

Chemie und Biochemie der Glykosphingolipoide*

Von WILHELM GIELEN**

Pharmakologisches Institut der Universität Köln

Summary

Glycosphingolipids are naturally occurring substances containing a covalent bound carbohydrate and lipid moiety. In recent years the glycosphingolipid structure, metabolism and biosynthesis have been largely clarified. The biosynthesis has been reported to proceed by stepwise addition of monosaccharide units from sugar nucleotides to glycolipid acceptors with a remarkable specificity of the corresponding enzyme system. Many problems concerning the receptor function, the metabolic and regulatory activity are still to be clarified. There are probably quite different functions for the neutral glycolipids and the acidic, neuraminic acid containing glycolipids, the gangliosides. The latter were thought to be specific components of the brain where they are localized primarily in the neuronal membranes. They are present in normal brain as a mixture of various molecular types. In some lipidoses a ganglioside accumulation in brain is due to a deficiency of a specific catabolic enzyme.

It is now obvious that gangliosides also occur in low concentration in many extraneuronal animal tissues. In recent studies it could be demonstrated that there are qualitative and quantitative alterations in neutral glycolipid and in ganglioside composition of tumor cells and cells, which have been transformed by viruses. These cells show altered immunological and physical surface properties.

Glykosphingolipoide sind im Organismus weit verbreitet, sie sind auf Grund ihrer amphiphilen Struktur zur Membranbildung besonders befähigt, sie sind am Aufbau praktisch jeder biologischen Membran beteiligt. Daß einigen wichtigen Vertretern dieser großen Stoffklasse neben der Strukturbildung auch funktionelle Bedeutung zukommt, kann aus ihrer spezifischen Lokalisation hergeleitet werden. Die Gehirnganglioside sind charakteristische Bauelemente der neuronalen Membranen des Zentralnervensystems, sie sind an den Synapsen, den Orten der Erregungsfortleitung, bevorzugt angeordnet. Die genaue Funktion dieser Verbindungen an diesen wichtigen Schaltstellen des Zentralnervensystems ist allerdings bis heute nicht erkannt. Jedenfalls kann aus vielen experimentellen Befunden abgeleitet werden, daß diese Verbindungen an diesen Zentren der Erregungsübertragung beteiligt sind.

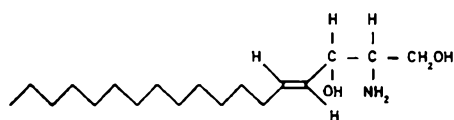


Abb. 1. Struktur des C₁₈-Sphingosins

Die Glykosphingolipoide enthalten alle als charakteristischen Baustein den Aminoalkohol Sphingosin, hauptsächlich C₁₈-Sphingosin, ein *trans*-D-erythro-1.3-dihydroxy-2-aminooctadecen (Abb. 1).

In den Glykolipiden wird das C₁₈-Sphingosin häufig von C₂₀-Sphingosin und von geringen Anteilen an C₁₈-Dihydrosphingosin begleitet. Des weiteren existieren noch C₁₈- und C₂₀-Dihydrosphingosine, auch Phytosphingosine genannt, die mit einer weiteren OH-Gruppe am C-Atom 4 ausgestattet sind. Sie wurden zuerst aus pflanzlichen Glykolipiden¹, später auch als Bestandteile von Cerebrosiden aus menschlichem Nierengewebe isoliert². Sie sind in Tumorglykolipiden besonders reichlich vorhanden³.

Das C₁₈-Sphingosin wird im Organismus aus Palmityl-CoA und der Aminosäure Serin aufgebaut⁴. Nach Reduktion des Palmityl-CoA zum Palmitylaldehyd mit NADPH als Wasserstoffdonator und nachfolgender Kondensation mit Serin bei Gegenwart von Pyridoxalphosphat und Mn²⁺-Ionen entsteht Dihydrosphingosin, das mittels FAD zum Sphingosin dehydriert wird.

In allen Glykosphingolipiden trägt die Aminogruppe am C-Atom 2 des Sphingosins in Säureamidbindung eine langkettige Fettsäure, die OH-Gruppe am C-Atom 1 ist bei den Cerebrosiden mit einem Molekül Hexose, bei den Ceramidpolyhexosiden mit mehreren Molekülen Hexosen und bei den Gangliosiden mit mehreren Molekülen Hexosen und zusätzlich mit ein oder mehreren Molekülen N-Acylneuraminsäure verknüpft. Die OH-Gruppe am C-Atom 3 des Sphingosins ist in allen diesen Verbindungen unsubstituiert.

Nach diesem Bauprinzip entstehen amphiphile, membranbildende Lipide mit zwei Alkylketten und einem mehr oder weniger ausgedehnten hydrophilen Anteil, der aus den Kohlenhydraten gebildet wird. Die Hydrophilie dieser Verbindungen nimmt mit wachsendem Kohlenhydratgehalt zu und erfährt eine ungewöhnliche Steigerung durch das Vorhandensein von N-Acylneuraminsäure im Molekül. Die Substanzen sind dann wasserlöslich; sie haben Säurecharakter.

