

Spontane und chloramphenicolinduzierte Chromosomenmutationen und biochemische Befunde bei zwei Fällen mit Glutathionreduktasemangel (NAD(P)H: Glutathione oxidoreductase, E.C. 1.6.4.2.)*

K. E. HAMPEL

I. Medizinische Klinik der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. H. Frhr. von KRESS)

G. W. LÖHR, K. G. BLUME und H. W. RÜDIGER

Medizinische Klinik der Universität Freiburg
(Direktoren: Prof. Dr. G. W. LÖHR und Prof. Dr. W. GEROK)

Eingegangen am 21. April 1969

Spontaneous and Chloramphenicol-Induced Chromosome Mutations and Biochemical Data in Two Cases with Glutathione Reductase Deficiency (NAD(P)H: Glutathione oxidoreductase, E.C. 1.6.4.2.)

Summary. In one proband with pancytopenia and in his mother with normal blood picture the pattern of the erythrocyte enzymes revealed a glutathione reductase deficiency with a missing GR-II-band in the electropherogram. The incidence of spontaneous aberrations in the chromosomes of both individuals (52—58% and 7.2—8% metaphases with chromosomal damage) was significantly higher than in normal controls (0—3%). After 0.5 mg chloramphenicol per ml culture medium was applied 24 hours before fixation the number of damaged metaphases further increased to about 81% and 19—21%, respectively. Possible reasons for this phenomenon are discussed.

Einleitung

Der autosomal-dominant vererbte Glutathionreduktasemangel als Ursache von Pancytopenien und hämolytischen Anämien wurde 1962 von LÖHR u. WALLER [11] beschrieben.

Cytogenetische Befunde bei sechs dieser Patienten mit Glutathionreduktasemangel wurden erstmals von SCHROEDER [13] 1966 mitgeteilt. Bei drei Fällen mit Pancytopenie konnten in etwa 5—17% der 38—65 ausgewerteten Metaphasen Chromosomenaberrationen nachgewiesen werden. Vorwiegend handelte es sich um Brüche. Reunionsfiguren wurden nicht beobachtet. Bei drei weiteren Merkmalsträgern ohne Pancytopenie konnten spontane Chromosomenmutationen, die das Ausmaß der Kontrollen signifikant überstiegen, nicht dargestellt werden.

Kasuistik

Untersucht wurden die Enzymdefektträger W. D. Mat. und dessen Mutter H. Bind., verw. Mat.

Vater: im Zweiten Weltkrieg gefallen, keine Blutbildveränderungen bekannt.

* Herrn Professor Dr. H. E. Bock, Tübingen, zum 65. Geburtstag gewidmet.

Mutter: nie ernstlich erkrankt, 1953 wegen Cystitis insgesamt 30 Tabletten Furdantin® (3 g N-(5-Nitro-2-furfuryliden)-1-aminohydantoin) und wegen rezidivierender Kopfschmerzen und Dysmenorrhoe seit ca. 18 Jahren insgesamt etwa 80 Tabletten Gelonida antineuralgica®, 10 Tabletten Thomapyrin®, 160 Tabletten Eu-Med® (entsprechend insgesamt etwa 23 g Acetylsalicylsäure, 11 g Phenacetin, 8 g Phenylidimethylpyrazolon, maximale Tagesdosis je 0,45 g Phenacetin und Phenylidimethylpyrazolon). Klinischer Befund unauffällig, Blutbild: Hb 16,7 g%, Ery. 4,91 Mill./mm³, HbE 33 pg, Leuko. 8700/mm³, Thrombo. 218000/mm³, Diff.-Blutb.: 5% Stabk., 68% Segm., 1% Eos., 20% Lymph., 6% Mono.

