

Metachromatische Leukodystrophie

Genetische Studie einer familiären adulten Form
der metachromatischen Leukodystrophie (MLD)

E. Czmok, F. Regli, K. Harzer und H. U. Benz

Neurologische Klinik und Poliklinik der Universität Mainz
und Institut für Hirnforschung der Universität Tübingen

Eingegangen am 26. August 1974

Metachromatic Leucodystrophy

A Genetic Study of a Familial Adult Form of
Metachromatic Leucodystrophy

Summary. A family with the adult form of metachromatic leucodystrophy (MLD) was genetically studied starting from a proband aged 25 years with the characteristic biochemical signs of the disease: profound deficiency of arylsulfatase A in leucocytes and urine, and high sulfatide excretion in urine. The patient's parents, who were obligate heterozygous carriers of the disease, showed about half the normal level of arylsulfatase A in their leucocytes as did four other members of the family. The enzymatic identification of non-obligate heterozygous carriers provides a relatively reliable basis for genetic counselling of family members.

Key words: Metachromatic — Leucodystrophy — Arylsulfatase-A-Deficiency-
Findings — Genetics — Heterozygotic — Diminution in Carriers.

Zusammenfassung. Eine genetische Studie in einer Familie mit der adulten Form der metachromatischen Leukodystrophie (MLD) ging von einem 25jährigen Probanden mit den charakteristischen biochemischen Zeichen der Erkrankung aus: Weitgehender Mangel der Arylsulfatase A in den Leukocyten und im Urin, erhöhte Sulfatidausscheidung im Urin. Die Eltern des Patienten zeigten als heterozygote Überträger der Erkrankung etwa halbnormale Arylsulfatase-A-Spiegel in den Leukocyten. Dieser Befund wurde auch bei vier weiteren Familienmitgliedern erhoben. Die enzymatische Identifizierung nicht-obligater heterozygoter Überträger liefert eine relativ zuverlässige Basis für die genetische Beratung der Familienmitglieder.

Schlüsselwörter: Metachromatisch — Leukodystrophie — Mangel an Arylsulfatase A — Genetik — Heterozygot.

Einleitung

Bei einem jungen Mann, der nach einem neurasthenischen Vorstadium körperliche, psychische und neurologische Veränderungen zeigte, die in ihrer Gesamtheit dem Krankheitsverlauf seiner älteren, im Alter von 23 Jahren verstorbenen Schwester glichen, wurde die

Verdachtsdiagnose Metachromatische Leukodystrophie (MLD) — eine der häufigsten Formen der diffusen Hirnsklerose (Ulrich, 1971) — aufgrund folgender unspezifischer Befunde gestellt: 1. Erheblich verminderte motorische Nervenleitgeschwindigkeit des N. tibialis auf 22 m/sec (Normalwert $46 \pm 0,8$ m/sec) — 2. Fehlende Kontrastdarstellung der Gallenblase bei positivem Cholangiogramm. 3. Diskrete Gesamteiweiß erhöhung im Liquor.

Bewiesen wurde die adulte MLD im vorliegenden Falle durch die spezifische biochemische Diagnostik, die einen erheblichen Mangel an Arylsulfatase-A-Aktivität im Urin (Restaktivität 4—8% der Norm) und in den Leukocyten des peripheren Blutes (Restaktivität ca. 6% der Norm) bei intakter Arylsulfatase B ergab (Czmok, Regli, Bischoff, Harzer, Benz, 1974). Weiterhin wurde im Urin mittels einer quantitativ-metachromatischen Methode (Harzer u. Benz, 1973) eine Erhöhung der Sulfatidausscheidung auf 2—7 mg/l (Normalwert unter 0,5 mg/l) festgestellt. Histochemisch konnte die Sulfatidablagerung im N. suralis mit metachromatischen Färbe-Reaktionen (v. Hirsch u. Peiffer) nachgewiesen werden (v. Hirsch u. Peiffer, 1955; Benz u. Harzer, 1974).

