Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
7. Jg., S. 45—50, Januar 1969

Biochemische Untersuchungen zur Pathogenese der Trichterbrust (*Pectus excavatum*)¹⁾

Von H. KRESSE, U. STEIN und E. BUDDECKE

Institute für Physiologische Chemie Münster und Tübingen

(Eingegangen am 24. September 1968)

Eine vergleichende chemische Analyse von 15 Gewebeproben von reseziertem Rippenknorpel von Patienten mit Trichterbrust (in einem Lebensalter von 3,75 bis 20 Jahren) und Knorpelgewebeproben einer altersgleichen Kontrollgruppe skeletgesunder Probanden hatte folgendes Ergebnis:

1. Die Gewebskonzentration der sauren Gesamt-Mucopolysaccharide zeigt keine Unterschiede beider Untersuchungsgruppen, doch ist der Sulfatgehalt der Gesamt-Mucopolysaccharide, bezogen auf den Hexosamingehalt (molarer Verhältnis Gesamt-Hexosamin/Sulfat) bei Trichterbrust im Durchschnitt erniedrigt (Erhöhung des Quotienten). Der Kollagengehalt zeigt in Gewebeproben von Trichterbrustpatienten besonders im 2. Lebensjahrzehnt niedrigere Werte.

2. Der durchschnittliche proz. Anteil an Keratansulfat an den Gesamt-Mucopolysacchariden beträgt bei skeletgesunden Probanden im 1. Lebensdezennium 19,4%, bei Patienten mit Trichterbrust dagegen 24,1%. Der physiologische Altersanstieg des Keratansulfat-Gehaltes bei skeletgesunden Probanden erreicht erst im 2. Lebensdezennium einen Wert von 24,7.

3. Das aus Rippenknorpel von Trichterbrustpatienten isolierte Chondroitinsulfat zeigt im Vergleich zur Kontrollgruppe einen bis zu 50% erniedrigten Sulfatgehalt. Eine solche Untersulfatierung des Chondroitinsulfat-Gehaltes von mehr als 40% wurde unter 15 Proben bei Trichterbrust 5mal beobachtet, in der Kontrollgruppe dagegen in keinem Falle.

4. Die am Abbau der sauren Mucopolysaccharide bzw. ihrer Proteinverbindungen beteiligten Enzyme N-Acetyl- β -D-glucosaminidase, β -D-Glucuronidase und saure Carboxypeptidase erfahren (bei Bezug auf das Frischgewebe bzw. auf Extraktprotein) eine physiologisch altersabhängige Abnahme ihrer Aktivität. Im Knorpelgewebe von Trichterbrustpatienten erfolgt diese Abnahme verzögert. Bei einem Vergleich der Einzelwerte altersgleicher Probanden der Kontroll- und Trichterbrust-Gruppe wurden im Trichterbrustknorpel für die untersuchten Enzyme Aktivitäten gemessen, die im Durchschnitt um 27—75% höher lagen als bei der Kontrollgruppe.

Die Ergebnisse führen zu der Annahme, daß bei Trichterbrust ein Defekt in der Synthese des Chondroitinsulfats bzw. der Chondroitin-Sulfotransferase vorliegt und gleichzeitig oder sekundär die Aktivität kataboler Enzyme des Chondroitinsulfatprotein-Stoffwechsels erhöht ist.

Biochemical studies on the pathology of funnel chest

15 Tissue samples of rib cartilage from patients with funnel chest (age range 3.75—20 years) and cartilage tissue samples from a skeletally normal control group of the same age range were compared by chemical analysis.

The following results were obtained:

1. There is no difference in the tissue concentration of the total mucopolysaccharides between the two groups, but the sulphate concentration in the total mucopolysaccharides based on the hexosamine content (molar ratio, total hexosamine/sulphate) shows an average decrease in funnel chest (quotient is increased). The collagen content of tissue samples from funnel chested patients is decreased, especially in the second decade of life.

2. The average percentage of keratan sulphate in the total mucopolysaccharides is 19.4% in skeletally normal probands in the first decade of life, and 24.1% in patients with funnel chest. The physiological increase in the keratan sulphate content in skeletally normal probands does not reach 24.7% until the second decade of life.

3. Chondroitin sulphate from the rib cartilage of funnel chested patients contains up to 50% less sulphate than that from normal controls. Such decreases in sulphate of more than 40% were observed in 5 out of 15 funnel chest samples, and none were found in the control group.