Die Cerebroside des Gehirns enthalten C₁₈-, C₂₀- und Spuren an Dihydrosphingosin und Fettsäuren mit 20 bis 26 C-Atomen, bevorzugt aber C₂₄-Fettsäuren, wie Lignocerinsäure, α -Hydroxylignocerinsäure (Cerebron-

* Vorgetragen am 29. August 1970 auf dem Symposium über Biopolymere in Bern, veranstaltet vom Schweizerischen Chemiker-Verband.

** Anschrift des Verfassers: Doz. Dr. WILHELM GIELEN, Pharmakologisches Institut der Universität Köln, D-5 Köln 41, Gleuelerstraße 24.

¹ H. E. CARTER, W. D. CELMER, W. E. LANDS, K. L. MUELLER und H. H. TOMIZAWA, *J. Biol. Chem.* 206 (1954) 613.

² K. A. KARLSON, *Acta Chem. Scand.* 18 (1964) 2397.

³ S. HAKOMORI, persönliche Mitteilung.

⁴ R. O. BRADY und G. J. KOVAL, *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 26; R. O. BRADY, J. V. FORMICA und G. V. KOVAL, *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 1072.

Glucocerebrosid	: ceramide - glucose (Gaucher's disease)
Galaktocerebrosid	: ceramide - galactose
Globosid	: cer - glc - gal - gal - galNAc
Ceramidtrihexosid	: cer - glc - gal - gal (Fabry's disease)
Hämatosid	: cer - glc - gal - NeuNAc
Gangliosid	: cer - glc - gal - galNAc - gal (General. gangliosidose)
	 NeuNAc
Tay-Sachs-Gangliosid	: cer - glc - gal - galNAc
	 NeuNAc
Sulfatid	: cer - gal - 3-sulfat (Metachromat. leukodystrophy)

Abb. 2. Übersicht über einige Glykosphingolipoide. In Klammern sind die Lipidosen bei den charakteristischen Speichersubstanzen aufgeführt

säure), Nervonsäure und α -Hydroxynervonsäure⁵. Mit zunehmendem Alter beobachtet man eine Verschiebung zu ungradzahligen Fettsäuren⁶ und eine Bevorzugung längerkettiger Fettsäuren.

In den Gehirncerebrosiden ist als einziges Zuckermolekül eine D-Galaktose in β -glykosidischer Bindung an die primäre OH-Gruppe des Sphingosins angefügt (Abb. 3). Bei Organcerebrosiden aus Milz und Leber ist die Galaktose durch Glucose ersetzt. Ein Glucocerebrosid tritt als Speichersubstanz in verschiedenen Geweben bei der seltenen Erbkrankheit Morbus Gaucher auf. Die Krankheit wird hervorgerufen durch einen genetisch bedingten Mangel des abbauenden Enzyms, der spezifischen β -Glucosidase⁷. Bei normal funktionierendem Aufbau und gestörtem Abbau kommt es zur Anhäufung

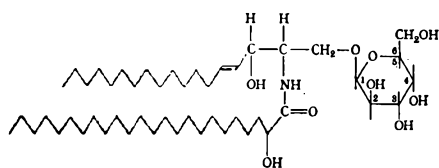


Abb. 3. Struktur des Galaktocerebroside

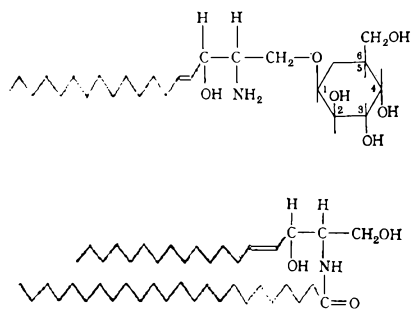


Abb. 4. Abbau- bzw. Synthesestufen des Cerebroside; oben: Psychosin; unten: Ceramid

⁵ E. KLENK, *Z. physiol. Chem.* 153 (1926) 74.

⁶ Y. KISHIMOTO und N. S. RADIN, *J. Lipid. Res.* 4 (1963) 437.

⁷ R. O. BRADY, J. N. KANFER und D. SHAPIRO, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 18 (1965) 221.

dieses Glykolipoids. Erst sekundär und bei schweren Defekten kann eine allgemeine Entgleisung des gesamten Glykolipidstoffwechsels nachfolgen.

Cerebroside sind typische Bausteine des Myelins. Sie werden im Rattenhirn zur Zeit der Myelinisierung, etwa vom 8. bis zum 20. Tag nach der Geburt, biosynthetisiert⁸. Die an der Biosynthese beteiligten Enzyme zeigen in dieser Zeitspanne das Maximum ihrer Aktivität⁹.

Über den Syntheseweg herrscht noch einige Unklarheit, nach allen bisherigen Untersuchungen werden offenbar beide Wege beschritten:

- primäre Anlagerung der Hexose, dann die N-Acylierung¹⁰,
- zunächst die Anknüpfung der Fettsäure und dann die der Hexose an das Sphingosin¹¹.

