

Literatur

1. LÜHRS, W., a) Arch. Geschwulstforsch. 17, 222 (1961); b) Z. Naturforsch. 16b, 254 (1961); c) Krebsforschung und Krebsbekämpfung, 4. Sonderband, S. 111, Urban & Schwarzenberg, München/Berlin (1961). — 2. KREBS, H. A., 13. Nobelpreisträger-tagung, Lindau, 1.—5. 7. 1963, Proc. Roy. Soc. Edinburgh, ser. B 159, 545 (1964). — 3. WARBURG, O., Über den Stoffwechsel der Tumoren, Springer-Verlag Berlin (1926). — 4. WEBER, G. und A. CANTERO, Science 120, 851 (1954). — 5. a) WEBER, G. und J. ASHMORE, Exper. Cell. Res. 14, 226 (1958); b) WEBER, G. und A. CANTERO, Cancer Res. 19, 763 (1959). — 6. LOHMANN, K., Biochem. Z. 262, 137 (1933). — 7. ROCHE, J. und S. BOUCHILLOUX, Bull. Soc. Biol. 32, 739 (1950). — 8. LÜHRS, W., Therap. Gegenw. 99, 375 (1960). — 9. LEWIS, C., MOKRASCH und R. W. MCGILVER, J. biol. Chemistry 221, 221 (1956). — 10. BARKER, S. B. und W. H. SUMMERSON, J. biol. Chemistry 138, 535 (1941). — 11. PÜTTER, J., Therap. (Bayer) 32, 255 (1960).

Professor Dr. med. W. Lührs
8183 Rottach-Egern
Ringbergstr. 30

Anaerobe Glykolyse bei Ehrlich-Aszites-Tumorzellen

2. Mitteilung: Beeinflussung durch Antidiabetika

Von W. LÜHRS und K. CHROMETZKA¹⁾

Aus dem Sanatorium „Bergfrieden“ — Rottach-Egern der Arbeitsgemeinschaft für Krebsbekämpfung, Sitz Bochum — Ruhrknappschaft (Chefarzt: Prof. Dr. W. Lührs)

(Der Schriftleitung zugegangen am 16. Dezember 1963)

Zugabe von Insulin führt sowohl bei Aszites-Tumorzellen als auch bei humanem Karzinomgewebe bei gleichzeitiger Zugabe von Fruktose-1,6-Diphosphat zu einem Anstieg der anaeroben Glykolyse. Im Gegensatz dazu fand sich bei Zugabe von Sulfonylharnstoffen (Rastinon) eine deutliche Hemmung der Glykolyse bei Ehrlich-Aszites-Zellen, und zwar einmal bei Zugabe von Glukose allein und zum andern bei zusätzlicher Zugabe von Fruktose-1,6-Diphosphat. Die Biguanide waren in sämtlichen gleichartigen Versuchsansätzen wirkungslos.

The simultaneous addition of insulin and fructose-1,6-diphosphate causes an increase of anaerobic glycolysis in both asites tumour cells and human carcinoma tissue. On the other hand, the addition of sulphonylureas (rastinone) caused a marked inhibition of glycolysis in Ehrlich ascites cells, once with the addition only of glucose, but otherwise with the addition also of fructose-1,6-diphosphate. The biguanides were inactive in several similar experiments.

Mögliche Beeinflussung der Glukoneogenese führten uns (1) zu Untersuchungen mit den heute angewandten *Antidiabetika*. Diese Substanzen bedingen eine bessere Verwertung erhöhter Glukosemengen im Serum, z. B. von Diabetikern. Viele ältere und neuere klinische Arbeiten zeigen immer wieder, daß eine Verbindung zwischen Diabetes und Karzinom nicht häufig gefunden wird. So berichtete unter anderen WERNER (2), daß die Auswertung von über 25 000 Sektionsfällen eine signifikant geringere Häufigkeit diabetischer Karzinomträger gegenüber den Nichtdiabetikern ergeben hat. ROCKSTROH und SCHRÖTER (3) fanden bei der Auswertung von etwa 23 000 Sektionsprotokollen eine signifikante negative Syntropie der Krebshäufigkeit beim Diabetes mellitus.