Proband W. D. Mat.: ausgetragene Schwangerschaft, Spontangeburt 1945, Geburtsgewicht und -länge: 2500 g bzw. 48 cm, deutlicher Wachstums- und Gewichtsrückstand im Säuglingsalter, erstmals flächenhafte Hämatome im 16. Monat, deswegen stationäre Einweisung. Anämie und thrombopenische hämorrhagische Diathese als Werlhof-Syndrom gedeutet, fleckförmige Pigmentationen am Stamm, Bluttransfusionen und unbekannte Menge Vitamin K. Im 8. Lebensjahr stationäre Behandlung wegen Pancytopenie unklarer Genese, seitdem ambulant Bluttransfusionen. Erneute Aufnahme im 11. Lebensjahr: weitgehend aplastisches Knochenmark, Minderwuchs, bräunliche Hautpigmentation: Verdachtsdiagnose einer Fanconi-Anämie. Im 14. Lebensjahr stationäre Behandlung einer unstillbaren Epistaxis. Im 18. Lebensjahr Aufnahme in der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin. Befund: Größe: 162 cm, Gewicht: 40,8 kg (Sollgewicht: 57,2 kg), Schleimhäute blaß, generalisierte bräunliche Pigmentation, besonders in Axillar- und Inguinalregion. Laborbefunde: Blutbild: Hb 5,4 g%, Ery. 1,44 Mill./mm³, HbE 40 pg, mittlerer Erythrocytendurchmesser: 8,0 μ , sphärischer Index 0,28, Retik. 13–30‰, Hämatokrit 16%, Leuko. 2300/mm³, Diff.-Blutb.: 10% Stabk., 49% Segm., 1% Eos., 35% Lymph., 5% Mono., Thrombo. 5000/mm³. Sternalmark: hochgradige Hypoplasie der Hämoopoese bei relativer Vermehrung des reticulohistocytären Systems, auffallende Mastocytose, Befund wie bei Panmyelopathie unklarer Genese. Blutgruppe A₁Rh (CeDee), osmotische Erythrocytenresistenz 0,40–0,30%, mechanische Resistenz 20,8%, Säurehämolyse nur gegen eigene Erythrocyten stark positiv, Coombs-Test und Kälteagglutinine negativ. BSG 38/70 mm, Gesamteiweiß 6,3 g%, Papierelektrophorese: 68% Albumine, 3% α_1 -, 7% α_2 -, 13% β - und 9% γ -Globuline. Ultrazentrifugenuntersuchung (182000 g): M-Fraktion (17–20 S) ca. 3%, G-Fraktion (7 S) ca. 12% und A-Fraktion (4 S) ca. 85% (Dr. HIRCHERT, Institut für Veterinärhygiene der Freien Universität Berlin), Serum-eisen 150 μ g/100 ml, Eisenbindungskapazität des Serums 380 μ g/100 ml, Serumbilirubin unter 0,7 mg/100 ml, Schilling-Test: von der oral verabfolgten Dosis Vitamin B₁₂-⁵⁸Co wurden in 24 Std 10,7% im Urin ausgeschieden. T/2 der ⁵¹Cr-markierten Erythrocyten = 21,8 Tage, Gerinnungsstatus und Thrombelastogramm unauffällig, 17-Ketosteroide im Urin: 5–9 mg/die, keine Skelet-, Nieren- oder Augenmißbildungen. Verdachtsdiagnose einer oligosymptomatischen Form der Fanconi-Anämie. Seit Entlassung im Januar 1964 insgesamt 67 Erythrocyten-sedimente. Seit 1963 keine kontraindizierten Pharmaka. Befund zur Zeit der cytogenetischen und biochemischen Untersuchungen: Größe 166 cm, Gewicht 43 kg (Sollgewicht 63,5 kg). Klinischer Befund unverändert, Hb 3,6 g%, Ery. 1,03 Mill./mm³, HbE 38 pg, Leuko. 3500/mm³, Thrombo. 9000/mm³, Retik. 2‰, BSG 100/130 mm. Geringe körperliche Belastung (Treppensteigen) ohne Dyspnoe möglich.

