

15  
Vol. XIII. Fasc. 3

Octobre 1938

ARCHIVES INTERNATIONALES  
DE  
**MÉDECINE EXPÉRIMENTALE**

PUBLIÉES PAR

R. BRUYNOGHE

Professeur d'hygiène et de bactériologie  
à l'Université de Louvain

A. P. DUSTIN

Professeur d'anatomie pathologique  
à l'Université de Bruxelles.

**Beziehungen zwischen Phosphatumsatz  
und Milchsäurebildung in der Linse**

VON

R. WEEKERS (Liège) und H. SÜLLMANN (Basel)

(Aus der Universitäts-Augenklinik Basel. Direktor : Prof. Dr. A. BRÜCKNER).

LIÈGE

IMPRIMERIE H. VAILLANT-CARMANNE, S. A.

4, PLACE SAINT-MICHEL, 4

On s'abonne également chez MASSON et C<sup>o</sup>, Editeurs, 120, b<sup>d</sup> St-Germain, Paris

DÉPOSITAIRES

11683

IMPRIMÉ EN BELGIQUE

FEDS NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE		
6035	A. 25	
9 OCT 1939		
Fiches	Direction	Secrétariat

## Beziehungen zwischen Phosphatumsatz und Milchsäurebildung in der Linse

VON

R. WEEKERS (Liège) und H. SÜLLMANN (Basel)

(Aus der Universitäts-Augenklinik Basel. Direktor : Prof. Dr. A. BRÜCKNER).

Früher (1) wurde nachgewiesen, dass in der Linse eine Veresterung von anorganischer Phosphorsäure mit Kohlehydraten stattfindet. Die Beziehungen, die zwischen Kohlehydrat- und Phosphatstoffwechsel in der Linse offenbar bestehen [vgl. auch H. K. MÜLLER (2)], werden in der vorliegenden Arbeit weiter verfolgt. Der glykolytische Kohlehydratabbau überwiegt nach den bisherigen Angaben den oxydativen. Deshalb untersuchten wir zunächst, ob eine Verknüpfung zwischen Phosphatumsatz und Milchsäurebildung in der Linse nachzuweisen ist.

Diese Untersuchungen stehen in enger Beziehung zu den Arbeiten über den glykolytischen Kohlehydratabbau in anderen biologischen Systemen, insbesondere im Muskel und in den roten Blutkörperchen. In diesen Fällen wurde bekanntlich erwiesen, dass die Milchsäurebildung über eine Reihe phosphorylierter Substanzen verläuft. Dieser Nachweis wurde hauptsächlich in der Weise geführt, dass eine Veresterung von anorganischem Phosphat, der Einfluss von Phosphat auf die Milchsäurebildung, die Angreifbarkeit phosphorylierter Kohlehydrate sowie das Auftreten phosphorylierter Zwischenprodukte bei der Glykolyse gezeigt wurde. Demgegenüber seien besonders Arbeiten von J. NEEDHAM (3) und Mitarbeitern über den glykolytischen Kohlehydratabbau im embryonalen Gewebe angeführt. Danach verläuft der Kohlehydratabbau im Embryo ganz oder doch zur Hauptsache über nicht-phosphorylierte Stufen. Wegen ihrer auch unter physiologischen Verhältnissen vorhandenen glykolytischen Fähigkeit wurde die Linse den ebenfalls vorwiegend glykolysierenden Systemen des Tumors oder des Embryos

zugeordnet. Es erhebt sich damit die Frage, ob der Kohlehydratabbau in der Linse etwa dem Stoffwechselltypus des Muskels oder demjenigen des Embryos bzw. Tumors entspricht. Für die Kenntnis der Physiologie und Pathologie der Linse erscheinen überdies eingehendere Untersuchungen über die enzymatischen Leistungen dieses Organs geboten.

Die hier mitgeteilten Versuche betreffen folgende Punkte : 1. Einfluss von Phosphatzusatz auf die Milchsäurebildung in der isolierten Linse, 2. die Milchsäurebildung in Linsenextrakten aus verschiedenen Kohlehydraten (Glykogen, Glukose, Hexosediphosphorsäure und Hexosemonophosphorsäure) und die dabei auftretenden Aenderungen im Gehalt an anorganischem Phosphat. Anhangsweise werden vorläufige Versuche zum Nachweis von Glykogen und Kreatinphosphorsäure in der normalen Linse mitgeteilt.

