamin-Teil gelang durch enzymatische Synthese in vitro^[45]. Mit diesen spezifisch markierten Verbindungen wurde gezeigt, daß der G_{M_2} -Katabolismus entweder durch Abspaltung von *N*-Acetylneuraminsäure^[46] oder *N*-Acetylgalaktosamin^[47] eingeleitet werden kann. Während im Gewebe von Tay-Sachs-Patienten eine normale G_{M_2} -Neuraminidase-Aktivität^[48] gefunden wird, ist der G_{M_2} -Hexosaminidase-Gehalt stark vermindert^[48-50]. Diese Ergebnisse stützen die Theorie, daß das Hexosaminidase-Isoenzym A beim G_{M_2} -Katabolismus eine Rolle spielt. Das Fehlen dieses Enzymes bei Tay-Sachs-Patienten wurde mit Hilfe künstlicher Substrate nachgewiesen^[51]. Die völlige Aufklärung der Pathogenese der Tay-Sachsschen Krankheit wird dadurch erschwert, daß es im normalen Gewebe die beiden genannten Wege für den Abbau von G_{M_2} gibt und daß nur der Abbau mit Hexosaminidase bei Tay-Sachs-Patienten gestört ist^[48-50, 52].

In den Geweben von Patienten mit der zweiten Form oder „O-Variante“ der Tay-Sachsschen Krankheit wird eine Abnahme der Hexosaminidase-Gesamtaktivität gefunden^[53]. Die Störung tritt nicht überwiegend bei Aschenas-Juden auf; die meisten beschriebenen Fälle betrafen andere Patienten. Außer der Akkumulation von G_{M_2} im Gehirn wird auch Globosid (Tabelle 2, Zeile 8) in peripheren Organen abgelagert.

Bei der dritten Kategorie der Tay-Sachsschen Krankheit, der „AB-Variante“, werden beim Nachweis mit künstlichen Substraten zwar die beiden Hexosaminidase-Isoenzyme A und B gefunden; der G_{M_2} -Katabolismus ist bei diesen Patienten jedoch gestört^[53]. Mit Ausnahme der AB-Variante ist die Diagnose von Tay-Sachs-Homozygoten und -Heterozygoten durch Hexosaminidasetests an Serumproben dennoch leicht durchzuführen^[54]. Über den pränatalen Nachweis der Tay-Sachsschen Krankheit an mehreren Feten ist berichtet worden^[55, 56].

2.9. Generalisierte G_{M_1} -Gangliosidose

Die Substanz, die im Nervensystem von Patienten mit dieser Krankheit hauptsächlich akkumuliert wird, ist das Gangliosid G_{M_1} (Tabelle 2, Zeile 9). Durch die Bezeichnung

G_{M_1} -Gangliosidose wird häufig auf diese Tatsache hingewiesen. Zusammen mit der Ablagerung von G_{M_1} tritt auch ein keratansulfatartiges Mucopolysaccharid in verstärktem Maße in den peripheren Geweben derartiger Patienten auf. Die Störung wird durch den Mangel an G_{M_1} -Gangliosid- β -Galaktosidase verursacht, welche die Hydrolyse des terminalen Galaktoserestes am Monosialyl-tetrahexosylgangliosid katalysiert^[57]. Bei Patienten mit dieser Krankheit ist die gesamte β -Galaktosidase-Aktivität im Gewebe abgeschwächt, wie durch Messung mit künstlichen Substraten festgestellt wurde.

Infolge dieser drastischen Erniedrigung der Galaktosidase-Konzentration wäre zu erwarten, daß andere Substrate mit endständigem Galaktosemolekül wie Galaktocerebrosid (Tabelle 2, Zeile 3) oder Ceramid-lactosid (Tabelle 2, Zeile 5) zusammen mit G_{M_1} akkumuliert werden. Dies wurde jedoch nicht beobachtet; vielmehr wurde im Gewebe dieser Patienten eine vier- bis fünffache Erhöhung der Aktivität von Enzymen festgestellt, welche die Hydrolyse von Galaktocerebrosid und Ceramid-lactosid katalysieren^[58]. Dennoch sind künstliche Galaktopyranosid-Substrate sehr nützlich für die Diagnose von Homozygoten, zur Identifizierung von Heterozygoten^[59] und zur pränatalen Ermittlung der G_{M_1} -Gangliosidose^[60]. Das akkumulierende G_{M_1} stammt möglicherweise aus dem Umsatz (turnover) plasmatischer Membranbestandteile verschiedener Zellen, da Ganglioside in derartigen Strukturen in hohen Konzentrationen vorkommen^[61, 62].

2.10. Fucosidose

Eine Diskussion der Lipid-Speicherkrankheiten sollte einige neuere Beobachtungen an einer kleinen Gruppe von Patienten einbeziehen, die unter einer als Fucosidose bezeichneten Störung leiden^[63]. Der enzymatische Defekt besteht in einem völligen Mangel an α -L-Fucosidase im Gewebe^[64]. Über natürliche Substrate dieses Enzyms ist bisher wenig bekannt; man weiß jedoch, daß Darmgewebe, rote Blutkörperchen und bestimmte andere Gewebe Fucoglykolipide mit H-, Le^a- und Le^b-Isoantikörper-Aktivität enthalten^[65]. In Übereinstimmung mit der erwarteten Pathophysiologie dieser Störung wurde ein sehr großer Anstieg von Pentahehexosylfucoglykolipid im Lebergewebe eines Patienten mit Fucosidose beobachtet^[66]. Es ist anzunehmen, daß der spezifische metabolische Defekt bei dieser Krankheit innerhalb kurzer Zeit eindeutig nachgewiesen wird und daß es sich um einen Mangel einer am Fucolipid-Katabolismus beteiligten Fucosidase handelt (Tabelle 2, Zeile 10).

