

## Irreversibilität der aeroben Spaltkraft bei optimaler Sauerstoffversorgung der Zelle

Von F. WINDISCH, H. HAEHN und W. HEUMANN

Aus dem Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. W. Friedrich), Abteilung Krebsforschung/Mikrobiologie (Prof. Dr. F. Windisch)

(Z. Naturforschg. 8 b, 463—472 [1953]; eingegangen am 18. August 1953)

Herrn Professor Dr. Otto Warburg zum 70. Geburtstag

Mit der Entdeckung der Krebsglykolyse durch Warburg sind zwei differente Arten von Spaltungsstoffwechsel bekannt geworden. Die aerob irreversible Spaltkraft ist nach Warburg für alle malignen Zellen symptomatisch. Aber auch die Hefen und Milchsäurebakterien in der Natur verfügen, wie im folgenden nachgewiesen wird, über die Fähigkeit der aeroben Zuckerspaltung.

Die gärfähige *Torulopsis*, von Meyerhof als Prototyp der aerob nicht-gärenden Hefen herausgestellt, bildet oxy- wie anoxybiotisch annähernd die gleichen Mengen Alkohol. Bei der zymogenen Umzüchtung von ursprünglich nur atmenden *Torulazeen* ist die Spaltkraft bereits in statu nascendi aerob irreversibel konstituiert. Die Meyerhofsche Korrelationstheorie von der aeroben Dominanz der Atmung über die Spaltung ist demnach in ihrem unitarischen Anspruch unsubstantiiert und zu reduzieren.

Die Hefezelle, die im ausgereiften, ruhenden Zustand keiner  $O_2$ -Beeinflussung unterliegt, ist vegetativ  $O_2$ -abhängig, sowohl in bezug auf die Proliferation selbst, als auch hinsichtlich der potentiellen Ausbildung der Stoffwechselkräfte. Im vegetativen Stadium tritt die Pasteursche „conséquence de la vie sans air“ voll in Erscheinung. Für die fertig ausgebildete, nicht in Vermehrung befindliche Hefezelle gibt es indessen weder eine Pasteursche Konsequenz der Anaerobiose, noch eine Meyerhofsche Korrelation zwischen Oxy- und Anoxybiose.

Die Gärung der Tumoren, die auf der Spaltung von Zucker zu Milchsäure beruht, ist 1923 von Warburg<sup>1</sup> entdeckt worden, zu einer Zeit, als man von den Gärungsfermenten, ja überhaupt von den Fermenten in chemischer Hinsicht noch nichts wußte. Seit der Entdeckung der Tumorgärung hat man sich immer wieder gefragt, ob wirklich alle Tumorzellen bei Sättigung mit Sauerstoff gären, und ob es wirklich keine normalen Körperzellen gibt, die bei optimaler Sauerstoffversorgung das gleiche tun.

Tatsächlich ist von der Gärung der Tumoren bis heute, so beantwortet Warburg<sup>2</sup> 1947 die erste Frage, keine einzige Ausnahme gefunden worden, ob die Tumoren spontan gewachsen, ob sie künstlich erzeugt oder ob sie transplantiert waren; bei der Vielgestaltigkeit der Tumoren ein beachtenswertes Ergebnis. Zu der zweiten Frage bemerkt Warburg, daß Gewebe, die man aus dem Körper herausnimmt, im Verlauf des Absterbens ihr Atmungsvermögen schneller verlieren als ihr Gärungsvermögen,

so daß es für alle aus dem Körper herausgenommenen Gewebe ein Zeitintervall gibt, in dem sie auch bei Sättigung mit Sauerstoff gären. Beschränkt man aber die zweite Frage, was man tun sollte, auf den Stoffwechsel der Körperzellen in situ, also auf die Ergebnisse der Methode der Gefäßpunktion, so ist bisher außer den Tumoren kein lebendes teilungsfähiges Gewebe gefunden worden, das im Körper bei Sättigung mit Sauerstoff gärt.

Nach Warburg gibt es also zwei Arten von Spaltungsstoffwechsel, je nach der Veranlagung der Zellen. Die eine, und zwar die der normalen Körperzellen in vivo, tritt als alternierende Zellfunktion nur unter anaeroben Bedingungen in Erscheinung, wird aber wieder vollkommen sistiert, sobald bei ausreichender Sauerstoffversorgung die Zellatmung von neuem einsetzt. Die aerob reversible Spaltkraft steht demnach in subordinierter Relation zur zellularen Oxydationskraft.

Im zweiten Falle dagegen — beim Krebsgewebe —

<sup>1</sup> O. Warburg, *Biochem. Z.* **142**, 317 [1923]; O. Warburg, K. Posener u. E. Negelein, *Biochem. Z.* **152**, 309 [1924].

<sup>2</sup> O. Warburg, *Ideen zur Fermentchemie der Tumoren*, Abh. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. **1947**.

bedarf es nicht erst der anoxybiotischen Initialreaktion, der Pasteurschen „conséquence de la vie sans air“, um den glykolytischen Spaltungsprozeß auszulösen. Die Krebsglykolyse verläuft unabhängig von dem umgebenden und in die Zelle eindiffundierenden Sauerstoff; sie kann durch O<sub>2</sub>-Einwirkung, selbst bei Sättigung mit reinem Sauerstoff, weder gehemmt noch eliminiert werden; sie ist gegenüber der zellularen Oxydationskraft autonom.

Beim Muskelgewebe ist nach Feststellungen Meyerhofs<sup>3</sup> der anoxybiotisch initiierte Spaltungsstoffwechsel aerob reversibel; er wird wieder vollständig inhibiert, sobald bei erneutem O<sub>2</sub>-Zutritt eine adäquate O<sub>2</sub>-Konzentration im Reaktionsmedium erreicht ist (conséquence de la vie avec air). Die Konsequenz der Oxybiose, die sich beim Muskelgewebe sowie bei allen normalen tierischen Körperzellen in situ (Warburg), bei Schimmelpilzen und Phanerogamen als Pasteursche Reaktion geltend macht, besteht nach Warburg für das Krebsgewebe nicht. Sie besteht aber auch nicht, entgegen der Annahme Meyerhofs<sup>4</sup>, für Hefen und Milchsäurebakterien, was — in Verbindung mit früheren Ergebnissen<sup>5</sup> — aus unseren nachfolgenden Untersuchungen in elementarer Weise hervorgeht.

### Experimenteller Teil

#### Umstellung der Stoffwechselbilanz

Wir haben viele Mühe aufgewandt, um die Ursachen für die bestehenden Abweichungen zwischen den gasvolumetrischen und makrometrischen Stoffwechselbestimmungen bei Mikroorganismen ausfindig zu machen. Bei Einführung der Gasvolumetrie hatte Warburg<sup>6</sup> bereits darauf hingewiesen, daß der Stoffwechsel von Bakterien „nur ausnahmsweise so einfach ist, daß er manometrisch bestimmt werden kann“. In jedem Falle empfiehlt Warburg, „mit Hilfe der Gasanalyse festzustellen, daß andere Gase als Sauerstoff und Kohlensäure weder entstehen noch verschwinden“. Bei Hefen hat Windisch<sup>7</sup> quantitativ ermittelt, daß sie „während der Gärung nicht unbedeutliche Mengen flüchtiger Bestandteile“ zusammen mit der Kohlensäure abgeben. Indessen tre-

ten alle sonst noch vorzubringenden Einwände hinter unserem prinzipiellen Bedenken zurück, daß die experimentelle Stoffwechselbilanz, wie sie bisher im allgemeinen bei Mikroorganismen gebräuchlich ist, nicht die unbedingte Gewähr dafür bietet, daß die Stoffwechselgrößen Atmung und Gärung auch tatsächlich in jedem Falle einwandfrei und exakt erfaßt werden.