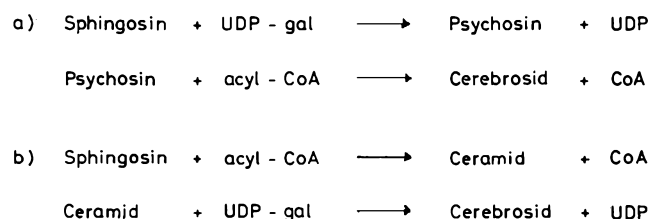


Abb. 5. Verlauf der Cerebrosidbiosynthese

Weitere Fragen stellen sich hier; Fragen, die die Differenzierung und Steuerung des Cerebrosid-, Gangliosid- und Sphingomyelinstoffwechsels betreffen. Auf dieser Stufe muß entschieden werden, ob das Syntheseprodukt in den Gangliosid- oder Sphingomyelinstoffwechsel einmündet, oder ob es unmittelbar als Cerebrosid deponiert wird.

Insgesamt weisen die Cerebroside des Myelins einen trägen Stoffwechsel auf. Er ist allerdings höher, als die Isotopenversuche anzeigen, da mit einer schnellen Wiederverwertung der Hydrolysenprodukte gerechnet werden muß¹². Im Myelin liegt das Cerebrosid vergesellschaftet mit Sulfatid vor, das durch eine ebenso stationäre Stoffwechsellage gekennzeichnet ist. Cerebrosidase (Cerebrosid-Galaktosidase) und Cerebrosid-sulfatase, beides lysosomale Enzyme, zeigen eine Aktivitätserhöhung mit zunehmendem Alter¹². Das Sulfatid wird bei der Metachromatischen Leukodystrophie in großen Mengen im Zentralnervensystem und in der Niere deponiert; das abbauende Enzym, die spezifische Cerebrosid-sulfatase, fehlt¹³.

⁸ Y. KISHIMOTO, W. E. DAVIES und N. S. RADIN, *J. Lipid. Res.* 6 (1965) 532; M. A. WELLS und J. C. DITTMER, *Biochemistry* 6 (1967) 3169; G. HAUSER, *J. Neurochem.* 15 (1968) 1237.

⁹ J. HILDEBRAND, P. STOFFYN und G. HAUSER, *J. Neurochem.* 17 (1970) 403.

¹⁰ W. W. CLELAND und E. P. KENNEDY, *J. Biol. Chem.* 235 (1960) 45; R. O. BRADY, *J. Biol. Chem.* 237 (1962) 2416.

¹¹ M. SKRIBNEY, *Biochim. Biophys. Acta* 125 (1966) 542; P. MORELL und N. S. RADIN, *Biochemistry* 8 (1969) 506.

¹² D. M. BOWEN und N. S. RADIN, *J. Neurochem.* 16 (1969) 501.

¹³ E. MEHL und H. JATZKEWITZ, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 19 (1965) 407.

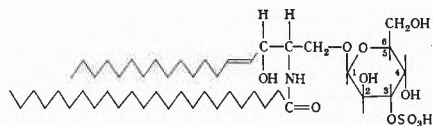


Abb. 6. Struktur eines Sulfatids

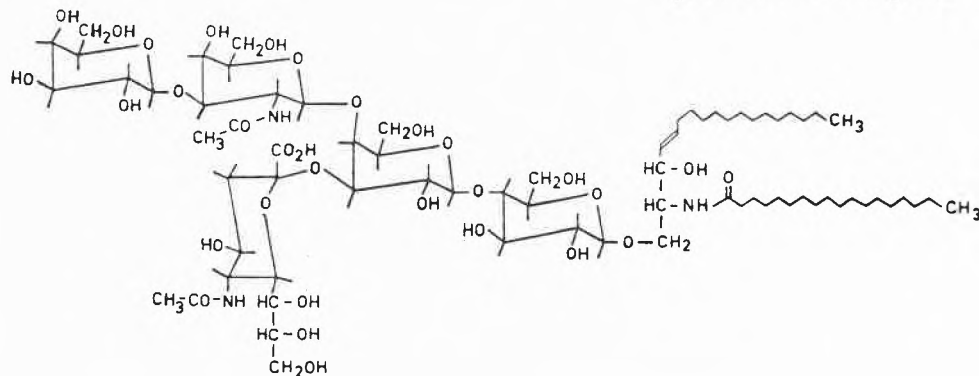


Abb. 7. Struktur eines Gehirngangliosids

Das nächsthöhere Glykosphingolipoid, das Ceramidlaktosid, wurde zuerst von KLENK¹⁴ aus der Milz und später von RAPPORT¹⁵ auch aus Erythrozyten isoliert. Das Ceramidlaktosid, von RAPPORT als Cytolipin H bezeichnet, beansprucht wegen seiner Hapteneigenschaften immunologisches Interesse. Der Haptencharakter ist aber letztlich allen diesen zuckerhaltigen Sphingolipoiden eigen, als einziges nicht zuckerhaltiges Lipoid ist nur noch das Cardiolipin mit diesen Eigenschaften ausgestattet. Die Verbindungen selbst sind nicht antigen, sie entfalten ihre antigene Wirksamkeit erst nach Kombination mit einem hochmolekularen Träger, der ein Protein oder eine Membran sein kann. Sie lagern sich auf Grund ihrer amphiphilen Struktur mit ihren Alkylketten auf Erythrozyten auf; ein Vorgang, den man als «coating» bezeichnet. Dann sind sie zur Induktion spezifischer Antikörper befähigt.

