

Über eine infantil-juvenile, subchronisch verlaufende, den Sphingomyelinosen (Niemann-Pick) anzureihende Form der Lipidosen — ein neuer Typ?

Klinische, pathohistologische, elektronenmikroskopische
und biochemische Untersuchungen

H.-R. WIEDEMANN, H. DEBUCH, K. LENNERT, R. CAESAR, S. BLÜMCKE,
D. HARMS, M. TOLKSDORF*, P. N. SENG, H.-D. KORENKE, H. GERKEN,
F. FREITAG und KL. DÖRNER

Kinderklinik (Direktor: Prof. Dr. H.-R. Wiedemann) und Pathologisches Institut
(Direktor: Prof. Dr. K. Lennert) der Christian Albrechts-Universität Kiel, Physio-
logisch-Chemisches Institut der Universität Köln (Prof. Dr. H. Debuch)

Eingegangen am 10. Februar 1972

Infantile-Juvenile, Slowly Progressive Lipidosis *Belonging to the Sphingomyelinoses (Niemann-Pick) — A New Type?*

Abstract. Four siblings are reported in whom a slowly progressive visceral lipidosis with marked spleno(hepato)megaly, or a visceroneural lipidosis, were first detected at different ages. Three of them began to show signs of a neurodystrophic process (grey matter symptoms) in their 2nd, 3rd, and 4th years of life respectively with splenohepatomegaly present at birth in one. No alterations of the fundus and no signs of visual disturbances. One child died at the age of 9 years of this process. A 14-year-old girl with splenomegaly and foam cells in the bone marrow showed entirely normal mental and physical growth and development.

Both parents are healthy but undoubtedly have the same storage cells in their bone marrow as their children. This was considered a manifestation of heterozygosity.

Haematologic, cytologic, and other clinical laboratory investigations as well as pathohistological, histochemical, and biochemical investigations of biopsy and autopsy material were performed. A previously unknown glycerolphospholipid in spleen and liver was identified as bis(monoacylglycerol)phosphate.

In the deceased child a visceral sphingomyelinosis and decreased activity of sphingomyelinase were found. Therefore these cases nosologically belong to the Niemann-Pick-complex. However, identification with one of the previously described types or groups of "Niemann-Pick-Disease" was not possible. The assumption of a "New type of lipidosis" is justified.

Key words: Cerebral Lipidoses — Neurolipidoses — Niemann-Pick Disease — Organ Lipidoses — Phosphatidoses — Phospholipidoses — Reticuloendothelioses — Sphingolipidoses — Sphingomyelinosen.

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Zusammenfassung. Detaillierter Bericht über eine Familie, in der 4 Kinder in verschiedenem Alter an einer visceralen (stark splenohepatomegalen) bzw. visceroneuralen Lipidose von subchronischem Verlauf erkrankten. 3 Kinder — von denen eines bereits bei der Geburt Milz-Leber-Vergrößerung aufwies — entwickelten im Kleinkindesalter die Zeichen eines neurodystrophischen Prozesses ohne Fundusveränderungen, an dessen Auswirkungen bisher ein Mädchen mit 9 Jahren zugrunde ging. Eine 14-jährige ist, abgesehen von Splenomegalie und Speicherungserscheinungen im Knochenmark, unauffällig und vollaltersgemäß. Beide gesunden Eltern zeigen eindeutig dieselben Speicherzellen im Knochenmark wie ihre Kinder. Das wird als Ausdruck der Heterozygotie gewertet. — Es werden die Ergebnisse von hämatologischen, cytologischen und weiteren Laboratoriumsuntersuchungen wiedergegeben, ferner von verschiedenen bioptischen Prüfungen bei insgesamt 3 Kindern, von eingehenden autoptischen Untersuchungen des verstorbenen Falles sowie von chemischen Analysen an Biopsiematerialien eines Kindes und insbesondere und sehr detailliert wiederum von Autopsiematerialien des verstorbenen Kindes. Biochemisch konnte als ein spezieller Befund ein zunächst unbekanntes Glycerinphosphatid in Milz und Leber als Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure identifiziert werden. — In der Diskussion werden die Einordnungsschwierigkeiten von Lipidosen im allgemeinen und für die eigenen Fälle erörtert. Die hier mitgeteilten Beobachtungen werden auf Grund insbesondere des biochemischen Befundes einer visceralen Sphingomyelinosis mit Sphingomyelinase-mangel dem „Niemann-Pick-Komplex“ angegliedert. Sie konnten aber aus vielfachen Gründen nicht mit einer der bisher beschriebenen „Formen“ oder Gruppen des „Morbus Niemann-Pick“ identifiziert werden — es muß vielmehr vermutet werden, daß hier ein neuer Typus der Lipidosen bzw. Neurolipidosen vorliegt.

Einleitung

(H.-R. Wiedemann)

Die klassische (Gluco-)Cerebrosidose, der Morbus Gaucher, und die klassische Sphingomyelinose, der Morbus Niemann-Pick, sind beide längst in eine Gruppe von Formen, die als selbständige Krankheiten angesehen werden, auseinandergefallen. Sie waren beide — wie die klinische, pathoanatomische, biochemische und zum Teil auch genetische Forschung ergab — keine Entitäten, sondern „Sammeltöpfe“.

Beim „Morbus Gaucher“ unterscheiden wir heute mindestens 3 verschiedene (zum Teil auch im Erbgang differierende) Typen. Beim „Morbus Niemann-Pick“ werden 4 oder 5 Formen unterschieden, nämlich außer dem — als solcher noch zu untergliedernden — infantilen Typ eine spätinfantil-juvenile, eine Adoleszenten- und eine adulte Form. Diese letztgenannten zeigen subakuten bis subakut-chronischen Krankheitsverlauf, überwiegend mit Manifestation neurologischer Symptomatik im Laufe der Jahre.

Klinisch und morphologisch gesehen können zwischen Affektionen der „Gaucher-Gruppe“ und der „Niemann-Pick-Gruppe“ teilweise derartige Ähnlichkeiten und Überschneidungen bestehen, daß bis in die jüngste Zeit immer wieder Diagnose-Korrekturen haben erfolgen müssen [s. z. B. einerseits Forster, 1942; Bischoff et al., 1967; sowie Zehnder, 1938; andererseits Pilz, 1970b (Diagnose-Korrektur zu den vorigen in Niemann-Picksche Krankheit)].

So ist auch über die im folgenden zur Rede stehenden Kinder auf Grund damals ausschließlich klinischer Befunde schon vor Jahren im Sinne eines Morbus Gaucher berichtet worden (Wiedemann u. Gerken, 1964; Gerken u. Wiedemann, 1964). In der Folge kam es zu einem Briefwechsel mit A. C. Crocker (Boston), und es sind J. J. Groen (Jerusalem) und E. Undritz (Basel) Knochenmarkspräparate vorgelegt worden. Alle Befragten anerkannten das Vorliegen einer Speicherkrankheit bei den — damals 2 — Patienten. Während zwei dieser besonders sachverständigen Kollegen „einen Gaucher-Typ“ für möglich hielten, ohne insbesondere einen Morbus Niemann-Pick ausschließen zu können, hat sich der dritte „Gutachter“ damals höchst skeptisch hinsichtlich einer Gaucherschen Krankheit und dafür im Sinne der Vermutung einer „neuen Lipidose“ ausgesprochen. Die Affektion in der betroffenen Sippe ist dann sorgfältig weiterverfolgt worden.

Besonders im Bereich der Niemann-Pickschen Krankheit ist ohne chemische — womöglich auch enzymatische — Untersuchungen eine eindeutige Gruppendiagnose und erst recht eine etwaige noch weitergehende Zuordnung nicht möglich.

Im folgenden berichten wir über klinische, morphologische und biochemische Befunde bei mehreren Geschwistern mit einer uns neu erscheinenden, infantil-juvenilen, subchronisch verlaufenden, der Niemann-Pick-Gruppe anzureihenden Form der Lipidosen.

I. Klinik

a) Allgemeine klinische Angaben und Befunde

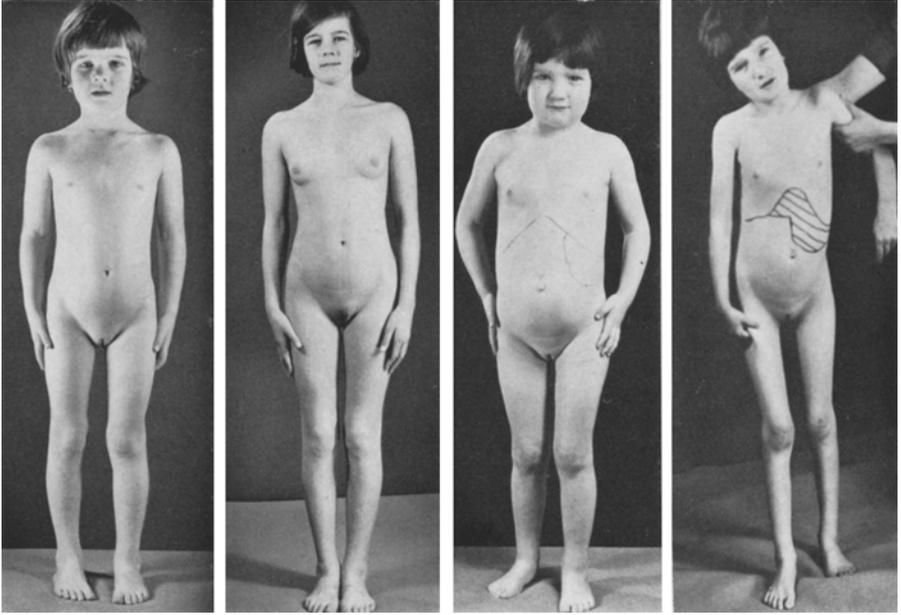
(H.-R. Wiedemann, H. Gerken)¹

Erbkrankheiten oder unklare, mit einer Vergrößerung des Leibesumfanges, Blutungsbereitschaft, Hautpigmentierungen, Anämie, chronischer Bronchitis oder psychischer bzw. neurologischer Symptomatik einhergegangene Leiden sind in der zur Rede stehenden Sippe nach zuverlässig erscheinenden Angaben nicht bekannt. *Blutsverwandtschaft* der Eltern wird *negiert* und ist auch so gut wie ausgeschlossen, da die beiden Familien aus verschiedenen Teilen Deutschlands stammen. *Jüdische Abstammung* besteht *nicht*. Beide Elternteile, intelligent und aus gutem sozialem Milieu, erwiesen sich als sehr interessiert und zur Mitarbeit bereit. Das Ehepaar hatte 4 Kinder. Aborte oder Totgeburten sind nicht erfolgt. Bei der Geburt des bisher jüngsten Kindes war der Vater 31jährig, die Mutter 30jährig.

Beide Elternteile sind auf unsere Veranlassung hin im Alter von 29 bzw. 28 Jahren in der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Kiel gründlich untersucht und 5 Jahre später von uns kontrolluntersucht worden. Sie haben keine hier interessierenden Krankheiten durchgemacht, fühlen sich gesund und boten bei eingehender internistischer Prüfung keine Auffälligkeiten, insbesondere keinen Befund seitens der inneren Organe, keine abnormen Hautverfärbungen, *keine Krankheitserscheinungen* sonstiger Art, etwa in psychischer oder neurologischer Hinsicht. Regelmäßiger Blutstatus. Saure Phosphatase normal. *Zum Sternalmark* beider Eltern s. weiter unten („hämatologische Befunde“).

Fall 1. L., Ute, geb. 19. 3. 1958 (Kr.-Bl. 110/64 und nachfolgende ambulante Untersuchungen poliklinisch und bei Prof. W. bis 1971).

1 Mit dankenswerter Unterstützung durch U. Eckel.

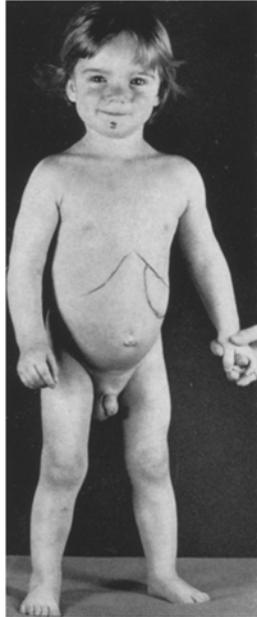


a

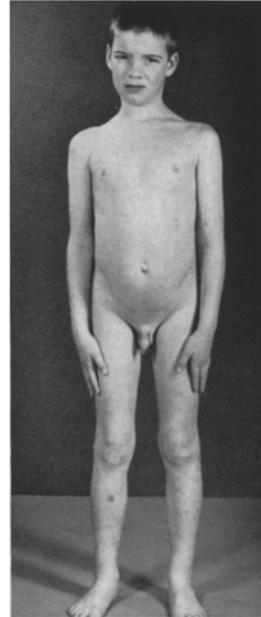
b

c

d



e

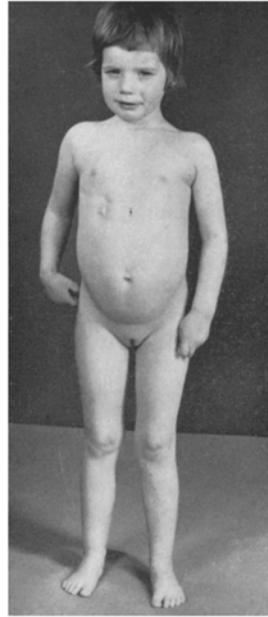


f

Abb. 1. a u. b Fall 1, Ute, mit 6 und 13 Jahren; c u. d Fall 2, Jutta, mit $3\frac{1}{2}$ und 8 Jahren; e u. f Fall 3, Olaf, mit $1\frac{4}{12}$ und $8\frac{4}{12}$ Jahren; g u. h Fall 4, Viola, mit $3\frac{1}{2}$ Monaten und $4\frac{1}{2}$ Jahren



g



h

Äußerlich in jeder Hinsicht unauffällig-normale Entwicklung. Bei stationärer Untersuchung mit $5^{10/12}$ Jahren (Abb. 1a) grobklinisch, Skelet- und Lungen-röntgenoskopisch, peripher-hämatologisch (incl. Thrombocyten) sowie neurologisch, fundoskopisch und im EEG keine Anomalien; im Knochenmark pathologische Speicherzellen (s. unten unter „hämatologische Befunde“). — Mit 8 Jahren weiterhin in jeder Hinsicht altersgemäßer Zustand; jetzt aber Milzvergrößerung um $1\frac{1}{2}$ Querfingerbreiten! Leber nicht auffällig. Lungen und untersuchte Skelet-Teile röntgenologisch o. B. Peripheres Blutbild nicht auffällig. — Mit $9\frac{1}{4}$ und mit 12 Jahren (1970) unverändertes Wohlbefinden und Fehlen äußerer Krankheitszeichen. Milz um 2 Querfingerbreiten vergrößert und derb. Auch 1971 körperlich ganz altersentsprechender Entwicklungsstand (Abb. 1b). Milz idem, Leber nicht sicher vergrößert, Lymphknoten unauffällig. Röntgen beider ganzen Hände sowie Lungen-Röntgen o. B. Peripherer hämatologischer Status o. B. Bei detaillierter Untersuchung keine neurologischen Auffälligkeiten. Psychisches Verhalten altersgemäß; normale Schulleistungen.

Fall 2. L., Jutta, geb. 13. 6. 1960 (Kr.-Bl. 54/64, 1058/68, 488/69 und zahlreiche ambulante Untersuchungen poliklinisch und bei Prof. W.).

„Seit frühester Kindheit“ vorstehendes, im 3. und 4. Lebensjahr auffällig größer gewordenen Abdomen (Abb. 1c). Mit 3 Jahren erstmals Registrierung multipler Hämatome an den Unterschenkelstreckseiten bei Thrombocytopenie und verlängerter Blutungszeit. Mit etwa $3\frac{1}{2}$ Jahren Feststellung einer (vom Hausarzt vermutlich zuvor übersehenen) derben Splenomegalie um 4 Querfingerbreiten bei geringerer und weicher Leberschwellung um $1\frac{1}{2}$ Querfinger; im Knochenmark pathologische Speicherzellen (s. unter „hämatologische Befunde“). Das sehr große Mädchen (+16,5 cm) zeigt gutes Allgemeinbefinden; etwas retardierte Sprachentwicklung,

psychomotorischer Status im übrigen im unteren Normbereich; neurologisch (incl. Fundoskopie, EEG) kein pathologischer Befund. Skelet-Röntgen: keine sicheren Aufhellungen. Eigentümlich-streifige Knochenzeichnung im Bereich der beiderseitigen Finger-Phalangen.

Spätestens ab weiterem 4. Lebensjahr *Manifestation einer langsam-progredienten neurologischen Affektion*: kein Sprachfortschritt, dann sprachliche und allgemeingeistige Rückentwicklung. Gang immer schwerfälliger, häufiges Fallen, Muskeltonus und Muskeleigenreflexe seitengleich nur mäßig kräftig. Mit $5\frac{1}{4}$ Jahren Gang- und Greif-Ataxie. Fundi o. B. (Universitäts-Augenklinik). Mit $6\frac{1}{2}$ Jahren Hypomimie, verschlechterter Kopfhaltetonus, häufiges Verschlucken, Tremor, Ataxie, läppisches Verhalten. MER der Beine seitengleich schwach ausgeprägt. Mit 7 Jahren fortgeschrittener hirndystrophischer Prozeß, Demenz im Sinne einer Imbezillität. Statische und lokomotorische Ataxie, Adiadochokinese. Häufigeres Verschlucken. Abschwächung der MER, Muskulatur hypotroph-hypodynam. Mit 8 Jahren kein freies Gehen, Stehen und Sitzen mehr (Abb. 1 d); vermehrte Schluckbeeinträchtigung und Verschleimung. Verstärkter geistiger Abbau. Im EEG mit einer erheblichen Verlangsamung ausgeprägte diffuse Abnormität, kein Herdbefund, keine Krampfaktivität. Fundi o. B. (Universitäts-Augenklinik). Lumballiquor o. B. Elektromyogramm regelrecht, Nervenleitgeschwindigkeit z. T. an der unteren Altersnorm-Grenze, kein mit Sicherheit im Sinne eines demyelinisierenden Prozesses pathologischer Befund (Prof. H.-J. Lehmann, Universitäts-Nervenlinik). Zeitweilige atetoide und choreatiforme Hyperkinesen der Extremitäten und der Gesichtsmuskulatur. Seit $\frac{1}{2}$ Jahr bis zu 5mal täglich tonische oder tonisch-klonische epileptiforme Entladungen. Mit $8\frac{1}{2}$ und $8\frac{3}{4}$ Jahren weiterhin seiten- und ortswechselnde häufige fokale wie auch generalisierte Konvulsionen. EEG hochgradig allgemein-alteriert mit ausgeprägter Verlangsamung und Spannungsverminderung, gelegentlich einzelnen unabhängigen steilen Wellen über beiden Hemisphären (Prof. H. Doose). Schwere Demenz. Fähigkeit zum Fixieren und Hören nicht aufgehoben. Speichelfluß. MER jetzt z. T. gesteigert. Muskelatrophien.