4. N-Acetyl- β -D-glucosaminidase, β -D-glucuronidase, and acid carboxypeptidase, which are concerned in the degradation of the acid mucopolysaccharides and their protein complexes, show an age-dependent decrease in activity (fresh tissue or extracted protein). In cartilage tissue from funnel chested patients, this decrease is delayed. Comparison of the individual values for probands of the same age from each group showed that the average activity of each enzyme was 27—75% higher in funnel chest cartilage than in normal cartilage.

These results indicate that there is a defect in the synthesis of chondroitin sulphate or of chondroitin-sulphotransferase in and at the same time, or as a secondary effect, the activity of the catabolic enzymes of chondroitin sulphate-protein metabolism is increased.

Die als „Trichterbrust“ bezeichnete Thoraxdeformität ist eine primäre Wachstumsstörung des Rippenknorpelgewebes bisher unbekannter Ursache. Das häufige familiäre Vorkommen und die Kombination mit anderen Fehlbildungen (Marfan-Turner-Syndrom) sprechen für einen genetischen Defekt im Bereich des Skeletsystems (1).

Vergleichende morphologische Untersuchungen an reseziertem Rippenknorpel bei Trichterbrust und bei

skeletgesunden Personen ergaben für das Knorpelgewebe bei Trichterbrust kataplastische Veränderungen mit Asbestfaserung und Fasermarkbildung. Die Veränderungen sind zwar nicht von den physiologischen Altersveränderungen zu unterscheiden, ihre Manifestation wird bei der Trichterbrust jedoch 10—12 Jahre früher als bei skeletgesunden Vergleichsfällen beobachtet (2, 3).

Im Rippenknorpel des Menschen sind die sauren Mucopolysaccharide (saure Glykosaminoglykane) Chondroitinsulfat (Chondroitin-4- und Chondroitin-6-sulfat)

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen von H. Geisbe auf der 84. Tagung der deutschen Gesellschaft für Chirurgie 1967 (s. auch. l. c. (3)).

und Keratansulfat in einer Menge bis zu 25% des Trockengewichtes in Form ihrer Proteinverbindungen enthalten (4). Zusammen mit dem Skleroproteid Kollagen sind sie für die mechanischen Eigenschaften des Knorpelgewebes, wie Formkonstanz, Elastizität und Inkompressibilität verantwortlich. Im Hinblick auf die bekannten biochemischen Altersveränderungen des Mucopolysaccharidverteilungsmusters des Rippen- (5, 6) und Intervertebralknorpels (7) erschien eine Trennung und quantitative Bestimmung von Chondroitinsulfat und Keratansulfat und die Frage einer Änderung des Keratansulfat/Chondroitinsulfat-Quotienten im Rippenknorpel von Patienten mit Trichterbrust von Interesse. Ebenso wurde der Kollagengehalt des Knorpelgewebes untersucht. Da die mechanischen Eigenschaften des Rippenknorpels ferner vom Polymerisationsgrad der Polysaccharidproteine der Grundsubstanz abhängen, wurde die Aktivität 3 verschiedener, am Abbau des Chondroitinsulfat-Proteins beteiligter Enzyme, der N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (EC 3.2.1.36), der β -D-Glucuronidase (EC 3.2.1.31) und der sauren Carboxypeptidase (EC 3.4.2. . .) bestimmt.

Methodik

Untersuchungsgut

0,7–3,0 g Knorpelgewebe der 6., 7. und 8. Rippe wurden während der operativen Trichterbrustkorrektur bzw. während einer Thorakotomie aus anderer Ursache (Kontrolle) entnommen, sofort auf Eis gelagert und zur Bestimmung der Enzymaktivität entweder sofort oder nach 2 bis 4-tägiger Lagerung bei -20° weiter verarbeitet. Für die Mucopolysaccharid- und Kollagenanalysen wurde ein Anteil von 0,5–3,0 g sofort in Aceton gelegt und nach mehrmaligem Wechsel das Acetontrockengewebe erhalten.

Analysen

Zur Darstellung der Gesamt-Mucopolysaccharide wurden Proben des Aceton-Trockenknorpelgewebes von 100–800 mg 3mal 24 Stdn. mit einem Enzym-Puffergemisch (Acetatpuffer pH 7,0, Cystein aktiviertes Papain, Merck Nr. 7147) bei 60° aufgeschlossen, dialysiert, gefriergetrocknet, zur Entfernung der Protein- bzw. Glycoprotein-Spaltprodukte mit flüssigem Phenol extrahiert und nach Äthanol-fällung die Gesamt-Mucopolysaccharide gewonnen (15–170 mg). Zur Trennung von Keratansulfat und Chondroitinsulfat wurden 5 mg der gesamten Mucopolysaccharide in 2,0 ml dest. Wasser gelöst, mit 2,0 ml 2proz. Cetyl-Pyridinium-Chlorid-Lösung in 0,02N $MgCl_2$ versetzt, bei 105000 g 30 Min. zentrifugiert und im Überstand Glucosamin, Galaktose und Sulfat bestimmt. Der im Niederschlag enthaltene unlösliche Cetyl-Pyridinium-Chlorid-Komplex der Chondroitinsulfatisomeren 4 und 6 wurde in 4,0 ml 1,5N $MgCl_2$ -Lösung gelöst und nach erneutem Zentrifugieren der Galaktosamin-, Uronsäure- und Sulfatgehalt des Überstandes (wie früher beschrieben 8, 9, 10) bestimmt.

