

## Erstbeschreibung eines Hexokinasemangels

Einen pathologischen Befund der Hexokinase fanden Löhr et al. im Jahre 1965 [178]. Sie stellten bei drei Patienten mit Fanconi-Anämie mit schwerer Panmyelopathie, von denen zwei nicht verwandt waren, eine deutliche Reduktion der Hexokinase in den Erythrozyten mit Verminderung zwischen 24 und 60 % bei einer Erhöhung der Michaelis-Konstante für Glukose auf das Zehnfache fest.

Bei einem der drei Patienten war die Hexokinase in Leukozyten und Thrombozyten bei Null [177, 178].

Weiterhin fand sich ein Abfall des ATP-Spiegels und der Laktatbildung auf 24–60 % und eine mäßige Heinz-Körper-Bildung. Damit hatte die Marburger Gruppe einen weiteren Enzymdefekt erstmals beschrieben [178], der erste Fall eines Hexokinasemangels mit NSHA wurde 1967 von Valentine et al. beschrieben [236].

A. Keitt beschrieb 1969 an zwei Patientinnen mit Hämolysen einen Abfall der Hexokinase auf 50 % der Norm. Im Gegensatz zu den Marburger Patienten zeigten die Leukozyten keinen Hexokinase-mangel. In dieser sehr ausführlichen Arbeit wird die Marburger Gruppe nicht erwähnt [132].

Löhr hielt es für unwahrscheinlich, dass alle Fälle von familiärer idiopathischer Panmyelopathie auf einen Hexokinase-mangel zurückzuführen seien. Die normalen biochemischen Befunde bei einigen Fällen sprachen dafür.

Er untersuchte deshalb die sog. „Transport-ATPase“, die in der Erythrozytenmembran lokalisiert ist. Diese wird durch Natrium, Kalium und Magnesium aktiviert und hat eine wichtige Funktion für den Kationentransport durch die Zellmembran. Es war bekannt, dass Strophanthin und andere Glykoside die Aktivität dieses Enzyms hemmen. Löhr entwickelte zusammen mit seiner Doktorandin und später langjährigen Assistentin Hanna Esselborn einen kinetischen optischen Test in den Erythrozytenstromata, mit dem die Transport-ATPase-Aktivität

bestimmt werden konnte. Es handelt sich dabei um eine fortlaufende kinetische Messung der ATP-Spaltung, wobei das ATP in der als Hilfsenzym angeschlossenen Pyruvatkinasereaktion immer wieder regeneriert wird, sodass die ATPase immer unter optimalen Substratsättigungen arbeitet [98].

Dabei konnte die osmotische Arbeit für die Kaliumkonzentrierung und für die Natriumelimination berechnet werden. Es zeigte sich, dass 34 % der ATP-Neubildung stündlich für die osmotische Arbeit benötigt werden, genauso viel wie die Transport-ATPase bei optimaler Substratsättigung bei pH 7,4 zu leisten vermag. Er schließt, dass ein Defekt der Transport-ATPase zur Störung des Zellstoffwechsels führen könne, weil es sich um eine limitierende Reaktion handelt.

In diesem Zusammenhang berichtet Löhr über eine Patientin, die nach Einnahme von minimalen Dosen von Herzglykosiden eine schwere absolute Arrhythmie mit niedriger Kammerfrequenz und Bigeminie erlitt. Nach Absetzen bildeten sich die Rhythmusstörungen zurück. Eine Analyse der Erythrozyten dieser Patienten erbrachte einen deutlichen Mangel an Membran-ATPase, eine Verminderung des intrazellulären Kaliums und eine Vermehrung des Natriums. Im Blutserum bestand eine Hyperkaliämie.

Löhr hatte damit eine Kombination von Enzymdefekten der Hexokinase und der Transport-Adenosintriphosphat-Phosphorylase der Erythrozyten beschrieben [184].