### METHODISCHES

Es gelangten Kälber- und Rinderlinsen zur Verwendung. Die Milchsäurebestimmungen wurden in den meisten Fällen nach der Methode von MENDEL und GOLDSCHIEDER (5) vorgenommen. Die Messung der Farbintensität geschah im Stufenphotometer mit dem Filter  $S_{53}$ ; die erhaltenen Resultate wurden an Hand einer Eichkurve ausgewertet. Die Methode wurde wiederholt an Blut überprüft; bei nüchternen Versuchspersonen fanden wir Ruhewerte von 12-18 mg % Milchsäure. In Serienuntersuchungen mit Linsen wurde die Farbreaktion und ihre Messung mit dem Stufenphotometer zur Bestimmung des Milchsäuregehalts von R. WEEKERS (6) als geeignet befunden. Eine möglicherweise vorhandene Fehlerquelle ist in dem Eiweissreichtum des verwendeten Materials (Linsen, Linsenextrakte) zu suchen, da bei der Fällung mit Metaphosphorsäure vielleicht Milchsäure mit in den Niederschlag geht. Dieser Fehler dürfte dann aber bei allen Bestimmungen in gleicher Weise zum Ausdruck kommen, da Doppelanalysen in der Regel gut übereinstimmen. In einigen Versuchen mit der isolierten Linse wurde Milchsäure nach dem Verfahren von FRIEDEMANN, COTONIO und SHAFER (7) in der von LIEB und ZACHERL (8) angegebenen Apparatur bestimmt.

### VERSUCHE

#### 1. Einfluss von Phosphatzusatz auf die Milchsäurebildung in der isolierten Linse

Für diese Untersuchungen wurden, wie früher, in jedem Versuch die Linsen eines Tieres verwendet. Die Linsen wurden in kleine Gläschen,

die eine in phosphatfreie, die andere in die phosphathaltige Lösung gelegt. Die Aussenlösung enthielt in allen Versuchen Glukose (in 6 ccm 5 mg); in den Versuchen mit Phosphatzusatz enthielten 6 ccm der Aussenlösung 2-4 mg P. Nach 4 1/2-6 stündiger Versuchsdauer (37°) wurde in Linse+Aussenlösung Milchsäure bestimmt. Der Milchsäuregehalt wurde auf 100 g Frischgewicht der Linse bezogen.

Die in Tabelle I aufgeführten Versuche zeigen, dass in allen Fällen mit Phosphatzusatz deutlich mehr Milchsäure gefunden wurde als in den Kontrollversuchen ohne Phosphat. Mit Phosphatzusatz ist die Milchsäuremenge um durchschnittlich 10% höher als in den Parallelversuchen ohne Phosphat.

TABELLE I. — Einfluss von Phosphatzusatz auf die Milchsäurebildung in der isolierten Linse

Die Aussenflüssigkeit enthält in jedem Versuch in 6 ccm 5 mg Glukose; Die Versuche mit Phosphatzusatz enthielten in 6 ccm der Aussenlösung 2-4 mg P.

Nr	Versuch	pH	Linsen- gew. g	Ink. Zeit Stdn. 37°	Milchsäure mg%
1	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	8,2	1,09	6	188 204
2	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	8,2	1,08	6	128 146
3	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	5,4	1,05	6	208 242
4	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	8,2	2,05	6	83,5 91,5
5	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	7,4	1,15	4 1/2	180,0 196,5
6	Glykokoll Glykokoll-Phosphat	7,4	1,15	4 1/2	214,0 231,0

In besonderen Versuchen zeigte sich, dass die Milchsäurebildung in der Linse pH-abhängig ist: mit steigendem pH der Aussenlösung nahm die Milchsäurebildung zu. Es war daher notwendig, darauf zu achten, dass durch den Phosphatzusatz keine in Betracht kommende pH-Verschiebung verursacht wird. Deshalb erfolgten die Versuche mit Pufferlösungen, deren pH der zugesetzten Phosphatlösung entsprach.

## 2. Phosphatumsatz und Milchsäurebildung in Linsenextrakten

Da das glykolytische Fermentsystem der Linse in Form wässriger Extrakte zu erhalten ist, wurden in den folgenden Versuchen die Beziehungen zwischen Phosphatstoffwechsel und Milchsäurebildung in *Linsenextrakten* untersucht. Von der isolierten Linse wissen wir nunmehr, dass sie bei Zuckerzufuhr von aussen die am Kohlehydratstoffwechsel beteiligten Phosphatfraktionen auf konstantem Niveau erhält (1). In der glykolysierenden Linse ist also, wenn die Aussenlösung Glukose enthält, gar keine Änderung im Gehalt von anorganischem und organischem Phosphat festzustellen. Eine solche Regulation finden wir in Extrakten nicht oder doch nicht so ausgesprochen. Hier sind — wie beim Muskelextrakt oder im Blutkörperchenhämolyolat — Zusammenhänge zwischen Phosphorylierungsreaktionen und dem Kohlehydratabbau besser zu beobachten. Wir haben in Linsenextrakten gleichzeitig anorganisches Phosphat und Milchsäure bestimmt, um auf die erwähnten Beziehungen zu prüfen.