Mit der Messung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs ist die wirkliche Atmungsgröße nur erfaßbar, wenn ideale Respiration ( $RQ=1$ ) in der Zelle vorherrscht. Sobald aber Oxydations- und Aufbauvorgänge nebeneinander ablaufen (z. B. erhöhter O<sub>2</sub>-Bedarf im vermehrungsfähigen Zustand der Organismen), sind keine Rückschlüsse vom O<sub>2</sub>-Verbrauch auf die Atmungsgröße möglich. Wird unter letzterem Umstand, wie üblich, die Gärungsgröße durch Differenzbestimmung festgelegt, indem von dem ermittelten Gesamt-CO<sub>2</sub> eine dem O<sub>2</sub>-Verbrauch äquivalente CO<sub>2</sub>-Menge abgesetzt wird, so entsteht ein zweiter reziproker Fehler dadurch, daß die Gärung um den Betrag zu niedrig berechnet wird, der für die Atmung fälschlicherweise zu hoch eingesetzt wurde.

Bei der Nachprüfung der Meyerhofschen Versuche mit *Torulopsis*\* im Warburg-Apparat kamen wir auf den Gedanken, die hierbei entscheidenden Alkoholbestimmungen\*\* in quantitativer exakter Weise dadurch möglich zu machen, daß wir jeweils eine größere Anzahl von Parallelansätzen im Warburg-Apparat ablaufen ließen und nach Versuchsbeendigung das Gärgut aus den einzelnen Küvetten verlustlos sammelten. Hierbei stellten wir fest, worauf später noch näher eingegangen wird,

\* Meyerhof (Biochem. Z. **162**, 43, 62 [1925]) führte hierzu aus: „Die Gärungsgröße der *Torula* in Stickstoff entspricht der größten von mir gemessenen Gärungsgröße der Kulturhefen,  $Q_{CO_2} = 250$  bis 300. Trotzdem gärt die *Torula* in Sauerstoff nicht. Die *Torula* verhält sich also genau so, wie sich nach unseren Versuchen der Kaltblüter- und Warmblütermuskel oder nach Warburg das embryonale Gewebe hinsichtlich der Milchsäurespaltung des Zuckers verhält; die Sauerstoffatmung reicht gerade aus, den in Stickstoff beträchtlich großen Spaltungsstoffwechsel rückgängig zu machen.“

\*\* Meyerhof (l. c. S. 48) ging bei der Alkoholbestimmung, die er nach der Methode von Widmark (Biochem. Z. **131**, 473 [1922]) in modifizierter Form vornehmen ließ, stets nur von einer einzigen Küvette aus. Nach Abzentrifugieren der Hefe wurden 1 oder 2 ml der klaren Zucker-Salz-Lösung (ohne vorherige Zerstörung des gebildeten Acetaldehyds und der aus der Hefe stammenden organischen Substanzen) in ein 5 bis 10 ml fassendes Destillierkölbchen gefüllt; hieraus wurde der Alkohol abdestilliert, in Dichromschwefelsäure aufgefangen und nach Zugabe von Jodkali mit  $n/100$ -Thio-sulfat titriert.

<sup>3</sup> O. Meyerhof, Asher Spiros *Ergebn. d. Physiol.* **22**, 328 [1923].

<sup>4</sup> O. Meyerhof, *Biochem. Z.* **162**, 43 [1925]; O. Meyerhof u. P. Finkle, *Chem. d. Zelle Gewebe* **12**, 157 [1926].

<sup>5</sup> F. Windisch, *Ergebn. Enzymforsch.* **2**, 169 [1933].

<sup>6</sup> O. Warburg, *Biochem. Z.* **152**, 51 [1924].

<sup>7</sup> F. Windisch, *Biochem. Z.* **246**, 332 [1932].

daß sich neben Acetaldehyd, der quantitativ erfassbar ist, *annähernd die gleichen Mengen Alkohol* im aeroben wie im anaeroben Ansatz gebildet hatten.

Aus diesem für unsere weiteren Untersuchungen richtungweisenden Befund erkannten wir zugleich die grundlegende Bedeutung der *Alkoholbestimmung* für die Aufstellung einer präziseren und aufschlußreicheren Stoffwechselbilanz, als sie nach dem bisherigen Berechnungsmodus gezogen werden konnte.

mikrobiellen Stoffwechselkräfte in ihrer spontanen Wirkungsfähigkeit zu erfassen, gingen wir von Zellen aus, die wir im Rahmen der vorgesehenen Messungen eigens für diesen Zweck aus der Natur isolierten.

Da die physiologische Beschaffenheit der Testorganismen für die richtige Auswertbarkeit der Stoffwechselversuche grundbestimmend ist, registrieren wir zunächst im folgenden die genaue Herkunft und Anzucht der in den weiter unten angeführten Versuchsbeispielen vorkommenden Hefen- und Bakterienarten: 2 Weinhefen (*Sacch. ellipsoideus* Hansen), Stamm W und Rie, beide aus spontan gärendem Traubenmost isoliert; 3 *Torulopsis*arten,

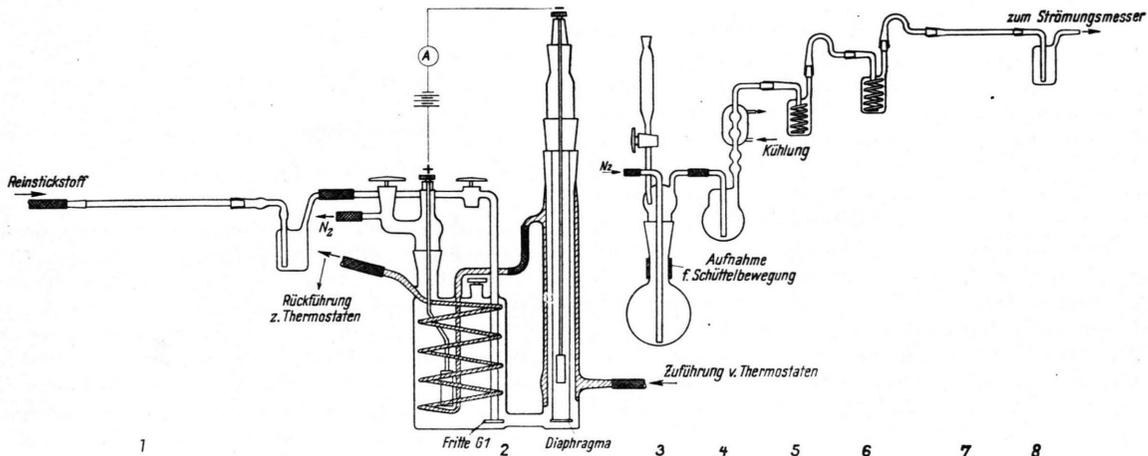


Abb. 1. Apparatur zur Makrometrie des Zellstoffwechsels: 1 Nachreinigung des Stickstoffs, 2 Elektrolyse- und Gas-mischgefäß, 3 Reaktionsgefäß, 4 Chromschwefelsäure-Vorlage, 5 Schwefelsäure-Waschflasche, 6 Kaliapparat, 7 Kupfer-Quarzrohr zur Erfassung des Rest-O<sub>2</sub>, 8 Waschflasche mit Sperrflüssigkeit. Alternativ: Zwischen 2 und 3: Elektrochemisches O<sub>2</sub>-Meßgerät nach Tödt\*, wie in einer vorangehenden Arbeit\*\* beschrieben. Anschließend an 3: Gekühlte Vorlagen zum Ausfrieren übergehender Spuren von Alkohol.

