

Die räumliche Ordnung der Stoffwechselprozesse im Metazoenorganismus

KLAUS URICH

II. Zoologisches Institut der Freien Universität Berlin

ABSTRACT: The spatial pattern of metabolism in the metazoan organism. After absorption most food substances are converted into numerous metabolic products. The quantitative proportions of these products are controlled not only by intracellular but also by extracellular mechanisms. The extracellular regulation of metabolism may be effected by uneven distribution of metabolites within the body. The various organs of a metazoan differ in enzyme equipment and accordingly in direction of metabolism. Mechanisms which influence the distribution of metabolites among different tissues will thus modify the proportions of metabolic products. Under defined physiological conditions there is a specific spatial pattern of metabolism. This pattern may be studied (1) by comparing reaction velocities or enzyme activities in the various organs or (2) by directly observing the distribution and conversion of metabolites with the aid of radioactive tracers. Both methods support each other. The spatial pattern of metabolism is known to a certain degree only for mammals. Thus we have recently begun corresponding studies on the earthworm *Lumbricus terrestris*, the snail *Helix pomatia* and the crayfish *Cambarus affinis*. Some results of the investigations are described in this paper: (1) The synthesis of hemoglobin in the earthworm probably takes place in the chloragogenous tissue (DELKESKAMP, unpubl.). (2) The endogenous respiration of the various tissues of the earthworm has been determined (URICH, unpubl.; cf. Fig. 1b). (3) The activities of some enzymes of glycolysis, pentose phosphate shunt and tricarboxylic acid cycle have been measured in the various organs of the crayfish (KELLER, unpubl.; cf. Fig. 2).

Die meisten mit der Nahrung aufgenommenen Substanzen werden in den Organismen auf mannigfaltige Weise chemisch umgewandelt. So entsteht aus einem Nährstoff eine große Zahl von Produkten. Die qualitativen Aspekte dieser Stoffumwandlungen, die Wege, auf denen diese Produkte gebildet werden, sind heute in vielen Fällen gut bekannt. Hier interessieren jedoch die quantitativen Gesichtspunkte, die Frage nach dem Mengenverhältnis der verschiedenartigen Zwischen- und Endprodukte und die Frage, warum unter bestimmten physiologischen Bedingungen gerade ein bestimmtes Mengenverhältnis dieser Produkte zustande kommt.

Eine bedeutende Rolle spielen hier intrazelluläre Steuerungsmechanismen, die vermutlich bei allen Organismen prinzipiell übereinstimmen und heute ein beliebtes Thema der allgemeinen Biochemie sind. Zweifellos gibt es jedoch bei den Metazoen außerdem extrazelluläre Steuerungsmechanismen, deren Natur aus folgenden Überlegungen hervorgeht: Die verschieden differenzierten Zellen eines Metazoenorganismus zeigen zumeist Unterschiede in ihrer Enzymausstattung. Dementsprechend ist die Richtung der Stoffwechselprozesse und das Mengenverhältnis der gebildeten Produkte in

den einzelnen Geweben unterschiedlich. Das Schicksal der Nährstoffe im Metazoenorganismus wird also wesentlich bestimmt durch deren Verteilung auf die verschiedenen Gewebe oder Organe. Mechanismen, welche diese Verteilung beeinflussen, wie z. B. Kreislaufregulationen oder Veränderungen der Zellpermeabilität, steuern damit auch das Schicksal der Nährstoffe im Körper. Zu dem zeitlichen Nacheinander der chemischen Reaktionen kommt eine räumliche Ordnung der Stoffwechselprozesse hinzu.

Im Gegensatz zu den intrazellulären Mechanismen der Stoffwechselsteuerung dürfte die räumliche Ordnung der Stoffwechselprozesse in den verschiedenen Gruppen des Tierreichs sehr unterschiedlich sein. Ihre Erforschung ist also ein echtes Anliegen der vergleichenden Stoffwechselphysiologie.

Während für die Wirbeltiere, insbesondere die Säugetiere, diese räumliche Ordnung wenigstens in den Grundzügen bekannt ist, gibt es entsprechende Kenntnisse noch für keinen der sog. Wirbellosen. Wir haben daher begonnen, drei repräsentative Vertreter verschiedener Tierstämme in diesem Sinne zu untersuchen: den Regenwurm *Lumbricus terrestris*, den Flußkrebis *Cambarus affinis* und die Weinbergschnecke *Helix pomatia*. Es ist geplant, noch einen Seestern in dieses Programm aufzunehmen.

