

Intrazelluläre Regulation des Stoffwechsels*) **)

Von HELMUT HOLZER, Freiburg i. Br.

Einleitung

Anpassung an Veränderungen der Umgebung ist eine unabdingliche Eigenschaft jeglichen Lebens. Im Zusammenleben der Menschen sind Fähigkeit zur Anpassung und Erzwingung von Anpassung Erscheinungen, mit denen wir uns täglich auseinandersetzen. Nicht zuletzt, weil sie wesentliche Triebkräfte vieler künstlerischer und politischer Aktivitäten des Menschen sind. Auch in der Tier- und Pflanzenwelt tritt uns die Fähigkeit zur Anpassung an Veränderungen der Umgebung augenfällig gegenüber: es sei an das mit der Jahreszeit wechselnde Federkleid vieler Vögel oder an die Orientierung der Blätter höherer Pflanzen nach der Richtung des Lichteinfalles erinnert.

Bei der Suche nach den Mechanismen derartiger Anpassungsvorgänge hat sich gezeigt, daß Regelmechanismen am Werk sind, die viel Ähnlichkeit mit den in der Technik angewandten Regelprozessen haben. Bei der Erforschung dieser Regelvorgänge ist eine selbständige, Techniker und Biologen vereinigende Forschungsrichtung entstanden, der NORBERT WIENER 1948 den Namen „Kybernetik“ gegeben hat [1]. Unter Kybernetik versteht man heute die Wissenschaft von den Regelungsvorgängen in der Technik und in der Natur mit den zugehörigen Hilfswissenschaften.

Wir werden uns im folgenden kurz den „Regelkreis“ als Grundprinzip der Regelung in der Technik ansehen und dann je ein Beispiel aus dem Bereich der nervösen und der hormonellen Regulation kennenlernen. Hierauf aufbauend wollen wir uns mit dem Hauptanliegen meines Referates, der „Intrazellulären Regulation des Stoffwechsels“, beschäftigen.

Der Regelkreis

Wesentliche neue Erkenntnisse über den Mechanismus biologischer Regulationsvorgänge sind durch Anwendung regeltechnischer Prinzipien auf biologische Probleme gewonnen worden (s. z. B. [2]). Insbesondere hat sich das von Technikern seit langem benützte Prinzip des „Regelkreises“ besonders fruchtbar bei der Anwendung auf biologische Regulationsmechanismen bewährt. Fig. 1 zeigt in der Mitte das Blockschaltbild eines Regelkreises. Links ist die Regelung des Flüssigkeitsstandes in einem Behälter als Beispiel für das Funktionieren eines Regelkreises wiedergegeben. Man bezeichnet die zu regulierende Größe als „Regelgröße“. In unserem Falle ist es der Stand der Flüssigkeit im Behälter, der durch wechselnde Größe des Ausflusses gestört wird („Störgröße“). Um die Konstanz des Flüssigkeitsstandes zu erreichen, wird mit Hilfe eines „Fühlers“ die zu regelnde Größe gemessen. Die aus der Messung resultierende Information wird dem eigentlichen „Regler“ zugeführt und der Regler wie-

derum bewirkt die für Konstanthaltung des Flüssigkeitsstandes notwendigen Korrekturen, d. h. Veränderungen des „Stellgliedes“. In unserem Beispiel ist der „Fühler“ ein Schwimmer und der „Regler“ ein Hebelmechanismus, der ein den Zufluß veränderndes Ventil als „Stellglied“ betätigt.

Nervöse und hormonelle Regulation*)

Wie wir heute wissen, beruhen viele biologische Regelvorgänge auf dem Prinzip des Regelkreises. An dem technischen Beispiel der Flüssigkeitsregelung sieht man, daß hierbei Gewinnung, Verarbeitung und Übertragung von Information eine wesentliche Rolle spielen. Man kann daher die Natur der Informationsübertragung oder allgemeiner gesprochen der „Signalübertragung“ zur Differenzierung verschiedenartiger Regelvorgänge benützen. In Tabelle 1 ist dies für einige biologisch interessante Regulationstypen durchgeführt.

Bei der nervösen Regulation werden Veränderungen der Regelgröße durch elektrische Signale dem Regler mitgeteilt, und ebenso werden durch elektrische Signale die entsprechenden Korrekturen veranlaßt. Bei der hormonellen Regulation sind es Substanzen, eben die Hormone, die als Informationsüberträger zwischen verschiedenen Geweben wandern. Bei der intrazellulären Regulation schließlich diffundieren gewisse Substanzen innerhalb der Zelle und werden dadurch als Signalüberträger wirksam. Man sieht aus der Natur der Signalübertragung, daß nervöse und hormonelle Regulation nur in kompliziert gebauten Lebewesen möglich sind, während intrazelluläre Regulation sowohl bei höheren Lebewesen wie auch bei Einzellern möglich ist. Wahrscheinlich ist „intrazelluläre Regulation“ eine phylogenetisch früh aufgetretene „primitive“ Form der Regulation, und nervöse und hormonelle Regulation sind erst später entstanden.

Im rechten Teil der Fig. 1 ist als Beispiel für nervöse Regulation ein Blockschaltbild für das Zustandekommen von Zielbewegungen des Menschen wiedergegeben. Das Auge als „Fühler“, die ausführenden Organe der Handbewegung als „Stellglieder“ und die Nervenbahnen zur Signalübertragung wirken hier ebenso in einem Regelkreis zusammen, wie wir es bei der Konstanthaltung des Flüssigkeitsstandes in einem Behälter kennengelernt haben.

Als Beispiel für hormonelle Regulation ist in Fig. 2 der Einfluß von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) auf die Bildung von Cortisol und Cortisol aus Cholesterin in der Nebennierenrinde aufgezeichnet. Hohe Cortisol- und Cortison-Konzentration hemmt die Ausschüttung von ACTH aus der Hypophyse und verringert so die durch ACTH bewirkte Stimulierung der Cortisol- und Cortison-Bildung aus Cholesterin. Als Folge sinkt die Cortisol- und Cortison-Konzentration

*) Vortrag, gehalten auf der 102. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte am 11. September 1962 in München.

**) Abkürzungen: ACTH = Adrenocorticotropes Hormon; ADP = Adenosindiphosphat; AMP = Adenosinmonophosphat; ATP = Adenosintriphosphat; DPN = Diphosphopyridinnucleotid; DPNH₂ = reduziertes Diphosphopyridinnucleotid; P = Orthophosphat; RDP = Ribulose-1,5-diphosphat; TPN = Triphosphopyridinnucleotid; TPNH₂ = reduziertes Triphosphopyridinnucleotid.

*) Auf Vorschlag von BÜCHER [4] werden in der vorliegenden Arbeit Regelvorgänge, auf die sich die Begriffe und Bezeichnungen des Normblattes DIN 19226 anwenden lassen, als „Regelung“ bezeichnet. Für alle anderen Regelvorgänge wird die Bezeichnung „Regulation“ benützt. Einer Diskussionsbemerkung von Herrn JATZKEWITZ (München) zufolge sollte man nicht von „nervöser Regulation“, sondern von „neuraler Regulation“ sprechen.

ab, und zwar so lange, bis Hypophysenaktivität und Cortisol- und Cortison-Bildung aufeinander abgestimmt sind. „Regler“ ist die Hypophyse, „Regelgröße“ ist der Cortisol- und Cortison-Spiegel, „Störgröße“ ist unter anderem die wechselnde Ausscheidung und enzymatische Weiterveränderung von Cortisol und Cortison, und die „Signalübertragung“ erfolgt durch den Transport von Cortisol und Cortison einerseits und von ACTH andererseits im Blutstrom. Mit welchem chemischen Mechanismus in diesem System der „Fühler“ und das „Stellglied“ arbeiten, ist noch unbekannt.

Daß die Aufklärung dieser Zusammenhänge nicht nur von theoretischer, sondern auch von eminent praktischer Bedeutung ist, zeigen die Konsequenzen für Diagnose und Therapie des adrenogenitalen Syndroms. Die Bildung von Cortisol und Cortison aus Cholesterin ist bei gewissen Formen des kongenitalen adrenogenitalen Syndroms verringert. Dies beruht auf einem angeborenen Mangel an Enzymen, die Steroide in 21-Stellung (und wahrscheinlich auch in 11-Stellung) in der Nebennierenrinde hydroxylieren. Es kommt zu niedrigerem Cortisol- und Cortison-Spiegel. Dadurch wird die Hemmung der ACTH-Ausschüttung verringert und die Umwandlung von Cholesterin in Zwischenprodukte der Cortison- und Cortisol-Synthese (Progesteronderivate) über die Norm gesteigert. Der Aufstau von Zwischenprodukten der Cortisol- und Cortison-Synthese wird durch den Mangel an hydroxylierenden Enzymen noch vermehrt, und so kommt es zu einem „Überfließen“ in andere Stoffwechselwege. Insbesondere werden pathologisch vermehrt Androgene, d.h. vermännlichende (virilisierende) Hormone gebildet. Zum charakteristischen Krankheitsbild von Patientinnen mit kongenitalem adrenogenitalem Syndrom gehören männlicher Körperbau, männliche Behaarung, rudimentäre Ausbildung der weiblichen Geschlechtsorgane und gelegentlich sogar die Vergrößerung der Klitoris zu einem Pseudopenis. Aus dem Schema in Fig. 2 kann man ersehen, wie das Krankheitsbild therapeutisch beeinflusst werden kann. Man verabreicht Cortisol oder Cortison und setzt dadurch die physiologische Hemmung der ACTH-Ausschüttung aus der Hypophyse wieder in Kraft. Mit dieser Therapie konnten schöne Erfolge bei der Behandlung des jugendlichen adrenogenitalen Syndroms erzielt werden. Insbesondere kann in vielen Fällen ein Rückgang der pathologischen Vermännlichung (Virilisierung) erreicht werden.