Geht man künftig bei der Bilanzierung der Stoffwechselmessungen nicht von der dem O<sub>2</sub>-Verbrauch äquivalenten „Atmungskohlensäure“, sondern von der effektiven Gärungskohlensäure aus, die in Äquivalenz zum Gärungsalkohol eine festumrissene Größe darstellt, und bringt letztere von der Gesamt-CO<sub>2</sub> in Abzug, so entspricht die mit dem restierenden CO<sub>2</sub>-Betrag korrespondierende O<sub>2</sub>-Menge der tatsächlichen Atmungsgröße, während gleichzeitig hierbei der überschüssige Sauerstoff, den die Zelle evtl. für andere als für respiratorische Zwecke beansprucht, in quantitativer Weise erfaßt werden kann.

#### Das verwendete Zellmaterial

Die Kulturorganismen gelten wegen ihrer spezialisierten technischen Hochzüchtung als atypisch<sup>8</sup>. Um die

<sup>8</sup> O. Meyerhof, *Biochem. Z.* **162**, 43, 62 [1925]; H. Haehn, *Biochemie der Gärungen*, Berlin 1952, S. 270.

<sup>9</sup> F. Hayduk u. H. Haehn, *Biochem. Z.* **128**, 567 [1922].

Stamm Hb, Bi und M, ersterer von Holunderbeeren, der zweite aus Birkensaft und letzterer von Honigwaben isoliert, alle 3 Stämme ursprünglich nicht-gärend; 2 Vertreter von Milchsäurebakterien, und zwar *Bact. lactis acidi* Leichmann, aus spontan gesäuerter Milch (Luftinfektion) isoliert, und *Bact. Delbrücki* Leichmann, aus einer bei 48° gehaltenen Roggenmalzmaische (Rohfruchtinfektion) gewonnen. Die zum Vergleich der Gärungsintensitäten einbezogene untergärrige Kulturhefe, Stamm F, war unserer Organismensammlung entnommen.

Die Weinhefen wurden in gefiltertem, sterilisiertem Traubenmost hergeführt. Die zymogene Hochzüchtung der *Torulopsis*arten, also ihre Umwandlung von nicht-gärenden in kräftig gärende Hefen, erfolgte nach der von Hayduk und Haehn<sup>9</sup> ausgearbeiteten Vorschrift. *Bact. Delbrücki* Leichmann wurde in sterilisierter Roggen- und Gerstenmalzmaische unter Kreidezusatz bei 42° im Thermostaten zur Massenzüchtung angesetzt. Die Ernte wurde nach 48-stdg. Kultivierungszeit mittels frak-

\* Gemeinschaftsarbeit von F. Tödt u. G. Teske sowie von F. Windisch, W. Heumann u. Chr. Goslich, *Bio. Z.* **323**, 192 [1952].

\*\* F. Windisch u. W. Heumann, *Naturwiss.* **39**, 329 [1952].

tionierter Separierung bewerkstelligt, wobei es uns gelang, die Bakterien von den schwereren Maische- und Kreideteilchen mit befriedigender Ausbeute zu trennen. Die Massenzüchtung von *Bact. lactis acidi* Leichmann wurde auf Würzeagar vorgenommen. Die gut bewachsenen Platten schwemmten wir mit steriler Kochsalzlösung (0,85-proz.) ab und erteten darauf die Bakterien, nach dreimaliger Waschung auf der Zentrifuge, mit guter Ausbeute. Die untergärrige Kulturhefe wurde in 12-proz. Würze angezüchtet.

### Methodisches

In den Reihenversuchen kamen je 100 ml Würze  $p_{II}$  5,50—5,60) von 10 bzw. 12% Extraktgehalt zum biologischen Ansatz. Die Aussaatmenge wurde, nach vorheriger Feststellung, jeweils so hoch bemessen, daß *keine Zellvermehrung* — auf Grund der natürlichen Volumbegrenzung des Wachstums<sup>10</sup> — eintreten konnte. In diesem Zusammenhang sei noch einmal darauf hingewiesen, daß zwischen dem Stoffwechsel *der fertig ausgebildeten, ruhenden Zelle* (Erhaltungsstoffwechsel) und dem *der sprossenden, sich vermehrenden* grundsätzlich unterschieden werden muß, um widersprechende Interpretationen der biologischen Ergebnisse zu vermeiden. Allein schon bei vermehrungsfähiger Tendenz, wenn überhaupt noch kein sichtbarer Zellzuwachs feststellbar ist, ändert sich das Stoffwechselbild gegenüber dem Ruhezustand der Zelle<sup>11</sup>. Außer der Trockensubstanz der Organismen wurde auch ihre Zellzahl/mm<sup>3</sup> bestimmt, so daß stets ein Rückschluß auf die Stoffwechselleistung der einzelnen Zelle gezogen werden kann.

Die Mikroansätze im Warburg-Apparat waren genauestens auf die von Meyerhof<sup>12</sup> getroffenen Anordnungen abgestellt, da es in vorliegender Arbeit als Ausgangspunkt der Problematik entscheidend darauf ankam, einzelne der Meyerhofschen mikrobiologischen Stoffwechselversuche in exakter Weise zu reproduzieren.

Die makrometrischen Stoffwechselbestimmungen (M.St.-Bestimmungen), deren apparative Grundlage aus Abb. 1 zu ersehen ist, werden unter Zuleitung von synthetischer Luft (*nicht* von Sauerstoff) bei 28° (Thermoregulation) durchgeführt. Die Berechnungen beziehen sich auf 1 g Organismen-Trockensubstanz in 200 ml Substrat (Zuckerphosphatlösung) je Stde. Versuchsdauer. Der Alkohol ist in mg, die Gaswerte (O<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub>) sind in ml angegeben. Es kann, sofern die Zellzahl/mm<sup>3</sup> ermittelt ist, auf die Leistung der einzelnen Zelle umgerechnet werden. In Anlehnung an die von Warburg eingeführte Nomenklatur der Stoffwechselquotienten haben wir folgende abgekürzte Bezeichnungen für die einzelnen Q-Werte gewählt:

$Q_{Al}^{N_2}$  = anaerobe Alkoholbildung (best.),

$Q_{Al}^{O_2}$  = aerobe Alkoholbildung (best.),

$Q_{CO_2}^{N_2}$  = anaerobe Gärungskohlensäure (best.),

$Q_{CO_2}^{O_2}$  = aerobe Gesamtkohlensäure (best.),

$G-Q_{CO_2}^{O_2}$  = aerobe Gärungskohlensäure  
(ber. als Äquivalent von  $Q_{Al}^{O_2}$ ),

$Q_{O_2}$  = gesamter O<sub>2</sub>-Verbrauch (best.),

$A-Q_{O_2}$  = Atmungs-O<sub>2</sub>-Verbrauch (ber. als Äquivalent  
aus der Differenz von  $Q_{CO_2}^{O_2}$  minus  $G-Q_{CO_2}^{O_2}$ ),

$Ü-Q_{O_2}$  = überschüssiger O<sub>2</sub>-Verbrauch (ber. aus der  
Differenz von  $Q_{O_2}$  minus  $A-Q_{O_2}$ ).