3. Behandlung

3.1. Gauchersche Krankheit

Zur Korrektur erblicher Stoffwechselkrankheiten wurden mehrere potentielle Therapieformen diskutiert^[67, 68], jedoch sind direkte Untersuchungen bisher nur in bescheidenem Umfang durchgeführt worden. Patienten mit Morbus Gaucher benötigen oft eine unterstützende Therapie

[*] *N*- oder *O*-acylierte Neuraminsäuren werden auch Sialinsäuren genannt.

wie die Zufuhr von Vitaminen und Eisen oder Leberextrakt gegen die Anämie und eine Milzexstirpation wegen der Entwicklung hämorrhagischer Tendenzen. Außer diesen Palliativmaßnahmen besteht das wesentliche Konzept für die Therapie der Gaucherschen Krankheit in der Hoffnung, eine Möglichkeit zur Wiederherstellung der Enzymaktivität in den Geweben zu finden (Tabelle 3). Da die Milz eine hohe Glucocerebrosidase-Aktivität besitzt, wurde die Transplantation dieses Organs lange Zeit als therapeutische Maßnahme betrachtet^[67]. Hierfür wurden Techniken entwickelt, und vor kurzem wurde diese Operation an einem Patienten mit Gaucherscher Krankheit durchgeführt^[69]. Der totale Plasmalipidhexosespiegel sank postoperativ für kurze Zeit; die Menge des zirkulierenden Glucocerebrosids nahm jedoch nur geringfügig ab. Der Patient starb drei Monate nach der Operation. Aus dieser wichtigen Studie muß gefolgert werden, daß die Milztransplantation noch ein sehr gefährliches Unterfangen ist, dessen Wirksamkeit bei der Behandlung der Gaucherschen Krankheit sehr stark angezweifelt werden muß.

Tabelle 3. Therapeutische Möglichkeiten.

1. Enzyzersatz
 - 1.1. Organtransplantation
2. Parenterale Verabreichung gereinigter Enzyme
 - 2.1. Tierische Quellen
 - 2.2. Menschliche Quellen
 - 2.3. Verkapselte Enzyme in biologisch abbaubaren Mikrokapseln
3. Perkolation des Bluts durch polymer-gebundene Enzyme
4. Verabreichung von DNA
 - 4.1. Transduktion von Viren
5. Antienzym-Antikörper
6. Kreuzen und Ersetzen von Zellen des Patienten
7. Verabreichen von metabolischen Kooperationsfaktoren

Die therapeutische Möglichkeit, die zur Zeit am aussichtsreichsten erscheint, ist der Ersatz des fehlenden Enzyms durch parenterale Verabreichung gereinigter Glucocerebrosidase. Das Enzym wurde aus menschlicher Milz^[11] oder in wesentlich stärker angereicherter Form aus Rindermilz^[70] gewonnen. Glucocerebrosidase von hohem Reinheitsgrad wurde kürzlich aus menschlichem Placentagewebe isoliert^[71]. Wir bevorzugen Enzyme aus menschlichen Quellen, da die Wahrscheinlichkeit einer ungünstigen immunologischen Reaktion nach der Injektion hierbei am geringsten ist. Experimentelle Befunde weisen darauf hin, daß exogene Enzyme von den Zellen des reticuloendothelialen Systems aufgenommen werden^[72], was für die Behandlung der Gaucherschen Krankheit in hohem Maße wünschenswert erscheint. Es ist zu überlegen, ob die Konzentration an exogenem Enzym in diesen Zellen ansteigen würde, wenn das Enzym in biologisch abbaubaren „Liposomen“ eingekapselt wäre^[73]. Die rationale Grundlage der parenteralen Enzymtherapie wird durch Untersuchungen gestützt, in denen Mäuse und Patienten mit Glykogen-Speicherkrankheiten α -Glucosidase erhielten. Der Glykogengehalt der Leber nahm bei den Versuchstieren^[74] und bei zwei Patienten mit Glykogenose ab^[75, 76].

Es ist jedoch auch über den negativen Ausgang eines im wesentlichen ähnlichen therapeutischen Versuchs berichtet

worden^[77]. Alle vorangegangenen Studien wurden mit sehr rohen Glucosidase-Präparationen aus dem Pilz *Aspergillus niger* durchgeführt; Häufigkeit der Injektionen und Menge des injizierten Enzyms variierten stark. Daher ist es praktisch unmöglich, aus den veröffentlichten Berichten relevante Schlußfolgerungen über den Erfolg dieser Behandlung abzuleiten.

Verfahren zum Enzyzersatz eignen sich möglicherweise zur Senkung des Lipidspiegels in peripheren Organen und Geweben; es erscheint jedoch zweifelhaft, ob eine ausreichende Menge des parenteral verabreichten Enzyms die Blut-Hirn-Schranke überwindet, so daß Patienten mit Störungen im Zentralnervensystem wirksam behandelt werden können. Es sind auch alternative Verfahren zur Erhöhung der Enzymaktivität im Gehirn erwogen worden, doch scheinen alle derzeitigen Konzepte potentiell recht gefährlich zu sein. Eine Technik, die auf klinische Brauchbarkeit geprüft werden könnte, ist die vorübergehende Öffnung der Blut-Hirn-Schranke durch Injektion einer hypertonen Lösung von Harnstoff oder einer anderen Verbindung in die Halsschlagader^[78]. Vor klinischen Versuchen ist es aber notwendig, dieses Verfahren wesentlich zu verfeinern und zusätzliche Erfahrungen zu sammeln, da es bei den Versuchstieren häufig zu verschiedenen starken Lähmungen kommt.

Eine andere Möglichkeit der Therapie, deren Verwirklichung zwar noch weit entfernt sein mag, die sich jedoch vor kurzem dem experimentellen Stadium einen Schritt genähert hat, ist das lange gesuchte Verfahren der Übertragung (Transduktion) menschlicher Zellen mit Hilfe eines Virus, das den genetischen Code für ein fehlendes Enzym enthält („genetic engineering“)^[79].