Zur Erforschung der räumlichen Ordnung des Stoffwechsels stehen zwei Methoden zur Verfügung: Erstens kann man Reaktionsgeschwindigkeiten bzw. Enzymaktivitäten in den verschiedenen Organen eines Organismus durch Versuche *in vitro* vergleichen und so zur Aufstellung von Prozeß- bzw. Enzymmustern kommen. Zweitens kann man die Verteilung aufgenommener Nährstoffe im Körper und ihre chemischen Umsetzungen mit Hilfe radioaktiver Tracer *in vivo* direkt verfolgen.

Beide Verfahren ergänzen einander: Das Schicksal der tracer-markierten Nährstoffe wird erst verständlich, wenn die Verteilungsmuster der beteiligten Enzyme bekannt sind; Schlußfolgerungen aus den Enzymmessungen müssen hypothetisch bleiben, solange sie nicht durch Tracerversuche *in vivo* bestätigt sind. Eine beträchtliche Schwierigkeit insbesondere bei den Versuchen *in vivo* liegt darin, daß die räumliche Ordnung nicht stabil sein dürfte, sondern regulatorischen Veränderungen unterliegt. Da uns bis vor kurzem noch kein Isotopenlaboratorium zur Verfügung stand, beruhen unsere bisherigen Ergebnisse nur auf Messungen von Umsatzraten und Enzymaktivitäten *in vitro*.

Enzymverteilungsmuster sind leicht zu deuten in jenen extremen Fällen, in denen ein Enzym ganz oder überwiegend auf ein Organ oder Gewebe beschränkt ist. Die Literatur verzeichnet hierzu zahlreiche Beispiele, darunter auch einige für unsere Objekte. So findet man bei *Lumbricus* Arginaseaktivität vorwiegend in den Geweben der Darmwand (NEEDHAM 1962); dort wird auch das Serinäthanolamin-phosphat gebildet, eine Vorstufe des Regenwurm-Phosphagens Lombricin (ROSSITER et al. 1960); bei *Helix* erfolgt die Harnsäuresynthese ausschließlich in der Mitteldarmdrüse (WOLF 1933, BALDWIN & NEEDHAM 1934). In unserem Institut konnte Fr. DELKESKAMP vor kurzem wahrscheinlich machen, daß bei *Lumbricus* das Chloragog Ort der Hämoglobinsynthese ist. Hierfür sprechen der hohe Gehalt dieses Gewebes an Eisen und Koproporphyrin, vor allem aber die Tatsache, daß die Porphyrinbildung aus Porphobilinogen hier 20mal rascher abläuft als in den übrigen Geweben (DELKESKAMP, unpubliziert).

Interessant sind jene Fälle, in denen die einzelnen Schritte eines Reaktionsablaufes