Die elektronenoptische Untersuchung des biopsierten Materials nach Suralisbiopsie ergab in etwa der Hälfte der bemerkten Nervenfasern sowie im Cytoplasma der Schwannschen Zellen kugelige Einschlüsse von 0,5—2 μ Durchmesser, die bei stärkerer Vergrößerung eine „tuffsteinartige“ Matrix erkennen ließen. Dieser Befund wird als das „charakteristische ultrastrukturelle Substrat der MLD“ angesehen (Bischoff *et al.*, 1967).

Katamnestische und histologische Nachuntersuchungen bei der mit 23 Jahren verstorbenen Schwester des Patienten lassen stark vermuten, daß auch sie an einer adulten MLD gelitten hatte.

Um die weiteren, lebenden Familienmitglieder genetisch beraten und um evtl. noch im Latenzstadium befindliche, weitere Krankheitsfälle ausschließen zu können, wurde die enzymatische Bestimmung des Genotyps (genotypisch normal, heterozygot oder homozygot krank) aller erreichbaren Personen durchgeführt. Dazu wurde jeweils die Arylsulfatase-A-Aktivität in den Leukocyten gemessen.

Methodik

Die Bestimmung der Arylsulfatase A in den Leukocyten erfolgte in Anlehnung an eine beschriebene Methode (Percy u. Brady, 1968) nach Harzer (1973). Die Aktivität der Arylsulfatase A wurde dabei auf die mittlere Aktivität mehrerer lysosomaler Referenzenzyme in der gleichen Leukocytenprobe bezogen. Der nach dieser Methode bestimmte H'-Index, umgekehrt proportional zur korrigierten Arylsulfatase-A-Aktivität, betrug im Normbereich ca. 0,7—1,4, bei Heterozygoten ca. 1,7—3,0, bei homozygot Kranken über 10.

Das erwähnte Bezugssystem erscheint zur enzymatischen Abgrenzung der Genotypen mindestens ebenso geeignet, wie der Bezug auf Protein und Leukocytenzahl. Überlappungen zwischen den Genotypen und Schwankungen in dem Maße, wie sie von anderen Autoren beschrieben werden (Kihara *et al.*, 1973) treten nicht auf.

Material

Die Sippe besteht aus 47 Familienmitgliedern, einschließlich Eingeheiratete (siehe Abb.1).

Die Großeltern des Patienten väterlicherseits verstarben (Großvater, I/1) 86- und (Großmutter, I/2) 46jährig und Herzversagen.

Von ihren 11 Kindern leben noch der Vater des Patienten (II/10) und drei weitere Geschwister (ein Bruder, II/1, und zwei Schwestern, II/2, 6).

7 Geschwister sind verstorben (2 Fehlgeburten II/5, 9; eine Schwester verstarb unter der Geburt, II/11; zwei im Kindesalter, II/3, 7; eine 26jährige Schwester beging Suizid, II/7 und eine 69jährige Schwester verstarb an Brustkrebs, II/4).

Von den Großeltern mütterlicherseits wurde der Großvater (I/3) 60 Jahre und verstarb nach einer Nierenoperation; die Großmutter (I/4) erlag 93jährig einer Darmlähmung.

Aus dieser Ehe stammen 2 Kinder (neben einer Fehlgeburt, II/13): Die Mutter des Patienten (II/12) und deren Bruder (II/14), 59 Jahre alt.

Blutsverwandtschaft der Großeltern und Eltern des Patienten wird mütterlicher- und väterlicherseits verneint.

Die Eltern des Patienten (II/10, 12) sind gesund, der Vater ist 61 Jahre und die Mutter 57 Jahre alt. Von ihren 4 Kindern (III/8, 10, 11 und 13) verstarb eine Tochter mit 23 Jahren plötzlich nach einer fiebigen Erkrankung. Sie litt allerdings an einer langsam progredienten unklaren Krankheit, die rückblickend wahrscheinlich ebenfalls als adulte MLD angesehen werden muß (III/10). Zwei Töchter, 32 und 28 Jahre alt, sind verheiratet und haben jeweils zwei Kinder (IV/11, 12, 13, 14). Der Sohn, unser Patient, ist ebenfalls verheiratet (III/13) und ist 25 Jahre alt, er hat eine 3 Monate alte Tochter (IV/15).

