

Die Glykolyse.

Von Dozent Dr. E. LUNDSGAARD, Kopenhagen.

(Eingeg. 9. April 1934.)

Inhalt: Das glykolytische Enzymsystem. — Intermediärvorgänge bei der Glykolyse. — Biologische Bedeutung der Glykolyse.

„Glykolyse“ bedeutet wörtlich Spaltung von Glykose, wird aber in der Biologie speziell zur Bezeichnung des Vorgangs der enzymatischen Spaltung von Kohlenhydrat in Milchsäure verwendet. Begrifflich würde hierunter auch die bakterielle Spaltung von Kohlenhydrat in Milchsäure fallen, die aber allgemein als Milchsäuregärung bezeichnet und von dem Begriff „Glykolyse“ abgetrennt wird. Fast alle tierischen Gewebe besitzen die Fähigkeit, Kohlenhydrate in Milchsäure zu zerlegen. Besonders große Milchsäurebildung wurde schon sehr frühzeitig in Muskelgeweben aufgefunden. Muskelgewebe und Muskelextrakte dienten daher als besonders geeignetes Material zum Studium der enzymatisch-chemischen Vorgänge bei der Glykolyse. Schon ältere Arbeiten von *Meyerhof* über die Muskelglykolyse hatten die große Ähnlichkeit mit der alkoholischen Gärung gezeigt. Diese Gleichartigkeit ist durch die Forschung der letzten Jahre noch deutlicher zutage getreten, denn sowohl die erweiterten Kenntnisse der intermediären Vorgänge als auch der diese bewirkenden Enzymsysteme weisen auf die große Ähnlichkeit der beiden Prozesse hin. Andererseits wurden im Laufe der letzten Jahre wesentliche Beiträge zur Beurteilung der Rolle der Glykolyse als Stoffwechselvorgang geliefert.

Das glykolytische Enzymsystem.

Wie das Enzymsystem der alkoholischen Gärung lässt sich das bei der Milchsäurebildung wirksame Enzymsystem in einen thermolabilen kolloidalen Bestandteil (Enzym) und einen thermostabilen dialysablen Bestandteil (Coenzym) zerlegen. Bedeutende Fortschritte wurden besonders durch Untersuchungen über das Coferment gemacht. Von *Lohmann* (1) wurde aus dem Muskel eine organische Pyrophosphatverbindung isoliert, in der Pyrophosphat an Adeninribosephosphorsäure (Muskeladenylsäure) gebunden ist. Die Bindungsart des Pyrophosphats konnte bisher nicht sichergestellt werden. Diese Verbindung (Adenylpyrophosphorsäure), die in fast allen tierischen Geweben nachgewiesen werden konnte, ist der organische Bestandteil des Coferments. Aus Hefe wurde eine nicht mit der Muskeladenylsäure identische Adenylsäure von *Euler* und *Myrbäck* (2) isoliert, die Coferment der Gärung (Cozymase) ist. Diese chemisch sehr ähnlichen Verbindungen können sich nach *Lohmann* (3) bis zu einem gewissen Grade vertreten, wenn auch fraglos eine Spezialisierung in bezug auf die entsprechenden Fermentsysteme besteht. Übrigens wurden von *Lohmann* in Hefe große Mengen einer Pyrophosphatverbindung nachgewiesen; andererseits wurde festgestellt, daß die *Eulersche Cozymase* sich im Muskelextrakt mit Phosphat zu einer Adenylpyrophosphorsäure verbinden kann (4). Auch kommt die *Eulersche* Verbindung, wenn auch in geringerer Menge, im Muskel vor. Aus diesen Befunden lässt sich auf eine außerordentlich große Verwandtschaft dieser Verbindungen schließen, deren chemische Differenz wahrscheinlich in einer verschiedenartigen Bindung der Phosphorsäure an die Ribose besteht (*Levene*) (5).