Den serologisch aktiven Glykoproteinen müssen die entsprechenden blutgruppenspezifischen Glykolipoide zugeordnet werden, die in minimalen Mengen aus der Erythrozytenmembran, aus dem Intestinaltrakt und aus dem Pankreas isoliert werden können. Die A- oder B-spezifischen Glykosphingolipoide enthalten oft nicht die komplette Kohlenhydratstruktur, wie sie in den A- oder B-spezifischen Glykoproteinen vorliegt. Für die serologische Spezifität ist allein eine identische, terminale Kohlenhydratanordnung entscheidend.

Bemerkenswert ist ferner die Akkumulation eines Trihexosids in den Nierenglomeruli bei der Fabryschen Erkrankung¹⁶ (Abb. 2), bedingt durch die Abwesenheit der spezifischen β -Galaktosidase¹⁷, die normalerweise die Hydrolyse der terminalen Galaktose des Ceramidtrihexosids katalysiert.

Das Globosid von YAMAKAWA¹⁸, ein Erythrozytenglykolipoid, zeigt schon Ähnlichkeit mit der Tetrasaccharidstruktur in den hauptsächlichsten Gehirngangliosiden, in denen ebenfalls, allerdings in veränderter Sequenz, 1 Mol Glucose, 2 Mol Galaktose und 1 Mol N-Acetylgalaktosamin vorliegen (Abb. 2).

Alle bisher isolierten Ganglioside sind nur in bezug auf ihren Kohlenhydratanteil einheitlich, der allerdings sowohl die chemischen als auch die biochemischen Eigenschaften dieser Verbindungen weitgehend bestimmt. Die Lipoidstruktur der bisher isolierten Ganglioside ist variabel, neben 90% C₁₈-Fettsäure findet man in ihnen noch C₁₆- und C₂₀-Fettsäuren und neben C₁₈-Sphingosin auch C₂₀-Sphingosin.

Die Hauptvertreter der Gehirnganglioside weisen alle die gleiche Tetrasaccharidstruktur auf, sie unterscheiden sich lediglich im unterschiedlichen Gehalt an Neuraminsäure und in der unterschiedlichen Anordnung der angefügten Neuraminsäuremoleküle.

Die Oligosaccharidstruktur, die in den hauptsächlichsten Gehirngangliosiden mit vier Hexosemolekülen angetroffen wird, kann auf drei oder zwei Moleküle Hexosen limitiert sein. Alle diese Verbindungen werden dann als Ganglioside bezeichnet, wenn sie den für diese Verbindungsklasse charakteristischen Baustein, die N-Acylneuraminsäure, enthalten. Ganglioside sind keine hirnspezifischen Substanzen, sie sind von KLENK (1942) als Bauelemente der Ganglienzellen vermutet worden¹⁹.

In biologischen Substraten des Menschen ist die Neuraminsäure stets N-acetyliert, in Substraten anderer Spezies findet man auch N-Glykolyneuraminsäure in wechselnden Mengen. Bei der Anordnung der Neuraminsäure in den Gangliosiden müssen zwei Bindungstypen unterschieden werden:

- die α -ketosidische Bindung an die Hydroxylgruppe des C-Atoms 3 der Galaktose,
- die α -ketosidische Bindung an ein zweites Molekül Neuraminsäure in (2-8)-Verknüpfung.

Bei dem zuletzt genannten Bindungstyp ist eine innere Esterbindung leicht möglich²⁰. Sie könnte physiologisch

¹⁴ E. KLENK und F. RENNKAMP, *Z. physiol. Chem.* 273 (1942) 253.

¹⁵ M. RAPPORT, H. SCHNEIDER und L. GRAF, *J. Biol. Chem.* 237 (1962) 1056.

¹⁶ C. C. SWEELEY und B. KLIONSKY, *J. Biol. Chem.* 238 (1963) 3148.

¹⁷ R. O. BRADY, A. E. GAL, R. M. BRADLEY, E. MARTENSSON, A. L. WARSHAW und L. LASTER, *New. Engl. J. Med.* 276 (1967) 1163.

¹⁸ T. YAMAKAWA, S. YOKOYAMA und N. HANDA, *Biochem. J. (Tokyo)* 53 (1963) 28.

¹⁹ E. KLENK, *Z. physiol. Chem.* 273 (1942) 76.

²⁰ H. WIEGANDT, *Ergebn. Physiol.* 57 (1966) 190.

von Bedeutung sein, denn in dieser Weise könnten im biologischen System Ladungsänderungen schnell und reversibel herbeigeführt werden. Die ketosidischen Bindungen der Neuraminsäure in allen Gangliosiden werden durch Neuraminidase, einer α -Ketosidase, gelöst. Die Hydrolyse der an der mittelständigen Galaktose haftenden Neuraminsäure gelingt erst nach Abspaltung der terminalen Hexosen, die offenbar durch sterische Hinderung den Zugang des Enzyms zur Bindungsstelle der Neuraminsäure blockieren.