Milz mit $5\frac{1}{4}$ Jahren handbreit und derb unter dem Rippenbogen, mit 7 Jahren etwa in Nabelhöhe, mit $8\frac{1}{2}$ Jahren *bis zur Darmbeinschaukel*. Leber vergleichsweise stets weniger auffällig, um 1 bis 2 Querfingerbreiten vergrößert, jetzt gleichfalls derb. — Weiterhin multiple Hautblutungen bei Thrombocytopenie; Leukopenie; mehr final auch leichte Anämie. Mit 8 Jahren paranasal-schmetterlingsartige blaß-bräunliche Hautverfärbungen. — Körperlängenentwicklung im Bereich der Norm (mit $6\frac{1}{2}$ Jahren $127 = +7,5$, mit $7\frac{3}{4}$ Jahren $130 = +3$ cm); Verlust der früheren Überlänge. Skelet-Röntgen: zunehmende Verdickung der Schädelkalotte mit grobgranulärer Knochenzeichnung; plumpe Säulenform der kurzen Röhrenknochen der Hände bei verdünnter Corticalis und leicht vermindert erscheinendem Mineralgehalt; grobsträhnige, z. T. leicht kleincystisch-wabig verändert scheinende Knochenstruktur in vielen Bereichen (z. B. rechtes Acromion, rechter oberer Femur), aber keine sicheren, größeren Destruktionen. — Mit 8 Jahren röntgenologisch kein Anhalt für Oesophagusvaricen. Lungenzeichnung in den Oberfeldern angedeutet netzförmig. Mit $8\frac{1}{2}$ Jahren chronischer, z. T. pertussoider Reizhusten. Röntgenologisch jetzt auffällig wabig-netzförmig erscheinende Lungenbereiche. — Nach Auftreten von zusätzlichen Infekt- und Schluck-Lungenaffektionen *Exitus letalis* im Alter von 9 Jahren.

Fall 3. L., Olaf, geb. 12. 9. 1962 (Kr.-Bl. 1805/62, 1445/63, 109/64 und K 1971 sowie zahlreiche ambulante Untersuchungen poliklinisch und bei Prof. W. bis 1972).

Mit 6 Wochen Feststellung einer *Milzschwellung* um 2 bis 3 Querfingerbreiten, derb; Leber etwa 1 Querfingerbreite unter dem Rippenbogen, weich. Kind im übr-

gen altersgemäß entwickelt; Blutbild (incl. Thrombocyten) bei wiederholten Untersuchungen o. B.; Leberfunktionsprüfungen o. B.; Fundi oculorum o. B. Bei Kontrollen mit 7, 8, 10, 11 und 15 Monaten semper Status idem, außer beginnender Thrombocytopenie. Guter Allgemeinzustand; neurologische Prüfung o. B.; Skelet-Röntgen o. B. Mit $1\frac{1}{2}$ Jahren bei geistig wie somatisch sonst altersentsprechender Entwicklung (Abb. 1e; Länge 83 = +3 cm) vorgewölbtes Abdomen mit Splenomegalie von 3 bis 4 Querfingerbreiten; Leber um $1\frac{1}{2}$ Querfinger verbreitert, scharfrandig. Sugillationen an beiden Unterschenkelstreckseiten, Thrombocytopenie, Normoleukocytose, leichte Anämie. Im *Knochenmark* pathologische Speicherzellen (bereits mit 3 Monaten nachgewiesen; s. „hämatologische Befunde“). Keine auffällige Lymphknotenvergrößerung. Röntgenologisch keine abnorme Lungenzeichnung. Knochenstruktur der kurzen Röhrenknochen der Hände fraglich angedeutet wabig; im linken Acromion eine unregelmäßige Strukturauflockerung; übriges Skelet unauffällig. Neurologisch, incl. EEG und Fundus-Prüfung (Universitäts-Augenklinik), kein pathologischer Befund.

Ab 2. Lebensjahr schleichende *Manifestation einer neurologischen Affektion*. Das zunächst erscheinende Bild einer bloßen psychomotorischen Retardierung geht ganz allmählich in das eines hirndystrophischen Prozesses über. Mit $2\frac{1}{2}$ Jahren ganz leichter geistiger Rückstand; Kind spricht einzelne Wörter. Mit $3\frac{1}{2}$ und $3\frac{1}{2}$ Jahren undeutliches Sprechen von Einzelwörtern; grobneurologisch keine Auffälligkeiten; Impressiones digitatae in allen Schädelabschnitten vermehrt und verstärkt. Fundi oculorum o. B. (Universitäts-Augenklinik). Mit $4\frac{1}{2}$, $4\frac{3}{4}$ und $6\frac{1}{2}$ Jahren Sprechen etwa idem; grobneurologisch außer angedeuteter Gangataxie kein Befund; noch lebhaftes Mimik. IQ jetzt um 75, EEG zeigt jetzt uncharakteristische Allgemeinstörung mit abnormer Rhythmisierung (Prof. H. Doose). Mit $7\frac{1}{2}$ Jahren (1970) lokomotorische Ataxie, häufiges Fallen, Muskulatur eher hypoton, Reflexbefund im Bereich der Norm; sehr schwer verständlich gewordenes Sprechen von Einzelwörtern, Hypomimie; gelegentlich choreatiforme Zuckungen in der Kopfhaltmuskulatur.

1971, als $8\frac{1}{2}$ jähriger, zeigt der Patient sich wohlproportioniert, relativ kräftig entwickelt und hübsch (Abb. 1f). Wortschatz größer geworden; Sprache verlangsamter, aber klarer. Rasches geistiges Ermüden. Muskeltonus sowie grobe Kraft seitengleich mäßig. MER und Hirnnerven grobklinisch unauffällig. Hypomimie. Allgemeine Ataxie, Gang breitbeinig-unsicher, häufiges Fallen. Dysdiadochokinese. Häufige athetoide und choreatiforme Bewegungsstörungen. Leichter Speichelfluß; zunehmend oft „Verschlucken“ („wie bei Jutta“). Wiederbegonnenes Einnässen. Häufige „kataplektische Anfälle“, familiär als besonders belastend empfunden: bei lebhaftem Lachen Sturz mit dem Kopf auf die Tischplatte oder z. B. in den Teller. — Geistig kleinkindhaft; Besuch einer Schule für körperlich und geistig behinderte Kinder. — Seither, bis 1972, erneut verstärkter Abbau. Einnässen und Einkoten; generalisierte tonisch-klonische Anfälle (unter Mylepsinum weniger häufig, ebenso wie die „Lachsschläge“); kein selbständiges Gehen mehr; Sprache jetzt nahezu unverständlich; Unmöglichkeit weiteren Sonderschulbesuchs. Visus und Gehör anscheinend ungestört. Im EEG ausgeprägte diffuse Allgemeinstörung mit allgemeiner Verlangsamung und abnormen Theta- und Delta-Rhythmen.

Milz mit $4\frac{1}{2}$ Jahren um reichlich 4 Querfingerbreiten vergrößert, in der Folge in *Nabelhöhe*, sehr derb. Leber vergleichsweise stets wenig auffällig. Weiterhin multiple Hautblutungen sowie Epistaxisneigung bei Thrombocytopenie. — Körperlängenentwicklung bis 1972 weiter im Normbereich. — Skelet-Röntgen: Knochenstruktur der kurzen Röhrenknochen der Hände erscheint vergrößert und aufgelockert, jedoch kein Nachweis umschriebener Destruktionen; Schultergelenke o. B. Lungen-Röntgen: keine sicheren Einlagerungen.

Fall 4. L., Viola, geb. 9. 7. 1966 (Kr.-Bl. 1319/66, 1936/66, 2113/67 und ambulante Untersuchungen poliklinisch und bei Prof. W. bis 1972).

Spontan und reif geboren (52 cm; 3500 g) mit großem Abdomen: *connatale Splenomegalie* um gut 2 Querfingerbreiten; Leber 1 Querfinger unter dem Rippenbogen, beide Organe derb, glattrandig. Lymphknoten nicht auffällig. Lungen-Röntgen: keine Verdichtungen; Skelet-Röntgen: keine Destruktionen. Im *Knochenmark* massenhaft *Speicherzellen* (s. „hämatologische Befunde“). Im Säuglingsalter zunächst längerdauerndes dürrtiges körperliches Gedeihen (Abb. 1 g); Icterus prolongatus. Kavernöses Hämangiom der linken Oberlippe. Neurologisch keine pathologischen Befunde. EEG o. B. — Während der 1. Hälfte des 2. Lebensjahres gute somatische wie psychomotorische Entwicklungsschritte (Körperlänge mit 15 Monaten 79 = + 2,5 cm). Keine Hautblutungen, keine Thrombocytopenie. Neurologisch keine sicheren Abweichungen. Milz um 4, Leber um 2 Querfinger unter dem Rippenbogen.

Etwa ab Ende des 2. Lebensjahres *schleichende Manifestation einer neurologischen Affektion* unter dem Bilde zunächst einer bloßen psychomotorischen Retardierung. Mit $3\frac{3}{4}$ Jahren (1970), $4\frac{1}{2}$ Jahren (1971; Abb. 1h) und $5\frac{6}{12}$ Jahren (1972) unbeholfen-schwerfälliger und unsicherer Gang, häufiges Fallen. Bisher keine größere Ataxie, keine Athetoide, kein Tremor. Muskeltonus seitengleich leicht herabgesetzt, MER seitengleich mäßig positiv. Hirnnerven grobklinisch o. B. Sehr wenig Mimik. Häufige Geloplegie (wie Bruder Olaf)! Geistig entspricht das Kind 1972 einer gut $2\frac{1}{2}$ jährigen; Sprechen, recht deutlich, von etwa 20 Einzelwörtern; uninteressiert-unkonzentriertes Verhalten; oft dranghafte Unruhe; Unsauberkeit.

Zunehmend viele Hautblutungen. *Milz* bis zum *Beckenkamm* und median bis zum Nabel. Lymphknoten unauffällig. Normale Längenentwicklung. Röntgenologisch an beiden Händen deutlich herabgesetzter Kalkgehalt, strähnige Knochenstruktur. Lungen-Röntgen: etwas vermehrte Fleckzeichnung in den medialen Unterfeldern. Thrombocytopenie.

b) Hämatologische Befunde

(H.-R. Wiedemann, H. Gerken)²

Peripheres Blut. Unauffälliger peripherer Blutstatus bei den Kindeseltern. Keine Veränderungen auch bei Fall 1 bis 1971. — Feststellung einer deutlichen Thrombocytopenie bei Fall 2 mit 3 Jahren, Manifestation einer solchen bei Fall 3 gegen Ende des 1. Lebensjahres, bei Fall 4 (nach zuvor stets sehr hoch liegenden Werten) erst im 4. Lebensjahr. Jeweils dann Thrombocytopenie-Persistenz; Werte etwa zwischen 40000 und 140000/mm³. — Keine Entwicklung bemerkenswerter Anämien; bei Fall 4 ab 3. Lebensjahr eher leichte Hyperglobulie-Tendenz (5,22; 6,1; 5,12 Mill.). — Deutliche und anhaltende Leukopenie nur bei Fall 2. — Bei den Fällen 2—4 bestanden zeitweilig auffällige Monocytosen (15—30%). Vacuolisierungen von Monocyten und lymphatischen Zellen sind bei diesen Kindern wiederholt registriert worden; sie waren aber meist nur vereinzelt und diskret. Bei Fall 4 sind gelegentlich auch vereinzelt eigentliche „Speicherzellen“ im peripheren Blutbild gezeichnet worden.

Knochenmark. Die — inzwischen nun ja in Fall 2 bioptisch und autoptisch und in Fall 3 bioptisch zweifelsfrei (vgl. Teil II) nachgewiesene — Speicherkrankheit war als solche bereits Jahre zuvor aus den Befunden in Knochenmarkspunktaten festgestellt worden. Dabei war allerdings eine irrtümliche Bewertung der speichernden Makrophagen als Gaucherzellen erfolgt. Es sei hier hinsichtlich Text und Abbildungen ausdrücklich auf unsere schon eingangs erwähnte damalige Publikation ver-

² Mit sehr dankenswerter Unterstützung durch E. Graucob und H.-G. Hansen.

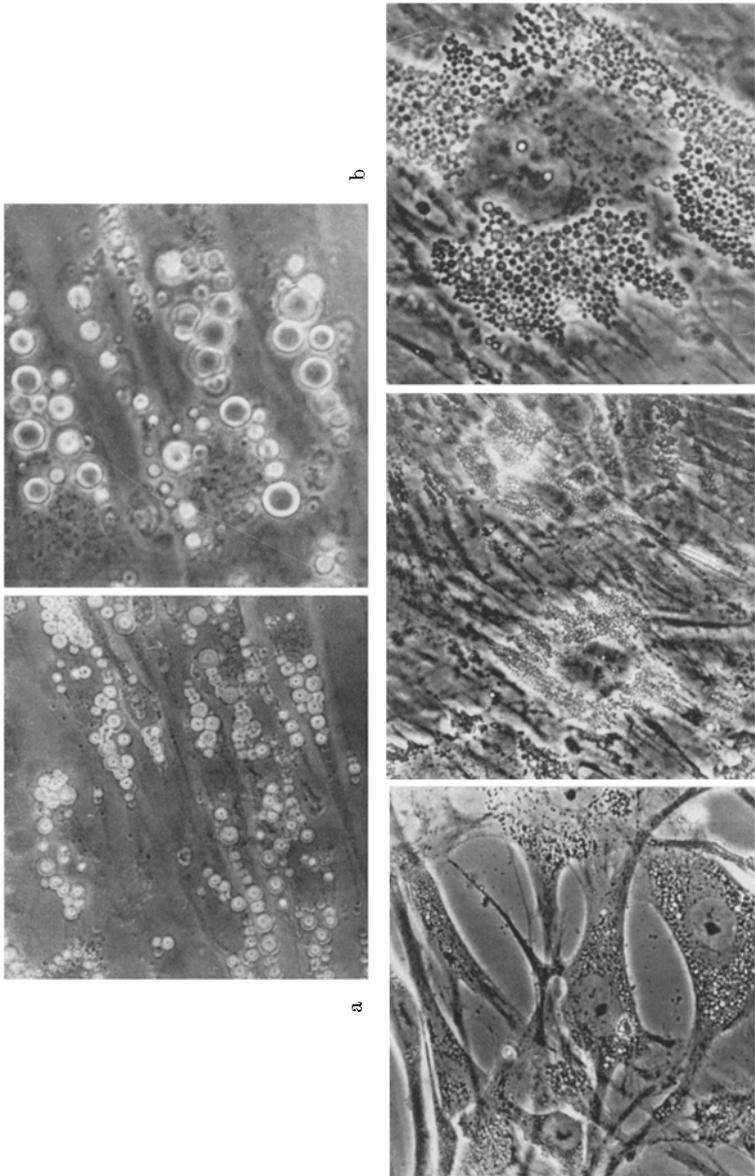


Abb. 2 a—e. Intracelluläre Speicherung in Fibroblastenkulturen, Fascie, Vitalpräparat, Phasenkontrast. a u. b Primärkultur nach 8wöchigem Wachstum, tropfige Speicherung, $\times 125$ bzw. $\times 312,5$; c 1. Subkultur, 3 Tage nach Subkultivierung, eher granuläre Speicherung, $\times 125$; d u. e 1. Subkultur nach 4wöchigem Wachstum, z. T. tropfig, z. T. granulär wirkendes Speichersungsbild, $\times 125$ bzw. $\times 312,5$

wiesen. Speicherzellen sind via Knochenmarkspunktion (hier angeführt jeweils nur die Erstpunktion) nachgewiesen worden bei Fall 1 mit $5\frac{3}{4}$ und Fall 2 mit $3\frac{1}{4}$ Jahren, bei Fall 3 mit 3 Monaten und bei dem in der Folge in unsere stationäre Beobachtung gelangten Fall 4 schon alsbald post partum. Es fanden sich jeweils speichernde Makrophagen von unterschiedlicher Größe mit kleinem, z. T. randständigem Kern, einem als schollig gesehene (aber nicht „wrinkled-paper“-Aspekt zeigenden, z. T. eher granulär bis tropfig-wabig-schaumig erscheinenden) Cytoplasma und häufig mit Zeichen oft ausgeprägter Hämophagocytose. PAS-Reaktion positiv (wechselnd-deutlich); Sudanschwarz B-Reaktion (+); Saure Phosphatase-Reaktion wechselnd deutlich positiv; Kupfer-Phthalein-Reaktion stark wechselnd und unterschiedlich.