Ergebnisse

(Vgl. Abb. 1 und Tab. 1, S. 372)

Von den 47 Familienmitgliedern wurde bei insgesamt 19 Personen der Arylsulfatase-A-Spiegel in den Leukocyten bestimmt.

Die Angehörigen der I. Generation waren verstorben. Von der II. Generation wurden väterlicherseits 3 und mütterlicherseits 2 Personen, in der III. Generation 9 und in der IV. Generation insgesamt 5 Personen untersucht.

Von 19 Personen waren 11 männlichen und 8 weiblichen Geschlechts. Ihr Alter lag zwischen 75 Jahren und 3 Monaten. 12 der untersuchten Personen, 8 männliche und 4 weibliche, zeigten eine normale Leukocyten-Arylsulfatase-A-Aktivität und wurden als genotypisch normal eingestuft. 6 Familienmitglieder, 2 männliche und 4 weibliche, waren heterozygot, ihr H'-Index lag zwischen 1,72—2,64. Unser Patient wies als einzige der untersuchten Personen einen sehr hohen H'-Index (17,6) auf, der dem Enzymmangel entspricht.

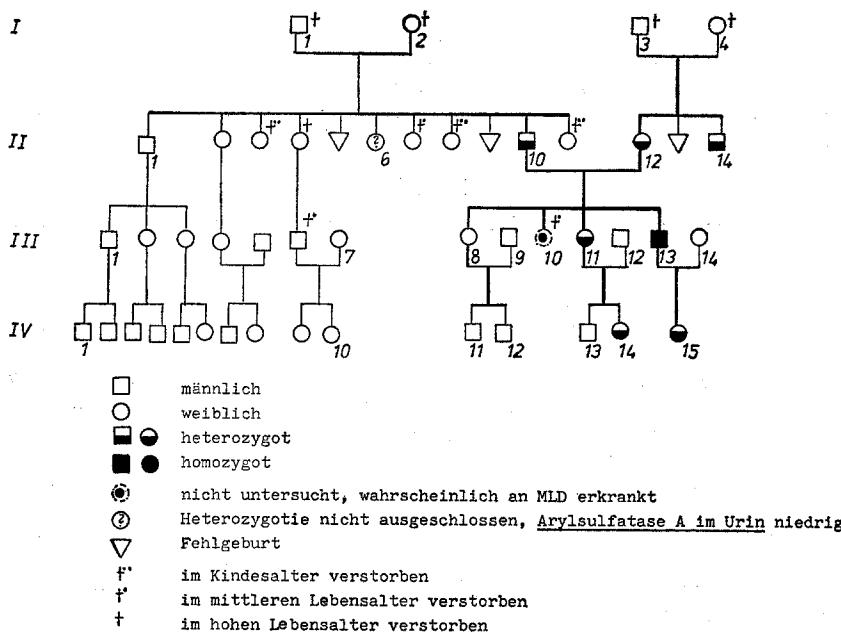


Abb.1. Stammbaum der Familie A mit adulter MLD

Tabelle 1. Leukocyten Arylsulfatase-A-Aktivität in einer Familie mit Adulter MLD

Familien- mitglieder	Geschlecht/ Alter	H'-Index der Leukocyten-Arylsulfatase A		
		normal ca. 0,7–1,4	heterozygot ca. 1,7–3,0	homozygot krank größer 10
II/1	m/75	1,1		
II/2	w/74	0,87		
II/10	m/61		2,08	
II/12	w/57		87	
II/14	m/59		1,75	
III/1	m/42	1,12		
III/4	w/42	1,01		
III/5	m/46	0,91		
III/7	w/47	1,34		
III/8	w/33	1,00		
III/9	m/32	1,17		
III/11	w/28		1,76	
III/12	m/32	1,44		
III/13	m/25			17,6
IV/11	m/6	0,99		
IV/12	m/5	0,87		
IV/13	m/3	1,27		
IV/14	w/2		1,72	
IV/15	w/3 Monate		2,64	

