

187. Otto Meyerhof: Über den Zusammenhang der Spaltungsvorgänge mit der Atmung in der Zelle.

[Vortrag, gehalten vor der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 29. April 1925.]
(Eingegangen am 30. April 1925.)

Die Biologie verdankt Lavoisier und Laplace¹⁾ die grundlegende Erkenntnis, daß der tierische Stoffwechsel zur Hauptsache eine Verbrennung der Nährstoffe im Körper darstellt, eine Verbrennung, die, wie sie sagen, „zwar sehr langsam verläuft, aber im übrigen der Verbrennung der Kohle vollständig gleicht“. Diese Gleichheit bezieht sich sowohl auf die entstehenden Endprodukte Kohlensäure und Wasser, als auch auf die dabei gebildete Wärme. Daß in der Tat die Energie-Bilanz dieser Oxydationen in- und außerhalb des tierischen Körpers übereinstimmt, ist seit der Aufstellung des Gesetzes der Erhaltung der Energie immer bestimmter erkannt und experimentell bewiesen worden. Gleichzeitig trat dabei aber diese Produktion von Energie als eigentlicher Sinn der Sauerstoff-Atmung zutage. Die fortwährende Aufnahme und oxydative Zerstörung von Nährsubstanz dient dazu, der Zelle irgendwie die nötige Energie für die Verrichtung vitaler Leistungen zu verschaffen, von der sichtbaren Bewegung, den Sekretionsvorgängen, Zellteilungen bis zu der unbekannteren Arbeit, die die Reaktionsbereitschaft des Organismus, das aktive Leben für seine bloße Aufrechterhaltung erfordert.

Gut ein halbes Jahrhundert nach Lavoisier und Laplace ging ihr großer Landsmann Pasteur²⁾ noch einen Schritt weiter und zeigte, daß die Energie-Produktion ein noch allgemeineres Kennzeichen alles Lebendigen ist als das Vorhandensein eines oxydativen Stoffwechsels. Er entdeckte das Reich der anaeroben Lebewesen, jener großen Zahl meist einzelliger niederer Organismen, Hefe, Pilze, Bakterien, die unter Ausschluß von Sauerstoff gedeihen und wachsen, ja, unter Umständen durch den Sauerstoff getötet werden. Bei diesen Organismen tritt an die Stelle der aeroben oder Sauerstoff-Atmung ein Gärungs- oder Spaltungsvorgang ohne Beteiligung des atmosphärischen Sauerstoffs, der seinerseits den Organismen die Energie für den Unterhalt des Lebens liefert. „La fermentation est la vie sans air“ (die Gärung ist das Leben ohne Luft) ist das Schlagwort, mit dem Pasteur den Inhalt seiner Lehre zusammenfaßt. Entsprechend der geringen Reaktionswärme dieser Spaltungsvorgänge gegenüber den Oxydationen ist der Materialumsatz pro Einheit lebendiger Substanz viel größer. Von der Hefe z. B. ist bekannt, daß sie in 24 Stunden nahezu das Hundertfache ihres eigenen Gewichts an Traubenzucker in Alkohol und Kohlensäure spaltet.

¹⁾ Lavoisier und Laplace. Abhandlungen über die tierische Wärme. Ostwalds Klassiker Nr. 40 (Memoire 1780 und 1784).

²⁾ Pasteur, Bull. Soc. chim. Juni 1861. Etudes sur la bière, Paris 1876.

Ich muß es mir hier versagen, auf die fesselnde Geschichte dieser Pasteurschen Entdeckung näher einzugehen, die mit vielen seine Zeitgenossen tief bewegenden Fragen eng zusammenhing, der Möglichkeit der Urzeugung, der Natur der Fermente, der Umwandlung von Organismen einer Art in eine andere und vielem mehr. Dagegen möchte ich dem biochemischen Gedanken der Pasteurschen Entdeckung folgen bis auf den heutigen Tag, da dieser immer weitere Kreise gezogen hat und unsere Wissenschaft, wie ich glaube, durch mancherlei Irrungen und Umwege zu tiefgreifenden neuen Erkenntnissen geführt hat.

In diesem Pasteurschen Sinne spreche ich im Folgenden von Spaltungsvorgängen, wobei ich von den bloß vorbereitenden hydrolytischen Zerlegungen absehe. Vielmehr verstehe ich darunter hier allein die Energie liefernden Molekülzertrümmerungen, die ohne Eingriff des Sauerstoffs verlaufen. Wenn sie die Haupt-Stoffwechselreaktion eines Organismus darstellen, mag man sie auch als Gärungen bezeichnen. Doch kommen sie viel allgemeiner, sowohl bei niederen wie bei höheren Lebewesen vor.

Die große, heute nicht mehr bestrittene Entdeckung, daß die verschiedenen Gärungen die anaerobe Atmung bestimmter Mikroorganismen vorstellen, versah Pasteur zu ihrer weiteren Begründung mit gewissen hypothetischen Annahmen, von denen wir die beiden wichtigsten hier kennen lernen wollen. Die eine war die, daß ein und dieselbe Zelle im allgemeinen sowohl befähigt wäre zu gären wie zu atmen, daß aber nur einer dieser beiden Stoffwechsel-Vorgänge jeweils in Erscheinung trete: in Anwesenheit von Sauerstoff wird die Gärung unterdrückt, und die Zelle atmet, dagegen gärt sie in Abwesenheit desselben. Gerade für die alkoholische Gärung der Hefe hat Pasteur fast verzweifelte Anstrengungen gemacht, dieses alternierende Verhalten der Gärung als anaerobe Atmung zu beweisen, trotz des augenscheinlichen Faktums, daß die Hefe auch in Luft gut gären kann. Schließlich ist durch die Autorität Hans Buchners³⁾ die Ansicht durchgedrungen und gilt bis auf unseren Tag, daß Pasteur hierbei im Irrtum sei, und daß die Gärungsgröße der Hefe in An- und Abwesenheit von Sauerstoff keinerlei Unterschiede zeige. Auf diesen Punkt werde ich zum Schluß meines Vortrages zurückkommen, und es wird sich dabei überraschenderweise herausstellen, daß auch dieses Argument Pasteurs entgegen Hans Buchner und allen anderen Kritikern in seinem Kern zutreffend ist.