Der Kollagengehalt wurde nach salzsaurer Hydrolyse von 8 bis 15 mg Acetontrockengewebe (6N HCl 24 Stdn. 110° , N_2) und Bestimmung des Hydroxyprolinanteiles im Hydrolysat nach Verdünnung auf 100 ml ermittelt (11). Zur Umrechnung von Hydroxyprolin auf Kollagen wurde mit dem Faktor 7,46 multipliziert.

Enzymaktivitätsmessungen

0,2–0,8 g des frischen oder tiefgefrorenen Knorpelgewebes wurde nach Vorzerkleinerung unter Kühlung im Eisbad für 2 Min. im Ultraturax mit der 12fachen Menge physiol. NaCl-Lösung homogenisiert (1g Frischgewebe/12 ml NaCl-Lösung) und bei 78000 g zentrifugiert. Je 0,3–1,0 ml wurden zur Be-

stimmung des Proteingehaltes (Biuretmethode) bzw. zu Enzymaktivitätsmessungen entnommen. Die Aktivitäten von N-Acetyl- β -D-glucosaminidase, β -D-Glucuronidase und saurer Carboxypeptidase wurden wie früher beschrieben (l. c. 12, 13, 14) gemessen.

Ergebnisse

Chemische Zusammensetzung der sauren Gesamtmucopolysaccharide und Kollagengehalt

Wegen der hohen Umsatzraten sind die sauren Mucopolysaccharide mesenchymaler Gewebe Strukturbestandteile, an denen sich physiologische Altersveränderungen oder auch Stoffwechselstörungen besonders eindeutig und frühzeitig nachweisen lassen. Da die durch Zunahme des Keratansulfat- und Abnahme des Chondroitinsulfat-Gehaltes charakterisierten Altersveränderungen des Knorpelgewebes schon innerhalb der ersten 2 Dezennien des Lebens beobachtet werden, lassen sich die bei einer Untersuchung von Rippenknorpelproben bei Patienten mit Trichterbrust gewonnenen Daten nur beurteilen, wenn sie mit entsprechenden Werten von Gewebeproben skeletgesunder Probanden gleicher Altersklassen verglichen werden. Bei der Darstellung der sauren Mucopolysaccharide (Gesamtmucopolysaccharide) aus dem Acetontrockengewebe wurden Präparate von hohem Reinheitsgrad (25–29% Gesamthexosamin) erhalten. Bezieht man die auf gleichen Hexosamingehalt (30%) korrigierten Ausbeuten auf das Trockengewicht, so ergibt sich für die Kontrollgruppen in einem Altersbereich von 7 Monaten und 17,5 Jahren eine nahezu altersunabhängige Gewebeskonzentration der sauren Mucopolysaccharide zwischen 17,8 und 21,7%. Bei den aus Trichterbrustknorpel entnommenen Proben lag der Absolutgehalt der sauren Mucopolysaccharide zwar in der gleichen Größenordnung, zeigte aber stärkere Schwankungen (13,8–23,4%), jedoch ohne erkennbare Beziehung zum Lebensalter.

Bei einem Vergleich der analytischen Daten der gesamten Mucopolysaccharide fällt allerdings auf, daß innerhalb der Kontrollgruppe das molare Verhältnis von Hexosamin: Sulfat einen Mittelwert von 0,99 ($\sigma = 0,07$) aufweist, daß dagegen bei den Proben aus Trichterbrustknorpel eine 3mal größere Streuung der Werte ($\sigma = 0,22$) gefunden wird, die sich sowohl in Richtung einer Übersulfatierung (0,72) wie Untersulfatierung (1,43) erstrecken und sich deswegen im Durchschnitt wieder ausgleichen (Mittelwert 1,07). Die Einzelwerte sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Für die Beurteilung von Veränderungen im Kollagengehalt müssen ebenfalls physiologische Altersveränderungen berücksichtigt werden. In der ersten Lebensdekade findet sich im Rippenknorpel ein durchschnittlicher Kollagengehalt von 60% des Trockengewichts, während es im zweiten Dezennium zu einem geringen Abfall auf 56% kommt. Beim Vergleich der Kontrollgruppe mit den Trichterbrustknorpeln ist ein im Durchschnitt verminderter Kollagenanteil im Acetontrockengewebe des pathologischen Knorpels feststellbar (Kon-