Neben Phosphat, dessen Notwendigkeit für die Glykolyse schon lange bekannt ist, wurde ein weiterer anorganischer Bestandteil des Cofermentsystems aufgefunden; *Lohmann* (3) stellte fest, daß zur Komplettierung des glykolytischen wie auch des Gärungssystems Magnesium notwendig ist. Wahrscheinlich steht es in enger Beziehung zur Pyrophosphatverbindung. Aus *Lohmanns* (6) Versuchen geht hervor, daß die maximale Wirkung erreicht ist, wenn die Konzentration des Magnesiums im

Verhältnis 1:1 der der Adenylpyrophosphorsäure entspricht, so daß man auch das Magnesiumsalz der Adenylpyrophosphorsäure als Coferment bezeichnen kann. Nach der *Lohmannschen* Auffassung (7) ist die Rolle der Pyrophosphatverbindung beim glykolytischen Abbau des Kohlenhydrats wahrscheinlich darin zu suchen, daß sie als Phosphatüberträger bei der Anlagerung des Phosphats an den Zucker wirkt. Diese Auffassung gründet sich auf der Erfahrung, daß Adenylpyrophosphat in den Geweben enzymatisch in anorganisches Phosphat und Adenylsäure gespalten werden kann, und daß andererseits die Spaltprodukte resynthetisiert werden können. Doch muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß Phosphorylierung unter Umständen erfolgen kann, wo das veresterte Phosphat nicht von einer Spaltung von Adenylpyrophosphat herrühren kann (8).

Die Untersuchungen über das Cofermentsystem wurden fast ausnahmslos an unter Kühlung in Kolloidumhülsen dialysiertem Muskelextrakt angestellt, indem durch Zusatz der auf ihre Wirkung zu untersuchenden Stoffe die durch Dialyse (Cofermentverlust) verlorengegangene Fähigkeit, Glykogen in Milchsäure zu spalten, wiederhergestellt wurde.

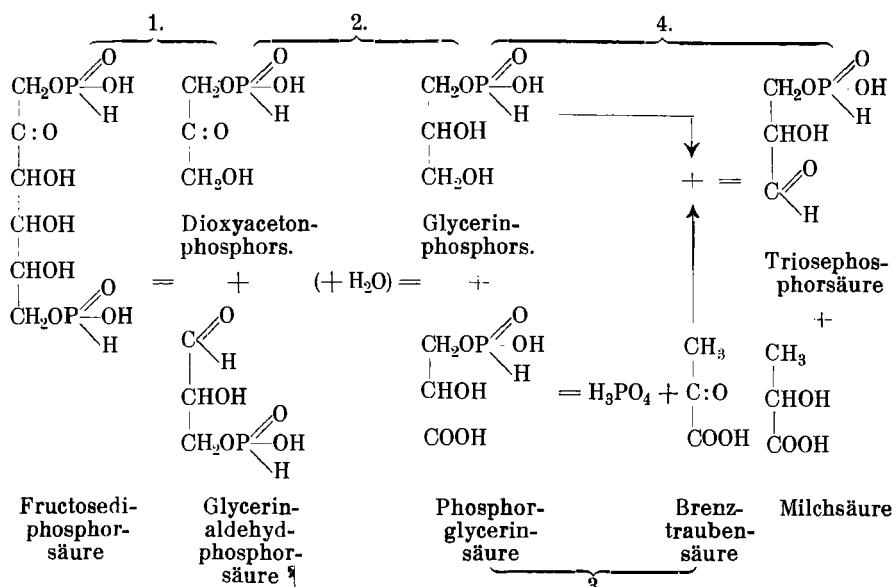
Intermediärvorgänge bei der Glykolyse.

Die in der Zelle ablaufenden enzymatisch-katalytischen Vorgänge sind im lebenden Organismus so gut aufeinander abgestimmt, daß die Möglichkeit der Erfassung von intermediären Produkten äußerst erschwert ist. Die großen Fortschritte in der Erforschung der intermediären Vorgänge hier wie überhaupt waren daher an eine Störung des Normalablaufs durch Einschaltung von Hemmungsstoffen oder Abtrennung des Enzymsystems von der lebendigen Zelle geknüpft. Zwar führt oft eine Vergiftung zur Anhäufung von stabilisierten Produkten, die mit den wahren reaktionsfähigen Intermediärsubstanzen nicht völlig identisch sind, oder zur Anhäufung von Produkten reiner Nebenreaktionen, so daß es zuweilen schwierig ist, aus der gestörten Reaktion den wahren Reaktionsverlauf zu konstruieren.