Zur besseren Uebersicht sind die erhaltenen Resultate graphisch wiedergegeben. Der Masstab ist so gewählt, dass bei gleicher Säulenhöhe ein Umsatz im Verhältnis 1 Atom P : 1 Molekül Milchsäure erfolgte. Zu beachten ist, dass die Änderungen im Phosphat- und Milchsäuregehalt sich immer auf die *vorhergehende* Bestimmung (also nur nach der ersten Inkubationsperiode auf den Sofortwert) beziehen.

a) *Versuche ohne Substratzusatz* (Fig. I). — Wird Linsenextrakt kein Kohlehydrat zugesetzt, so tritt eine Vermehrung des anorganischen Phosphats ein; damit einhergehend findet auch eine Vermehrung der Milchsäuremenge statt. In einem Versuch (IVa) war keine Zunahme, sondern Abnahme von anorg. P

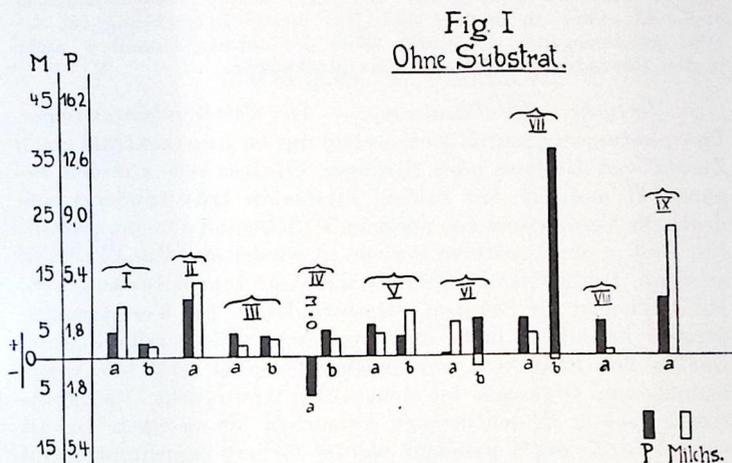


FIG. I.

1. Periode : Ia = 3, II = 12, IIIa = 6, IVa = 4½, Va = 5½  
 VIa = 5, VIIa = 4, VIIIa = 6, IX = 2 Stdn. 37°.
2. Periode : Ib = 3, IIIb = 4, IVb = 2, Vb = 5  
 VIb = 5, VIIb = 7 Stdn. 37°.

Ansätze I, III, VII, VIII und IX enthielten 3,5-5,2, die übrigen 25 mg% anorgan. P.

festzustellen; hier blieb auch die Milchsäurebildung aus. Nach 6½ stündiger Inkubation zeigt derselbe Versuch (IVb) Vermehrung des anorgan. P und zugleich der Milchsäure. In den Versuchen VIb und VIIb wurde zwischen 4 und 11 Stdn. trotz deutlicher Dephosphorylierung keine Milchsäurebildung beobachtet; gegenüber vorhergehenden Bestimmungen wurde in beiden Versuchen sogar eine etwas geringere Milchsäuremenge gefunden.

Das Schicksal der Milchsäure im Linsenextrakt wurde noch nicht eingehend untersucht. Nach AHLGREN (9) vermag die Linse im Methylblauversuch Milchsäure zu oxydieren. Möglicherweise wird durch einen derartigen Prozess auch in unseren Versuchen, die unter Luftzutritt durchgeführt wurden, ein geringer Milchsäureanteil zum

Verschwinden gebracht, so dass die Werte für die Milchsäurebildung vielleicht etwas zu niedrig sind. Für unsere Betrachtung hat die evtl. anzubringende Korrektur keine Bedeutung, besonders nicht in den folgenden Versuchen mit Substratzusatz.

b) *Versuche mit Substratzusatz.* — Die Beziehungen zwischen Phosphatumsatz und Milchsäurebildung im Linsenextrakt nach Zusatz von Glukose oder Glykogen ergeben sich aus den Figuren II und III. Mit beiden Substraten tritt zunächst eine deutliche Veresterung von anorgan. P (Schwund von anorgan. P) ein. Erst in einer späteren Periode ist wieder eine Zunahme von anorgan. P über den ursprünglichen Wert hinaus festzustellen. Mit Glykogen als Substrat verschwindet in der Veresterungsperiode bedeutend mehr anorgan. Phosphat als mit Glukose. Das in den Extrakten vorhandene Phosphat wird bei Anwesenheit von Glykogen meistens völlig verbraucht, Phosphatzusatz (wie er in den meisten Versuchen bis zu einem Gehalt von etwa 25 mg% gemacht wurde) fördert dementsprechend die Glykogenphosphorylierung beträchtlich.