Tab. 1

Kollagen- und Mucopolysaccharid-Gehalt im Acetontrockengewebe und chemische Zusammensetzung der sauren Mucopolysaccharide aus menschlichem Rippenknorpel skeletgesunder Probanden (Gruppe A = Kontrolle) und von Patienten mit Trichterbrust (Gruppe B). sMPS = saure Gesamt-Mucopolysaccharide, GNH₂ = Gesamthexosamin, KS = Keratansulfat, CS = Summe von Chondroitin-4-Sulfat und Chondroitin-6-sulfat, TG = Trockengewicht

Gruppe	Lfd. Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	% im Aceton-T. G. Kollagen	sMPS (total)	sMPS-Analyse $\mu\text{Mol/mg}$ GNH ₂	Sulfat	Relation GNH ₂ /Sulfat	proz. Anteil KS/CS
A (Kontrolle)	1	0,6	Q	56,1	17,8	1,18	1,28	0,92	15/85
	2	2	Q	54,6	16,1	1,24	1,20	1,04	11/89
	3	2,5	Q	59,7	20,5	1,23	1,32	0,93	17/83
	4	3	Q	67,7	16,9	1,21	1,30	0,93	21/79
	5	5	Q	69,5	15,5	1,17	1,27	0,92	21/79
	6	6	Q	55,2	13,6	1,16	1,26	0,92	20/80
	7	9	Q	56,6	13,9	1,30	1,26	1,03	19/81
	8	10	Q	59,5	16,9	1,24	1,28	0,97	21/79
	9	12,5	Q	76,0	15,9	1,14	1,24	0,92	25/75
	10	15	Q	51,8	13,8	1,25	1,18	1,06	24/76
	11	17	Q	44,5	21,7	1,26	1,26	1,00	26/74
	12	17,5	Q	48,6	18,4	1,31	1,23	1,07	24/76
B (Trichterbrust)	1	3,75	Q	56,0	17,2	1,30	1,18	0,72	27/73
	2	5	Q	52,4	17,0	1,39	1,32	1,05	27/73
	3	5,75	Q	62,9	14,1	1,29	1,40	0,92	20/80
	4	6	Q	59,0	15,1	1,31	0,92	1,43	22/78
	5	6	Q	60,4	13,8	1,29	1,30	0,99	23/77
	6	7	Q	58,9	14,2	1,25	1,45	1,09	28/72
	7	8,5	Q	51,5	14,8	1,18	0,94	1,26	22/78
	8	15	Q	53,2	21,9	1,31	0,95	1,38	24/76
	9	16	Q	55,5	18,8	1,36	1,63	0,83	17/83
	10	17	Q	47,9	14,3	1,21	1,16	1,05	28/72
	11	17	Q	45,8	17,8	1,10	0,98	1,12	24/76
	12	19	Q	39,4	19,0	1,36	1,94	0,70	19/81
	13	20	Q	45,2	23,0	1,33	1,26	1,06	30/70
	14	20	Q	53,9	23,4	1,38	1,27	1,09	29/71
	15	20	Q	35,2	20,4	1,28	0,99	1,30	29/71

trolle 58,3%, Trichterbrust 51,8%, der sich besonders auffällig im 2. Lebensjahrzehnt manifestiert (Kontrolle 56,1%, Trichterbrust 47,0%). Der Unterschied liegt allerdings bei der Größe des Untersuchungsgutes an der unteren Grenze einer statistischen Sicherung.

Keratansulfat/Chondroitinsulfat-Quotient

Die Untersuchung des prozentualen Anteils von Keratansulfat und Chondroitinsulfat wurde in den Gesamt-Mucopolysacchariden vorgenommen. Für eine Trennung von Keratansulfat und Chondroitinsulfat läßt sich die Tatsache ausnutzen, daß Keratansulfat mit dem Cetylpyridinium-Kation einen wasserlöslichen, die Chondroitinsulfat-Isomeren dagegen einen wasserunlöslichen Komplex bilden (s. Methodik) und auf diese Weise Konzentration und chemische Zusammensetzung von Keratansulfat und Chondroitinsulfat getrennt bestimmt werden können.