Cytogenetische Methodik

Die Leukocytenkulturen wurden nach der von MOORHEAD et al. [12] angegebenen, geringfügig modifizierten Methode in Serien angesetzt und bearbeitet. Ein Teil der Kulturen erhielt 0,5 mg/ml Chloramphenicolsubstanz (Leukomycin®) 24 Std vor Abbruch. Abweichend von früher angegebenen Richtlinien für die quantitative Bewertung induzierter Chromosomenaberrationen (HAMPPEL [8]) wurde lediglich die mittlere Zahl der Aberrationstypen pro Metaphase ohne Berücksichtigung der resultierenden mittleren Bruchfrequenz angegeben, da bei spontanen Aberrationen z. T. presplit- von postsplit-Läsionen nicht abzugrenzen sind. Zusätzlich wurden achromatische Läsionen (gaps) erfaßt. Als Brüche wurden Veränderungen mit Dislokation der Fragmente angesehen.

Die cytologische Bewertung von Knochenmarkszellen erfolgte an dem routinemäßig nach PAPPENHEIM gefärbten Sternalmarkausstrich des Probanden W. D. Mat. vom 17. 10. 1963.

Tabelle 1. Cytogenetische Befunde

Enzymdefektträger Kultur-Nr. Datum Chloramphenicol (pro ml)	W. D. Mat. (mit Pancytopenie)					Mutter H. Bind. (klinisch unauffällig)				
	1	2	3	4	5—8	9	10	11	12	
	25.10.63	17.1.67	17.1.67	8.4.68	8.4.68	10.5.68	10.5.68	10.5.68	10.5.68	
	—	—	—	—	0,5 mg	—	—	0,5 mg	0,5 mg	
Achromatische Läsionen (gaps)	5	13	11	12	5	6	5	17	6	
Chromatidbrüche	28	17	17	16	17	5	4	23	11	
Isochromatid- und Chromosomen- brüche	5	1	1	8	13	2	1	15	5	
Azentrische Fragmente gedoppelte	13	30	40	34	36	9	5	6	11	
einzelne	—	1	3	3	1	—	—	—	1	
Reunionsfiguren (Interchanges)	3	11	10	12	5	—	—	1	—	
Dizentrische Chromosomen	—	3	5	2	1	—	—	—	—	
Ringchromosomen	1	4	—	1	—	—	—	—	—	
Metaphasen mit weitgehender Zer- störung der Chromosomenstruktur	—	—	—	—	3	—	—	—	—	
Nicht klassifizierbare Aberrationen	—	—	1	1	10	—	—	—	—	
Metaphasen mit Aberrationen (%)	25	52	54	58	~ 81	7,2	8	21,1	19	B = 20,05 E = 7,6 $\chi^2 = 20,4$ F. G. = 1 P < 0,0005
Aberrationstypen pro 100 Metaphasen	27,5	81	85	85	> 154	7,6	8,4	27,2	26	E = 8,0 $\chi^2 = 43,2$ F. G. = 1 P < 0,0005
Zahl der bewerteten Metaphasen	200	100	100	100	57	291	178	227	129	

Biochemische Methodik

Gewinnung der Erythrocyten nach BUSCH [6]. Die Bestimmung der Enzymaktivitäten erfolgte nach den Vorschriften von WALLER et al. [17]. Bestimmung des reduzierten Glutathions und des Glutathion-Stabilitätstests nach BEUTLER et al. [2]. Heinzkörperstest nach BEUTLER et al. [1]. Trennung der Enzymkomponenten der Erythrocytenglutathion-Reduktase [5] in modifizierter Form: nach Hämolyse [5] der nach BUSCH [6] gewonnenen Erythrocyten wird das Hämolsat auf Cellogelelektrophoresestreifen aufgetragen, 8,5 cm vom kathodischen Ende in Form eines schmalen Striches. Kontinuierliches Puffersystem: 0,01 M KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 -Puffer, pH 5,3, der 2×10^{-6} M 2-Mercaptoäthanol und 4×10^{-4} M $\text{Mg} \cdot \text{K}_2$ -EDTA enthält. Trennzeit 40—45 min. Spannung 1000 V, Temperatur -4°C , 2 mA/Streifen, Hochspannungselektrophorese-Apparatur nach WIELAND u. PFEIDERER, Herstellerfirma Hormuth und Vetter, Wiesloch in Baden. Färbung der Pherogramme [5], Inkubationsdauer 5—10 min.