Sowohl mit Glukose als auch mit Glykogen findet im Linsenextrakt eine bedeutende Milchsäurebildung statt. Diese ist — bei Betrachtung längerer Versuchszeiten — mit beiden Substraten etwa gleich gross. In den ersten Stunden entsteht aus Glukose meist etwas mehr Milchsäure als aus Glykogen, ein Verhältnis, das sich dann im weiteren Verlauf zugunsten der Milchsäurebildung aus Glykogen ändert. Bemerkenswert erscheint, dass trotz der bedeutend stärkeren Phosphatbindung in Gegenwart von Glykogen dieses kein besseres Substrat für die Milchsäurebildung darstellt als Glukose. Beide Versuchsreihen lassen deutlich einen Zusammenhang zwischen den Änderungen im Gehalt an anorganischem Phosphat und der Milchsäurebildung erkennen. Allerdings können keine festen stöchiometrischen Beziehungen zwischen beiden Stoffwechselprozessen aufgezeigt werden, wie das beispielsweise für bestimmte Muskel-extrakte möglich war (EMBDEN (10)).

Das Verhalten eines in den Abbildungen nicht wiedergegebenen Rinderlinsen-Extrakts (mit 10 mg% anorgan. P) hinsichtlich Phosphatveresterung und Milchsäurebildung mit *Glukose*, *Fruktose* und *Glykogen* als Substraten ergibt sich auch aus den folgenden Zahlen. Nach 6 stündiger Inkubation bei 37°

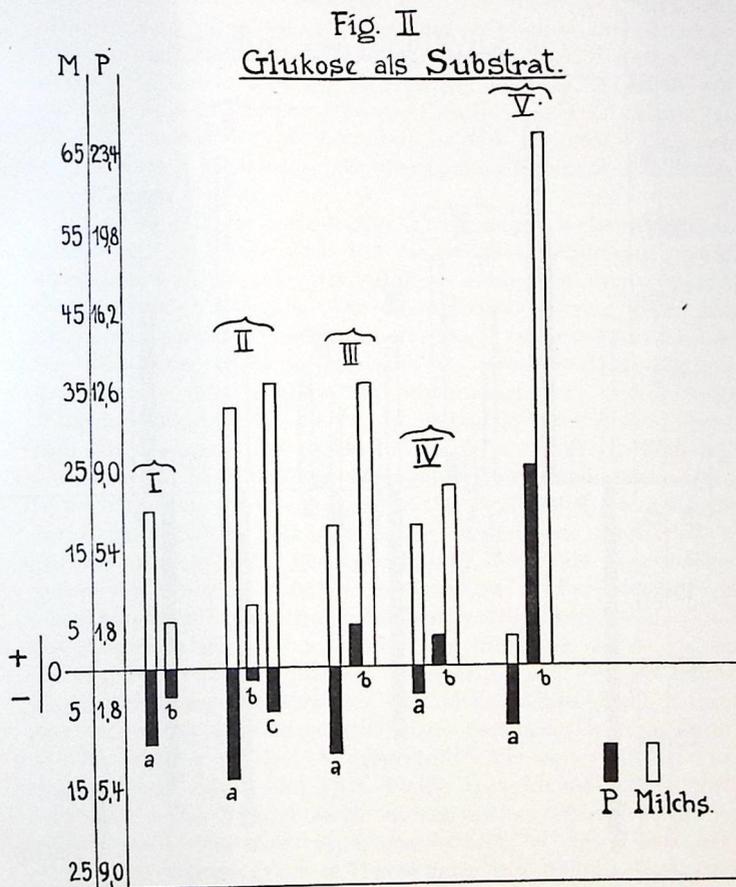


FIG. II.

1. Periode : Ia = 3, IIa = 7, IIIa = 5½, IVa = 5, Va = 4 Std. 37°.
2. Periode : Ib = 3, IIb = 1, IIIb = 5, IVb = 5, Vb = 7 Std. 37°.
3. Periode : IIc = 4 Std. 37°.

Ansatz V (Extrakt aus Kälberlinsen) enthielt 5, die übrigen Ansätze (Rinderlinsen) enthielten 17-24 mg% anorg. P.