Der Äthylalkohol wurde, sofern er in ausreichender Menge anfiel, quantitativ durch Ermittlung des spez. Gew. nach anreichernder Destillation bestimmt. Bei kleineren Mengen von Äthylalkohol wurde die quantitative Analyse nach der von Weinig<sup>13</sup> modifizierten Widmark-Methode ausgeführt, deren Zuverlässigkeit vorher von Herrn Dr. Rothenbach in unserem Laboratorium durch vergleichende Parallelbestimmungen mit der spezifischen Dinitrobenzoylchlorid-Methode nach Kluge<sup>14</sup> überprüft worden war. Auch die Darstellung in substantia als *p-Nitrobenzoesäure-äthylester* (Schmp. 57°) nach der Vorschrift von Buchner und Meisenheimer<sup>15</sup> diente uns anfänglich zur Identifizierung des Äthylalkohols. — Die Milchsäure wurde quantitativ nach Fürth und Charnass in der Modifikation von Friedemann und Graeser<sup>16</sup> bestimmt, nachdem das Substrat zuvor nach Schenk enteiweißt und die Milchsäure mit Amylalkohol extrahiert worden war. Sie wurde über  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 3H_2O$  als ZnO identifiziert.

### Stoffwechselversuche

Weder Pasteur<sup>17</sup> noch Meyerhof<sup>18</sup> ist es unter normalen physiologischen Bedingungen gelungen, den Gärungsstoffwechsel der *Kulturhefen* in nennenswertem Maße durch O<sub>2</sub>-Einwirkung auf Atmung umzustimmen. Vergeblich versuchte Pasteur, seine These von der Gärung als „conséquence de la vie sans air“ an den typischen Gärungserregern, den Kulturhefen, zu beweisen. Die Resistenz ihrer Gärkraft unter aeroben Verhältnissen

<sup>10</sup> W. Schmid, Z. Naturforsch. 7b, 217 [1952].

<sup>11</sup> O. Warburg, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschl. Tiere 158, 189 [1914].

<sup>12</sup> O. Meyerhof, Biochem. Z. 162, 43, 54/55, 59/62 [1925].

<sup>13</sup> E. Weinig, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 40, 318 [1951].

<sup>14</sup> H. Kluge, Z. Unters. Lebensmittel 78, 449 [1939].

<sup>15</sup> E. Buchner u. J. Meisenheimer, Ber. dtsch. chem. Ges. 38, 625 [1905].

<sup>16</sup> T. E. Friedemann u. J. B. Graeser, J. biol. Chemistry 100, 291 [1933].

<sup>17</sup> L. Pasteur, Etudes sur la bière, Paris 1876.

<sup>18</sup> O. Meyerhof, Biochem. Z. 162, 43, 62 ff. [1925].

Weinhefe		Weinhefe						
<i>Sacch. ellipsoideus</i> Hansen Stamm W		<i>Sacch. ellipsoideus</i> Hansen Stamm Rie						
Stdn.	Bezogen auf 100 ml Gärsubstrat							
	anaerob		aerob		anaerob		aerob	
	Alkohol in Gew.- <sup>o</sup> / <sub>100</sub>	CO <sub>2</sub> - Menge in g	Alkohol in Gew.- <sup>o</sup> / <sub>100</sub>	CO <sub>2</sub> - Menge in g	Alkohol in Gew.- <sup>o</sup> / <sub>100</sub>	CO <sub>2</sub> - Menge in g	Alkohol in Gew.- <sup>o</sup> / <sub>100</sub>	CO <sub>2</sub> - Menge in g
24	0,56	0,52	0,48	0,47	0,76	0,73	0,82	0,82
48	1,49	1,43	1,33	1,32	1,78	1,71	1,60	1,58
72	2,48	2,41	2,52	2,50	2,69	2,57	2,81	2,78
96	2,69	2,58	2,75	2,74	2,84	2,75	2,98	3,02
120	2,87	2,77	2,79	2,83	2,96	2,85	3,05	3,08

Tab. 1. Anaerobe und aerobe Alkoholbildung sowie CO<sub>2</sub>-Entwicklung der Weinhefen (*Sacch. ellipsoideus* Hansen) Stamm W und Rie in 12-proz. Würze bei nicht-zuwachsfähiger Aussaatmenge. Raumtemperatur 5°.

fürhte Meyerhof darauf zurück, daß ihr Atmungsvermögen infolge fortgesetzter technischer Hochzüchtung auf Gärung eine weitgehende Einbuße erlitten habe; zugleich bekräftigte er damit seinen Standpunkt, daß bei den wilden Hefen dasselbe Stoffwechselprinzip der aeroben Umschaltung von Gärung auf Atmung vorherrsche wie beim Kaltblüter- und Warmblütermuskel. Am Beispiel von *Torulopsis utilis* vermeinte er, die Richtigkeit seiner Theorie bewiesen zu haben.

Nichts lag nun näher, als — im Bemühen um die Klarstellung dieses wichtigen biologischen Fragenkomplexes — von Hefen und Bakterien auszugehen, die in der Natur, umgeben von atmosphärischen O<sub>2</sub>-Einflüssen, aufgewachsen sind und die spezifische Eigenschaft besitzen, in zuckerhaltigen Säften und Lösungen eine spontane Gärung hervorzurufen, wie es z. B. von der Weingärung oder natürlichen Milchsäuerung her allgemein bekannt ist.

Versuche mit Weinhefen

Bei der unbegrenzten Zahl von Weinhefen (Spezies *Sacch. ellipsoideus* Hansen), die aus der Natur in Weingärten und Weinkellereien unter wechselnden Lebensbedingungen anfallen, konnten wir ein umfangreiches statistisches Untersuchungsmaterial zusammentragen. An den nachfolgenden beiden Beispielen zeigen wir ihr Verhalten gegenüber intensiver Sauerstoff-Einwirkung (bei O<sub>2</sub>-Sättigung des Mediums).

Ansatz 1: 10 Gärkolben mit je 100 ml 12-proz. Würze (p<sub>H</sub> 5,56); je Charge 1,4 g abgepreßte Weinhefe Stamm W (nicht-zuwachsfähige Aussaatmenge); Wassergehalt der Hefe: 77,4%, Zellenzahl/mm<sup>3</sup>: 67 200; anaerob: bei

schwachem N<sub>2</sub>-Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min), aerob: bei schwachem O<sub>2</sub>-Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min). Raumtemperatur 5°.