Die Strukturaufklärung der Ganglioside wurde in den frühen sechziger Jahren in den Laboratorien von R. KUHN in Heidelberg und von E. KLENK in Köln in Angriff genommen. Ein wichtiger Befund aus unserem Arbeitskreis ließ auf eine erfolgreiche Strukturanalyse hoffen: Ganglioside bilden in wäßriger Lösung Micellen vom Teilchengewicht 200 000 bis 250 000, sie sind aber in organischen Lösungsmitteln, in Dimethylformamid und Tetrahydrofuran, mit Molekulargewichten von etwa 2000 monomolekular gelöst²¹. Es sollte auch nicht vergessen werden, daß ohne die Entwicklung der Säulen- und Dünnschichtchromatographie in jenen Jahren die Auftrennung des komplexen Gangliosidgemisches in die Einzelkomponenten nicht möglich gewesen wäre. So gelang es innerhalb von wenigen Jahren, im wesentlichen mit den Methoden der klassischen Kohlenhydratanalytik, durch kombinatorische Anwendung der Permethylierung, der Perjodatoxydation und der partiellen Hydrolyse, die Strukturen dieser Verbindungen aufzuklären.

Tabelle 1. Permethylierungsprodukte eines Dineuraminsylgangliosids (I), des entsprechenden Mononeuraminsylgangliosids (II) und des entsprechenden neuraminsäurefreien Glykolipids (III)

I	II	III
2.3.6-Trimethylglucose	2.3.6-Trimethylglucose	2.3.6-Trimethylglucose
2.6-Dimethylgalaktose	2.6-Dimethylgalaktose	2.3.6-Trimethylgalaktose
4.6-Dimethylgalaktosamin	4.6-Dimethylgalaktosamin	4.6-Dimethylgalaktosamin
2.4.6-Trimethylgalaktose	2.3.4.6-Tetramethylgalaktose	2.3.4.6-Tetramethylgalaktose

Im Zentralnervensystem findet man vorwiegend Tetraoseganglioside, sie alle haben die in der Tabelle 2 angegebene Ganglio-N-tetraose-Struktur. Sie sind in der grauen Hirnsubstanz mit etwa 1,5%, in der weißen Hirnsubstanz mit weniger als 0,5% des Trockengewichtes vertreten. Die einzelnen Hirnregionen zeigen qualitativ das gleiche Gangliosidmuster, aber erhebliche Unterschiede in der quantitativen Anlage der Einzelganglioside²².

²¹ E. KLENK und W. GIELEN, *Z. physiol. Chem.* 319 (1960) 283.

²² E. DOMINICK und W. GIELEN, *Z. physiol. Chem.* 349 (1968) 731.

Tabelle 2. Struktur der Oligosaccharide nach partieller Hydrolyse

Ganglio-N-tetraose :	Gal ^{β} (1-3)GalNAc ^{β} (1-4)Gal ^{β} (1-4)Gluc
Ganglio-N-triose I :	Gal ^{β} (1-3)GalNAc ^{β} (1-4)Gal
Ganglio-N-triose II :	GalNAc ^{β} (1-4)Gal ^{β} (1-4)Gluc
Ganglio-N-biose I :	Gal ^{β} (1-3)GalNAc
Ganglio-N-biose II :	GalNAc ^{β} (1-4)Gal
Laktose :	Gal ^{β} (1-4)Gluc

Außerhalb des Zentralnervensystems konnten Ganglioside in Erythrozyten, im Serum, in der Niere, in der Lunge und in der Placenta nachgewiesen werden. Dort findet man allerdings vorwiegend das Mononeuraminsyl-laktose-gangliosid (G_{Lakt} , Hämatosid), das Dineuraminsyl-laktose-gangliosid ($G_{Lakt'}$) und ein Gangliosid mit Tetraose-Struktur, das anstelle von N-Acetylgalaktosamin N-Acetylglucosamin enthält²³. Das Mononeuraminsyl-laktose-gangliosid (G_{Lakt} , Hämatosid) scheint sehr weit verbreitet zu sein, es ist praktisch Bestandteil jeder biologischen Membran.

Bei einer sorgfältigen Fraktionierung von Hirngewebe und besonders schonender Aufarbeitung läßt sich eine Fraktion mit Nervenendigungen, den sogenannten Synaptosomen, gewinnen, die einen hohen Gangliosidgehalt haben²⁴. Elektronenoptisch erkennt man die von den Nerven abgetrennten Endstrukturen der Synapsen und die synaptischen Bläschen, die die neuro-chemischen Transmittersubstanzen (Acetylcholin, Dopamin, Noradrenalin, Histamin, Serotonin, γ -Aminobuttersäure) enthalten, welche die Erregungsfortleitung aktiv bewirken. Diese synaptischen Bläschen selbst sind gangliosidfrei²⁵. Nach allen bisherigen Befunden sind die Ganglioside an den äußeren Membranen der Nervenendigungen unmittelbar am synaptischen Spalt lokalisiert. Nach Behandlung derartiger Synaptosomenfraktionen mit Ultraschall ließ sich ein Gangliosid-Protein-Komplex isolieren, der Acetylcholinesterase-Aktivität und ATP-ase-Aktivität zeigte²⁶. Darüber hinaus beobachtet man auch an diesen Membranen eine weitere, von uns oft beobachtete Parallelität in der Anordnung von Enzym und seinem Substrat, denn auch eine Neuraminidase-Aktivität konnte an diesen synaptischen Membranen nachgewiesen werden²⁷.