Zwei verschiedene Hindernisse müssen beseitigt werden, bevor dieses Verfahren für Humanversuche herangezogen werden kann. Das erste ist die enorme Anzahl infektiöser Virus-Partikeln, die verabreicht werden muß, um mit Sicherheit eine Zelle in Ordnung zu bringen. Gegenwärtig liegt dieses Verhältnis zwischen 1000 und 10000 Viren pro Zelle. Virämie und Encephalitis, die solchen therapeutischen Versuchen notwendigerweise folgen, sind selbstverständlich nicht tragbar. Es bleibt zu hoffen, daß Verfahren entdeckt werden, mit deren Hilfe der augenblicklich erforderliche hohe Anteil infektiöser Partikel drastisch reduziert werden kann, beispielsweise die Entwicklung einer ähnlichen Technik wie bei der Verwendung des thermisch inaktivierten Sendai-Virus, das bei der Herstellung von gekreuzten Zellen von großem Nutzen war.

Zum zweiten stammen die Viren, die gegenwärtig für Zellübertragungen verfügbar sind, hauptsächlich aus der Gruppe der λ -Phagen, die normalerweise DNA aus *E. coli* infizieren und extrahieren. Soweit bekannt, enthält dieser Mikroorganismus keinerlei Sphingolipid-Hydrolasen. Daher muß eine andere Quelle für das Ersatzcistron gesucht werden. Eine denkbare Quelle ist die sphingolipidreiche Hefe *H. ciferii*. Es ist nicht bekannt, ob ein Virus für Transduktionsexperimente mit solchen Zellen gefunden werden kann.

Ein weiteres Konzept für die Therapie von Lipid-Speicherkrankheiten sollte im Auge behalten werden. Es zeigte sich in mehreren Fällen, daß Antienzym-Antikörper unter be-

stimmten Bedingungen die Enzymaktivität erhöhen^[80-83]. Dies könnte eine wichtige Entdeckung sein, da sich die ersten beiden dieser Berichte mit der Aktivierung von Enzymmutanten aus *E. coli* befassen, die in Abwesenheit geeigneter Antikörper keine katalytische Wirkung zeigen. Bei Zugabe von Antikörpern wurden die Enzyme ebenso aktiv wie das nicht-mutierte Enzym des Wildtyps. Die potentielle Bedeutung dieser Beobachtung wird durch die Tatsache unterstrichen, daß es in den Geweben von Patienten mit mehreren genetischen Krankheiten Proteine gibt, die mit Antikörpern, die gegen die normalen menschlichen Enzyme gerichtet sind, reagieren^[84, 85]. Daher ist es denkbar, daß mutierte menschliche Enzyme mit niedriger katalytischer Wirksamkeit durch Zugabe geeigneter Antikörper aktiviert werden. Dieses neuartige Konzept bedarf ebenfalls umfassender zusätzlicher Experimente, bevor man versuchen kann, das Phänomen für die Behandlung menschlicher Krankheiten auszunutzen, da die Möglichkeit einer induzierten Amyloidose^[86] auf jeden Fall ausgeschlossen werden muß.

3.2. Niemann-Picksche Krankheit

Auch hier muß man die Möglichkeit exogener Gaben des fehlenden Enzyms erwägen. Gereinigte menschliche Sphingomyelinase steht für therapeutische Versuche jedoch nicht in ausreichenden Mengen zur Verfügung. Vielleicht werden sich Lebertransplantationen im Lauf der Zeit zur Linderung dieser Krankheit heranziehen lassen. Als Alternative könnte es sich lohnen, die Möglichkeiten von Sphingomyelinase-Gaben aus anderen als menschlichen Quellen, z. B. aus Rinderleber, oder sogar in Form von ausreichend gereinigten Enzymen aus Bakterien zu erforschen^[87]. Besondere Vorsicht ist jedoch geboten, wenn man die Enzymersatz-Therapie für die Niemann-Picksche Krankheit in Betracht zieht. Wegen des ubiquitären Auftretens von Sphingomyelin ist es denkbar, daß parenterale Injektionen von Sphingomyelinase Hämolyse und allgemeine Zerstörung der Zellen mit schwerwiegenden Folgeerscheinungen nach sich ziehen. Um derartige Wirkungen auszuschließen, könnte Sphingomyelinase in Form von biologisch abbaubaren Mikrokapseln verabreicht werden.

3.3. Krabbesche Krankheit

Der Enzymersatz-Therapie wird unter den möglichen Heilverfahren besondere Bedeutung beigemessen, obwohl auch hier der möglicherweise eingeschränkte Zugang des parenteral verabreichten Enzyms zum Nervensystem seine Wirkung zunichte machen kann. Bei der Untersuchung der therapeutischen Zugänglichkeit dieser Krankheit erweist sich die gut bekannte Tatsache als besonders vorteilhaft, daß bei bestimmten Hunderassen eine Kugelzellenanämie auftritt, die der Krabbeschen Krankheit bei Menschen in vielerlei Hinsicht ähnelt^[88]. Hierdurch bietet sich die ungewöhnlich gute Gelegenheit, mögliche Heilverfahren an diesem Tiermodell zu untersuchen. Der entscheidende Hinderungsgrund für diese Versuche ist zur Zeit der Mangel an ausreichenden Mengen hochgereinigter Galaktocerebrosidase. Es bleibt zu hoffen, daß diese Einschränkung bald überwunden sein wird.

3.4. Metachromatische Leukodystrophie (MLD)

Es sind zwei bemerkenswerte Ansätze zur Enzymersatz-Therapie der MLD gemacht worden. Der erste Versuch wurde 1967 von *Austin* durchgeführt, der einem Patienten mit MLD eine relativ rohe Präparation von Arylsulfatase aus menschlichem Urin intrathekal, d. h. in den Liquorraum, infundierte^[89]. Der Patient reagierte mit starkem Fieber, und die MLD besserte sich nicht. Bei einer anderen Untersuchung wurde eine partiell gereinigte Präparation von Arylsulfatase A aus Rinderhirn intravenös und intrathekal infundiert^[90]. Der Patient bekam Fieber, und wiederum war keine klinische Verbesserung zu beobachten. Nach intravenöser Infusion wurde Enzymaktivität in der Leber gefunden, nicht jedoch im Gehirn.