Ergebnisse*Cytogenetische Untersuchungen*

Aus Tabelle 1 geht hervor, daß bei dem Probanden mit Pancytopenie spontane Chromosomenaberrationen in den Leukocytenkulturen 2—4 bemerkenswert häufig — in 52—58% der analysierten Metaphasen — auftraten. Die Aberrationshäufigkeit der Kultur 1 vom 25. 10. 1963 war dagegen mit 27,5% deutlich niedriger. Die häufigsten Aberrationstypen waren gedoppelte azentrische Fragmente, Chromatidbrüche, achromatische Läsionen und Translokationsfiguren. Im Durchschnitt wurden pro Metaphase in den Kulturen 2—4 0,8—0,9-Aberrationstypen gezählt. Einige der beobachteten Reunionsfiguren sind in Abb. 1 zeichnerisch dargestellt. Reziproke Translokationen zwischen homologen Chromosomen wurden nicht nachgewiesen. Bei der klinisch unauffälligen Mutter des Probanden, die ebenfalls Enzymdefekträgerin war, betrug der Prozentsatz der von Strukturanomalien betroffenen Metaphasen in den unbehandelten Kulturen 7,2—8 bei einer mittleren Zahl der Aberrationstypen pro Zelle von 0,076—0,084. Wenn im Mittel bei Kontrollkulturen von Patienten mit nichthämatologischen Erkrankungen 1,3% der Metaphasen Spontanmutationen zeigten, dürfte mit einer Wahrscheinlichkeit von

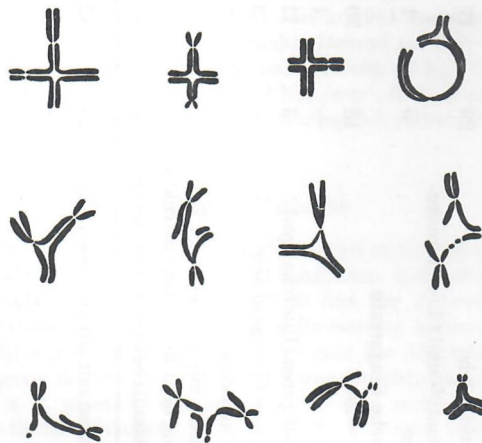


Abb. 1. Schematische Beispiele beobachteter Translokationsfiguren bei Glutathionreduktase-defekt (Proband W. D. Mat., Leukocytenkulturen 2—4)

Tabelle 2. *Kontrollen*

Kultur-Nr.		Zahl der bewerteten Metaphasen	Metaphasen mit Aberrationen (%)
1—20	Spender mit nichthämatologischen Erkrankungen	2000	1,3 (0—3)
	<i>Gesunde Spenderin B. Sch.:</i>		
21	ohne Zusatz	300	2,7
22	mit 0,5 mg Chloramphenicol pro Milliliter Medium	300	1,7
23	mit 0,5 mg Chloramphenicol pro Milliliter Medium	300	3,0
	<i>Spenderin B. Li. mit Subclaviaverschluss:</i>		
24	ohne Zusatz	100	1
25	mit 0,5 mg Chloramphenicol pro Milliliter Medium	61	3
	<i>Spender R. Sch. mit Lebereirrhose:</i>		
26	ohne Zusatz	100	0
27	mit 0,5 mg Chloramphenicol pro Milliliter Medium	100	1
28	mit 0,5 mg Chloramphenicol pro Milliliter Medium	100	1

$p < 0,0005$ ($E = 13\%$, $B = 76\%$, $\chi^2 = 305,3$ F. G. = 1) anzunehmen sein, daß die Spontanrate der Chromosomenaberrationen auch bei der Merkmalsträgerin ohne klinische Symptome erhöht ist.