²³ R. KUHN und H. WIEGANDT, *Z. Naturforsch.* 19b (1964) 80.

²⁴ L. M. SEMINARIO, N. HREN und C. J. GOMEZ, *J. Neurochem.* 11 (1964) 197; J. EICHBERG, V. P. WHITTAKER und R. M. C. DAWSON, *Biochem. J.* 92 (1964) 91.

²⁵ H. WIEGANDT, *J. Neurochem.* 14 (1967) 671.

²⁶ R. TANAKA und K. P. STRICKLAND, *Arch. Biochem. Biophys.* 111 (1965) 583; E. G. LAPETINA, E. F. SOTO und E. DEROBERTIS, *Biochim. Biophys. Acta* 135 (1967) 33.

²⁷ G. TETTAMANTI, S. DI DONATO, A. PRETI und V. ZAMBOTTI, *Abstr. FEBS Meeting, Prag*, S. 165 (1968).

Ladungsveränderungen an diesen Schaltstellen von Nerv zu Nerv können also einerseits reversibel durch intramolekulare Veresterung der in (2-8)-Stellung aneinandergefügteten Neuraminsäuremoleküle, andererseits irreversibel durch Einwirken der Neuraminidase auf die terminalen Neuraminsäuremoleküle der Membran erfolgen. Nach den Berechnungen von WOLFE²⁸ enthält ein Neuron des menschlichen Gehirns 5×10^{10} Gangliosidmoleküle. Bei durchschnittlich zwei Molekülen N-Acetylneuraminsäure pro Gangliosidmolekül beträgt die Zahl der Neuraminsäuremoleküle 10^{11} pro Neuron. Da an den 10^{10} Neuronen des menschlichen Gehirns jeweils etwa 1000 synaptische Endknöpfe haften, ergibt sich eine Zahl von 10^{13} Kontaktstellen im menschlichen Gehirn, an denen Ganglioside beteiligt sein könnten.

Die Bindung und Inaktivierung von Tetanustoxin durch Hirnhomogenat ist schon seit den Untersuchungen von WASSERMANN (1898) bekannt²⁹; das Toxin wird an Ganglioside fixiert³⁰. Je höher der Neuraminsäuregehalt der Ganglioside, um so größer ist die Bindungskapazität³¹. Eine weitere funktionelle Bedeutung der Ganglioside lassen die Untersuchungen von McILWAIN erkennen³². Basische Proteine, Histone, reagieren mit den Neuraminsäuremolekülen an der Zellmembran und blockieren die funktionellen Zentren, die Zellen zeigen bei elektrischer Stimulation keine zusätzliche Sauerstoffaufnahme. Durch Zusatz von Gangliosiden können die Zentren wieder freigelegt werden, die Zellen zeigen dann bei elektrischer Reizung wieder nahezu normales Verhalten.

Nach den grundlegenden Untersuchungen von WOOLLEY und GOMMI³³ gelten Ganglioside als spezifische Rezeptoren für Serotonin. Von allen zugänglichen reinen Gangliosiden zeigte das Dineuraminsyl-laktose-gangliosid (G_{Lact}) bei *in-vitro*-Versuchen die höchste Bindungskapazität. Man findet dieses Gangliosid tatsächlich überall dort, wo Serotonin eine physiologische Funktion ausübt³⁴ (Abb. 8).

Bemerkenswert ist die reversible Blockierung des Rezeptors durch Ca^{2+} -Ionen und die Verdrängung des Serotonins vom Rezeptor sowie die totale Inhibierung des Rezeptors durch das Psychopharmaka Reserpin.

Die Korrelation von Gangliosidgehalt im extraneuronalen Gewebe und Na^+K^+ -abhängiger ATP-ase schließlich hat zu der Annahme geführt, daß die neuraminsäurehaltigen Glykolipoide am aktiven Ionentransport beteiligt sein könnten³⁵.