Wir haben seinerzeit i. c. über den Befund vereinzelter zweifelsfreier *pathologischer Speicherzellen* auch *im Knochenmarkspunktat beider gesunden Eltern* der hier zur Rede stehenden Kinder berichtet und diesen Befund als Heterozygoten-Nachweis gewertet (s. dazu auch Wiedemann et al., 1965). Die Punktate sind jetzt im Lichte der bioptischen und autoptischen Untersuchungsbefunde (s. Teil II) überprüft worden. Das Knochenmark beider Elternteile enthält eindeutig die gleichen Speicherzellen, wie sie die kranken Kinder aufweisen (K. Lennert und D. Harms). Damit halten wir unsere damalige Annahme eines derart möglichen Heterozygotentests für bestätigt.

c) Fibroblasten-Kulturen

(M. Tolksdorf)

Fall 2. L., Jutta: Intracelluläre Speicherung mit unterschiedlicher Morphe (Abb. 2a—e) in Fibroblasten-Primär- und Subkulturen (post mortem entnommene Fascie).

In Primärkulturen nach längerem Wachstum massive überwiegend tropfige Speicherung (Abb. 2a u. b); *keine Metachromasie*. Nach Subkultivierung zunächst granuläres, später teilweise tropfig, teilweise granulär wirkendes Speicherbild (Abb. 2c—e). Subkultivierung über insgesamt 10 Monate mit unterschiedlich starker Speicherung; keine Metachromasie.

Kulturmedium: McCoy's 5a Medium, Grand Island Biological Company.

d) Weitere klinische Laboratoriumsbefunde (in Auswahl)

(H.-R. Wiedemann, Kl. Dörner)

Fall 4 bot als Neugeborenes einen verzögerten Rückgang des vermehrten indirekten Serumbilirubins und im Säuglingsalter erneut leichte Hyperbilirubinämie (bis $3,7$ mg%, davon $2,2$ direktes Bilirubin), ferner Transaminasen-Erhöhung (SGOT \gg GPT) und abnorme Thymoltrübungswerte; im 2. Lebensjahr Normalisierung. In Fall 2 abnorme Transaminasen- und Thymoltrübungswerte im Todesjahr. Im übrigen keine Auffälligkeiten der diesbezüglichen Untersuchungen. — Blutgesamtlipide (bei Fall 2 auch die Phosphatide geprüft) bei allen Kindern quantitativ in der Norm. Cholesterin in Fall 2 mit 8 Jahren unauffällig, in Fall 1 (mit $5\frac{9}{12}$ Jahren) und Fall 3 (mit $1\frac{4}{12}$ Jahren) mit 277 bzw. 261 mg% leicht bzw. deutlich außerhalb des Altersnormbereichs. — Saure Phosphatase normal (Fall 4). — In Fall 2 Aktivität der Arylsulfatase A im Harn regelrecht (Max-Planck-Institut für Psychiatrie München, Dr. Mehl). Ausscheidung saurer Mucopolysaccharide im Harn mit $0,8$ bzw. $2,1$ mg Mucopolysaccharid-Hexuronsäure/24 Std quantitativ normal (Doz. J. Spranger; vgl. Spranger et al., 1967).

Bei Leber-*Enzymuntersuchungen* von Fall 2, L., Jutta, im physiologisch-chemischen Laboratorium der Universität Löwen (Belgien) (Vorstand: Prof. Dr. Hers³) zeigten die meisten Hydrolasen Normalaktivität. Aktivität der sauren β -D-Galaktoxidase leicht erhöht. Aktivität der sauren β -D-Glucosidase im untersten Normbereich mit Maximum bei pH 5 (normal).

Epikrise der klinischen Befunde (H.-R. Wiedemann)

4 Kinder eines gesunden, nicht konsanguinen Elternpaares entwickelten in verschiedenem Alter Zeichen einer Speicherkrankheit von unterschiedlicher Ausprägung, Intensität und Verlaufsgeschwindigkeit. Die jetzt knapp 14jährige Älteste manifestierte zwischen 6 und 8 Jahren eine mäßige Splenomegalie, blieb aber bis heute äußerlich und leistungsmäßig unauffällig bzw. normal. Das Zweitgeborene, wiederum ein Mädchen, von früh auf durch ein großes Abdomen auffällig, wurde im 4. Lebensjahr als splenohepatomegal und thrombocytopenisch-blutungsbereit erkannt und entwickelte, noch im gleichen Jahr beginnend, einen neurodystrophischen Prozeß. Schwer dement, hochgradig ataktisch, zeitweilig choreoathetotisch und häufig konvulsiv, ohne Fundus- und ohne Liquorveränderungen, mit extremer Splenomegalie ging das Mädchen mit 9 Jahren in Auswirkung pseudobulbärer Störungen zugrunde. Bei dem dritten Kinde, einem Knaben, wurde bereits mit 6 Wochen die Milzvergrößerung und ab späterem Säuglingsalter die beginnende Thrombocytopenie nachgewiesen. Ab 2. Lebensjahr ganz schleichende Manifestation eines neurodystrophischen Prozesses. Der jetzt knapp 9 $\frac{1}{2}$ jährige ist relativ kräftig entwickelt, stark splenomegal, geistig auf der Stufe eines jungen Kleinkindes, allgemein ataktisch und auch choreoathetotisch bewegungsgestört mit erhöhter Grand mal-Bereitschaft und mit z. Z. noch mäßigen pseudobulbären Zeichen. Das vierte Kind, weiblich, kam splenohepatomegal zur Welt, gedieh anfangs schlecht und bot einen Icterus prolongatus. Anschließend und noch in der 1. Hälfte des 2. Lebensjahres gute somatische wie psychomotorische Fortschritte. Im 3. Lebensjahr schleichende Entwicklung eines neurodystrophischen Prozesses. Die jetzt 5 $\frac{1}{2}$ jährige entspricht geistig einem etwa um 3 Jahre jüngeren Kinde, zeigt mäßiggradige lokomotorische Ataxie, extreme Milzvergrößerung und thrombocytopenische Blutungsbereitschaft.

Speichernde Makrophagen sind im Knochenmarkspunktat aller 4 Kinder nachgewiesen worden, bei dem ältesten Mädchen mit 5 $\frac{3}{4}$ Jahren, bei den beiden Jüngsten bereits mit 3 Monaten bzw. alsbald post partum. Die inzwischen in bioptischen Untersuchungsmaterialien von 2 Kindern und autoptisch bei 1 Kinde näher studierten Speicherzellen (s. Teil II) fanden sich eindeutig auch im Knochenmark beider Eltern! Bericht über eine Reihe weiterer Laboratoriumsuntersuchungen.

3 Wir danken Herrn Prof. Dr. Hers und Dr. F. van Hoof für ihre Mühewaltung.

II. Bioptische und autoptische Untersuchungen

a) *Viscerale Organe*

(K. Lennert, D. Harms)

1. Bioptische Untersuchungen

Fall 2. L., Jutta (E-Nr. 12723/67 II).

Rachentonsille. In der Pulpa zahlreiche Gruppen von Makrophagen mit einem optisch hellen, wabigen Cytoplasma im H.E.-Präparat. Bei Giemsa-Färbung zeigen einige dieser Makrophagen eine deutliche Grünfärbung des Plasmas. Die PAS-Reaktion der Speicherzellen ist im Formalin- wie im Alkohol-fixierten Material deutlich positiv, auch nach Diastase-Behandlung. Die saure Phosphatase-Reaktion ist stark positiv, gering sogar im Formalin-fixierten Untersuchungsgut. Demgegenüber ist die Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Reaktion der Makrophagen negativ. Eine Reihe von Histocyten enthält ein bräunliches, körniges Pigment (Ceroid? Lipofuscin?). Zusätzlich besteht eine starke Mastocytose der Pulpa.

Fall 3. L., Olaf (E-Nr. 12723/67 I).

Rachentonsille. Zwischen den Lymphfollikeln mit recht großen Keimzentren liegen in der Pulpa Gruppen von Makrophagen mit einem optisch hellen, wabigen Cytoplasma. Diese Speicherzellen sind z. T. Sudanschwarz B-positiv, und sie geben nach Formalin- wie nach Alkohol-Fixierung eine deutlich positive PAS-Reaktion, auch nach Behandlung der Schnitte mit Diastase. Die alpha-Naphthylacetat-Esterase-Reaktion ist negativ, dagegen ist die saure Phosphatase-Reaktion sowohl nach Formalin- wie Alkohol-Fixierung deutlich positiv. Die Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Reaktion ist negativ. Bei Giemsa-Färbung ist das Cytoplasma der meisten Speicherzellen schwach blau, gelegentlich auch grünlich dargestellt. Einige Makrophagen enthalten im Cytoplasma gröbere bräunliche Körnchen (Ceroid? Lipofuscin?).

2. Autoptische Untersuchungen

Fall 2. L., Jutta, vorgenommen am 24. 6. 1969, ca. 1½ Std nach dem Tode (SN 450/69).

Makroskopische Befunde (Auszug)

Hochgradige *Splenomegalie* (630 g) mit feingranulärer rötlich-gelber Schnittfläche. Mäßig starke *Hepatomegalie* (1400 g). *Lymphadenomegalie* mit zahlreichen bis zu 1,5 × 1,5 × 1,5 cm großen Lymphknoten, besonders mesenterial, axillär, cervical, im Bereich des Lungenhilus, parapankreatisch, paraortal, parailiacal und inguinal mit gelblicher, fettig-glänzender Schnittfläche. Blasses, graurotes Mark in Sternum, Rippen und Wirbelkörpern. Graurotes Femurmark in der gesamten Markhöhle, teilweise mit schwerer Gallertatrophie. — Fortgeschrittener Marasmus mit hochgradigem Schwund des subcutanen Fettgewebes. Exsiccose. Atrophie der Skelettmuskulatur. Schwere Bronchopneumonie beiderseits. Nicht ganz frisches Pleuraempyem (50 ml) links. Ausgedehnte flächenhafte Pleuraverwachsungen links.

Mikroskopische Befunde (Auszug)

Milz. In der roten Pulpa ganz englumige, nur wenige Blutzellen enthaltende Sinus, die durch enorm erweiterte Pulpastränge weit auseinandergedrängt sind (Abb. 3). In den Pulpasträngen zahlreiche Makrophagen mit einem optisch hellen, schaumig-wabigen Cytoplasma und mittelgroßen Kernen. Wiederholt Blutzellschatten in den Makrophagen nachweisbar (Hämophagocytose). Keine Speicherung in den Uferzellen der Sinus. Weit voneinander entfernt gelegene Follikel, gelegentlich mit kleinen Gruppen von Speicherzellen in den Zentren.

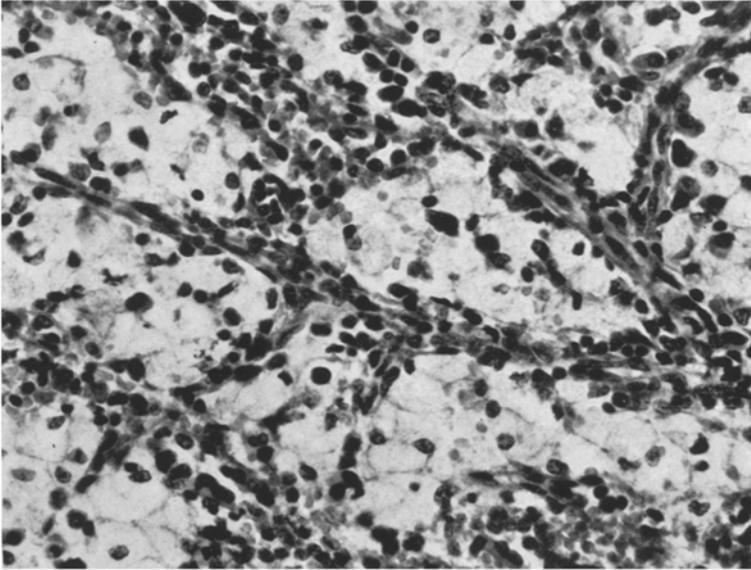


Abb. 3. Hochgradige Erweiterung der Pulpastränge in der *Milz* durch zahlreiche Speicherzellen. Demgegenüber auffallend englumige und weit auseinandergedrängte Sinus. H.E., 364 \times

Leber. Normale bis gering verbreiterte Periportalfelder, mehrfach mit Ansammlungen von Speicherzellen. Keine nennenswerte Fibrose. Weite Sinusoide, die vielfach große Speicherzellen enthalten, wodurch die Leberepithelbälkchen teilweise auseinandergedrängt sind.

Lymphknoten. Die vergrößerten Lymphknoten der verschiedenen Regionen bieten ein gleichartiges histologisches Bild: hochgradiger Schwund des lymphatischen Gewebes, besonders der Rinde (Abb. 4). Demgegenüber eine maximale Erweiterung der Sinus, vor allem der Intermediärsinus. In den Sinus eine Vielzahl von Speicherzellen mit einem schaumig-wabigen Cytoplasma (Abb. 4), teilweise auch mit Hämophagocytose. In der Pulpa wiederholt Histiocyten mit einem bräunlichen grobkörnigen Pigment (Abb. 5a), auch in ungefärbten Kryostatschnitten. Ferner viele Gewebsmastzellen.

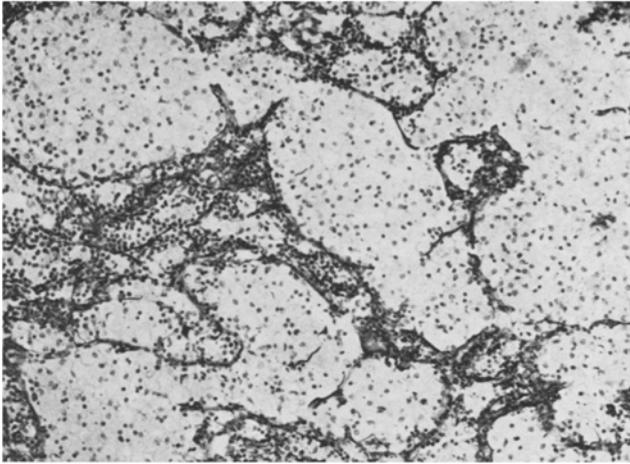
Knochenmark. Im Mark von Wirbel, Rippe, Sternum und Femur massenhaft Speicherzellen, teilweise in gruppenförmiger Anordnung. In Wirbel-, Rippen- und Sternmark praktisch keine Fettzellen; dagegen im Femurmark leichtes Überwiegen der Fettzellen, welche teilweise gallert-atrophisch sind. Regelhaftes Verhältnis von Myelo- und Erythropoiese. Relativ viele Megakaryocyten.

Gaumentonsille. Herdförmig im insgesamt verminderten lymphatischen Gewebe Gruppen von Speicherzellen.

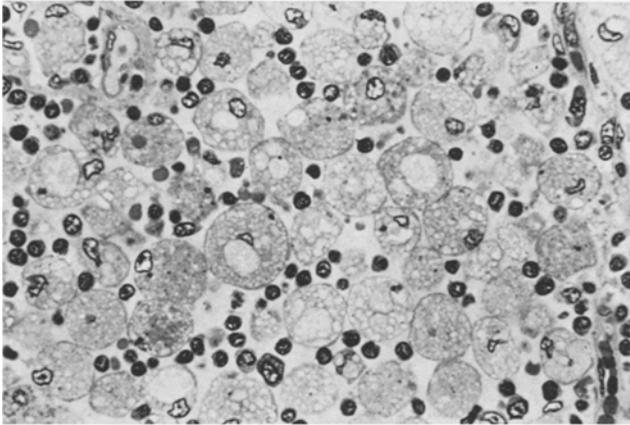
Lungen. Teilweise konfluente bronchopneumonische Infiltrate beiderseits. Reichlich Alveolarmakrophagen mit hellem Cytoplasma.

Nebenniere. Wenige Speicherzellen in den inneren Rindenschichten.