Vom Standpunkt der Enzymersatz-Therapie sind diese Untersuchungen sehr entmutigend. Einen Hoffungsschimmer gibt jedoch die kürzlich veröffentlichte Beobachtung, daß die Sulfatidmenge in kultivierten Fibroblasten eines Patienten mit MLD abnimmt, wenn dem Kulturmedium ungereinigte Arylsulfatase A aus Urin zugesetzt wird^[91]. Durch diese Untersuchungen wird erneut die Notwendigkeit hervorgehoben, neue Konzepte und Ansatzpunkte zu entwickeln, um den Enzymmangel im Nervensystem zu beheben.

3.5. Fabrysche Krankheit

Die Verabreichung von Diphenylhydantoin in mäßigen Dosen lindert in vielen Fällen die Schmerzen der peripheren Neuralgie, die ziemlich häufig bei jugendlichen Patienten mit Fabryscher Krankheit auftritt^[92]. Aus Humanurin und -placenta erhielten wir homogene Präparationen von Ceramid-trihexosidase^[93], mit denen in Kürze Versuche zum Enzymersatz durchgeführt werden sollen.

Ein anderer Vorschlag zur Behandlung der Fabryschen Krankheit ist die Nierentransplantation^[94]. Eine informative Studie auf dieser Basis stammt von *Philippart*^[95], der eine vorübergehende postoperative Senkung des Ceramid-trihexosid-Spiegels im Plasma fand. Der Ceramid-trihexosid-Gehalt im Plasma stieg jedoch wieder allmählich bis zum präoperativen Wert an, obwohl die Funktion der verpflanzten Nieren offensichtlich zufriedenstellend war.

Ein anderes Verfahren ist die Infusion von frischem, normalem menschlichem Plasma. Es wurde behauptet, daß durch dieses Verfahren der Spiegel des zirkulierenden Ceramid-trihexosids erniedrigt wurde und die Ceramid-trihexosidase-Aktivität auf erstaunlich hohe Werte ansteigt^[96]. Dieser Bericht löste großes Interesse und erhebliche Kontroversen aus, da es in den meisten Laboratorien^[97, 98], einschließlich dem des Autors, unmöglich war, die durch Plasmapräparationen katalysierte Hydrolyse von galaktose-markiertem Ceramid-trihexosid nachzuweisen. Aus diesen Gründen erscheint es mir geboten, über die Wirksamkeit von Plasmainfusionen zur Behandlung der Fabryschen Krankheit noch nicht zu urteilen.

An dieser Stelle verdient die Möglichkeit der Verwendung polymer-gebundener Enzyme Beachtung. Vor kurzem ha-

ben wir Ceramid-trihexosidase kovalent an eine Polyacrylamid-Matrix gekoppelt^[99]. Der Grund hierfür war die Absicht, Vollblut (oder Plasma) über eine Säule mit stabilisierten Enzymen zu schicken, in der Hoffnung, daß dadurch der erhöhte Spiegel des zirkulierenden Ceramid-trihexosids bei Patienten mit Fabryscher Krankheit^[100] gesenkt wird. Es ist zu erwarten, daß eine derartige Erniedrigung des Ceramid-trihexosid-Gehalts im Plasma den Austritt des akkumulierten Glykolipids aus dem Gewebe des Patienten bewirkt. Das Haupthindernis bei dieser Therapieform ist das komplizierte Verfahren zur Herstellung einer absolut sterilen extrakorporalen arteriovenösen Verbindung. Die Schwierigkeiten sind mit denen bei der Hämodialyse vergleichbar, die bei Patienten mit Fabryscher Krankheit häufig erforderlich ist.

Eine zusätzliche Einschränkung bei diesem Verfahren zur Behandlung von Fabry-Patienten ist die Tatsache, daß die maximale katalytische Aktivität dieses Enzyms bei pH=5.0 liegt; es lassen sich viele Probleme voraussehen, wenn der pH-Wert des Blutes oder Plasmas auf diesen Wert erniedrigt werden muß.

3.6. Tay-Sachssche Krankheit

Ein beträchtlicher Forschungsaufwand ist augenblicklich auf die Enzymersatz-Therapie für Patienten mit der „B-Variante“ der Tay-Sachsschen Krankheit gerichtet. Das fehlende Enzym, Hexosaminidase A, wurde aus Humanplacenta und -urin isoliert und bis zur Homogenität gereinigt^[101]. Bei einem Tay-Sachs-Patienten wurde die Verteilung des Enzyms nach intravenöser Infusion untersucht. Die Enzymaktivität im Blut sank rapide ab; der kinetische Verlauf wird durch die folgende Gleichung beschrieben^[102]:

$$\text{Hexosaminidase-Aktivität} = e^{(-0.0083t + 1.84)}$$

Eine gewisse Hexosaminidase-A-Aktivität trat nach der Infusion in der Leber auf; es gelangte jedoch nur eine sehr geringe Menge des Enzyms ins Gehirn. Offensichtlich sind zur Klärung dieser Fragen noch weitere Untersuchungen erforderlich.