Der erste Angriff des Kohlenhydrats bei der glykolytischen Reaktion ist wie bei der Gärung (*Harden*) eine Veresterung mit Phosphat (8a). Es wird zwar von einigen Seiten behauptet (9), daß in gewissen Organen eine Glykolyse ohne Phosphorylierung stattfinden soll, jedoch kann die experimentelle Fundierung einer solchen Behauptung als keineswegs hinreichend betrachtet werden, vielmehr spricht eine große Reihe von Tatsachen, deren ausführliche Diskussion hier zu weit führen würde, für die Annahme, daß in allen Fällen der glykolytische Abbau über phosphorylierte Zwischenprodukte geht. Nachdem zunächst nur Phosphorsäureester der Hexose, und zwar die aus Hefe isolierte *Harden-Youngsche* Fructose-diphosphorsäure und eine Monophosphorsäure (*Embden-Ester*), die ein Gemisch von Aldose- und Ketosephosphorsäure darstellt, aufgefunden waren, wurde in der allerletzten Zeit ein bedeutender Fortschritt dadurch erreicht, daß eine Reihe von Phosphorsäureestern der Drei-kohlenstoffreihe als Zwischenprodukte isoliert werden konnten. Als unschätzbares Hilfsmittel zur Untersuchung von Intermediärvorgängen hat sich die spezifische Wirkung von Giftstoffen erwiesen. Denn die Wirkung der Jodessigsäure wurde als spezifische Vergiftung der bei der Oxydoreduktion wirksamen, die Fluoridwirkung als spezifische Vergiftung der bei der Phosphatabspaltung

wirksamen Enzyme erkannt. Schon vor längerer Zeit fand *Embden*, daß in zerschnittenen Muskeln in Gegenwart von Fluorid eine hochgradige Anhäufung von Phosphorsäureestern stattfindet. Damals isolierte er aus derartigen Ansätzen die schon von *Harden* und *Young* aus Hefe isolierte obengenannte Hexosediphosphorsäure. Später fand *Lohmann* (10), daß die nach längerer Einwirkungsdauer gebildeten Produkte nicht mit den bisher bekannten Hexosephosphorsäureestern identisch sein konnten.

Der bedeutendste Fortschritt auf diesem Gebiete wurde 1933 durch Untersuchungen von *Embden* und seinen Schülern (11) erzielt. Ihnen gelang es, aus Fluoridmuskelbrei das schönkristallisierende, saure Bariumsalz des Monophosphorsäureesters der Glycerinsäure darzustellen; der Ester bildet sich unter Ausschluß von Sauerstoff durch dismutative Spaltung von Hexosediphosphorsäure in Gegenwart von Fluorid. Weiterhin stellten sie fest, daß durch frischen Muskelbrei Monophosphorglycerinsäure in Brenztraubensäure und Phosphorsäure aufgespalten wird. Auf Grund dieser Befunde stellte *Embden* das folgende Schema des glykolytischen Abbaus auf:



Dieses Schema wurde im wesentlichen durch eine Reihe von Untersuchungen insbesondere von *Meyerhof* und *Kießling* (12) bestätigt und ausgebaut. Wenn es auch als bester Ausdruck des augenblicklichen Standes der Erforschung der glykolytischen Reaktion gelten darf, so erscheint es doch angebracht, darauf hinzuweisen, daß noch nicht volle Einigkeit über die Allgemeingültigkeit dieser Formulierung besteht. Es soll nunmehr eine Diskussion der einzelnen *Embdenschen* Gleichungen folgen.

Als Ausgangsprodukt des glykolytischen Abbaus fungiert in diesem Schema (Reaktion 1) Fructosediphosphorsäure. Dieses darf nicht in der Weise aufgefaßt werden, daß es als sicher gelten darf, daß dieses Zwischenprodukt identisch ist mit der isolierten *Harden-Youngschen* Säure. Diese wird nämlich durch Muskelenzym ziemlich schwer angegriffen, so daß die normale schnelle Glykolyse offenbar einen reaktionsfähigeren Zwischenkörper erfordert. Die ausgezeichnete Bestätigung des weiteren Abbauschemas spricht jedoch dafür, daß eine zweifache Phosphorylierung dem glykolytischen Abbau der Kohlenhydrate vorangeht. Andererseits wurde kürzlich von *Meyerhof* und *Lohmann* (13) die Aufspaltung von Hexosediphosphorsäure in Triosephosphorsäuren sichergestellt. Während *Embden* nur das eine Dismutationsprodukt der Reaktion 2 — die Phosphoglycerinsäure — aufgefunden hatte, gelang es *Meyerhof*,