Bei beiden Probanden mit Glutathionreduktasedefekt war nach Zusatz von Chloramphenicol sowohl der Prozentsatz der von Strukturanomalien betroffenen Metaphasen als auch der Mittelwert der Aberrationstypen pro Metaphase signifikant erhöht. So wurden bei dem Patienten mit Pancytopenie nach Chloramphenicolzusatz etwa 81%, bei seiner Mutter 19—21,1% Metaphasen mit Aberrationen gefunden. Die Zahl der Aberrationstypen pro Metaphase ist bei W. D. Mat. mit 154/100 zu niedrig, da die drei hochgradig geschädigten Zellen darin nicht enthalten sind. Die Zahl der beobachteten Reunionsfiguren nach Chloramphenicolzusatz entsprach annähernd den Werten der unbehandelten Kulturen. Da in den Präparaten der Kulturen 5—8 nur vereinzelt auswertbare Metaphasen gefunden werden konnten, wurden deren Ergebnisse zusammengefaßt.

Entsprechende Chloramphenicolkonzentrationen induzierten in vitro an den Leukocyten verschiedener Probanden (Tabelle 2) keine das Ausmaß der Spontanrate übersteigende Chromosomenaberrationen.

Der Versuch einer Züchtung von Fibroblasten aus der Hautbiopsie des Pat. W. D. Mat. war erfolglos¹.

¹ Herrn Dr. med. E. SCHLEIERMACHER, Institut für Anthropologie und Humangenetik der Universität Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. F. VOGEL), danken wir für die Durchführung der Züchtungsversuche.

Tabelle 3. *Biochemische Befunde bei der Bestimmung der Erythrocytenenzyme des Probanden W. D. Mat. und seiner Mutter H. Bind. Enzymaktivitäten in iE:U/10¹¹ Erythrocyten (1U = 1 μMol-Substratumsatz/min bei 25° C, pH = 7,5)*

Enzym	Proband W. D. Mat.		Mutter H. B. 14. 3. 68	Normalwerte
	6. 10. 67	14. 3. 68		
1. Hexokinase	3,40	2,90	2,50	1,70 ± 0,2
2. Glucose-6-P-D	17,9	17,7	16,6	17,9 ± 2,1
3. 6-Phosphogluconat-D	14,9	14,1	15,9	13,6 ± 1,4
4. GSSG-Reduktase	6,00	6,10	5,90	10,3 ± 1,9
5. 6-Phospho-Fr-Kinase	17,5	16,1	14,0	12,8 ± 1,3
6. Triose-P-Isomerase	3410	3240	2485	2740 ± 250
7. P-Glyceratmutase	75,4	79,5	72,3	68,0 ± 6,3
8. Pyruvatkinase	33,4	33,2	26,1	29,5 ± 5,2
9. Magnesium-ATPase	27,8	28,9	25,3	26,5 ± 2,4
10. GSH (μMol/10 ¹¹ Ery.)	22,4	22,6	23,6	21,7 ± 2,0
11. GSH-Stabilität	37%	35%	36%	< 25% Abfall
12. Heinzkörperstest	44%	48%	52%	< 10% m. 4 HK

Cytologische Untersuchungen

Bei der Zählung von insgesamt 5700 kernhaltigen Knochenmarkszellen des Probanden W. D. Mat. konnten bei einem Mitoseindex von 1,4⁰/₀₀ insgesamt 6 Metaphasen und 2 Anaphasen beobachtet werden, davon eine Anaphase mit Brückenbildung. Insgesamt 9 Zellen enthielten einen Mikronucleus, davon wurden 7 als Erythroblasten bzw. Megaloblasten, eine als Myelocyt sowie eine Zelle als zweikernige Plasmazelle mit zusätzlichem Kleinkern differenziert. Bei 10000 Zellen eines normalen Knochenmarks ließen sich bei einem Mitoseindex von 2,1⁰/₀₀ keine Mikronuclei nachweisen.