Wenn ich aus meiner eigenen Erfahrung sprechen darf, so habe ich bei etwa 20 000 bisher beobachteten Krebsfällen nur beim hormonabhängigen Mamma-Karzinom in etwas häufigerer Kombination einen Diabetes gefunden. Bei den epithelialen Karzinomen anderer Lokalisation waren bei diesem Krankengut nicht mehr als 20 Einzelfälle in Kombination mit einem Diabetes.

Für den Wirkungsmechanismus des *Insulins* wird die Notwendigkeit einer Glukose-Verwertung in Muskulatur, Fettgewebe und Leber hervorgehoben. Die weiteren Wirkungen, wie Glykogen-, Fett- und Proteinsynthese sind wahrscheinlich nur Folgen der Glukoseutilisation. Die Insulinwirkung wird häufig als ein Membraneffekt angesehen, wobei Insulin den Eintritt der Glukose in die Zelle beschleunigt (LEVINE und GOLDSTEIN, 4). Hierbei scheint eine Wirkung auf die Hexokinase nicht unwesentlich zu sein. Denn andere Autoren messen der Aktivierung der Glukosephosphorylierung innerhalb der Zelle, also der Wirkung der Hexokinase-reaktion eine mindest ebenso große Bedeutung bei (5). In der Leberzelle, deren Membran für die Glukose wahrscheinlich frei durchlässig ist, kommt ein Membraneffekt nicht in Frage. Das Insulin könnte vorwiegend einen adaptiven Effekt auf Enzyme der Leberzelle haben, wodurch der verzögerte Wirkungseintritt erklärt wird (6). Allerdings ist gerade in den letzten Jahren eine aus-

Abkürzungen:

„F-6-P“ = Fruktose-6-phosphat

„FDP“ = Fruktose-1,6-diphosphat

„FDP-ase“ = Fruktose-1,6-diphosphatase

¹⁾ Teilergebnisse dieser Arbeit wurden auf dem Deutschen Krebskongreß 1963 in Mainz vorgetragen.

gedehnte Diskussion über einen eventuell zusätzlichen Momentaneffekt des Insulins auf die Glukoseabgabe der Leber entbrannt, die noch nicht entschieden ist (7, 8). Im Gegensatz zum Insulin zeigen die *Sulfonylharnstoffe* einen anderen Effekt. Sie scheinen auf latente Betazellen des Pankreas einzuwirken, da bereits drei Stunden nach der Verabreichung von Sulfonylharnstoffen der Insulin-gehalt in den Pankreas-Inselzellen wieder einen Normalwert erreicht. Es muß also noch Insulin in den „diabetischen“ Inselzellen vorhanden sein, das aktiviert wird. Man kann über die Wirkung der Sulfonylharnstoffe aussagen, daß die Betazellen auf einen erhöhten Blutzucker besser ansprechen und noch vorhandenes Insulin ausschütten, während sie vorher nicht auf periphere Anforderungen angesprochen haben. Diese experimentellen Ergebnisse lassen sich mit klinischen Erfahrungen gut vereinbaren (9).

Als dritte Gruppe haben wir die *Biguanide* herangezogen, obwohl der Wirkungsmechanismus gerade in bezug auf eine Diabetesbeeinflussung noch nicht aufgeklärt ist. Früher wurde der Effekt mit einer deutlichen toxischen Atmungsdepression erklärt. Neuere Untersuchungen von SADOW (10) zeigten, daß unter der Einwirkung der Biguanide eine gesteigerte Glukoseaufnahme *ohne* Atmungsdepression festzustellen war.

Innerhalb unserer Fragestellung war es interessant zu prüfen, inwieweit die obengenannten Antidiabetika Einfluß nehmen auf die anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen, wobei wir neben Glukose das Fruktose-6-phosphat („F-6-P“) und Fruktose-1,6-diphosphat („FDP“) als Substrat einsetzten. Weiterhin untersuchten wir, ob die FDP-ase neben ihrer Glykolysehemmung (30–60%) die Wirkung der Antidiabetika beeinflußt. Schließlich prüften wir die Einwirkung eines Biguanids „Silubin“ auf die Atmung der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen.