das andere Reaktionsprodukt — Glycerinphosphorsäure — zu isolieren. Von besonderer Bedeutung erscheint nun die aus Reaktion 3 sich ergebende Bildung von Brenztraubensäure im Ablauf des glykolytischen Abbaus. Unter Ausschluß von Sauerstoff war schon von *Case* (14) mit dem *Neubergschen* Sulfitabfangverfahren Brenztraubensäure als Produkt von Stärkespaltung durch Muskelbrei isoliert worden. Auch der in Reaktion 4 verzeichnete Umsatz zwischen Glycerinphosphorsäure und Brenztraubensäure, die Endreaktion, bei der die Milchsäure entsteht, wurde inzwischen von *Meyerhof* (12) bestätigt. Hier soll erwähnt werden, daß kürzlich von *Wurmser* und daran anschließend von amerikanischen Forschern das Oxydoreduktionssystem: Brenztraubensäure \rightleftharpoons Milchsäure (+ Katalysator) als reversibles Oxydoreduktionssystem erkannt wurde. Hiernach erscheint die Gleichartigkeit der glykolytischen Systeme mit den insbesondere von *Thunberg* und seiner Schule untersuchten reversiblen Oxydoreduktionssystemen (z. B. Bernsteinsäure \rightleftharpoons Fumarsäure (+ Katalysator) sehr wahrscheinlich.

In dem hier betrachteten Glykolyzeschema findet das Methylglyoxal (CH_3COCHO) keinen Platz. Diese Verbindung wurde lange Zeit als Vorstufe der Milchsäure angesehen (15). Eine derartige Anschauung wurde wesentlich gestützt durch den schon lange erbrachten Nachweis einer allgemeinen Anwesenheit eines Enzyms, das Methylglyoxal in Milchsäure umzuwandeln vermag. Es scheint somit wahrscheinlich, daß Methylglyoxal in den Zellen vorkommt. Außerdem wurde in gewissen Fällen mit ziemlich geschwächten Enzymsystemen als Endprodukt der Hexosediphosphorsäurespaltung von *Neuberg* Methylglyoxal aufgefunden. Von Wichtigkeit für die Frage der Rolle des Methylglyoxals bei der Glykolyse ist die Beobachtung von *Lohmann* (16), daß die enzymatische Spaltung des Methylglyoxals nur in Gegenwart von Glutathion erfolgt. *Lohmann* fand nun aber, daß in glutathionfreidialysierten Extrakten nach

Zusatz von Coferment zwar eine Glykolyse, aber keine Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure stattfand.

Man dürfte daher heute wohl am besten den Weg über das Methylglyoxal als einen Nebenweg der Glykolyse betrachten, und eine Möglichkeit zur Erklärung seines Auftretens erscheint durch die äußerst leicht schon spontan erfolgende Spaltung der Glycerinaldehydphosphorsäure in Methylglyoxal und Phosphorsäure gegeben zu sein.

Biologische Bedeutung der Glykolyse.

Unter normalen Bedingungen erhält der Organismus die zum Leben notwendige Energie durch Oxydation von Nährstoffen mittels des atmosphärischen Sauerstoffs (aerober Stoffwechsel). Jedoch kann auch unter Ausschluß von Sauerstoff eine Energieproduktion durch Spaltung organischer Substanzen stattfinden (anaerober Stoffwechsel). Die am längsten bekannte anaerobe energieliefernde Reaktion ist die Gärung, die schon von *Pasteur* als ein für die Oxydation vikariierender Stoffwechselprozeß erkannt wurde. Die gleiche Funktion wie die Gärung für die Hefezelle hat die Glykolyse für die tierischen Zellen. Man war lange Zeit der Ansicht, daß die glykolytische Spaltung die einzige anaerob energieliefernde Reaktion tierischer Zellen darstellt, und daß ihr außerdem eine spezifische Bedeutung für gewisse