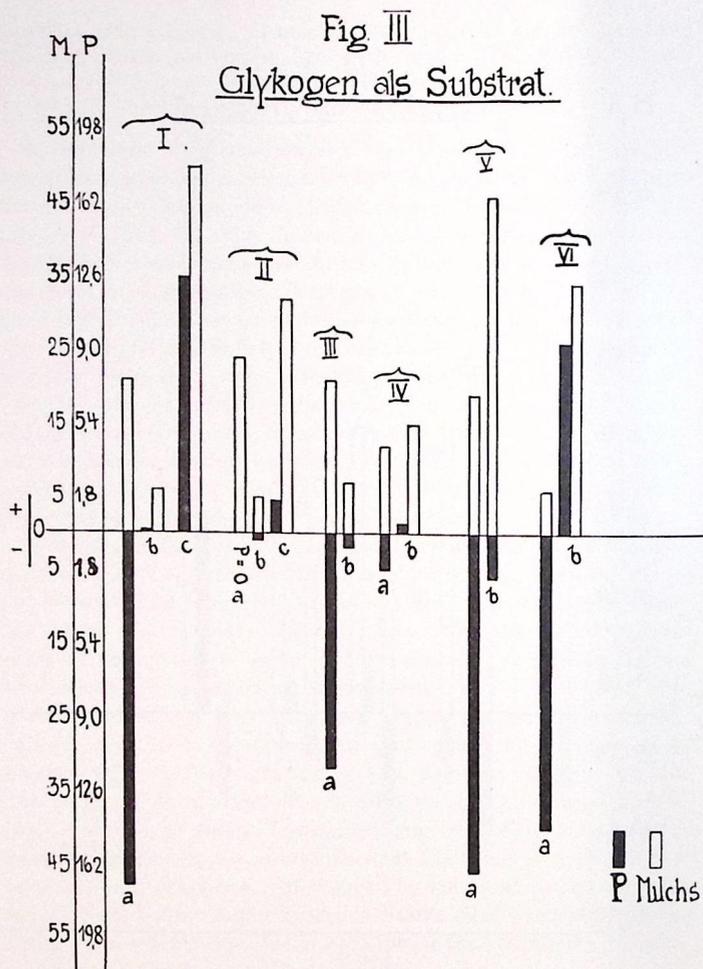


Fig. III.

1. Periode : Ia = 7, IIa = 6, IIIa = 5, IVa = 6, Va = 6,  
 VIa = 5, VIIa = 5 Stdn. 37°.
2. Periode : Ib = 1, IIb = 1, IIIb = 2½, IVb = 4, Vb = 4  
 VIb = 5, VIIb = 5 Stdn. 37°.
3. Periode : Ic = 4, IIc = 5 Stdn. 37°.

Ansatz IV enthielt 5, die übrigen Ansätze enthielten 25 mg% P.

nahm (pro 100 ccm Versuchslösung) das anorgan. P mit Glukose um 1,15, Fruktose 1,28 und mit Glykogen um 5 mg ab. In denselben Versuchen wurden mit Glukose 20,3, Fruktose 21,2 und mit Glykogen 18,4 mg Milchsäure gebildet. Es wird also eine wesentlich stärkere Phosphatbindung mit Glykogen als Substrat beobachtet als mit den beiden Hexosen, trotzdem sich Glykogen keineswegs als überlegenes Substrat der Milchsäurebildung erweist.

Die Linse gehört — wie früher (1) hinsichtlich der Phosphatveresterung und hier auch für die Milchsäurebildung gezeigt wurde, zu den Geweben, die Glukose ebensogut zu verwerten vermögen wie Glykogen. (Die Glykogenverwertung kann nur mit Linsenextrakten beobachtet werden (1) da die Linsenkapsel für das Polysaccharid impermeabel ist). Muskelextrakt vermag dagegen aus den Hexosen im allgemeinen nur geringfügige Mengen Milchsäure zu bilden, in bedeutend stärkerem Masse aber aus Glykogen und Stärke. Nach Zusatz eines in der Hefe vorhandenen Enzyms, der *Hexokinase* von MEYERHOF (11), ist auch Muskelextrakt zu einem kräftigen glykolytischen Abbau der freien Hexosen befähigt; hierbei findet eine starke Phosphatveresterung statt. Die Hexokinase wirkt als umphosphorylierendes Enzym, d.h. es bewirkt die Uebertragung von Phosphatgruppen von Adenylphosphorsäureverbindungen auf das Hexosemolekül. Es war nun von Interesse, zu sehen, ob die Glukoseverwertung (sowohl Veresterung mit Phosphorsäure als Umwandlung in Milchsäure) im Linsenextrakt durch Zusatz des aus Hefe dargestellten Aktivators gesteigert werden kann. Das ist, wie der in Fig. IV dargestellte Versuch zeigt, in ausgesprochenem Masse der Fall. Nach Hexokinase-Zusatz verschwindet rund 20 mal mehr anorganisches Phosphat als in dem Versuch ohne Aktivator, gleichzeitig ist die Milchsäurebildung bei Gegenwart von Hexokinase auf das 15 fache des Vergleichsversuchs gestiegen. Hier zeigt sich eindrucksvoll die Verknüpfung zwischen Phosphatbindung und Glykolyse: Förderung des ersten Prozesses durch Zugabe von Hexokinase bewirkt eine etwa ebenso starke Förderung der Milchsäurebildung.