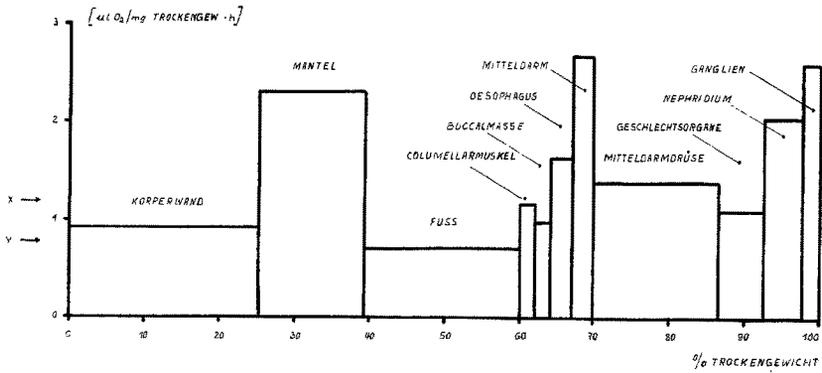


Abb. 1a

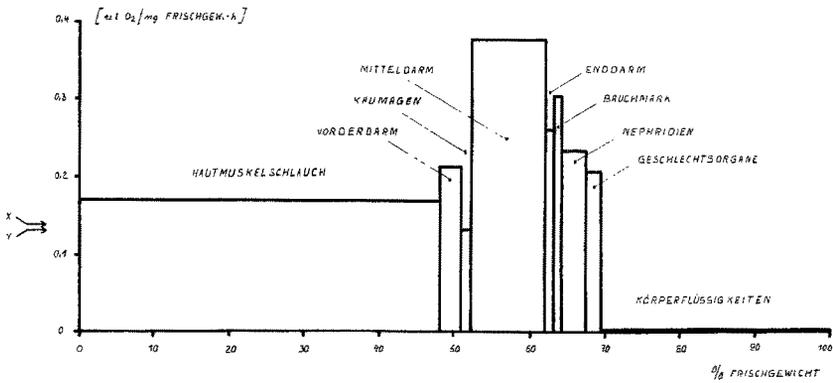


Abb. 1b

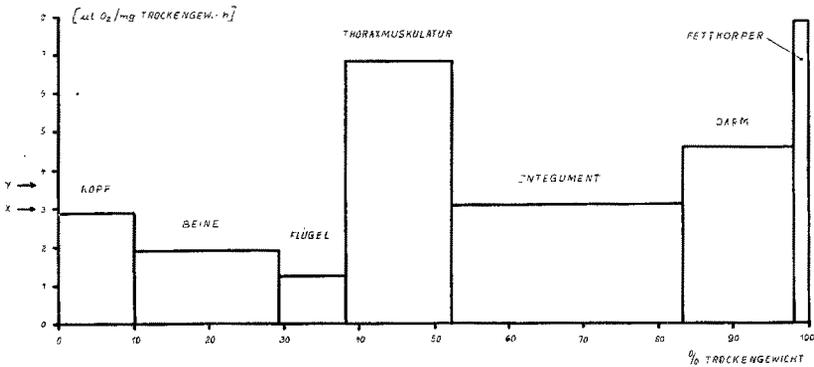


Abb. 1c

Abb. 1: O₂-Verbrauch isolierter Organe; a *Helix pomatia* (nach KERKUT & LAVERACK 1957, Tier Nr. 4); b *Lumbricus terrestris* (URICH, unpubliziert); c *Schistocerca gregaria* (nach BELLAMY 1958). X = mittlerer O₂-Verbrauch aller Gewebe, Y = O₂-Verbrauch des lebenden Tieres

auf verschiedene Organe verteilt sind. Ein Beispiel hierfür liefert die Fructose im Foetalblut der Ungulaten, an deren Bildung nach HERS (1960) Placenta und Leber des Muttertiers beteiligt sind. In der Placenta wird Glucose zu Sorbit reduziert, dieser wird auf dem Blutwege zur Leber transportiert und dort zu Fructose umgewandelt. Die Fructose gelangt dann zurück zur Placenta und durch diese in das Foetalblut.

Am schwierigsten sind jene Fälle zu deuten, in denen nur geringere quantitative Unterschiede zwischen den einzelnen Geweben bestehen, wie z. B. bei den Prozessen des Energiehaushalts. So ergibt der Vergleich der endogenen Atmung in den verschiedenen Organen interessante Muster, deren Interpretation als Ausdruck verschiedenartiger Stoffwechselaktivitäten allerdings problematisch ist. Solche Messungen wurden z. B. von KERRUT & LAVERACK (1957) an *Helix pomatia* und von uns (URICH, unpubliziert) an *Lumbricus terrestris* durchgeführt (Abb. 1a u. b). Als Kriterium dafür, ob die in vitro gefundenen Relationen zwischen den Organen den Verhältnissen in vivo entsprechen, kann man die Summe des O₂-Verbrauchs in den einzelnen Organen mit der Atmung des lebenden Tieres vergleichen. KERRUT & LAVERACK fanden die summierte Gewebsatmung bei *Helix* meist höher als den allerdings stark schwankenden O₂-Verbrauch der intakten Schnecke. Bei *Lumbricus* und der von BELLAMY (1958) untersuchten Wüstenheuschrecke *Schistocerca gregaria* (Abb. 1c) stimmen jedoch summierte Gewebsatmung und Ruheatmung des intakten Tieres besser überein.

An den Atmungsmustern ist auffallend, daß von den Organen, für die zentrale Stoffwechselfunktionen analog der Wirbeltierleber postuliert wurden (URICH 1961), nur der Fettkörper extrem hohe endogene Atmung zeigt (Abb. 1c), nicht aber Mitteldarmdrüse (Abb. 1a) und Chloragog (0,24 µl O₂/mg Frischgew. · h; in Abb. 1b nicht eingetragen).