Zunächst muß uns ein zweiter Gedanke Pasteurs näher beschäftigen. Die Spaltungsvorgänge verdanken, so nimmt er an, ihren Ursprung derselben Sauerstoff-Affinität der Zelle wie die aerobe Atmung. Findet die Zelle keinen atmosphärischen Sauerstoff vor, so entreißt sie ihn den gelösten chemischen Verbindungen; sie oxydiert nunmehr unter gleichzeitiger Reduktion einer Hälfte des Nährstoffmoleküls die andere Hälfte. In diesem Sinne soll die alkohol. Gärung eine solche „Oxydo-Reduktion“ vorstellen, wobei ein Teil des Zucker-Moleküls zu Alkohol reduziert und mit dem dadurch freigemachten Sauerstoff der andere Teil des Moleküls zu Kohlensäure oxydiert würde. Auch diesem Gedanken liegt, gerade für die alkoholische Gärung, ein richtiger Kern zugrunde. Wissen wir doch durch

³⁾ Hans Buchner und R. Rapp in „Zymasegärung“ von E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, München 1903 (Kap. IV, S. 350).

die Arbeiten von Neuberg⁴⁾, daß der Zucker intermediär in die sauerstoffreichere Brenztraubensäure und eine andere sauerstoff-ärmere Hälfte zerfällt. In einem noch allgemeineren Sinne kann man vielleicht diese intramolekulare Wanderung des Sauerstoffs auch für andere Gärungen gelten lassen, indem die Sauerstoff-Verschiebung vornehmlich die Energie-Änderung bei den Spaltungen bedingt. Doch können wir die Ausgestaltung dieser Pasteurschen Lehre von der „intramolekularen Atmung“ durch die zeitgenössischen Physiologen Pfeffer, Pflüger und Hermann nicht in gleicher Weise akzeptieren.

Man entdeckte in großem Umfang auch bei den höheren Pflanzen anaerobe Kohlensäure-Bildung und bezeichnete sie als intramolekulare Atmung. Pfeffer und Pflüger nahmen nun an, daß diese anaerobe Atmung im Grunde auch in Sauerstoff fortbestünde, aber dadurch verdeckt würde, daß die Spaltprodukte oxydiert werden. Die intramolekulare Atmung wäre also allgemein die erste Atmungsphase, durch die die Nährstoffmoleküle in leicht oxydierbare Spaltprodukte zerfielen. Ohne Gegenwart von Sauerstoff blieben sie bestehen, wir hätten eine Gärung vor uns. In Sauerstoff würden sie oxydiert, dies ergäbe die Sauerstoff-Atmung und das von Pasteur postulierte Verschwinden des Gärungs-Stoffwechsels. Diese Ideen Pfeffers und Pflügers, die den Pasteurschen Gedanken weiter bildeten, erschienen zunächst befriedigend, und eine Reihe höchst wichtiger Entdeckungen auf dem Gebiete des tierischen Stoffwechsels diente dazu, diese Vorstellung weiter zu stützen. Ich schloß mich früher auch dieser Auffassung an, kam aber durch weitere Versuche zu der Überzeugung, daß diese Lehre falsch ist. Die Atmung beseitigt den Spaltungs-Stoffwechsel nicht durch Oxydation der Spaltprodukte, sondern dadurch, daß sie ihn rückgängig macht.

Daß anaerobe Spaltungsvorgänge auch im Stoffwechsel der höheren Tiere eine bedeutende Rolle spielen, wurde zuerst durch Beobachtungen des Physiologen Hermann⁵⁾ klar, über die Kontraktion eines aus dem Tierkörper ausgeschnittenen Froschmuskels. Hermann fand nämlich, daß ein solcher Muskel auch in gänzlicher Abwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff tätig sein kann und schloß auf Grund der Pasteur-Pfefferschen Vorstellungen, daß die Muskelarbeit durch Zerfall eines besonders energiereichen Moleküls („Inogen“) geschähe, wobei intramolekularer Sauerstoff als Oxydationsmittel wirksam sei. In Gegenwart von Luft sollte sich diese energiereiche Verbindung wieder neu aufbauen.

Gestatten Sie mir, etwas genauer auf den Stoff- und Energie-Umsatz bei der Arbeitsleistung des Muskels einzugehen, weil hier der Zusammenhang von Spaltung und Oxydation in seiner Bedeutung am weitesten geklärt ist. Schon von Liebig und Berzelius sowie du Bois-Reymond wurde festgestellt, daß der lebende Muskel, vor allem in Abwesenheit von Sauerstoff, Milchsäure bilden kann. Die englischen Forscher Fletcher und Hopkins⁶⁾ in Cambridge untersuchten diesen Vorgang genauer und fanden, daß unter anaeroben Bedingungen bereits im ruhenden Muskel Milchsäure

⁴⁾ C. Neuberg und J. Hirsch, *Ergebnisse d. Physiologie*, **21**, Abt. I [1923].

