

Eine ausführliche Mitteilung über diese Untersuchungen wird an anderer Stelle erfolgen.

Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität, Münster

K. E. SCHULTE, J. REISCH, G. RÜCKER und J. HOPMANN

Eingegangen am 18. Mai 1960

¹⁾ SÖRENSEN, J. S., D. HOLME, E. T. BORLAUG u. N. A. SÖRENSEN: Acta chem. scand. 8, 1769 (1954). — ²⁾ SÖRENSEN, J. S., u. N. A. SÖRENSEN: Acta chem. scand. 8, 1741 (1954). — ³⁾ BOHLMANN, F., S. POSTULKA u. J. RUHNKE: Chem. Ber. 91, 1642 (1958).

Konvergenz von Atmung und Gärung bei absinkender und ansteigender Orthophosphat-Konzentration im Zytoplasma

In der Theorie von LENNERSTRAND-JOHNSON-LYNEN¹⁾, die den Pasteur-Effekt (Korrelation zwischen Atmung und Gärung) in Abhängigkeit vom Orthophosphatgehalt der Zelle zu erklären versucht, ist analytisch gesichert, daß Saccharomyces, wenn sie aerob dissimilieren, über weniger Orthophosphat im Plasma verfügen als anaerob bei ausschließlicher Gärung. Ferner ist durch kinetische Messungen von O. WARBURG und W. CHRISTIAN²⁾ nachgewiesen, daß sich mit abfallender Konzentration des Orthophosphats im Plasma die Dehydrierung von 3-Phospho-glyzerinaldehyd verlangsamt, was zwangsläufig zur Folge hat, daß auch die Gärungsintensität im gleichen Maße sinkt. Nicht experimentell geprüft ist dagegen die entscheidende Frage, wie sich die Atmung bei abnehmender Konzentration des intrazellulären Orthophosphats verhält. Deshalb haben wir erneut Überprüfungen in dieser Richtung vorgenommen und versucht, unter besonderer Berücksichtigung des Atmungsfaktors beweiskräftigere Analysendaten über die Beziehung zwischen Orthophosphatgehalt und Dissimilationsfunktionen der Zelle zu erhalten.

Orthophosphat extrahierten wir aus den anfallenden Hefeproben nach P. LANGEN und E. LISS³⁾ durch zweimalige Behandlung mit 1%iger Trichloressigsäure je 90 min lang bei Zimmertemperatur. Darauf kolorimetrierten wir nach O. ARRHENIUS⁴⁾ in einer von uns modifizierten Form⁵⁾. Auf gleiche mikromethodische Art bestimmten wir das Gesamtphosphat nach Aufschluß mit konz. H₂SO₄ und konz. HNO₃.

Der Analysenreihe, die in der Tabelle angeführt ist, lag als Versuchshefe Saccharomyces carlsbergensis Rasse U zugrunde, deren Gesamtphosphatgehalt 21,5 mg und deren Orthophosphatgehalt 2,4 mg P/g Zelltrs. betrug⁶⁾. Die P-Verarmung wurde durch Züchtung in einem speziellen halbsynthetischen, nahezu P-freien Nährmedium erreicht. Nach drei Züchtungspassagen war der Orthophosphatgehalt von 2,1 mg auf etwa 0,3 mg P/g Zelltrs. abgesunken. Um abgestufte Orthophosphatwerte im Plasma von niedriger bis hoher Konzentration zu erhalten, führten wir die P-Regenerierung mit normaler 11%iger Malzwürze (300 mg P/Liter) in Abständen von je 1 Std durch. Nach 5stündiger aerober P-Regenerierung war das Maximum der Überkompensation⁷⁾, 4,5 mg P (Orthophosphat) je g Zelltrs., in den ausgangs P-verarmten Zellen erreicht. Die Bestimmung der Stoffwechselgrößen erfolgte nach der makrometrischen Methode von F. WINDISCH⁸⁾; die hierbei erhaltenen Atmungskoeffizienten wurden mit den Meßwerten verglichen, die sich bei der galvanometrischen Ermittlung der O₂-Utilisation nach F. TÖDT⁹⁾ ergaben. Als Meßsubstrat kam in jedem Falle Citratpuffer unter Zusatz von 10% Glukose (pH = 5,4) zur Anwendung.

Tabelle. Stoffwechselfmessungen bei verschiedener Orthophosphatkonzentration in Hefezellen

Sacch. carlsbergensis Rasse U als:	Orthophosphatgeh. *)	Q _{O₂}	Q _{O₂} ^{O₂}	Q _{O₂} ^{N₂}
Normale Hefe.	2,16	18,0	195,1	205,5
P-Mangelhefe	0,32	12,1	65,5	68,2
P-Mangelhefe n. 1st. Regener. . .	1,02	14,2	130,4	135,7
P-Mangelhefe n. 2st. Regener. . .	1,74	16,3	183,5	185,6
P-Mangelhefe n. 3st. Regener. . .	2,00	21,1	190,1	205,1
P-Mangelhefe n. 4st. Regener. . .	3,42	21,9	205,6	210,5
P-Mangelhefe n. 5st. Regener. . .	4,51	22,1	210,5	211,2

