

Biochemie der Sphingolipidspeicherkrankheiten

Von Konrad Sandhoff[*]

Sphingolipide sind Membranbausteine des tierischen Organismus, die aus dem hydrophoben Ceramid und einem hydrophilen Molekülteil bestehen (Phosphorylcholin, Oligosaccharide oder deren Derivate). Zum schrittweisen Abbau der Sphingolipide sind mehrere Enzyme erforderlich. Ist eines dieser Enzyme defekt oder fehlt es ganz, so häufen sich seine Substrate im Körper an und verursachen besonders schwere Schäden, wenn die Speicherung im Nervengewebe erfolgt. Die Enzymdefekte werden rezessiv vererbt.

1. Einleitung

Über 2300 menschliche Erbleiden waren 1975 bekannt^[1]. Schon 1909 nahm Garrod^[2] an, daß diesen Krankheiten angeborene Stoffwechselstörungen („inborn errors of metabolism“) zugrunde lägen, aber nur für 176 von ihnen konnte bisher biochemisch ein Defekt nachgewiesen werden^[1]. Wenn ein Enzym in seiner Aktivität stark vermindert ist oder überhaupt fehlt, ist der normale Fluß des Stoffwechsels an einer Stelle gestört; läuft die Biosynthese der Substrate ungehemmt weiter, für deren normalen Abbau das defekte Enzym notwendig wäre, so kann es zur pathologischen Vermehrung dieser Substrate kommen. – Solche Anhäufungen werden bei Störungen zahlreicher Stoffwechselwege beobachtet, z. B. beim Abbau von Glykogen, Mucopolysacchariden, Aminosäuren und Sphingolipiden. Je nach Art und Bedeutung der angehäuften Substanzen können verschiedene pathologische Symptome in Erscheinung treten: neben körperlichen Gebrechen aller Art sind es oft Schwachsinn und neurologische Ausfälle. Obwohl ein Zusammenhang zwischen biochemischer Ursache und den neurologischen Auswirkungen bestehen muß, konnte er in den meisten Fällen noch nicht geklärt werden. Eine Beziehung zwischen Substanzanhäufung und neuropathologischem Befund läßt sich aber bei den Sphingolipidspeicherkrankheiten erkennen, die in erster Linie das Nervensystem verändern. Klinisch nehmen einige einen sehr ähnlichen Verlauf; so wird es verständlich, daß erst die Analyse der

pathologisch vermehrten Sphingolipide und die Identifizierung der Enzymdefekte eine klarere Abgrenzung einzelner Krankheitsformen ermöglicht hat.

2. Sphingolipide

Die membranbildenden Lipide des Säugers sind im wesentlichen Glycerinphosphatide, Cholesterin und Sphingolipide. Obwohl die Glycerinphosphatide mengenmäßig am bedeutendsten sind, ist keine Erkrankung bekannt geworden, die durch eine primäre Speicherung eines solchen Phosphatids hervorgerufen wird. Merkwürdigerweise kann jedoch fast jedes Sphingolipid beim Menschen pathologisch angehäuft werden. Diese Speicherkrankheiten heißen Sphingolipidosen. Historisch gesehen hat ihre Untersuchung zur Entdeckung einiger Sphingolipide geführt, wie der Ganglioside^[3–9] und des Glucocerebrosids, auch Glucosylceramid genannt^[10].

Allen Sphingolipiden ist der Aufbau des hydrophoben Molekülanteils, des Ceramids, gemeinsam: Es besteht aus Sphingosin (*trans*-(2*S*,3*R*)-2-Amino-4-octadecen-1,3-diol) als Base und einem an seine Aminogruppe gebundenen Fettsäurerest (Abb. 1). Die Sphingolipide werden nach der Natur ihrer hydrophilen Reste unterschieden, die mit der primären Hydroxylgruppe des Sphingosins verknüpft sind. Beim häufigsten Sphingolipid, dem Sphingomyelin, bildet Phosphorylcholin den hydrophilen Anteil. In den Glykosphingolipiden ist der hydrophile Anteil entweder ein Zuckerrest, wie bei den Cerebrosiden, oder eine Oligosaccharidkette, die im Falle der Ganglioside als charakteristischen Baustein Sialsäure (*N*-Acylneuraminsäure) enthält^[11]. Die bisher „rein“ dargestellten Sphingolipide sind selten

[*] Priv.-Doz. Dr. K. Sandhoff
Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Neurochemische Abteilung
Kraepelinstraße 2, D-8000 München 40

in ihrem hydrophoben Anteil einheitlich, wohl aber in ihrem hydrophilen Rest. Dieser bedingt im wesentlichen das unterschiedliche chemische und physiologische Verhalten der komplexen Lipide. Variationen im hydrophoben Ceramidanteil

spezifisches Glykosphingolipidmuster haben kann, das zudem spezie-spezifische Unterschiede zeigt (vgl. ^[16, 17]). Differenzierte Zellen weisen ein komplexeres Muster auf als undifferenzierte. So beobachtet man auch eine Vereinfachung des Gly-

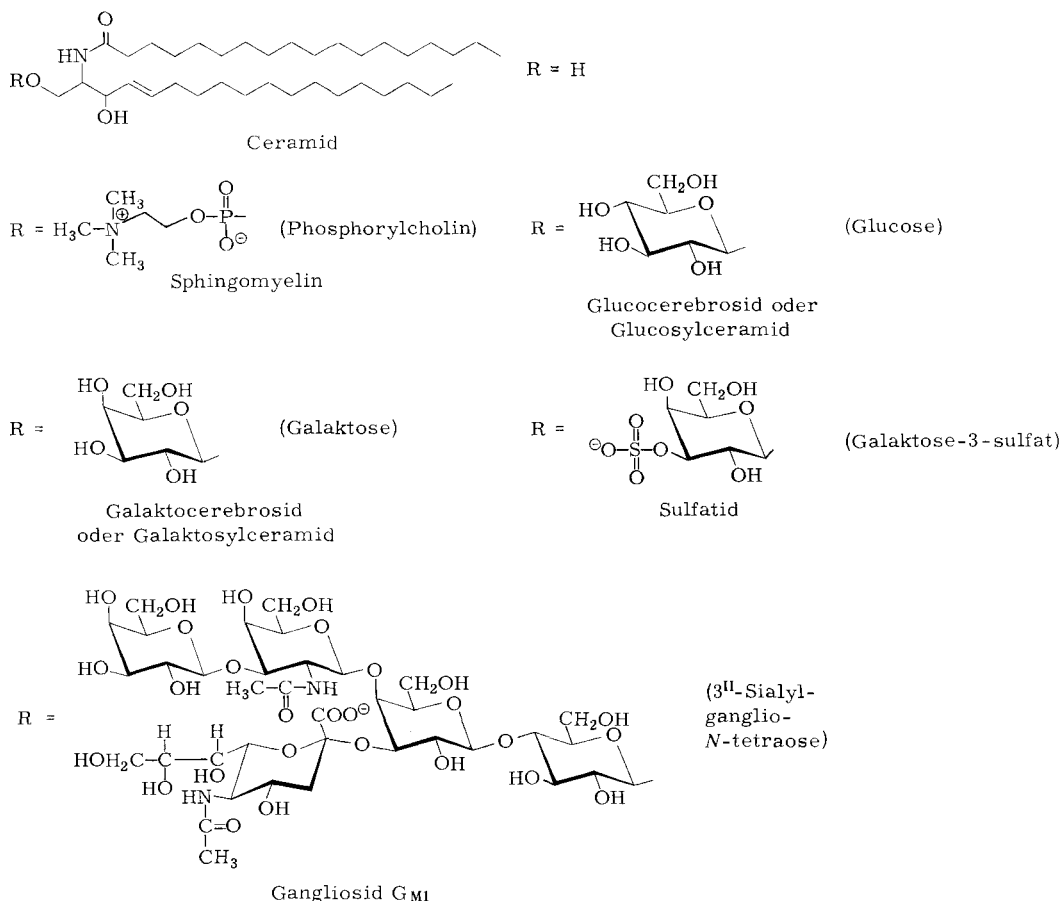


Abb. 1. Struktur einiger Sphingolipidspeichersubstanzen.

spielen bei großen Molekülen wie den Gangliosiden nur eine untergeordnete Rolle: Neben Sphingosin kommt als Base Dihydrosphingosin sowie ein Sphingosin-Analogon mit 20 statt 18 Kohlenstoffatomen vor^[11, 12]. Auch der Fettsäureanteil des Ceramids ist heterogen. Zwar ist stets eine Fettsäure in besonders hoher Konzentration vorhanden, bei den Hirngangliosiden z.B. die Sterarinsäure, ihre Art hängt jedoch von der Herkunft des Gangliosids ab.

3. Lokalisation und Funktion der Sphingolipide

Sphingolipide, insbesondere die Glykosphingolipide, sind Bestandteile der Zellmembranen^[13]. Im Gegensatz zum weitverbreiteten Sphingomyelin finden sich die Glykosphingolipide vor allem als Membranbausteine im Nervengewebe. Die neuronale Plasmamembran ist besonders reich an Gangliosiden^[14], während Glucocerebroside und Sulfatide wesentlich am Aufbau des Myelins, also der weißen Substanz im Gehirn, beteiligt sind^[15]. Sphingolipide treten aber auch, jedoch in geringeren Mengen als im Nervengewebe, in allen übrigen tierischen Geweben auf. Vergleichende Studien von Klenk und Yamakawa an den Erythrocytenmembranen haben zur heutigen Vorstellung geführt, daß jeder tierische Zelltyp ein

kosphingolipidmusters bei Zellen, die durch Vireninfektion transformiert worden sind (vgl. ^[13]).

Diese Befunde lassen zwar vermuten, daß Glykosphingolipide eine spezifische Rolle bei der Bildung einzelner Zelltypen spielen, über ihre Funktion ist aber nur wenig bekannt. Ihre Oligosaccharidreste und die der Glykoproteine beeinflussen die Eigenschaften der Zelloberflächen. Überdies bilden Ganglioside negative Ladungen auf der Zellmembran und dienen als Rezeptoren für zahlreiche Substanzen, z.B. Cholera-toxin^[18-23], Enterotoxin^[24, 25], α -Toxin^[26-28], Interferon^[29], Thyrotropin^[30] und möglicherweise auch Tetanustoxin^[31, 32]. Nach einer Vorstellung von Roseman^[33, 34] sind die Glykosphingolipide für die gegenseitige Erkennung und Adhäsion von Zellen bedeutsam.

4. Bildung und Abbau der Sphingolipide

Die Biosynthese der Sphingolipide beginnt stets mit der Bildung des hydrophoben Anteils, des Ceramids, an dessen primäre Hydroxylgruppe die Bausteine des hydrophilen Anteils schrittweise angehängt werden^[33, 35-39]. Jedes Monosaccharid wird von seiner aktivierten Form, einem Zuckernucleotid, gemäß der Spezifität zellspezifischer Transferasen auf das Ende

der wachsenden Oligosaccharidkette übertragen (Abb. 2). Zur Bildung der Sulfatide wird Sulfat von 3-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat auf Galaktocerebrosid, zur Bildung von Sphingomyelin wird Phosphorylcholin von Cytidindiphosphatcholin oder von Phosphatidylcholin^[40] auf Ceramid übertragen.

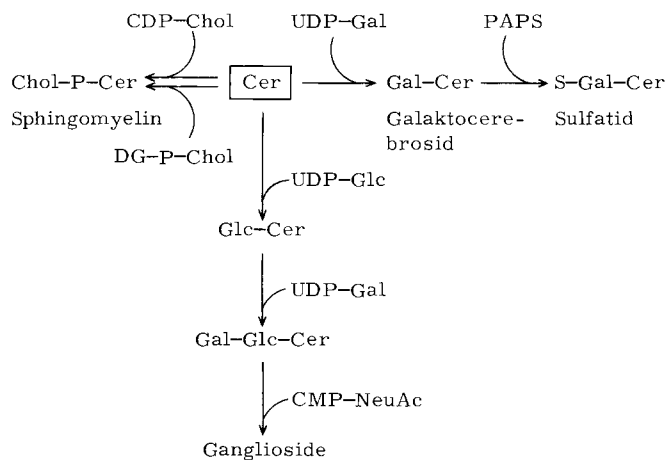


Abb. 2. Zur Biosynthese der Sphingolipide. Abkürzungen: CDP=Cytidindiphosphat, Cer=Ceramid, Chol=Cholin, CMP=Cytidinmonophosphat, DG=Diacylglycerin, Gal=D-Galaktose, Glc=D-Glucose, NeuAc=N-Acetylneuraminsäure (Sialsäure), P=Phosphat, PAPS=3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat, UDP=Uridindiphosphat, S=Sulfat.