Biochemische Untersuchungen

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist, liegen die bei dem Probanden und dessen Mutter bestimmten Erythrocytenenzymaktivitäten mit Ausnahme der Glutathionreduktase im Bereich der Norm oder sind sogar leicht erhöht, wie man es bei jungen Erythrocytenpopulationen antreffen kann. Die NADPH-abhängige Glutathionreduktase, der GSH-Stabilitätstest und der Heinzkörperstest sind deutlich pathologisch. Die Glutathionreduktase ist bei dem Probanden auf 58,6% und bei seiner Mutter auf 57,2% der Norm vermindert. In der Glutathionreduktase-enzymelektrophorese fehlt bei beiden Untersuchten die GR-II-Fraktion. Diese Befundkonstellation ist typisch bei Probanden mit Glutathionreduktasemangel [5]. Der Erbgang dieses Enzymdefekts, der auch die Leukocyten und Thrombocyten betreffen kann, ist autosomal dominant [3, 17], die Genfrequenz liegt bei 0,0094 [4].

Diskussion

Bei den zwei hier untersuchten Enzymdefektträgern, besonders bei dem mit Pancytopenie, waren spontane Chromosomenmutationen in der Leukocytenkultur deutlich häufiger als bei den sechs von SCHROEDER [13] mitgeteilten Fällen. Bewertungsunterschiede können weitgehend ausgeschlossen werden, da es sich vor-

wiegend um Brüche handelte. Als achromatische Läsionen (gaps) wurden nur Veränderungen mit vollständiger Unterbrechung der chromosomalen Linearstruktur bewertet. Möglicherweise ist die individuelle Streubreite der Chromosomenaberrationen *in vitro* bei derartigen Merkmalsträgern hoch. Dabei hat offenbar das Ausmaß der chromosomalen Veränderungen von 1963 bis 1967/68 zugenommen. In diesem Zeitraum dürften kontraindizierte Pharmaka nicht eingenommen worden sein.

Nicht abzuschätzen ist das Ausmaß der erst unter den Bedingungen der Leukocytenkultur manifest werdenden chromosomalen Schädigung. Die auch von SCHROEDER [13] beobachtete Kleinkernbildung in Knochenmarkzellen dürfte dafür sprechen, daß Spontanaberrationen auch *in vivo* gehäuft auftreten. Die hier gefundene relativ niedrige Zahl pathologischer Zellformen könnte ebenfalls dafür sprechen, daß ein Teil der Chromosomenaberrationen erst *in vitro* entstanden sein könnte.

Bemerkenswert erscheint, daß Chloramphenicol bei klinisch unauffälligen und pancytopenischen Glutathionreduktasedefektträgern Chromosomenmutationen in erheblichem Umfang auszulösen vermag. Die Zahl der Aberrationstypen pro Metaphase war um das Zwei- bis Dreifache höher als bei unbehandelten Kulturen. Wenn bei Glutathionreduktasemangel *in vitro* durch 0,5 mg/ml Chloramphenicol eine Schädigung von etwa 20% der Metaphasen eintritt, so entspricht dies derjenigen Schädigung, die unter vergleichbaren Bedingungen durch alkylierende Substanzen folgender annähernder Konzentrationen induziert wird: 2×10^{-3} µg Trenimon, 2×10^{-2} µg TEM, 0,6 µg Thiotepa, 2×10^2 µg N,N,N'-Tris-(2-chloräthyl)-N',O-propylen-phosphorsäureester-diamid (Asta Z 4828) und 3×10^2 µg N-(2-Chloräthyl)-N'-(2-chloräthyl)N',O-propylen-phosphorsäureester-diamid (Asta Z 4942) pro Milliliter Kulturmedium [8].