⁵⁾ Hermann, *Untersuchungen über den Stoffwechsel des Muskels*. Berlin 1867. Vergl. Hermanns *Handbuch d. Physiologie*, Bd. I, 1879.

⁶⁾ Fletcher und Hopkins, *Journ. of physiol.* **35**, 247 [1906].

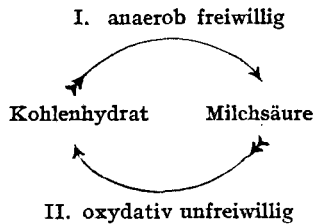
entsteht, in gesteigertem Maße aber bei der Arbeit. Diese Milchsäure verschwindet bei nachherigem Verbringen des ermüdeten Muskels in Sauerstoff, wobei die Arbeitsfähigkeit wieder hergestellt wird. Hill⁷⁾, im gleichen Cambridge-Laboratorium, entdeckte aber, offenbar in Zusammenhang hiermit, daß die Wärme bei der einzelnen Muskel-Kontraktion in zwei zeitlich getrennten Abschnitten gebildet wird und auf zwei voneinander unabhängige Vorgänge zurückgeführt werden muß. Der erste Anteil der Wärme wird während der Arbeitsleistung frei; dieser Vorgang ist von der Anwesenheit des Sauerstoffs unabhängig. Der zweite Anteil der Wärme, der erst etwa eine halbe Minute nach Ablauf der Kontraktion entsteht, wird zur Hauptsache nur in Sauerstoff gebildet, entspricht also einem oxydativen Vorgang. Beide Wärme-Abschnitte sind von etwa gleicher Größe.

Auf Grund dieser Befunde studierte ich quantitativ den Stoff- und Energie-Umsatz bei der Muskelarbeit und fand hier den folgenden Zusammenhang zwischen anaeroben und aeroben Prozessen⁸⁾: Lassen wir einen ausgeschnittenen Muskel in Stickstoff arbeiten, so schwindet in ihm Glykogen; hierbei treten für jedes gespaltene Glucose-Äquivalent genau 2 Mol. Milchsäure auf. Bringen wir den Muskel, wenn er bis zur Ermüdung gearbeitet hat, in Sauerstoff, so schwindet diese Milchsäure vollständig, während die Atmungsgröße stark steigt. Man könnte daher zunächst denken, daß die Milchsäure oxydiert würde. Das ist aber keineswegs der Fall. Mißt man nämlich quantitativ Sauerstoff-Verbrauch und Kohlensäure-Bildung einerseits und andererseits den Schwund der Milchsäure, so verschwinden beim Aufwand von 1 Mol. Sauerstoff durchschnittlich $1\frac{1}{2}$ Mol. Milchsäure, während 3 Mol. Sauerstoff nötig wären, um 1 Mol. Milchsäure zu verbrennen. Es wird nur $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ soviel Sauerstoff verbraucht, als zur Oxydation der verschwundenen Milchsäure erforderlich wäre. Die Lösung des Problems finden wir durch gleichzeitige Bestimmung des Kohlenhydrats im Muskel. Der Glykogen-Gehalt, der in der Arbeitsperiode entsprechend der Milchsäure-Bildung abgenommen hatte, nimmt jetzt während der Oxydation wieder zu. Die nicht verbrannte Milchsäure hat sich quantitativ in Glykogen zurückverwandelt. Die Atmung hat hier also nicht dazu gedient, die anaerob gebildeten Spaltprodukte zu oxydieren, sondern dazu, den Spaltungs-Stoffwechsel rückgängig zu machen. Wir finden in der Bilanz, daß die in der Arbeitsphase aufgetretene Milchsäure während der Oxydation restlos verschwunden ist, daß der in der Arbeitsphase stark verringerte Vorrat des Muskels an Kohlenhydrat wieder aufgenommen hat, und daß der status quo ante wieder hergestellt ist, mit Ausnahme des Fehlens einer bestimmten Menge Glykogen, für das Sauerstoff aufgenommen und Kohlensäure gebildet ist (und zwar entspricht das Verhältnis der abgegebenen Kohlensäure zum aufgenommenen Sauerstoff, der sogenannte respiratorische Quotient, genau dem für die Oxydation von Kohlenhydrat erforderlichen). Es ist bilanzmäßig gleichgültig, ob wir annehmen, daß diese Erholungsoxydation auf Kosten von einem Teil der Milchsäure oder direkt auf Kosten des Zuckers geschieht. Auf Grund von indirekten Argumenten halte ich es allerdings für wahrscheinlicher, daß

⁷⁾ A. V. Hill, Ergebnisse d. Physiologie 15, I 349 [1916] und A. V. Hill und O. Meyerhof, Ergebnisse d. Physiologie 22, 299 [1923].

⁸⁾ O. Meyerhof, Zusammenfassung: Ergebnisse d. Physiologie 22, 328 [1923]; Naturwissenschaften 12, 181 [1924] (Nobel-Vortrag).

die Milchsäure in toto zurückverwandelt wird, und daß hierbei gleichzeitig Kohlenhydrat auf einem anderen Wege als über Milchsäure verbrennt. Wir haben dann einen geschlossenen Kreislauf des Kohlenhydrats.