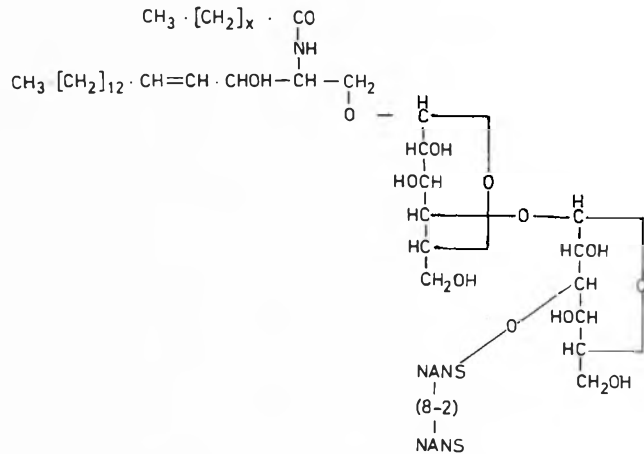


Abb. 8. Struktur des Rezeptorgangliosids für Serotonin

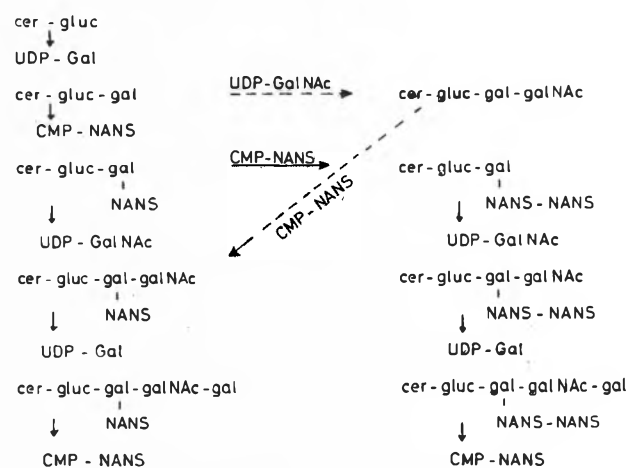


Abb. 9. Schema der Biosynthese der Gehirnganglioside

Die Biosynthese der Glykolipoide erfolgt durch sukzessives Anfügen von Monosacchariden an das Ceramid. Jeder Syntheseschritt erfordert eine spezifische Glykosyltransferase, ein spezifisches Monosaccharidnukleotid als Hexosedonator und eine spezifische Lipidstruktur als Akzeptor³⁶ (Abb. 9).

Die transferierenden Enzyme sind membrangebunden und in den Mikrosomen, Mitochondrien und in den Synaptosomen lokalisiert, die letztgenannten Strukturen zeigen die höchste spezifische Aktivität⁹. Die Cytidinmonophosphat-N-Acetylneuraminat-Synthetase (CMP-NANS), das Enzym, welches der CMP-NANS-Transferase die aktivierte Neuraminsäure zur Verfügung stellt, ist im Zellkern angeordnet³⁷. Die räumliche Trennung von Synthetase und Transferase könnte für die Regulation bedeutsam sein.

Bei der Geburt liegt ein Teil der Ganglioside des Gehirns bereits vor. Im Rattengehirn beobachtet man eine hohe Enzymaktivität der synthetisierenden Enzyme in

²⁸ L. S. WOLFE, *Can. J. Biochem.* 42 (1964) 971.

²⁹ A. WASSERMANN und T. TAKAKI, *Berlin. klin. Wschr.* 35 (1898) 5.

³⁰ R. KUHN und Mitarbeiter, *Angew. Chem.* 72 (1960) 805.

³¹ W. E. VAN HEYNINGEN und J. MELLANBY, *J. Gen. Microbiol.* 52 (1968) 447.

³² H. McILWAIN, *The Chemical Exploration of the Brain*, Elsevier, Amsterdam 1963.

³³ D. W. WOOLLEY und B. W. GOMMI, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 53 (1965) 959.

³⁴ W. GIELEN, *Z. Naturforsch.* 23b (1968) 117.

³⁵ K. PURO, P. MAURY und J. K. HUTTUNEN, *Biochim. Biophys. Acta* 187 (1969) 230.

³⁶ A. ARCE, H. F. MACCIONI und R. CAPUTTO, *Arch. Biochem. Biophys.* 116 (1966) 52; B. KAUFMAN, S. BASU und S. ROSEMAN, *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 5804.

³⁷ E. L. KEAN, *Exp. Eye Res.* 8 (1969) 44; W. GIELEN und H. PINK, unveröffentlicht.

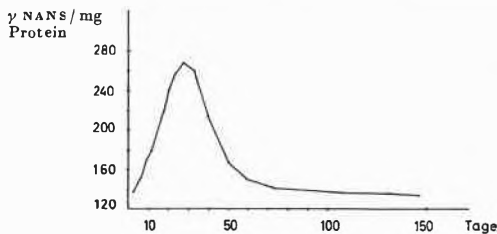


Abb. 10. Aktivität der CMP-NANS-Synthetase im jungen Rattengehirn

der Zeit vom 5. Tage vor der Geburt bis zum 5. Tage *post partum* und einen weiteren Anstieg der Syntheseleistung bis zum 30. Tage nach der Geburt. Im erwachsenen Gehirn findet nur noch ein träger Stoffwechsel statt, allerdings mit höherer «turnover rate» als bei den Cerebrosiden.

Die Aktivität der CMP-NANS-Synthetase nimmt nach der Geburt zu, sie erreicht ihre maximale Wirksamkeit erst nach der aktiven Myelinisierung, sinkt dann deutlich ab und zeigt schließlich einen konstanten Level (Abb. 10).

Wie bei vielen anderen Glykolipoiden, so sind auch Speicherkrankheiten bekanntgeworden, bei denen Ganglioside akkumulieren. Die seltene Geisteskrankheit, die im autosomal rezessiven Erbgang auftretende Tay-Sachssche Erkrankung, ist gekennzeichnet durch eine enorme Vermehrung eines Mononeuraminosyl-triosegangliosids, das im gesunden Gehirn mit nur 3% am Gesamtgangliosidgemisch beteiligt ist (Abb. 11).