In Tabelle 1 ist der prozentuale Anteil als Keratansulfat/Chondroitinsulfatquotient wiedergegeben. Vergleicht man die Werte der Kontrollgruppe mit denen der Trichterbrust-Gruppe, so ergeben sich eindeutige Unterschiede. Während in der Kontrollgruppe innerhalb des ersten Lebensdezenniums (2—8,5 Jahre) der Keratansulfatanteil der Gesamt-Mucopolysaccharide im Sinne der physiologischen Altersveränderung erwartungsgemäß von 11 bis auf 21% ansteigt, werden für das Keratansulfat im Rippenknorpel bei Trichterbrust im gleichen Zeitraum (3,75—8,5 Jahre) ausschließlich Werte über 20% schon vom 3. Lebensjahr an gefunden. Diese Unterschiede kommen auch in Durchschnittswerten für das 1. Lebensjahrzehnt zum Ausdruck, die in der Kontrollgruppe 18,1% Keratansulfat, in der Gruppe der Patienten mit Trichterbrust dagegen 24,1% Keratansulfat betragen.

Auch im 2. Lebensdezennium werden im Knorpel bei Trichterbrust die höchsten Keratansulfat-Werte (bis 30%) gefunden, obgleich hier stärkere Schwankungen beobachtet werden. Da bei 2 Proben ein auffällig geringer Keratansulfat-Gehalt (Nr. 9 und 12) ermittelt wurde, liegt der Durchschnittswert der Untersuchungsgruppe mit Trichterbrust im 2. Lebensdezennium nur bei 25% Keratansulfat und damit in der gleichen Größenordnung wie die Kontrollgruppe (24,7% Keratansulfat). Doch liegen die Werte der Kontrollgruppe sehr nahe beieinander (24—26%).

Auffällige Unterschiede in der analytischen Zusammensetzung der sauren Mucopolysaccharide ergaben sich für das Chondroitinsulfat. Wie die Werte der Tabelle 2 erweisen, liegt das molare Verhältnis von Galaktosamin und Sulfat im Chondroitinsulfat in der Kontrollgruppe bei einem Wert, der — mit Ausnahme der Probe Nr. 11 — Abweichungen von dem theoretischen Wert 1 um maximal 0,24 aufweist. Demgegenüber werden in der

Tab. 2

Molares Verhältnis Galaktosamin/Sulfat in Chondroitinsulfat aus Knorpelgewebe (Fraktion V der Cetylpyridiniumfraktionierung) bei Trichterbrust und altersgleichen Kontrollen. Die laufenden Nummern 1—12 (Kontrolle) bzw. 1—15 (Trichterbrust) sind identisch mit denen der Tabelle 1

Lfd. Nr.	$\mu\text{Mol Galaktosamin}/\mu\text{Mol Sulfat im Chondroitinsulfat}$	
	Kontrolle	Trichterbrust
1	0,88	0,91
2	0,96	1,04
3	0,95	0,82
4	1,15	2,55
5	0,91	0,77
6	0,93	2,12
7	0,80	1,87
8	1,22	1,29
9	0,76	0,89
10	1,01	0,74
11	1,37	1,70
12	1,23	0,78
13	—	1,25
14	—	1,05
15	—	2,04

Untersuchungsgruppe der 15 Patienten mit Trichterbrust 5mal Werte für den Galaktosamin-Sulfat-Quotienten von über 1,7 gefunden, was bedeutet, daß in diesen Fällen das Chondroitinsulfat eine Untersulfatierung von mehr als 40% aufweist. In den Proben Nr. 4, 6 und 15 ist das Sulfatdefizit sogar größer als 50%. Es ist auffällig, daß diese Untersulfatierung mit einer Ausnahme schon in den Werten der Tabelle 1 zum Ausdruck kommt, in der die lfd. Nummern 4, 7, 8, 11 und 15 schon einen eindeutig über 1 liegenden Hexosamin-Sulfat-Quotienten aufweisen. Aus der Tabelle 2 wird deutlich, daß dies durch eine Untersulfatierung des Chondroitinsulfats bedingt ist. Die nicht in Tabelle 2 aufgeführten Werte für Keratansulfat lassen keine stärkeren Abweichungen des Glucosamin-Sulfat-Quotienten von dem Wert 1 erkennen.