Die erste Phase, die Bildung von Milchsäure aus Kohlenhydrat, ist anaerob und freiwillig. Dieser Vorgang ist die unmittelbare Quelle der Muskelkraft. In der zweiten Phase wird unter Aufwand von Oxydations-Energie die Milchsäure wieder in Kohlenhydrat zurückverwandelt. Dieser zweite Vorgang entspricht der Erholung oder Restitution des Muskels. Die Oxydations-Energie für diese Rückverwandlung stammt selbst, jedenfalls im ausgeschnittenen Kaltblüter-Muskel, aus der Verbrennung von Kohlenhydrat. Daß die direkte Oxydation anderer Nährstoffe, Fett oder Eiweiß, unter Umständen die Energie für die Resynthese der Milchsäure zu Glykogen liefern kann, ist theoretisch wohl möglich, aber experimentell bisher nicht bewiesen.

Der geschilderte Kreisprozeß gestattet nun auch, die von Hill entdeckten zwei Wärmephasen bei der Arbeitsleistung quantitativ zu deuten. Die im Augenblick der Kontraktion frei werdende Wärme entspricht dem Zerfall des Glykogens in Milchsäure und einer durch das Auftreten der Milchsäure veranlaßten physikalisch-chemischen Veränderung des Muskel-Eiweiß, die direkt mit dem Verkürzungsvorgang zusammenhängt. Die oxydative Wärme in der Restitutionsperiode aber stellt den Überschuß der Oxydations-Energie über die endothermen Vorgänge dar, die in der Umkehr der Prozesse der Arbeitsphase bestehen. Den ganzen Zyklus vergleichen wir der Funktion eines Akkumulators. Der freiwillig verlaufende Spaltungsvorgang, der unmittelbar zur mechanischen Arbeit dient, entspricht dem chemischen Vorgang bei der Entladung des Akkumulators, durch welchen z. B. ein Motor angetrieben werden kann. Der oxydative Restitutionsvorgang, durch den die Arbeitsfähigkeit des Muskels wieder hergestellt wird, entspricht dem Aufladen des Akkumulators durch eine galvanische Batterie, und zwar ist die Oxydation dem chemischen Prozeß in der aufladenden galvanischen Batterie analog, dagegen die unfreiwillige Resynthese der Milchsäure zu Glykogen dem Vorgang im Akkumulator selbst während seiner Ladung. Hill fand, daß die Wärmemengen in der Arbeits- und Restitutions-Phase einander ungefähr gleich sind. Dies muß, wie die calorimetrischen Messungen ergeben, dann der Fall sein, wenn bei der Verbrennung von einem Zucker-Molekül entsprechend 2 Milchsäure-Äquivalenten 10 Milchsäure-Moleküle zurückverwandelt werden.

Das Verhältnis: $\frac{\text{verschundene Milchsäure}}{\text{oxydierte Milchsäure-Äquivalente}}$ habe ich als Oxydations-Quotienten der Milchsäure bezeichnet. Aus dem Durchschnitt der Hillschen Messungen berechnet es sich zu 5, während ich bei chemischen

Messungen 4—5 fand, in sehr guter Übereinstimmung hiermit. Doch ist dies Verhältnis kein absolut festes, sondern variiert mit der Beschaffenheit des Muskels. Je frischer und weniger beschädigt der Muskel ist, um so mehr Milchsäure kann durch Aufwand der gleichen Sauerstoff-Menge resynthetisiert werden, um so größer ist der Wirkungsgrad der Oxydations-Energie, und um so weniger Wärme wird in der Erholungsperiode im Vergleich zur Arbeitsphase frei. Wir haben es hier also nicht mit einer chemischen Koppelung von Resynthese und Oxydation, sondern mit einer energetischen Verknüpfung zu tun.

Der geschilderte Vorgang ist nun nicht nur für den Arbeitsmechanismus des Muskels charakteristisch, sondern liegt auch in gleicher Weise seiner Ruhe-Atmung zugrunde. Auch in der Ruhe häuft sich unter Ausschluß von Sauerstoff im Muskel Milchsäure an, wenn auch mindestens tausendmal langsamer als bei der Kontraktion. Die so angehäuften Milchsäure schwindet in Sauerstoff auf genau gleiche Weise wie nach der Arbeit. Nun entspricht aber die Sauerstoff-Menge, die nach der Anaerobiose zur Entfernung der Milchsäure benötigt wird, etwa gerade der, die der Muskel im Zeitraum der Anaerobiose für die Ruhe-Atmung verbraucht haben würde, wenn er sich in Luft befunden hätte. Die Größe der Ruhe-Atmung reicht nur hin, um etwa $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ der Milchsäure zu oxydieren, die sich anaerob in gleichen Zeiten bildet. Auch hier schwindet demnach ungefähr $\frac{3}{4}$ auf nicht-oxydativem Wege. Die Sauerstoff-Atmung bringt also nicht nur vorher entstandene Milchsäure durch Rückverwandlung zu Glykogen zum Verschwinden, sondern sie hindert auch in gleichem Umfange das Auftreten dieser Milchsäure. Wir verstehen dies durch die Annahme, daß der geschilderte Kreislauf der Milchsäure dauernd in der Ruhe-Atmung des Muskels abläuft. Stets entstehen 3—4-mal so viel Milchsäure-Moleküle, als der Sauerstoff in jedem Moment verbrennen könnte. Die Oxydations-Energie wandelt sie wieder in Glykogen zurück. Ja, wir können noch einen Schritt weiter gehen und behaupten, daß dieser Kreisprozeß die Atmungsgröße des Muskels selber bestimmt. Wir können durch die verschiedensten Umstände die Geschwindigkeit der Milchsäure-Bildung im Muskel erhöhen, so durch Einwirkung mannigfacher chemischer Stoffe, auch durch mechanische Beschädigung des Muskels. Stets finden wir, daß dann auch die Atmungsgröße steigt. Im stärksten Grade ist dies bei völliger Zerkleinerung der Muskulatur der Fall. Die Geschwindigkeit der anaeroben Milchsäure-Bildung steigt dadurch außerordentlich, ebenfalls die Atmungsgröße, aber nicht in gleichem Maße. Auch jetzt bringt der Sauerstoff 5-mal so viel Milchsäure zum Verschwinden, als er oxydieren könnte. Da aber bei der Zerkleinerung die Atmungsgröße weniger ansteigt als die Geschwindigkeit der Milchsäure-Produktion, so häuft sich im zerkleinerten Muskel-Gewebe auch in Sauerstoff, wiewohl langsamer als in Stickstoff, die Milchsäure an.