Noch komplizierter ist das Bild, das man von der Verteilung der einzelnen Enzyme des Glucoseabbaus und des Citronensäurecyclus erhält. Die in Abbildung 2 dargestellten Daten beruhen auf Messungen, die mein Mitarbeiter KELLER an Männchen des Flußkrebse *Cambarus affinis* durchgeführt hat (KELLER, unpubliziert). Diese Enzymmuster regen zu mannigfachen Betrachtungen und Spekulationen an. Zum Beispiel ist auffallend, daß im gleichen Reaktionsablauf wirkende Enzyme wie Aldolase und Lactat-DH oder „condensing enzyme“, Isocitrat- und Malat-DH sehr verschiedene absolute Aktivitäten besitzen, wie aus den unterschiedlichen Maßstäben der Abbildung hervorgeht. Zur Erklärung dieses Phänomens ist an unterschiedliche Substrataffinität der Enzyme bzw. unterschiedliche stationäre Substratkonzentrationen zu denken; auch könnten strukturell gebundene Enzyme für die Metabolite verschieden leicht zugänglich sein. Es ist vielleicht richtig, für unsere Zwecke dem Verteilungsmuster größere Aufmerksamkeit zu schenken als den Absolutaktivitäten.

Auch diese Verteilungsmuster zeigen jedoch Eigentümlichkeiten und scheinbare Widersprüche. So übertreffen beispielsweise Antennendrüse und Gonade alle anderen Organe in der Aktivität der Glucose-6-Phosphat-DH; es findet also offenbar in beiden ein rascher Umsatz von Glucose-6-Phosphat im Pentose-phosphat-Cyklus statt. Im Falle des Hodens ist dies wohl als Ausdruck intensiver Nucleinsäuresynthese zu deuten. Beide Organe unterscheiden sich jedoch erheblich in ihrer Hexokinaseaktivität, also in der Fähigkeit, Glucose-6-Phosphat durch Phosphorylierung von Glucose zur Verfügung zu stellen. Die Vermutung liegt nahe, daß im Hoden Glucose-6-Phosphat durch