Da die Aktivität von Hexosaminidase A und B im Serum beträchtlich ist, wie durch Messung mit künstlichen Substraten festgestellt wurde, könnte eine Reihe therapeutischer Versuche mit frischem menschlichem Plasma als Hexosaminidase-Quelle durchgeführt werden. Dabei treten jedoch mehrere entscheidende Nachteile auf; z. B. müßten große Plasmamengen infundiert werden. Dieses Hindernis könnte aber bis zu einem gewissen Grad durch Anreicherung des Enzyms ausgeschaltet werden. Ein zweiter und gewichtiger Nachteil ist die völlige Ungewißheit darüber, ob die zirkulierende Plasma-Hexosaminidase die Hydrolyse von G_{M2} , dem akkumulierenden Lipid, katalysiert. Drittens ist es wie immer zweifelhaft, ob eine ausreichende Menge des Enzyms aus dem Blut ins Gehirn übergehen kann. Anders als bei der Permeabilitätsveränderung der Blut-Hirn-Schranke^[78], einer Methode, die im besten Fall als potentiell gefährlich anzusehen ist, oder der Transduktion von Zellbestandteilen („genetic engineering“)^[79], die gegenwärtig mit äußerster Skepsis betrachtet wird, scheint es am vernünftigsten zu sein, die Hexosaminidase chemisch so

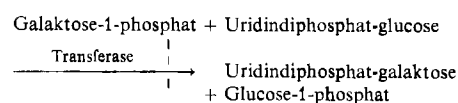
zu modifizieren, daß sie die Blut-Hirn-Schranke passieren kann, ohne die Aktivität gegenüber dem natürlichen Substrat zu verlieren. Mein Vorschlag wäre zu versuchen, das Enzym durch kovalente Bindung eines aliphatischen Aminoalkohols mittlerer Kettenlänge an das Protein chemisch zu modifizieren. Nach aller Voraussicht wird dieses Vorgehen in naher Zukunft einer der Hauptwege auf der Suche nach Behandlungsmöglichkeiten für die Tay-Sachssche Krankheit sein.

3.7. G_{M1} -Gangliosidose

Die Konzepte für die Behandlung von Patienten mit dieser Krankheit schließen sich im allgemeinen denen an, die bei der Tay-Sachsschen Krankheit und den anderen Lipid-Speicherkrankheiten beschrieben wurden. Die β -Galaktosidase, die hierbei eine Rolle spielt, wurde in gereinigter Form aus Lebergewebe von Säugetieren gewonnen^[103]. Ein wesentlicher Vorteil dieser Enzympräparationen ist die hohe Aktivität gegenüber G_{M1} , dem natürlichen Substrat. Die Vorsichtsmaßregeln, die im Abschnitt über die Niemann-Picksche Krankheit im Hinblick auf eine Enzyminfusion diskutiert wurden, müssen jedoch auch in diesem Fall sorgfältig betrachtet werden, wenn man Versuche zum Enzymersatz für die G_{M1} -Gangliosidose in Betracht zieht, da die Ganglioside wichtige Komponenten vieler Zelloberflächen sind.

3.8. Zusätzliche Maßnahmen

Ein potentielles Heilverfahren, dem gegenwärtig große Aufmerksamkeit gewidmet wird, ist die Kreuzung einiger Zellen des Patienten mit anderen menschlichen Zellen, die das Gen für das fehlende Enzym enthalten. Über ein sehr interessantes Experiment auf dieser Basis berichteten Nadler et al. am Beispiel von Patienten mit Galaktosämie^[104]. Diesen Individuen fehlt das Enzym Galaktose-1-phosphat-uridyl-Transferase:



Die hybriden Zellen enthielten katalytisch wirksames Enzym. Diese Ergebnisse legen nahe, daß die ursprünglichen Enzymdefekte auf verschiedene Punktmutationen im genetischen Code der Ausgangszellen zurückzuführen sind und daß allelomorphe Komplementation (Korrektur) in den Hybridzellen stattgefunden hatte. Diese Experimente eröffnen die Möglichkeit der Reimplantation von Zellen nach der Hybridisierung in Gewebekulturen.

Zwei sehr wichtige Vorsichtsmaßnahmen müssen stets beachtet werden, wenn man dieses Verfahren zur Therapie ins Auge faßt. Zum einen besteht die Gefahr, als Antigen wirkende inkompatible Zellen zu produzieren, die sehr schnell vom Empfänger abgestoßen würden. Möglicherweise kann diese Schwierigkeit durch geeignete Auswahl und Klonieren der gekreuzten Zellen, deren Antigenkomplemente für den Patienten verträglich sind, umgangen werden. Zum anderen ist die Tatsache, daß spontane bösartige Transformationen nicht selten bei der Kultivierung

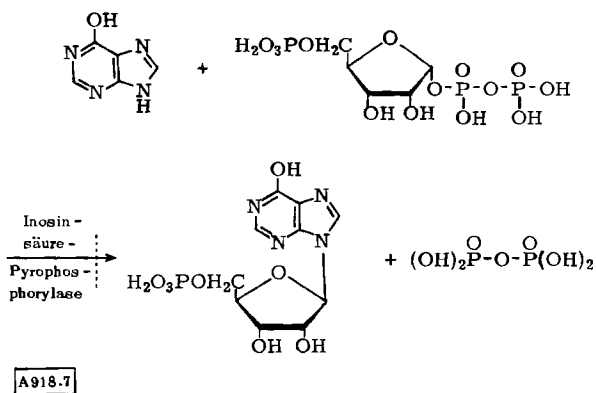


Abb. 7. Hypoxanthin und α -5-Phospho-6-ribose-1-pyrophosphat werden normalerweise von der Inosinsäure-Pyrophosphorylase in Inosinsäure und Pyrophosphat umgewandelt.

von Zellen vorkommen, vielleicht noch viel gefährlicher. Dieses Phänomen tritt wahrscheinlich vor allem dann auf, wenn wiederholte Zellpassagen durchgeführt werden. Versuche, diese schädlichen Reaktionen auszuschließen, sind sehr schwierig, da sie bei Versuchstieren durchgeführt werden müßten. Ob die so erhaltenen Daten zuverlässig genug sind, um eine Extrapolation auf Menschen zuzulassen, ist zweifellos fraglich.