Wir haben in einigen Versuchen die Milchsäurebildung aus *Hexosediphosphorsäure* und *Hexosemonophosphorsäure* (Embden-

Fig. IV

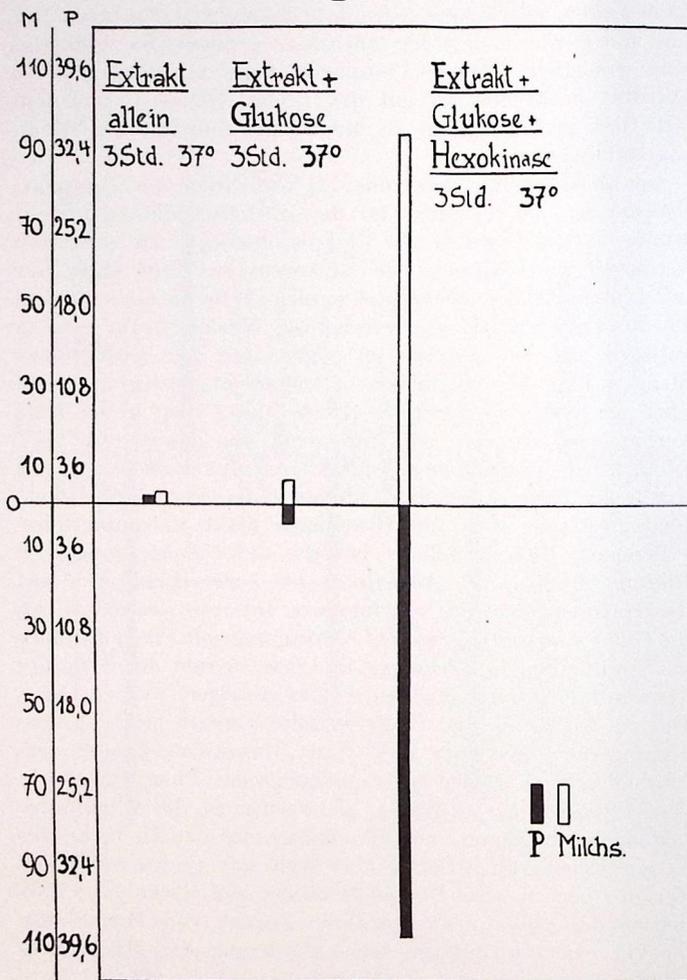


Fig. IV.

Einfluss von Hexokinase auf Phosphatveresterung und Milchsäurebildung in Linsenextrakt.

Extrakt aus Kälberlinsen 1:1. Ansätze: 3 cem Extrakt + 3 cem Zusätze enthaltend: 0,5 cem m/5 Phosphat pH 7,15 (in allen Versuchen), 50 mg Glukose, 0,5 cem Hexokinase (entspr. 5g Hefe). Toluol. Inkubation: 3 Stdn. 37°. Berechnungen in mg auf 100 cem Versuchslösung.

TABELLE II. — Milchsäurebildung im Linsenextrakt  
aus Hexosemonophosphorsäure und Hexosediphosphorsäure

Zu 5 ccm Extrakt wurde eine etwa 1,5 mg P entsprechende Estermenge gegeben. Berechnung der gebildeten Menge Milchsäure auf 100 ccm Extrakt.

Extrakt aus	Extrakt-Verd. im Ansatz	Substrat	Versuchszeit (Std.) 37°	Gebildete Milchsäure mg
Kälberlinsen	1 : 1	Embden-Ester	4	32,8
Rinderlinsen	1 : 1,5	»	5	26,7
Kälberlinsen	1 : 1,5	Hexose-diphosphors.	13	81,5
»	1 : 1	»	4	26,9
Rinderlinsen	1 : 1	»	6	32,7

Ester) untersucht (Tabelle II). Beide Ester sind für das glykolytische Fermentensystem des Linsenextrakts ausgezeichnete Substrate; sie führen unter unseren Versuchsbedingungen zu einer etwa gleich grossen Milchsäurebildung wie Glukose und Glykogen.

## ANHANG

### 3. Versuche zum Nachweis von Glykogen in der Linse

Die Frage, ob in der Linse Glykogen vorkommt, ist unseres Wissens noch nicht eindeutig entschieden worden. In manchen Arbeiten findet sich ohne Begründung die Annahme, dass die Linse Glykogen enthält. Aus einer Angabe von LEBER (12), die sich auf die Indiffusibilität von Glykogen in die Linse bezieht, kann vielleicht geschlossen werden, dass ihm der Nachweis von Glykogen in der Linse nicht gelang (vgl. auch das Zitat bei KRAUSE (13), S. 205). Jedoch ist das nicht eindeutig ausgesprochen. Mit histologischer Technik wurde Glykogen in kataraktösen Linsen anscheinend nachgewiesen. Die Entscheidung der Frage, ob die normale Linse Glykogen enthält, scheint uns aus mehreren Gründen wichtig : einmal für die Kenntnis des Kohlehydratstoffwechsels in diesem

Gewebe, dann aber auch für den Mechanismus des Kohlehydratstoffwechsels in tierischen Geweben überhaupt. Es betrifft dies das Problem, ob der Kohlehydratabbau obligat über Glykogen führt [vgl. WILLSTÄTTER und ROHDEWALD (14)]. Etwa in der Linse sich findendes Glykogen kann nicht von aussen zugeführt sein, da Glykogen — wie auf verschiedene Weise nachgewiesen wurde [LEBER (12), SÜLLMANN (1)] — nicht in die Linse einzudringen vermag; es müsste also in der Linse selbst gebildet worden sein.