Methodik

Die Versuche mit Insulin wurden an Aszites-Tumorzellen bzw. an humanem Ovarialkarzinom in der *Warburg*-Apparatur unter anaeroben Bedingungen durchgeführt. Die anaerobe Milchsäurebildung wurde manometrisch nach WARBURG (11) bestimmt. Die Aszites-Tumorzellen wurden wie bereits beschrieben (1) präpariert und in den Hauptraum der Gefäße pipettiert. Das frisch herausoperierte Ovarialkarzinom wurde sofort in Ringerlösung aufgenommen und anschließend in dünne Scheiben geschnitten. Die Gewebeschnitte wurden in den Hauptraum der Gefäße gegeben. Pro Ansatz wurden 6–8 mg Gewebetrockengewicht verwendet.

Jeder Versuch bestand aus zwei Gefäßen mit gleichem Flüssigkeitsvolumen von je 3 ml. Als Inkubationsmedium diente ein Gemisch aus Ringer-Bikarbonatlösung ($\text{pH} \approx 7,3$). In die Gefäße wurden je nach Versuchsordnung 0,5 ml F-6-P bzw. 0,5 ml FDP-Lösung einpipettiert. Die Endkonzentration an F-6-P-Lösung betrug je Gefäß 13,0 μMol , an FDP-Lösung 10,0 μMol je Gefäß. Der Hauptraum der Gefäße enthielt je nach Versuchsordnung 1 E bzw. 2 E Insulin. Der Gasraum wurde mit einem Gasgemisch aus 5% CO_2 in 95% N_2 beschickt. Die Inkubationszeit betrug 60 Minuten, das Wasserbad hatte eine Temperatur von 37°.

Die Versuche mit Sulfonylharnstoff („Rastinon“) und Biguanid („Silubin“) wurden an Ehrlich-Aszites-Tumorzellen unter anaeroben Bedingungen in der *Warburg*-Apparatur durchgeführt. Die anaerobe Milchsäurebildung wurde nach BARKER und SUMMERSON (12) bestimmt.

Die Asziteszellen wurden wie bereits beschrieben (1) präpariert und in den Hauptraum der Gefäße pipettiert. Jeder Versuch bestand aus zwei Gefäßen mit gleichem Flüssigkeitsvolumen von je 3,1 ml. Das Inkubationsmedium bestand aus Ringer-Bikarbonat-Puffer ($\text{pH} = 7,4$). Für die jeweilige Versuchsordnung wurden Glukose bzw. F-6-P bzw. FDP als Substrat zugesetzt. Die Endkonzentrationen für Glukose bzw. F-6-P oder FDP betragen für die entsprechenden Ansätze 34,0 μMol bzw. 23,5 μMol bzw. 18,0 μMol .

Zu jedem Versuchsansatz wurden mit steigender Konzentration an Rastinon bzw. Silubin jeweils 0,5 ml Lösung in den Hauptraum der Gefäße pipettiert. — Die spezifische Aktivität des für die entsprechenden Versuchsordnungen hinzugefügten Fermentpräparates FDP-ase sowie die eingesetzte Menge der Fermentlösung, sind aus den Tabellen zu ersehen. Der Gasraum der Gefäße enthielt ein Gasgemisch aus 5% CO_2 und 95% N_2 bei 37° für 60 Minuten.

Neben der anaeroben Glykolyse wurde auch die *Atmung* der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen unter Zusatz von Silubin gemessen.

Die Messung erfolgte in einem Medium aus Phosphatpuffer (0,15 M; $\text{pH} = 7,4$), dem Glukose als Substrat zugesetzt wurde. Der Einsatz der Gefäße enthielt 0,2 ml 20-proz. KOH zur Absorption des entstandenen CO_2 . Das Flüssigkeitsvolumen in den Gefäßen betrug 3 ml.

Die in den Abbildungen sowie Tabellen angegebenen Werte für μMol gebildete Milchsäure beziehen sich auf 6–8 mg Zell- bzw. Gewebetrockengewicht/Ansatz. Die Ergebnisse zeigen die Mittelwerte aus zwei Versuchsansätzen.