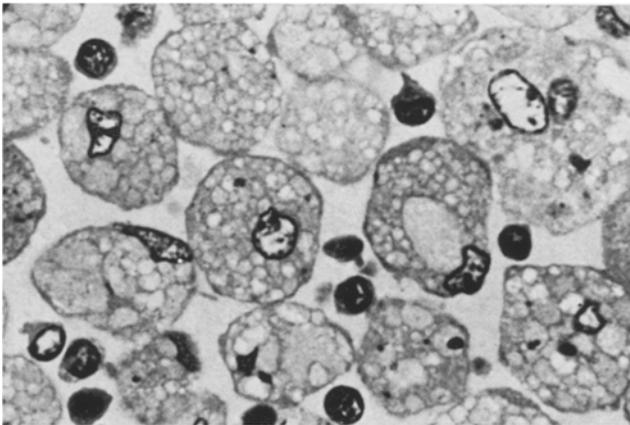
Übrige viscerele Organe (Herz, Niere, Magen, Dünndarm, Pankreas, Ovar und Schilddrüse) ohne mikroskopische Zeichen einer Speicherung.



a



b



c

Abb. 4. a Maximale Erweiterung der Sinus eines *Lymphknotens* durch Speicherzellen im Silberfaserbild. Starke Verminderung des lymphatischen Gewebes. Bielschowsky 146 \times ; b u. c Speicherzellen eines *Lymphknotens* mit schaumig-wabigem Cytoplasma. Wiederholt auch Ausbildung größerer Vacuolen. Semidünnschnitte, Azur II-Methylenblau. b 583 \times ; c 1460 \times

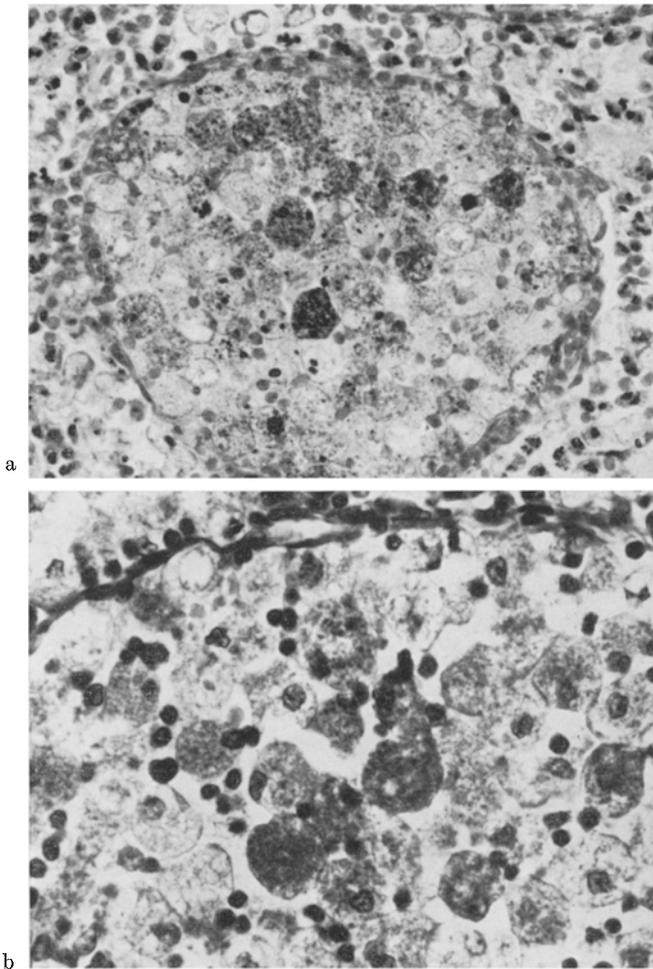


Abb. 5a u. b. Sudanschwarz B-positive (a) bzw. PAS-positive (b) Speicherzellen im *Lymphknoten*. In der Pulpa auch ein grobkörniges, ebenfalls Sudanschwarz B-positives Pigment (a, äußere Bildabschnitte). Paraffinschnitte. a 364 \times ; b 583 \times

*Histochemische Befunde*⁴ (Auszug)

Histochemische Untersuchungen erbrachten an den Speicherzellen der verschiedenen Organe ein grundsätzlich gleichartiges Ergebnis. Für den *Lymphknoten* ergab sich pars pro toto: Das Cytoplasma der in den Sinus gelegenen Makrophagen stellt sich bei Giemsa-Färbung teils grünlich, teils nahezu farblos dar; es ergibt eine positive PAS-Reaktion (Abb. 5b), die allerdings bei den verschiedenen Speicherzellen unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Die Sudanschwarz B-Färbung zeigt in Paraffin- wie in Kryostatanschnitten eine z. T. sehr intensive Grau- bis Schwarzfärbung von

4 Für technische Mitarbeit danken wir W. Glück.

granulären Cytoplasmaeinschlüssen (Abb. 5a). Auch die Reaktionen mit OsO_4 , Öl-Rot (Kryostatschnitt), Nilblau-Sulfat (Blaufärbung im Kryostatschnitt) sind positiv. Ziehl-Neelsen-Färbung sowie Berliner Blau-Reaktion sind negativ. Die Färbungen nach Smith-Dietrich und Baker ergeben ein nur gering positives Ergebnis. Das grobkörnige, bei Giemsa-Färbung grünliche Pigment in den Histiocyten besonders der Lymphknotenpulpa ist bei folgenden Reaktionen positiv: Sudanschwarz B, OsO_4 , Öl-Rot, Nilblau-Sulfat (Blaufärbung). Obwohl die Ziehl-Neelsen-Färbung negativ ist, ist bei fluoreszenzmikroskopischer Untersuchung im Vergleich mit gesunden Lymphknoten eine hellgrün-gelbe Fluoreszenz in granulärer Anordnung zu erkennen, die der Ablagerung von Ceroid zuzuordnen wäre (Dr. J. Gille, Pathologisches Institut der Medizinischen Hochschule, Hannover). Dieses Pigment ist in nennenswertem Maße nur in den Lymphknoten, nicht aber in den übrigen Organen nachzuweisen.

Zusätzliche histochemische Untersuchungen an der Milz führen bei den Speicherzellen in den Pulpasträngen zu positiven Reaktionen der unspezifischen Esterase (Alpha-Naphthylacetat-Esterase) und der sauren Phosphatase. Dagegen war die Naphthol-AS-Esterase-Reaktion in den Makrophagen negativ im Gegensatz zu den stark positiven Uferzellen (s. Stutte, 1968).

3. Epikrise

Eine Speicherkrankheit ist an Hand des bioptischen Untersuchungsgutes (Adenotomiematerial, Fall 2 und Fall 3) wie der autoptischen Befunde (Fall 2) zweifelsfrei zu verifizieren. Die Speicherung betrifft vor allem Milz (Pulpastränge!), Lymphknoten (Sinus!), Tonsillen, Knochenmark und Leber. Die speichernden Makrophagen sind sehr groß, zeigen aber keinerlei Ähnlichkeit mit Gaucher-Zellen (vgl. Wolman, 1964); sie sind vielmehr isomorph mit den Speicherzellen bei Morbus Niemann-Pick (vgl. die eigenen Abbildungen mit denen von Crocker u. Farber 1958, bei Wolman, 1964). Die unter verschiedenen Bedingungen positive PAS-Reaktion erbringt den Nachweis einer Glyko-Komponente des gespeicherten Materials; die diversen Fettfärbungen, besonders die Sudanschwarz B-Reaktion, zeigen reichlich nichtalkohollösliche Lipide an. In Anbetracht der fehlenden absoluten Spezifität der lipidhistochemischen Methoden (vgl. Lennert, 1955; Clara, 1965) ist es nicht hinreichend genau möglich, das bzw. die gespeicherten Lipide exakt zu klassifizieren. — Einen weiteren Befund stellt das Ceroid oder zumindest dem Ceroid nahe verwandte Pigment dar, das vor allem in Lymphknoten und wahrscheinlich auch im Adenotomiematerial nachgewiesen wurde. Diese Pigmentablagerung ist aber nur als sekundäres Phänomen (Wolman) zu interpretieren, nicht jedoch als Ceroidose zu verstehen. — *Resümee: Lipidose mit einer Glykolipoidkomponente.*

b) Weitere, insbesondere „elektronenmikroskopische Untersuchungen“ an Biopsiepräparaten „visceraler Organe“

(R. Caesar, S. Blümcke, F. Freitag)

1. Leberbiopsiepräparat von Fall 4, L., Viola, vom 21. 11. 1966 und Tonsillenpräparate von den Fällen 2 und 3, L., Jutta und Olaf, vom 10. 3. 1967 (Untersucher: R. Caesar).

In Paraffinschnitten der *Leberbiopsie* des Falles 4 (H.E.-Färbung, van Gieson-Färbung, PAS-Färbung) sind die mesenchymalen Veränderungen in der Leber deutlicher ausgeprägt als die Veränderungen am eigentlichen Leberparenchym: man sieht eine deutliche Fibrose der Portalfelder. Feine Kollagenfaserzüge strahlen ins Leberparenchym ein. Ein Umbau liegt nicht vor. Die verbreiterten Portalfelder enthalten Lymphocyten und große Makrophagen mit hellem Cytoplasma. Das Cytoplasma der Leberepithelien ist sehr hell, schaumig strukturiert. Eigentliche Vacuolen sind aber im Paraffinschnitt im Cytoplasma der Leberzellen nicht zu beobachten. Die Leberzellen enthalten reichlich PAS-positive Substanzen. Bei Fett-Färbung mit Sudanschwarz am Paraffin-eingebetteten Schnittpräparat stellt man eine feine schwärzliche Körnelung des Cytoplasmas der Leberzellen fest. Die Sternzellen sind groß. Die Schaltstücke erscheinen bereits deutlich proliferiert.

In Osmiumtetroxyd-fixierten Präparaten findet man nach Epon-Einbettung in Semidünnschnitten eine ausgesprochen feine Vacuolisierung der Leberzellen. Die vacuoläre Umwandlung des Leberparenchyms sieht man also nur im Osmiumtetroxyd-fixierten Dünnschnitt nach Eponeinbettung. An einem Paraffin-eingebetteten Leberbiopsiepräparat wäre die Diagnose einer Speicherkrankheit nicht sicher zu stellen.

Im *Elektronenmikroskop* lassen sich im Cytoplasma aller Leberzellen zahlreiche „Einschlüsse“ nachweisen (Abb. 6). Bei diesen Einschlüssen handelt es sich offenbar um Speichersubstanzen. Die Einschlüsse sind ziemlich wahllos über das Cytoplasma verteilt. Sie kommen sowohl am Blutpol als auch am Gallepol der Leberzellen vor. Die meisten Einschlüsse sind etwa so groß wie Mitochondrien, einzelne sind größer (mittlere Größe zwischen 0,3 und 2 μ m). Die Einschlüsse sind gegen das Cytoplasma von einer Membran begrenzt. Sie enthalten einen elektronenoptisch leeren Raum, darin liegen zumeist mehrere (3—4), oft auch viele Myelinfiguren (Abb. 7). Vielfach gehen diese Myelinkörper ineinander über, konfluieren und verschmelzen. Aus dieser Verschmelzung der Myelinkörper resultieren eigentümliche Muster und Figuren. In den speichernden Leberzellen fehlen die peribiliären „dense bodies“. Alle anderen Zellorganellen sind intakt. Identische Einschlüsse kommen auch in Kupfferschen Sternzellen, in Makrophagen der portalen Infiltrate, in Capillarendothelien, in Pericyten und in einzelnen Gallengangsepithelien vor.

In Epon-eingebetteten Semidünnschnitten der *Tonsillenpräparate* finden sich im lymphoreticulären Gewebe beider Tonsillen einzelne große Speicherzellen mit feinvacuolärem Cytoplasma.

Im Elektronenmikroskop erscheint die Zahl der speichernden Zellen in beiden Tonsillen als wesentlich größer. Die Struktur der speichernden Zellen in der Tonsille ist so weit abgewandelt, daß eine sichere Zuordnung dieser Speicherzellen zu einem bestimmten Typ einer Zelle des lymphoreticulären Systems nicht mehr möglich ist (Abb. 8). Die zahlreichen Plasmazellen in der Tonsille speichern nicht. Die Struktur der Einschlüsse gleicht weitgehend der Struktur der Einschlüsse im oben beschriebenen Leberbiopsiepräparat des Falles 4. Allerdings sind die Einschlüsse im Cytoplasma der Zellen der Tonsillen noch größer als in der Leber. Die Einschlüsse selbst enthalten mehr Myelinfiguren. Einzelne Einschlüsse bestehen fast nur aus Myelinfiguren. Die Einschlüsse sind dichter gepackt als in den Leberzellen des Falles 4. Zum Teil erreichen sie etwa ein Viertel der Größe eines Zellkernes.

2. *Leberbiopsiepräparat von Fall 2*, L., Jutta, vom 22. 7. 1968 (Untersucher: S. Blümcke, F. Freitag).

Bei Lichtmikroskopie an „semidünnen“ Schnitten ist die Läppchenstruktur regelrecht erhalten. In fast allen Parenchymzellen finden sich reichlich dunkle Granula, man sieht jedoch keine Vacuolen oder Fetteinlagerungen. Die Sinusoide sind üblich weit, die Kupfferschen Sternzellen z. T. deutlich vergrößert. Sie enthalten in

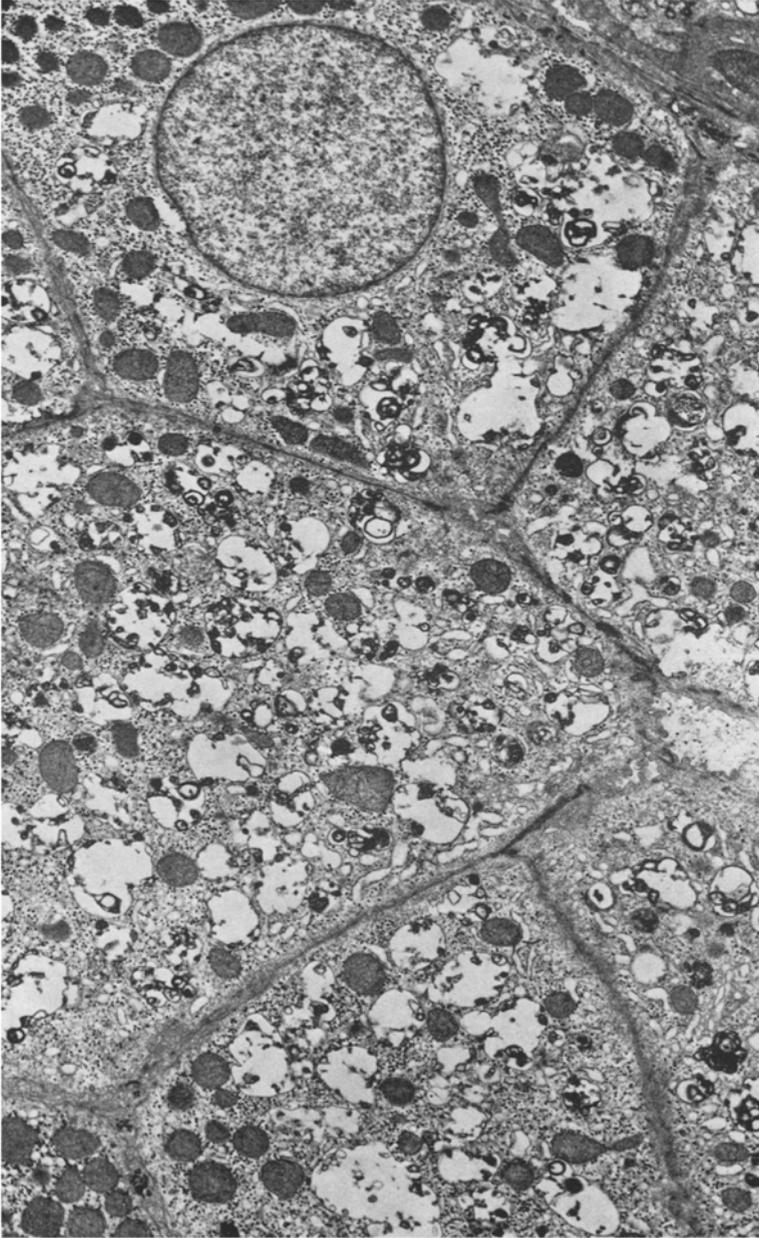


Abb. 6. Anschnitte mehrerer Leberzellen mit gespeicherten Substanzen im Cytoplasma. Ein großer Teil der Fläche des Cytoplasmas der Leberzellen wird von Speichermaterial eingenommen. Vergrößerung 8750 \times

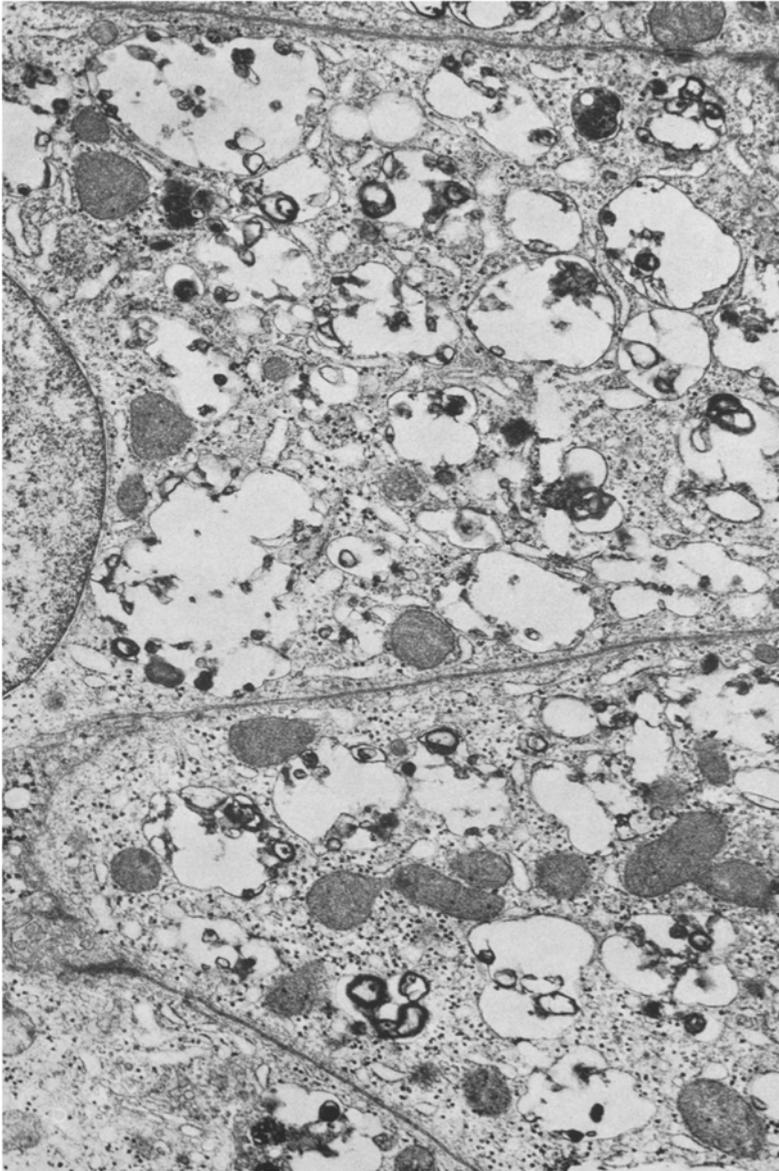


Abb. 7. Anschnitte mehrerer Leberzellen bei starker Vergrößerung. Links oben am Bildrand Kernanschnitt. Die Speichersubstanzen sind gegen das Cytoplasma von einer Membran begrenzt und enthalten in einem optisch leeren Raum viele Myelinfiguren. Vergrößerung 17500 \times