Einige kürzlich erschienene Berichte enthalten Angaben, die es mir erlauben, diese Abhandlung mit vorsichtigem Optimismus zu schließen. 1966 berichteten *Suback-Sharpe, Bürk und Pitts*, daß bei Nierenzellen von jungen Hamstern, die einen Mangel an Inosinsäure-Pyrophosphorylase aufwiesen (Abb. 7), allem Anschein nach der metabolische Defekt behoben wurde, wenn sie in Gegenwart normaler Zellen oder Zellen mit einem Mangel an einem anderen Enzym gezüchtet wurden^[105]. Dieses Phänomen ist genügend bestätigt worden und wird als „metabolische Kooperation“ bezeichnet. Anscheinend bewegt sich ein „Faktor“ zwischen den Zellen; die Substanz, die für die heilende Wirkung bei Patienten mit Mucopolysaccharidose verantwortlich ist, scheint ein Protein zu sein^[106]. Ähnlich wirksame Faktoren wurden in Blutplasma und Urin gefunden. Letztere Beobachtungen veranlaßten *Di Ferrante et al.*, therapeutische Versuche mit Plasmainfusionen bei Patienten durchzuführen, bei denen sich Mucopolysaccharide akkumulierten^[107]. Die Forscher wurden durch diese Ergebnisse ermutigt, und die Experimente wurden auf die Untersuchung des Effekts einer Leukocytentransfusion bei einem Patienten mit einer ähnlichen Störung ausgedehnt^[108]. Dem Patienten soll die Behandlung gut bekommen sein, und die Ergebnisse wurden für besser als die der Plasmainfusion befunden.

Diese Berichte haben eine Flut klinischer Untersuchungen ausgelöst, und es waren sowohl positive^[109] als auch negative^[110] klinische Reaktionen zu verzeichnen. Nach meiner Auffassung verdient diese Technik jetzt gründliche Untersuchungen. Sicherlich wird man die Transfusion von Leukocyten auch bei anderen Stoffwechselkrankheiten versuchen, z. B. bei der Sphingolipidose. Daß dies vernünftig ist, wird durch die Tatsache verdeutlicht, daß Leukocyten Glucocerebrosidase^[111], Galaktocerebrosidase^[112] und Sphingomyelinase-Aktivität^[113] aufweisen. Vorsicht und Zurückhaltung sind auf Seiten des Untersuchers geboten,

damit dieses Konzept nicht zu weit getrieben wird. So wurde zum Beispiel die Implantation von Knochenmarkzellen vorgeschlagen, um Patienten mit immunologischen Mangelercheinungen eine ständige Quelle für Zellen zu verschaffen. In einer kürzlich veröffentlichten Übersicht wurde festgestellt, daß diese Therapieform gegenwärtig ein sehr gefährliches Verfahren ist^[112].

4. Schlußbemerkungen

Es wurde versucht, eine Übersicht der gegenwärtigen Auffassungen über die Therapie von Erbkrankheiten zu geben und auf Ansatzpunkte für zukünftige Untersuchungen hinzuweisen. Behutsamkeit, Vorstellungskraft und Vorsicht sind erforderlich, um wirksame therapeutische Regeln für die Behandlung dieser Störungen aufzustellen. Einige der in diesem Fortschrittsbericht beschriebenen Möglichkeiten sind es wert, jetzt weiter erforscht zu werden; bei anderen ist es ratsam, neue Erkenntnisse und weitere Verbesserungen abzuwarten. Eine bevorzugte Stellung unter den potentiell wirkungsvollen Verfahren nehmen die Enzyersatzversuche mit gereinigten Enzymen und die Verabreichung metabolischer Kooperationsfaktoren ein. Diese Verfahrensweisen sind unter bestimmten Bedingungen wahrscheinlich vorteilhaft. Andere allgemeiner anwendbare Therapieformen für die Heilung des größten Teils der menschlichen Erbkrankheiten müssen noch entwickelt werden.

Eingegangen am 17. Februar 1972 [A 918]
Übersetzt von Wolfgang Schmelzer, Berlin

- [1] A. E. Garrod, Proc. Roy. Med. Chir. Soc., n. s. 2, 130 (1899).
- [2] A. E. Garrod, Lancet II, 1, 73, 142, 214 (1908).
- [3] B. N. La Du, V. A. Zannoni, L. Laster u. J. E. Seegmiller, J. Biol. Chem. 230, 251 (1958).
- [4] J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden u. D. S. Fredrickson: The Metabolic Basis of Inherited Disease. McGraw-Hill, New York 1971, 3. Aufl.
- [5] P. K. Bondy: Duncan's Diseases of Metabolism. W. B. Saunders Co., Philadelphia 1969, 6. Aufl.
- [6] R. O. Brady, Semin. Hematol. 9, 273 (1972).
- [7] R. O. Brady, W. G. Johnson u. B. W. Uhlenhof, Amer. J. Med. 51, 423 (1971).
- [8] R. O. Brady, Clin. Chem. 16, 811 (1970).
- [9] S. J. Thannhauser in H. A. Christian: Lipidoses, Diseases of Cellular Lipid Metabolism. Oxford University Press, London 1950, S. 611.
- [10] E. G. Trams u. R. O. Brady, J. Clin. Invest. 39, 1546 (1960).
- [11] R. O. Brady, J. Kanfer u. D. Shapiro, J. Biol. Chem. 240, 39 (1965).
- [12] R. O. Brady, J. Kanfer u. D. Shapiro, Biochem. Biophys. Res. Commun. 18, 221 (1965).
- [13] R. O. Brady, J. N. Kanfer, R. M. Bradley u. D. Shapiro, J. Clin. Invest. 45, 1112 (1966).
- [14] R. O. Brady, New Engl. J. Med. 275, 312 (1966).
- [15] R. O. Brady u. F. M. King in H. G. Hers u. F. Van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1972, im Druck.
- [16] J. P. Kampine, R. O. Brady, J. N. Kanfer, M. Feld u. D. Shapiro, Science 155, 86 (1967).
- [17] E. Beutler u. W. Kuhl, J. Lab. Clin. Med. 76, 747 (1970).
- [18] M. W. Ho, J. Seck, D. Schmidt, L. Veath, W. G. Johnson, R. O. Brady u. J. S. O'Brien, Amer. J. Hum. Genet. 24, 37 (1972).
- [19] E. L. Schneider, W. C. Ellis, R. O. Brady, J. R. McCulloch u. C. J. Epstein, J. Pediat. 1972, im Druck.
- [20] E. Klenk, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 235, 24 (1935).
- [21] J. N. Kanfer, O. M. Young, D. Shapiro u. R. O. Brady, J. Biol. Chem. 241, 1081 (1966).
- [22] R. O. Brady, J. N. Kanfer, M. B. Mock u. D. S. Fredrickson, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55, 366 (1966).