Funktionen des Organismus zukommt. Insbesondere war eine solche Annahme lange Zeit für die Milchsäurebildung im Muskel als für die Kontraktion spezifische energieliefernde Reaktion gemacht worden, indem besonderer Wert auf den Zusammenhang zwischen Kontraktion und Säurebildung gelegt wurde. Es gelang jedoch *Lundsgaard* (17), zu zeigen, daß mit Jodessigsäure vergiftete Muskeln, die völlig ihrer Fähigkeit zur anaeroben Glucosespaltung beraubt sind, unter Ausschluß von Sauerstoff normale Kontraktionen ausführen können. Eine Milchsäurebildung ist somit für die Kontraktion nicht spezifisch. Die für die Kontraktion notwendige Energie wird unter diesen Bedingungen durch eine andere, von *Eggleton* entdeckte und besonders von *Fiske* (18) und *Meyerhof* (19) untersuchte, anaerob energieliefernde Reaktion, die Spaltung von Kreatinphosphorsäure, geliefert (Kreatinphosphorsäure = Kreatin + Phosphorsäure + 12 000 cal). Die hierbei freiwerdende Energie ist von der gleichen Größenordnung wie die pro Mol gebildeter Milchsäure freiwerdende. Hierdurch entfällt auch die Möglichkeit, die Säurebildung als spezifisch für die Muskelkontraktion zu betrachten, um so mehr als bei der Spaltung von Kreatinphosphorsäure die Reaktion nach der alkalischen Seite verschoben wird. Überhaupt hat die Vergiftung mit Jodessigsäure als Methode zur Ausschaltung der Glykolyse ohne Beeinträchtigung anderer Stoffwechselprozesse vielfach Anwendung gefunden.

Da bei vollkommener Sättigung mit Sauerstoff eine Anhäufung von Milchsäure im Muskel nicht stattfindet (Hemmung der Glykolyse in Sauerstoff, *Pasteursche Reaktion*), war bei Annahme der Milchsäurebildung als kontraktionsspezifischer Reaktion notwendig hier eine intermediäre Milchsäurebildung zu fordern. Das Verschwinden der intermediär gebildeten Milchsäure wurde von *Meyerhof* in der Weise erklärt, daß in Sauerstoff eine dauernde Resynthese der Milchsäure in Glykogen stattfindet. Diese Annahme gründet sich auf der Feststellung, das im Muskel anaerob angehäufte Milchsäure bei nachträglicher Zufuhr von Sauerstoff zum größten Teil zu Kohlenhydrat resynthetisiert werden kann. Einerseits fiel durch den Nachweis, daß die Glykolyse nicht kontraktionsspezifisch ist, die Notwendigkeit einer intermediären Milchsäurebildung weg, andererseits gelang es, in neueren Versuchen von *Lipmann* (20) zu zeigen, daß das Nichtauftreten von Milchsäure in Sauerstoff als eine

Hemmung der glykolytischen Reaktion in Sauerstoff deutet werden kann. Es konnte nämlich in Versuchen mit Muskelextrakt, dessen Glykolyse sauerstoffunempfindlich ist, nachgewiesen werden, daß die Hemmung der Glykolyse durch Sauerstoff (*Pasteursche Reaktion*) durch Zusatz positiver Oxydoreduktionssysteme der Indophenolreihe, die das im Extrakt fehlende Atmungssystem ersetzen, hervorgerufen werden kann. Eine Resynthese ist hier wegen mangelnder Energie ausgeschlossen.

Auch die spezifische Bedeutung für das Wachstum und insbesondere das pathologische Wachstum von Geschwülsten, die nach Entdeckung der großen Glykolyse wachsender Gewebe durch *Warburg* vielfach diskutiert wurde, ist teils durch direkte Untersuchungen, teils indirekt durch den Nachweis der Unspezifität der Glykolyse für die Kontraktion sehr unwahrscheinlich geworden. Da die Herbeischaffung von Oxydationsenergie von der Geschwindigkeit der Heranschaffung des Sauerstoffs an die Zelle abhängt, die bei sehr plötzlichem Energiebedarf (Muskelkontraktion) oder bei mangelnder Zirkulation (wachsendes Gewebe) nicht ausreichend sein kann, so erscheint es als einfachste Annahme, die anaerob energieliefernde Glykolyse im Sinne *Pasteurs* als eine Ersatzreaktion bei mangelndem Sauerstoff aufzufassen.

[A. 48.]

Literatur.