Der biologische Abbau der Sphingolipide wird durch Hydrolasen katalysiert^[12, 37], die ihre optimale Aktivität im sauren Bereich entfalten. Sie sind intrazellulär in membrangebun-

denen Bläschen, in Lysosomen, abgepackt und somit vom Cytosol der Zelle getrennt. Ihre Spezifität ist im allgemeinen auf bestimmte Bindungstypen – weniger auf einzelne Substanzen – ausgerichtet. Zusammen können sie eine Reihe von Makromolekülen, z. B. Proteine, Nucleinsäuren, Polysaccharide und komplexe Lipide, in deren Bausteine zerlegen. Der Sphingolipidabbau (Abb. 3 und Tabelle 1) beginnt am hydrophilen Ende der Moleküle. Die Oligosaccharidkette wird schrittweise um den jeweils endständigen Rest verkürzt. Sphingomyelin wird direkt in Phosphorylcholin und Ceramid zerlegt, das anschließend in Sphingosin und Fettsäure gespalten wird. Die Frage nach der Einschleusung der Sphingolipide in die Lysosomen ist noch weitgehend ungeklärt.

5. Abbaustörungen

Vererbte Störungen des Sphingolipidstoffwechsels wurden bisher fast ausschließlich beim Abbau beobachtet^[41–44]. Die sich dabei kontinuierlich anhäufenden Lipide verkürzen die Lebensdauer der Patienten mehr oder minder stark. Hingegen wurde bisher nur ein Fall mit einer möglicherweise erblichen Aufbaustörung bekannt (vgl. Abschnitt 10.6). Die Vermutung liegt nahe, daß genetisch bedingte Synthesestörungen und der damit verbundene Ausfall bestimmter Sphingolipide und ihrer Funktionen das Leben noch schwerer beeinträchtigen als die Speicherung derselben Substanzen bei Abbaustörungen. Fast jeder Abbauschritt kann durch einen Enzymmangel unterbrochen sein. Diese Enzymdefekte, die in Abbildung 3 schematisch

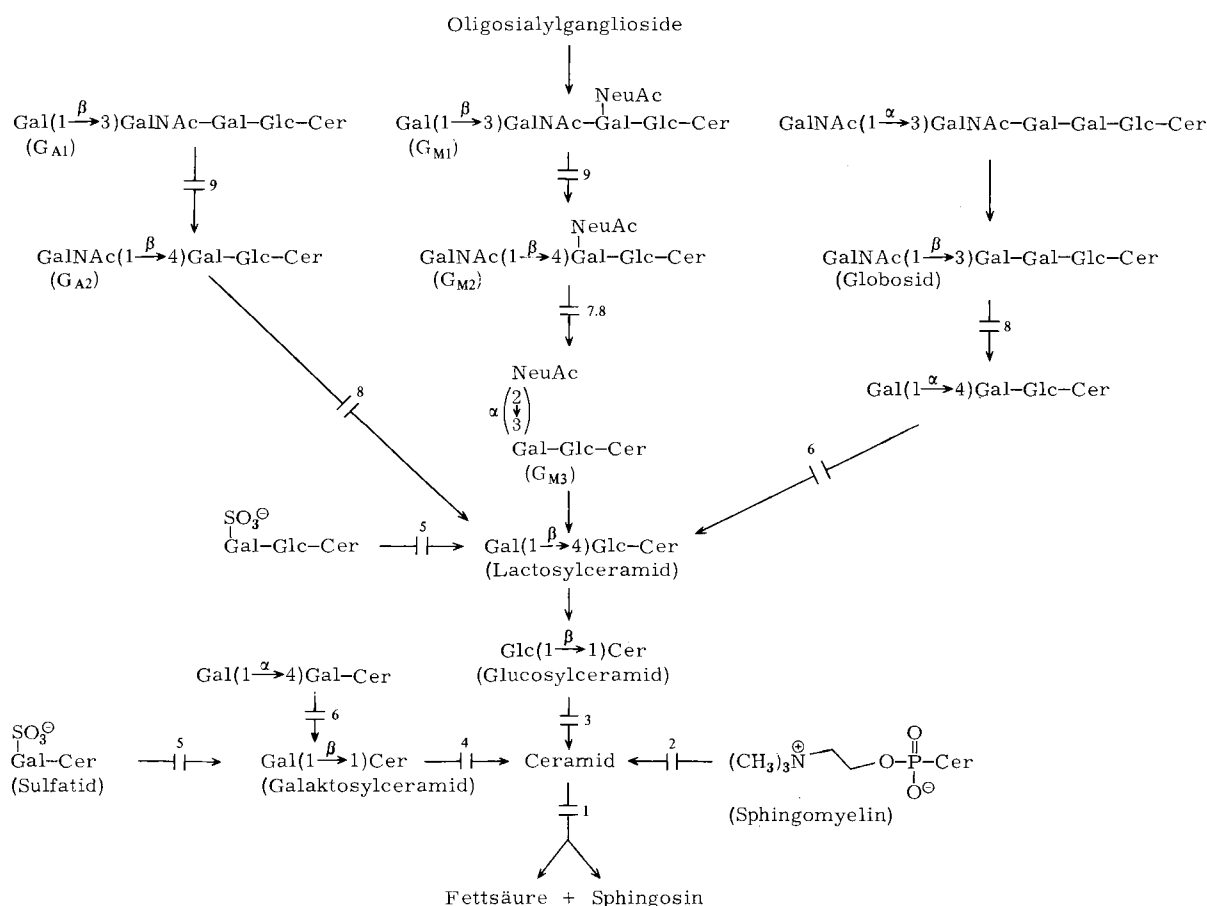


Abb. 3. Abbau der Sphingolipide. Die Stellen, an denen der Abbau aufgrund eines erblichen Enzymdefektes unterbleibt, sind durch Zahlen gekennzeichnet; siehe dazu Tabelle 1.

Tabelle 1. Abbau der Sphingolipide. Die Zahlen in Abb. 1 verweisen auf erbliche Enzymdefekte, die zu den hier genannten Speicherkrankheiten führen.

Nr.	Krankheit	Defektes Enzym	Speichersubstanz; wichtigster Ablagerungsort
1	Farbersche Krankheit (Ceramidose)	Ceramidase	Ceramid; Viscera und Gehirn
2	Niemann-Picksche Krankheit (Sphingomyelinose)	Sphingomyelinase	Sphingomyelin; Viscera und Gehirn beim Typ A
3	Gauchersche Krankheit (Glucocerebrosidose)	Glucocerebrosid- β -Glucosidase (Glucosylceramid- β -Glucosidase)	Glucosylceramid; Viscera und Gehirn bei infantiler Form
4	Krabbesche Krankheit (Galaktocerebrosidose)	Galaktocerebrosid- β -Galaktosidase (Galaktosylceramid- β -Galaktosidase)	Galaktosylceramid; Gehirn (weiße Substanz)
5	Metachromatische Leukodystrophie (Sulfatidose) und Austinsche Krankheit	Sulfatid-Sulfatase (Arylsulfatase A)	Sulfatide; Gehirn (weiße Substanz) und Niere
6	Fabrysche Krankheit	α -Galaktosidase A	α -Galaktosylgalaktosylceramid und α -Galaktosyllactosylceramid; viscerele Organe
7	G _{M2} -Gangliosidose, Variante B (Tay-Sachssche Krankheit)	Hexosaminidase A	Gangliosid G _{M2} ; Gehirn (graue Substanz)
8	G _{M2} -Gangliosidose, Variante 0	Hexosaminidasen A und B	Ganglioside G _{M2} und G _{A2} ; Gehirn Globosid; Viscera
9	G _{M1} -Gangliosidose	Gangliosid-G _{M1} - β -Galaktosidase	Gangliosid G _{M1} ; Gehirn Keratansulfat [a]; viscerele Organe

[a] Keratansulfat ist ein lineares Mucopolysaccharid mit der Disaccharideinheit: [D-Galaktopyranosyl(β 1 \rightarrow 4)2-acetamido-2-desoxyglucopyranosyl-6-sulfat(β 1 \rightarrow 3)].

dargestellt sind, werden nach den Mendelschen Gesetzen rezessiv weitergegeben.

In der Regel besitzt jede menschliche Körperzelle an jedem Genlocus zwei allele Gene, die für die Synthese einer Peptidkette codieren – ein Gen vom Vater und eines von der Mutter. Ist eines dieser Gene mutiert und produziert somit keine oder eine funktionell inaktive Polypeptidkette, so beeinträchtigt dieser Defekt in der Regel nicht die Gesundheit des Trägers, da das zweite allele Gen funktionstüchtiges Genprodukt synthetisiert, wenn auch insgesamt nur die Hälfte der normalen Menge zur Verfügung steht. Ein Mensch kann somit Träger eines mutierten Allels sein, ohne unter gesundheitlichen Schäden zu leiden. Eine Erkrankung wird aber beobachtet, wenn zwei Überträger eines defekten Allels dieses an ihr Kind weitervererben, das somit an einem Genlocus zwei defekte Allele besitzt, die für kein funktionstüchtiges Enzymprotein codieren.

Die genetisch bedingten Defekte sphingolipidsplattender Hydrolasen treten recht selten auf, und zwar, soweit untersucht, mit einer Genfrequenz von etwa 0.002; d.h. in der Durchschnittsbevölkerung sind von 1000 Genen, die für ein Enzym codieren, zwei mutiert. In bestimmten Bevölkerungsgruppen werden aber auch durchaus höhere Werte beobachtet; z. B. hat die Tay-Sachssche Erkrankung eine Genfrequenz von etwa 0.01 unter den Juden osteuropäischer Herkunft (Aschkenasim)^[4,5].

Fehlt eine Enzymaktivität in den Lysosomen, so werden dort alle ihre Substrate gespeichert^[4,6]; hierbei ist eine Vermehrung um mehr als das Hundertfache keine Ausnahme. Es bilden sich Speichergranula im Cytoplasma der Zelle – pathologisch veränderte Lysosomen, die ihren Inhalt nicht mehr verdauen können.

Die aus Abbildung 3 und Tabelle 1 ersichtlichen Enzymdefekte, die den normalen Sphingolipidabbau blockieren, treten in allen Geweben und Körperflüssigkeiten auf, die lysosomale Enzyme enthalten, also auch in Leukocyten, kultivierten Fi-

broblasten und Amnionzellen. Zur Speicherung kommt es aber nur in den Geweben, in denen die Lipidsubstrate des ausgefallenen Enzyms auch gebildet werden. So wird die Anhäufung der Sulfatide bei der metachromatischen Leukodystrophie vor allem im Hirn und in der Niere beobachtet. Sie führt zum Untergang der weißen Substanz, während die Speicherung in der Niere ohne wesentliche Beeinträchtigung vertragen wird. Bei den Gangliosidosen werden die nervengewebstypischen Ganglioside G_{M1} und G_{M2} vornehmlich in Neuronen gespeichert. Im Cytoplasma dieser Zellen treten multilamellierte Körperchen auf, die neben den Gangliosiden Phos-

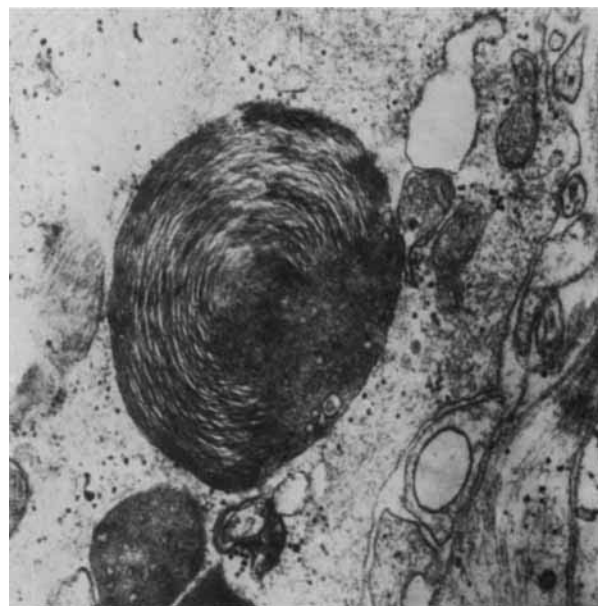


Abb. 4. Multilamellierte Körperchen (MLB) im Cytoplasma einer Nervenzelle von einem Tay-Sachs-Patienten. Die konzentrischen Membranstrukturen sind klar zu erkennen (Vergrößerung 54000fach; Aufnahme E. Sluga, Wien).

pholipide und Proteine enthalten (Abb. 4)^[47,48]. Die massive Lipidablagerung führt zu einem ballonartigen Aufblähen der Nervenzellen und ihrer Fortsätze.

6. Messung sphingolipidsplattender Hydrolasen

Für die Diagnose der Speicherkrankheiten ist die Feststellung des jeweiligen Enzymdefekts unentbehrlich. Da die lysosomalen Hydrolasen in der Regel nur eine geringe Substratspezifität besitzen, kann ihre Aktivität nicht nur mit natürlichen, sondern auch mit synthetischen, wasserlöslichen Substraten gemessen werden. Mit fluorogenen oder chromogenen Substraten läßt sich die Aktivität dieser Enzyme am einfachsten bestimmen. Verbreitete Anwendung finden 4-Methylumbelliferyl- (Abb. 5) und *p*-Nitrophenyl-Derivate^[49]. Bei der Untersuchung von Gewebsextrakten mit synthetischen Substraten bleibt allerdings oft unsicher, ob man wirklich nur die Aktivität desjenigen Enzyms mißt, das den Abbau des entsprechenden natürlichen Lipids katalysiert. Deshalb ist für diagnostische Zwecke oft eine Untersuchung mit dem natürlichen Substrat, dem Lipid, erforderlich.