Intrazelluläre Regulation

Die „primitivste“ Form der biologischen Regulation, die „intrazelluläre Regulation“, ist erst in den beiden letzten Jahrzehnten in ihrer Bedeutung erkannt worden. Heute zeichnet sich die in Tabelle 2 wiedergegebene Klassifizierung ab. Über eine Beeinflussung der Gen-Aktivität kann die Enzymkonzentration verändert und damit der Stoffwechsel an Änderungen des Milieus angepaßt werden. Man spricht je nach dem, ob die Enzymsynthese unterdrückt oder in Gang gesetzt wird, von „Repression“ oder „Induk-

tion“ der Enzymsynthese. Eine zweite Möglichkeit der intrazellulären Regulation des Stoffwechsels, die erst vor wenigen Jahren entdeckt worden ist, besteht in der Hemmung eines Reaktionsschrittes in einer Kette von Enzymreaktionen durch das Endprodukt dieser Kette. Man spricht von „Endprodukthemmung“, gelegentlich auch gleichbedeutend von „Rückkoppelung“ bzw. von „feed back-Mechanismen“. Zum dritten muß in

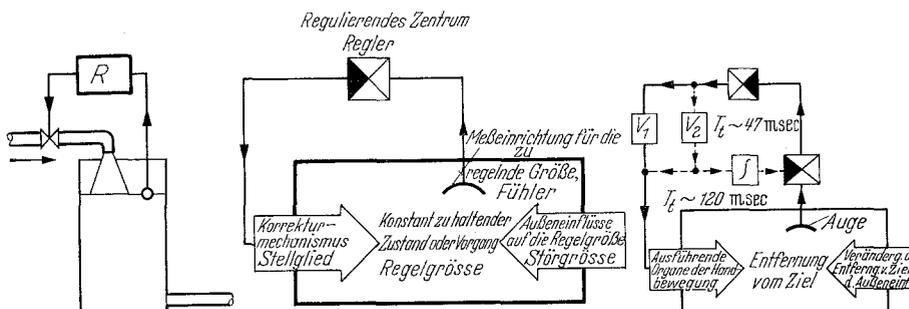


Fig. 1. Links: Regelung des Flüssigkeitsstandes in einem Behälter [3]. Mitte: Blockschaltbild eines Regelkreises [2]. Rechts: Blockschaltbild für die Zielbewegungen des Menschen [2]

diesem Zusammenhang die sog. „enzymatische Regulation“ betrachtet werden. Man faßt unter diesem Begriff regulative Änderungen des Stoffwechsels zusammen, die als Antwort auf Milieu-Veränderungen

Tabelle 1. Signalübertragung bei verschiedenen Regulationstypen

| Regulationstyp | Signalübertragung |
|----------------|-----------------------------|
| Nervös | Elektrisch |
| Hormonell | Hormone (interzellulär) |
| Intrazellulär | Metaboliten (intrazellulär) |

ohne Änderungen der Enzymsynthese und ohne „Endprodukthemmung“ zustande kommen.

Induktion und Repression

Schon früh wurde beobachtet, daß manche Mikroorganismen die Fähigkeit zur Verwertung gewisser Nährsubstrate erwerben können, wenn man sie unter

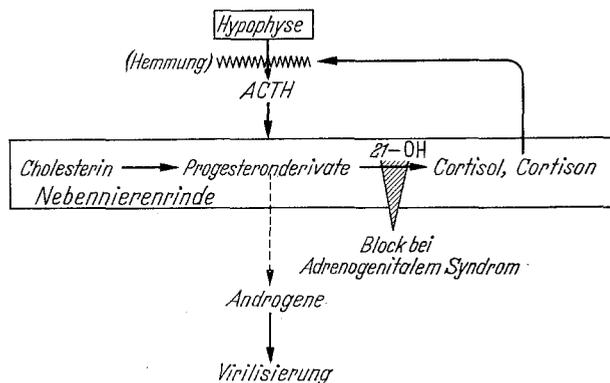


Fig. 2. Regulation der Synthese von Nebennierenrindenhormonen durch Adrenocorticotropes Hormon (ACTH)

Zusatz dieses Substrates wachsen läßt. Es kommt dabei zur Neubildung von Enzymen, die die Verwertung des Substrates ermöglichen. Um auszudrücken, daß es sich hierbei um eine Anpassung an veränderte Milieubedingungen handelt, spricht man von „adaptiver Enzymsynthese“. MONOD [5] fand, daß nicht nur das Substrat selber, sondern auch chemisch ähnlich gebaute Verbindungen, die selbst jedoch gar nicht abgebaut und verwertet werden können, die Bildung

eines neuen Enzyms in Gang setzen können. Da hier keine Adaption vorliegt, spricht man heute nicht mehr von „adaptiver Enzymsynthese“, sondern von „induzierter Enzymsynthese“. Ein Beispiel ist in Fig. 3 wiedergegeben. Gewisse Escherichia coli-Bakterien

Tabelle 2. Intrazelluläre Regulation

| Regulationstyp | Mechanismus |
|---|--|
| Regulation der Genaktivität | Änderung der Konzentration eines Enzyms durch <i>Repression</i> oder <i>Induktion</i> (Derepression) der Enzymsynthese |
| Endprodukthemmung (= „Rückkoppelung“ = „feed back“) | Änderung der Aktivität eines Enzyms durch Konkurrenzhemmung |
| Enzymatische Regulation | Änderung der Intensität des Stoffwechsels durch Konkurrenz von Enzymen um gemeinsame Coenzyme und Substrate |

vermögen β -Galactosidase, z.B. Milchzucker, nicht zu hydrolysieren. Sie können daher dieses Kohlenhydrat nicht als Nährsubstrat verwerten. Die Synthese eines Milchzucker hydrolysierenden Enzyms, einer „ β -Galactosidase“, kann jedoch unter gewissen Bedingungen

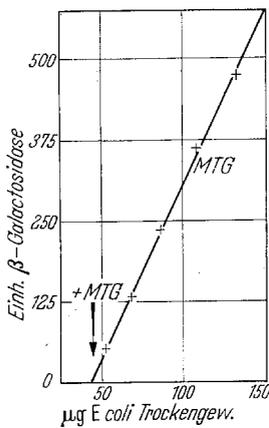


Fig. 3. Induktion von β -Galactosidase durch Methyl- β -D-Thiogalactosid (MTG) [5]

durch Zusatz von Milchzucker zur Nährlösung induziert werden. Interessanterweise induzieren auch β -Thiogalactoside, die selbst gar nicht abgebaut und verwertet werden können, die Synthese von β -Galactosidase. Die induzierenden Substanzen greifen in den komplizierten Prozeß der Enzymsynthese ein und bewirken, daß ein Enzym synthetisiert wird, das vorher nicht vorhanden war. Sehr wahrscheinlich handelt es sich dabei häufig nicht um die Induktion eines völlig neuen Prozesses, sondern um Aufhebung einer Hemmung der Synthese des in Frage stehenden Enzyms. Man spricht in diesem Falle nicht von „Induktion“ sondern von „Derepression“ (vgl. hierzu das Schema in Fig. 6). Die „Nützlichkeit“ dieses Regulationsmechanismus leuchtet ein. Fehlt das in Frage stehende Substrat im Nährmedium, so wäre es unökonomisch für die Zelle, Enzyme zu produzieren, die dieses Substrat verwerten können, die Enzymsynthese unterbleibt daher. Erst wenn das in Frage stehende Substrat dem Nährmedium zugesetzt wird, produzieren die Zellen das Enzym (bzw. die Enzyme), die zur Verwertung des Substrates notwendig sind.

Als eines der ersten Beispiele für die Unterdrückung der Enzymsynthese (Repression) ist 1957 die Wirkung von Arginin auf Enzyme der Biosynthese von Arginin aus Glutaminsäure in Escherichia coli beschrieben worden [6], [7]. Läßt man Escherichia coli in einem argininhaltigen Medium wachsen, unter Bedingungen also, unter denen die Synthese von Arginin unnötig und unökonomisch wäre, so beobachtet man, wie Fig. 4 zeigt, daß das an der Argininsynthese beteiligte Enzym Ornithintranscarbamylase nicht synthetisiert wird [7]. Dasselbe gilt für weitere Enzyme der Synthesekette, die von Glutaminsäure zu Arginin führt

(vgl. Fig. 5): Acetylornithinase [6], N-Acetyl- γ -glutamylkinase [8] und N-Acetylglutamat- γ -semialdehyddehydrogenase [8].

Man hat in der Zwischenzeit viele weitere Beispiele für eine Regulation der Synthese von Zellbausteinen (insbesondere von Nucleotiden und Aminosäuren) durch Repression von Enzymsynthesen gefunden. Besonders interessant ist, daß in manchen Fällen durch das Endprodukt einer Synthesekette gleichzeitig die

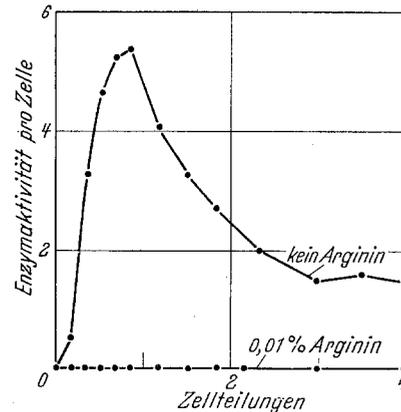


Fig. 4. Aktivität der Ornithintranscarbamylase in Escherichia coli bei Aufzucht mit und ohne Arginin im Nährmedium [7]

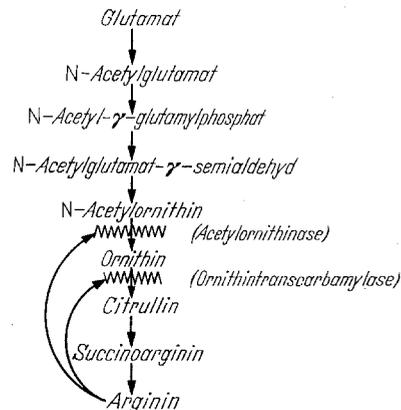


Fig. 5. Repressorwirkung von Arginin auf Enzyme der Biosynthese von Arginin in Escherichia coli [6], [7]

Synthese mehrerer in der Synthesekette nacheinanderliegender Enzyme unterdrückt wird. Dies gilt für die letzten Schritte der Biosynthese von Tryptophan und von Histidin in Salmonella typhimurium (vgl. Tabelle 3). Auch bei der Induktion (bzw. Derepression) der Synthese von Enzymen hat man eine gleichzeitige Wirkung des Induktors auf die Synthese mehrerer, hintereinandergeschalteter Enzyme gefunden. So werden bei gewissen Escherichia coli-Stämmen die drei ersten für die Verwertung von Lactose notwendigen Enzyme sowie die drei ersten Enzyme der Verwertung von Galactose gemeinsam reguliert (vgl. Tabelle 3). Vermutlich liegen in diesen Fällen die für die gemeinsam regulierten Enzyme der Synthesekette verantwortlichen Gene auf dem bakteriellen Chromosom (bzw. „Lineom“) in der Reihenfolge ihrer Wirksamkeit beim Stoffwechsel nebeneinander und werden durch ein „Operator-Gen“ gemeinsam gesteuert. Man nennt eine solche Einheit von Operator-Gen und den zugehörigen, für die Struktur der einzelnen Enzyme verantwortlichen „Struktur-Genen“ nach JACOB und MONOD [15] ein „Operon“. Die gleichzeitige „Induktion“ bzw. „Repression“ mehrerer Enzyme stellt man

sich entsprechend Fig. 6 als Folge der Einwirkung des Repressors bzw. Induktors auf das Operator-Gen vor. Da man Mutanten gefunden hat, denen im Vergleich zum Wildstamm allein die Fähigkeit zur Repression der Synthese eines Enzyms fehlt, wird auch die Bildung des Repressors genetisch gesteuert. Man spricht von einem „Regulator-Gen“. Die Wirkung des die Enzymsynthese beeinflussenden Metaboliten besteht darin, die Synthese oder die Wirksamkeit des Repressors zu hemmen (Induktion bzw. Derepression) oder in Gang zu setzen (Repression). Auch die gemeinsame Steuerung mehrerer Enzyme einer Reaktionskette ist ein Prinzip, das der Zelle ermöglicht, ihre Energie und Baumaterial verbrauchenden Synthese-Leistungen möglichst ökonomisch auszunützen.