Ergebnisse

Versuche mit Insulin

Im Versuchsansatz mit Glukose und Insulin konnte auch mit steigender Zugabe von Insulin kein Effekt auf

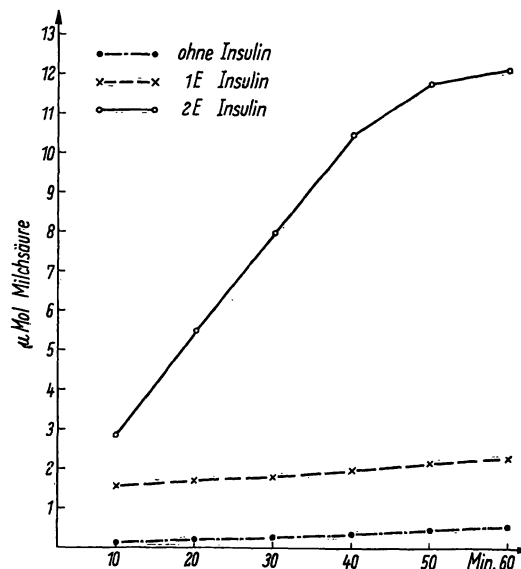


Abb. 1

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen mit und ohne Insulin

die Glykolyse der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen in der Warburg-Apparatur gesehen werden. SEELICH (13) erzielte gleiche Ergebnisse.

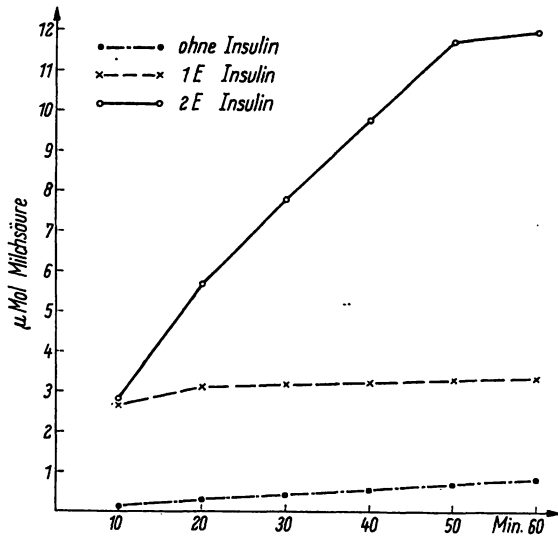


Abb. 2

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen mit und ohne Insulin

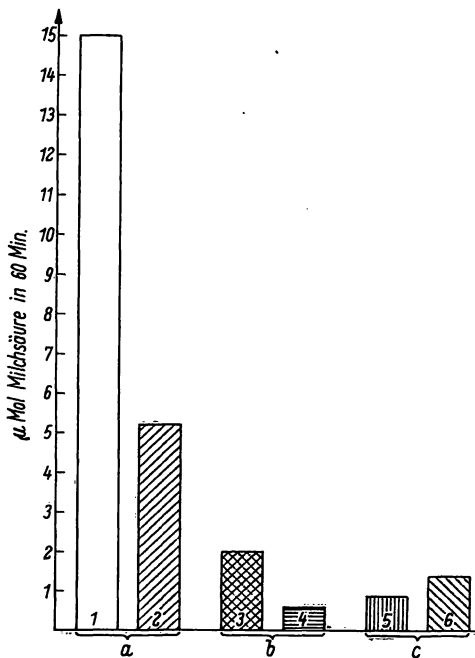


Abb. 3

a) Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen im Vergleich zur anaeroben Glykolyse vom cystischen Ovarial-Karzinom mit Glukose als Substrat

1. Ringer-Bikarbonat-Lösung + 5,4 mg Glukose/Gefäßinhalt, 6—8 mg Zelltrockengewicht
2. RBG, 6—8 mg Gewebetrockengewicht

b) desgl. mit FDP-tetra Cyclohexylammoniumsals als Substrat

3. Ringer-Bikarbonat-Lösung + 10 µMol FDP/Gefäßinhalt, 6—8 mg Zelltrockengewicht
4. RB-Lösung + 10 µMol FDP, 6—8 mg Gewebetrockengewicht

c) Einfluß von Insulin auf die anaerobe Glykolyse von cystischem Ovarial-Ca mit FDP-tetra-Cyclohexylammoniumsals als Substrat

5. RB-Lösung + 10 µMol FDP + 1 E Insulin
6. + 2 E Insulin

In gleicher Versuchsanordnung zeigten Zugaben von Glukose, Insulin und FDP-ase keinen Effekt.