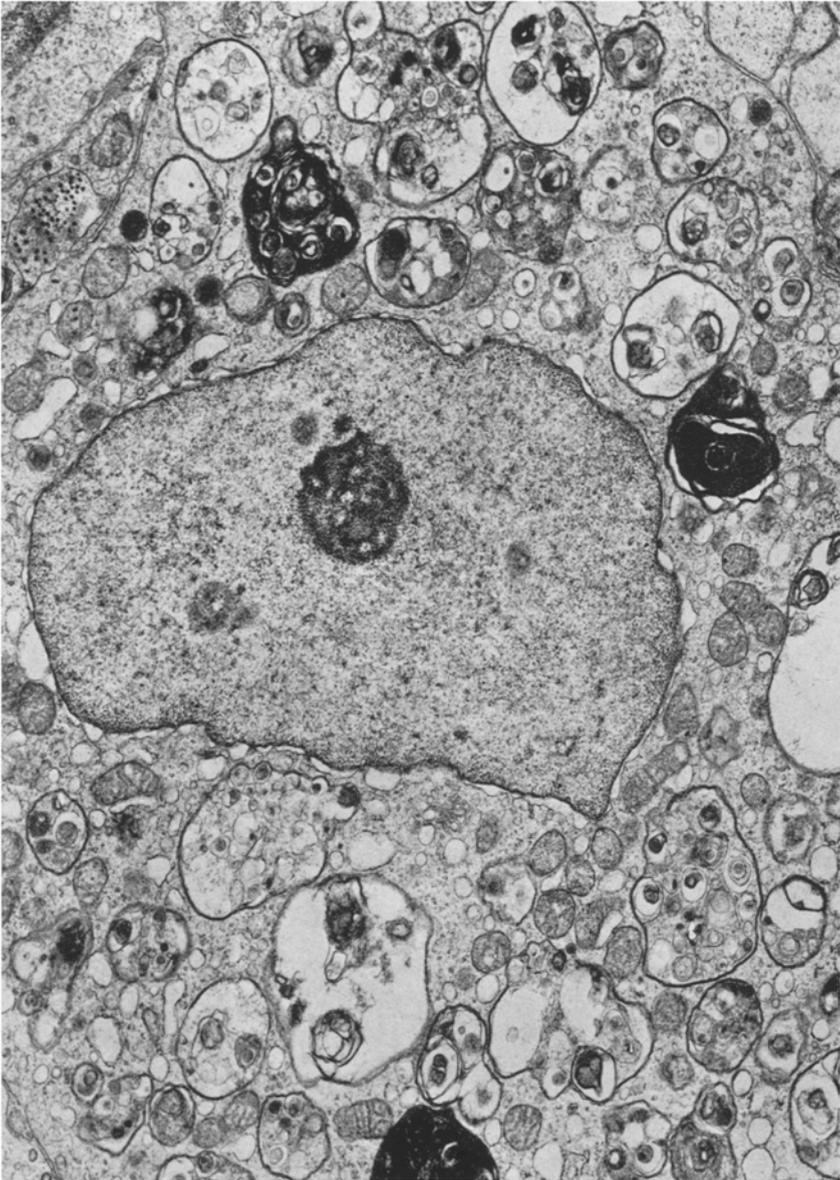


Abb. 8. Speichernde Zelle in der Tonsille, Übersicht mit Zellkern. Das Cytoplasma ist dicht durchsetzt von Speichersubstanzen. Die Zelle läßt sich infolge der starken Speicherung nicht mehr einem bestimmten Zelltyp zuordnen. Vergrößerung 17500 ×

ihrem Cytoplasma zahlreiche unterschiedlich große, dichtliegende vacuoläre Gebilde, deren Inhalt sich mit Azo II-Methylenblau schwach grau darstellt, und außerdem in wechselnder Zahl kleine dunkle Granula. — Die Periportalfelder sind schmal, sie enthalten reichlich große rundliche Zellen mit vacuolären und granulären Einschlüssen. Ihr Aussehen erinnert daher an Kupffersche Sternzellen. In Gallengangsepithelzellen sowie Endothelzellen und Muskelzellen der Blutgefäße sind keine Speicherelemente nachweisbar.

Elektronenmikroskopisch lassen sich im Leberläppchen Speicherelemente in Parenchymzellen und Kupfferschen Sternzellen nachweisen, nicht dagegen in Fettspeicherzellen und Sinusoidendothelzellen. *Leberparenchymzellen* (Abb. 9) enthalten zahlreiche von einer Einheitsmembran begrenzte 0,3 bis 2 μm große Speicherelemente. Die kleinsten enthalten 1 bis 2, die meisten jedoch mehrere lamellär geschichtete Einheiten, sog. Myelinfiguren. Die Zahl ihrer osmiophilen Schichten beträgt 2 bis ca. 20 mit einer Periodizität von ca. 80 Å. Die kleinsten Myelinfiguren lassen eine exakte konzentrische Schichtung erkennen, bei den größeren dagegen erscheint dieser Aufbau mehr oder weniger deformiert.

Größere sog. Lipofuscinkörper, die in normalen Leberparenchymzellen des älteren Menschen gehäuft vorkommen, sind auch in dieser kindlichen Leber reichlich vorhanden (Abb. 9b). Sie bestehen überwiegend aus einer stark osmiophilen, unstrukturierten Substanz, außerdem aus Anteilen mit irregulär angeordneten osmiophilen Lamellen mit derselben Periodizität wie in den Myelinfiguren, und zu einem kleinen Teil aus elektronentransparenten Herden, in denen gelegentlich feinflockige Strukturen zur Darstellung kommen. Sie enthalten jedoch keine für Lipofuscinkörper ungewöhnlichen Strukturen.

Auffällig ist das Fehlen typischer peribiliärer dichter Körper, während das übrige Cytoplasma der Parenchymzellen keine Veränderungen seiner Struktur erkennen läßt.

Alle untersuchten *Kupfferschen Sternzellen* enthalten Speicherelemente (Abb. 10), die sich deutlich von denen der Parenchymzellen unterscheiden. In einem Zellanschnitt sieht man bis zu 10 membranbegrenzte Speicherkörper. Ihre Innenstruktur ist elektronendicht mit zahlreichen dichtgepackten vacuolären Aufhellungen, in deren Zentren sich in der Regel eine punktförmige Verdichtung befindet. Die kleinen Speicherkörper unterscheiden sich von den großen durch die größere Elektronendichte ihrer Grundsubstanz, durch die geringere Zahl und die geringere Größe ihrer Vacuolen. Sie erscheinen dadurch eher kompakt, die größeren dagegen mehr schaumig.

In den Fettspeicherzellen sind keine eindeutigen Speicherungszeichen auszumachen.

Im Unterschied zum lichtmikroskopischen Befund läßt sich im *Bereich der Periportalfelder* (Abb. 11) eine exzessive Speicherung in Fibrocyten, eine mäßig starke in Gallengangsepithelzellen und teilweise in Endothelzellen und Pericyten der Blutgefäße nachweisen.

Die *Fibrocyten* zeigen in der Regel eine hochgradige Speicherung. Ihre membranbegrenzten Speicherelemente sind bis 3,5 μm groß und enthalten eine mäßig dichte, teils granuläre, teils feintubuläre Grundstruktur, in die Myelinfiguren und "fingerprints" eingelagert sind. — Die *Gallengangsepithelzellen* enthalten im Perikaryon multiple, bis 4 μm große Speicherelemente. Sie sind denen der Kupfferschen Sternzellen sehr ähnlich, enthalten aber zusätzlich kleine Vesikel und schmale, irreguläre Myelinfiguren. — Die *Endothelzellen und Pericyten der Blutgefäße* zeigen nur wenige bis 0,7 μm große Speicherkörper mit vorwiegend konzentrisch angeordneten lamellären Strukturen und haben eine gewisse Ähnlichkeit mit den Speichergebilden der Parenchymzellen.

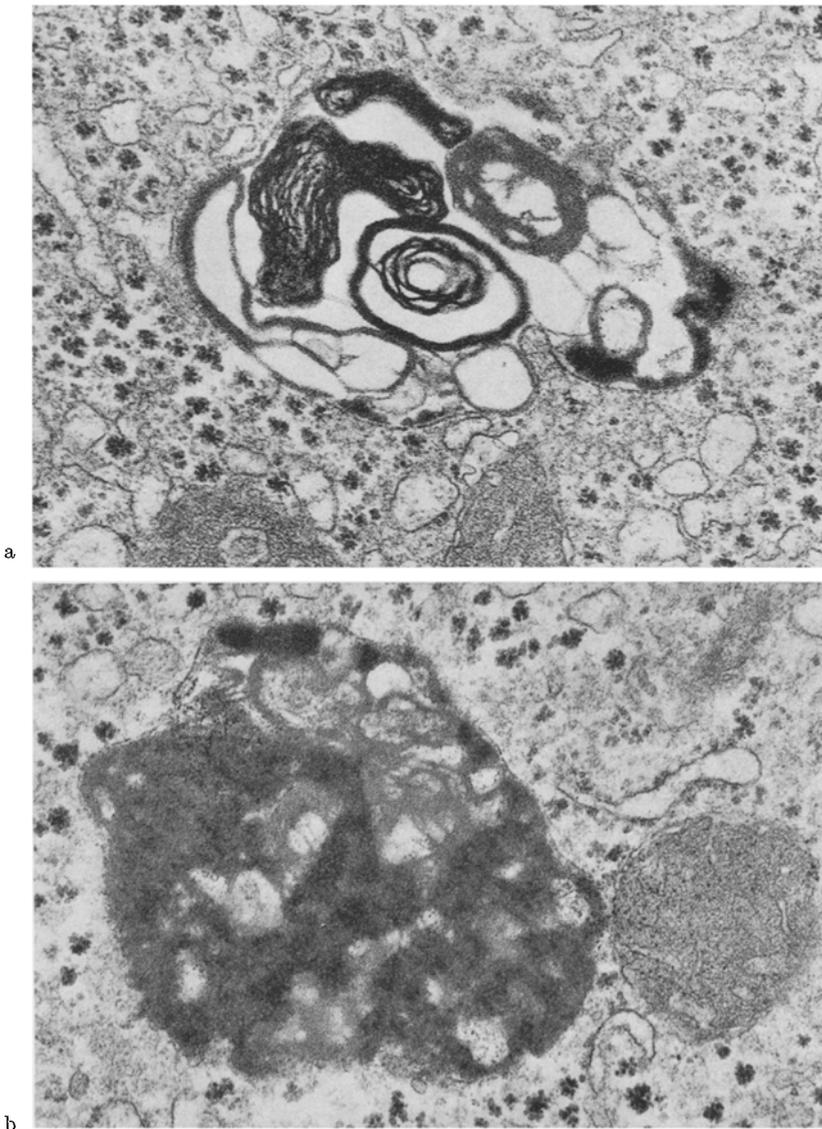


Abb. 9. a Membranbegrenzter Speicherkörper aus einer Leberparenchymzelle mit verschiedenen Myelinfiguren. Fixierung: Glutaraldehyd/OsO₄. Vergrößerung 43500 ×. b großer Lipofuscinkörper aus einer Leberparenchymzelle mit irregulären lamellären Innenstrukturen. Fixierung: Glutaraldehyd/OsO₄. Vergrößerung 54500 ×

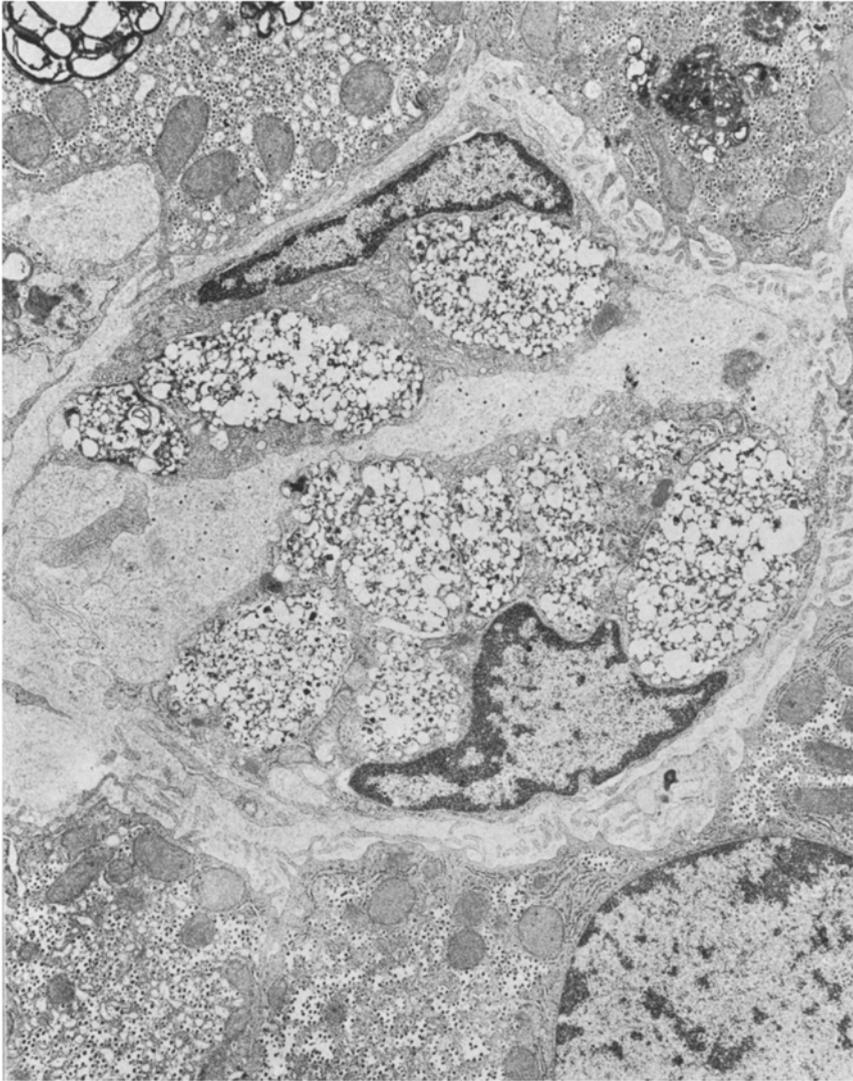


Abb. 10. Quergetroffener Sinusoid mit umgebenden Leberparenchymzellen. In den Kupfferschen Sternzellen mehrere Speicherelemente mit „schaumiger“ Innenstruktur. Im Bilde oben Speicherelemente in Leberparenchymzellen. Fixierung: Glutaraldehyd/OsO₄. Vergrößerung 10000×

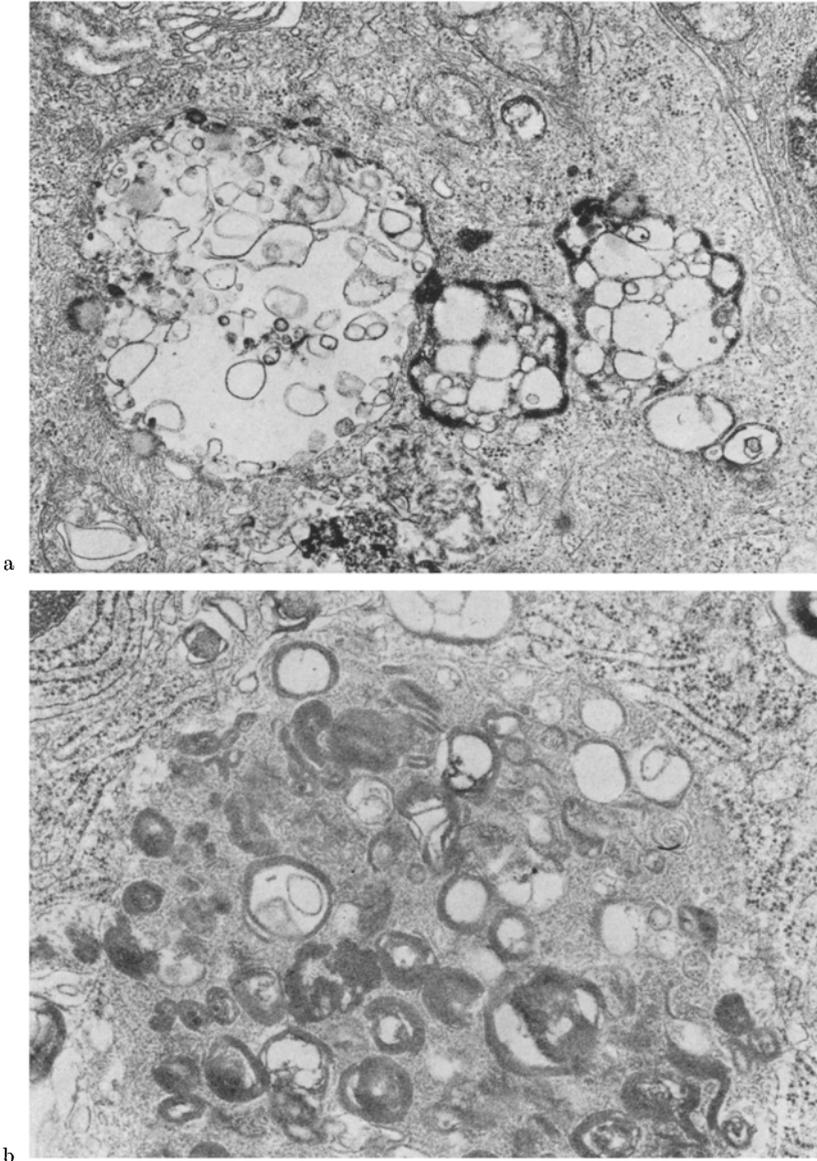


Abb. 11. a Mehrere Speicherkörper einer Gallengangsepithelzelle mit zahlreichen größeren und kleineren vesiculären Strukturen. Fixierung: Glutaraldehyd/OsO₄. Vergrößerung 27000×. b Cytoplasmaanschnitt eines Fibroblasten aus einem Periportalfeld, der reichlich raues endoplasmatisches Reticulum und einen großen Speicherkörper mit multiplen Myelinfiguren und „finger-prints“ enthält. Fixierung: Glutaraldehyd/OsO₄. Vergrößerung 33500×

c) *Nervensystem*

(H. D. Korenke)

Autoptische Untersuchungen

Fall 2. L., Jutta (SN 450/69).