Endproduktthemmung

1956 entdeckte UMBARGER [16], daß Isoleucin in *E. coli* seine eigene Bildung aus Zwischenprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels hemmt, ohne die Synthese von Enzymen zu beeinflussen. Isoleucin hemmt die katalytische Aktivität der Threonindesaminase, die an der Biosynthese von Isoleucin beteiligt ist (vgl. Fig. 7). Es wird von Threonindesaminase gebunden und verhindert den Zutritt des Threonins an die aktive Stelle des Enzyms, so daß der katalytische Umsatz zu α -Ketobutyrat gehemmt ist. Die Stärke der Hemmung ist von der Konzentration an Isoleucin abhängig. Wir sehen, daß hier wiederum eine Selbststeuerung des Stoffwechsels vorliegt, die ähnlich wie ein Regelkreis funktioniert. Man nennt daher die „Endproduktthemmung“ häufig auch „Rückkoppelungshemmung“ bzw. „feed back-Hemmung“ (zur Nomenklatur s. [24]). Wird der Verbrauch an Isoleucin geringer, z. B. auf Grund geringeren Bedarfs zur Proteinsynthese, so staut sich Isoleucin an, und seine Biosynthese wird bei der Stufe der Desaminierung von Threonin gehemmt. Diese Hemmung hält so lange an, bis durch Abfall der Konzentration an Isoleucin dessen Hemmwirkung so weit zurückgeht, daß Synthese und Verbrauch von Isoleucin einander entsprechen. Ein stationäres „Fließgleichgewicht“ von Synthese und Weiterveränderung wird so trotz Änderung der äußeren Bedingungen aufrechterhalten.

In den letzten Jahren sind viele weitere Beispiele von „Endproduktthemmung“ beschrieben worden. Einige aus dem besonders intensiv untersuchten Bereich der Biosynthese von Aminosäuren sind in Fig. 7 wiedergegeben. Meist wird derjenige Reaktionsschritt, bei dem die Synthese des Endproduktes von anderen Synthesewegen abzweigt, gehemmt. Beispielsweise hemmt Isoleucin die Desaminierung von Threonin und bewirkt damit eine Hemmung der Isoleucinsynthese ohne Beeinflussung der Synthese anderer Aminosäuren, wie Threonin, Methionin, Lysin, Asparaginsäure und Valin. Threonin hemmt an der Stelle, an der die Threoninsynthese vom Syntheseweg des Methionins abzweigt [17]. Lysin hemmt an der Stelle, an der die Synthese des Lysins von der Asparaginsäure aus einsetzt [18]. Die von hohen Konzentrationen Threonin und Lysin verursachten Hemmungen wirken sich auch auf die Synthese anderer Aminosäuren aus. Dies ist

jedoch auf Grund der Struktur der Syntheseketten nicht vermeidbar.

Die Hemmung der Synthese von Acetolactat aus Pyruvat durch Valin [vgl. Fall (2) in Fig. 7] konnte

Tabelle 3. *Gemeinsam regulierte Genregionen für eine definierte Reaktionsfolge*

| Region*) | Bakterium | Stoffwechselprozeß | Enzyme bzw. Reaktionsschritte | Autoren |
|----------|----------------------|--|---|--------------|
| Lac | Escherichia coli | erste Schritte der Lactose-Verwertung | Galactosid-permease β -Galactosidase Galactosid-transacetylase | [9] |
| Gal | Escherichia coli | erste Schritte der Galactose-Verwertung | Galactose-kinase Gal-1-P-uridyltransferase UDP-Gal-4-epimerase | [10] |
| His | Salmonella typhimur. | letzte Schritte der Biosynthese von Histidin | Imidazolylglycerinphosphat-dehydrase Imidazolylacetolphosphat-transaminase Histidinolphosphatase Histidinolphosphatase | [11] [12] |
| Try | Salmonella typhimur. | letzte Schritte der Biosynthese von Tryptophan | Anthranilsäure \rightarrow 1-(o-Carboxyphenylamino)-1-desoxyribulose-5-phosphat \rightarrow Indol-3-glycerinphosphat \rightarrow Tryptophan | [13] [14] |

*) Bezeichnung der Region auf dem bakteriellen „Chromosom“.

bisher nicht auf einen definierten Reaktionsschritt lokalisiert werden [19]. Fig. 8 zeigt, wie die Reaktionsfolge von Pyruvat zu Acetolactat inzwischen in einzelne Schritte aufgeteilt werden konnte [20], [21]. Durch

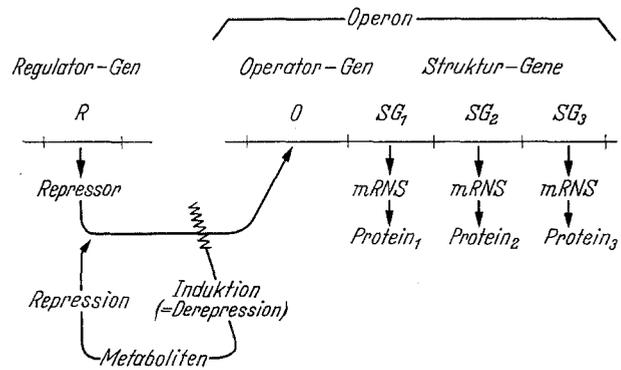


Fig. 6. Gemeinsame Induktion und Repression mehrerer Struktur-Gene (modifiziert nach JACOB und MONOD [15])

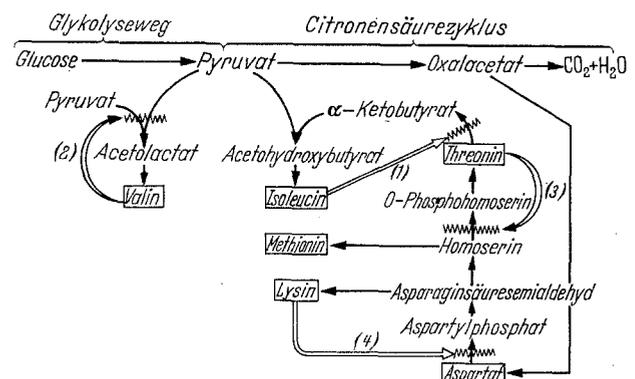


Fig. 7. Endproduktthemmung (feed-back-Hemmung) bei der Biosynthese verschiedener Aminosäuren in *Escherichia coli* [16] bis [19]

Isolierung der Zwischenprodukte „aktives Pyruvat“ und „aktiver Acetaldehyd“ ist es nun möglich, den Angriffspunkt des Valins im Detail zu studieren. Derartige Versuche werden vermutlich weitere Auskunft über den Mechanismus der Endproduktthemmung bringen.

Wie CHANGEUX [22] sowie GERHART und PARDEE [23] zeigten, ist die aktive Stelle des Enzyms, an der das hemmende Endprodukt einer Synthesekette angreift, verschieden von der aktiven Stelle, an der der Umsatz des Substrates, also die eigentliche Katalyse,

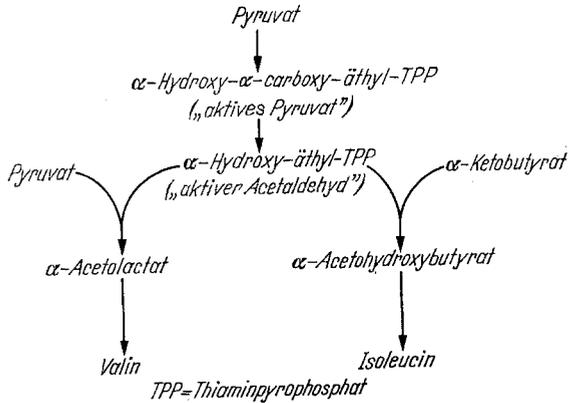


Fig. 8. Mechanismus der Biosynthese von α -Acetalactat und α -Acetoxybutyrate aus Pyruvat [20], [21]

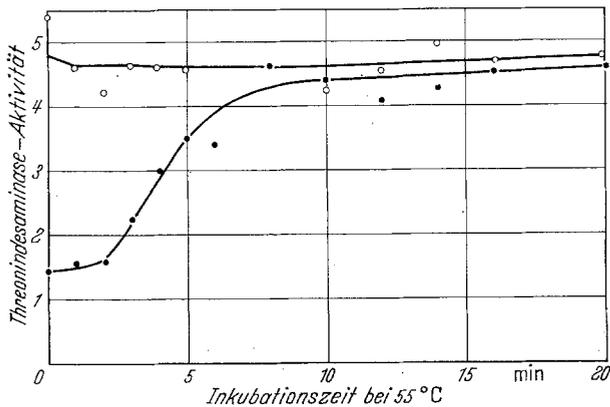


Fig. 9. Temperaturempfindlichkeit der Hemmung von Threonin-desaminase aus *Escherichia coli* K 12 durch Isoleucin [22]. Ordinate: Threonin-desaminase-Aktivität ohne Isoleucin (○) und mit 10^{-2} M Isoleucin (●)