Der Chloramphenicoleffekt könnte vorwiegend zwei kausalen Faktoren zugeschrieben werden:

1. Verschiedene Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß Chloramphenicol auch beim Säuger die Proteinsynthese zu hemmen vermag. So konnten WEISBERGER, WOLFE u. ARMENTROUT [18] an einem zellfreien System mit Reticuloeytenribosomen von Kaninchen nachweisen, daß durch Chloramphenicol die Inkorporation von U-¹⁴C l-Leuzin und U-¹⁴C l-Phenylalanin in trichloressigsäurefällbares Material nach Stimulation der Proteinsynthese durch Ribosomen-RNS erniedrigt war. DJORDJEVIC u. SZYBALSKI [7] fanden bei Gewebekulturen menschlicher Knochenmarkzellen (D 985) eine Hemmung der Proteinsynthese um 65—69% am 4.—6. Tag der Chloramphenicolexposition. Eine Proteinsynthesehemmung im zellfreien Medium durch membrangebundene Ribosomen der Rattenmilz um 80—90% fanden TALAL u. EXUM [14] nach Chloramphenicolzusatz. Es ist denkbar, daß es durch Chloramphenicol auch in Leukocytenkulturen zu einer Hemmung der Proteinsynthese kommen kann. Dadurch könnten chromosomale Reunionsprozesse gehemmt werden, wie dies von VOGEL u. VRBA [15] an HeLa-Zellen und von WOLFF [19] bei *Vicia faba* beobachtet wurde. Bei röntgenbestrahlten Trillium kamtschaticum-Zellen fanden IWABUCHI, SAHO u. TANIFUJI [9] eine erhöhte Aberrationsausbeute, wenn gleichzeitig Chloramphenicol hinzugesetzt wurde. Die annähernd gleich große Zahl von Translokationsfiguren bei dem hier benutzten unbehandelten und mit Chloramphenicol versetzten Material spricht eher gegen die

Annahme eines derartigen Wirkungsmechanismus auch bei Glutathionreduktasemangel. Zu berücksichtigen ist allerdings der geringe Stichprobenumfang der Reunionsfiguren, der eine definitive Aussage nicht zuläßt, und die Möglichkeit, daß einzelne Reunionsfiguren in der G_2 -Phase entstanden sind. Wenn darüber hinaus die spontanen achromatischen Läsionen ebenfalls der G_2 -Phase zuzuordnen sind, müßte deren Anzahl nach Chloramphenicolbehandlung bei Annahme einer Restitutionshemmung erhöht sein. Dies wurde jedoch nur bei einer Kultur (Nr. 11) beobachtet.

2. Da der Glutathionreduktasedefekt auch in Leukocyten nachgewiesen wurde [17], könnte die Chloramphenicolexposition zu einer Störung im Ablauf energie liefernder Prozesse und damit zur Bruchinduktion führen.

Es bleibt abzuwarten, ob Chloramphenicol bei Trägern des Glutathionreduktasemangels regelmäßig chromosomale Aberrationen induziert oder ob es sich bei dieser Mitteilung um einen Ausnahmefall handelt. Stellt man die beobachtete Genfrequenz von 0,0094 [4] in Rechnung, so wäre insbesondere zu prüfen, in welchem Ausmaß Chromosomenveränderungen durch entsprechende Pharmaka bei klinisch unauffälligen Enzymdefektträgern zu erwarten sind. Hervorzuheben ist noch in diesem Zusammenhang, daß die Hemmkonstante für Chloramphenicol für die Erythrocyten-Glutathion-Reduktase bei Gesunden ($9,0 \times 10^{-4}$ M) und bei Enzymdefektträgern ($1,2 \times 10^{-3}$) annähernd gleich ist [16]. Untersuchungen zur Entstehung der Anämie bei Glutathionreduktasemangelträgern durch WALLER et al. [16] ergaben, daß eine Hemmung der Glutathionreduktion durch Nitrofurantoin im Azoester-Test [10] nur in intakten Erythrocyten von Defektträgern auftrat. Ein ähnlicher Mechanismus im Sinne einer gestörten Glutathionreduktion durch Chloramphenicol ist bei Glutathionreduktasemangelträgern zu diskutieren.