Warum ist nun im intakten Muskel die Atmung gerade so groß als nötig ist, die Milchsäure durch Resynthese vollständig zum Verschwinden zu bringen? Die Antwort ist einfach: Das Lactat-Ion selbst drosselt die Atmung gerade so weit in die Höhe, daß es vermittels der Atmung verschwinden kann. Es ist nicht nötig, die Milchsäure durch physiologische Einwirkungen im Innern des Muskels zu erzeugen. Legen wir einen unbeschädigten Muskel in eine lactat-haltige Salzlösung ein, so steigt unmittelbar die Atmung auf das Zwei- bis Dreifache, und gleichzeitig wandelt der Muskel die von außen

zugesetzte Milchsäure in Glykogen um⁹⁾). Wiederum gilt mit eintöniger Regelmäßigkeit der gleiche Oxydations-Quotient: Etwa 4-mal so viel Milchsäure wird synthetisiert, als dem Aufwand von Sauerstoff entspricht. Die Atmungssteigerung während der Erholung, die wir vorhin betrachtet haben, wird durch nichts anderes als eben die Bildung der Milchsäure bei der Kontraktion hervorgerufen. Damit ist der Kreis geschlossen. Der Tätigkeits-Stoffwechsel des Muskels ist nichts anderes als die gesteigerte Ruhe-Atmung, veranlaßt durch das plötzliche Entstehen der Milchsäure auf den Reiz. Nebenher erwähne ich, daß außer der Milchsäure auch Brenztraubensäure vom Muskel unter Oxydationssteigerung zu Glykogen synthetisiert wird. Doch möchte ich auf diesen Vorgang, dessen Bedeutung für den Zellstoffwechsel noch nicht feststeht, hier nicht näher eingehen.

Der geschilderte Zusammenhang von Spaltungs- und Atmungs-Stoffwechsel ist nun aber nicht auf den Muskel beschränkt. Vielmehr läßt er sich, wie Otto Warburg zeigte, in einem gewissen Umfange in allen Organen des Warmblüter-Organismus unter physiologischen und pathologischen Umständen nachweisen. Alle tierischen Gewebe bilden nämlich, wenn auch an Umfang verschieden, in Abwesenheit von Sauerstoff aus zugesetztem Zucker Milchsäure. Es liegt dieser Vorgang der sogenannten Glykolyse zugrunde, die schon lange bekannt ist. Warburg fand¹⁰⁾, daß sie in ruhenden Zellen im allgemeinen klein ist, dagegen in wachsenden Zellen sehr groß. In Sauerstoff aber verschwindet die Glykolyse mit dem gleichen Oxydations-Quotienten, wie wir ihn eben beim Muskel kennen gelernt haben. 1 Mol. Sauerstoff bringt 1—2 Mol. Milchsäure zum Verschwinden. Besonders interessant ist hier der Fall der bösartigen Geschwulst, des Carcinoms, denn bei diesem überwiegt der Spaltungs-Stoffwechsel so sehr die Größe der Atmung, daß die Milchsäure-Bildung auch in Sauerstoff fortbesteht. Ja, die Milchsäure-Bildung dient der Carcinom-Zelle als Energiequelle, so daß sie mit ihr auch in Abwesenheit von Sauerstoff leben kann, ein in der Physiologie der höheren Lebewesen einzig dastehendes Faktum. Die Geschwulst-Zelle gleicht demnach in ihrem Stoffwechsel einem anaeroben Milchsäure-Bakterium, das von der Vergärung des Zuckers zu Milchsäure lebt.

Während die bisherigen Betrachtungen gezeigt haben, daß energieliefernde Spaltungsvorgänge im Stoffwechsel der höheren Lebewesen eine größere Rolle spielen, als man es bis vor kurzem hätte glauben mögen, kehren wir nun direkt zu den Gärungen der Mikroorganismen zurück, um die neu gewonnenen Erkenntnisse auf diese anzuwenden. Unschwer gelingt der Nachweis, daß der Sauerstoff auf die bakterielle Milchsäure-Gärung in genau der gleichen Weise einwirkt wie auf die Glykolyse im Warmblüter. Ich untersuchte kürzlich mit meinem Mitarbeiter Hrn. Dr. Finkle¹¹⁾ zwei Milchsäure vergärende Bakterienarten, von denen die erste ein nahezu obligater Anaerobier ist, der durch den Sauerstoff geschädigt wird, die andere ein aerober Vibrio, der in Sauerstoff eher besser gedeiht. Trotz dieses entgegengesetzten Einflusses des Sauerstoffs auf das Gedeihen und Wachsen dieser Mikroorganismen bringt der Sauerstoff in beiden Fällen in nicht sehr verschiedenem Maße Milchsäure zum Verschwinden. Bei dem obligat Anaeroben war der

⁹⁾ O. Meyerhof, K. Lohmann und R. Meier, *Bio. Z.* **157**, 459 [1925].