M.St.-Bestimmungen:

$$\begin{aligned}
 Q_{Al}^{N_2} &= 960; & Q_{Al}^{O_2} &= 973; \\
 Q_{CO_2}^{N_2} &= 465; & Q_{CO_2}^{O_2} &= 483; & G - Q_{CO_2}^{O_2} &= 471; \\
 Q_{O_2} &= -12; & A - Q_{O_2} &= -12; & \dot{U} - Q_{O_2} &= 0.
 \end{aligned}$$

Ansatz 2: 10 Gärkolben mit je 100 ml 12-proz.-Würze (p<sub>H</sub> 5,56); je Charge 1,4 g abgepreßte Weinhefe Stamm Rie (nicht-zuwachsfähige Aussaatmenge); Wassergehalt d. Hefe: 78,6%, Zellenzahl/mm<sup>3</sup>: 77 600; weitere Arbeitsbedingungen wie bei Ansatz 1. Raumtemperatur 5°.

M.St.-Bestimmungen: Im Bereich der bei Weinhefe W angegebenen M.St.-Werte liegend.

In der nachstehenden Tab. 1 sind die von 24 zu 24 Stdn. in 12-proz. Würze ermittelten Zahlenwerte der aeroben bzw. anaeroben Alkoholbildung und CO<sub>2</sub>-Entwicklung innerhalb von 5 Gärtagen zusammengestellt.

Die Gegenüberstellung der aeroben bzw. anaeroben Alkoholbildung und CO<sub>2</sub>-Entwicklung in Tab. 1 gibt eindeutig zu erkennen, daß bei den Weinhefen (von der Spezies *Sacch. ellipsoideus* Hansen) trotz maximaler Sauerstoffversorgung kein hervortretender Unterschied im Vergleich zu den anaeroben Gäransätzen besteht. Dieses Ergebnis hat sich auch durchgehend bei allen sonstigen mit Weinhefen angestellten Analogieversuchen bestätigt. Die wilden, aus der Natur stammenden Weinhefen sind also in ihrer Gärkraft gegenüber der O<sub>2</sub>-Einwirkung genau

so resistent wie die Kulturhefen, d. h. ihre Spaltkraft ist aerob irreversibel.

Versuche mit *Torulopsis*

Die *Torulopsis*hefe beansprucht in der Zellstoffwechsellehre insofern eine besondere Beachtung, als Meyerhof<sup>19</sup> an ihr nachgewiesen zu haben vermeinte, daß auch die Gärhefen, mit Ausnahme der „kulturell entarteten“ Betriebshefen, dem Gesetz der aeroben Umschaltung von Spaltung auf Atmung unterworfen seien, woraus er die weittragende Folgerung ableitete, daß das Korrelationsprinzip des Muskels — Sistierung des Spaltstoffwechsels in der Oxybiose nebst Resynthese des Stabilisierungsproduktes — in der gesamten belebten Natur vorherrsche.

Hefeart	Hefemenge i. Trock.-Subst. mg	Konzentr. d. Zuckerphosphat-lösung %	Substratmenge ml	Versuchsdauer min	Methode
<i>Torulopsis</i> -Stamm M	2,2	2,5	3,0	60*	Kästchenmethode

\* Bei 30' und 40' treten die gleichen Reaktionen ein.

Tab. 2. Schema eines Einzelansatzes.

Bei Wiederholung der entscheidenden Meyerhof'schen Versuche mit *Torulopsis* im Warburg-Apparat gingen wir jedesmal von 22 Einzelansätzen in Küvetten aus und hielten uns dabei streng an die von Meyerhof gewählten Versuchsbedingungen.

Versuchs-Auswertung	Hefemenge in Trock.-Subst.	Gesamte Alkoholbildung in 66 mg Gärlösung		In 1 Stde. von 1 mg Trock.-Hefe gebildete Alkoholmenge		Aus dem Alkohol, je Stde. und mg Trock.-Hefe, berechnete CO <sub>2</sub> -Menge	
	mg	mg		mg		mm <sup>3</sup>	
		anaerob	aerob	anaerob	aerob	anaerob	aerob
Maximalwert	} 48,4	22,6	23,2	0,47	0,48	227	233
Minimalwert		21,8	22,4	0,45	0,46	217	225
Mittelwert		22,2	22,8	0,46	0,47	222	229

Tab. 3. Maximale, minimale und mittlere Alkoholwerte nebst der dazugehörigen berechneten CO<sub>2</sub>-Menge.

Aber noch in anderer Hinsicht sind die *Torulazeen* von biologischem Interesse, weil sie, im Gegensatz z. B. zu den wilden Weinhefen, von Natur aus meistens nicht gärfähig sind, sondern ausschließlich atmen. Infolge ihrer *Gärunfähigkeit* steht es außer Zweifel, daß sie nicht irgendwie durch anaerobe Einflüsse vorbelastet sind. Sollen sie in gärende Zellen umgewandelt werden, so gelingt das, entgegen der strengen Auslegung der Pasteurschen „conséquence de la vie sans air“, nicht bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff, sondern nur unter vermindertem O<sub>2</sub>-Partialdruck (Lufthungerzüchtung), und zwar aus dem einfachen Grunde, weil die nicht-gärfähigen *Torulazeen* außerstande sind, sich anoxybiotisch fortzupflanzen<sup>20</sup>. Die gerade erst im zymagenen Umzüchtungsprozeß ausgebildete Spaltfähigkeit ist nach unseren Feststellungen<sup>21</sup> — abweichend von denen Meyerhofs — sozusagen in statu nascendi *aerob irreversibel* konstituiert, worauf im nachfolgenden noch zurückgekommen wird.

<sup>19</sup> O. Meyerhof, Biochem. Z. 162, 43, 59 ff. [1925].

<sup>20</sup> F. Windisch, W. Heumann u. Chr. Goslich, Z. Naturforschg. 8b, 305 [1953].

In Tab. 2 ist das Schema eines derartigen Einzelansatzes angeführt.

Nach Versuchsbeendigung töteten wir die Hefe ab und vereinigten in quantitativer Weise die 22 Einzelansätze, welche insgesamt 66 ml Substrat und 48,4 mg Hefe in Tr.S enthielten. Darauf ermittelten wir in der angesammelten Gärflüssigkeit den Alkoholgehalt. Aus einer Versuchsreihe mit *Torulopsis*, Stamm M, sind in Tab. 3 die maximal und minimal gefundenen bzw. berechneten mittleren Alkoholwerte nebst den dazugehörigen CO<sub>2</sub>-Mengen (ber.) zusammengestellt.

Aus dem obigen Beispiel (Tab. 3) geht hervor, daß *Torulopsis*, Stamm M, welche gerade erst im Verlauf ihrer zymagenen Umzüchtung zuckerspaltende Befähigung erlangt hat, diese Eigenschaft auch unter der Einwirkung von Sauerstoff beibehält, wie ihre aerobe Alkoholgärung bezeugt, welche der anaeroben gleichwertig ist.