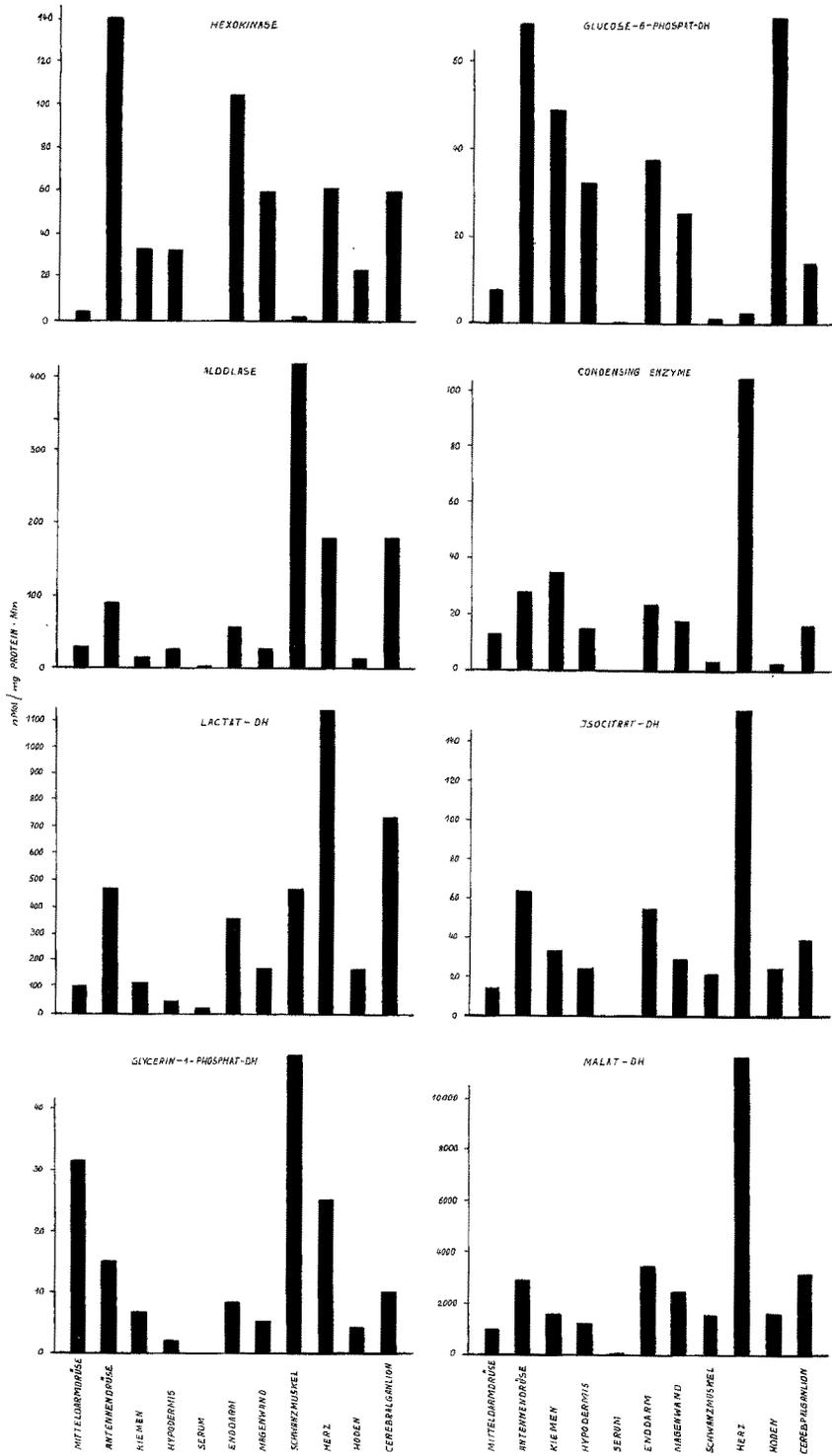


Abb. 2: Spezifische Aktivitäten von Enzymen der Glykose, des Pentosephosphat-weges und des Citronensäurecyclus in den Organen von *Cambarus affinis* (KELLER, unpubl.)

andere Reaktionen, z. B. durch Phosphorolyse von Glykogen zur Verfügung gestellt wird. Die Aktivität der Phosphoglucomutase im Hoden ist jedoch relativ niedrig (25 nMol/mg Protein · min). Es wäre ferner denkbar, daß der Hoden exogenes Glucose-6-phosphat aufnimmt. Tatsächlich wurde im Blut des *Cambarus*-Verwandten *Orconectes virilis* von McWHINNIE & SALLER (1960) Glucose-6-Phosphat nachgewiesen. KELLER stellte fest, daß in Hoden-Homogenaten Glucose die Atmung um 5 %, Glucose-6-phosphat signifikant höher um 13 % steigert; in Homogenaten der Antennendrüse wirken beide Substrate in gleichem Maße atmungssteigernd. Die Atmung intakter Hodenzellen wird jedoch durch Glucose-6-phosphat nicht signifikant erhöht.

Der Schwanzmuskel besitzt zwar eine extrem hohe Aldolaseaktivität, aber – verglichen z. B. mit dem Herzmuskel – nur sehr wenig Hexokinase. Der im Schwanzmuskel zweifellos bedeutsame glykolytische Kohlenhydratabbau kann also offenbar nur vom Glykogen ausgehen, während der Herzmuskel auch Glucose zu verwerten vermag. Die Aktivität der Phosphoglucomutase ist dementsprechend im Schwanzmuskel mit 146 nMol/mg Protein · min wesentlich höher als im Herzen (66 nMol/mg Protein · min).

Auffällig ist schließlich die hohe Aktivität der Lactat-DH im Herzen. Wie aus der hohen Aktivität der Enzyme des Citronensäurecyclus hervorgeht, hat das Herz offenbar einen vorwiegend oxydativen Stoffwechsel. Vielleicht repräsentiert die Aktivität der Lactat-DH hier nicht wie in den anderen Organen die Fähigkeit zur Glykolyse, also Lactatbildung, sondern im Gegenteil das Vermögen, Lactat in Pyruvat umzuwandeln und in den Citronensäurecyclus einzuschleusen. In Warburgversuchen mit Homogenaten ergab Lactatzusatz nur bei Mitteldarmdrüse und Herz eine Atmungssteigerung; bei anderen Organen wirkt Lactat sogar hemmend. In Zupfpräparaten des Krebsherzens sind infolge der Kontraktion der Muskulatur die Diffusionsbedingungen sehr schlecht; die endogene Atmung solcher Präparate ist auffallend gering und kann durch Lactatzusatz nicht signifikant gesteigert werden.