¹⁰⁾ O. Warburg, K. Posener, E. Negelein, *Bio. Z.* **152**, 309 [1924].

¹¹⁾ O. Meyerhof und P. Finkle, *Z. „Chemie d. Zellen-Gewebe“* (N. F. Z. f. techn. Biologie) **12**, Heft **2**, 157 [1925].

Oxydations-Quotient etwa 6, bei dem *Vibrio* etwa 3. Ja, noch mehr. Der Sauerstoff-Verbrauch der anaeroben Milchsäure-Bazillen läßt sich durch Methylenblau aufs Drei- bis Vierfache steigern; und auch durch diese abnorme Oxydationssteigerung wird in ähnlichem Umfange Milchsäure zum Verschwinden gebracht, wie bei der normalen Atmung, so daß die Milchsäure-Gärung in Anwesenheit von Methylenblau durch Sauerstoff nahezu vollständig unterdrückt wird und erst wieder nach Entfernung des Sauerstoffs beginnt.

Es wird Ihnen klar geworden sein, daß wir uns mit dieser Beobachtung wieder auf die Spuren Pasteurs zurückgefunden haben, und wir fragen uns daher, ob wir es hier mit einem Phänomen zu tun haben, das allein die Milchsäure-Bildung aus Zucker beherrscht, oder ob sich etwa auch bei anderen Gärungen, ja bei dem Prototyp aller Gärungen, der alkoholischen Gärung der Hefe, ein Ähnliches nachweisen läßt. Damit würde der Gedanke Pasteurs von der Unterdrückung der Gärung durch den Sauerstoff der Luft, wenn auch in einem bestimmten eingeschränkten Sinne, verifiziert sein. Bringt nun die Sauerstoff-Atmung auch bei der alkoholischen Gärung Gärprodukte zum Verschwinden, und zwar in einem bestimmten Mehrfachen derjenigen Zuckermenge, die der Sauerstoff hätte oxydieren können? Auf Grund von Versuchen, die bisher noch nicht publiziert sind, kann ich diese Frage restlos bejahen; ja, wir finden eine äußerst weitgehende Übereinstimmung dieses Atmungseinflusses mit dem bisher betrachteten¹²⁾.

Pasteur fehlten begreiflicherweise die quantitativen Methoden, die allein eine bestimmte Entscheidung in dieser Frage hätten herbeiführen können. Er brauchte daher eine eigentümliche, von seinen Kritikern mit Recht verworfene Argumentation, indem er nicht, wie er hätte tun sollen, die Gärungsgeschwindigkeit einer gegebenen Hefemenge in An- und Abwesenheit von Sauerstoff verglich, sondern vielmehr den Hefezuwachs unter Aufwand einer bestimmten Zuckermenge. Da nun die Hefe in Sauerstoff mit Aufwand einer geringeren Menge Zucker wächst, so drückte er dies so aus, daß die Gärkraft pro Einheit zugewachsener Hefe in Sauerstoff schwächer ist. Aber auch Hans Buchner, der auf diese fehlerhafte Argumentation aufmerksam machte, irrte doch seinerseits bei seinem Versuche, Pasteur zu widerlegen, und zwar hauptsächlich, weil er nicht imstande war, die Atmung der Hefe gleichzeitig mit der Gärung zu messen. Bei der gewöhnlichen Unterhefe der Brauereien, mit der Buchner arbeitete, wird nämlich von 100 Mol. Zucker nur 1–2 Mol. veratmet und annähernd 99 Mol. vergoren. Die Atmung ist also im Verhältnis zur Gärung außerordentlich klein. Daher können wir nur eine geringe Wirkung der Atmung erwarten; diese aber findet sich in der Tat. Pro Molekül veratmeten Sauerstoffs wird in der Zeiteinheit aerob annähernd 1 Zucker-Molekül weniger vergoren als in Stickstoff. Hier schützt also 1 Mol. Sauerstoff, das nur $\frac{1}{6}$ Zucker-Molekül verbrennen kann, ungefähr 1 Zucker-Molekül vor der Spaltung; anders ausgedrückt, werden für jedes oxydierte Zucker-Molekül gegen 6 Mol. an der Vergärung gehindert, während bei der Milchsäure-Bildung für jedes oxydierte Zucker-Molekül 3–6 Mol. vor der Spaltung bewahrt blieben.

Höchst interessant ist nun das Verhalten der obergärigen Preßhefe. Die Gärungsgröße dieser Preßhefe und ebenso ihre Atmung in zuckerfreier

¹²⁾ Erscheint in der Biochemischen Zeitschrift.

Lösung stimmen fast genau mit der der Brauerei-Unterhefe überein. Bringt man aber die Preßhefe in Zucker, so steigt hier im Gegensatz zur Bierhefe die Atmung aufs 6—8-fache, so daß nunmehr der veratmete Zucker über 10% des in Stickstoff vergorenen Zuckers beträgt. Diese große Sauerstoff-Atmung bringt nun etwa das gleiche Vielfache oder noch etwas mehr an Gärprodukten zum Verschwinden wie die Atmung der Unterhefe; die Oxydation schützt pro Molekül veratmeten Sauerstoffs fast genau 1 Zucker-Molekül vor der Vergärung. Infolgedessen wird in diesem Fall die Gärungsgröße in Sauerstoff außerordentlich herabgesetzt und beträgt nur etwa $\frac{1}{3}$ derjenigen in Stickstoff. Dasselbe kann man durch Zusatz von Blausäure zur Preßhefe erweisen. Da Blausäure in einer etwa $m/1000$ -Lösung die Gärung sehr wenig beeinflußt, dagegen die Atmung fast vollständig hemmt, so wird die Gärung der Preßhefe in Sauerstoff durch Zusatz von Blausäure auf das Doppelte bis Dreifache erhöht. Schließlich erwähne ich, daß die Brauerei-Oberhefe eine mittlere Stellung zwischen der Preßhefe und Bier-Unterhefe einnimmt, die Atmungsgröße ist 2—3-mal so groß wie die der Unterhefe. Hier wird pro 1 Mol. veratmeten Sauerstoffs nur etwa $\frac{1}{2}$ Zucker-Molekül vor der Gärung geschützt. Die Gärungsgröße wurde in diesen Versuchen stets durch die Kohlensäure-Bildung bestimmt, unter genauer Berücksichtigung der Atmungs-Kohlensäure. Diese Messungen wurden durch Bestimmung des Alkohols kontrolliert; in der Tat wird dieser in gleichem Maße durch den Sauerstoff zum Verschwinden gebracht wie die Gärungs-Kohlensäure.