Literatur

1. BEUTLER, E., R. J. DERN, and A. S. ALVING: The hemolytic effect of primaquine. *J. Lab. clin. Med.* **44**, 167 (1954).
2. —, D. DURON, and B. M. KELLEY: Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. clin. Med.* **61**, 882 (1963).
3. BLUME, K. G., M. GOTTWIK, G. W. LÖHR u. H. W. RÜDIGER: Familienuntersuchungen zum Glutathion-Reduktase-Mangel menschlicher Erythrocyten. *Humangenetik* **6**, 163 (1968).
4. —, A. v. LINGEN, G. W. LÖHR, H. W. RÜDIGER u. G. G. WENDT: Beitrag zur Populationsgenetik der Glutathionreduktase menschlicher Erythrocyten. *Humangenetik* **6**, 266 (1968).
5. —, H. W. RÜDIGER, and G. W. LÖHR: Electrophoresis of glutathione reductase from red blood cells. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **151**, 686 (1968).
6. BUSCH, D., u. K. PELZ: Erythrozytenisolierung aus Blut mit Baumwolle. *Klin. Wschr.* **44**, 983 (1966).
7. DJORDJEVIC, B., and W. SZYBALSKI: Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine into deoxyribonucleic acid of human cells and its effect on radiation sensitivity. *J. exp. Med.* **112**, 509 (1960).
8. HAMPEL, K. E.: Über die Wirkung von Zytostatika auf die Chromosomen des Menschen. *Int. J. clin. Pharmacol.* **1**, 322 (1968).
9. IWABUCHI, M., T. SAHO, and S. TANIFUJI: Studies on the factors affecting the rejoining of chromosome breaks produced by X-rays. I. Effects of Mitomycin C, Chloramphenicol, adenosine triphosphate and nucleosides on the yield of X-ray induced chromosome aberrations. *Jap. J. Genet.* **41**, 379 (1966).

10. KOSOWER, N. S., G. A. VANDERHOFF, and I. M. LONDON: The regeneration of reduced glutathione in normal and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient human red blood cells. *Blood* **29**, 313 (1967).
11. LÖHR, G. W., u. H. D. WALLER: Eine neue enzymopenische hämolytische Anämie mit Glutathionreduktasemangel. *Med. Klin.* **57**, 1521 (1962).
12. MOORHEAD, P. S., P. C. NOWELL, W. J. MELLMAN, D. M. BATTIPS, and D. A. HUNGERFORD: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* **20**, 613 (1960).
13. SCHROEDER, T. M.: Cytogenetische und cytologische Befunde bei enzymopenischen Panmyelopathien und Pancytopenien. Familiäre Panmyelopathie Typ Fanconi, Glutathionreduktasemangel-Anämie und megaloblastäre Vitamin B₁₂-Mangel-Anämie. *Human-genetik* **2**, 287 (1966).
14. TALAL, N., and E. D. EXUM: Two classes of spleen ribosomes with different sensitivities to chloramphenicol. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **55**, 1288 (1966).
15. VOGEL, F., and M. VRBA: Influence of chloramphenicol on the reunion frequency of cytoxan-induced chromosome breaks in HeLa cells. *Mutat. Res.* **4**, 874 (1967).
16. WALLER, H. D., H. C. BENÖHR u. P. WAUMANS: Zur Entstehung der medikamenteninduzierten Anämie bei Glutathionreduktase-Mangelträgern. *Klin. Wschr.* **47**, 25 (1969).
17. —, G. W. LÖHR, E. ZYSNO, W. GEROK, D. VOSS u. G. STRAUSS: Glutathion-Reduktase-Mangel mit haematologischen und neurologischen Störungen. *Klin. Wschr.* **43**, 413 (1965).
18. WEISBERGER, A. S., S. WOLFE, and S. ARMENTROUT: Inhibition of protein synthesis in mammalian cell-free systems by chloramphenicol. *J. exp. Med.* **120**, 161 (1964).
19. WOLFF, S.: Mechanisms of dose-rate effects: Insights obtained from intensity and fractionation studies on chromosome aberration induction. *Jap. J. Genet.* **40**, 38 (1965).

Priv.-Doz. Dr. K. E. HAMPEL
I. Medizinische Klinik
der Freien Universität Berlin
1000 Berlin 19, Spandauer Damm 130