- [23] H. R. Sloan, B. W. Uhlendorf, J. N. Kanfer, R. O. Brady u. D. S. Fredrickson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 34, 582 (1969).
- [24] R. O. Brady in H. H. Fudenberg: *Scientific Basis of Medicine*. Grune and Stratton, New York 1972, im Druck.
- [25] C. J. Epstein, R. O. Brady, E. L. Schneider, R. M. Bradley u. D. Shapiro, *Amer. J. Hum. Genet.* 23, 533 (1971).
- [26] K. Suzuki u. Y. Suzuki, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 66, 302 (1970).
- [27] Y. Suzuki u. K. Suzuki, *Science* 171, 73 (1971).
- [28] K. Suzuki, E. L. Schneider u. C. J. Epstein, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 45, 1363 (1971).
- [29] J. Austin, A. S. Balasubramanian, T. N. Pattabiraman, S. Saraswathi, D. Basu u. B. K. Bachawat, *J. Neurochem.* 10, 805 (1963).
- [30] E. Mehl u. H. Jatzkewitz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 19, 407 (1965).
- [31] A. K. Percy u. R. O. Brady, *Science* 161, 594 (1968).
- [32] N. H. Bass, E. J. Witmer u. F. E. Dreyfuss, *Neurology* 20, 52 (1970).
- [33] N. Taniguchi u. I. Nanba, *Clin. Chem. Acta* 29, 375 (1970).
- [34] M. M. Kaback u. R. R. Howell, *New Engl. J. Med.* 282, 1336 (1970).
- [35] G. Dawson u. A. O. Stein, *Science* 170, 556 (1970).
- [36] G. Dawson, R. Malaton u. A. O. Stein, *J. Pediat.* 79, 423 (1971).
- [37] N. S. Radin, L. Hof, R. M. Bradley u. R. O. Brady, *Brain Res.* 14, 497 (1969).
- [38] R. O. Brady, A. E. Gal, R. M. Bradley, E. Martensson, A. L. Warshaw u. L. Laster, *New Engl. J. Med.* 276, 1163 (1967).
- [39] R. O. Brady, A. E. Gal, R. M. Bradley u. E. J. Martensson, *J. Biol. Chem.* 242, 1021 (1967).
- [40] J. A. Kint, *Science* 167, 1268 (1970).
- [41] R. J. Desnick, G. Dawson, S. J. Desnick, C. C. Sweeley u. W. Krivit, *New Engl. J. Med.* 284, 739 (1971).
- [42] R. O. Brady, B. W. Uhlendorf u. C. B. Jacobson, *Science* 172, 174 (1971).
- [43] Genehmigte Wiedergabe aus R. D. Terry u. M. Weiss, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 22, 18 (1963).
- [44] E. H. Kolodny, R. O. Brady, J. M. Quirk u. J. N. Kanfer, *J. Lipid Res.* 11, 144 (1970).
- [45] J. M. Quirk, J. F. Tallman u. R. O. Brady, *J. Label. Compounds* 1972, im Druck.
- [46] E. H. Kolodny, J. N. Kanfer, J. M. Quirk u. R. O. Brady, *J. Biol. Chem.* 246, 1426 (1971).
- [47] J. F. Tallman u. R. O. Brady, *J. Biol. Chem.* 1972, im Druck.
- [48] E. H. Kolodny, R. O. Brady u. B. W. Volk, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 37, 526 (1969).
- [49] R. O. Brady, J. F. Tallman, W. G. Johnson u. J. M. Quirk in B. W. Volk u. S. M. Aronson: *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. Plenum Publishing Co., New York 1972, S. 277 ff.
- [50] J. F. Tallman, W. G. Johnson u. R. O. Brady, *J. Clin. Invest.* 51, 2339 (1972).
- [51] S. Okada u. J. S. O'Brien, *Science* 165, 698 (1969).
- [52] R. O. Brady u. E. H. Kolodny, *Progr. Med. Genet.* 8, 225 (1972).
- [53] K. Sandhoff, K. Harzer, W. Wässle u. H. Jatzkewitz, *J. Neurochem.* 18, 2469 (1971).
- [54] J. S. O'Brien, S. Okada, A. Chen u. D. L. Fillerup, *New Engl. J. Med.* 283, 15 (1970).
- [55] L. Schneek, C. Valenti, D. Amsterdam, J. Friedland, M. Adachi u. B. W. Volk, *Lancet* I, 582 (1970).
- [56] J. S. O'Brien, S. Okada, D. L. Fillerup, M. L. Veath, B. Adornato, P. H. Brenner u. J. G. Leroy, *Science* 172, 61 (1971).
- [57] S. Okada u. J. S. O'Brien, *Science* 160, 1002 (1968).
- [58] R. O. Brady, J. S. O'Brien, R. M. Bradley u. A. E. Gal, *Biochim. Biophys. Acta* 210, 193 (1970).
- [59] L. S. Wolf, J. Callahan, J. S. Fawcett, F. Anderman u. C. R. Scriver, *Neurology* 20, 23 (1970).
- [60] M. M. Kaback u. H. R. Sloan, persönliche Mitteilung (1972).
- [61] H.-D. Klenk u. P. W. Choppin, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 66, 57 (1970).
- [62] O. Renkonen, C. G. Gahmberg, K. Simons u. L. Kääriäinen, *Acta Chem. Scand.* 24, 733 (1970).
- [63] P. Durand, C. Borrone u. G. Della Cella, *J. Pediat.* 75, 665 (1969).
- [64] F. Van Hoof u. H. G. Hers, *Lancet* I, 1198 (1968).
- [65] S. I. Hakomori, *Chem. Phys. Lipids* 5, 96 (1970).
- [66] G. Dawson u. J. W. Spranger, *New Engl. J. Med.* 285, 122 (1971).
- [67] R. O. Brady, *New Engl. J. Med.* 275, 312 (1966).
- [68] R. O. Brady, *Bull. N. Y. Acad. Med.* 47, 173 (1971).