Die erörterte Gesetzmäßigkeit gilt also mit einer wunderbaren Konsequenz. Unabhängig von der absoluten Größe der Sauerstoff-Atmung bringt diese stets ungefähr dasselbe Vielfache des Spaltungsumsatzes zum Verschwinden. Auch bei der Hefe werden wir uns dem Gedanken nicht entziehen können, daß die Atmung einen Kreislauf in Gang setzt; nur werden es nicht die Endprodukte der Gärung, Alkohol und Kohlensäure, sein, die durch den Aufwand der Oxydations-Energie in Zucker zurück verwandelt werden, sondern Zwischenprodukte. Ich habe Anhaltspunkte dafür gefunden, daß dieses, falls nicht ebenfalls Milchsäure, so doch Brenztraubensäure ist, die ja, wie oben erwähnt, ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung ist, während man die Milchsäure heutzutage nicht mehr als solches gelten läßt. Milchsäure und Brenztraubensäure wirken nämlich auf die Atmung von Preßhefe und Brauerei-Hefe genau so ein wie Zucker, d. h. sie steigern die Atmung der obergärigen Preßhefe auf das 6—8-fache, lassen aber die Atmung der Brauerei-Hefe unbeeinflußt. Da nun, wie wir sahen, tierische Zellen Milchsäure und Brenztraubensäure in Zucker zurück verwandeln können, und da man nach Fürth und seinen Mitarbeitern dasselbe für die Hefe annehmen darf¹³⁾, so erklärt sich auch diese Beobachtung an der Hefe am leichtesten dadurch, daß bei der Atmung — wenn nicht etwa Milchsäure — so doch Brenztraubensäure in Zucker verwandelt wird.

Wir finden demnach durch das ganze Reich des Lebendigen ein und denselben Zusammenhang zwischen Sauerstoff-Atmung und Spaltungs-Stoffwechsel, und dieser Zusammenhang drückt sich aus durch

¹³⁾ O. Fürth, Österr. Ch. Z. 27, Nr. 1 u. 2 [1924]. F. Lieben, ebenda 25, Nr. 13 [1922]; Bio. Z. 135, 240 [1923]. Lundin, Bio. Z. 141, 310, 341 [1923], 142, 455 [1923].

eine bestimmte Zahl, die das Verhältnis der vom Sauerstoff vor der Spaltung bewahrten oder zurückverwandelten Moleküle zu den oxydierten Molekülen bezeichnet.

Gehen wir über diesen Tatbestand hinaus und suchen eine Erklärung für diese umfassende Gesetzmäßigkeit, so können wir zunächst feststellen, daß die am Anfang erörterte Annahme Pfeffers und Pflügers, der Spaltungsvorgang wäre die erste Phase der Sauerstoff-Atmung, unzutreffend war. Nach dieser hätte ja der Stoffumsatz der Zelle in Sauerstoff ebenso groß sein müssen wie in Stickstoff, denn alle Spaltprodukte wären nachher verbrannt worden. Wir sehen indes, daß die Spaltungsvorgänge und die Sauerstoff-Atmung in ihren Ursprüngen unabhängig voneinander sind, daß aber die Sauerstoff-Atmung den Spaltungs-Stoffwechsel in einem ganz bestimmten Umfange rückgängig macht. Suchen wir nach einem biologischen Sinn dieser Verknüpfung, so fällt uns zunächst auf, daß auch bei den höheren Lebewesen ein großer Teil der unmittelbar energie-liefernden Prozesse im Gegensatz zu der bisher herrschenden Ansicht Spaltungsvorgänge sind. Für die Muskel-Bewegung ist das ohne Zweifel; für das mit Bewegungsvorgängen und Konsistenzänderung des Protoplasmas verlaufende Wachstum der Zellen ist es höchst wahrscheinlich, und sogar für die Vorgänge in den nervösen Organen können wir es vermuten. Die End- oder Zwischenprodukte dieser Spaltungen benötigt die Zelle in großem Umfange, speziell zur Ausführung der Bewegungsvorgänge. Hierbei spielt jedenfalls die Säurenatur der Spaltprodukte eine entscheidende Rolle und führt die physikalisch-chemischen Veränderungen im Protoplasma der Zelle herbei, die die Ursache der mechanischen Vorgänge sind. Die Sauerstoff-Atmung ist hier am besten als eine Einrichtung der Ökonomie zu verstehen, sie steht im Dienste der Stoffersparnis, dazu bestimmt, die Spaltungsprodukte nach getaner Arbeit durch Rückverwandlung in die Ausgangsstufe zu erneuter Verwendung wieder einzufangen. In der Größe des Oxydations-
 Quotienten $\frac{\text{verschundene Moleküle Milchsäure}}{\text{oxydierte Äquivalente Milchsäure}}$ bzw. $\frac{\text{nicht vergorener Zucker}}{\text{oxydierter Zucker}}$ möchte