Anschließend gingen wir dazu über, die aus der Warburg-Apparatur zum Zwecke der Analyse vereinigten Mikrogärungen nunmehr sogleich in

<sup>21</sup> Gemeinschaftsarbeit von F. Windisch u. D. Stierand sowie von H. HaeHN, Protoplasma (im Druck).

Torulopsis Stamm Bi					Torulopsis Stamm Hb				
Bezogen auf 100 ml Gärsubstrat									
Stdn.	anaerob		aerob		anaerob		aerob		
	Alkohol in Gew.-%	CO <sub>2</sub> -Menge in g	Alkohol in Gew.-%	CO <sub>2</sub> -Menge in g	Alkohol in Gew.-%	CO <sub>2</sub> -Menge in g	Alkohol in Gew.-%	CO <sub>2</sub> -Menge in g	
24	0,24	0,22	0,30	0,30	0,15	0,14	0,19	0,20	
48	0,65	0,63	0,62	0,61	0,42	0,39	0,35	0,35	
72	0,84	0,80	0,90	0,89	0,95	0,90	0,82	0,86	
96	0,98	0,93	1,02	1,05	1,28	1,22	1,35	1,39	
120	1,12	1,06	1,08	1,11	1,52	1,46	1,69	1,72	

Tab. 4. Anaerobe und aerobe Alkoholbildung sowie CO<sub>2</sub>-Entwicklung der *Torulazeen* Stamm Bi und Hb in 12-proz. Würze bei nicht-zuwachsfähiger Aussaatmenge. Raumtemperatur 10°.

einem größeren Einzelansatz zusammenzufassen, wobei wir wiederum genauestens die von Meyerhof eingehaltenen Versuchsbedingungen befolgten. Die hierbei erzielten Ergebnisse stimmten mit denen in der Warburg-Apparatur erhaltenen gut überein und zeigten, daß die aerobe Alkoholbildung auch bei größerer Dimensionierung des Einzelversuches im gleichen Maße auftritt, wie es zuvor bei der Ansammlung einer Reihe von Kleingäransätzen der Fall war.

Die Bestätigung der annähernd gleichwertigen aeroben und anaeroben Alkoholbildung im Klein- und Großansatz mit Zuckerphosphatlösung veranlaßte uns, weitere Untersuchungen in Würze vorzunehmen, und zwar in Parallele zu den vorangehenden Testen an Weinhefen. Als Beispiel für den experimentellen Ablauf bringen wir im folgenden aus einer Gruppe von 11 Vertretern der *Torulopsis*-familie, die übereinstimmende Resultate lieferten, die Versuchsdaten von Stamm Hb und Bi zur Kenntnis.

*Ansatz 1:* 10 Gärkolben mit je 100 ml 12-proz. Würze (p<sub>H</sub> 5,53); je Charge 1,5 g abgepreßte *Torulopsis*hefe Stamm Hb (nicht-zuwachsfähige Aussaatmenge); Wassergehalt der Hefe: 79,7%, Zellenzahl/mm<sup>3</sup>: 106 500; anaerob: bei schwachem N<sub>2</sub>-Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min), aerob: bei schwachem O<sub>2</sub>-Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min). Raumtemperatur 10°.

M.St.-Bestimmungen:

$$\begin{aligned}
 Q_{Al}^{N_2} &= 496; & Q_{Al}^{O_2} &= 500; \\
 Q_{CO_2}^{N_2} &= 240; & Q_{CO_2}^{O_2} &= 259; & G-Q_{CO_2}^{O_2} &= 242; \\
 Q_{O_2} &= -17; & A-Q_{O_2} &= -17; & U-Q_{O_2} &= 0.
 \end{aligned}$$

*Ansatz 2:* 10 Gärkolben mit je 100 ml 12-proz. Würze (p<sub>H</sub> 5,53); je Charge 1,5 g abgepreßte *Torulopsis*hefe Stamm Bi (nicht-zuwachsfähige Aussaatmenge); Wassergehalt der Hefe: 80,3%, Zellenzahl/mm<sup>3</sup>: 99 200; weitere Arbeitsbedingungen wie bei Ansatz 1. Raumtemperatur 10°.

M.St.-Bestimmungen:

$$\begin{aligned}
 Q_{Al}^{N_2} &= 550; & Q_{Al}^{O_2} &= 556; \\
 Q_{CO_2}^{N_2} &= 266; & Q_{CO_2}^{O_2} &= 283; & G-Q_{CO_2}^{O_2} &= 269; \\
 Q_{O_2} &= -14; & A-Q_{O_2} &= -14; & U-Q_{O_2} &= 0.
 \end{aligned}$$

In der nachfolgenden Tab. 4 sind die Zahlenwerte der aeroben bzw. anaeroben Alkoholbildung und CO<sub>2</sub>-Entwicklung in 12-proz. Würze von 24 zu 24 Stdn. innerhalb von 5 Gärtagen zusammengestellt.

Bei dem täglichen Verfolg der aeroben bzw. anaeroben Alkoholbildung und CO<sub>2</sub>-Entwicklung tritt unverkennbar zutage, daß die beiden zymogen umgezüchteten *Torulopsis*hefen, Stamm Hb und Bi, ein spezifisches aerobes Gärvermögen besitzen; zwischen ihrer aeroben und anaeroben Stoffwechsellätigkeit macht sich kein hervortretender Unterschied geltend.

Die zuckerspaltende *Torulopsis*, von Meyerhof als Prototyp der *aerob nicht-gärenden* Hefen herausgestellt, bildet *oxy- wie anoxybiotisch annähernd in gleichem Ausmaß Alkohol*. Das ist der elementare Befund unserer vorliegenden Untersuchungen im Warburg-Apparat sowie im entsprechend größer dimensionierten Zuckerphosphat- und Würze-Ansatz. Als entscheidendes Kriterium diente uns hierbei die *Alkoholbestimmung*, die — wie am Beispiel von *Torulopsis* besonders evident geworden — bei der

quantitativen Differenzierung der beiden Stoffwechselarten nicht durch alleinige  $\text{CO}_2$ -Messung ersetzt werden kann. In qualitativer Hinsicht eruierten wir jüngstens<sup>22</sup>, daß der Spaltungsstoffwechsel, zumindest was das Zellwachstum anbetrifft, ergonisch nicht für die Atmung einzutreten vermag.

Mit unserer Feststellung, daß die zuckerspaltende *Torulopsis* — in gleicher Weise wie die Kultur- und Weinhefen — einen normalen Gärungsstoffwechsel vollführt, stellen wir eine irrige Auffassung richtig, die seit Meyerhofs unitarischer Korrelationstheorie die Zellstoffwechsellehre belastet. Das Meyerhofsche Experiment, aus dem hervorzugehen schien, daß die *Torulopsis*hefe zu einer abnormen Atmungssteigerung fähig sei, blieb von vornherein fragwürdig, da ein unkoordinierter Zuckerabbau (typisch für die Gärung), der den Energiebedarf der Zelle um ein Vielfaches überschreitet, physiologisch dem Wesen der Atmung als zellular reguliertem Vorgang widerspricht, was aus der Berechnung der kalorischen Werte für Atmung und Gärung — bei einer totalen Umschaltung von  $Q_{\text{CO}_2} = 250$  bis 300 auf Atmung, wie Meyerhof<sup>23</sup> annimmt — leicht zu erkennen ist.