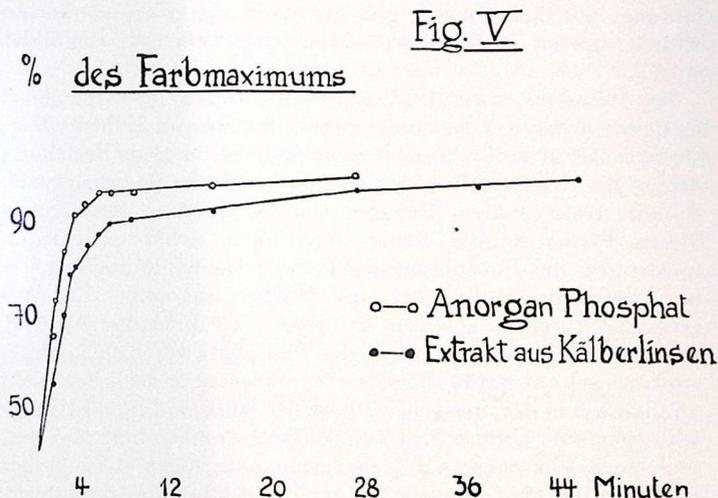
Wir suchten mit Hilfe der *Pflüger*'schen Methode in normalen Rinderlinsen Glykogen nachzuweisen. In Zusatzversuchen, in denen wir 20 mg Glykogen zu 50 g Rinderlinsenbrei hinzugaben, gelang der Nachweis ohne weiteres. In zwei Versuchen mit je 25 g Rinder- bzw. Kälberlinsen fiel die Probe auf Glykogen *negativ* aus. Es ist somit wahrscheinlich, dass die normale Linse kein Glykogen enthält. Diese Frage soll mit verfeinerter Methodik gelegentlich weiter verfolgt werden.

#### 4. Versuche zum Nachweis von Kreatinphosphorsäure in der Linse

In den glykolytischen Prozess des Muskels ist die Kreatinphosphorsäure eingeschaltet; sie bildet eine Phosphatreserve für das Adenylsäuresystem (*Parnas*). Es scheint deshalb wünschenswert, eine Orientierung darüber zu erhalten, ob und in welchen Mengen die Linse Kreatinphosphorsäure enthält. KRAUSE (13) (S. 206) gibt für Rinderlinsen einen Gehalt von etwa 28 mg% *Kreatin* an.

Bei der üblichen Phosphatbestimmung in saurer Molybdatlösung wird etwa vorhandene Kreatinphosphorsäure zusammen mit dem anorganischen Phosphat bestimmt. Eine getrennte Bestimmung von anorgan. P und von Kreatinphosphorsäure-P kann entweder als Differenzbestimmung geschehen, indem die anorganische Phosphorsäure durch Ausfällung für sich bestimmt wird, oder, indem man in der Molybdatlösung die Farbentwicklung verfolgt, die mit zunehmendem Zerfall der Kreatinphosphorsäure zunimmt [EGGLETON u. EGGLETON (15)]. Ist Kreatinphosphorsäure vorhanden, so muss bei der zeitlichen Verfolgung der Farbentwicklung diese gegenüber einer Lösung, die nur anorganisches Phosphat enthält, verzögert sein. Auf

diese Weise suchten wir eine Orientierung darüber zu erhalten, ob in der Linse Kreatinphosphorsäure vorhanden ist. In Fig. V sind die entsprechenden Kurven dargestellt. Es ergibt sich aus ihnen, dass die Farbentwicklung in den Versuchen mit Linsen deutlich verzögert ist. Danach enthält die Linse eine in Molybdatlösung leicht zerfallende Phosphatverbindung, die wahrschein-



lich Kreatinphosphorsäure ist. *Schätzungsweise* beträgt der Gehalt an Kreatinphosphorsäure 5-10% des anorgan. P oder 1-2% des gesamten säurelöslichen P der Linse. (Im Froschmuskel liegen etwa 50% des säurelöslichen Phosphats als Kreatinphosphorsäure vor).

#### BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen eine Koordination von Phosphatumsatz und Milchsäurebildung in der Rinderlinse und in Linsenextrakten: Zusatz von Phosphat zur Aussenlösung bewirkt eine vermehrte Milchsäurebildung durch die iso-

lierte Linse ; in Linsenextrakten findet mit der Milchsäurebildung eine Vermehrung anorganischen Phosphats statt ; Glykogen oder Glukose führen in Linsenextrakten zu einer Phosphatbindung und zu einer gegenüber den Extrakten ohne Substratzusatz vermehrten Glykolyse ; Hexokinase bewirkt mit Linsenextrakten eine bedeutende Phosphatveresterung und zugleich eine etwa gleich starke Erhöhung der Milchsäurebildung. Endlich wurde gezeigt, dass aus phosphorylierten Kohlehydraten in Linsenextrakten leicht Milchsäure gebildet wird.