Diskussion

Unter den Familienangehörigen von Patienten mit der spätauf infantilen oder juvenilen Form der MLD, diagnostiziert durch den Arylsulfatase-A-Mangel in Leukocyten, Urin, kultivierten Fibroblasten und Gewebsproben, können Personen mit normalen Arylsulfatase-A-Spiegeln in den Leukocyten (oder Fibroblasten) von solchen mit etwa halb-normalen Spiegeln unterscheiden werden (z. B. Leroy *et al.*, 1968; Bass *et al.*, 1970; Taniguchi u. Nanba, 1970; Gabreels *et al.*, 1971).

Die Personen mit halb-normalen Enzymspiegeln sind phänotypisch unauffällig, unter ihnen sind jeweils die Eltern des Patienten. Im Einklang mit den Mendel'schen Regeln müssen die Personen mit halb-normalen Enzymspiegeln als heterozygote Überträger der Erkrankung angesehen werden.

Da sie phänotypisch normal sind und die Heterozygoten wie auch die Patienten unter beiden Geschlechtern etwa gleich häufig vorkommen, wird der Vererbungsmodus der Erkrankung als autosomal-rezessiv gekennzeichnet.

Inzwischen wurde auch für die adulte Form der MLD ein entsprechender Vererbungsmodus sehr wahrscheinlich gemacht (Pilz, 1972). Auch in diesen Familien mit adulter MLD finden sich phänotypisch unauffällige Mitglieder mit etwa halb-normalen Enzymspiegeln. In der vorliegenden Studie (ein Teil der Ergebnisse wurde bereits mitgeteilt, Harzer, 1973) wird nun zum erstenmal gezeigt, daß tatsächlich *bei beiden Eltern* (61/57 Jahre alt) des Probanden *halb-normale Enzymspiegel der Arylsulfatase A* vorliegen. Bevor dies nachgewiesen war, bestand zumindest theoretisch die Möglichkeit, daß die adulte MLD z. B. einer erhöhten Expressivitätsstufe des heterozygoten Status (also nur eines pathologischen Gens von zwei Allelen) von Arylsulfatase-A-Mangel entspricht. Nach eigenen, unveröffentlichten Ergebnissen ist ein solcher oder ähnlicher Mechanismus in anderen Familien auch noch nicht völlig ausgeschlossen. Die hier untersuchte Familie zeigte jedenfalls keine signifikanten Abweichungen von dem klassischen autosomal-rezessiven Erbschema, was die Geschlechts-Verteilung, sowie die Häufigkeit Heterozygoter im Vergleich zu den genotypisch normalen Familienmitgliedern betrifft, wie aus dem Stammbaum in Abb. 1 zu sehen ist. Der Phänotyp der identifizierten Heterozygoten war unauffällig.

Da der Enzymdefekt bei der adulten Form der MLD wie bei der infantilen und juvenilen Form, jeweils die Arylsulfatase A betrifft, erhebt sich die bisher ungeklärte Frage, warum die Erkrankung in den einzelnen Familien entweder nur im Kindesalter, oder im Jugend- oder im Erwachsenenalter klinisch manifest wird. Hirose (1972) konnte in keinem der bisher beschriebenen Fälle einen Hinweis dafür finden, daß infantile und späte Formen in einer Familie gleichzeitig vorgekommen

wären. Auch in unserer Familie erkrankte der Patient etwa im gleichen Alter (um das 20. Lebensjahr) wie seine bereits verstorbene Schwester, bei der die Diagnose adulte MLD sehr wahrscheinlich ist, so daß sich die Frage stellen läßt, ob nicht im Sinne von multipler Allelie ein weiterer genetischer Faktor für die verschiedenen klinischen Verlaufsformen infrage kommt.