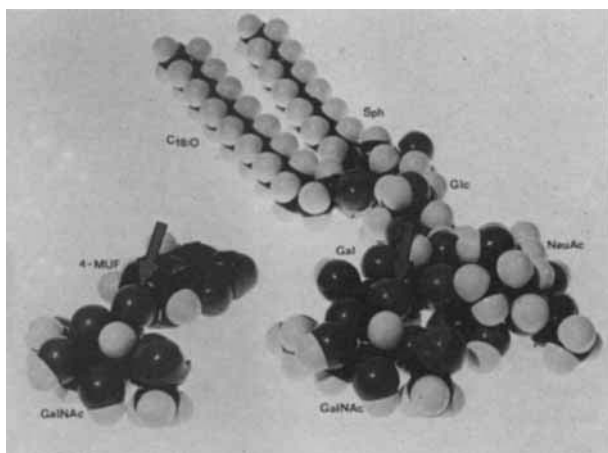
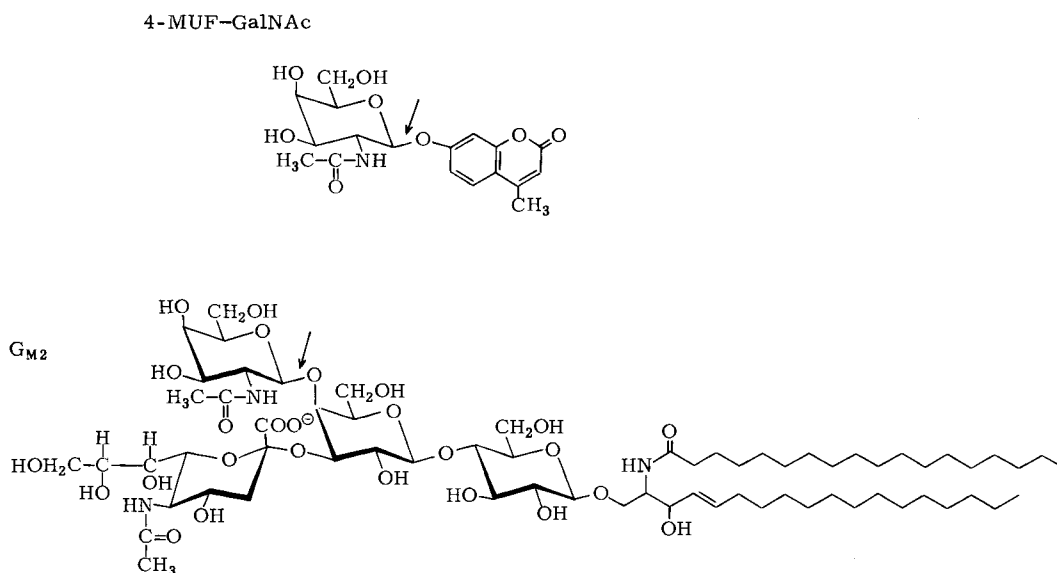


Abb. 5. Vergleich zwischen synthetischem und natürlichem Substrat der Hexosaminidase A (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 7): 4-Methylumbelliferyl- β -N-acetyl-D-galaktosaminid (4-MUF-GalNAc) bzw. Gangliosid G_{M2} . Die vom Enzym zu spaltenden β -glykosidischen Bindungen sind durch Pfeile markiert.



Sphingolipide werden von den Hydrolasen in vitro nur äußerst langsam gespalten. Erst der Zusatz von Detergentien oder natürlichen Aktivatorproteinen bewirkt gut meßbare Umsatzgeschwindigkeiten. Das inerte Verhalten dieser Lipide wird auf ihre einzigartigen Lösungseigenschaften in wäßrigen Medien zurückgeführt. Nur unterhalb einer bestimmten Konzentration, der kritischen Mizellkonzentration (CMC), lösen sie sich monodispers auf. Oberhalb der CMC bilden sie Mizellen (wie Ganglioside und viele Detergentien) oder Liposomen, d.h. multilamellare Doppelschichten (wie die Sphingomyeline). Mizellen und Liposomen werden in vitro von den Hydrolasen nur sehr langsam oder auch gar nicht angegriffen. Erst der Zusatz eines Detergens, üblicherweise in Konzentrationen oberhalb der CMC, führt zur Bildung gemischter Detergens-Lipid-Mizellen, in deren Verband das Substrat mit dem Enzym reagieren kann. Unbekannt bleibt aber die Art der Wechselwirkung zwischen Lipid, Detergens und Enzym und damit die wahre Substratkonzentration. Deshalb hat auch die Angabe von kinetischen Parametern, z.B. scheinbaren Michaelis-Konstanten, nur begrenzten Wert.

Die enzymatische Sphingolipidsplattung kann aber auch in Abwesenheit von Detergentien durch natürliche Aktivatorproteine beschleunigt werden. So steigert der Zusatz eines sauren, niedermolekularen Proteins (MG 22000) aus der Leber den enzymatischen Abbau der Sulfatide (Abb. 6)^[50,51]. Nach Untersuchungen von Fischer und Jatzkewitz^[52] bilden Aktivator und Sulfatid einen Komplex im Molverhältnis 1:1, der als eigentliches Substrat anzusehen ist.

Ein ähnliches Aktivatorprotein (MG 22000) stimuliert die Spaltung der Ganglioside durch die Hexosaminidase und β -Galaktosidase auf eine noch unbekannte Art^[53-55]. Der hohe Bedarf spricht ebenfalls für eine Wechselwirkung zwischen Lipid und Aktivator. Hingegen bildet der Aktivator (MG 22000) der Glucocerebrosid-Spaltung einen aktiven Komplex mit dem Enzym Glucocerebrosidase^[56-61].

Die physiologische Rolle der Aktivatorproteine ist noch ungeklärt. Änderungen ihrer Konzentrationen könnten z.B. im Lysosom die Aktivität der Hydrolasen regulieren. Eine Aktivatormangelkrankheit wurde noch nicht beschrieben. Die bisher bekannten und aufgeklärten Sphingolipidosen gehen auf Ausfälle von Enzymaktivitäten zurück. Im folgenden sollen die am eingehendsten untersuchten Defekte der β -Galaktosi-

dase, Arylsulfatase und Hexosaminidase näher besprochen werden.

7. β -Galaktosidase-Defekte

β -Galaktosidase-Defekte verursachen zwei durchaus verschiedene Erbleiden: Die G_{M1} -Gangliosidose ist primär eine Erkrankung der grauen Substanz im Gehirn, während die Krabbesche Krankheit zum Untergang der weißen Substanz führt.

7.1. G_{M1} -Gangliosidose

Die G_{M1} -Gangliosidose (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 9) tritt als Folge eines β -Galaktosidase-Defektes auf, der auch mit synthetischen Substraten nachgewiesen werden kann^[62]. Das natürliche Substrat dieses Enzyms und damit auch die Hauptspeichersubstanz der Krankheit ist das Gangliosid G_{M1} ^[63, 64]. Neben dem Gangliosid spaltet die Gangliosid- G_{M1} - β -Galaktosidase (ein monomeres Protein vom Molekulargewicht 72000) auch noch andere β -Galaktoside: das Asia-logangliosid G_{A1} ^[65] und eine Reihe von Glykoproteinen und Mucopolysacchariden, die endständig β -glykosidisch gebundene Galaktose enthalten^[66, 67]. All diese Substanzen werden, je nach dem Ort ihrer Synthese, in verschiedenen Organen der Patienten abgelagert. So führt die massive Speicherung des Gangliosids in den Neuronen zum fortschreitenden Untergang des Nervensystems, während die Ablagerung saurer Mucopolysaccharide^[68–73] in den Zellen des Reticuloendothelialen Systems^[*] eine Vergrößerung von Leber und Milz sowie Veränderungen der Knochen hervorruft.

Klinisch lassen sich mehrere Krankheitsformen unterscheiden: Beim Typ 1, der generalisierten G_{M1} -Gangliosidose, treten die Krankheitssymptome innerhalb der ersten sechs Lebensmonate in Erscheinung und führen bei fortschreitendem geistigem und körperlichem Verfall mit etwa zwei Jahren zum Tod^[62]. Typ 2, die spätinfantile Form^[62, 74] mit leichten Störungen im Knochenwachstum sowie die adulten Formen^[62, 74–76] sind vergleichsweise milder; die cerebralen Symptome werden frühestens nach dem ersten Lebensjahr sichtbar. Der Tod tritt bei der spätinfantilen Form etwa mit zehn Jahren ein. Übergangstypen sind ebenfalls bekannt^[67].

Weder bei der infantilen noch bei der spätinfantilen Erkrankung beruht der Aktivitätsmangel auf einem Verschwinden des Enzymproteins. Dieses läßt sich bei beiden Krankheitsformen in etwa normalen Mengen immunologisch nachweisen^[77]; d. h. bei beiden Krankheitsformen ist ein defektes Enzym mit sehr niedriger Aktivität vorhanden. Daß die Restaktivitäten beim Typ 2 höher als beim Typ 1 liegen, könnte eine Ursache für den wesentlich milderen Verlauf des Typs 2 sein. Nachgewiesen werden konnten bei einem Patienten des Typs 2 eine Veränderung der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit des Enzyms und eine Erhöhung der Michaelis-Konstante sowohl für das 4-Methylumbelliferyl- β -D-galaktosid als auch für das Gangliosid G_{M1} ^[77] (analog Abb. 5). Ähnliche Änderungen der elektrophoretischen und

kinetischen Eigenschaften wurden für die restliche β -Galaktosidase beim Typ 1 beobachtet^[78]. Diese Befunde sprechen für eine Mutation im Strukturgen des Enzyms.

7.2. Krabbesche Erkrankung

Die Globoidzell-Leukodystrophie oder Krabbesche Erkrankung (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 4) befällt primär die Marklager des Zentralnervensystems. Frühe Symptome beobachtet man klinisch im ersten Lebensjahr. Bei schnell fortschreitendem psychomotorischem Abbau, Übererregbarkeit durch äußere Reize, zunehmenden Lähmungen (Spastik), Krampfanfällen, Blind- und Taubheit überleben die Patienten selten das zweite Lebensjahr^[79].

Diese Erkrankung ist auf das Fehlen der Galaktosylceramid- β -Galaktosidase zurückzuführen^[80–82], die sich von der

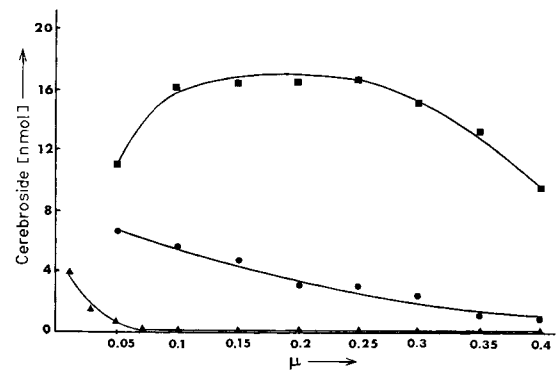


Abb. 6. Einfluß der Ionenstärke (μ) sowie der Zusätze an Natriumtaurodesoxycholat oder Aktivatorprotein auf die Aktivität der Arylsulfatase A (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 5). Die Inkubationsansätze enthielten in 100 μ l 20 nmol Sulfatide sowie Natriumacetat-Puffer (pH 4.8) der angegebenen Ionenstärke. Zusätze: 0.1 Einheiten Sulfatase A (▲—▲); 0.1 Einheiten Sulfatase A und 11 μ g (\approx 0.55 nmol) Aktivatorprotein (●—●); 0.025 Einheiten Sulfatase A und 200 nmol Natriumtaurodesoxycholat (■—■). Die Ansätze mit Natriumtaurodesoxycholat wurden 15 min bei 37°C, die übrigen 60 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das jeweils freigesetzte Cerebroside bestimmt (G. Fischer und H. Jatzkewitz, unveröffentlicht). Die Ionenstärke

$$\mu = \frac{1}{2} \sum c_i \cdot z_i^2$$

ist als 1/2 mol einwertiger Ionen pro Liter ausgedrückt (c_i = Konzentration des Ions i , z_i = Ladung des Ions i).