Der Phosphatumzatz tritt in der Linse und in Linsenextrakten so deutlich hervor, dass an seiner Teilnahme am Kohlehydratstoffwechsel in der Linse nicht zu zweifeln ist. In dieser Beziehung liegen die Verhältnisse bei einigen anderen Geweben (z.B. Tumor, embryonalem Gewebe, Gehirn) nicht so günstig ; in diesen Fällen konnte daher noch nicht sicher entschieden werden, ob der Phosphorsäure eine so bedeutende Stellung wie im Kohlehydratstoffwechsel des Muskels zukommt (Ein eingehender Vergleich soll von uns jetzt noch nicht durchgeführt werden). Was die Beteiligung des Phosphats am Kohlehydratstoffwechsel anbetrifft liegen die Verhältnisse in der Linse wohl ähnlich wie in der anaeroben Phase des Muskels. Linsenextrakte vermögen zum Unterschied von Muskelextrakten freie Hexosen (vgl. auch SÜLLMANN (16)) ebensogut oder sogar etwas besser zu verwerten als Glykogen. In der Linse führt die Glukoseverwertung wahrscheinlich nicht über Glykogen. Hierfür sprechen auch — allerdings nicht in entscheidender Weise — unsere negativ verlaufenen Versuche zum Nachweis von Glykogen in der normalen Linse.

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Phosphat fördert die Milchsäurebildung aus Glukose in der isolierten Linse.
2. Im Linsenextrakt ohne Substratzusatz findet, einhergehend mit der Dephosphorylierung organischen Phosphats, Milchsäurebildung statt.
3. Bei Zusatz von Glukose oder Glykogen zu Linsenextrakten findet eine Phosphatbindung statt ; gleichzeitig ist die Milch-

säurebildung stark vermehrt. Die Phosphatbindung ist mit Glykogen grösser als mit Glukose; hinsichtlich der Milchsäurebildung sind beide Substrate etwa gleichwertig.

4. Hexokinase steigert in Linsenextrakten mit Glukose sowohl die Phosphatbindung als auch die Milchsäurebildung bedeutend.

5. Hexosemonophosphat und Hexosediphosphat können in Linsenextrakten als Substrate der Glykolyse dienen.

6. Die Ergebnisse führen zu dem Schluss, dass — ähnlich wie im Muskel — die Milchsäurebildung in der Linse im wesentlichen mit dem Phosphatstoffwechsel verknüpft ist.

7. In der Rinderlinse konnte chemisch kein Glykogen nachgewiesen werden. Nach dem Verlauf der « Kurve der Farbentwicklung » zu urteilen, sind in der Linse geringe Mengen Phosphokreatin vorhanden.

#### LITERATUR

1. H. SÜLLMANN. — *Arch. Augenh.*, **110**, 303 (1937).
2. H. K. MÜLLER. — *Ebenda*, **109**, 434-498 (1935); **110**, 128 (1936).
3. J. NEEDHAM und Mitarbeiter. — *Biochem. J.*, **31**, 1165-1254 (1937).
4. Vgl. A. BAKKER. — *Graefe's Arch.*, **135**, 581 (1936).
5. B. MENDEL u. J. GOLDSCHIEDER. — *Biochem. Z.*, **164**, 163 (1925).
6. R. WEEKERS. — *Archives d'Ophthalm. N. S.*, **1**, 707 (1937).
7. T. E. FRIEDEMANN, M. COTONIO und P. A. SHAFFER. — *Journ. biol. Chem.* **73**, 335 (1927).
8. H. LIEB u. M. K. ZACHERL. — *Hoppe-Seylers Z.*, **211**, 211 (1932).
9. G. AHLGREN. — *Acta Ophthalm.*, **5**, 1 (1927).
10. G. EMBDEN, Ff. KALBERLAH u. H. ENGEL. — *Biochem Z.*, **45**, 45 (1912).
11. O. MEYERHOF. — *Ebenda*, **183**, 176 (1927).
12. A. T. LEBER. — *Graefes' Arch.*, **62**, 85 (1906).
13. A. C. KRAUSE. — *The biochemistry of the eye*, Baltimore, 1934.
14. R. WILLSTÄTTER u. M. ROHDEWALD. — *Hoppe-Seyler's Z.*, **247**, 269 (1937).
15. Ph. EGGLETON u. G. P. EGGLETON. — *Journ. of Physiol.*, **63**, 155 (1927); **68**, 193 (1929).
16. H. SÜLLMANN. — *Biochem. Z.*, **296**, 325 (1938).