Unterbrochen wurde der Alltag im März 1960 durch eine Einladung zu dem ersten europäischen Symposium für Medizinische Enzymologie in Mailand. Die Arbeiten von Löhr und Waller fanden, insbesondere da sie den Pathomechanismus des Favismus entscheidend mit aufgeklärt hatten, starkes Interesse.

Ein Höhepunkt des Jahres 1960 war dann schließlich die Habilitation der beiden Dioskuren.

Löhr habilitierte sich mit einer Arbeit über „Enzymopenische hämolytische Anämien“, Waller legte eine Arbeit „Über die Biochemie der Zellalterung“ vor. Die Probevorträge wurden

am 15.07.1960 gehalten und verliefen problemlos, die Diskussion bot keine Schwierigkeiten, sodass die beiden am 11.11.1960 schließlich ihre Antrittsvorlesungen halten konnten. Damit war eine wichtige Hürde auf dem akademischen Weg genommen, wobei die Arbeit im Labor jedoch keine wesentliche Unterbrechung erfuhr.

## **Berlin – Rapoport**

Eine Anerkennung der Leistungen war 1960 eine Einladung von Samuel Mitja Rapoport zu einem internationalen Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten. Es kam zu vielen interessanten Begegnungen und angeregten Debatten, wobei dieses Symposium durch die Teilnahme des Nobelpreisträgers Otto Warburg besonders geehrt war. Sehr intensiv waren die Gespräche mit Rapoport und seinen Mitarbeitern.

Samuel Mitja Rapoport ist auch den Studenten in Westdeutschland ein Begriff geworden, denn sein Lehrbuch „Medizinische Biochemie“ wurde in vielen Auflagen gedruckt und von den Studenten wegen seiner hervorragenden Didaktik geschätzt [211].

Rapoport wurde 1911 im Gebiet Wolhynien an der russisch-österreichischen Grenze geboren. Die jüdische Familie zog später nach Odessa und erlebte dort die Grausamkeiten der russischen Revolution. 1920 zog die Familie nach Österreich, wo der junge Rapoport bald Mitglied der Kommunistischen Partei wurde. Er studierte Medizin in Wien und promovierte. 1933 begann er seine biochemischen Forschungen am Institut für Klinische Chemie über die Analyse von Aminosäuren im Serum. Zur Zeit der Besetzung Österreichs durch die Nationalsozialisten erhielt er ein Stipendium für klinische Arbeiten der Children's Hospital Research Foundation in Cincinnati und promovierte dort zum zweiten Mal. Er blieb in den USA. Während des Zweiten Weltkrieges beschäftigte er sich mit der Kon-

servierung von Blut in Blutkonserven, indem er ein Verfahren entwickelte, das die gespendeten Erythrozyten unter Beibehaltung des Energiemetabolismus über die Dauer von 3 Wochen stabilisieren konnte. Damit rettete er vielen verwundeten Soldaten an der Front das Leben.

In der ganzen Zeit blieb er aktives Mitglied der Kommunistischen Partei und geriet damit in die Fänge der antikommunistischen Aktivitäten des Senators Joseph McCarthy. Rapoport erfuhr davon während eines Kongresses in der Schweiz und beschloss, in Europa zu bleiben, wo er nach einem kurzen Zwischenspiel in Zürich 1951 an die Humboldt-Universität nach Ostberlin ging. Rapoport hinterließ ein vielseitiges Werk, u. a. über Wasser, Elektrolytgleichgewichte und Erythrozytenmetabolismus. Insbesondere beschrieb er die Rolle des 2,3-Diphosphoglycerates des Erythrozyten. Er entdeckte einen Stoffwechselzyklus, der nach ihm und seiner technischen Assistentin Jane Lübering benannt wurde und heute als Rapoport-Lübering-Zyklus bekannt ist [209, 210].