Gangliosid- G_{M1} - β -Galaktosidase dadurch unterscheidet, daß sie mit Antikörpern gegen Gangliosid- G_{M1} - β -Galaktosidase nicht fällbar ist, bei der G_{M1} -Gangliosidose aktiv bleibt und

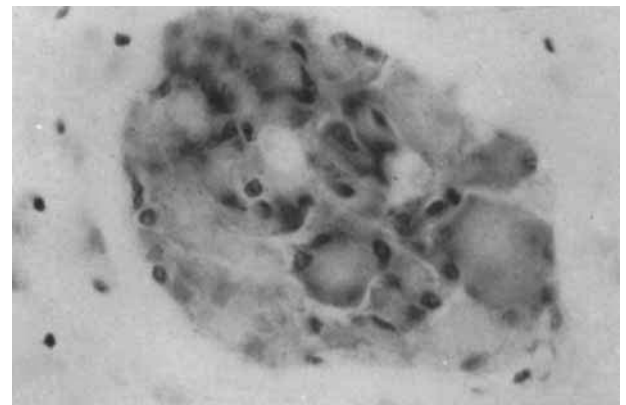


Abb. 7. Bei der Krabbeschen Erkrankung beobachtet man unter dem Lichtmikroskop in der Weißen Substanz des Gehirns zahlreiche, meist mehrkernige Globoidzellen, die häufig um die Blutgefäße vermehrt auftreten. Diese Makrophagen (Wanderzellen) mesodermalen Ursprungs nehmen die Lipide auf (Färbung nach Nissl; Vergrößerung ca. 250fach; Aufnahme: P. Mehraein, München).

[*] Funktionelle Einheit der biologisch sehr aktiven, durch Phagocytose, Speicherung und Immunkörperbildung ausgezeichneten Mesenchymzellen, die gewissermaßen die resorbierende Innenfläche des Körpers bilden (*Psychyrembel*: Klinisches Wörterbuch, de Gruyter, Berlin 1972).

eine andersartige Substratspezifität zeigt. Neben Galaktocerebrosiden spaltet sie auch Galaktosylsphingosin, Lactosylceramid und Monogalaktosyldiglycerid^[82–87]. Streng genommen ist die Krabbesche Erkrankung keine Speicherkrankheit. Im untergehenden Weiß des Hirns findet man nur eine geringe Vermehrung des nicht mehr abbaubaren Metaboliten, des Galaktosylceramids^[88, 89], da dessen Biosynthesegeschwindigkeit stark herabgesetzt ist: Im Gehirn nimmt die Population der Cerebrosid- und Myelin-bildenden Zellen (Oligodendroglia) stark ab^[79]. Vielkernige Globoidzellen (Makrophagen (Wanderzellen) mesodermalen Ursprungs) infiltrieren die weiße Substanz und nehmen die Lipide auf (Abb. 7). Bei der Auslösung dieses „Abräumprozesses“ könnte das durch den Enzymdefekt auftretende toxische Galaktosylsphingosin (Psychosin) eine Rolle spielen^[90].

8. Arylsulfatase-Defekte

Für die metachromatische Leukodystrophie, die Austinsche Erkrankung und das Maroteaux-Lamy-Syndrom ist die Ursache in Arylsulfatase-Defekten zu suchen (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 5). Beim Maroteaux-Lamy-Syndrom wurde ein Defekt der Arylsulfatase-B^[91–93] und der *N*-Acetylgalaktosaminsulfatase-Aktivität^[94, 95] nachgewiesen; beide Aktivitäten sind wahrscheinlich demselben Enzymprotein zuzuordnen. Da das Maroteaux-Lamy-Syndrom zur Gruppe der Mucopolysaccharidosen zählt, soll es hier nicht weiter erörtert werden.

8.1. Metachromatische Leukodystrophie

Die Speicherung von Sulfatiden^[96, 97] – im Nervengewebe typische Bausteine des Myelins – korreliert bei der metachromatischen Leukodystrophie mit einem Ausfall der Cerebrosidsulfatase^[98, 99] und der Arylsulfatase-A-Aktivität^[98, 100, 101]. Die Cerebrosidsulfatase läßt sich durch Hydrolyse von Cerebrosidsulfaten in Gegenwart eines natürlichen Aktivatorproteins^[51, 102] oder in Gegenwart von Taurodesoxycholat^[51] bestimmen (Abb. 6), die Arylsulfatase-Aktivität wird anhand der Hydrolyse von Nitrocatecholsulfat^[103] oder von 4-Methylumbelliferylsulfat^[104] gemessen. Beide Aktivitäten sind als Eigenschaften desselben Enzymproteins erkannt worden^[50, 105–107] und haben bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie in allen Organen sehr niedrige Werte. Immunologisch läßt sich ein wenig aktives Enzymprotein identifizieren, dessen enzymkinetische und antigene Eigenschaften abnorm erscheinen^[108, 109].

Die menschliche Arylsulfatase A hat ein Molekulargewicht von 107000 und besteht aus zwei Untereinheiten von ca. 50000^[110]. Bei niedrigem pH-Wert und hohen Ionenstärken bildet sie Di- und Tetramere. Das Enzym spaltet neben den Schwefelsäureestern der Cerebroside auch andere sulfatierte Lipide wie Lactosylsulfatid^[111], das bei der metachromatischen Leukodystrophie ebenfalls leicht vermehrt auftritt^[112], außerdem Psychosinschwefelsäureester^[113], Sulfogalaktoglycerolipid^[114] und Seminolipid^[115, 116].

Die metachromatische Leukodystrophie muß vor allem als eine Entmarkungskrankheit des Zentralnervensystems^[117] gesehen werden. Obwohl aufgrund des Cerebrosidsulfatase-Mangels Sulfatide und andere sulfatierte Lipide nicht nur im Nervengewebe, sondern auch in der Niere gespeichert werden, stehen klinisch die neurologischen Symptome klar im Vorder-

grund; die Nierenfunktion wird nur wenig beeinträchtigt. Erste Gehschwierigkeiten beobachtet man bei der spätinfantilen Form der Krankheit mit 1 bis 1½ Jahren. Hypotonie, Nachlassen der Reflexe, Schwachsinn, Sehschwäche, Krämpfe und Ausfälle im motorischen System stellen sich ein und führen innerhalb von etwa zehn Jahren zum Tod^[118]. Morphologisch findet man einen pathologischen Abbau der myelinisierten Fasern im Nervengewebe. Das wenige noch nachweisbare Myelin hat eine abnorme Lipidzusammensetzung mit einem besonders hohen Sulfatidanteil^[119, 120]. Leichter verlaufen die juvenilen und adulten Formen der Krankheit^[118]. Dabei läßt sich die Schwere des Krankheitsverlaufs mit dem Ausmaß des Enzymdefekts korrelieren, wie *Kihara et al.*^[121, 122] an kultivierten Fibroblasten nachwiesen. Die Zellen nahmen das natürliche Substrat, ³⁵S-Sulfatid, aus dem Medium auf: Die Abbaugeschwindigkeit des markierten Sulfatids nahm mit der Schwere der Krankheit ab.

8.2. Austinsche Erkrankung

Eine Variante der Metachromatischen Leukodystrophie ist die Austinsche Erkrankung^[118, 123, 124], bei der gleich mehrere Sulfatasen defekt sind: die lysosomalen Arylsulfatasen A und B^[118], die mikrosomale Arylsulfatase C^[118], die Steroidsulfatasen^[125], die Heparan-N-Sulfatase^[126] und die Iduronatsulfatase^[126]. Auch bei dieser Variante fällt die Sulfatidspeicherung im Nervengewebe am stärksten ins Gewicht, doch lassen sich aufgrund der multiplen Sulfatase-Defekte in den Organen ebenfalls Mucopolysaccharide und sulfatierte Steroide vermehrt beobachten. In einem Fall der Krankheit wurden immunologisch normale Mengen des Arylsulfatase-A-Proteins nachgewiesen, das aber enzymatisch inaktiv war^[127]. Unbekannt bleibt die Ursache für den gemeinsamen Ausfall der zum Teil sehr verschiedenen lysosomalen und mikrosomalen Sulfatasen. Dieser Multienzymdefekt deutet auf eine Gemeinsamkeit aller betroffenen Sulfatasen hin: Eine gemeinsame Untereinheit oder ein für die Aktivität oder Biosynthese all dieser Sulfatasen notwendiger Faktor könnte z. B. defekt sein oder fehlen.

9. Hexosaminidase-Defekte (G_{M2}-Gangliosidosen)

Erstmals machte *Warren Tay*^[128] 1881 auf das Krankheitsbild der infantilen amaurotischen Idiotie aufmerksam, als er am Augenhintergrund eines einjährigen Kindes im Gebiet des schärfsten Sehens einen kirschroten Fleck beobachtete; Blutgefäße scheinen durch die untergehende Ganglienzellschicht hindurch, zunehmende Sehschwäche endet in Erblindung. Die an dieser Nervenkrankheit leidenden Kinder entwickeln sich anfangs normal, verlieren aber bereits im ersten Lebensjahr schon erlernte Fähigkeiten wie Greifen und Aufsetzen. Lähmungen der Gliedmaßen, epileptische Krämpfe und Streckkrämpfe stellen sich ein. Nach fortschreitendem geistigem und körperlichem Verfall endet die Krankheit innerhalb von zwei bis drei Jahren tödlich^[45, 129, 130]. Morphologisch findet man im Nervensystem eine charakteristische Ganglienzellveränderung: Das Cytoplasma der Zellen ist stark gebläht, die Zellen sind um ein Vielfaches vergrößert, ihre Dendriten ballonartig aufgetrieben. Bei elektronenoptischer Betrachtung sieht man im Cytoplasma der Neuronen – wie auch bei der

G_{M1}-Gangliosidose – eine Vielzahl ovaler, multilamellierter Granula (vgl. Abb. 4)^[47], welche die Speichersubstanz dieser Krankheit enthalten^[48], das Gangliosid G_{M2}^[131, 132] (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 7 und 8). Sie wird daher auch als G_{M2}-Gangliosidose bezeichnet. Während das Gangliosid G_{M2} im gesunden Hirngewebe als Zwischenprodukt des Glykosphingolipidstoffwechsels nur spurenweise vorkommt, bildet es bei den Patienten mit dieser Krankheit etwa 6–12% des Hirntrockengewichtes^[133, 134].

Die massive Vermehrung des Gangliosids G_{M2} führt zum Untergang der Nervenzellen und damit zum Abbau von Myelin. Die Entmyelinisierung spiegelt sich im Lipidgehalt des erkrankten Nervengewebes wider^[134]. Man beobachtet eine drastische Abnahme aller myelintypischen Lipide, wie der Cerebroside, der Sulfatide und des C₂₄-Sphingomyelins. Ähnliche sekundäre Veränderungen treten auch bei der G_{M1}-Gangliosidose auf.

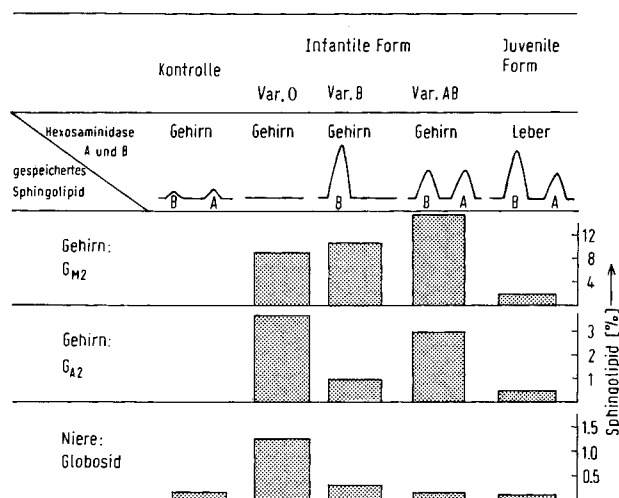


Abb. 8. Glykolipidspeicherung und Hexosaminidase-Muster bei der G_{M2}-Gangliosidose (infantile Form, Varianten 0, B und AB sowie juvenile Form). Die Muster der Hexosaminidase-Aktivitäten wurden mit synthetischen Substraten nach isoelektrischer Trennung der Isoenzyme A und B bestimmt. Die Mengen der gespeicherten Sphingolipide sind in % vom Trockengewicht des speichernden Organs angegeben^[134]. – Bei der juvenilen Form der G_{M2}-Gangliosidose ist der Hexosaminidase-B-Spiegel in der Leber normal, während die Aktivität der Hexosaminidase A nur 50% beträgt.

Tabelle 2. Vergleich der N-Acetyl-β-D-hexosaminidase A und B.