Enzymaktivitätsmessungen

Untersuchungen über den katabolen Stoffwechsel des Chondroitinsulfat-Proteins haben ergeben, daß im Arterien- und Bindegewebe des Rindes mindestens 6 Enzyme am Abbau des Chondroitin-4-sulfat-Proteins beteiligt sind und ihre Aktivität in enger Beziehung zum Lebensalter steht. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde die Aktivität der Glykosidhydrolasen β -D-Glucuronidase und N-Acetyl- β -D-glucosaminidase sowie der peptidspaltenden sauren Carboxypeptidase bestimmt. Die am zellfreien Überstand des Homogenates des Frischgewebes gemessenen Enzymaktivitäten wurden sowohl auf Extraktprotein (spezifische Aktivität), als auch auf das Frischgewebe bezogen. Da eine quantitative Bestimmung des DNA-Gehaltes des Knorpelgewebes wegen der geringen Mengen an Untersuchungsgut nicht mit ausreichender Genauigkeit durchgeführt werden kann, sind Enzymaktivitätsangaben in bezug auf den Zellgehalt des Gewebes in diesem Falle nicht

möglich. Aus den Werten der Tabelle 3 geht hervor, daß es schon unter physiologischen Bedingungen zu einem charakteristischen altersabhängigen Abfall der Aktivität aller untersuchten Enzyme kommt und dabei schon innerhalb der ersten beiden Lebensdezennien ein Aktivitätsabfall auf $1/10$ des bei der Geburt gemessenen Wertes eintritt. Daraus ergibt sich, daß eine Prüfung der Frage nach Veränderungen der Enzymaktivität bei Trichterbrust nur an altersgleichem Untersuchungsgut vorgenommen werden kann.

Das Ergebnis der Einzelbestimmungen ist in spezifischen Enzymaktivitäten (mU/mg Extraktprotein) in Tabelle 3, in bezug auf das Frischgewicht (mU/g Frischgewebe) in der Abbildung 2 wiedergegeben. Besonders eindeutige Differenzen in der Aktivität aller untersuchten Enzyme zeigen sich zwischen Skeletgesunden und Patienten mit Trichterbrust, wenn man aus der Kontrollgruppe die Altersklasse 6–8,5 Jahre (lfd. Nr. 6–8) bzw. 16–17,5 Jahre (lfd. Nr. 8–12a) mit den korrespondierenden Altersklassen der Trichter-

Abb. 1
Prozentualer Anteil des Keratansulfats an den sauren Mucopolysacchariden des Rippenknorpels bei Skelettgesunden (□) und bei Patienten mit Trichterbrust (●)

Tab. 3

Spezifische Aktivität der β -D-Glucuronidase (GUA-ase), N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (GNAC-ase) und der sauren Carboxypeptidase (sCarb-ase) in menschlichem Rippenknorpel skelettgerechter Personen (Gruppe A) und altersgleicher Patienten mit Trichterbrust (Gruppe B). Die laufenden Nummern sind identisch mit denen der Tabelle 1, die laufenden, mit dem Zusatz „a“ versehenen Nummern wurden nur für Enzymaktivitätsmessungen verwendet

Untersuchungsgruppe	Lfd. Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	mg Protein/ml	Spezif. Enzymaktivität (mU/mg Protein)		
					GUA-ase	GNAC-ase	sCarb-ase
A (Kontrolle)	1	0,6	♂	0,7	0,49	15,4	0,68
	3	2,5	♂	1,3	0,23	12,0	0,32
	3a	2,75	♂	1,1	0,26	10,6	0,56
	4	3	♂	1,0	0,22	7,6	0,21
	6	6	♂	1,3	0,12	3,3	0,16
	6a	8	♂	1,4	0,14	4,8	0,20
	8	10	♂	1,4	0,11	4,5	0,23
	8a	16	♂	1,6	0,11	3,1	0,13
	11	17	♂	1,6	0,07	2,6	0,13
	12	17	♂	1,7	0,07	2,8	0,05
	12a	17	♂	1,8	0,09	2,8	0,11
B (Trichterbrust)	1	3,75	♂	1,5	0,19	4,8	0,18
	2	5	♂	1,3	0,17	5,8	0,32
	3	5,75	♂	1,4	0,27	12,4	0,58
	4	6	♂	1,4	0,17	4,4	0,26
	4a	6	♂	1,5	0,17	6,1	0,25
	5	6	♂	1,3	0,14	6,3	0,17
	6	7	♂	1,0	0,19	6,1	0,37
	7	8,5	♂	1,2	0,21	11,3	0,42
	8	15	♂	1,4	0,12	5,0	0,21
	9	16	♂	1,5	0,14	5,6	0,19
	10	17	♂	1,5	0,13	5,3	0,24
	11	17	♂	1,4	0,06	3,7	0,10
	12	19	♂	1,2	0,15	7,4	0,12
	13	20	♂	1,8	0,07	4,5	0,06
	14	20	♂	2,2	0,04	3,4	0,08
	15	20	♂	2,0	0,04	2,3	0,03