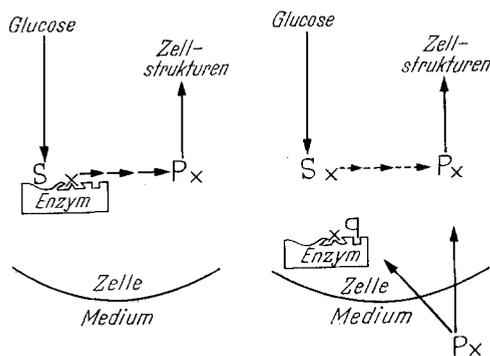


Fig. 10. Schema für die Hemmung des Umsatzes von S_x durch P_x [24]

stattfindet. Das von CHANGEUX studierte Beispiel ist in Fig. 9 wiedergegeben. Die Hemmung der Threonin-desaminase aus *E. coli* durch Isoleucin verschwindet, wenn man das Enzym 10 min oder länger auf 55°C erwärmt. Die katalytische Aktivität (Threonin \rightarrow α -Keto-butyrate) bleibt bei dieser Behandlung voll erhalten. Wie man sich auf Grund charakteristischer Oberflächenbeschaffenheit des Enzyms die selektive Inaktivierung der Hemmbarkeit vorstellen kann, ist schematisch in Fig. 10 wiedergegeben [24]. Das Substrat S_x wird am Enzym gebunden und zum

Reaktionsprodukt verändert. Dieses wird dann mit Hilfe weiterer Enzyme in das Endprodukt der Synthesekette P_x (z. B. eine Aminosäure oder ein Nucleotid) überführt. Setzt man P_x dem Medium zu, so ist die Synthese von P_x nicht mehr notwendig (rechte Hälfte von Fig. 10). Das nun gegenüber den Verhältnissen im linken Teil von Fig. 10 in erhöhter Konzentration vorhandene P_x wird an einer Stelle des Enzyms gebunden, die so nahe neben der für die Katalyse notwendigen Stelle liegt, daß das Substrat S_x nicht mehr gebunden und umgesetzt werden kann. Im Modell von Fig. 10 ist es die dem Substrat S und dem Endprodukt P gemeinsame Gruppe x , die gleichzeitige Bindung von P_x und S_x verhindert. Die endogene Synthese von P_x wird gehemmt und das dem Medium zugeetzte P_x wird zum Aufbau der Zellstrukturen (Eiweiß, Nucleinsäuren usw.) verwendet. Sehr wahrscheinlich wird die Synthese der zur Bindung von P_x notwendigen Struktur von einem anderen Gen gesteuert als die zur Bindung von S_x notwendige Struktur. Damit könnte man verstehen, daß es Mutanten gibt, die zwar die S_x -umsetzende katalytische Aktivität besitzen, sich jedoch durch Fehlen oder durch veränderte Empfindlichkeit der Endprodukthemmung vom Wildstamm unterscheiden (vgl. [24]).

Wie Versuche mit isolierten Enzymen im Reagenzglas zeigten, setzt Endprodukthemmung momentan ein. Im Gegensatz dazu wirken sich Induktion und Repression auf Grund des Zeitbedarfes für die Enzymsynthese mit Verzögerung aus. Man nimmt daher an, daß Endprodukthemmung die sehr schnell notwendigen Regulationen besorgt, während Repression und Induktion die bei wachsenden Zellkulturen „auf lange Sicht“ notwendigen Regulationen des Stoffwechsels besorgen. Endprodukthemmung ist ein Hilfsmittel der „Taktik“, Repression und Induktion sind Hilfsmittel der „Strategie“ der Zelle im Kampf um optimale Ausnutzung der Lebensbedingungen.

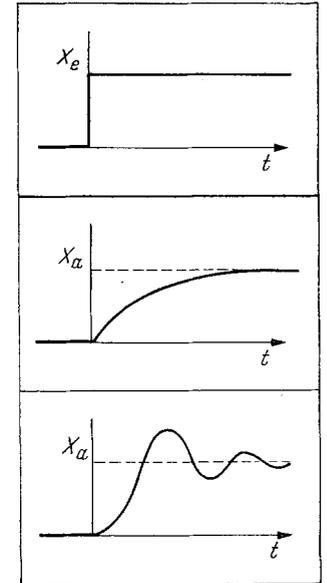


Fig. 11. Zeitverhalten der Ausgangsgröße X_a nach sprunghafter Änderung der Eingangsgröße X_e eines Regelkreises

Enzymatische Regulation

Auch ohne Beteiligung von Induktion, Repression und Endprodukthemmung finden in lebenden Zellen als Antwort auf Änderungen des Milieus charakteristische Veränderungen des Stoffwechsels statt. Man faßt derartige Vorgänge heute unter der Bezeichnung „enzymatische Regulation“ zusammen (vgl. [25], [26], [27]).

Das Zeitverhalten der nach abrupter Änderung der Milieubedingungen stattfindenden Änderung der Konzentration gewisser Metaboliten weist auf das Funktionieren von Mechanismen nach Art eines Regelkreises hin. In Fig. 11 ist das aus technischen Regelvorgängen

bekanntes Zeitverhalten einer zu regelnden Größe X nach abrupter Veränderung der Milieubedingungen wiedergegeben. Mit der Bezeichnungsweise der Regeltechniker: nach sprunghafter Änderung der Eingangsgröße X_e nähert sich durch Tätigkeit des Reglers die Ausgangsgröße X_a entweder asymptotisch oder durch Einpendeln der neuen stationären Größe. Beide Möglichkeiten kann man auch in lebenden Zellen nach sprunghafter Veränderung der Milieubedingungen beobachten. Fig. 12 zeigt das Zeitverhalten der Konzentration von Ribulose-1,5-diphosphat (RDP), einem Zwischenprodukt der pflanzlichen Photosynthese, nach sprunghafter Erniedrigung der CO_2 -Konzentration in einer belichteten Suspension von Grünalgen [28]. Nach einem charakteristischen „Überschwingen“ (overshoot) stellt sich etwa 200 sec nach Wegnahme des CO_2 eine neue höhere stationäre Konzentration an Ribulosediphosphat ein. Fügt man ruhenden Hefezellen Glucose zu und setzt dadurch sprunghaft den Übergang vom endogenen Ruhestoffwechsel zum stationären Abbau von Glucose in Gang, so erfolgt die Einstellung der neuen stationären Konzentration von Fructose-1,6-diphosphat und Adenosintriphosphat (ATP) ebenfalls durch „Einschwingen“ [29]. Fructose-diphosphat durchläuft ein Maximum, ATP durchläuft ein Minimum, bevor die neue stationäre Konzentration erreicht wird (vgl. Fig. 13). Diese Einschwingvorgänge sind auf „verzögerte Rückkoppelung“ des Glucoseabbaues durch das Wasserstoff übertragende Coenzymssystem DPN/ DPNH_2 zurückzuführen. Wie man aus Fig. 14 sieht, ist in die von Glucose zu Alkohol und Kohlendioxid führende Kette der Gärungsreaktionen eine Art Regelkreis, d.h. ein Rückkoppelungsmechanismus, eingeschaltet. Der durch DPN/ DPNH_2 vermittelte Wasserstoff-Kreislauf koppelt den letzten Reaktionsschritt der Gärung an einen früheren Reaktionsschritt. Bringt man die Gärungskette durch Zusatz von Glucose in Gang, so werden nacheinander die einzelnen Metaboliten der Kette zu einer gewissen stationären Konzentration angehäuft. Dies gilt jedoch nur bis zur Bildung von Triosephosphat. Dessen Weiterveränderung durch Dehydrierung mit DPN zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure ist limitiert durch das in der Zelle verfügbare DPN. Ist dieses durch Hydrierung verbraucht, so kann keine weitere Dehydrierung von Triosephosphat mehr stattfinden, und es kommt zu einem Anstau von Triosephosphat und dem damit im Gleichgewicht stehenden Fructosediphosphat. Dieser Anstau wird erst beseitigt, wenn durch sukzessives Anlaufen der Reaktionskette von 1,3-Diphosphoglycerinsäure zu Acetaldehyd genügend Acetaldehyd gebildet wurde, um das angestaute DPNH_2 wieder zu DPN zu reoxydieren. Man kann leicht prüfen, ob diese Erklärung des in Fig. 13 wiedergegebenen overshoot-Phänomens für Fructosediphosphat zutrifft. Setzt man nämlich von vornherein Acetaldehyd zu, so muß der vorübergehende Anstau von Fructosediphosphat ausbleiben. Wie Fig. 15 zeigt, trifft dies tatsächlich zu. Der gleichzeitig mit Glucose zugesetzte Acetaldehyd reoxydiert das DPNH_2 sofort nach seiner Entstehung bei der Dehydrierung von Triosephosphat, und so kommt es ohne „overshoot“ zu einer asymptotischen Annäherung der Fructosediphosphat-Konzentration an den stationären Wert. Es ist demnach die Konkurrenz mehrerer Enzyme um ein gemeinsames Coenzym-system, die beim Wechsel der äußeren Bedingungen (in

unserem Beispiel Zusatz von Glucose) die Neueinstellung des Stoffwechsels reguliert und sich durch das Auftreten charakteristischer Übergangserscheinungen kenntlich macht. Man kennt heute viele weitere Bei-

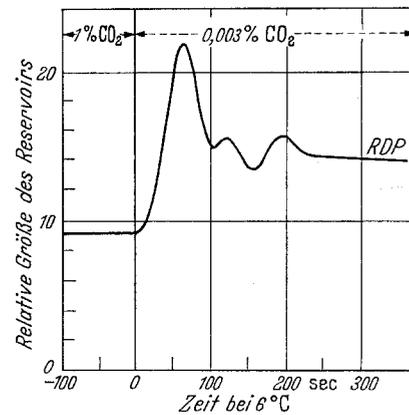


Fig. 12. Veränderung der Konzentration von Ribulose-1,5-diphosphat (RDP) nach sprunghafter Erniedrigung der CO_2 -Konzentration bei belichteten Grünalgen [28]