Eigenschaft	Hexosaminidase A		Hexosaminidase B		Lit.
Isoelektrischer Punkt	5.0		7.3		[137]
Stabilität bei 50°C	–		+		[129]
Präzipitation mit Antikörpern gegen Hexosaminidase B	+		+		[143, 145, 146]
Präzipitation mit Antikörpern gegen Hexosaminidase A	+		+		[143, 145, 146]
Präzipitation mit spezifischen Antikörpern gegen Hexosaminidase A [a]	+		–		[145, 146]
Molekulargewicht	100 000		100 000		[160]
vorgeschlagene Zusammensetzung	α ₂ β ₂		β ₂ β ₂		[160]
Aktivität bei der Variante 0	–		–		[130, 133, 134]
Aktivität bei der Variante B	–		+		[135, 141, 142]
Hydrolyse von Gangliosid G _{M2} [b] [μmol · h ⁻¹ · mg ⁻¹]	0.25		0.04		[159]
Hydrolyse von	K _m [mmol/l]	V _{max} [μmol min ⁻¹ · mg ⁻¹]	K _m [mmol/l]	V _{max} [μmol min ⁻¹ · mg ⁻¹]	
4-MUF-β-D-GalNAc [c]	0.09	14	0.05	35	[159]
4-MUF-β-D-GlcNAc [c]	0.8	160	0.6	280	[159]
Asialogangliosid G _{A2} [b]	0.05	0.15	0.03	0.65	[159]
Globosid [b]	0.20	1.1	0.26	4.7	[159]

[a] Antikörper gegen Hexosaminidase A werden durch Absorption mit Sepharose-beladener Hexosaminidase B von kreuzreagierendem Material befreit.

[b] Hexosaminidasen aus menschlicher Autopsieleber gereinigt und in Gegenwart von 2 mmol/l Natriumtaurodesoxycholat getestet.

[c] 4-MUF = 4-Methylumbelliferyl.

Bei der G_{M2}-Gangliosidose ließen sich drei enzymatische Varianten der Krankheit nachweisen (Abb. 8)^[135]: Defekte Isoenzyme der N-Acetyl-β-D-hexosaminidase können die Glykosphingolipidspeicherung hervorrufen. In menschlichen Geweben gibt es hauptsächlich die Hexosaminidasen A und B^[136, 137], die beide sowohl β-N-Acetylglucosaminide als auch β-N-Acetylgalaktosaminide – wie das Gangliosid G_{M2} und seinen sialsäurefreien Rest G_{A2} – spalten (Tabelle 2)^[138–140].

Der seit langem bekannten Tay-Sachsschen Erkrankung liegt ein vollständiger Ausfall des A-Enzyms zugrunde^[135, 141, 142]; auch immunologisch läßt sich kein intaktes Enzymprotein nachweisen^[143–146]. Hingegen ist der Aktivitätsspiegel des B-Enzyms in den meisten Organen normal, im Nervengewebe sogar bis auf das Sechsfache erhöht^[133, 134, 141]. Systematisch wird diese Krankheit als Variante B der infantilen G_{M2}-Gangliosidose bezeichnet (Abb. 8).

Ein Mangel beider Isoenzyme A und B ist für das Auftreten der Variante 0 der infantilen G_{M2}-Gangliosidose verantwortlich^[130, 133]. Inaktive Isoenzymproteine wurden immunologisch nur in einem Fall nachgewiesen^[143, 144]. Als typisch für diese Krankheitsform gilt die zusätzliche Globosidspeicherung in den inneren Organen sowie die Vermehrung des Glykosphingolipids G_{A2} im Nervengewebe (Abb. 3 und 8)^[130, 133, 134, 147–150].

Bemerkenswert ist die seltene Variante AB, bei der es zu einer massiven Speicherung von Gangliosid G_{M2} und seinem sialsäurefreien Rest G_{A2} kommt, obwohl sich mit künstlichen Substraten kein Enzymdefekt nachweisen läßt^[134, 135, 151, 152]. Jedoch erscheint die Aktivität des A-Enzyms im Gewebsextrakt gegenüber der Hauptspeichersubstanz, dem Gangliosid G_{M2}, vermindert^[134]. Die Störung bei dieser Krankheitsform bleibt noch zu klären: Fehlt ein notwendiger Aktivator für den Abbau des Gangliosids G_{M2}, oder liegt eine abnorme Hexosaminidase mit veränderter Substratspezifität vor? Vielleicht muß man auch an eine Organisationsstörung im Lysosom denken, die eine geordnete Wechselwirkung zwischen Lipid und Enzym verhindert.

Die Möglichkeit einer veränderten Substratspezifität scheint bei der juvenilen Form der G_{M2}-Gangliosidose (Abb. 8) gegeben. Diese Krankheitsform ist als eine mildere Verlaufsform

der Tay-Sachsschen Erkrankung zu betrachten^[129, 151, 153–156]. Dem entspricht, daß viel weniger Gangliosid G_{M2} im Nervengewebe gespeichert wird als bei den infantilen Formen. Gegenüber synthetischen Substraten beträgt der Hexosaminidase-A-Spiegel zwar noch 15 bis 60 % der Norm^[129, 157]; gegenüber natürlichen Lipidsubstraten wurden jedoch beim bisher untersuchten Fall erheblich niedrigere Aktivitätsspiegel gefunden^[158].

Geiger und Arnon^[160] haben die Untereinheiten der Hexosaminidasen A und B isoliert und ein Modell für den Aufbau der Enzyme angegeben: Danach besteht Hexosaminidase A aus den beiden Untereinheiten α_2 und β_2 (vgl. Tabelle 2), in denen jeweils zwei Peptidketten durch eine Disulfidbrücke verbunden sind. Das B-Enzym ist ein Homopolymer mit dem Aufbau $\beta_2\beta_2$. Gemäß dieser Vorstellung könnte bei der O-Variante die den Enzymen A und B gemeinsame Untereinheit β_2 verändert sein oder fehlen, während der Defekt bei der B-Variante in der Untereinheit α_2 zu suchen wäre. Das Modell erklärt, warum das Spurenenzym S, das aus α_2 -Untereinheiten besteht, nur bei der B-Variante ausfällt^[134, 145, 161, 162]. Ebenso macht es verständlich, warum Hexosaminidase A ($\alpha_2\beta_2$) in Hybriden zwischen Hautzellen der Varianten O und B^[163–167] wieder auftritt, denen das A-Enzym fehlt. Sie müssen noch intakte Untereinheiten α_2 (Variante O) bzw. β_2 (Variante B) synthetisieren, die in den Hybridzellen zum A-Enzym zusammentreten. Die Genloci für die α - und β -Ketten liegen auf verschiedenen Chromosomen^[168–171].

10. Weitere Enzymdefekte im Sphingolipidstoffwechsel

10.1. Fabrysche Erkrankung

Als Fabrysche Erkrankung (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 6) ist eine Störung im Sphingolipidstoffwechsel bekannt, die primär nicht das Nervensystem betrifft. Bei ihr führen Lipideinlagerungen zur Bildung verhornter Knötchen auf der Haut (Angiokeratoma), zu Schmerzen in den Extremitäten und Nierenversagen, das bei alten Patienten oft den Tod hervorruft. Gespeichert werden Lipide mit endständigen α -glykosidisch gebundenen Galaktoseresten: Trihexosylceramid, Digalaktosylceramid und ein komplexes Lipid mit Blutgruppen-B-Spezifität^[172, 173]. Ursache ist der Ausfall der α -Galaktosidase A, die in vitro die gespeicherten Di- und Trihexosylceramide spaltet^[174–178]. Bei den bisher untersuchten Patienten wurde kein immunologisch kreuzreagierendes Material gefunden^[178, 179], wohl aber ließ sich noch eine Restaktivität gegenüber synthetischen Substraten wie 4-Methylumbelliferyl- und *p*-Nitrophenyl- α -galaktosid nachweisen. Diese Restaktivität ist der α -Galaktosidase B zuzuordnen, die bei Fabry-Kranken nicht ausfällt und auch immunologisch mit dem A-Enzym nicht verwandt ist^[178–182].

10.2. Gauchersche Erkrankung

Typisch für die Gauchersche Erkrankung (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 3) ist die Speicherung von Glucocerebrosid (Glucosylceramid) (Abb. 1) vor allem in den Zellen des Reticuloendothelialen Systems. Diese Speicherzellen (Gaucher-Zellen) überfluten Milz, Leber und Lymphknoten und rufen eine enorme Vergrößerung dieser Organe sowie Knochenveränderungen hervor. Der Speicherung liegt ein Mangel der β -Glucosidase zugrunde^[183, 184], die normalerweise auch den fettsäurefreien Rest der Speichersubstanz, nämlich β -Glucosylsphingosin, sowie synthetische β -Glucoside^[185] spaltet. Bei den verschiedenen Krankheitsbildern (infantil, juvenil und adult) der Gaucherschen Erkrankung wurden unterschiedlich hohe Ausfälle der Glucocerebrosidase-Aktivität beobachtet^[184]: Die milderen und langsameren Verlaufsformen zeigen höhere Restaktivitäten als die infantilen, bei denen zusätzlich neurologische Symptome erschwerend wirken.

10.3. Niemann-Picksche Erkrankung

Auffällig erscheint für die Formen der Niemann-Pickschen Erkrankung (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 2), daß das Nervengewebe am Krankheitsprozeß sehr unterschiedlich beteiligt sein kann. Rezessiv vererbte Sphingomyelinase-Defekte bedingen eine Speicherung von Sphingomyelin beim infantilen Typ A mit neurologischer Symptomatik und beim juvenilen Typ B, der ohne Hirnbeteiligung verläuft^[186–188]. Nach Callahan^[189, 190] läßt sich die lysosomale Enzymaktivität auf Isoenzyme zurückführen. Von diesen fehlt eins beim juvenilen Typ C, der mit neurologischer Symptomatik verläuft. Geklärt werden muß, warum bei den juvenilen und adulten Typen D und E, bei denen bisher kein Enzymdefekt gefunden werden konnte, Sphingomyelin gespeichert wird. Von Bedeutung könnte eine mikrosomale Sphingomyelinase sein, die neben der lysosomalen nachgewiesen wurde und die vor allem im Hirngewebe aktiv ist^[187, 191]. Es bleibt zu klären, welche Rolle dieses Enzym bei den verschiedenen Typen der Niemann-Pickschen Erkrankung spielt.

10.4. Fucosidose

Die Fucosidose geht auf einen Mangel der lysosomalen α -Fucosidase zurück, der zur Speicherung Fucose-haltiger Glykoproteine und Glykolipide führt^[192–197]. Bei einem Patienten mit der infantilen Form der Krankheit ließ sich auch immunologisch kein Enzymprotein nachweisen^[198]. Das Fehlen der Enzymaktivität wird ebenfalls bei der protrahierten, adulten Form der Krankheit beobachtet^[199]. Die α -Fucosidase zeigt einen verbreiteten Polymorphismus^[200, 201], das Enzym tritt in sechs voneinander abtrennbaren Formen auf^[198, 200, 202], die alle bei der Krankheit ausfallen.

10.5. Farbersche Erkrankung

Äußerst selten ist bisher die Farbersche Lipogranulomatose diagnostiziert worden (vgl. Abb. 3 und Tabelle 1, Nr. 1). Nach Sugita et al.^[203–205] bedingt der Ausfall der Ceramidase, die in saurer Lösung Ceramid in Sphingosin und Fettsäure spalten sollte, die beobachtete Ceramidspeicherung in mehreren Organen.

10.6. G_{M3}-Gangliosidose

Wie in den vorangehenden Abschnitten dargelegt, sind in den letzten zehn Jahren von fast allen Sphingolipid-Hydrolasen erbliche Defekte bekanntgeworden. Eine Ausnahme bildete bisher die Neuraminidase. Im Gehirn kommt sie im Gegensatz zu den übrigen lysosomalen Sphingolipid-Hydrolasen überwiegend in der neuronalen Plasmamembran vor^[206, 207]. Das

Enzym spaltet von seinen membrangebundenen Gangliosidsubstraten Sialsäure ab. Von der vermutlich lysosomalen Neuraminidase wurden kürzlich Aktivitätsausfälle in Leukozyten und kultivierten Fibroblasten von Patienten der Mucopolipidose des Typs I, II und III nachgewiesen^[207a–207c]. Die Art des Speichermaterials ist aber chemisch noch nicht geklärt.

Die Speicherung eines Neuraminidase-Substrates, des Gangliosids G_{M3} , wurde bisher nur bei zwei Patienten beobachtet. Beim ersten Patienten konnte der Enzymdefekt nicht geklärt werden, da für die Untersuchung nur formalinfixiertes Gewebe zur Verfügung stand^[208]. Beim zweiten Patienten beobachteten *Brady et al.*^[209, 210] neben einer Vermehrung des Gangliosids G_{M3} das Fehlen aller im gesunden Hirngewebe vorherrschenden Ganglioside vom Tetrasaccharidtyp. Diesem abnormen Gangliosidmuster liegt offensichtlich keine Abbau-, sondern eine Biosynthesestörung zugrunde: Während die Neuraminidase-Aktivität normal erschien, war die Aktivität der *N*-Acetylgalaktosaminyl-Transferase, die das Gangliosid G_{M3} um einen Aminozucker verlängert und damit in das Gangliosid G_{M2} überführt, bei diesem Patienten stark erniedrigt^[210].