Eine spezifische Hexosaminidase, die den weiteren Abbau des Moleküls einleiten muß, fehlt³⁸. Normalerweise existieren im gesunden Organismus zwei Formen des Enzyms (Isoenzyme), ein lysosomales Enzym und ein Enzym mit niedrigerem isoelektrischem Punkt im Serum. Das Serumenzym ist bei der Tay-Sachsschen Erkrankung nicht nachweisbar. Bei schweren Fällen Tay-Sachsscher Krankheit kann sich eine weitgehende Dekompensierung des Glykolipoidstoffwechsels ergeben, bei der auch neuraminsäurefreie Ceramid-Oligosaccharide deponiert werden.

Eine zweite Lipidose, die den Gangliosidstoffwechsel betrifft, wird als generalisierte Gangliosidose bezeichnet; sie ist charakterisiert durch das Fehlen einer β -Galaktosidase und durch Akkumulation des Mononeuraminosyl-tetraose-Gangliosids. Bereits die endständige Galaktose der Kohlenhydratkette kann nicht abgespalten werden³⁹.

Eine Speicherkrankheit als Folge eines Neuraminidase-mangels ist nicht bekannt, sie dürfte wegen der universellen Verbreitung der Neuraminsäure und ihrer funktionellen Bedeutung für den Organismus letal sein.

An der Zellmembran des Hirntumors vollzieht sich eine topochemische Neuorientierung von Glykolipoiden und Gangliosiden. Als hirntumorcharakteristische Ganglioside konnten Mono- und Dineuraminosyl-laktosegangliosid vermehrt isoliert werden. Offenbar sind die Gene,

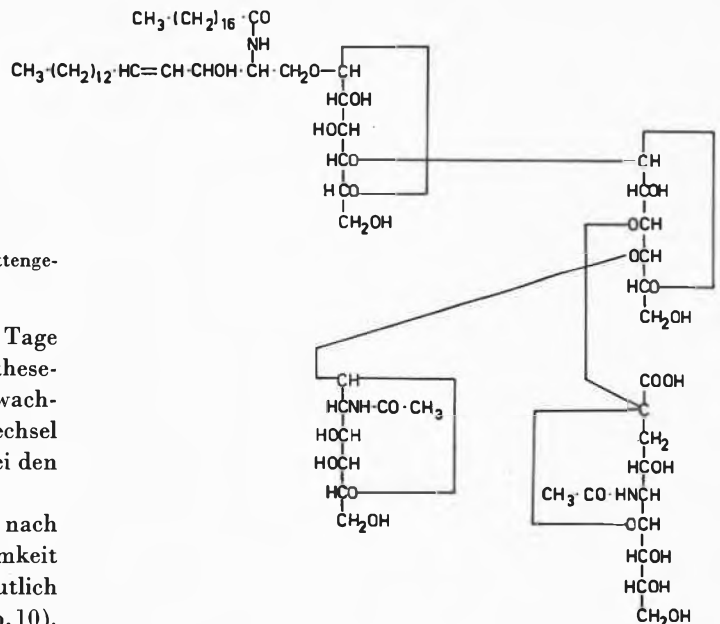


Abb. 11. Struktur des Tay-Sachs-Gangliosids

die normalerweise den Gangliosidaufbau determinieren, in ihrer Expression so gehemmt, daß die vollständige Kohlenhydratkette nicht mehr aufgebaut werden kann, und daß auf der Stufe des Ceramidlaktosids die Gangliosidbiosynthese durch Anfügen von einem oder zwei Molekülen N-Acetylneuraminsäure vorzeitig beendet wird⁴⁰. Dies steht in Übereinstimmung mit dem «incompletion model» bei der Virustransformation und der Glykolipoidsynthese bei anderen Tumoren⁴¹.

Das «incompletion model» ist durch mehrere Besonderheiten gekennzeichnet. Man beobachtet:

- a) ein Anfügen terminierender Bausteine (Fucose oder N-Acetylneuraminsäure) an Vorstufensubstanzen,
- b) die Deponierung von Vorstufensubstanzen,
- c) eine insgesamt erhöhte Glykolipoidsynthese.

In Hirntumoren werden ursprünglich antigene Strukturen der Zellmembran durch die Neuraminsäure maskiert, so daß ein Verlust an Antigenität resultiert. Durch eine derartige Maskierung und den damit verbundenen Antigenitätsverlust sowie durch die Unfähigkeit des immunologischen Systems das Mehr an Neuraminsäure an der Zelloberfläche des Tumors als fremd zu erkennen, ist die Tumorzelle immunologisch nur sehr schwer angreifbar.

Es wird weiterer Forschung bedürfen, vor allem den Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion der Glykosphingolipoide zu klären.

Die hier zitierten eigenen, neueren Untersuchungen wurden vom Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen dankenswerterweise finanziell unterstützt.

⁴⁰ G. UHLENBRUCK und W. GIELEN, *Fortschr. Neurol. Psych.* 38 (1970) 202.

⁴¹ S. HAKOMORI und W. T. MURAKAMI, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59 (1968) 254.

³⁸ S. OKADA und J. S. O'BRIEN, *Science* 165 (1969) 698.

³⁹ S. OKADA und J. S. O'BRIEN, *Science* 160 (1968) 1002.