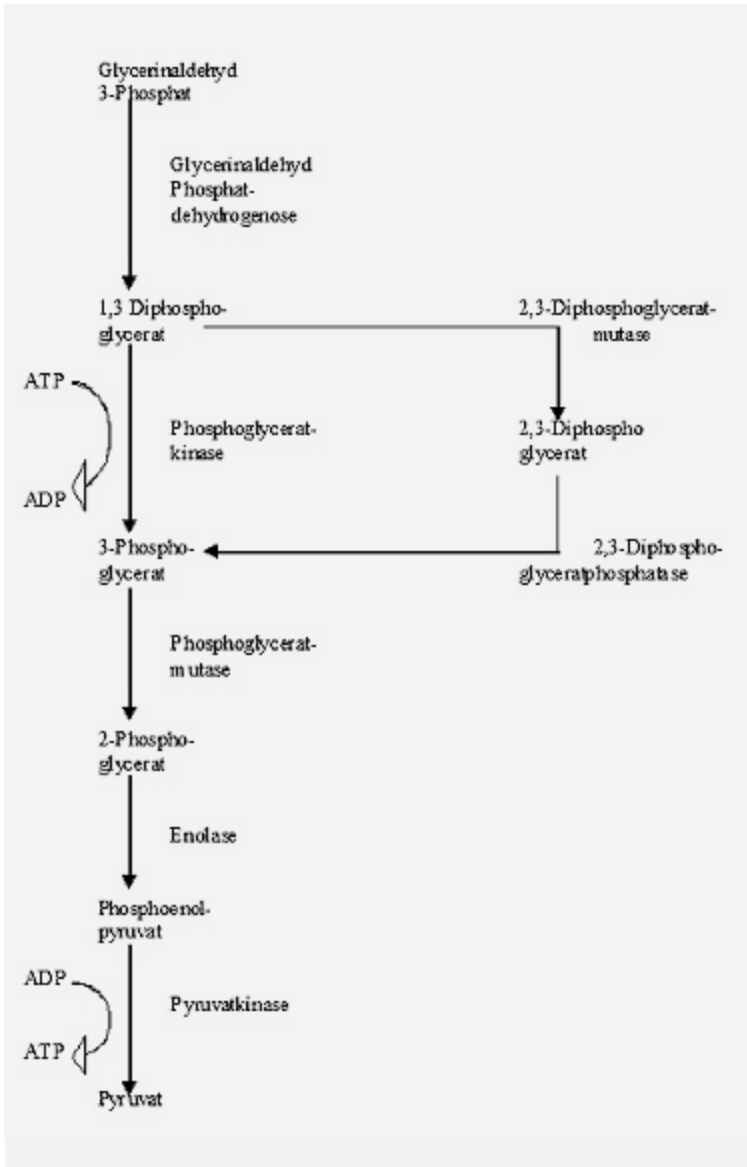
Er konnte 1952 an der Charité ein biochemisches Institut etablieren und erforschte u. a. die Retikulozyten, die Enzymatik der Lipooxygenase. Rapoport verstarb 2004 [125, 126].

Frau Löhr, die ihren Mann auf dieser Reise begleitete und mit Rapoport auch persönlich in Kontakt kam, berichtete über eine herzliche und freundschaftliche Begegnung, bei der die ideologischen Differenzen keine Rolle spielten.

Löhr selbst machte in späteren Gesprächen keinen Hehl aus seiner Ablehnung der politischen Haltung Rapoports, schätzte ihn jedoch als Wissenschaftler sehr.

## Diphosphoglyceratmutasemangel

Beim Rapoport-Lübering-Zyklus handelt es sich um einen Nebenweg der Glykolyse. Vom 1,3-Diphosphoglycerat ausgehend, wird durch die 2,3-Diphosphoglyceratmutase das 2,3-Diphos-



**Abbildung 19** Rapoport-Lübering-Zyklus

phoglycerat gebildet. Dieses wiederum wird über die 2,3-Diphosphoglyceratphosphatase zu 3-Phosphoglycerat umgewandelt, das über die Phosphoglyceratmutase zu 2-Phosphoglycerat umgebildet wird und über das Phosphoenolpyruvat mithilfe der Pyruvatkinase zu Pyruvat abgebaut wird.