11. Diagnose von Homozygoten und Heterozygoten

Aufgrund der biochemischen Befunde kann die Diagnose von Sphingolipidosen heute sowohl durch eine Lipidanalyse der betroffenen Gewebe als auch durch eine Bestimmung des Enzymdefekts in Geweben oder Körperflüssigkeiten erfolgen. Die enzymatische Analyse findet dabei breitere Anwendung, da sie nicht nur in Organextrakten, sondern auch im Serum sowie in den Extrakten von Leukozyten, kultivierten Fibroblasten oder Amnionzellen durchgeführt werden kann^[45, 49]. Überdies gestattet die enzymatische Analyse die Identifizierung von Heterozygoten, deren Enzymaktivitätsspiegel in der Regel zwischen denen von Kontrollpersonen und Patienten liegen^[45, 49, 211–219]. Die Identifizierung der Krankheitsüberträger ist eine Voraussetzung für die genetische Beratung betroffener Familien. Enzymanalysen haben den rezessiven Erbgang der Speicherkrankheiten bestätigt. Allerdings sind die diagnostischen Enzymbestimmungen in Zellkulturen mit Unsicherheiten behaftet. Die Aktivitätsspiegel lysosomaler Enzyme aus kultivierten Zellen normaler Individuen streuen stark. Zudem hängt die Aktivität auch von der Phase des Zellzyklus ab^[220]. Da es aber für die Sphingolipidosen keine kausale Therapie gibt, kommt der Enzymanalyse, insbesondere für die pränatale Diagnose, eine große Bedeutung zu. Fötale Zellen, aus der Amnionflüssigkeit isoliert und in Kultur weiter gezüchtet, enthalten einen Satz an lysosomalen Enzymen, der dem von kultivierten Hautfibroblasten von Kindern und Erwachsenen sehr ähnlich ist^[221–231]. Diese Zellen können daher zur pränatalen Diagnose herangezogen werden.

In der Regel werden die Enzymbestimmungen mit synthetischen Substraten durchgeführt^[49, 211–231]. Eine Ausnahme bildet die Galaktocerebrosid- β -Galaktosidase, deren Aktivität mit radioaktiv markiertem Galaktosylceramid als Substrat gemessen wird^[79].

Die Feststellung spezifischer Enzymdefekte in kultivierten Amnionzellen und zum Teil auch in der Amnionflüssigkeit selbst erlaubt prinzipiell die pränatale Diagnose aller Lipidosen mit bekanntem Enzymdefekt. Es bleibt aber fraglich, ob der Nachweis eines Enzymdefektes mit Hilfe synthetischer

Substrate als Diagnose für das Vorliegen einer Lipidose ausreicht. Mit synthetischen Substraten wird nämlich oft die Aktivität mehrerer Enzyme zusammen erfaßt, was die Interpretation der Ergebnisse erschwert. Soweit der Aktivitätsausfall durch die Abwesenheit des Enzymproteins beim Patienten verursacht wird, ist es auch möglich, radioimmunologische Verfahren zur Krankheitsdiagnose heranzuziehen. Für die Tay-Sachs'sche Erkrankung wurde diese Methode von *Arnon et al.*^[146] bereits entwickelt.

12. Therapeutische Versuche

Die bisherigen Untersuchungen sprechen für die Annahme, daß die Lipidspeicherung bei den Sphingolipidosen von verschiedenen Defekten abbauender Enzyme hervorgerufen wird. So konnte durch Modellexperimente gezeigt werden, daß die Aufnahme von aktiven Enzymen in defekte Zellen zum Abbau des Speichermaterials führt. Defekte Fibroblasten nehmen aus dem Kulturmedium lysosomale Enzyme auf, die intrazellulär eine beachtliche Stabilität haben können, mit Halbwertszeiten zwischen einigen Tagen bis zu mehreren Wochen^[43, 44, 121]. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden Patienten hochgereinigte Enzyme infundiert^[44, 232, 233]. Kurzfristig ergaben sich dabei ermutigende Erfolge, vor allem bei Krankheitsformen, die ohne wesentliche Hirnbeteiligung ablaufen. So nimmt der Trihexosylceramid-Gehalt im Plasma von Fabry-Kranken nach Injektion von Ceramidtrihexosidase vorübergehend ab. Der Glucocerebrosidspiegel in den Erythrocyten von Gaucher-Patienten sinkt nach Injektion von β -Glucosidase^[232]. Vorübergehende Besserungen wurden auch bei Fabry-Kranken nach Transplantation einer gesunden Niere beobachtet, die als permanente Quelle das dem Körper mangelnde Enzym in die Blutbahn abgibt^[234–236]. Im Falle von Lipidosen mit hauptsächlich Hirnbeteiligung allerdings waren Therapieversuche bisher erfolglos^[232, 233].

Das infundierte Enzym wird im wesentlichen von der Leber aufgenommen und abgebaut und ist offensichtlich nicht imstande, die Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen, um in das Nervengewebe zu gelangen. Bevor die Enzymsubstitution klinisch angewendet werden kann, müssen noch einige Probleme gelöst werden. Da die infundierten Enzyme vom Organismus zu schnell inaktiviert und ausgeschieden werden, sind wiederholte Gaben notwendig. Das kann wiederum eine unerwünschte Immunantwort hervorrufen. An diesen grundsätzlichen Schwierigkeiten werden auch Methoden wenig ändern, nach denen zur Erhöhung der Stabilität die infundierten Enzyme entweder chemisch verändert^[237, 238] oder immunologisch neutral in Erythrocyten-Ghosts^[239, 240] oder in Leukozyten^[241] des Patienten verpackt werden.

Neben der Enzymsubstitution sollte es andere Wege zur Therapie geben. Hierbei ist u. a. an die Übertragung der genetischen Information für das defekte oder fehlende Enzymprotein in den kranken Organismus mit viralen Vektoren zu denken. Über ein Experiment an Zellkulturen, dem in dieser Hinsicht Modellcharakter zukommt, berichteten kürzlich *Horst et al.*^[242]. Es gelang ihnen, mit dem Phagen λ plac die genetische Information für die β -Galaktosidase von *E. coli* auf kultivierte Fibroblasten eines Patienten mit G_{M1} -Gangliosidose zu übertragen. Es bleibt abzuwarten, ob diese aus grundsätzlichen Erwägungen äußerst umstrittene Arbeitsrichtung je therapeutische Möglichkeiten eröffnen kann.

13. Schlußbemerkung

Die biochemische Untersuchung der Sphingolipidosen hat bei den meisten Krankheitsformen zur Identifizierung der Speichersubstanzen und der Enzymaktivitätsausfälle geführt. Die den Krankheiten zugrundeliegenden Mutationen in den Genen werden sich aber erst feststellen lassen, wenn die proteinchemische Charakterisierung der beteiligten Enzyme weiter vorangetrieben wird. Näher untersuchen sollte man auch die physiologische Funktion der Sphingolipide, vor allem in den Zellmembranen, um die Pathogenese dieser Krankheiten besser verstehen zu können.

Eingegangen am 8. Juli 1976,
in gekürzter Form am 4. Oktober 1976 [A 158]

- [1] V. A. McKusick: Mendelian Inheritance in Man: Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-Linked Phenotypes. 4. Aufl. Johns Hopkins Press, Baltimore 1975.
- [2] A. E. Garrod: Inborn Errors of Metabolism. Oxford University Press, London 1923.
- [3] E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 262, 128 (1939).
- [4] E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 267, 128 (1941).
- [5] E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 268, 50 (1941).
- [6] E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 273, 76 (1942).
- [7] E. Klenk, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 75, 1632 (1942).
- [8] E. Klenk, H. Langerbeins, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 270, 185 (1941).
- [9] E. Klenk, F. Rennkamp, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 273, 253 (1942).
- [10] A. Aghion: La maladie de Gaucher dans l'enfance. Thèse, Université Paris 1934.
- [11] H. Wiegandt, Angew. Chem. 80, 89 (1968); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 7, 87 (1968).
- [12] R. W. Ledeer, R. K. Yu in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 105f.
- [13] S. I. Hakamori, Biochim. Biophys. Acta 417, 55 (1975).
- [14] H. Wiegandt, J. Neurochem. 14, 671 (1967).
- [15] W. T. Norton in R. W. Albers, G. J. Siegel, R. Katzman, B. W. Agranoff: Basic Neurochemistry. Little, Brown and Co., Boston 1972, S. 365f.
- [16] S. Hakamori in R. Jeanloz, P. Balasz: The Aminosugars. Bd. II-A. Academic Press, New York 1965, S. 353f.
- [17] T. Yamakawa in E. Schütte: Lipide. 16. Colloquium der Gesellschaft Physiolog. Chemie, Mosbach. Springer, Berlin 1966, S. 87f.
- [18] C. A. King, W. E. van Heyningen, J. Infect. Dis. 127, 639 (1973).
- [19] J. Holmgren, I. Lonnroth, L. Svennerholm, Scand. J. Infect. Dis. 5, 77 (1973).
- [20] P. Cuatrecasas, Biochemistry 12, 3547 (1973).
- [21] S. W. Craig, P. Cuatrecasas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 3844 (1975).
- [22] T. Révész, M. Greaves, Nature 257, 103 (1975).
- [23] H. H. Sedlacek, J. Stärk, F. R. Seiler, W. Ziegler, H. Wiegandt, FEBS Lett. 61, 272 (1976).
- [24] J. Holmgren, Infect. Immun. 8, 851 (1973).
- [25] S. T. Donta, J. P. Viner, Infect. Immun. 11, 982 (1975).
- [26] Y. Takeda, T. Takeda, T. Honda, J. Sakurai, N. Ohtomo, T. Miwatani, Infect. Immun. 12, 931 (1975).
- [27] T. Honda, K. Goshima, Y. Takeda, Y. Sugino, T. Miwatani, Infect. Immun. 13, 163 (1976).
- [28] T. Honda, S. Taga, T. Takeda, M. A. Hasibuan, Y. Takeda, T. Miwatani, Infect. Immun. 13, 133 (1976).
- [29] F. Besancon, H. Ankel, Nature 252, 478 (1974).
- [30] B. R. Mullin, P. H. Fishman, G. Lee, S. M. Aloj, F. D. Ledley, R. J. Winand, L. D. Kohn, R. O. Brady, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 842 (1976).
- [31] W. E. van Heyningen, J. Gen. Microbiol. 31, 375 (1963).
- [32] W. E. van Heyningen, J. Mellanby, J. Gen. Microbiol. 52, 447 (1968).
- [33] S. Roseman, Chem. Phys. Lipids 5, 270 (1970).
- [34] S. Chipowsky, Y. C. Lee, S. Roseman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70, 2309 (1973).
- [35] W. Stoffel, Chem. Phys. Lipids 11, 318 (1973).
- [36] P. Morell, P. Braun, J. Lipid Res. 13, 293 (1972).
- [37] S. Gatt, Y. Barenholz, Annu. Rev. Biochem. 42, 61 (1973).
- [38] J. C. Steigerwald, S. Basu, B. Kaufman, S. Roseman, J. Biol. Chem. 250, 6727 (1975).
- [39] H. J. Maccioni, A. Arce, R. Caputto, Biochem. J. 125, 1131 (1971).
- [40] W. D. Marggraf, F. A. Anderer, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 803 (1974).
- [41] B. W. Volk, S. M. Aronson: Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders. Plenum, New York 1972.
- [42] H. Jatzkewitz, Dtsch. Med. Wochenschr. 95, 131 (1970).
- [43] R. O. Brady, Angew. Chem. 85, 28 (1973); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 12, 1 (1973).
- [44] E. Neufeld, T. W. Lim, L. J. Shapiro, Annu. Rev. Biochem. 44, 357 (1975).
- [45] B. W. Volk, L. Schneck: The Gangliosidoses. Plenum, New York 1975.
- [46] H. G. Hers in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 147f.
- [47] R. D. Terry, M. Weiss, J. Neuropathol. Exp. Neurol. 22, 18 (1963).
- [48] S. Samuels, S. R. Korey, J. Gonatas, R. D. Terry, M. Weiss, J. Neuropathol. Exp. Neurol. 22, 81 (1963).
- [49] M. M. Kaback, R. R. Howell in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 599f.
- [50] E. Mehl, H. Jatzkewitz, Biochim. Biophys. Acta 151, 619 (1968).
- [51] G. Fischer, H. Jatzkewitz, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 356, 605 (1975).
- [52] G. Fischer, H. Jatzkewitz, persönliche Mitteilung.
- [53] Y. T. Li, M. Y. Mazzotta, C. C. Wan, R. Orth, S. C. Li, J. Biol. Chem. 248, 7512 (1973).
- [54] S. C. Li, C. C. Wan, M. Y. Mazzotta, Y. T. Li, Carbohydr. Res. 34, 180 (1974).
- [55] S. C. Li, Y. T. Li, J. Biol. Chem. 251, 1159 (1976).
- [56] M. W. Ho, J. S. O'Brien, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 2810 (1971).
- [57] M. W. Ho, J. S. O'Brien, N. S. Radin, J. S. Erickson, Biochem. J. 131, 173 (1973).
- [58] M. W. Ho, FEBS Lett. 53, 243 (1975).
- [59] M. W. Ho, N. D. Light, Biochem. J. 136, 821 (1973).
- [60] M. W. Ho in J. M. Tager, G. J. M. Hooghwinkel, W. Th. Daems: Enzyme Therapy in Lysosomal Storage Diseases. Elsevier, Amsterdam 1974, S. 239f.
- [61] M. W. Ho, M. Rigby, Biochim. Biophys. Acta 397, 267 (1975).
- [62] F. van Hoof in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 305f.
- [63] H. Jatzkewitz, K. Sandhoff, Biochim. Biophys. Acta 70, 354 (1963).
- [64] K. Suzuki, G. C. Chen, J. Lipid Res. 8, 105 (1967).
- [65] Y. Suzuki, K. Suzuki, J. Biol. Chem. 249, 2113 (1974).
- [66] A. G. W. Norden, L. L. Tennant, J. S. O'Brien, J. Biol. Chem. 249, 7969 (1974).
- [67] J. S. O'Brien, Clin. Genet. 8, 303 (1975).
- [68] K. Suzuki, Science 159, 1471 (1968).
- [69] K. Suzuki, K. Suzuki, S. Kamoshita, J. Neuropathol. Exp. Neurol. 28, 25 (1969).
- [70] J. W. Callahan, L. S. Wolfe, Biochim. Biophys. Acta 215, 527 (1970).
- [71] G. C. Tsay, G. Dawson, Biochem. Biophys. Res. Commun. 52, 759 (1973).
- [72] L. S. Wolfe, R. G. Senior, N. M. K. Ng Ying Kin, J. Biol. Chem. 249, 1828 (1974).
- [73] N. M. K. Ng Ying Kin, L. S. Wolfe, Biochem. Biophys. Res. Commun. 66, 123 (1975).
- [74] E. F. Gilbert, J. Varakis, J. M. Opitz, G. M. Zu Rhein, R. Ware, C. Viseskul, E. G. Kavaggia, H. A. Hartmann, Z. Kinderheilkd. 120, 151 (1975).
- [75] L. Pinsky, J. Miller, B. Shanfield, G. Watters, L. S. Wolfe, Am. J. Hum. Genet. 26, 563 (1974).
- [76] M. C. B. Loonen, L. v. d. Lugt, C. L. Franke, Lancet II, 785 (1974).
- [77] A. G. W. Norden, J. S. O'Brien, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 240 (1975).
- [78] L. Chou, C. I. Kaye, H. L. Nadler, Pediatr. Res. 8, 120 (1974).
- [79] K. Suzuki, K. Suzuki in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 395f.
- [80] K. Suzuki, Y. Suzuki, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 66, 302 (1970).
- [81] Y. Suzuki, K. Suzuki, Science 171, 73 (1971).
- [82] T. Miyatake, K. Suzuki, J. Biol. Chem. 247, 5398 (1972).
- [83] T. Miyatake, K. Suzuki, Biochem. Biophys. Res. Commun. 48, 538 (1972).
- [84] T. Miyatake, K. Suzuki, J. Neurochem. 22, 231 (1974).
- [85] D. A. Wenger, M. Sattler, S. P. Markey, Biochem. Biophys. Res. Commun. 53, 680 (1973).
- [86] D. A. Wenger, M. Sattler, W. Hiatt, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 854 (1974).
- [87] D. A. Wenger, M. Sattler, C. Clark, H. McKelvey, Clin. Chim. Acta 56, 199 (1974).
- [88] J. Austin, Arch. Neurol. (Chicago) 9, 207 (1963).
- [89] L. Svennerholm in J. Folch-Pi, H. Bauer: Brain Lipids and Lipoproteins, and the Leucodystrophies. Elsevier, Amsterdam 1963, S. 104f.
- [90] M. T. Vanier, L. Svennerholm, Acta Paediatr. Scand. 64, 641 (1975).
- [91] D. A. Stumpf, J. H. Austin, Trans. Am. Neurol. Assoc. 97, 29 (1972).
- [92] D. A. Stumpf, J. H. Austin, A. C. Crocker, M. La France, Am. J. Dis. Child. 126, 747 (1973).
- [93] A. L. Fluhrty, R. L. Stevens, D. L. Sanders, H. Kihara, Biochem. Biophys. Res. Commun. 59, 455 (1974).
- [94] J. W. Spranger, M. R. Wiedemann, Humangenetik 9, 113 (1970).
- [95] J. F. O'Brien, M. Cantz, J. Spranger, Biochem. Biophys. Res. Commun. 60, 1170 (1974).