Wurden im gleichen Versuchsansatz Insulin und FDP (Natriumsalz) zugegeben, fand sich eine deutliche Steigerung der Glykolyse schon bei Zugabe von zwei Einheiten Insulin. F-6-P als Bariumsals zeigte in der gleichen kombinierten Versuchsanordnung ebenfalls eine deutliche Steigerung der Glykolyse.

Im nächsten Versuch wurde frisch operiertes Material eines Ovarial-Karzinoms genommen, mit FDP als Tetracyclohexylammoniumsals und Insulin inkubiert. Es fand sich eine Steigerung der Glykolyse schon bei Zugabe von zwei Einheiten Insulin um das Doppelte.

Versuche mit Rastinin

Rastinin und Glukose zeigten mit laufender Erhöhung von Rastinin von zehn auf hundert µMol/Ansatz ein Absinken der Laktatbildung der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen von etwa 14 µMol auf etwa 9 µMol im Warburg-Apparat.

Tab. 1

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Rastinin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 34,0 µMol Glucose/Ansatz

Zugefügtes Rastinin (µMol)	Milchsäurebildung (in µMol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Rastinin
10		16,05
20		16,80
30		15,80
40		15,00
50	15,10	14,10
60		13,12
70		12,57
80		10,72
90		10,00
100	13,90	9,47

Rastinin und Glukose unter Zusatz von FDP-ase ließen trotz steigender Rastinin-Konzentration keine Glykolysehemmung auf Ehrlich-Aszites-Tumorzellen erkennen.

Tab. 2

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Fructose-1,6-diphosphatase und Rastinin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 34,0 µMol Glucose/Ansatz. Spez. Aktivität der FDP-ase: 29,47. Pro Ansatz wurden 0,1 ml FDP-ase-Lösung = 11,4 mg Protein eingesetzt

Zugefügtes Rastinin (µMol)	Milchsäurebildung (in µMol) von Asziteszellen in 60 Min.		
	Ohne Zusatz	Zusatz von FDP-ase	Zusatz von FDP-ase + Rastinin
10			11,45
20			10,93
30	16,95	10,88	10,52
40			12,14
50			10,73
60	17,02	11,35	10,09
70			11,21

Rastinon und F-6-P als Bariumsalz zeigte auch bei Zugabe von höheren Rastinonmengen *keine* Beeinflussung der Glykolyse.

Tab. 3

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Rastinon in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 23,5 μMol Fructose-6-phosphat (Bariumsalz)/Ansatz

Zugefügtes Rastinon (μMol)	Milchsäurebildung (in μMol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Rastinon
10		0,95
20		0,98
30	0,91	1,00
40		0,85
50		0,81
60	0,87	0,92
70		0,91

Rastinon und FDP als Tetracyclohexylammoniumsalz zeigte bei zunehmender Menge von Rastinon eine Abnahme der Laktatbildung von 3,5 μMol auf 0,9 μMol bei einer Steigerung des Rastinons von 10 μMol auf 70 μMol /Ansatz.

Tab. 4

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Rastinon in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 18,0 μMol Fructose-1,6-diphosphat (krist. tetra-Cyclohexylammoniumsalz)/Ansatz

Zugefügtes Rastinon (μMol)	Milchsäurebildung (in μMol) von Asziteszellen in 60 Min.		
	Ohne Zusatz	Zusatz von Rastinon	Zusatz von FDP-ase + Silubin
10		3,49	5,15
20		3,66	5,19
30	3,54	1,69	5,08
40		1,35	5,55
50		0,79	5,01
60	3,82	0,81	5,35
70		0,96	5,50