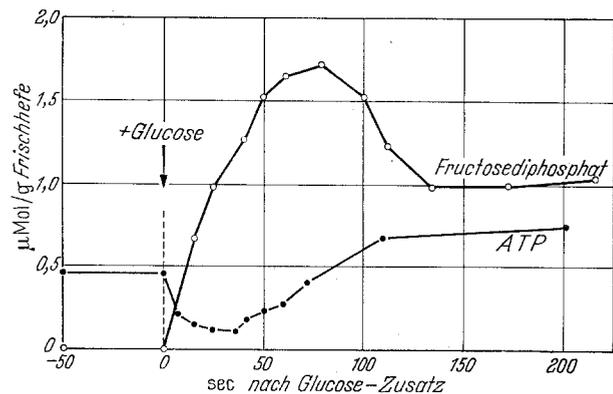


Fig. 13. Veränderungen der Konzentration von Fructosediphosphat und ADP in Hefezellen nach Zusatz von Glucose [29]

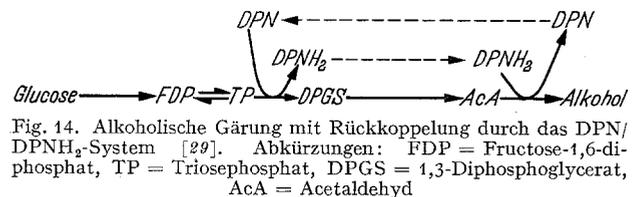


Fig. 14. Alkoholische Gärung mit Rückkoppelung durch das DPN/ DPNH_2 -System [29]. Abkürzungen: FDP = Fructose-1,6-diphosphat, TP = Triosephosphat, DPGS = 1,3-Diphosphoglycerat, AcA = Acetaldehyd

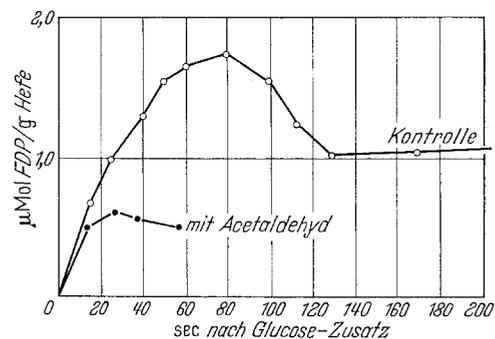


Fig. 15. Änderung der Konzentration von Fructosediphosphat (FDP) in Hefe nach Glucosezusatz mit und ohne Acetaldehyd [30]

spiele hierfür (vgl. [30]); einige werden im folgenden besprochen.

Ein seit langem bekanntes und vielfach studiertes Phänomen, das auf Konkurrenz verschiedener Enzyme um gemeinsame Coenzyme zurückzuführen ist, ist der „Pasteur-Effekt“. PASTEUR hatte bereits Mitte des

19. Jahrhunderts beobachtet [31], daß der unter anaeroben Bedingungen beobachtete Glucoseverbrauch der Hefezellen wesentlich verlangsamt wird, wenn man Sauerstoff zuführt. Sauerstoff hemmt demnach den Glucoseabbau. Vom energetischen Gesichtspunkt aus

Tabelle 4. Freie Energie (ΔG) von Glykolyse, alkoholischer Gärung und Atmung [32]

| | $-\Delta G'$ (kcal bei pH 7) |
|---|------------------------------|
| Glykolyse: | |
| Glucose \rightarrow 2 Lactat ⁻ + 2 H ⁺ | 47,4 |
| Alkoholische Gärung: | |
| Glucose \rightarrow 2 Äthanol + 2 CO ₂ | 56,1 |
| Atmung: | |
| Glucose + 6 O ₂ \rightarrow 6 CO ₂ + 6 H ₂ O | 686,5 |

ist dieser bei Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen stattfindende Regulationsmechanismus äußerst ökonomisch. Aus Tabelle 4 sieht man, daß die Verbrennung der Glucose bei Anwesenheit von Sauerstoff 686 kcal pro Mol liefert, während der

Tabelle 5. Pasteur-Effekt in *Escherichia coli* [33]

| Bedingungen | Glucoseverbrauch | |
|------------------------------|------------------|------------------------|
| | mg/ml/Std | % des anaeroben Wertes |
| Anaerob | 0,63 | 100 % |
| Aerob | 0,37 | 59 % |
| Aerob + 0,06 M Phosphat . | 0,63 | 100 % |

anaerobe Abbau zu Alkohol und Kohlendioxyd lediglich 56 kcal verfügbar macht [32]. In tierischen Geweben ist die Situation völlig gleichartig. Dort ist lediglich anstelle von alkoholischer Gärung Glykolyse mit 47 kcal/Mol zu setzen. Da die Oxydation von

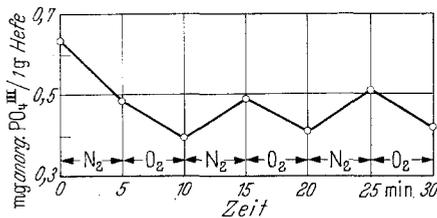


Fig. 16. Orthophosphat Spiegel in Glucose umsetzenden Bäckerhefezellen unter aeroben und anaeroben Bedingungen [34]

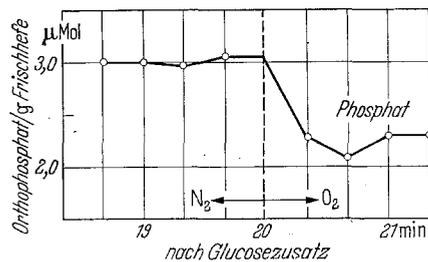


Fig. 17. Änderung der Orthophosphatkonzentration in Hefezellen beim Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen [35]

Glucose ein Vielfaches von Energie gegenüber den anaeroben Gärungsvorgängen verfügbar macht, ist die Zurückdrängung des Glucoseverbrauches durch Sauerstoff ein Regulationsmechanismus, der die ökonomische Ausnützung der verfügbaren Glucose begünstigt. Dieser Mechanismus, der „Pasteur-Effekt“, ist in allen zum aeroben und anaeroben Glucose-Umsatz befähigten tierischen und pflanzlichen Zellen vorhanden. Tabelle 5 zeigt Daten über den Pasteur-Effekt bei

Escherichia coli-Zellen [33]. Der anaerobe Glucoseverbrauch wird durch Zusatz von Sauerstoff um 41 % reduziert. Setzt man der Bakterien-Suspension unter aeroben Bedingungen Orthophosphat zu, so steigt der Glucoseverbrauch auf den anaeroben Wert. Dieser Versuch zeigt, daß der Pasteur-Effekt etwas mit dem Phosphatstoffwechsel zu tun hat. LYNEN hat 1941 bereits experimentell begründet, daß der Pasteur-Effekt auf einer Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels durch das Adenylsäure-System (Orthophosphat, ADP, ATP) beruht. Der wichtigste Versuch von LYNEN zu diesem Problem ist in Fig. 16 wiedergegeben.

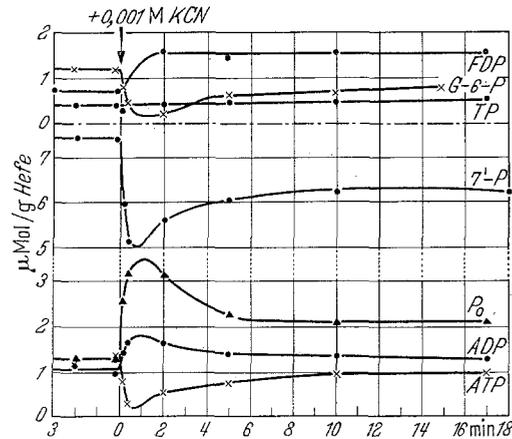


Fig. 18. Änderung der Konzentration von Fructosediphosphat (FDP), Glucose-6-phosphat (G-6-P), Triosephosphat (TP), 7-min-Phosphat (7'-P), Orthophosphat (Po), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP) in Hefe beim Übergang von aeroben zu anaeroben Bedingungen [36]

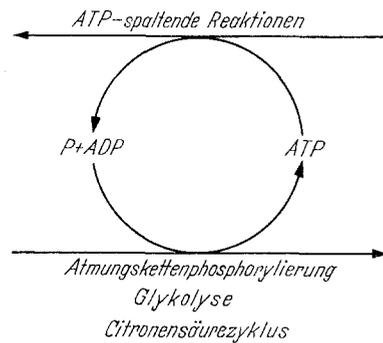


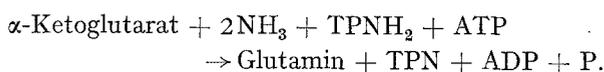
Fig. 19. Konkurrenz um das Adenylsäuresystem

Nach Übergangserscheinungen in den ersten 10 min wechselt beim wiederholten Übergang von anaeroben zu aeroben Bedingungen die stationäre Orthophosphat-Konzentration: unter aeroben Bedingungen wird eine niedrigere stationäre Konzentration eingestellt als unter anaeroben Bedingungen. In Fig. 17 sieht man die Kinetik dieses Vorganges. Es liegt ein „Einschwingen“ der neuen stationären Konzentration vor, wie wir es als charakteristisch für das Funktionieren eines Regelkreises erkannt haben. Dies gilt nicht nur für das Orthophosphat, sondern auch, wie Fig. 18 zeigt, für das Zeitverhalten der Konzentrationen von ADP, ATP und Glucose-6-phosphat beim Übergang von aeroben zu anaeroben Bedingungen [36]. Fig. 19 zeigt den „Regelkreis“ schematisch: phosphorylierende Enzyme, die eine Synthese von ATP aus Orthophosphat und ADP bewirken, konkurrieren mit ATP-spaltenden Enzymen um Phosphat, ADP und ATP. Der Kohlenhydratabbau durch Glykolyse und Citronensäurezyklus, der obligat mit der Synthese von ATP

aus P und ADP gekoppelt ist, kann daher nur in dem Umfange ablaufen, wie ATP gespalten wird. Da unter aeroben Bedingungen auf Grund der Atmungskettenphosphorylierung vermehrt ATP synthetisiert wird, mangelt es an P und ADP, und der Kohlenhydratabbau wird gehemmt. Dazu kommt, daß das bei der Atmung entstehende ATP in den Mitochondrien angehäuft wird, wodurch ATP-Mangel im Cytoplasma eintritt [36]. Die im Cytoplasma ablaufenden, den Glucoseabbau einleitenden ATP-abhängigen Phosphorylierungsprozesse können so unter aeroben Bedingungen nur verlangsamt ablaufen.