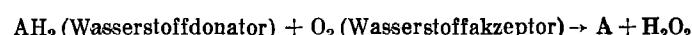
- (1) *K. Lohmann*, Biochem. Ztschr. 254, 381 [1932]. —
- (2) *K. Myrbäck* u. *H. v. Euler*, Ztschr. physiol. Chem. 203, 143 [1931]. — (3) *Lohmann*, Biochem. Ztschr. 237, 445; 241, 50 [1931]. — (4) *Lohmann*, ebenda 241, 67 [1931]. — (5) *G. A. Levene* u. *E. F. Stiller*, Journ. biol. Chemistry 104, 299 [1934]. — (6) *Lohmann*, Biochem. Ztschr. 262, 137 [1933]. — (7) *O. Meyerhof* u. *Lohmann*, Naturwiss. 19, 575 [1931]. — (8) *E. Lundsgaard*, Biochem. Ztschr. 269, 308 [1934]. — (8a) Vgl. *A. Harden*, diese Ztschr. 43, 205 [1930]; *R. Nilsson*, ebenda 46, 647 [1933]. — (9) *C. A. Ashford* u. *E. G. Holmes*, Biochemical Journ. 23, 748 [1929]. — (10) *Lohmann*, Biochem. Ztschr. 222, 324 [1930]. — (11) *G. Embden*, *H. J. Deuticke* u. *G. Kraft*, Klin. Wchschr. 12, 213 [1933]. — (12) *O. Meyerhof* u. *W. Kießling*, Biochem. Ztschr. 264, 40 [1933]. — (13) *O. Meyerhof* u. *Lohmann*, Naturwiss. 22, 134 [1934]. — (14) *E. M. Case*, Biochemical Journ. 26, 759 [1932]. — (15) *C. Neuberg* u. *M. Kobel*, Biochem. Ztschr. 207, 232 [1929]. — (16) *Lohmann*, ebenda 254, 332 [1932]. — (17) *E. Lundsgaard*, ebenda 217, 162; 227, 51 [1930]. — (18) *C. H. Fiske* u. *J. Subbarow*, Journ. biol. Chemistry 84, 629 [1929]. — (19) *O. Meyerhof* u. *Lohmann*, Biochem. Ztschr. 196, 22, 49 [1928]. — (20) *F. Lipmann*, ebenda 268, 205 [1934].

Dehydrasen.

Von Prof. Dr. A. BERTHO. München.

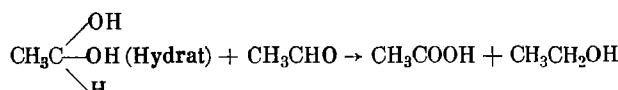
(Eingeg. 12. März 1934.)

Die Dehydrasen (Dehydrogenasen, Hydrokinasen) sind jene Enzyme, die die *Wielandsche Dehydrierungstheorie* dafür verantwortlich macht, daß bei der Zellatmung paarweise gebundener Wasserstoff des Atmungssubstrats aktiviert und auf den molekularen Sauerstoff übertragen wird, im Sinne des Schemas:



Das dabei primär entstehende Hydroperoxyd, ein starkes Zellgift, sollte dann durch die in allen aeroben Zellen vorkommende Katalase (s. Abschn. II, Enzyme, Kap. 7), die damit bei der Zellatmung eine allgemeine funktionelle Bedeutung erhielt, in Wasser und Sauerstoff zerlegt werden. An Stelle des Sauerstoffs werden bei der Untersuchungsmethodik zellfremde Wasserstoffakzeptoren, wie z. B. Methylenblau (Methylenblau-technik!), Chinon u. a. benutzt. Da auch im biologischen Vorgang hydrabare Substanzen als Wasserstoffakzeptoren dienen können, sind auch die biologischen an-

aeroben Dismutationsvorgänge, die bei der Gärung und Glykolyse eine Rolle spielen, als katalytische Dehydrierungen gekennzeichnet. Der einfachste Fall dieser Art ist die Disproportionierung von 2 Molekülen Aldehyd in Essigsäure und Alkohol unter der Wirkung einer Aldehyd mutase nach der Gleichung:



Nach dem Gesagten ist damit zu rechnen, daß bei den biologischen Oxydoreduktionen Dehydrasen und Mutasen, die man insgemein als Oxydoreduktasen bezeichnet, identisch sind. In der Tat ist das *Schardinger*-Enzym der Milch imstande, Acetaldehyd einerseits bei Gegenwart von Sauerstoff oder Methylenblau zu dehydrieren und andererseits dismutativ nach obiger Gleichung in Essigsäure und Alkohol umzuwandeln.