ich nichts anderes sehen als die durch die Energetik des Vorgangs erzwungene Grenze, bis zu der die Oxydations-Energie für die Resynthese der Spaltprodukte ausgenützt werden kann. In der Tat finden wir bei der Muskelarbeit, daß bei dem höchst gemessenen Oxydations-Quotienten von 6 schon $\frac{2}{3}$ der Oxydations-Energie für den endothermen Vorgang der Entfernung der Milchsäure in der Restitution aufgewandt werden müssen. Dieser Bruchteil ist wohl bei den anderen Spaltvorgängen von einer ähnlichen Größenordnung. Mit dieser Vorstellung lernen wir eine neue Bedeutung der Sauerstoff-Atmung der Zellen kennen, die uns jedenfalls in vielen Fällen befriedigend erklärt, warum überhaupt ein solcher Energie-Aufwand in der Atmung für die scheinbar stationären Zustände der teilungsfähigen, aber nicht wachsenden Zelle, für den ruhenden Muskel u. a. m. erforderlich ist. Die Zelle arbeitet danach dauernd an der Rückgängigmachung der spontanen Spaltungsvorgänge, die ihr die Arbeitsbereitschaft ermöglichen und welcher sie in großem Umfange zu ihren mechanischen Leistungen bedarf. Durch solche Kreisprozesse ist aber wahrscheinlich das Leben ganz allgemein charakterisiert.

Ob sich diesem Gedankengang alle Vorgänge der Atmung und Spaltung in den Zellen einfügen lassen, muß die Zukunft lehren. Gewiß, die eigentümliche Wechselwirkung aller Lebensäußerungen wird niemals gestatten,

mit einer einzelnen Kausalkette des Wesen des Lebendigen erschöpfend zu erklären. Wir müssen uns begnügen, hier eine Ansicht gefunden zu haben, die den Stoff- und Energiewechsel der Lebewesen in zusammenhängender Form darstellt und die sich, wie ich überzeugt bin, für die Forschung weiterhin fruchtbar erweisen wird. „Was fruchtbar ist, allein ist wahr.“ Diese Vorstellungen, obwohl in ihren letzten Konsequenzen noch teilweise unbestimmt, ruhen gleichwohl auf dem festen Fundament gesicherter chemischer Daten, wie ja dies ganze Gebiet erst durch das Eindringen exakter quantitativer Methoden der Chemie in die Biologie erschlossen werden konnte. So bleibt mir zum Schluß nur übrig, unserer großen und älteren Schwesterwissenschaft, der Chemie, meinen Dank abzustatten, daß sie uns in wachsendem Maße gelehrt hat, das Leben in seinen mannigfachen Erscheinungen zu beherrschen.

188. Otto Warburg: Über Eisen, den sauerstoff-übertragenden Bestandteil des Atmungsferments.

[Vortrag, gehalten vor der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 29. April 1925.]
(Eingegangen am 1. Mai 1925.)

Alle mit der Atmung der lebendigen Substanz zusammenhängenden Erscheinungen lassen sich zurückführen auf die Wirkung von zwei Arten von Kräften: auf die Wirkung unspezifischer Oberflächenkräfte und auf die Wirkung spezifischer chemischer Kräfte.

Die unspezifischen Oberflächenkräfte verdichten die Stoffe, die verbrennen, an den Oberflächen der festen Zellbestandteile, und diese Oberflächen, nicht die Zellflüssigkeit, sind der Sitz der Verbrennungsvorgänge. Die Atmung ist eine Reaktion an Oberflächen¹⁾ und wird als solche durch alle Stoffe gehemmt, die, ohne selbst verbrennbar zu sein, die Brennstoffe von den Oberflächen verdrängen. Dies ist die Erklärung für die Wirkung der chemisch indifferenten Narkotica, die durch Verdrängung von Oberflächen den chemischen Umsatz in der Zelle zum Stillstand bringen.

So leicht es ist, die Existenz und die Wirkung der unspezifischen Oberflächenkräfte in der lebenden Zelle nachzuweisen, so sicher ist es auf der andern Seite, daß diese Kräfte nicht genügen, um eine Reaktion zwischen den organischen Stoffen und dem Sauerstoff herbeizuführen. Eine Reaktion erfolgt erst dann, wenn zu den Oberflächenkräften bestimmte chemische Kräfte hinzukommen. Die adsorbierenden Oberflächen in der Zelle sind nicht homogen, sondern enthalten, in sie eingelagert, eine Substanz, die den Sauerstoff vermöge chemischer Kräfte überträgt. Diese Substanz ist das Atmungsferment. Die Frage nach der chemischen Natur des Atmungsferments²⁾ steht heute im Mittelpunkt des Interesses, mit ihr wird sich mein Vortrag beschäftigen.

I.

Ich stelle das Ergebnis als Behauptung an die Spitze. Der sauerstoff-übertragende Bestandteil des Atmungsferments ist Eisen. Eisen,

¹⁾ O. Warburg, *Bio. Z.* **119**, 134 [1921]; *Z. El. Ch.* **28**, 70 [1922].

²⁾ Das Atmungsferment läßt sich von der Zelle — in geeigneten Fällen — in ähnlicher Weise abtrennen, wie die Buchnersche Zymase; vergl. O. Warburg, *Pflügers Archiv* **154**, 599 [1913].