LIPMANN [37], KALCKAR [38] und LYNEN [39] formulierten in zusammenfassenden Arbeiten die energetische Bedeutung der Steuerung des Stoffwechsels durch das Adenylsäuresystem. Die „Phosphatpumpe“ von LIPMANN (vgl. Fig. 20) gibt die Zusammenhänge anschaulich wieder. Die Nährstoffe betreiben das Stoffwechselrad, aus dem Wasser, Kohlendioxyd, Alkohol, Milchsäure und andere Abfallprodukte herausfließen. Im Stoffwechselrad wird aus Orthophosphat und Adenosindiphosphat Adenosintriphosphat synthetisiert. Die beim Abbau der Nahrungsstoffe, insbesondere von Fett und Kohlenhydrat, freiwerdende Energie wird benützt, um die „energiereiche“ Pyrophosphatbindung des Adenosintriphosphates zu synthetisieren. Das ATP wird gekoppelt mit Energie benötigenden Reaktionen zu ADP und Orthophosphat oder zu AMP und Pyrophosphat gespalten. Bei allen bisher in ihrem Mechanismus aufgeklärten Energieverbrauchenden Prozessen in der belebten Natur hat sich gezeigt, daß die Auflösung der energiereichen Pyrophosphatbindungen des Adenosintriphosphates die Energie liefert. Dazu gehören Biosynthesen verschiedenster Zellsubstanzen, die Erzeugung von mechanischer, elektrischer und osmotischer Arbeit, von Wärme und Licht usw. Finden keine energieverbrauchenden Prozesse statt, so fällt auch kein Orthophosphat und ADP an. Das Stoffwechselrad bleibt stehen, da der Abbau der Nahrungsstoffe obligat mit der ATP-Synthese aus Orthophosphat und ADP gekoppelt ist. Mit Hilfe des Adenylsäuresystems wird demnach die Energielieferung durch den Energieverbrauch, das Angebot durch die Nachfrage reguliert.

Einen durch Konkurrenz verschiedener Enzyme um das Coenzym-System TPN/TPNH bewirkten Regulationsmechanismus fanden wir bei Studien über Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels in Hefe beim Übergang von Ruhe zu Wachstum. Setzt man die Wachstumsvorgänge in Glucose oxydierenden Hefezellen durch Zusatz von Ammoniumsalzen in Gang, so beobachtet man die in Fig. 21 wiedergegebenen Veränderungen. Ammonium und α -Ketoglutarat nehmen rasch ab, die Glutamin-Konzentration nimmt zu. Diese Vorgänge werden durch zwei Enzyme katalysiert, die die folgende Bilanzreaktion bewirken:



Die Überführung des Ammoniums in organisch gebundenen Aminostickstoff benötigt außer ATP, das als Energielieferant für die Säureamidbildung dient, TPNH₂, das zu TPN oxidiert wird. Man hat in den letzten Jahren außer der Synthese von Glutamin aus α -Ketoglutarat noch viele andere reduktive Synthesen kennengelernt, bei denen TPNH₂ das reduzierende

Agens ist. Das hierbei entstehende TPN wird insbesondere bei Dehydrierungsreaktionen des oxydativen Pentosephosphatzyklus wieder zu TPNH₂ reduziert. Es ergibt sich so die in Fig. 22 schematisch dargestellte Konkurrenz TPNH₂ verbrauchender Synthese-Reaktionen und TPN reduzierender Reaktionen um das

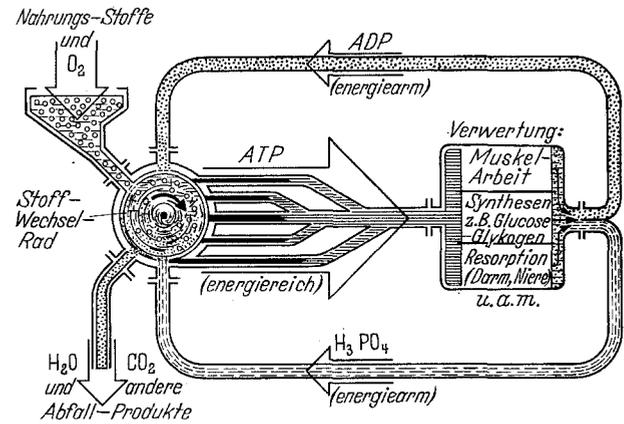


Fig. 20. „Phosphat-Pumpe“ nach LIPMANN [37] aus HOLZER [40]

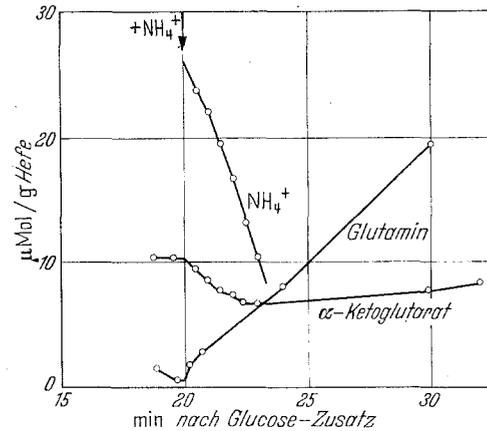


Fig. 21. Änderungen der Konzentration von Glutamin und α -Ketoglutarat nach Zusatz von NH_4^+ -Ionen zu Glucose oxydierenden Hefezellen [30]

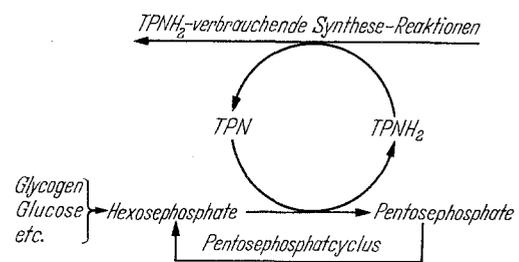


Fig. 22. Konkurrenz um das TPN/TPNH₂-System

TPN/TPNH₂-System. Da die TPN-reduzierenden Enzyme des oxydativen Pentosephosphatzyklus in den meisten Zelltypen in großer Konzentration vorliegen, findet man in ruhenden Zellen, in denen nur in geringem Umfange reduktive Synthesen ablaufen, TPN vorwiegend im reduzierten Zustand. Setzt man in Glucose oxydierender Hefe (die als Zwischenprodukt des Glucose-Abbaues α -Ketoglutarat enthält) mit Ammoniumsalzen nach obiger Gleichung eine Reoxydation von TPNH₂ zu TPN in Gang, dann ist durch das Angebot an oxydiertem TPN eine Beschleunigung der Oxydation von Hexosephosphat zu Pentosephosphat zu erwarten. Dies konnte durch Versuche mit ¹⁴C-markierter Glucose nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 6). Den Hefezellen wurde einmal Glucose

angeboten, die am Kohlenstoffatom 1 das radioaktive Isotop ¹⁴C enthielt, und zum anderen Glucose, die am Kohlenstoffatom 6 markiert war. Die Radioaktivität des beim aeroben Glucoseabbau entstehenden CO₂

Tabelle 6. ¹⁴CO₂-Bildung beim aeroben Umsatz von 1-¹⁴C-Glucose und 6-¹⁴C-Glucose mit Hefe [41]

| Ansatz | ¹⁴ CO ₂ aus Glucose-1- ¹⁴ C | ¹⁴ CO ₂ aus Glucose-6- ¹⁴ C | C ₁ /C ₆ |
|---|--|--|--------------------------------|
| Mit 0,08 m NH ₄ ⁺ | 9600 Imp/min | 1450 Imp/min | 6,6 |
| Ohne NH ₄ ⁺ | 2800 Imp/min | 1170 Imp/min | 2,4 |

wurde mit dem Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Beim Abbau über den Glycolyseweg mit anschließendem Citronensäurezyklus ist aus C₁-markierter und C₆-markierter Glucose gleichviel Radioaktivität im CO₂ zu

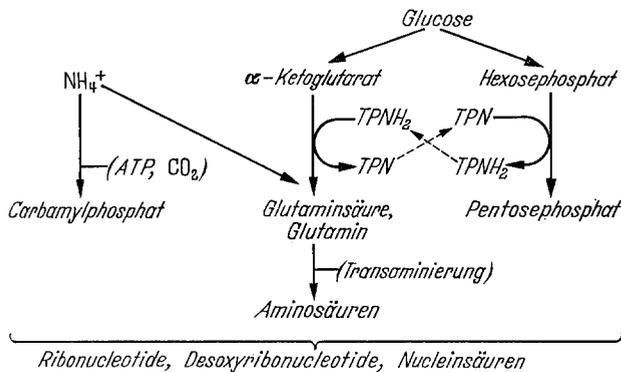


Fig. 23. Koppelung der NH₄⁺-Fixierung und der Pentosephosphatbildung bei der Synthese von Nucleinsäuren in wachsenden Hefezellen

erwarten, da die beiden Hälften des Glucosemoleküls auf gleichem Weg abgebaut werden. Findet der Glucoseabbau durch direkte Oxydation von Hexosephosphat über den Pentosephosphatzyklus statt, dann

Tabelle 7. Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels durch Konkurrenz von Enzymen um Coenzyme

| Coenzym-System | Konkurrierende Enzyme bzw. Reaktionsfolgen | Regulationsphänomene |
|----------------------------------|---|--|
| Adenylsäuresystem P, ADP, ATP | Substrat- und Atmungskettenphosphorylierung P + ADP → ATP ATP-verbrauchende Reaktionen ATP → P + ADP ATP → PP + AMP | Pasteur-Effekt, Atmungskontrolle, „Phosphatpumpe“ |
| TPN/TPNH ₂ | TPN-abhängige Dehydrogenasen SH ₂ + TPN → S + TPNH ₂ TPNH ₂ -abhängige reduktive Synthesereaktionen TPNH ₂ + X → TPN + XH ₂ | Reduktive Synthesen kontrollieren oxydative Pentosephosphat- zyklus |
| DPN/DPNH ₂ | Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase GAP + DPN + P → GSP ₂ + DPNH ₂ Alkohol- bzw. Lactatdehydrogenase DPNH ₂ + S → DPN + SH ₂ | Einschwingvorgänge beim Übergang von Ruhestoffwechsel zu Gärung |

wird aus C₁-markierter Glucose schneller und damit unter gewissen Bedingungen relativ mehr radioaktives CO₂ gebildet als aus C₆-markierter Glucose. Eine Änderung des Quotienten der Radioaktivität von CO₂ aus C₁- und C₆-markierter Glucose zeigt demnach eine Änderung der Intensität des oxydativen Pentosephosphatzyklus im Vergleich zum Glucoseabbau über Glycolyseweg und Citronensäurezyklus an. Wie Tabelle 6 zeigt, findet bei Zusatz von Ammonium zu Glucose oxydierender Hefe eine solche Verschiebung statt. Mit Ammonium beträgt der Radioaktivitätsquotient C₁/C₆ 6,6, ohne Ammonium 2,4. Es wird demnach durch Vermittlung des TPN/TPNH₂-Systems gleichzeitig mit der bei Ammoniumzusatz ein-

setzenden reduktiven Synthese von Glutamin vermehrt Pentosephosphat aus Hexosephosphat gebildet (vgl. Fig. 23). Diese Koppelung trägt dazu bei, günstige Bedingungen für Wachstum und Zellvermehrung zu schaffen, da Pentosephosphate ebenso wie Glutaminsäure, Glutamin und daraus durch Transaminierung entstehende andere Aminosäuren für die Synthese von Nucleotiden und Nucleinsäuren notwendig sind. Wahrscheinlich sind viele weitere derartige Regulationsmechanismen am Zustandekommen von geordnetem Wachstum beteiligt.