Die biologische bzw. physiologische Funktion dieses Zyklus besteht in der Regulierung der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins als allosterischem Inhibitor. Das 2,3-Diphosphoglycerat stabilisiert die nicht mit Sauerstoff beladene Deoxyform und reguliert damit die Affinität des Hämoglobins für Sauerstoff in den Erythrozyten. Dabei bindet das 2,3-Diphosphoglycerat an die beiden  $\beta$ -Untereinheiten des Hämoglobins. Steigt das 2,3-Diphosphoglycerat an, verschiebt sich die Sauerstoffbildungskurve des Hämoglobins nach rechts. Hierdurch kann der gebundene Sauerstoff leichter abgegeben werden. Ein Absinken führt zu einer Linksverschiebung und damit zu einer stärkeren Bindung des Sauerstoffs an das Hämoglobin.

A. J. Prankerd fand bei Analysen von Proben einer Familie bei Vater und Sohn eine hämolytische Anämie mit deutlichem Mangel an ATP und 2,3-Diphosphoglycerat.

Durch Zugabe von Glukose oder Inosin stieg das Diphosphoglycerat nicht an. Prankerd interpretierte diese Beobachtung so, dass es sich dabei um ein Fehlen der Diphosphoglyceratmutase handelte. Er äußerte dieses als Vermutung [206, 207].

Anfang der 1960er Jahre war das Labor von Löhr und Waller in Marburg europaweit bekannt, sodass aus vielen Städten und Ländern Blutproben eingesandt wurden. 1961 kam aus der Kinderklinik des Hopital St. Vincent du Paul in Paris eine Blutprobe von einem Säugling, bei dem eine starke Hämolyse beobachtet wurde. Die französischen Kollegen hatten bereits eine Mesobilifuszinurie festgestellt. Die Analysen von Löhr und Waller fanden in den Erythrozyten keinen Mangel an ADP sowie eine Reduktion der Laktatbildung. Sie fanden eine stark verlangsamte 2,3-Diphosphoglyceratphosphatase-abhängige Monophosphoglyceratmutasereaktion und konnten so beweisen,

dass es sich bei den enzymatischen Analysen um einen extremen Mangel an Diphosphoglyceratmutase handelte. Damit hatten Löhr und Waller einen weiteren Enzymdefekt beschrieben, der in der *Revue Française d'Hématologie* 1961 veröffentlicht wurde. Erstautor war der Einsender Prof. Lelong aus Paris. Aus dem Titel geht nicht hervor, dass damit erstmals ein neuer Enzymdefekt beschrieben war, denn er lautete lediglich: „L'anémie hémolytique constitutionnelle non sphérocytaire avec pigmentationurie“ [139].

Löhr und Waller konnten damals an zwei nicht verwandten Kranken mit nicht sphärozytärer hämolytischer Anämie eine Erniedrigung der Diphosphoglyceratmutase nachweisen. Sie erbrachten diesen Nachweis durch Bestimmung der Aktivität der gewöhnlichen Diphosphoglyceratmutase in Hämolysaten. Dieses Enzym benötigt katalytische Spuren von 2,3-Diphosphoglycerat. Fehlt dieses, so verläuft die Phosphoglyceratmutasereaktion nur sehr langsam. Da aber 2,3-Diphosphoglycerat nur über die Diphosphoglyceratmutase gebildet werden kann, muss bei Verlangsamung der Diphosphoglyceratmutasereaktion auch deren Aktivität erheblich erniedrigt sein. Durch die Erniedrigung der Diphosphoglyceratmutase in den Erythrozyten dieser Patienten und dem daraus resultierenden Mangel an 2,3-Diphosphoglycerinsäure wird die Glykolyse und mit ihr die Hämoglobinreduktion sekundär verlangsamt. 1962 erfolgte die Veröffentlichung in deutscher Sprache, die in der Arbeit mit dem unscheinbaren Titel „Nicht sphärozytäre hämolytische Anämien“ völlig unterging [161, 170, 171, 246].