#### Versuche mit Milchsäurebakterien

Von 15 aus der Natur isolierten Stämmen, die bei hoher Aussaat aerob wie anaerob ein gleich gutes Säuerungsvermögen aufzuweisen hatten, sind nachfolgend die experimentell ermittelten Säuerungswerte von zwei typischen Vertretern, *Bact. Delbrücki* Leichmann und *Bact. lactis acidi* Leichmann, bei  $\text{O}_2$ - und  $\text{N}_2$ -Durchgasung vergleichend gegenübergestellt.

**Ansatz 1:** 10 Gärkolben mit je 100 ml 10-proz. Würze ( $p_{\text{H}} 5,60$ ), unter Zusatz von 3 g sterilem  $\text{CaCO}_3$ ; je Charge 2,0 g lufttr. Milchsäurebakterien, Stamm Delbrücki Leichmann; Wassergehalt der Bakterien: 82,4%; anaerob: bei schwachem  $\text{N}_2$ -Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min), aerob: bei schwachem  $\text{O}_2$ -Gasstrom (etwa 20 Gasblasen/min). Thermostaten-Temperatur  $42^\circ$ .

**Ansatz 2:** 10 Gärkolben mit je 100 ml 10-proz. Würze ( $p_{\text{H}} 5,60$ ), unter Zusatz von 3 g sterilem  $\text{CaCO}_3$ ; je Charge 2,0 g lufttr. Milchsäurebakterien, Stamm *lactis acidi* Leichmann; Wassergehalt der Bakterien: 83,8%; weitere Arbeitsbedingungen wie bei Ansatz 1. Thermostaten-Temperatur  $38^\circ$ .

In der nachstehenden Tab. 5 ist der Verlauf der Säurebildung unter aeroben und anaeroben Versuchsbedingungen, in Abständen von je 12 Std., bis zur Beendigung des Säuerungsprozesses vergleichend er-

<sup>22</sup> F. Windisch, H. Haehn u. W. Heumann, Arch. Geschwulstforsch. (im Druck).

<sup>23</sup> O. Meyerhof, Biochem. Z. **162**, 43, 59 [1925].

gistriert. Die quantitative Bestimmung der Milchsäure erfolgte in einem aliquoten Teil und wurde in jedem Falle auf 100 ml Ausgangssubstrat umgerechnet.

Die aus der Natur isolierten und in hoher Aussaatmenge zum Versuch angesetzten beiden Bakterienstämme *Delbrücki* Leichmann und *lactis acidi* Leichmann ließen im aerob und anaerob durchgeführten Experiment keinen wesentlich sich auswirkenden Unterschied in der Intensität der Säurebildung erkennen. Das gleiche Ergebnis war auch bei

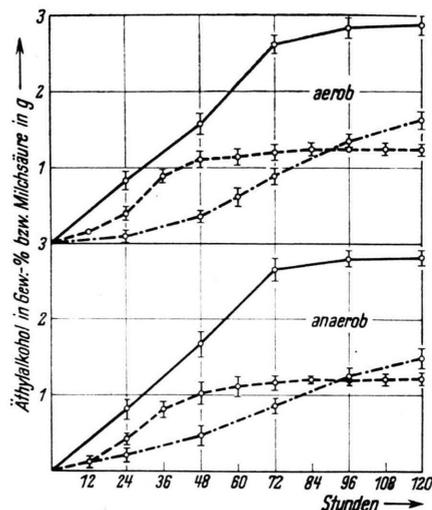


Abb. 2. Vergleichende aerobe und anaerobe Alkohol- bzw. Milchsäurebildung durch Weinhefe (*Sacch. ellipsoideus* Hansen) Stamm Rie (—), *Torulopsis* Stamm Hb (---) und *Bact. lactis acidi* Leichmann (----) bei nicht-zuwachsfähiger Aussaatmenge. — Die Kurven stellen die Resultierenden aus einer größeren Reihe von Versuchen dar. • bezeichnet die Streubereiche

den übrigen 13 Wildstämmen zu verzeichnen. Hieraus ist zu entnehmen, daß die Milchsäurebakterien, die aus der Luft stammen und spontane Säuerung hervorrufen, unabhängig vom Sauerstoff die glykolytische Spaltung des Zuckers vollführen.

#### Erläuterung zur vergleichenden graphischen Darstellung der Ergebnisse

In Abb. 2 sind die Durchschnittswerte einer größeren Reihe von Versuchen unter Angabe der Streubereiche graphisch dargestellt. Dabei mußten wir die analytischen Daten der aeroben und anaeroben Ansätze in getrennten Diagrammen bringen, weil sich andernfalls die Kurven bei ihrem ziemlich gleichartigen Verlauf im  $\text{O}_2$ - und  $\text{N}_2$ -Durchgasungsversuch gegenseitig überdeckt hätten.

<i>Bact. Delbrücki</i> Leichmann		<i>Bact. lactis acidi</i> Leichmann		
Bezogen auf 100 ml Gärsubstrat				
Stdn.	Milchsäure in g		Milchsäure in g	
	anaerob	aerob	anaerob	aerob
12	0,26	0,19	0,11	0,15
24	0,95	0,80	0,42	0,38
36	1,48	1,54	0,85	0,92
48	1,69	1,67	1,05	1,10
60	1,79	1,82	1,11	1,17
72	1,88	1,96	1,15	1,20
84	1,92	1,97	1,21	1,24
96	1,97	2,00	1,18	1,26
108	1,95	1,97	1,15	1,26
120	1,98	2,01	1,22	1,28

Tab. 5. Anaerobe und aerobe Milchsäurebildung der Stämme *Bact. Delbrücki* Leichmann und *Bact. lactis acidi* Leichmann in 10-proz. Würze bei hoher Aussaatmenge. Züchtungstemperatur 42° bzw. 38°.

Der vegetative Einfluß des Sauerstoffs auf die Hefezelle

Eine Wechselwirkung von Atmung und Gärung, wie sie beim Warmblüter- und Kaltblütermuskel vorherrscht, besteht weder beim Krebsgewebe (Warburg) noch bei den Kulturhefen (Pasteur, Meyerhof); sie tritt ebensowenig — nach unseren vorliegenden Ergebnissen — bei frisch eingefangenen Wildhefen und Milchsäurebakterien zutage.

Die Folge des Lebens mit und ohne Luft wirkt sich in ganz anderem Sinne, viel tiefgreifender auf die einzelne Zelle aus, nämlich vegetativ, zellkonstitutionell, was in früheren Arbeiten<sup>24</sup> von uns bereits herausgestellt wurde. Ähnliche Gedankengänge hatte auch schon Delbrück<sup>25</sup> entwickelt: „Wenn von einem gärungsfördernden Einfluß der Lüftung die Rede ist, so will das in erster Linie heißen, daß durch die Luftzufuhr die Zahl der Zellen vermehrt und dadurch die Gesamtgärleistung erhöht wird. Gerade diese Eigenschaft der Luft, schon in geringen Mengen die Sproßtätigkeit der Hefe wesentlich zu erhöhen, verleiht ihr einen außerordentlichen Einfluß auf den Charakter der am Ende der Gärung ge-

<sup>24</sup> F. Windisch, Hoppe-Seiler's Z. physiol. Chem. 179, 88 [1928]; Biochem. Z. 246, 332, 380 ff. [1932].