- [69] C. G. Groth, L. Hagenfeldt, S. Dreborg, B. Löfström, P. A. Ockerman, K. Samuelson, L. Svennerholm, B. Werner u. G. Westberg, *Lancet* I, 1260 (1971).
- [70] N. J. Weinreb u. R. O. Brady in S. P. Colowick u. N. O. Kaplan: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York 1972, im Druck.
- [71] P. G. Pentchev u. R. O. Brady, unveröffentlichte Beobachtungen (1972).
- [72] K. G. Wakim u. G. A. Fleischer, *J. Lab. Clin. Med.* 61, 107 (1963).
- [73] G. Gregoriadis u. B. E. Ryman, *Biochem. J.* 124, 58 p (1971).
- [74] P. Baudhuin, H. G. Hers u. H. Loeb, *Lab. Invest.* 13, 1139 (1964).
- [75] G. Hug u. W. K. Schubert, *J. Cell Biol.* 35, C 1 (1967).
- [76] J. Fernandes u. F. Huijing, *Arch. Dis. Childhood* 43, 347 (1968).
- [77] R. M. Lauer, T. Mascarinas, A. S. Racela, A. M. Diehl u. B. I. Brown, *Pediat.* 42, 672 (1968).
- [78] S. I. Rapoport, M. Hori u. I. Klatzo, *Science* 173, 1026 (1971).
- [79] C. R. Merrill, M. Geier u. J. C. Petricciani, *Nature* 233, 398 (1971).
- [80] M. B. Rotman u. F. Celada, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 60, 660 (1968).
- [81] F. Melchers u. W. Messer, *Eur. J. Biochem.* 17, 267 (1970).
- [82] F. G. Lehmann, *Biochem. Biophys. Acta* 235, 259 (1971).
- [83] E. Neuwelt, D. Stumpf, J. Austin u. P. Kohler, *Biochim. Biophys. Acta* 236, 333 (1971).
- [84] T. A. Tedesco u. W. J. Mellman, *Science* 172, 727 (1971).
- [85] J. C. Dreyfuss u. Y. Alexandre, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 44, 1364 (1971).
- [86] G. G. Glenner, D. Ein, E. D. Eanes, H. A. Bladen, W. Terry u. D. L. Page, *Science* 174, 712 (1971).
- [87] M. W. Slein u. G. F. Logan, Jr., *J. Bacteriol.* 90, 69 (1965).
- [88] Y. Suzuki, J. Austin, D. Armstrong, K. Suzuki, J. Schlenker u. T. Fletcher, *Exp. Neurol.* 29, 65 (1970).
- [89] J. H. Austin in S. M. Aronson u. B. W. Volk: *Inborn Disorders of Sphingolipid Metabolism*. Pergamon Press, New York 1967, S. 359 ff.
- [90] H. L. Greene, G. Hug u. W. K. Schubert, *Arch. Neurol.* 20, 147 (1969).
- [91] M. T. Porter, A. L. Fluharty u. H. Kihara, *Science* 172, 1263 (1971).
- [92] L. A. Lockman, W. Krivit u. R. J. Desnick, *Neurology* 21, 423 (1971).
- [93] W. G. Johnson u. R. O. Brady in S. P. Colowick u. N. O. Kaplan: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York 1972, im Druck.
- [94] R. O. Brady, *Med. Clin. N. Amer.* 53, 827 (1969).
- [95] M. Philippart in S. M. Aronson u. B. W. Volk: *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. Pergamon Press, New York 1972, im Druck.
- [96] C. A. Mapes, R. L. Anderson, C. C. Sweeley, R. J. Desnick u. W. Krivit, *Science* 169, 987 (1970).
- [97] L. S. Wolfe, persönliche Mitteilung (Dez. 1970).
- [98] G. Romeo, persönliche Mitteilung (Okt. 1971).
- [99] A. E. Gal, W. G. Johnson u. R. O. Brady, unveröffentlichte Beobachtungen (1972).
- [100] D. E. Vance, W. Krivit u. C. C. Sweeley, *J. Lipid Res.* 10, 188 (1969).
- [101] W. G. Johnson u. R. O. Brady in S. P. Colowick u. N. O. Kaplan: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York 1972, im Druck.
- [102] W. G. Johnson, R. J. Desnick, D. M. Long, H. L. Sharp, W. Krivit, B. Brady u. R. O. Brady, *National Foundation Original Article Series*, New York 1972, im Druck.
- [103] F. A. Cumar, J. F. Tallman u. R. O. Brady, *J. Biol. Chem.* 1972, 247, 2322 (1972).
- [104] H. C. Nadler, C. M. Chako u. M. Rachmeler, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 67, 976 (1970).
- [105] H. Suback-Sharpe, R. R. Bürk u. J. D. Pitts, *Heredity* 21, 342 (1966).
- [106] J. C. Frantantoni, C. W. Hall u. E. F. Neufeld, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 64, 360 (1969).
- [107] N. Di Ferrante, B. L. Nichols, P. V. Donnelly, G. Neri, R. Hrgovcic u. R. K. Berglund, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 68, 303 (1971).
- [108] A. G. Knudson, Jr., N. Di Ferrante u. J. E. Curtis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 68, 1738 (1971).
- [109] E. F. Neufeld, persönliche Mitteilung (1972).
- [110] A. S. Dekaban, noch unveröffentlicht.
- [111] J. Kampine, R. O. Brady, R. A. Yankee, J. N. Kanfer, D. Shapiro u. A. E. Gal, *Cancer Res.* 27, 1312 (1967).
- [112] H. J. Meuwissen, G. Rodey, J. McArthur, H. Pabst, R. Gatti, R. Chilgren, R. Hong, D. Frommel, R. Coifman u. R. A. Good, *Amer. J. Med.* 51, 513 (1971).