Selbstverständlich sind solche Betrachtungen spekulativ. Sie werden in dem Maße an Zuverlässigkeit gewinnen, in dem das Bild der räumlichen Ordnung des Stoffwechsels sich abrundet. Hierzu wird es notwendig sein, Daten für möglichst viele Prozesse und Enzyme zu sammeln und diese durch Versuche in vivo mit radioaktiv markierten Substanzen zu ergänzen. Es scheint mir wünschenswert, in vergleichend-biochemischen Arbeiten der Frage nach den Unterschieden der einzelnen Organe mehr Beachtung zu schenken, als dies bisher zumeist geschieht.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird ein Arbeitsprogramm zur Erforschung der räumlichen Ordnung der Stoffwechselprozesse im Körper von drei repräsentativen Vertretern verschiedener Tierstämme dargestellt und mit Literaturdaten und Untersuchungsergebnissen aus dem Institut des Verfassers illustriert.
2. Wegen der unterschiedlichen Enzymausstattung der verschiedenen Organe hängen bei den Metazoen die Mengenverhältnisse der im Stoffwechsel gebildeten Produkte von der Verteilung der Nährstoffe im Körper ab.

3. Zur Erforschung der räumlichen Ordnung des Stoffwechsels stehen zwei Methoden zur Verfügung: *a*) Vergleich von Reaktionsgeschwindigkeiten bzw. Enzymaktivitäten in allen Organen eines Versuchstieres *in vitro*; *b*) Studium der Verteilung und Umwandlung radioaktiver Tracer *in vivo*.
4. Zur Illustration der unter 3a genannten Methode wird über folgende Untersuchungen berichtet: *a*) Eisen- und Porphyrinstoffwechsel bei *Lumbricus terrestris* (DELKESKAMP, unpubliziert); *b*) Endogene Gewebsatmung bei *Lumbricus terrestris* (URICH, unpubliziert; Abb. 1b); *c*) Enzyme der Glykolyse, des Pentose-phosphatweges und des Citronensäurecyclus in den Geweben von *Cambarus affinis* (KELLER, unpubliziert; Abb. 2).

ZITIERTE LITERATUR

- BALDWIN, E. & NEEDHAM, J. 1934. Problems of nitrogen catabolism in invertebrates: I. the snail (*Helix pomatia*). *Biochem. J.* **28**, 1372–1392.
- BELLAMY, D., 1958. The structure and metabolic properties of tissue preparations from *Schistocerca gregaria* (desert locust). *Biochem. J.* **70**, 580–589.
- DELKESKAMP, E., unpubliziert; erscheint voraussichtlich in *Z. vergl. Physiol.*
- HERS, H. G., 1960. Le mécanisme de la formation du fructose séminal et du fructose foetal. *Biochim. biophys. Acta* **37**, 127–138.
- KELLER, R., unpubliziert; erscheint voraussichtlich in *Z. vergl. Physiol.*
- KERKUT, G. A. & LAVERACK, M. S., 1957. The respiration of *Helix pomatia*, a balance sheet. *J. exp. Biol.* **34**, 97–105.
- MCWHINNIE, M. A. & SALLER, SR. P. N., 1960. Analysis of blood sugars in the crayfish, *Orconectes virilis*. *Comp. Biochem. Physiol.* **1**, 110–122.
- NEEDHAM, A. E., 1962. Distribution of arginase activity along the body of earthworms. *Comp. Biochem. Physiol.* **5**, 69–82.
- ROSSITER, R. J., GAFFNEY, T. J., ROSENBERG, H. & ENNOR, A. H., 1960. The formation *in vivo* of lombricine in the earthworm (*Megascolides cameroni*). *Biochem. J.* **76**, 603–610.
- URICH, K., 1961. Mitteldarmdrüsen und Insektenfettkörper als Zentralorgane des Stoffwechsels. *Ergebn. Biol.* **24**, 155–190.
- unpubliziert; erscheint voraussichtlich in *Z. vergl. Physiol.*
- WOLF, G., 1933. Die physiologische Chemie der nephridialen Stickstoffausscheidung bei *Helix pomatia* L. unter besonderer Berücksichtigung der Einflüsse des Sommer- und Winterstoffwechsels. *Z. vergl. Physiol.* **19**, 1–37.