- [96] H. Jatzkewitz, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 311, 279 (1958).
- [97] J. H. Austin, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 100, 361 (1959).
- [98] E. Mehl, H. Jatzkewitz, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 339, 260 (1964).
- [99] E. Mehl, H. Jatzkewitz, Biochem. Biophys. Res. Commun. 19, 407 (1965).
- [100] J. H. Austin, A. S. Balasubramanian, T. N. Pattabiraman, S. Saraswathi, D. K. Basu, B. K. Bachhawat, J. Neurochem. 10, 805 (1963).
- [101] J. Austin, D. McAfee, L. Shearer, Arch. Neurol. (Chicago) 12, 447 (1965).
- [102] H. Jatzkewitz, K. Stinshoff, FEBS Lett. 32, 129 (1973).
- [103] H. Baum, K. S. Dodgson, B. Spencer, Clin. Chim. Acta 4, 453 (1959).
- [104] B. C. Harinath, E. Robins, J. Neurochem. 18, 245 (1971).
- [105] H. Jatzkewitz, E. Mehl, J. Neurochem. 16, 19 (1969).
- [106] A. Jerfy, A. B. Roy, Biochim. Biophys. Acta 293, 178 (1973).
- [107] K. Harzer, K. Stinshoff, W. Mraz, H. Jatzkewitz, J. Neurochem. 20, 279 (1973).
- [108] E. Neuwelt, D. Stumpf, J. Austin, P. Kohler, Biochim. Biophys. Acta 236, 333 (1971).
- [109] E. Neuwelt, P. F. Kohler, J. Austin, Immunochemistry 10, 767 (1973).
- [110] R. L. Stevens, A. L. Fluhrty, M. H. Skokut, H. Kihara, J. Biol. Chem. 250, 2495 (1975).
- [111] K. Harzer, H. U. Benz, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 355, 744 (1974).
- [112] M. Sugita, J. T. Dulaney, H. W. Moser, J. Lipid Res. 15, 227 (1974).
- [113] Y. Eto, U. Wiesmann, N. N. Herschkowitz, J. Biol. Chem. 249, 4955 (1974).
- [114] A. L. Fluhrty, R. L. Stevens, R. T. Miller, H. Kihara, Biochem. Biophys. Res. Commun. 61, 348 (1974).
- [115] K. Yamato, S. Handa, T. Yamakawa, J. Biochem. (Tokyo) 75, 1241 (1974).
- [116] S. Yamaguchi, K. Aoki, S. Handa, T. Yamakawa, J. Neurochem. 24, 1087 (1975).
- [117] W. Scholz, Z. Gesamte Neurol. Psychiatr. 99, 651 (1925).
- [118] J. Austin in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 411f.
- [119] J. S. O'Brien, E. L. Sampson, Science 150, 1613 (1965).
- [120] K. Suzuki, K. Suzuki, G. Chen, Science 151, 1231 (1966).
- [121] H. Kihara, M. T. Porter, A. L. Fluhrty, Birth Defects. Orig. Artic. Ser. 9, 19 (1973).
- [122] M. T. Porter, A. L. Fluhrty, J. Trammell, H. Kihara, Biochem. Biophys. Res. Commun. 44, 660 (1971).
- [123] J. Austin, Trans. Am. Neurol. Assoc. 83, 149 (1958).
- [124] J. Austin, Res. Publ. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis. 40, 189 (1960).
- [125] J. V. Murphy, H. J. Wolfe, E. A. Balazs, H. W. Moser in J. Bernsohn, H. J. Grossman: Lipid Storage Diseases. Academic Press, New York 1971, S. 67f.
- [126] Y. Eto, U. N. Wiesmann, J. H. Carson, N. N. Herschkowitz, Arch. Neurol. (Chicago) 30, 153 (1974).
- [127] D. Stumpf, E. Neuwelt, J. Austin, P. Kohler, Arch. Neurol. (Chicago) 25, 427 (1971).
- [128] W. Tay, Trans. Ophthalmol. Soc. U. K. 1, 55 (1881).
- [129] J. S. O'Brien in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 323f.
- [130] K. Sandhoff, K. Harzer in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 345f.
- [131] L. Svennerholm, Biochem. Biophys. Res. Commun. 9, 436 (1962).
- [132] R. Ledeen, K. Salsman, Biochemistry 4, 2225 (1965).
- [133] K. Sandhoff, U. Andreae, H. Jatzkewitz, Pathol. Eur. 3, 278 (1968).
- [134] K. Sandhoff, K. Harzer, W. Wässle, H. Jatzkewitz, J. Neurochem. 18, 2469 (1971).
- [135] K. Sandhoff, FEBS Lett. 4, 351 (1969).
- [136] D. Robinson, J. L. Stirling, Biochem. J. 107, 321 (1968).
- [137] K. Sandhoff, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 349, 1095 (1968).
- [138] K. Sandhoff, W. Wässle, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 352, 1119 (1971).
- [139] K. Sandhoff, FEBS Lett. 11, 342 (1970).
- [140] J. F. Tallman, R. O. Brady, M. V. Quirk, M. Villalba, A. E. Gal, J. Biol. Chem. 249, 3489 (1974).
- [141] S. Okada, J. S. O'Brien, Science 165, 698 (1969).
- [142] B. Hultberg, Lancet II, 1195 (1969).
- [143] M. Carroll, D. Robinson, Biochem. J. 131, 91 (1973).
- [144] S. K. Srivastava, E. Beutler, J. Biol. Chem. 249, 2054 (1974).
- [145] E. Beutler, W. Kuhl, Nature 258, 262 (1975).
- [146] B. Geiger, R. Navon, Y. Ben-Yoseph, R. Arnon, Eur. J. Biochem. 56, 311 (1975).
- [147] P. D. Snyder Jr., W. Krivit, C. C. Sweeley, J. Lipid Res. 13, 128 (1972).
- [148] W. Krivit, R. J. Desnick, J. Lee, J. Moller, F. Wright, C. C. Sweeley, P. D. Snyder, H. L. Sharp, Am. J. Med. 52, 763 (1972).
- [149] S. Okada, M. McCrea, J. S. O'Brien, Pediatr. Res. 6, 606 (1972).
- [150] Y. Suzuki, J. C. Jacob, K. Suzuki, K. M. Kutty, K. Suzuki, Neurology 21, 313 (1971).
- [151] E. M. Brett, R. B. Ellis, L. Haas, J. U. Ikonne, B. D. Lake, A. D. Patrick, R. Stephens, Arch. Dis. Child. 48, 775 (1973).
- [152] C. M. de Baecque, K. Suzuki, I. Rapin, A. B. Johnson, D. L. Whethers, K. Suzuki, Acta Neuropathol. 33, 207 (1975).
- [153] H. Bernheimer, F. Seitelberger, Wiener Klin. Wochenschr. 80, 163 (1968).
- [154] K. Suzuki, K. Suzuki, I. Rapin, Y. Suzuki, N. Ishii, Neurology 20, 190 (1970).
- [155] S. Okada, M. L. Veath, J. S. O'Brien, J. Pediatr. 77, 1063 (1970).
- [156] I. Rapin, K. Suzuki, K. Suzuki, M. P. Valsamis, Arch. Neurol. (Chicago) 33, 120 (1976).
- [157] Y. Suzuki, K. Suzuki, Neurology 20, 848 (1970).
- [158] J. Zerfowski, K. Sandhoff, Acta Neuropathol. 27, 225 (1974).
- [159] K. Sandhoff, H. Nehr Korn, E. C. Conzelmann, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [160] B. Geiger, R. Arnon, Biochemistry 15, 3484 (1976).
- [161] E. Beutler, W. Kuhl, D. Comings, Am. J. Hum. Genet. 27, 628 (1975).
- [162] J. U. Ikonne, M. C. Ratazzi, R. J. Desnick, Am. J. Hum. Genet. 27, 639 (1975).
- [163] G. H. Thomas, H. A. Taylor Jr., C. S. Miller, J. Axelmann, B. R. Migeon, Nature 250, 580 (1974).
- [164] H. Galjaard, A. Hoogeveen, H. A. de Wit-Verbeek, A. J. J. Reuser, W. Keijzer, A. Westerveld, D. Bootsma, Exp. Cell Res. 87, 444 (1974).
- [165] H. H. Ropers, K. H. Grzeschik, E. Bühler, Humangenetik 26, 117 (1975).
- [166] M. C. Ratazzi, J. A. Brown, R. G. Davidson, T. B. Shows, Cytogenet. Cell Genet. 14, 232 (1975).
- [167] N. van Cong, D. Weil, R. Rebouret, C. Pangalos, J. Frézal, Cytogenet. Cell Genet. 14, 272 (1975).
- [168] H. van Someren, H. Beijersbergen van Henegouwen, Humangenetik 18, 171 (1973).
- [169] T. A. Tedesco, C. Croce, H. Boedecker, Am. J. Hum. Genet. 25, 78a (1973).
- [170] P. A. Lalley, M. C. Ratazzi, T. B. Shows, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 1569 (1974).
- [171] F. Gilbert, R. Kuchelapati, R. P. Creagan, M. J. Murnane, G. J. Darlington, F. H. Ruddle, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 263 (1975).
- [172] J. A. Kint, D. Carton in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 357f.
- [173] J. R. Wherrett, S. I. Hakamori, J. Biol. Chem. 248, 3046 (1973).
- [174] E. Beutler, W. Kuhl, Am. J. Hum. Genet. 24, 237 (1972).
- [175] S. Wood, H. L. Nadler, Am. J. Hum. Genet. 24, 250 (1972).
- [176] R. O. Brady, A. E. Gal, R. M. Bradley, E. Martensson, J. Biol. Chem. 243, 1021 (1967).
- [177] J. A. Kint, Science 167, 1268 (1970).
- [178] P. J. G. M. Rietra, J. L. Molenaar, M. N. Hamers, J. M. Tager, P. Borst, Eur. J. Biochem. 46, 89 (1974).
- [179] E. Beutler, W. Kuhl, N. Engl. J. Med. 289, 694 (1973).
- [180] E. Beutler, W. Kuhl, J. Biol. Chem. 247, 7195 (1972).
- [181] I. Kano, T. Yamakawa, Chem. Phys. Lipids 13, 283 (1974).
- [182] P. J. G. M. Rietra, F. A. J. T. M. van den Bergh, J. M. Tager, Clin. Chim. Acta 62, 401 (1975).
- [183] R. O. Brady, J. N. Kanfer, D. Shapiro, Biochem. Biophys. Res. Commun. 18, 221 (1965).
- [184] R. O. Brady, J. N. Kanfer, R. M. Bradley, D. Shapiro, J. Clin. Invest. 45, 1112 (1966).
- [185] P. G. Pentchev, R. O. Brady, S. R. Hibbert, A. E. Gal, D. Shapiro, J. Biol. Chem. 248, 5256 (1973).
- [186] R. O. Brady, J. N. Kanfer, M. B. Mock, D. S. Fredrickson, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 55, 366 (1966).
- [187] P. B. Schneider, E. P. Kennedy, J. Lipid Res. 8, 202 (1967).
- [188] R. O. Brady, F. M. King in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 439f.
- [189] J. W. Callahan, M. Khalil, J. Gerrie, Biochem. Biophys. Res. Commun. 58, 384 (1974).
- [190] J. W. Callahan, M. Khalil, M. Philippart, Pediatr. Res. 9, 908 (1975).
- [191] S. Gatt, Biochem. Biophys. Res. Commun. 68, 235 (1976).
- [192] F. van Hoof, H. G. Hers, Eur. J. Biochem. 7, 34 (1968).
- [193] P. Durand, C. Borrone, G. Della Cella, J. Pediatr. 75, 665 (1969).
- [194] V. Patel, I. Watanabe, W. Zeman, Science 176, 426 (1972).
- [195] F. van Hoof in H. G. Hers, F. van Hoof: Lysosomes and Storage Diseases. Academic Press, New York 1973, S. 277f.
- [196] C. Borrone, R. Gatti, X. Trias, P. Durand, J. Pediatr. 84, 727 (1974).
- [197] G. Dawson, J. W. Spranger, N. Engl. J. Med. 285, 122 (1971).
- [198] J. A. Alhadeff, A. L. Miller, H. Wenaas, T. Vedvick, J. S. O'Brien, J. Biol. Chem. 250, 7106 (1975).
- [199] B. G. Kousseff, N. G. Beratis, L. Strauss, P. W. Brill, R. E. Rosenfield, B. Kaplan, K. Hirschhorn, Pediatrics 57, 205 (1976).
- [200] B. M. Turner, V. S. Turner, N. G. Beratis, K. Hirschhorn, Am. J. Hum. Genet. 27, 651 (1975).
- [201] B. M. Turner, N. G. Beratis, V. S. Turner, K. Hirschhorn, Nature 257, 391 (1975).
- [202] R. Thorpe, D. Robinson, FEBS Lett. 54, 89 (1975).
- [203] M. Sugita, J. T. Dulaney, H. W. Moser, Science 178, 1100 (1972).
- [204] M. Sugita, M. Iwamori, J. Evans, R. H. McCluer, J. T. Dulaney, H. W. Moser, J. Lipid Res. 15, 223 (1974).