In Tabelle 7 sind die in dieser Arbeit besprochenen Beispiele für Stoffwechselregulationen durch Konkurrenz von Enzymen bzw. Enzymsystemen um gemeinsame Coenzyme zusammengefaßt. Es handelt sich hierbei lediglich um eine Auswahl.

Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels der Tumoren

Zum Schluß soll noch ein Problem der enzymatischen Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels skizziert werden, das mit dem malignen Krebswachstum zusammenhängt. Man weiß seit langem, daß Glucose in tierischen Geweben unter anaeroben Bedingungen zu Milchsäure abgebaut wird (Glycolyse), während unter aeroben Bedingungen Kohlendioxyd und Wasser entstehen (Atmung). OTTO WARBURG fand 1923 [42], [43], daß in Krebszellen nicht nur unter anaeroben Bedingungen, sondern auch unter aeroben Bedingungen Milchsäure gebildet wird, es findet eine sog. „aerobe Glycolyse“ statt. Als Beispiel hierfür sind in Fig. 24 die Q-Werte für die aerobe Milchsäurebildung der normalen Leber (0,5) und des Lebercarcinoms (6,0) wiedergegeben.

Experimente mit tierischen Tumoren zeigten, daß man die Glycolyse der Tumorzellen durch Erniedrigung der DPN- und DPNH-Konzentration hemmen kann, ohne die Atmung wesentlich zu beeinflussen. Zwar benötigen sowohl Atmung wie Glycolyse das DPN/DPNH-System, jedoch hat bei der Konkurrenz um DPN/DPNH die Atmung den Vorzug, da die Affinität der beteiligten Enzyme zu DPN, DPNH und den Zwischenprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels verschieden ist [44], [45]. Die Tumorzelle verliert so durch Erniedrigung der DPN- und DPNH-Konzentration die für

ihr malignes Wachstum obligate Energiequelle: die aerobe Glycolyse. Da nach OTTO WARBURG [46] „eine Tumorzelle, ihrer aeroben Glycolyse beraubt, keine Tumorzelle mehr wäre“, konnte man vermuten, daß eine Senkung der DPN- und DPNH-Konzentrationen in Tumoren ein Absterben der Zellen und damit eine Heilung bewirkt. Zur Prüfung dieser Theorie studierten wir die Wirkung von Substanzen, die tierische Tumoren heilen, auf den DPN- und DPNH-Gehalt der Tumorzellen. Derartige Substanzen sind mit Hilfe großangelegter Tierversuchsreihen insbesondere in Laboratorien der pharmazeutischen Großindustrie entwickelt worden [51]. Sie werden als Carcinostatica, Cancerostatica oder Cytostatica

bezeichnet. Bei Verbindungen einer Untergruppe dieser Cytostatica, den sog. „alkylierenden Cytostatica“, fanden wir eine Erniedrigung der DPN- und DPNH-Konzentration in Tumorzellen und parallel dazu eine Hemmung der Glycolyse ohne wesentliche Beeinflussung der Atmung. In Tabelle 8 ist als Beispiel die Wirkung einer carcinostatischen Äthyleniminverbindung auf Ascites-Tumorzellen wiedergegeben [47].

Tabelle 8. DPN-Gehalt, Atmung und Glycolyse von Ascites-Tumorzellen nach Behandlung mit der carcinostatischen Äthyleniminverbindung A 139 bei pH 6,0 und $37^\circ C$ [47]

| | DPN $\frac{\mu\text{Mole}}{\text{mm}^3 \text{ Zellen}} \cdot 10^4$ | Q_{O_2} | Q_{N_2} |
|---|---|-----------|-----------|
| Ohne Äthyleniminverbindung | 1,8 | 3,8 | 10,8 |
| Nach Inkubation mit 8 mg % A 139 | < 0,2 | 2,4 | < 0,5 |

Wir sind der Ansicht, daß die Senkung der DPN- und DPNH-Konzentration und die damit bewirkte Glycolysehemmung die Ursache für das Absterben der Tumorzellen und damit die Heilung ist (Zusammenfassung s. [48]). Experimentell gestützt wird diese Ansicht unter anderem durch die in den Tabellen 9 und 10 niedergelegten Versuche. In Tabelle 9 ist die Wirkung von „Tetramin“ und „B 712“ verglichen,

Tabelle 9. Chemotherapie Jensen-Sarkom tragender Ratten [50]

| Chemotherapeutikum | Dosis | $\mu\text{Mol DPN pro g Tumor}$ | Geheilte Tiere |
|-------------------------------------|-------------------|---------------------------------|----------------|
| — | — | 0,18 | 0 % |
| Äthyleniminverbindung „Tetramin“ | 60mg/kg i. p. | 0,10 | 100 % |
| N-Oxyd-Lostverbindung „B 712“ | 100mg/kg i. v. | 0,16 | 20 % |

die beide zur Gruppe der „alkylierenden Cytostatica“ gehören und gewisse tierische Tumoren heilen. Den im vorliegenden Versuch untersuchten Tumor, das Jensen-Sarkom der Ratte, heilt jedoch nur das „Tetramin“ in hohem Prozentsatz. Parallel dazu wird nur durch das „Tetramin“ der DPN-Gehalt des Tumors gesenkt. Heilwirkung und Wirkung auf DPN gehen also parallel (der DPNH-Gehalt ist immer nur ein kleiner Bruchteil

Tabelle 10. Wirkung von Nicotinsäureamid auf den DPN-Gehalt und die Heilungsquote bei der Chemotherapie des Jensen-Sarkoms mit 3,1 mg/kg der Äthyleniminverbindung E 39 [49]

| | $\mu\text{Mol DPN pro g Tumor}$ | Geheilte Tiere |
|-----------------------|---------------------------------|----------------|
| Ohne Nicotinsäureamid | 0,04 | 69 % |
| Mit Nicotinsäureamid | 0,23 | 30 % |

des DPN-Gehaltes; man kann daher auf Messung des DPNH verzichten).

Auch die Wirkung von Nicotinsäureamid auf die Heilungsquote weist auf einen kausalen Zusammenhang von Heilung und DPN-Gehalt hin. Nicotinsäureamid bewirkt in Tumorgewebe ebenso wie in Normalgewebe eine Intensivierung der Biosynthese von DPN und damit eine Erhöhung des DPN- und DPNH-Gehaltes. Appliziert man es gleichzeitig mit einem 69% der Tiere heilenden Carcinostaticum (vgl. Tabelle 10), dann wird parallel zur Erhöhung des DPN-

Gehaltes im Tumor die Heilungsquote auf 30% verringert [49]. Wiederum gehen Heilung und Senkung des DPN-Gehaltes parallel. Verhindert man das Absinken des DPN-Gehaltes, so verhindert man die Heilung.

Ich habe Konsequenzen, die sich aus der Erforschung der intrazellulären Stoffwechselregulation für die Chemotherapie des Krebses ergeben, nicht ohne Absicht an den Schluß meines Referates gestellt. Dieses Beispiel zeigt, wie ohne jeglichen „praktischen Zweck“ betriebene naturwissenschaftliche Grund-

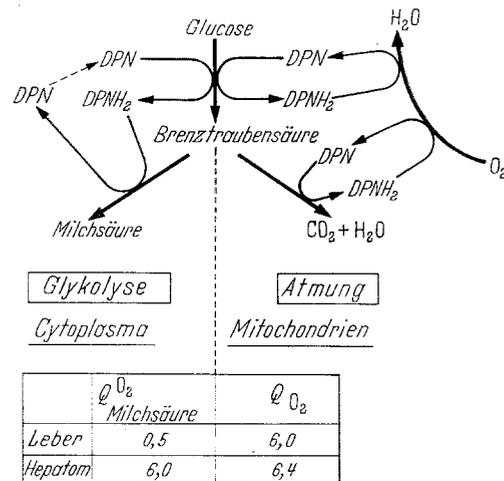


Fig. 24. Schema von Glycolyse und Atmung sowie Q -Werte (mm^3 Milchsäure bzw. O_2 pro mg Trockengewicht pro Std) von Leber und Hepatom

lagenforschung für die praktische Medizin bedeutsam werden kann. Es lebe die Symbiose von Naturforschern und Ärzten!

Zusammenfassung

Die Fähigkeit zur Anpassung an Änderungen der Umgebung ist eine unerläßliche Eigenschaft aller Lebewesen. Diese Fähigkeit tritt im geistigen Bereich ebenso auffällig in Erscheinung wie im körperlichen. Nähere Analyse zeigt, daß Regelmechanismen nervöser, hormoneller bzw. enzymatischer Natur die Anpassung ermöglichen. Nervöse und hormonelle Regulation bedürfen des Vorhandenseins von komplizierten vielzelligen Strukturen. Die enzymatische Regulation erfolgt intrazellulär und ist daher auch in einzelligen Organismen wirksam. Sie kommt durch Induktion bzw. Repression der Synthese von Enzymen, durch Endproduktthemmung („feedback-Mechanismen“) und durch Konkurrenz von Enzymen um gemeinsame Substrate zustande. Beispiele für diese drei Möglichkeiten der intrazellulären Stoffwechselregulation aus verschiedenen Bereichen des Lebens (Mikroorganismen, Pflanzen, Säugetiere) werden besprochen. Insbesondere wird auf den durch Konkurrenz von Enzymen um das Adenylsäuresystem zustande kommenden „Pasteur-Effekt“ hingewiesen. Einige Konsequenzen für die „Fehlregulation“ des Kohlenhydratstoffwechsels in Tumoren und Möglichkeiten ihrer chemotherapeutischen Beeinflussung werden erwähnt.