*) Orthophosphatgehalt in mg P/g Zell-Trs. —

Aus der tabellarischen Übersicht geht hervor, daß bei Mangel an Orthophosphat in der Zelle keine Korrelation zwischen Atmung und Gärung im Sinne des von LENNERSTRAND-JOHNSON-LYNEN angenommenen Pasteurschen Reaktions-

prinzips feststellbar ist. Es tritt vielmehr eine Koordination der beiden Stoffwechselfunktionen in Abhängigkeit von der Orthophosphatkonzentration der Zelle ein. Mit Unterschreiten des physiologischen P-Minimums sinken Atmung und Gärung beiderseits sukzessiv ab und halten sich so lange auf subnormalem Stoffwechsellniveau, bis regenerierend Phosphat zugeführt wird. Im P-Regenerierungsstadium steigen dann Atmung und Gärung wieder konvergent bis zur Erreichung der Ausgangswertigkeit an. Die in der P-Mangelzelle bei vollständiger P-Regenerierung erfolgende phosphatische Überkompensation (normal 2,1 mg, überkompensiert 4,5 mg Orthophosphat-P je g Zell-Trs.) wirkt sich stoffwechselfähig nicht aus. Atmung und Gärung sind im normalen und im überkompensierten Orthophosphatbereich von gleicher Intensität.

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Medizin und Biologie zu Berlin-Buch (Präsident: Prof. Dr. W. FRIEDRICH), Bereich Krebsforschung/Zellphysiologie (Direktor: Prof. Dr. F. WINDISCH)

F. WINDISCH, W. NORDHEIM und W. HEUMANN

Eingegangen am 31. Mai 1960

*¹⁾ Über den Test anderer Heferassen, die sich im Prinzip gleichartig verhalten, berichten wir später in der Hauptveröffentlichung (Zeitschrift für Naturforschung).

¹⁾ LENNERSTRAND, A.: Naturwissenschaften 25, 347 (1937). — JOHNSON, M. J.: Science 94, 200 (1941). — LYNEN, F.: Liebigs Ann. Chem. 546, 120 (1941). — ²⁾ WARBURG, O., u. W. CHRISTIAN: Biochem. Z. 303, 40 (1939). — ³⁾ LANGEN, P., u. E. LISS: Biochem. Z. 330, 455 (1958). — ⁴⁾ ARRHENIUS, O.: In B. LANGE, Kolorimetrische Analyse. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie G.m.b.H., 1952. — ⁵⁾ BAUER, H.: Diplomarbeit, Berlin 1957. — ⁶⁾ WINDISCH, F., E. HERFURT u. G. RÜHLE: Z. Naturforsch. 10b, 254 (1955). — ⁷⁾ WINDISCH, F., St. HINKELMANN u. D. STIERAND: Protoplasma [Wien] 43, 178 (1957). — ⁸⁾ WINDISCH, F., H. HAEHN u. W. HEUMANN: Z. Naturforsch. 8b, 463 (1953). — ⁹⁾ TÖDT, F., u. G. TESKE sowie F. WINDISCH, W. HEUMANN u. CHR. GOSLICH (Gemeinschaftsarbeit): Biochem. Z. 323, 192 (1952).

Beeinflussung der proteolytischen Aktivität in Geweben durch Iproniazid

Bei Untersuchungen über das Verhalten der Proteolyse nach verschiedenen, den Histaminstoffwechsel beeinflussenden Maßnahmen wurde im Anschluß an Verabreichung von Iproniazid (100 mg/kg peroral) eine starke Erhöhung der proteolytischen Aktivität im 12 Std-Urin festgestellt¹⁾; im Gegensatz dazu bewirkten histaminfreisetzung Maßnahmen wie durch Hühnereiweiß ausgelöster anaphylaktischer Schock, Verabreichung von Pepton oder Histaminliberator 48/80²⁾ keine oder eine nur geringfügige Zunahme der proteolytischen Aktivität im Urin. Auf Grund dieser Beobachtungen war von Interesse, ob nach Iproniazid-Verabreichung in Organhomogenaten eine entsprechende Veränderung der proteolytischen Aktivität aufträte wie im Urin.

Für die Versuche sind 18 weibliche Albinoratten eines Inzuchtstammes im Gewicht von etwa 200 g verwendet worden; diese Tiere wurden nach statistischen Gesichtspunkten zufällig zwei Gruppen zugeteilt. 12 Tieren wurde Iproniazid (100 mg/kg peroral) verabreicht; die zweite Gruppe von 6 Tieren diente als Kontrolle. 6 Std nach Iproniazid-Verabreichung wurden die Tiere getötet und mit Tyrodelösung so lange perfundiert, bis die Organe blutfrei waren. Milz, Leber und beide Nieren wurden entnommen, unter Zugabe von Aqua dest. homogenisiert, auf ein konstantes Verhältnis verdünnt und zentrifugiert. Die proteolytische Aktivität wurde in der überstehenden Flüssigkeit mit der von DUSPIVA³⁾ angegebenen Modifikation der Methode von ANSON bei pH 3,80, 7,18 und 7,98 ermittelt. Zur statistischen Auswertung bedienten wir uns des *t*-Testes.

Vorversuche zeigten, daß mit Iproniazid inkubierte homogenatfreie Proben identische Werte ergaben wie die Leerproben.

Der Vergleich der proteolytischen Aktivität in der Milz von Kontrollen und von mit Iproniazid vorbehandelten Tieren ergaben ein für beide Versuchsanordnungen identisches Verhalten (vgl. Tabelle). In Leber und Nieren fand sich nach Iproniazid-Vorbehandlung in den drei untersuchten pH-Bereichen eine im Vergleich zu den Kontrollen erhöhte proteolytische Aktivität. Diese Unterschiede sind bei der Leber im alkalischen, bei den Nieren im alkalischen und neutralen pH-Bereich statistisch gesichert. Weitere Untersuchungen, die die Erfassung des zeitlichen Ablaufes der Veränderungen sowie