Makroskopischer neuropathologischer Befund (Auszug)

Hochgradige allgemeine Hirnatrophie (Hirngewicht 840 g; Sollgewicht 1275 g (Baker; Müllmann)); mäßigstarker Hydrocephalus internus et externus. Konsistenzvermehrung von Großhirn, Kleinhirn und Rückenmark.

Mikroskopische neuropathologische Befunde (Auszug)

Es erfolgen lichtmikroskopische und histochemische Untersuchungen an Paraffin-eingebettetem Material, an Gefrierschnittmaterial und am Kryostatschnitt. — Am Paraffin-eingebetteten Gewebe aus zahlreichen Anteilen des zentralen, peripheren und vegetativen Nervensystems werden folgende Färbungen durchgeführt: H.E., van Gieson, Nissl, PAS, Myelindarstellung nach Klüver-Barrera, Gliadarstellung nach Holzer und Axondarstellung nach Bodian.

Im *Endhirn* sind ausgedehnte unterschiedlich stark ausgeprägte *Nervenzellveränderungen* insbesondere in der Großhirnrinde, weniger stark im Corpus striatum und noch weniger ausgeprägt im Riechhirn nachzuweisen. Die Hauptlokalisation der Veränderung liegt in der dritten und vierten Rindenschicht des Großhirns — vorwiegend occipital, dann folgend in absteigender Intensität die parietale, temporale und frontale Rinde — und im Putamen. Geringgradige Veränderungen finden sich im N. caudatus, im N. amygdalae und im Ammonshorn.

Zahlreiche Nervenzellen zeigen eine geringgradige Vergrößerung, ihr Cytoplasma ist stark gebläht, der Kern der Zellen ist an den Zellrand verlagert. Einzelne corticale Nervenzellen sind besonders stark geschwollen, wobei ihr Zelleib deutlich abgerundet ist und sackförmig an dem randständigen Kern hängt. Die proximalen Anteile der Dendriten sind teilweise ballonartig aufgetrieben. Im Nissl-Bild erscheint das Cytoplasma deutlich aufgehellert, und die Nissl-Substanz ist entweder an die Peripherie gedrängt oder staubförmig zerfallen. Das Cytoplasma zeigt vorwiegend einen schaumig-wabigen Aufbau in Form eines Maschenwerks mit dazwischenliegenden Vacuolen; andere Nervenzellen zeigen jedoch mehr eine körnig-wabige oder eine tropfig-schollige Erscheinungsform des Cytoplasmas. Weniger stark befallene Nervenzellen zeigen bei zentral gelegenem Kern lediglich eine Kerneindellung durch das gespeicherte Material; in anderen Zellen besteht eine Kernverdrängung, Kernpyknose und Kernzerfall.

In verschiedenen Rindenanteilen sind ausgedehnte nichtpseudolaminäre, sondern mehr fleckförmige Nervenzellausfälle mit Nervenzellreduktion und reaktiver Mikro- und Makrogliaproliferation und Fasergliose nachzuweisen.

Ganz vereinzelt finden sich auch geringgradige Ablagerungen von homogenem, teilweise granulärem Material im Cytoplasma subcorticaler und corticaler *Makroglia*, dies besonders in den zwei oberen Rindenschichten.

Im subcorticalen und tiefen Großhirnmark besteht ein stellenweise ausgedehnter, vorwiegend jedoch herdförmiger, zumeist unvollständiger *Markscheidenz*erfall mit kolbigen Auftreibungen, Axonunterbrechung und kugeligen Myelinballen. Zwischen den Myelinfragmenten finden sich Hinweise für einen spärlichen mikroglösen mobilen Abräumprozeß. Einzelne vorwiegend perivascular gelegene Makrophagen des Großhirnmarks und der Rinde zeigen ebenfalls eine Speicherung mit schaumig-wabigem Cytoplasma.

Diese Nervenzellveränderungen des Endhirns lassen sich auch, jedoch weniger stark, im Globus pallidus und Thalamus des *Zwischenhirns*, in einzelnen Hirnnervenkernarealen der *Brücke* und des *verlängerten Marks* und in der *Formatio reticularis*

des *Mittelhirns* nachweisen; der N. olivaris ist intakt. Lediglich der N. dentatus des *Kleinhirns* zeigt eine starke Beteiligung an der cytoplasmatischen Speicherung.

Eine diskrete Nervenzellspeicherung findet sich in einzelnen Vorderhornsegmenten des cervicalen und lumbalen *Rückenmarks*. Einzelne cervicale und lumbale vordere Wurzeln zeigen degenerative Markscheidenveränderungen bei weitgehend erhaltenen Axonen.

In den *weichen Hirn- und Rückenmarkshäuten* und im Plexus chorioideus finden sich sehr geringgradige Ablagerungen von Makrophagen mit optisch hellem, schaumig-wabigem Cytoplasma und mittelgroßen Kernen.

Untersuchte Anteile des vegetativen und peripheren Nervensystems ließen keine pathologischen Veränderungen erkennen.

Histochemische Befunde (Auszug)

Histochemische Untersuchungen der Speichersubstanz in den *Nervenzellen* der occipitalen und frontalen Großhirnrinde, des Putamens und des N. dentatus, in den *Gliazellen* des subcorticalen Frontalhirnmarks sowie der *Makrophagen* im Frontalmark und in den weichen Hirnhäuten ergeben ein gleichartiges Ergebnis: Das Cytoplasma dieser Zellen, insbesondere der corticalen Nervenzellen, zeigt in unterschiedlicher Intensität eine positive PAS-Reaktion, eine stark positive Reaktion der Sudan-schwarz B-Färbung im Kryostat- und Paraffinschnitt mit Ausbildung einer granulären Zeichnung, eine positive Reaktion in der Nilblausulfat-Färbung am Kryostat-schnitt zur Darstellung saurer Lipide und eine positive Öl-Rot-Reaktion. Es findet sich kein Nachweis von metachromatischen Substanzen nach der Methode von Hirsch-Pfeiffer; die Berliner Blau-Reaktion ist negativ, und die Giemsa-Färbung zeigt im Cytoplasma nur vereinzelt eine grünliche Darstellung.

Beurteilung

Nach dem lichtmikroskopischen neuropathologischen Befund liegt eine neuronale Speichererkrankung vor, die nach dem histochemischen Verhalten in die Gruppe der *Glykolipidosen* einzuordnen wäre. Die Speicherung betrifft fast ausschließlich die Nervenzellen, überwiegend der Großhirnrinde und weniger stark des Striatums, insbesondere des Putamens, des N. dentatus und noch weniger intensiv des Thalamus, der Brücke, des verlängerten Marks und des Rückenmarks. Der kennzeichnende morphologische cerebrale Befund ist die Nervenzellschädigung; die anderen in ihrer Intensität wechselnden Veränderungen an Axonen, Markscheiden und Gliazellen mit Proliferation von Mikro- und Makroglia scheinen der Nervenzellerkrankung nachgeschaltet. Das Speichermaterial, aus reichlich nichtalkohollöslichen Lipiden bestehend, kann wegen der fehlenden Spezifität der histochemischen Methoden nicht sicher klassifiziert werden.

d) Elektronenmikroskopische Befunde am Zentralnervensystem

(F. Freitag, S. Blümcke)

Zur Untersuchung gelangte ein Hirnrindenbiopsat von Fall 2, L., Jutta. Die Ganglienzellen der Hirnrinde zeigen multiple unterschiedlich große, von einer Membran umgebene Speicherkörper.

Diese bestehen entweder aus konzentrischen Lamellen mit unterschiedlich breiten Zwischenräumen oder aus einer opaken Substanz, die teilweise eine lamelläre

Schichtung aufweist. Stellenweise sind auch typische sogenannte Zebrakörper nachweisbar. Andere Speicherkörper wiederum enthalten wenige Lamellen und reichlich feinfilamentäre Strukturen. Häufig werden mehrere Speicherkörper durch eine Membran zu größeren Speichereinheiten zusammengefaßt.

Diese Speicherelemente finden sich vor allem in den Ganglienzellen und ihren großen Neuriten. Kleine marklose Axone dagegen zeigen in der Regel keine Speicherung. Hier finden sich wie in den Fortsätzen der Glia häufig Glykogenablagerungen.

III. Chemische Untersuchungen

(H. Debuch, P. N. Seng)

Zur Untersuchung gelangten von *Fall 4*, L., Viola, gefriergetrocknete Leberpartikel aus Punktat sowie Knochenmarkspunktat (1966). Die damals zur Verfügung stehenden Methoden gestatteten aus den geringen Materialmengen nur orientierende Untersuchungen mit folgenden Ergebnissen: Im Vergleich zu kindlichen Kontrolllebern zeigte die Lipidzusammensetzung der Leber dieses Kindes (*Fall 4*)

1. eine Vermehrung der Gesamtlipide, bezogen auf das Trockengewicht des Materials,
2. eine Vermehrung der Glykolipide sowie ebenfalls eine Vermehrung der Phosphatide.

Im Knochenmark betrug die Menge an Glykolipid etwa 25%, was darauf hindeutet, daß auch im Knochenmark die Glykolipide vermehrt waren. Bei der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung der Lipide ergaben sich Anzeichen für das Auftreten von Ceramid-Trihexosiden neben Ceramid-Mono- und -Di-Hexosiden.

Dank der Tatsache, daß uns von *Fall 2*, L., Jutta, 1969 tiefgefrorenes, nicht-fixiertes Material aus Leber, Milz, Groß- und Kleinhirn zur Untersuchung zur Verfügung gestellt wurde, konnten wir eingehende Lipidanalysen durchführen und an isolierten, rein dargestellten Phosphatiden Bausteinanalysen betreiben. Zum Vergleich wurden bisher Leber und Milz eines 10jährigen, durch Unfall verstorbenen gesunden Jungen untersucht. Hinsichtlich der eingehenden Darstellung der dabei benutzten Methoden und der gewonnenen Ergebnisse vgl. Seng et al. (1971).

Aus dem Organmaterial wurden Gesamtlipidextrakte hergestellt und in 3 Fraktionen aufgetrennt:

1. Fraktion der Neutrallipide (Triglyceride, Cholesterin, Cholesterinester, vgl. Seng et al. (1971), *ibidem* Tabelle 1: Dialysat),
2. Fraktion der Ganglioside (vgl. Seng et al., *ibidem* Tabelle 1: Extrakt Oberphase),
3. Fraktion der „komplexen“ Lipide (Phosphatide, Cerebroside).

Die weitere Untersuchung erbrachte folgende Ergebnisse (Tabelle 1 bzw. 2).

Ad 1. An der Fraktion der Neutrallipide wurde bisher lediglich der Gesamt-Cholesteringehalt bestimmt. Dieser erwies sich in der Leber gegenüber dem Normalwert auf das Drei- bis Vierfache erhöht, in der Milz betrug der Cholesteringehalt (in mg/g Trockengewebe) das 6fache desjenigen vom normalen kindlichen Milzgewebe.

Ad 2. Mit einer von Svennerholm (1956) und Rumsby (1969) modifizierten Orcin-Reaktion wurden mit Galaktose als Standard Zuckerbestimmungen an der Gangliosid-Fraktion (und an den „komplexen“ Lipiden s. u.) durchgeführt. Die mit dem Molekulargewicht 1180 des visceralen Hauptgangliosids (des Hämatosids = N-acetyl-lactosyl-ceramid) aus den Hexosewerten als mg Gangliosid/g Trockengewebe berechneten Daten werden in Tabelle 1 angegeben. Deutlich (etwa 4fach) vermehrt erscheint der Gangliosidgehalt der Milz des kranken Kindes (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Die Lipide von Leber und Milz (normal = 10jährig. ♂; N.P. = Fall 2, 9jährig. ♀, L. J.) und Groß- bzw. Kleinhirn (N.P. = 9jährig. ♀, L. J.). (Werte in mg/g Trockengewebe)

	Leber		Milz		Gehirn N.P.	
	normal	N.P.	normal	N.P.	Groß- hirn	Klein- hirn
Gesamt-Lipid	213	272	137	419	502	417
Cholesterin (gesamt)	12,2	41,3	14,1	89,9	86,6	68,2
Ganglioside (MG 1180)	Spur	0,7 (0,1) ^a	0,4 (0,07)	1,5 (0,2)	13,3 (2,1)	12,8 (2,0)
Cerebroside (MG 800)	7,4 (1,7) ^a	8,2 (1,9)	6,4 (1,4)	36,2 (8,1)	70,4 (15,8)	52,9 (11,9)
Phosphatide (MG 800)	72,2	99,9	65,0	148,8	189,5	208,2

^a Zahlen in Klammern geben gefundene Hexosewerte an. (Erklärung s. Text.)

Ad 3. In der Fraktion der „komplexen“ Lipide wurde ebenfalls Hexose bestimmt. Die Werte erscheinen mit ihrer Umrechnung als Cerebroside (MG 800) in Tabelle 1. Auch die Cerebroside sind in der Milz des kranken Kindes offenbar auf das 5–6fache der Norm erhöht. Die „komplexen“ Lipide wurden ferner sowohl dünn- schicht- chromatographisch (Abb. 12 u. Tabelle 2) analysiert als auch präparativ säulen-

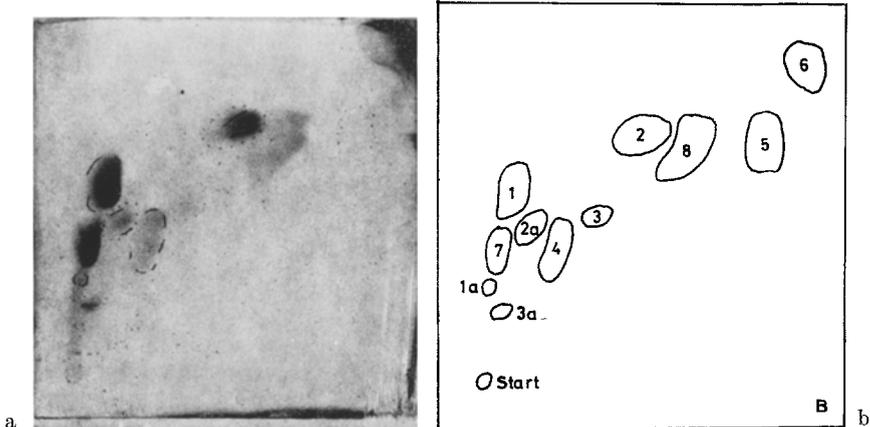


Abb. 12a u. b. Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie der Fraktion der „komplexen“ Lipide (Leber des Kindes L., Jutta) (a). Zur Identifizierung (b): 1 Cholinhaltige Phosphatide (Lecithin + Plasmalogen); 1a cholinhaltige Lysophosphatide; 2 äthanolaminhaltige Phosphatide (Colamin-Kephalin + Plasmalogen); 2a äthanolaminhaltige Lysophosphatide; 3 serinhaltige Phosphatide; 3a serinhaltige Lysophosphatide; 4 Phosphatidylinositol; 5 Phosphatidsäure?; 6 Cardiolipin?; 7 Sphingomyelin; 8 Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure

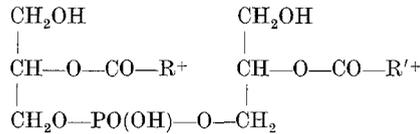


Abb. 13. Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure. + Die Stellung der FS an C₂ des Glycerins ist noch nicht bewiesen

chromatographisch aufgetrennt. Dabei zeigte sich, daß bei L. J. (Fall 2) die Leber etwa den 2,5fachen Gehalt an Sphingomyelin, die Milz etwa den 5fachen Gehalt an Sphingomyelin gegenüber den Organen des normalen Jungen enthielt (Tabelle 2). Darüber hinaus beobachteten wir das Auftreten einer Substanz in Leber und Milz bei L. J., die in den Lipidextrakten der Organe des gesunden Kindes nicht oder nur spurenweise aufgefunden werden konnte. In Abb. 12 erkennt man auf einem zweidimensionalen Dünnschichtchromatogramm einen Fleck, der entsprechend beim gesunden Kind nicht sichtbar ist. Es handelt sich dabei um eine phosphorhaltige, stickstofffreie Substanz, die etwa 10% des Lipidphosphors der untersuchten visceralen Organe von L. J. enthielt.

Tabelle 2. Zusammensetzung der Phosphatide (Fraktion der „komplexen“ Lipide) in mg/g Trockengewebe (vgl. Legende Tabelle 1)

	Mittl. Mol.-Gew.	Leber		Milz		Gehirn	
		normal	N.P.	normal	N.P.	Großhirn	Kleinhirn
Sphingomyelin	773	6,1	16,1	12,8	62,9	21,3	24,0
Bis(monoacylglycerin)-phosphorsäure	772	—	10,1	—	14,4	—	—
Äthanolaminhaltige Phosphatide	750	13,1	13,4	5,7	10,5	48,9	52,4
Cholinhaltige Phosphatide	800	29,3	32,9	24,0	30,6	60,8	71,1
Serinhaltige Phosphatide	800	2,9	2,4	3,8	4,4	23,8	25,0
Phosphatidyl-Inositol	870	5,4	7,0	1,9	2,2	9,7	8,5
Phosphatidsäure ?	700	0,7	1,2	0,6	1,3	—	3,3
Cardiolipin ?	1500 ^a	1,5	0,8	1,0	0,7	1,6	2,9
Äthanolaminhaltige Lysophosphatide	460	1,0	3,0	0,8	2,5	2,2	2,0
Cholinhaltige Lysophosphatide	500	1,3	2,4	1,9	1,4	—	—
Serinhaltige Lysophosphatide	500	0,5	0,6	0,7	3,2	—	—

^a Unter Berücksichtigung von 2 P/Mol.

Tabelle 3. *Sphingomyelinase-Aktivität (Leber) in Einheiten (vgl. Brady, 1970)*

Normal (s.l.c.)	Fall 2 (L., J.)	M. Niemann-Pick (s.l.c.)	
9,2	6,4	Typ A	0,64
	3,4	Typ C	1,7
	3,4		

Strukturanalysen, die nach säulenchromatographischer Isolierung der unbekannt Substanz durchgeführt werden konnten, ergaben, daß es sich um *Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure* handeln muß (Abb. 13).