Diskussion im Anschluß an den Vortrag URICH

PRECHT: Ich möchte darauf hinweisen, daß Messungen des O₂-Verbrauchs des Gewebes und von Fermentaktivitäten in Gewebshomogenisaten zwar zu den üblichen Methoden gehören, die auch wir laufend angewandt haben; dennoch dürfte der Aussagewert derartiger Messungen manchmal begrenzt sein, wenn man auf die Verhältnisse im Ganztier schließen will. Es gibt Tiere, bei denen der O₂-Verbrauch des Ganztieres und der des dominierenden Muskelgewebes eine stark ausgeprägte Leistungsadaptation im Sinne einer Kompensation zeigen (überwinternde Weinbergschnecken, Plötze, Bitterlinge, Silberorfen). Beim Grasfrosch und *Lumbriculus variegatus* ist jedoch beim O₂-Verbrauch des Gewebes im Gegensatz zu dem des Ganztieres keine Kompensation festzustellen. Bei den erstgenannten Fällen könnten Nachwirkungen von stoffwechselaktiven Hormonen vorliegen, deren Produktion von der Adaptationstemperatur abhängt. Bei der zweiten Tiergruppe bleibt zu untersuchen, ob übergeordnete Faktoren im Ganztier direkt auf das Gewebe einwirken und dessen O₂-Verbrauch beeinflussen, ohne daß

dies beim isoliert untersuchten Gewebe nachweisbar ist, da keine Nachwirkungen vorliegen. In die gleiche Richtung weisen Versuche mit Aalen, die für eine Woche und länger vorne und hinten unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt wurden. Das warmadaptierte Muskelgewebe verbraucht weniger O_2 als das der kaltadaptierten Enden. Es zeigte sich nun in neueren Versuchen von SCHULTZE, daß ganz kaltadaptierte Aale und andere, deren Vorderenden kalt- und deren Hinterenden warmadaptiert waren, unter gleichen Versuchsbedingungen als Ganztiere einen etwa gleichen O_2 -Verbrauch zeigten, da es nur auf den Adaptationszustand des Kopfendes (wahrscheinlich auf den des Atemzentrums im Nachhirn) ankommt und nicht auf den Verbrauch des isolierten Gewebes im Warburgapparat. Dort zeigte das Muskelgewebe der warmadaptierten Hinterenden unter gleichen Versuchsbedingungen einen geringeren O_2 -Verbrauch als das der kaltadaptierten.

URICH: Wir sind uns selbstverständlich darüber im klaren, daß in Homogenaten gemessene Enzymaktivitäten stets Maximalwerte sind und daher nur bedingt Rückschlüsse auf Umsatzraten in der lebenden Zelle zulassen. Solche Versuche bedürfen der Ergänzung durch Tracer-Experimente.

HORSTMANN: 1. Sie sprachen davon, daß das Blut des Flußkrebsses Glukose-6-Phosphat enthält. Vermuten Sie, daß im Hinblick auf die geringe Aktivität der Hexokinase im Hoden dieses Tieres Glukose-6-p durch die Zellmembranen dieses Organs permeieren kann? 2. Der Sauerstoffverbrauch des Hepatopankreas der Weinbergschnecke ist stark abhängig von Jahreszeit und Fütterungszustand. Unter welchen Bedingungen wurden die von Ihnen mitgeteilten Werte gewonnen? Wir fanden bei Sommertieren nach Hunger einen um etwa 50% höheren Q_{O_2} .

URICH: In unseren Warburg-Experimenten erhöhte Glucose-6-Phosphat zwar die Atmung von Hodenhomogenaten, nicht aber die intakter Hodenzellen. Danach erscheint Permeation von Glucose-6-Phosphat durch die Zellmembran unwahrscheinlich; immerhin wollen wir diese Frage noch in Tracer-Experimenten nachprüfen. – KERKUT und LAVERACK haben Hungertiere verwendet, die bei 2° – 5° C gehalten wurden, aber nicht eingedeckelt waren.

BULNHEIM: Lassen sich in den Organen der Warmblüter ebenfalls derart unterschiedliche Enzymmuster nachweisen?

URICH: Für Säugetiere enthält die Literatur zahlreiche Vergleiche von Umsatzraten und Enzymaktivitäten in verschiedenen Organen.