Literatur

- [1] WIENER, N.: Cybernetics. New York: John Wiley 1948. —
- [2] HASENSTEIN, B.: Naturw. Rundschau 13, 349, 373, 419 (1960).
- [3] OPPELT, W.: Kleines Handbuch technischer Regelvorgänge. Weinheim: Verlag Chemie 1956. — [4] BÜCHER, TH.: Diskussions-

bemerkung zum Vortrag von H. HOLZER „Stoffwechselregulation durch Rückkoppelung“ bei der Tagg. der Ges. für Physiologische Chemie e.V. in Berlin vom 23.–26. Sept. 1959. — [5] MONOD, J., in: *Enzymes: Units of Biological Structure and Function* (O.H. GAEBLER, Ed.), S. 7. New York: Academic Press 1956. — [6] VOGEL, H. J., in: *The Chemical Basis of Heredity* (W.D. McELROY and B. GLASS, Eds.), S. 276. Baltimore: Johns Hopkins-Press 1957. — [7] GORINI, L., u. W. MAASS, in: *The Chemical Basis of Heredity* (W.D. McELROY and B. GLASS, Eds.), S. 469, Baltimore: Johns Hopkins-Press 1957. — [8] BAICH, A., u. H. J. VOGEL: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 7, 491 (1962). — [9] PARDEE, A. B., F. JACOB u. J. MONOD: *J. Mol. Biol.* 1, 165 (1959). — [10] YARMOLINSKY, M. B., E. JORDAN u. H. WIESMEYER: *Cold Spring Harbor Sympos. Quantitat. Biol.* 26, 217 (1961). — [11] AMES, B. N., B. GARRY u. L. A. HERZENBERG: *J. Gen. Microbiol.* 22, 369 (1960). — [12] HARTMAN, P. E., Z. HARTMAN u. D. SERMAN: *J. Gen. Microbiol.* 22, 354 (1960). — HARTMAN, P. E.: *Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 612*, 36 (1956). — [13] DEMEREC, M., u. Z. HARTMAN: *Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 612*, 5 (1956). — [14] SMITH, O. H., u. CH. YANOFSKY: *J. Biol. Chem.* 235, 2051 (1960). — [15] JACOB, F., u. J. MONOD: *J. Mol. Biol.* 3, 318 (1961). — [16] UMBARGER, H. E.: *Science* 123, 848 (1956). — [17] WORMSER, E. H., u. A. B. PARDEE: *Arch. Biochem. Biophys.* 78, 416 (1958). — [18] STADTMAN, E. R., G. N. COHEN, G. LE BRAS u. H. DE ROBICHON-SZULMAJASTER: *J. Biol. Chem.* 236, 2033 (1961). — [19] UMBARGER, H. E., u. B. BROWN: *J. Bacteriol.* 73, 105 (1957). — [20] HOLZER, H., u. G. KOHLHAW: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 5, 452 (1961). — [21] HOLZER, H., F. DA FONSECA-WOLLHEIM, G. KOHLHAW u. CH. W. WOENCKHAUS: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 98, 453 (1962). — [22] CHANGEUX, J.-P.: *Cold Spring Harbor Sympos. Quantitat. Biol.* 26, 313 (1961). — [23] GERHART, J. C., u. A. B. PARDEE: *Federation Proc.* 20, 224 (1961). — [24] UMBARGER, H. E.: *Cold Spring Harbor Sympos. Quantitat. Biol.* 26, 301 (1961). — [25] KREBS, H. A.: *Dtsch. med. Wschr.* 81, 4 (1956). — [26] WOLSTENHOLME, G. E. W., u. C. M. O'CONNOR, Eds.: *Ciba Foundation Symposium on the Regulation of Cell Metabolism*. London: J. & A. Churchill Ltd. 1959. —

[27] HOLZER, H., u. A. HOLLDFORF: *Handbuch der Pflanzenphysiol.* (hrsgb. v. W. RUHLAND) Bd. XII/1, S. 1092. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. — [28] CALVIN, M.: *Angew. Chem.* 68, 253 (1956). — [29] HOLZER, H., u. R. FREYTAG-HILF: *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.* 316, 7 (1959). — [30] HOLZER, H.: *Cold Spring Harbor Sympos. Quantitat. Biol.* 26, 277 (1961). — [31] PASTEUR, L.: *Bull. Soc. chim. Paris*, S. 79 (1861). — [32] BURTON, K.: *Ergebn. Physiol.* 49, 275 (1957). — [33] HOLZER, H., u. H. GRUNICKE: *Biochim. et Biophys. Acta* 53, 591 (1961). — [34] LYNEN, F.: *Liebigs Ann. Chem.* 546, 120 (1941). — [35] HOLZER, H., I. WITT u. R. FREYTAG-HILF: *Biochem. Z.* 329, 467 (1958). — [36] LYNEN, F., G. HARTMANN, K. F. NETTER and A. SCHUEGRAF, in: *Ciba Foundation, Regulation of Cell Metabolism*, S. 256. London: J. & A. Churchill Ltd. 1959. — [37] LIPMANN, F.: *Advances in Enzymol.* 1, 99 (1941). — [38] KALCKAR, H. M.: *Chem. Reviews* 28, 71 (1941). — [39] LYNEN, F.: *Naturwissenschaften* 30, 398 (1942). — [40] HOLZER, H.: *Umschau* 50, 510 (1950). — [41] HOLZER, H., u. I. WITT: *Biochim. et Biophys. Acta* 38, 163 (1960). — [42] WARBURG, O.: *Biochem. Z.* 142, 317 (1923). — [43] WARBURG, O.: *Über den Stoffwechsel der Tumoren*. Berlin: Springer 1926. — [44] HOLZER, H.: *Ber. Ges. Physiol. exp. Pharmacol.* 189, 120 (1957). — [45] HOLZER, H.: 8. Colloquium der Ges. f. physiol. Chem., S. 66. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. — [46] WARBURG, O.: *Ideen zur Fermentchemie der Tumoren*. Berlin: Akademie-Verlag 1947. — [47] SCRIBA, P.: *Diss. med. Fak. Freiburg i. Br.* 1959. — [48] HOLZER, H.: *Dtsch. med. J.* 12, 312 (1961). — [49] KRÖGER, H., u. H. HOLZER: *Extrait d'Acta Union Intern. Contre le Canc.* 16, 686 (1960). — [50] KRÖGER, H., B. ULRICH u. H. HOLZER: *Arzneimittel-Forsch.* 9, 598 (1959). — [51] DOMAGK, G., in: *Handbuch der allgem. Pathologie*, 6, 242. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Freiburg i. Br., Physiologisch-Chemisches Institut der Universität

Eingegangen am 26. September 1962

Pinozytose*)

Von D. WITTEKIND, Grenzach/Baden

Der Begriff „Pinozytose“ wurde 1934 von W. H. LEWIS geprägt. Das Wort ist abgeleitet von griechisch *πίνω* = ich trinke. Man versteht unter Pinozytose die tropfenweise Aufnahme von Flüssigkeit in das Zellinnere, wobei diese sozusagen schluckweise Hereinnahme flüssiger Substanz durch Bildung und Schließung von Pseudopodien bzw. durch Invaginationen der Zellmembran geschieht; die aufzunehmenden Tropfen werden also aus der Suspensionsflüssigkeit ausgeklammert. Zwischen der schon länger, auch weit besser bekannten, als Phagozytose (griechisch *φάγω* = ich esse) bezeichneten Aufnahme fester Substanzen in die lebende Zelle und Pinozytose (P.) bestehen enge Beziehungen. Es ist eigenartig und wahrscheinlich mit der späten Bereitstellung methodischer Voraussetzungen zu erklären, daß dieser wichtige biologische Prozeß erst in den letzten Jahren intensiv bearbeitet worden ist. Noch 1954 beklagte POMERAT die unverdiente Vergessenheit, in welche die P. geraten sei. In letzter Zeit jedoch konnte HOLTER [32d] zu der Feststellung kommen, die P. sei zu einem fast populären Thema geworden. Da dies jedoch mehr auf den anglo-amerikanischen als auf den deutschsprachigen Bereich zutrifft, erscheint die einleitende, kurze Begriffsdefinition gerechtfertigt.

1. Morphologie der Pinozytose

A. Animalische Zellen. Aus zellphysiologischen Gründen, die im dritten Teil zu erläutern sind, wird

in dieser Darstellung zwischen einer P. auf lichtmikroskopischer und auf elektronenmikroskopischer — submikroskopischer — Basis (Mikropinozytose, ODOR 1957) unterschieden.

a) *Lichtmikroskopische Pinozytose.* In Fig. 1 sind die vier wichtigen Phasen der lichtmikroskopischen P. schematisch dargestellt: I. Ein Pseudopodium ist aus dem Niveau der Zellmembran hervorgetreten und hat II. durch weitere Propulsion die Umfassung eines Flüssigkeitstropfens eingeleitet. III. Es ist durch Vereinigung der Pseudopodienspitze mit der gegenüberliegenden Zellmembran die Ausklammerung abgeschlossen. So bilden sich Pinozytose-Vakuolen (P.V.), deren Grenzmembran also aus der äußeren Zellmembran hervorgegangen ist. IV. Die P.V. wandern in Richtung auf das Zellzentrum. Dabei erfahren sie infolge einer Konzentrationsleistung der lebenden Zelle eine Abnahme des Umfangs und eine Zunahme der Dichte; schließlich lassen sie sich nahe dem Zellzentrum durch basische Farbstoffe darstellen (Fig. 1).

Die P.V. können einen Umfang von 1 bis 2 μ erreichen. Ihre Orientierung zum Zellinnern hin ist nicht gesetzmäßig, neu gebildete P.V. können auch wieder aus der Zelle ausgestoßen werden oder mit ihresgleichen konfluieren, was sich an Leukozyten im Phasenkontrastmikroskop gut verfolgen läßt. Die Beobachtung lebender Zellen lehrt, daß die P. ein rhythmischer Vorgang ist [10b]. Man weiß nicht, welcher Faktor die Pinozytose-Pausen einleitet oder beendet. Die Unterbrechungen lassen sich vielleicht mit dem Unvermögen der Zelle erklären, die durch P. ingerierte äußere Zellmembran kontinuierlich zu ersetzen.

*) Vortrag, gehalten auf der 102. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte am 11. September 1962 in München.