In Tabelle 2 wurden die Analysenwerte der Phospholipide von Leber und Milz des Kindes L., Jutta, sowie der Organe des gesunden Jungen zusammengestellt. Die dort angeführten und zur Umrechnung verwendeten Molekulargewichte sind mittlere Molekulargewichte bis auf diejenigen des Sphingomyelins und der *Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure*, da bei diesen durch die erfolgte Fettsäure-Analyse eine genaue Berechnung möglich war.

Besonders wichtig erscheint uns neben der beachtlichen Vermehrung des Cholesterins und des Sphingomyelins in beiden visceralen Organen das Auftreten der *Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure*, über deren Vorstufen, Biosynthese und Abbauprodukte uns bisher nichts bekannt ist. Eine Reihe früherer Mitteilungen stellt die Speicherung von Cholesterin neben Sphingomyelin beim sogenannten Morbus Niemann-Pick heraus, eine Tatsache, die mit einer verminderten Sphingomyelinaseaktivität bisher nicht in direkten Zusammenhang gebracht werden kann (Fredrickson, 1966). Herr Dr. R. O. Brady (Bethesda, USA) hat freundlicherweise für uns Bestimmungen der Sphingomyelinaseaktivität in 3 Proben von Lebergewebe des Kindes L., Jutta, (Fall 2) durchgeführt⁵. Die Werte stellten wir in Tabelle 3 Normalwerten und solchen von klassischem M. Niemann-Pick gegenüber (s. Tabelle 3).

Wie aus den von Herrn Dr. Brady gefundenen Werten hervorgeht, liegt zwar eine deutliche Verminderung gegenüber der Norm vor, jedoch sind diese Werte deutlich höher (gegenüber dem Typ A 5—10mal) als die beim klassischen Morbus Niemann-Pick gefundenen (vgl. Brady, 1970; Snyder u. Brady, 1969).

Über die Bedeutung der *Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure* im Zusammenhang mit Morbus Niemann-Pick kann bis jetzt nichts Endgültiges ausgesagt werden. Eine ähnliche oder gar die gleiche Substanz wurde erstmals aus Lungengewebe vom Schwein von Body u. Gray (1967) isoliert. Die Substanz wurde von den Autoren als „Lysobisphosphatidic acid“ bezeichnet. Auch Rouser et al. verwendeten 1968 diese Bezeichnung für eine Substanz aus dem Lipid-Extrakt von Niemann-Pick-Organen, allerdings ohne die Identität mit dem von Body u. Gray beschriebenen Phosphatid vollständig nachgewiesen zu haben. Wahrscheinlich hatten sie von der obenerwähnten Arbeit noch keine Kenntnis, da sie auch die Autoren nicht erwähnen.

Aus dem Arbeitskreis von Rouser berichteten noch andere Autoren über das Auftreten dieser Substanz, die jeweils aber nur dünn-

⁵ Gleichzeitige Bestimmungen der Glucocerebrosidase-Aktivität ergaben Normalwerte.

chromatographisch nachgewiesen wurde. So wurde sie von Yamamoto et al. (1970) bei einem Fall von Lipidose beschrieben, bei dem kein Sphingomyelin gespeichert wurde. In vorläufigen Mitteilungen erwähnen auch Siakotos et al. sowie Baxter et al. das Vorkommen dieser Substanz in diversen tierischen Geweben, allerdings immer in Konzentrationen unter 2% des Gesamtposphatids. Schließlich muß in diesem Zusammenhang noch eine Arbeit von Kamoshita et al. erwähnt werden, bei der die Autoren ebenfalls glauben, diese Substanz bei Morbus Niemann-Pick durch eine eindimensionale dünnschichtchromatographische Methode in Mengen bestimmt zu haben, die den von uns gefundenen entsprechen.

Die hier mitgeteilten Befunde zeigen erneut, wie notwendig eingehende Lipidanalysen an frischen Geweben sind, um die selbst im Bereich der Lipidosen noch sehr diffusen Kenntnisse zu ergänzen.

Diskussion

(H.-R. Wiedemann)

Es hat sich längst gezeigt, daß keineswegs jeder Fall, der klinisch unter den Sammelbegriff etwa des „Morbus Gaucher“ oder des „Morbus Niemann-Pick“ zu fallen schien, sich bei späterer genauerer Analyse auch als Ausdruck einer Glucocerebrosid- bzw. Sphingomyelin-Stoffwechselstörung erwies — ähnlichen klinischen Bildern können unterschiedliche chemische und enzymatische Abweichungen zugrunde liegen. Gab es so schon Differenzierungen innerhalb scheinbar „klassischer“, scheinbar wohldefinierter Krankheitstypen, so erwies sich die Situation klinisch a priori recht unscharf umgrenzter „späterer Manifestationsformen“ (spätinfantil, juvenil usw.) und „Varianten“ klassischer Lipidosen und Neurolipidosen als noch weit ungewisser und vielfältiger (neuerliche Übersichten vgl. z. B. bei Pilz, 1970 a; Menkes et al., 1971). Genauere Analyse konnte etwa trotz durchaus unterschiedlicher Klinik keine chemischen Differenzen nachweisen, oder es ergaben sich Ablagerungen von Sphingolipiden mit sehr ähnlichen chemischen Eigenschaften — oder aber es wurden grundsätzlich andere als die erwarteten Ergebnisse erhoben. Die Mehrzahl der „späteren und späten“ Neurolipidose-Manifestationen harret hinsichtlich einer Basisstörung des Lipidstoffwechsels noch der Aufklärung. Dabei wird vermutlich *chemischen und enzymatischen Analysen* das Schwergewicht zufallen. Lichtmikroskopische wie auch ultrastrukturelle (elektronenmikroskopische) Untersuchungen — welch letztere besonders bei gewissen Fällen von sog. spätinfantiler bzw. juveniler amaurotischer Idiotie verschiedene Typen auffälliger, aber kaum „spezifischer“ Einschlusskörperchen nachwies — dürften wohl keine entscheidenden Differenzierungsmerkmale mehr erwarten lassen. Daß übrigens bei einer Speicherkrankheit in verschiedenen Organen (z. B. Gehirn und Leber)

nicht dieselben Speicherstoffe angehäuft zu sein brauchen und weiter, daß sehr komplexe Speicherungen vorliegen können, bedarf wohl kaum mehr der Erwähnung.

Hinter jedem der alten Krankheitsbegriffe („Morbus“ Gaucher, Niemann-Pick, Tay-Sachs usw.) verbarg sich also eine Mehrzahl, wenn nicht Vielzahl von Krankheiten, und das bedeutet hier wohl von selbständigen Gen-Mutationen. Die Analyse ist in immer rascherem Fortschritt begriffen, und es ist z. Z. schwieriger denn je zuvor, sich auf eine leidlich tragfähig erscheinende Einteilung und Gliederung zu einigen. Unseres Erachtens ist es auch sehr *fraglich*, ob manche der selbst in der neueren Literatur postulierten — oder aufrechterhaltenen — Formen de facto bereits „Entitäten“, *Biotypen*, repräsentieren und nicht noch weiterer Aufteilung werden unterliegen müssen. Bei Durchsicht zahlreicher einschlägiger Kasuistiken mit klinischen bis zu chemischen Daten kann jedenfalls Resignation ob der Fülle der Differenzen aufkommen, und die vor allem im älteren Schrifttum zutage tretende Neigung zur Kreierung immer neuer „Übergangsformen“ — dem Genetiker sehr zuwider — ist zumindest verständlich.

Andererseits brauchen wir für die Verständigung z. Z. noch vielfach die alten Bezeichnungen. Auch werden der fortschreitenden wissenschaftlichen Aufspaltung ohnehin stets synthetisierende Tendenzen zugunsten der praktisch-ärztlichen Arbeit konform gehen müssen. Im Grunde bietet *jede Sippe*, in der sich eine erbliche Stoffwechselstörung manifestiert, ihre *Besonderheiten* („genisches Milieu“!). Und es trifft — aus demselben Grunde und wie bereits die oben wiedergegebenen eigenen Beobachtungen belegen — auch die gängige Behauptung, innerhalb ein und derselben Familie sei stets dieselbe Manifestationssymptomatik bzw. ein gleicher Verlauf zu beobachten, keineswegs immer zu. Desungeachtet müssen wir selbstverständlich an übergeordneten Krankheits-*Entitäten* festhalten bzw. solche zu *erschließen* suchen.

Alles Gesagte trifft für den in über 165 Fällen beschriebenen (vgl. Schettler u. Kahlke, 1967) „*Morbus Niemann-Pick*“ — den „Prototyp der Lipidosen“ (Crocker u. Farber, 1958) — in besonderem Maße zu. „*Morbus Niemann-Pick*“ bzw. „Niemann-Pick-Syndrom“ (Philippart, 1969; hier wohl im Sinne des älteren, ätiopatho-polygenetischen Syndrombegriffs verstanden) sollte chemisch Sphingomyelinosis (Klenk, 1934, 1937), enzymatisch in den großen Visceralorganen Aktivitätsverminderung von Sphingomyelinase (Sphingomyelin-phosphoryleholinphosphohydrolase; Brady et al., 1966; Schneider u. Kennedy, 1967) bedeuten. Klinisch, aber auch mit biochemischen Zuordnungsversuchen, ist der „Morbus“ in eine Reihe von Verlaufsformen oder *Gruppen* unterteilt worden (Crocker u. Farber, 1958; Crocker, 1961; s. auch Fredrickson, 1966; Schneider u. Kennedy, 1967; Fredrickson, 1968), die allerdings

nicht voll befriedigen können und die hier im einzelnen nicht näher aufgeführt zu werden brauchen. Bei der „klassischen visceromegal-infantilen Cerebralform“ (Crocker's „A“-Gruppe) ist pathologische Sphingomyelinanhäufung im Gehirn wie auch hochgradiger Sphingomyelinase-Ausfall nachgewiesen, bei anderen (Crocker's „C“- und „D“-)Gruppen mit Cerebralbeteiligung ist — bei visceraler Sphingomyelinspeicherung — das Hirnspeicherungsmaterial noch weitgehend unbekannt, und eindeutige Sphingomyelinase-Defekte in der Milz fehlen (s. Schneider u. Kennedy, 1967; Fredrickson, 1968). Die Sphingomyelinvermehrung in den großen Visceralorganen variiert im Rahmen des breiten Niemann-Pick-„Komplexes“ zwischen bloßer Verdopplung und Vervierzig-, ja gelegentlich Verhundertfachung. Bereits länger bekannt (Sobotka et al., 1930, 1933) als die letztgenannte ist die regelmäßige Cholesterin-Vermehrung („*Sphingomyelin-Cholesterin-Lipidose*“), die beträchtlich sein kann. Hinzutreten können Konzentrationserhöhungen anderer Lipide, so daß mannigfaltige Kombinationen beschrieben wurden. Die Befunde chemischer Hirn-Untersuchungen variieren, wie bereits angedeutet, im Gesamtspektrum des „Morbus Niemann-Pick“ qualitativ außerordentlich — von deutlichen Sphingomyelin-Cholesterin-Erhöhungen im Hirnrau über ausschließliche Cholesterinvermehrungen bis zu komplexen Konzentrationssteigerungen von Gangliosiden u. a. Lipiden (Näheres s. z. B. bei Schettler u. Kahlke; Pilz, 1970 a).

Wie eine der klinischen, morphologischen und biochemischen Vielfalt im Rahmen des bisherigen „Morbus Niemann-Pick“ wirklich gerecht werdende Gliederung aussehen wird, wissen wir nicht. In genetischer Hinsicht dürfte ausgeprägte *Heterogenie* gegeben sein — bis zu welchem Grade die obengenannte Vielfalt aber echte genetische Unterschiedlichkeit widerspiegelt, mit anderen Worten, wie viele Biotypen de facto vorliegen, ist noch unbekannt.

Enzymdefekte unterschiedlichen Grades bzw. Enzyme mit verschiedener katalytischer Aktivität werden für nach Manifestationszeitpunkt und Krankheits-schwere differierende Verlaufsformen in Betracht gezogen. Man weiß, daß verschiedene abbauende Enzyme des Sphingolipidstoffwechsels in multiplen Formen vorkommen und daß eine oder mehrere dieser Formen defekt sein können. In der Tat sind inzwischen mehrere Enzyme mit Sphingomyelinase-Aktivität nachgewiesen worden — doch wird sich noch zeigen müssen, ob und gegebenenfalls welchen protrahierteren Niemann-Pick-Verlaufsformen etwa regelmäßige *spezielle Kombinationen eines Mangels an Sphingomyelinase-Isoenzymen* zugrunde liegen (Pilz, 1970 a, b).

Was nun unsere *eigenen Beobachtungen* betrifft, so nehmen sie unseres Erachtens eine *Sonderstellung* ein. Diese „infantil-juvenilen“ Fälle begannen und verliefen *klinisch* mit Splenohepatomegalie und meist *sehr beträchtlichem Ausmaß der Milzschwellung*. Später traten zentralnervale Symptome in schleichend beginnender Manifestation progressiv hinzu,

speziell „grey matter symptoms“. Durch diese klinische Prägung dürfte eine Reihe anderer Lipidosen bzw. Neurolipidosen mit spätinfantilem/ juvenilem Ablauf differentialdiagnostisch gleich zurücktreten (z. B. sog. spätinfantile und juvenile „amaurotische Idiotien“ unter Einbeziehung spätinfantil-juvener G_{M2} -Gangliosidosen). Das klinische, histomorphologische und biochemische Gesamtbild unserer Fälle läßt aber auch eine protrahierte visceroneurale Form von „Morbus Gaucher“ ausschließen (trotz „passender“ klinischer Einzelzüge, wie z. B. der relativ ausgeprägten thrombocytopenischen Blutungsbereitschaft). Deutliche *Anklänge* bieten unsere Beobachtungen, speziell in klinischer Hinsicht, an die „Gruppe D“ des „Morbus Niemann-Pick“ von Crocker u. Farber (1958) (Nova Scotian-Gruppe; Fälle, die vermutlich durch eine Mehrzahl genetischer Gemeinsamkeiten einander näherstanden). Es findet sich auch Ähnlichkeit mit dem einen oder anderen der sonstigen analog-protrahiert verlaufenen „Niemann-Pick“-Fälle der Literatur (z. B. Oppenheimer et al., 1967, Fall 1; Rabinowicz et al., 1968) — im ganzen aber überwiegt beim Studium dieser Beschreibungen der Eindruck einer Uneinheitlichkeit, die über die von uns bereits erwähnte Tatsache, daß „jede Sippe gewisse Besonderheiten bietet“ (und völlige Deckung früherer und neuer Beobachtungen somit nicht zu verlangen ist), doch hinausgeht.

Als eine klinische Besonderheit unserer Fälle, die durchaus nicht zum „Morbus Niemann-Pick“ einschließlich der D-Gruppe paßt, sei die *gute Längenwachstumsentwicklung* aller unserer Kinder erwähnt (vgl. dazu Crocker u. Farber, 1958). Im Hinblick auch auf die nicht überdurchschnittliche Körperhöhe der Eltern sind wir nicht davon überzeugt, daß hier eine „bloße Sippen-Besonderheit“ vorliegt.

Bemerkenswert, aber nicht inkompatibel mit einem etwaigen Morbus Niemann-Pick protrahierterer Verlaufform, ist der bisherige so günstige *Krankheitsverlauf* unseres Falles 1, L., Ute. Bei diesem Kinde wurde, gelegentlich einer Untersuchung der erkrankten Geschwister, mit knapp 6 Jahren die pathologische Speicherung im Knochenmark als einzige Abweichung festgestellt; erst im frühen Schulalter entwickelte sich eine geringe Splenomegalie, die mäßiggradig bis heute fortbesteht; mit inzwischen jetzt 14 Jahren bietet das Mädchen *keinerlei nervale Auffälligkeiten* und ist nach eigener wie elterlicher Auffassung völlig gesund. — Isoliert betrachtet, würde dieser Fall den Beobachtungen Nr. 17 und 18 aus der „B-Gruppe“ von Crocker u. Farber in etwa verglichen werden können. Er belegt nachdrücklich die *Variabilität* des Krankheitsverlaufs auch in *ein und derselben Sippe*.

Auch der *Befund* eindeutiger *pathologischer Speicherzellen im Knochenmark beider gesunden Eltern* unserer Fälle sei hier nochmals aufgeführt. Wir dürfen ihn als *Heterozygotie-Ausdruck* werten. Es ist ein Befund, der unseres Wissens von anderer Seite noch nie im Rahmen des Niemann-Pick-Komplexes selbst oder bei dem „Morbus Niemann-Pick“ benachbart zu stellenden Fällen beschrieben worden ist.

Als entscheidend für die — mehr oder weniger lockere — Angliederung unserer Beobachtungen an das Niemann-Pick-Syndrom muß die im Fall 2 nachgewiesene — etwa 5fache bzw. $2\frac{1}{2}$ fache — *Sphingomyelin-*

speicherung in Milz und Leber (bei reichlich 6facher bzw. 3½facher *Gesamtcholesterin-Vermehrung*), gemeinsam mit der deutlichen *Aktivitätsverminderung der Leber-Sphingomyelinase* gelten. Im Gehirn des Kindes fand sich keine beachtliche Sphingomyelinkonzentrationserhöhung. Die, im Prinzip geläufige, Komplexität der Speicherungen zeigte sich bei unseren, insbesondere hinsichtlich der visceral abgelagerten Substanzen sehr eingehend untersuchten, Fällen ausgeprägt und z. T. ungewöhnlich bzw. neu: Es fand sich eine — bereits durch die histochemischen Hinweise auf eine Glykokomponente angezeigte — wesentliche *Vermehrung auch von Glykolipiden*, vor allem in der Milz. Cerebrosid- wie Gangliosidgehalt der Milz des Falles 2 waren vermehrfacht. Weiterhin aber fand sich bei diesem Kinde eine Vermehrung mehrerer Glycerinphosphatide in Milz und Leber, darunter die eines zunächst unbekanntem Vertreters dieser Gruppe. Biochemisch diesen Befunden voll entsprechende Lipidosefälle haben wir in der Literatur nicht auffinden können.