Die Absicht dieser Studie ist es in erster Linie zu zeigen, daß auch bei der adulten MLD die enzymatische Heterozygoten-Identifizierung für die genetische Beratung der Verwandten von Patienten ein Hilfsmittel darstellt, um das Risiko für weitere Erkrankungen herabzusetzen: Bei der Wahl eines Partners besteht die Möglichkeit für diesen, eine Heterozygotie für Arylsulfatase-A-Mangel auszuschließen. Allerdings ist nicht restlos geklärt, ob in allen Familien mit adulter MLD der Erbmodus autosomal-rezessiv ist.

Literatur

- Bass, N. H., Witmer, E. J., Dreifuss, F. E.: A pedigree study of metachromatic leukodystrophy. *Neurology (Minneapolis)* **20**, 52–62 (1970)
- Benz, H. U., Harzer, K.: Metachromatic reaction of pseudoisocyanine with sulfatides in metachromatic leukodystrophy (MLD). *Acta neuropath. (Berl.)* **27**, 177–180 (1974)
- Bischoff, A., Ulrich, J.: Amaurotische Idiotie in Verbindung mit metachromatischer Leukodystrophie: Übergangsform oder Kombination? *Acta neuropath. (Berl.)* **8**, 292–308 (1967)
- Czmok, E., Regli, F., Bischoff, A., Harzer, K., Benz, H. U.: Metachromatische Leukodystrophie: Klinik und intravitale Diagnostik einer familiären adulten Form der metachromatischen Leukodystrophie (MLD). *J. Neurol.* (im Druck, 1974)
- Gabreels, F., Lamers, K., Kok, J., Loonen, M., Lommen, E.: The biochemical differentiation between heterozygote carriers of metachromatic leucodystrophy and normal persons. *Neuropädiatrie* **2**, 461–469 (1971)
- Harzer, K.: Inheritance of the enzyme deficiency in three neurolipidoses: Variant 0 of Tay-Sachs disease (Sandhoff's disease), classic Tay-Sachs disease and metachromatic leukodystrophy. Identification of the heterozygous carriers. *Human-genetik* **20**, 9–24 (1973)
- Harzer, K., Benz, H. U.: Quantitative Metachromasie mit Pseudoisocyanin: Eine neue Methode zur Bestimmung von Sulfatiden sowie ihre Anwendung bei der Diagnose der Metachromatischen Leukodystrophie (Sulfatid-Lipidose). *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* **11**, 471–475 (1973)
- Hirose, G., Bass, N. H.: Metachromatic Leukodystrophy in the adult. *Neurology (Minneapolis)* **22**, 312–320 (1972)
- Hirsch, T. v., Peiffer, J.: Über histologische Methoden in der Differentialdiagnose von Leukodystrophien und Lipoidosen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* **194**, 88–104 (1955)
- Kihara, H., Porter, M. T., Fluharty, A. L., Scott, M. L., De la Flor, S. D., Trammel, J. L., Nakamura, R. N.: Metachromatic leukodystrophy: Ambiguity of heterozygote identification. *Amer. J. ment. Defic.* **77**, 389–394 (1973)

- Leroy, J. G., Dumon, J., Radermecker, J.: Deficiency of arylsulphatase A in leucocytes and skin fibroblasts in juvenile metachromatic leucodystrophy. *Nature (Lond.)* **226**, 553—554 (1970)
- Percy, A. K., Brady, R. O.: Metachromatic leucodystrophy: Diagnosis with samples of venous blood. *Science* **161**, 594—595 (1968)
- Pilz, H.: Late adult metachromatic leucodystrophy. Arylsulfatase A activity of leucocytes in two families. *Arch. Neurol. (Chic.)* **27**, 87—90 (1972)
- Taniguchi, N., Namba, I.: I. Enzymatic abnormality of the carrier state in metachromatic leucodystrophy. *Clin. chim. Acta* **29**, 375—379 (1970)
- Ulrich, J.: Die cerebralen Entmarkungskrankheiten im Kindesalter. *Schriftenreihe Neurologie*, Bd. 6, S. 1—202. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1971

Dr. med. E. Czmok
Neurologische Klinik
und Poliklinik der Universität
Direktor Prof. Dr. F. Regli
D-6500 Mainz
Langenbeckstraße 1
Bundesrepublik Deutschland