<sup>25</sup> M. Delbrück u. F. Hayduck, Die Gärungsführung, Berlin 1911.

<sup>26</sup> F. Windisch, W. Heumann u. Chr. Goslich, Z. Naturforschg. 8b, 305 [1953]; F. Windisch, H. Haehn u. W. Heumann, Arch. Geschwulstforsch. (im Druck).

ernteten Hefe.“ Auch äußerte Delbrück (l. c.<sup>25</sup>, S. 29), daß die obergärigen Hefen sauerstoffbedürftiger seien als die untergärigen, weil sie „wüchsiger“ seien.

Tatsächlich gibt es für die Hefezelle, da sie im ausgereiften, ruhenden Zustand keiner O<sub>2</sub>-Beeinflussung unterliegt, nur ein rein vegetatives Moment der O<sub>2</sub>-Gebundenheit, einmal im Hinblick auf die Proliferation selbst<sup>26</sup> und zweitens bezüglich der dabei sich entwickelnden Stoffwechselkräfte. Die potentielle Abhängigkeit der letzteren vom Sauerstoff läßt, aus der vegetativen Perspektive gesehen, die Pasteursche

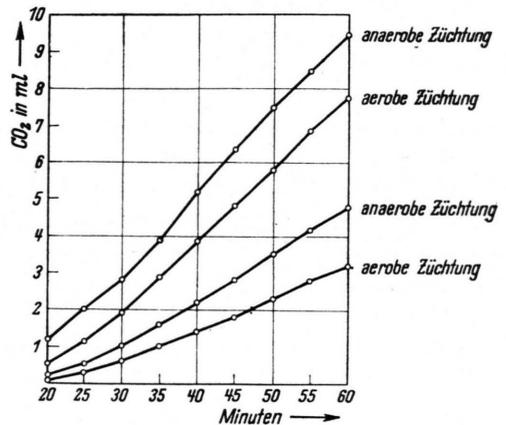


Abb. 3. Gärungsintensitäten von anaerob und unter Lüftung gezüchteten Hefen. Die beiden oberen Kurven (anaerobe und aerobe Züchtung) betreffen Kulturhefe Stamm F, die beiden unteren Torulopsis Stamm Bi.

„conséquence de la vie sans air“ voll in Erscheinung treten, was auch in der nachstehenden graphischen Darstellung der aerob und anaerob entwickelten Gärungsintensitäten (Abb. 3) mit aller Deutlichkeit zum Ausdruck kommt.

Anaerobe Züchtung (auch schon Lufthungerzüchtung) steigert die Gärkraft, aerobe vermindert sie, ohne sie vollständig auszulöschen; das gleiche trifft auch für die Atmungsintensität zu, wie bereits früher von uns dargetan wurde<sup>27</sup>. Es findet also unter ananroben (auch schon unter O<sub>2</sub>-armen) Wachstumsbedingungen eine Potenzierung der beiderseitigen Stoffwechselkräfte statt, während aerob, besonders bei Belüftung, das Gegenteil eintritt. Ähnliches kommt in der Feststellung Trautweins<sup>28</sup> zum Ausdruck, daß „Hefen, die eine große Gärungs-

<sup>27</sup> F. Windisch, Ergebn. Enzymforsch. 2, 169 [1933].

<sup>28</sup> K. Trautwein u. J. Wassermann, Biochem. Z. 229, 128 [1922].

geschwindigkeit haben, auch eine hohe Atmungsgeschwindigkeit besitzen“. Für die fertig ausgebildete, nicht in Vermehrung befindliche Hefezelle gibt es weder eine Pasteursche Konsequenz der Anaerobiose noch eine Meyerhofsche Korrelation zwischen Oxy- und Anoxybiose.

#### Schlusßbetrachtung

Mit der Entdeckung der Krebsglykolyse, die — gegenüber der aerob alternierenden Glykolyse der normalen Körperzellen in vivo — als aerob persistent determiniert ist, hat Warburg gleichzeitig die bedeutsame Feststellung gemacht, daß es, zellfunktionell, zwei differente Arten von Spaltungsstoffwechsel gibt, die aerob reversible und die aerob irreversible (persistente). Auf Grund unserer vorliegenden experimentellen Ergebnisse erweitert und vertieft sich die Warburgsche Erkenntnis dahingehend, daß außer den Krebszellen auch die Hefen und Milchsäurebakterien von Natur aus über die Fähigkeit der aeroben Zuckerspaltung verfügen. Demnach treten die beiden Prinzipien der Spaltwirkung nicht nur bei der malignen Entartung von Zellen divergent in Erscheinung, sondern machen sich ebenso im normalen Stoffwechselkreislauf (Hefen und Bakterien) geltend. Nach unserer Auffassung kommt hierbei dem aeroben Spaltungsstoffwechsel als unkoordiniert wirkender Naturkraft (P. Lindner hat die Hefe als „Zuckerzerstörungspilz“ bezeichnet) die spezielle Aufgabe

<sup>29</sup> F. Windisch, Naturwiss. 34, 190 [1947], zit. in B. Flaschenträger, Physiologische Chemie, Berlin 1951, S. 1170; F. Windisch, Apoth.Ztg. 62, 86 [1949].

zu, die kohlenhydrathaltigen (mineralische Bestandteile einschließenden) Ausscheidungs- und Abfallstoffe in der Natur, unabhängig von atmosphärischen O<sub>2</sub>-Einflüssen, so schnell wie möglich wieder assimilierbar, d. h. dem Aufbau zugänglich zu machen.

Die zymagene (O<sub>2</sub>-arme) Umzüchtung der aus der Natur isolierten und ausschließlich atmenden Torulazeen zu aerob zuckerspaltenden Zellen, deren mutierter Stoffwechselmodus gegenüber jeglicher O<sub>2</sub>-Einwirkung irreversibel geworden ist, stellt gleichsam ein Paradigma zum Krebsgeschehen dar. Auch bei der Karzinogenese vollzieht sich nach der herrschenden zellularen Anschauung — primär infolge Sauerstoffmanges, wie Warburg supponiert — die Umwandlung von ursprünglich aerob nur atmenden Normalzellen in malignes Gewebe, dessen ausgeprägter aerob glykolytischer Zellstoffwechsel für alle bösartigen Geschwülste symptomatisch ist. Die Warburgsche Konzeption über die Ätiologie des Krebses fand ihre experimentelle Bestätigung, als es Windisch<sup>29</sup> 1947 erstmalig in Vitrokultur gelang, normales tierisches Gewebe unter dem Einfluß der Anoxybiose in Krebsgewebe umzuzüchten. Letzthin konnten auch die amerikanischen Forscher Goldblatt und Cameron<sup>30</sup> aus den medizinischen Instituten der Universität Los Angeles in großangelegten Versuchen unser anoxybiotisches Züchtungsergebnis bestätigen, welches im Sinne der Warburgschen Intuitionen für die zellphysiologische Krebsforschung richtungweisend ist.

<sup>30</sup> H. Goldblatt u. C. Cameron, J. exp. Medicine 97, 525 [1953].