Abb. 2

Aktivität der β -D-Glucuronidase (a), N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (b) und der sauren Carboxypeptidase (c) im Rippenknorpel bei Skeletgesunden ($\square$) und bei Patienten mit Trichterbrust ($\bullet$). Es sind die vergleichbaren Werte der Kontrollgruppe (Nr. 6–8 bzw. 8a–12a) und der Trichterbrustgruppe (Nr. 2–7 bzw. 8–15) eingezeichnet. Die Enzymaktivität ist in mU/g Frischgewebe angegeben

brustpatienten 6–8,5 Jahre (lfd. Nr. 4–7) bzw. 15–17 Jahre (lfd. Nr. 8–11) vergleicht. Dabei zeigt sich, daß die Durchschnittswerte der Enzymaktivitäten bei den Patienten mit Trichterbrust ausnahmslos erhöht sind, und zwar für die Glucuronidase um 42 bzw. 27%, für die Glucosaminidase um 62 bzw. 75% und für die saure Carboxypeptidase um 45 bzw. 37%. Die in der Kontrollgruppe (Altersklasse 6 bis 10 Jahre) ermittelten Normaldurchschnittswerte von 0,124 mU (Glucuronidase), 4,2 mU (Glucosaminidase) und 0,20 mU (saure Carboxypeptidase) werden in der Gruppe der Trichterbrustpatienten erst zwischen dem 15. und 17. Lebensjahr erreicht. Ein Vergleich der Zahlenwerte der Tabelle 3 mit den Abbildungen 2–4 ergibt, daß die Wahl der Bezugsgröße für die Enzymaktivität keinen Einfluß auf das Ergebnis besitzt. Die Enzymaktivitätserhöhungen bei Trichterbrust kommen unabhängig von der Auswertung zum Ausdruck.

Diskussion

Für die Pathogenese der Trichterbrust ergeben sich aus den durchgeführten Untersuchungen folgende Aspekte:

Die im Rippenknorpel bei Trichterbrustpatienten festgestellte Erhöhung des Keratansulfat-Gehaltes ließe sich im Sinne einer „vorzeitigen lokalen Gewebsalterung“ deuten, da der physiologische Anstieg des Keratansulfat-Gehaltes bei Skeletgesunden langsamer und im Durchschnitt 10 Jahre später erfolgt als bei Trichterbrustpatienten. Insofern besteht eine gewisse Analogie zu dem Marfan-Syndrom (15) und den Veränderungen der Mucopolysaccharide des Faserknorpels bei Bandscheibenvorfall (16), bei denen es ebenfalls zu einem vorzeitigen Anstieg des prozentualen Anteils von Keratansulfat kommt, das schon im 2. Lebensdezennium Werte erreicht (60–70% der gesamten Mucopolysaccharide), die im Rahmen der physiologischen Altersveränderungen erst zwischen dem 60. und 80. Lebensjahre beobachtet werden.

Die für das vorliegende Untersuchungsgut neben dem Keratansulfat-Anstieg bei einem Drittel der untersuchten Trichterbrustpatienten gefundene, bis zu 50% betragende Untersulfatierung des Chondroitinsulfats

im Rippenknorpel läßt jedoch vermuten, daß der Verschiebung im Keratansulfat/Chondroitinsulfat-Quotienten kein vorzeitiger Alterungsprozeß, sondern ein Enzymdefekt zugrunde liegt, der möglicherweise die Chondroitinsulfat-spezifische Sulfotransferase betrifft. Untersuchungen über den Sulfattransfer bei der Biosynthese der verschiedenen sulfatierten Glykosaminoglykane haben wahrscheinlich gemacht, daß die Ester-sulfatgruppen durch spezifische Sulfotransferasen (EC 2.8.2.?) auf nieder- oder höher-molekulare Akzeptoren übertragen werden und Sulfotransferasen mit Spezifität für Chondroitinsulfat, Dermatsulfat und Heparansulfat unterschieden werden müssen (17, 18). Es wäre zu prüfen, ob im Trichterbrustknorpel ein relativer Mangel an Chondroitinsulfotransferase im Zusammenhang mit der vorzeitigen (kompensatorischen?) Keratansulfatbiosynthese steht.

Gegen die Annahme einer vorzeitigen Gewebsalterung sprechen auch die Ergebnisse der Enzymaktivitätsbestimmungen. Die bei einem Vergleich altersgleicher Untersuchungsgruppen gefundenen Enzymaktivitätserhöhungen sind zwar im Hinblick auf die kleine Zahl der Probanden einer statistischen Auswertung nicht zugänglich, die Abweichungen sind jedoch mit Aktivitätszunahmen zwischen 27 und 75% so groß, daß ein systematischer Enzymdefekt angenommen werden kann. Er entspricht jedoch nicht einem accelerierten, sondern einem retardierten Alterungsprozeß, da hier im Gegensatz zur Änderung des Verteilungsmusters der sauren Glykosaminoglykane der physiologische Altersablauf (Enzymaktivitätsabnahme) verzögert eintritt.