- [205] M. Sugita, M. Williams, J. T. Dulaney, H. W. Moser, *Biochim. Biophys. Acta* 398, 125 (1975).
- [206] C. L. Schengrund, A. Rosenberg, *J. Biol. Chem.* 245, 6196 (1970).
- [207] G. Tettamanti, I. G. Morgan, G. Gombos, G. Vincendon, P. Mandel, *Brain Res.* 47, 515 (1972).
- [207a] M. Cantz, J. Gehler, J. Spranger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 74, 732 (1977).
- [207b] G. H. Thomas, G. E. Tiller, L. W. Reynolds, C. S. Miller, J. W. Bace, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71, 188 (1976).
- [207c] G. Strecker, J. C. Michalski, J. Montreuil, J. P. Farriaux, *Biomedicine* 25, 238 (1976).
- [208] H. Pilz, K. Sandhoff, H. Jatzkewitz, *J. Neurochem.* 13, 1273 (1966).
- [209] S. R. Max, N. K. Maclaren, R. O. Brady, R. M. Bradley, M. B. Rennels, J. Tanaka, J. H. Garcia, M. Cornblath, *N. Engl. J. Med.* 291, 929 (1974).
- [210] P. H. Fishman, S. R. Max, J. F. Tallman, R. O. Brady, N. K. Maclaren, M. Cornblath, *Science* 187, 68 (1975).
- [211] D. L. Johnson, M. A. del Monte, E. Cotlier, R. J. Desnick, *Clin. Chim. Acta* 63, 81 (1975).
- [212] A. Saifer, G. Perle, C. Valenti, L. Schneck in B. W. Volk, S. M. Aronson: *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. Plenum Press, New York 1972, S. 599f.
- [213] J. S. O'Brien, M. W. Ho, S. Okada, K. Zielke, M. L. Veath, L. Tennant in B. W. Volk, S. M. Aronson: *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. Plenum Press, New York 1972, S. 581f.
- [214] K. Zielke, M. L. Veath, J. S. O'Brien, *J. Exp. Med.* 136, 197 (1972).
- [215] C. W. Hall, E. F. Neufeld, *Arch. Biochem. Biophys.* 158, 817 (1973).
- [216] K. Harzer, *Humangenetik* 20, 9 (1973).
- [217] K. Harzer, H. U. Benz, *J. Neurochem.* 21, 999 (1973).
- [218] K. Harzer, K. Sandhoff, H. Schall, F. Kollmann, *Klin. Wochenschr.* 49, 1189 (1971).
- [219] M. M. Kaback, J. S. O'Brien, *Hosp. Pract.* 8, 107 (1973).
- [220] S. Chatterjee, L. F. Velicer, C. C. Sweeley, *J. Biol. Chem.* 250, 4972 (1975).
- [221] A. Milunsky, J. W. Littlefield, J. N. Kanfer, E. H. Kolodny, V. E. Shih, L. Atkins, *N. Engl. J. Med.* 283, 1370 (1970).
- [222] A. Milunsky, J. W. Littlefield, J. N. Kanfer, E. H. Koldny, V. E. Shih, L. Atkins, *N. Engl. J. Med.* 283, 1441 (1970).
- [223] A. Milunsky, J. W. Littlefield, J. N. Kanfer, E. H. Kolodny, V. E. Shih, L. Atkins, *N. Engl. J. Med.* 283, 1498 (1970).
- [224] B. K. Burton, A. B. Gerbie, H. L. Nadler, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 118, 718 (1974).
- [225] P. S. Harper, K. M. Laurence, A. Parkes, F. S. Wusteman, H. Kresse, K. v. Figura, M. A. Ferguson-Smith, D. M. Duncan, R. W. Logan, F. Hall, P. Whiteman, *J. Med. Genet.* 11, 123 (1974).
- [226] R. J. Desnick, W. Krivit, H. L. Sharp, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 51, 20 (1973).
- [227] R. C. A. Sengers, K. J. B. Lamers, J. A. J. M. Bakkeren, E. D. A. M. Schretlen, J. M. F. Trijbels, *Neuropaediatric* 6, 377 (1975).
- [228] H. Galjaard, A. Hoogeveen, W. Keijzer, E. de Wit-Verbeek, C. Vlek-Noot, *Histochem. J.* 6, 491 (1974).
- [229] M. F. Niermeijer, W. J. Kleijer, M. Jahodova, E. S. Sachs, H. Galjaard, *J. Genet. Hum.* 23, 123 (1975).
- [230] A. E. Gal, R. O. Brady, S. R. Hibbert, P. G. Pentchev, *N. Engl. J. Med.* 293, 632 (1975).
- [231] A. Scharfman, N. Houdret, P. Roussel, G. Biserte, C. Aerts, A. B. Tonnel, C. Voisin, *Clin. Chim. Acta* 63, 369 (1975).
- [232] P. G. Pentchev, R. O. Brady, A. E. Gal, S. R. Hibbert, *J. Mol. Med.* 1, 73 (1975).
- [233] J. F. Tallman, P. G. Pentchev, R. O. Brady, *Enzyme* 18, 136 (1974).
- [234] M. Phillippart, S. S. Franklin, A. Gordon, *Ann. Intern. Med.* 77, 195 (1972).
- [235] M. Phillippart, *Birth Defects, Orig. Artic. Ser.* 9, 81 (1973).
- [236] R. J. Desnick, K. Y. Allen, R. L. Simmons, J. E. Woods, C. F. Anderson, J. S. Najarian, W. Krivit, *Birth Defects, Orig. Artic. Ser.* 9, 88 (1973).
- [237] P. D. Snyder Jr., F. Wold, R. W. Bernlohr, C. Dullum, R. J. Desnick, W. Krivit, R. C. Condie, *Biochim. Biophys. Acta* 350, 432 (1974).
- [238] B. Geiger, B. U. v. Specht, R. Arnon, *Eur. J. Biochem.* 73, 144 (1977).
- [239] G. M. Ihler, R. H. Glew, F. W. Schnurre, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 2663 (1973).
- [240] M. B. Fiddler, S. R. Thorpe, R. J. Desnick, *Am. J. Hum. Genet.* 26, 30a (1974).
- [241] C. M. Cohen, G. Weissmann, S. Hoffstein, Y. C. Awasthi, S. K. Srivastava, *Biochemistry* 15, 452 (1976).
- [242] J. Horst, F. Kluge, K. Beyreuther, W. Gerok, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 3531 (1975).

Effizienz und Evolution der Enzymkatalyse

Von W. John Albery und Jeremy R. Knowles^[*]

Als Maß für die Wirksamkeit von Katalysatoren wurde aus kinetischen Daten eine neue Funktion abgeleitet, die Wirksamkeitsfunktion. Für frei diffundierende Spezies ist die maximale Wirksamkeit 1. Das Enzym Triosephosphat-Isomerase hat eine Wirksamkeit von 0.6 und ist demnach ein nahezu perfekter Katalysator. Die Wirksamkeit des Acetat-Ions als Katalysator der gleichen Reaktion beträgt $2.5 \cdot 10^{-11}$. Diese Zahlen lassen ahnen, was die Evolution geleistet hat.

1. Einleitung

Chemische Kinetik ohne Katalyse ist wie Skifahren ohne Ski. Enzyme sind die Katalysatoren der Natur; jedes lebende System ist davon abhängig, wie wirkungsvoll sie den Energie- und Materiefluß durch den Organismus lenken. Während der letzten Milliarde Jahre (10^9 Jahre = 1 Gigajahr) haben

sich die Arten entsprechend den Bedingungen in ihrer Umgebung entwickelt. Wir können erwarten, daß die Evolution auch die Eigenschaften der Enzyme verbessert hat, weil die Organismen mit einem wirkungsvolleren Energie- und Materiefluß einen Selektionsvorteil besitzen.

Zum Beispiel beschleunigt das glykolytische Enzym Triosephosphat-Isomerase die in Schema 1 gezeigte Reaktion etwa 10^{10} -mal stärker als ein einfacher Katalysator wie das Acetat-Ion^[1].

Wir sollten nicht zu überrascht sein, daß das Enzym ein weit leistungsfähigerer Katalysator ist als die einfachen funktionellen Gruppen, die es enthält. Damit das Enzym den Energie- und Materiefluß durch das lebende System steuern kann,

[*] Dr. W. J. Albery
Physical Chemistry Laboratory
South Parks Road, Oxford, OX1 3QZ (England)
Prof. Dr. J. R. Knowles
Department of Chemistry, Harvard University
12, Oxford Street, Cambridge, Mass. 02138 (USA)