Weitere Erwähnung fand die Entdeckung in mehreren Übersichtsartikeln.

Das ist ein Beispiel dafür, was Maxwell Wintrobe meinte, wenn er in seinem Buch „Haematology, the Blossoming of a Science“, in dem die Arbeiten von Löhr und Waller ausführlich gewürdigt werden, schrieb:

„A number of earlier reported studies of Waller and Löhr include mention of various enzyme defects, but these were

included in comprehensive titles that did not call attention to these defects. As a consequence, the assignment of priorities is difficult" [257, S. 268].

In der Tat ist in dieser Arbeit mit Lelong als Erstautor eine wichtige Neubeschreibung eines Enzymdefektes völlig untergegangen. Offensichtlich fehlte Löhr und Waller die Routine eines wissenschaftlichen Marketings. So beschrieben sie einen weiteren Enzymdefekt, wie er 1960 von Prankerd vermutet wurde, wobei diese Information in den Publikationen mit völlig unscheinbaren Titeln versteckt wurde. Dennoch bleibt der Marburger Gruppe die Priorität, wenngleich sie im internationalen Schrifttum praktisch nicht zur Kenntnis genommen wurde.

## Pyruvatkinase

Im Jahr 1961 beschrieben Valentine, Tanaka und Miwa [235] eine weitere erbliche, nicht sphärozytäre hämolytische Anämie, den Pyruvatkinasemangel. Fast zeitgleich entdeckten Löhr und Waller ebenfalls diesen Defekt. Vorgetragen wurde dieses Ergebnis 1962 auf dem Hämatologenkongress von Löhr in Wiesbaden.

Die Forschungen zum Pyruvatkinasemangel bei Waller und Löhr sind ein weiteres Beispiel für ein ungeschicktes Publikationsverhalten. Im Jahr 1960 wurde das Blut eines 17-jährigen Mädchens mit schwerer nicht sphärozytärer Hämolyse dem Labor zugeschickt. Die Patientin war Tochter einer Prostituierten, die an Lues erkrankt war und im Februar 1961 verstarb. Löhr und Waller fanden nur geringste Aktivitäten der Pyruvatkinase. Glykolyse und ATP-Gehalt waren deutlich vermindert, während ADP und AMP erhöht waren. Im Lebergewebe der Patientin war die Pyruvatkinase unauffällig. Bei der anschließend untersuchten Mutter der Patientin zeigte sich, dass die Pyruvatkinaseaktivität um ein Drittel erniedrigt war. Aus nicht nachvollziehbaren Gründen wurde dieses Ergebnis nicht sofort





**Abbildung 20** Löhner und Waller

publiziert, sodass 1962 Tanaka, Valentine und Miwa die Priorität für die Erstbeschreibung dieses Defektes erhielten, denn auch hier gilt wie immer: „Quod non est in litteris non est in mundo.“

Waller und Löhner konnten ihre Fälle mit Pyruvatkinase vor internationalem Auditorium auf dem 9. Kongress der International Society of Hematology 1962 in Mexiko vortragen [247].

Publiziert wurde die Entdeckung des Pyruvatkinasemangels in Deutschland durch Löhner und Waller in der „Medizinischen Klinik“ von 1962 mit dem Verweis auf den Vortrag beim Deutschen Hämatologenkongress in Wiesbaden 1962 [165], wobei im Schriftverzeichnis angegeben wurde „im Druck“. Diese Arbeit erschien erst 1964 [173]. 1963 wurden in den *Folia Haematologica* diese Beobachtungen in erweiterter Form publiziert. Der Titel der Arbeit lautet: „Zur Biochemie einiger angeborener hämolytischer Anämien“. Die Information wurde im letzten Drittel der Arbeit dargestellt [170]. Abgedruckt wurden diese Ergebnisse dann nochmals 1964 unter dem unscheinbaren Ti-