Gewisse Cerebrosid- und — speziell im Gehirn — Gangliosid-Mitspeicherungen sind im Bereich des „Morbus Niemann-Pick“ bekannt (s. z. B. Glucocerebrosid- und G_{M_2} -Gangliosidvermehrung im Hirn bei Philippart et al., 1969; vgl. auch Pilz, 1970 a). Besonders hingewiesen sei hier aber auf die Mitteilung von Jørgensen et al. (1964) über ein im Alter von knapp 2½ Jahren stark splenohepatomegal und decerebriert zugrundegegangenes Kind mit histochemisch angenommener Sphingomyelinosis und nervaler Speicherung saurer Glykolipide. Spätere biochemische Hirnuntersuchung sprach für G_{M_3} -Gangliosidose (Pilz u. Sandhoff, 1966; Pilz et al., 1966), und der Fall ist dann als Niemann-Picksche Erkrankung mit neuronaler Speicherung saurer Glykolipide eingeordnet worden (Sandhoff et al., 1969). Diese Beobachtung würde noch wesentlich größeres Interesse im Zusammenhang mit unseren Fällen verdienen, falls chemische Analysen der Milz- und Leberlipide des Kindes vorlägen sowie enzymatische Untersuchungsbefunde, was beides leider nicht der Fall ist.

Das *anfangs unbekannte Glycerinphosphatid* in den großen Visceralorganen des Falles 2 konnte als *Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure* mit einem auffälligen Fettsäuremuster (fast nur ungesättigte Fettsäuren) *identifiziert* werden (s. auch Seng et al., 1971). Diese Substanz wird also außer Sphingomyelin, Cholesterin und Glykolipiden in den visceralen Organen unseres Falles L., Jutta, gespeichert. Die Vermehrung gegenüber der Norm ist hier sogar größer (10fach) als beim Sphingomyelin oder Cholesterin. Inwieweit einem Vertreter dieser vier verschiedenen Lipidklassen eine hervorragende Bedeutung zukommt oder welcher dieser Vertreter hier genetisch-enzymatisch unmittelbarer betroffen ist, kann im Augenblick nicht entschieden werden. So wichtig der Befund der Bis(monoacylglycerin)phosphorsäure und so anregend er für weitere Untersuchungen für die Biochemiker ist, so ist er doch wohl — es sei hierzu auf den chemischen Abschnitt unserer Mitteilung verwiesen — weder für unsere klinischen Fälle noch für „den Morbus Niemann-Pick“ spezifisch. Dies schließt natürlich keineswegs aus, daß sein Nachweis künftig von

diagnostischer Bedeutung sein wird, daß er eine weitergehende Differenzierung erlauben wird⁶.

Im *Ergebnis* möchten wir unsere hier beschriebenen Beobachtungen als Ausdruck einer infantil-juvenilen, subchronisch verlaufenden Lipidose nehmen, die den unter dem Namen Niemann-Pick zusammengefaßten Sphingomyelinosen auf Grund entsprechender Visceralbefunde anzugliedern ist, ohne mit einer der unter diesem Begriff bisher beschriebenen Formen oder Gruppen identifiziert werden zu können. Unsere Fälle bieten insgesamt und auf mehrfachen Gebieten so viele Besonderheiten, daß wir einen „*neuen Typus*“ der Lipidosen bzw. *Neurolipidosen* in ihnen *vermuten* möchten.

Literatur

- Andrews, J. M., Sorenson, V., Cancilla, P. A., Price, H. M., Menkes, J. H.: Late infantile neurovisceral storage disease with curvilinear bodies. *Neurology (Minneapolis)* **21**, 207 (1971).
- Ansell, G. B., Hawthorne, J. N.: *Phospholipids*. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1964.
- Ashkenazi, A., Yarom, R., Gutman, A., Abrahamov, A., Russell, A.: Niemann-Pick disease and giant cell transformation of the liver. *Acta paediat. scand.* **60**, 285 (1971).
- Baxter, C. F., Rouser, G., Simon, G.: Variations among vertebrates of lung phospholipid class composition. *Lipids* **4**, 233 (1969).
- Bischoff, A., Reutter, F. W., Wegmann, T.: Erkrankung des peripheren Nervensystems beim Morbus Gaucher. Neue Erkenntnisse auf Grund der Elektronenmikroskopie. *Schweiz. med. Wschr.* **97**, 1139 (1967).
- Body, D. R., Gray, G. M.: The isolation and characterisation of phosphatidylglycerol and a structural isomer from pig lung. *Chem. Phys. Lipids* **1**, 254 (1967).
- Booth, D. A., Goodwin, H., Cumings, J. N.: Abnormal gangliosides in Tay-Sachs disease, Niemann-Pick disease and gargoylism. *J. Lipid Res.* **7**, 337 (1966).
- Brady, R. O.: Cerebral lipidoses. *Ann. Rev. Med.* **21**, 317 (1970).
- Brady, R. O.: The genetic mismanagement of complex lipid metabolism. *Bull. N.Y. Acad. Med.* **47**, 173 (1971).
- Brady, R. O., Kanfer, J. N., Mock, M. B., Fredrickson, D. S.: The metabolism of sphingomyelin. II. Evidence of an enzymatic deficiency in Niemann-Pick disease. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **55**, 366 (1966).
- Clara, M.: Methoden der Lipidhistochemie. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. V/1. Stuttgart: Fischer 1965.

6 Das bewußte Phospholipid ist übrigens jüngst von japanischen Autoren im Lebergewebe von Patienten ebenso wie von Versuchstieren (Ratten) aufgefunden worden, welche 4,4-Diäthylaminohexestrol erhalten haben (Yamamoto et al., 1971). Bis 1968 ist die letztgenannte Substanz als Vasodilator Trimanyl® in der Bundesrepublik im Handel gewesen. Auf einen entsprechenden Hinweis von Dr. Yamamoto an Prof. Debuch hin wurde eine sorgfältige Recherche in Kiel durchgeführt, ob Fall 2 und/oder andere Mitglieder unserer Sippe L. 4,4-Diäthylaminohexestrol erhalten haben könnten. Es ergab sich nicht der geringste Hinweis darauf, daß diese Substanz jemals in die Wohnung der Familie gelangt, geschweige zu Hause oder im Krankenhaus jemals von einem Familienmitglied eingenommen worden ist.

- Crocker, A. C.: Persönliche Mitteilungen an H.-R. Wiedemann.
- Crocker, A. C.: The cerebral defect in Tay-Sachs disease and Niemann-Pick disease. *J. Neurochem.* **7**, 69 (1961).
- Crocker, A. C., Farber, S.: Niemann-Pick disease: A review of eighteen patients. *Medicine (Baltimore)* **37**, 1 (1958).
- Forster, R.: Morbus Gaucher, seine klinischen Formen und der Gaucher-bedingte Kleinwuchs. *Arch. klin. Med.* **188**, 130 (1942).
- Fredrickson, D. S.: In: Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S., The metabolic basis of inherited disease. 2. Aufl., S. 586, Sphingomyelin-Lipidoses: Niemann-Pick-Disease. New York: McGraw-Hill 1966.
- Fredrickson, D. S.: Classification and features of the lipidoses affecting the nervous system. In: Cerebral Lipidoses II, Hrsg. A. Nunes Vicente, P. Dustin und A. Lowenthal, S. 7. Bruxelles: Presse Académiques Européennes 1968. *Path. europ.* **3**, 121 (1968).
- Gerken, H., Wiedemann, H.-R.: Ein Beitrag zur Genetik des Morbus Gaucher. *Ann. paediat.* **203**, 328 (1964).
- Groen, J. J.: Persönliche Mitteilungen an H.-R. Wiedemann.
- Herman, M. M., Rubinstein, L. J., McKhann, G.: Additional electron microscopic observations on two cases of Batten-Spielmeier-Vogt disease (Neuronal ceroid-lipofuscinosis). *Acta neuropath. (Berl.)* **17**, 85 (1971).
- Jatzkewitz, H.: Zerebrale Sphingolipidosen als angeborene Stoffwechselstörungen. *Dtsch. med. Wschr.* **95**, 131 (1970).
- Juif, J.-C.: Les sphingolipidoses. *Arch. franç. Pédiat.* **28**, 909 (1970).
- Jørgensen, L., Blackstad, T. W., Harkmark, W., Steen, J. A.: Niemann-Pick's disease. Report of a case with histochemical evidence of neuronal storage of acid glycolipids. *Acta neuropath. (Berl.)* **4**, 90 (1964).
- Kampine, J. P., Brady, R. O., Kanfer, J. N., Feld, M., Shapiro, D.: Diagnosis of Gaucher's disease and Niemann-Pick disease with small samples of venous blood. *Science* **155**, 86 (1967).
- Kamoshita, S., Aron, A. M., Suzuki, K., Suzuki, K.: Infantile Niemann-Pick-Disease. *Amer. J. Dis. Child.* **117**, 379 (1969).
- Klenk, E.: Über die Natur der Phosphatide in der Milz bei Niemann-Pickscher Krankheit. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **229**, 161 (1934).
- Klenk, E.: Über die Natur der Phosphatide und anderer Lipoide des Gehirns und der Leber bei der Niemann-Pickschen Krankheit (12. Mitteilung über Phosphatide). *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **235**, 24 (1937).
- Lennert, K.: Die Histochemie der Fette und Lipoide. *Z. wiss. Mikr.* **62**, 368 (1955).
- Luse, S.: The fine structure of the brain and other organs in Niemann-Pick disease. In: Volk, B. W., Aronson, S. M. (Hrsg.), Inborn disorders of sphingolipid metabolism. Oxford-New York: Pergamon Press Inc. 1966.
- Lowden, J. A., LaRamée, M. A., Wentworth, P.: The subacute form of Niemann-Pick disease. *Arch. Neurol. (Chic.)* **17**, 230 (1967).
- Menkes, J. H., Andrews, J. M., Pasquale, A. C.: The cerebretinal degenerations. *J. Pediat.* **79**, 183 (1971).
- Norman, R. M., Tingey, A. H., Fowler, M. C.: The subacute form of Niemann-Pick's disease. Proc. V. Internat. Congr. Neuropathol., Zürich 1965. *Excerpta med. (Amst.)*, Internat. Congress Series **100**, 143 (1966).
- Norman, R. M., Forrester, R. M., Tingey, A. H.: The juvenile form of Niemann-Pick disease. *Arch. Dis. Childh.* **42**, 91 (1967).
- Oppenheimer, D. R., Norman, R. M., Tingey, A. H., Aherne, W. A.: Histological and chemical findings in juvenile Niemann-Pick disease. *J. neurol. Sci. (Amst.)* **5**, 575 (1967).

- Philippart, M.: Etude biochemique des sphingolipidoses et des mucopolysaccharidoses. In: XXII. Congrès de l'Association des Pédiatres de langue française, Bd. 3, S. 5 (1969).
- Philippart, M., Martin, L., Martin, J. J., Menkes, J. H.: Niemann-Pick disease. Morphologic and biochemical studies in the visceral form with late central nervous system involvement (Crocker's group C). *Arch. Neurol. (Chic.)* **20**, 227 (1969).
- Pilz, H.: Die Krankheitsgruppe der amaurotischen Idiotien: Korrelation von biochemischen Befunden und klinischen Verlaufsformen. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **194**, 187 (1968).
- Pilz, H.: Clinical, morphological and biochemical aspects of sphingolipidoses. *Neuropädiatrie* **1**, 383 (1970a).
- Pilz, H.: Niemann-Pick'sche Krankheit im Erwachsenenalter. *Dtsch. med. Wschr.* **95**, 1905 (1970b).
- Pilz, H., Sandhoff, K.: Findings in a biochemically exceptional form of glycosphingolipid storage. Variation in chemical composition of the nervous system. *Abstr. Internat. Neurochem. Conf., Oxford 1965*, Hrsg. G. B. Ansell. Oxford: Pergamon Press 1966.
- Pilz, H., Sandhoff, K., Jatzkewitz, H.: Eine Gangliosidstoffwechselstörung mit Anhäufung von Ceramid-lactosid, Monosialo-ceramid-lactosid und Tay-Sachs-Gangliosid im Gehirn. *J. Neurochem.* **13**, 1273 (1966).
- Rabinowicz, T., Klein, D., Tchicaloff, M.: Juvenile form of Niemann-Pick disease. *Path. europ.* **3**, 154 (1968).
- Rouser, G., Kritchevsky, G., Yamamoto, A., Knudson, A. G., jr., Simon, G.: Accumulation of a glycerolphospholipid in classical Niemann-Pick-disease. *Lipids* **3**, 287 (1968).
- Rumsby, M. G.: A modified column chromatographic method for the recovery of the glycerogalactolipid fraction of nerve tissue. *J. Chromatog.* **42**, 237 (1969).
- Sandhoff, K., Jatzkewitz, H., Peters, G.: Die infantile amaurotische Idiotie und verwandte Formen als Gangliosid-Speicherkrankheiten. *Naturwissenschaften* **56**, 356 (1969).
- Schettler, G., Kahlke, W.: Niemann-Pick disease. In: *Lipids and Lipidoses*, hrsg. von G. Schettler. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Schneider, P. B., Kennedy, E. P.: Sphingomyelinase in normal human spleens and in spleens from subjects with Niemann-Pick disease. *J. Lipid. Res.* **8**, 2 (1967).
- Seng, P. N., Debuch, H., Witter, B., Wiedemann, H.-R.: Bis(monoacylglycerin)-phosphorsäure-Vermehrung bei Sphingomyelinose (M. Niemann-Pick?). *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **352**, 280 (1971).
- Shikata, T., Oda, T., Naito, Ch., Kanetaka, T., Suzuki, H.: Phospholipid fatty liver: a proposal of a new concept and its electron microscopical study. *Acta path. jap.* **20**, 467 (1970).
- Siakotos, A. N., Rouser, G., Fleischer, S.: Isolation of highly purified human and bovine brain endothelial cells and nuclei and their phospholipid composition. *Lipids* **4**, 234 (1968).
- Snyder, R. A., Brady, R. O.: The use of white cells as a source of diagnostic material for lipid storage diseases. *Clin. chim. Acta* **25**, 331 (1969).
- Sobotka, H., Epstein, E., Lichtenstein, L.: The distribution of lipoid in a case of Niemann-Pick's disease associated with amaurotic family idiocy. *Arch. Path.* **10**, 677 (1930).
- Sobotka, H., Glick, D., Reiner, M., Tuchman, L. R.: The lipoids of spleen and liver in various types of lipidoses. *Biochem. J.* **27**, 2031 (1933).

- Spranger, J., Todt, H., Wiedemann, H.-R.: Untersuchungen zur Zusammensetzung der Urin-Mukopolysaccharide bei Kindern und Erwachsenen. *Clin. chim. Acta* **17**, 142 (1967).
- Stutte, H. J.: Nature of human spleen red pulp cells with special reference to sinus lining cells. *Z. Zellforsch.* **91**, 300 (1968).
- Suzuki, K., Suzuki, K., Rapin, I., Suzuki, Y., Ishii, N.: Juvenile GM₂-gangliosidosis. Clinical variant of Tay-Sachs disease or a new disease. *Neurology* (Minneapolis) **20**, 190 (1970).
- Svennerholm, L.: The quantitative estimation of cerebroside in nervous tissue. *J. Neurochem.* **1**, 42 (1956).
- Undritz, E.: Persönliche Mitteilungen an H.-R. Wiedemann.
- Volk, B. W., Adachi, M., Schneck, L., Saifer, A., Kleinberg, W.: G₅-ganglioside variant of systemic late infantile lipidosis. Generalized gangliosidosis. *Arch. Path.* **87**, 393 (1969).
- Wiedemann, H.-R., Gerken, H.: Gaucher cells in healthy relatives of patients with Gaucher's disease. *Lancet* **1964 II**, 866.
- Wiedemann, H.-R., Gerken, H., Graucob, E., Hansen, H.-G.: Recognition of heterozygosity in sphingolipidoses. *Lancet* **1965 I**, 1283.
- Witzleben, C. L., Smith, K., Nelson, J. S., Monteleone, P. L., Livingston, D.: Ultrastructural studies in late-onset amaurotic idiocy: Lymphocyte inclusions as a diagnostic marker. *J. Pediat.* **79**, 285 (1971).
- Wolman, M.: Histochemistry of lipids in pathology. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. V/2, S. 188 ff. Stuttgart: Fischer 1964.
- Yamamoto, A., Adachi, S., Ishibe, T., Shinji, Y., Kaki-Uchi, Y., Seki, K., Kitani, T.: Accumulation of acidic phospholipids in a case of hyperlipidemia with hepatosplenomegaly. *Lipids* **5**, 566 (1970).
- Yamamoto, A., Adachi, S., Kitani, T., Shinji, Y., Seki, K., Nasu, T., Nishikawa, M.: Drug induced lipidosis in human cases and in animal experiments. Accumulation of an acidic glycerophospholipid. *J. Biochem. (Tokyo)* **69**, 613 (1971).
- Zeeman, W.: What is amaurotic idiocy? *Lipids* **4**, 76 (1969).
- Zeeman, W., Dyken, P.: Neuronal Ceroid-Lipofuscinosis (Batten's disease): Relationship to amaurotic family idiocy? *Pediatrics* **44**, 570 (1969).
- Zehnder, M.: Klinischer und chemischer Beitrag zum Studium des Morbus Gaucher. *Dtsch. Z. Chir.* **250**, 422 (1938).

Prof. Dr. H.-R. Wiedemann
Universitäts-Kinderklinik
D-2300 Kiel, Fröbelstraße 15—17
Deutschland