Wenn auch die untersuchten Enzyme lysosomaler Herkunft sind, beweist eine Aktivitätserhöhung bei Trichterbrust allerdings noch nicht, daß auch der katabole Stoffwechsel beschleunigt ist. Diese Annahme wäre erst dann gerechtfertigt, wenn gezeigt wäre, daß auch die „effektive Enzymkonzentration“, d. h. derjenige Anteil der in den Lysosomen lokalisierten Gesamtaktivität, der als aktives Enzym am Stoffwechsel teilnimmt, erhöht ist.

Die funktionelle Einheit des Knorpelgewebes kommt in einer für jedes Lebensalter charakteristischen Mengen-

korrelation von Kollagen und sauren Mucopolysacchariden zum Ausdruck. Unter pathologischen oder besonderen experimentellen Bedingungen (Bandscheibenprolaps (16), Keratokonus (19), experimentelles Granulom, Lathyrismus (20)) sind Störungen des Mucopolysaccharidstoffwechsels auch immer von Störungen des Kollagenstoffwechsels begleitet und umgekehrt. Es ist in diesem Zusammenhang bezeichnend, daß bei

einem Teil der Gewebeproben von Trichterbrustpatienten eine Verminderung des Kollagengehaltes im Rippenknorpel beobachtet wurde. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß die Störungen des Mucopolysaccharid- und Kollagenstoffwechsels auch die mechanischen Eigenschaften des Knorpels bzw. dessen regelrechte Entwicklung beeinflussen.

Literatur

1. EXNER, G., Erkrankungen und Deformitäten des Brustkorbes, in G. Hohmann, M. Hackenbrock u. K. Lindemann, Handbuch der Orthopädie Bd. II, S. 914ff., G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1958). — 2. MÜLLER, G., A. FLACH und H. GEISBE, Frankf. Zschr. Path. 76, 164 (1967). — 3. GEISBE, H., E. BUDDECKE, A. FLACH, G. MÜLLER und U. STEIN, Langenbecks Arch. klin. Chir. 319, 536 (1967). — 4a. ROSENBERG, L., B. JOHNSON und M. SCHUBERT, J. clin. Invest. 44, 1647 (1965). — 4b. KRÖZ, W. und E. BUDDECKE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 665 (1967). — 5. KAPLAN, K. und K. MEYER, Nature (London) 183, 1267 (1959). — 6. MATHEWS, M. B. und S. GLAGOV, J. clin. Invest. 45, 1103 (1966). — 7. BUDDECKE, E. und M. SZIEGOLEIT, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 337, 66 (1964). — 8. BOAS, N., J. biol. Chemistry 204, 553 (1963). — 9. DISCHE, Z., J. biol. Chemistry 167, 189 (1947). — 10. STUHLSTADT, H. W., Biochemische Untersuchungen über saure Mucopolysaccharide, Diss. Aachen (1963). — 11. STEGEMANN, H., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 311, 41 (1958). — 12. BUDDECKE, E. und E. WERRIES, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 340, 257 (1965). — 13. BUDDECKE, E. und O. HOEFLE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 347, 173 (1966). — 14. BUDDECKE, E., G. REICH und U. STEIN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 347, 192 (1966). — 15. MEYER, K., Acid Mucopolysaccharides in Some Pathological Syndromes. Colloque sur le Biochimie du Tissu Conjonctif, Expos. ann. Biochim. méd. Ed. by Masson & Cie, Paris (1963). — 16. DAVIDSON, E. A. und B. WOODHALL, J. biol. Chemistry 234, 2951 (1959). — 17. ADAMS, J. B. und M. F. MEANEY, Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 54, 592 (1961). — 18. DAVIDSON, E. A. und J. G. RILEY, J. biol. Chemistry 235, 3367 (1960). — 19. BUDDECKE, E. und J. WOLLENSAK, Graefes Arch. Ophth. 171, 105 (1966). — 20. STALDER, K., Der experimentelle Lathyrismus und seine Anwendung als Hilfsmittel der Bindegewebsforschung, Beiträge zur Silikoseforschung, Sonderband V, 189 (1963).

Prof. Dr. E. Buddecke
44 Münster (Westf.)
Waldeyerstr. 15