Diese experimentellen Befunde decken sich mit Beobachtungen, die HENNES und Mitarbeiter (14) am Menschen machte. An gesunden Versuchspersonen konnte durch Insulingaben neben der Hypoglykämie ein Ansteigen des Brenztraubensäurespiegels bei sieben von acht Versuchspersonen festgestellt werden, wobei in keinem einzigen Versuch eine Abnahme gefunden wurde. Im Gegensatz dazu fand sich bei Verabreichung von Rastinon neben der Hypoglykämie ein Absinken des Brenztraubensäurespiegels bei sieben von neun Versuchspersonen. Das unterschiedliche Verhalten des Brenztraubensäurespiegels im Blut nach Insulin- oder Rastinon-Verabreichung läßt die Autoren zu dem Schluß kommen, daß der Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe nicht nur auf einer raschen Freisetzung endogenen Insulins beruhen kann. Unsere eigenen experimentellen Ergebnisse führen zu gleichen Überlegungen.

Versuche mit Biguanid (N-Butyl-Biguanid)

Unsere Untersuchungen über den Einfluß von Biguanid auf die Atmung der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen zeigten deutlich, daß auch bei steigenden Mengen des Biguanids keine Atmungsdepression festzustellen war.

Tab. 5

QO_2 Werte bei Ehrlich-Aszites-Tumorzellen unter Zusatz von Silubin in Phosphatpuffer mit 34,0 μMol Glucose/Ansatz

		— QO_2
Unbehandelte	Tumorzellen	7,63
+ in vitro 34	Mol Glucose	7,49
+ in vitro 34	Mol Glucose	
mit:	10 Mol Silubin	7,13
	20 Mol Silubin	6,74
	30 Mol Silubin	8,14
	40 Mol Silubin	6,35
	50 Mol Silubin	6,32
	60 Mol Silubin	6,58
	70 Mol Silubin	8,54

Biguanid, Glukose und FDP-ase zeigten *keinen* Einfluß auf die Glykolyse.

Tab. 6

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Fructose-1,6-diphosphatase und Silubin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 34,0 μMol Glucose/Ansatz. Spez. Aktivität der FDP-ase: 12,0. Pro Ansatz wurden 0,4 ml FDP-ase-Lösung = 9,6 mg Protein eingesetzt

Zugefügtes Silubin (μMol)	Milchsäurebildung (in μMol) von Asziteszellen in 60 Min.		
	ohne Zusatz	Zusatz von FDP-ase	Zusatz von FDP-ase + Silubin
10			5,15
20	15,20	4,98	5,19
30			5,08
40	15,36	4,70	5,55
50			5,01
60	15,56	5,28	5,35
70	15,45	5,15	5,50

Biguanid und Glukose zeigten trotz laufender Erhöhung des Biguanids *keinen* Einfluß auf die Glykolyse der Ehrlich-Aszites-Tumorzellen.

Tab. 7

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Silubin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 34,0 μMol Glucose/Ansatz

Zugefügtes Silubin (μMol)	Milchsäurebildung (in μMol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Silubin
10		15,65
20	15,62	14,91
30		15,96
40	15,58	16,60
50		16,65
60	17,89	18,72
70	18,25	18,75

Biguanid und F-6-P als Bariumsalz zeigten auch bei Zugabe von höheren Biguanidmengen *keine* Beeinflussung der Glykolyse.

Tab. 8

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Silubin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 23,5 μ Mol Fructose-6-phosphat (Bariumsalz)/Ansatz

Zugefügtes Silubin (μ Mol)	Milchsäurebildung (in μ Mol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Silubin
10		0,89
20	0,90	0,85
30		0,83
40	0,81	0,77
50		0,90
60	0,85	0,79
70	0,87	0,81

Biguanid und FDP als Natriumsalz zeigten ebenfalls *keinen* Einfluß auf die Glykolyse.

Tab. 9

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Silubin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 18,0 μ Mol Fructose-1,6-diphosphat (Natriumsalz)/Ansatz

Zugefügtes Silubin (μ Mol)	Milchsäurebildung (in μ Mol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Silubin
10		0,52
20	0,59	0,54
30		0,59
40	0,61	0,58
50		0,62
60	0,65	0,60
70	0,57	0,59

Biguanid und FDP als Tetracyclohexylammoniumsalz zeigten keinen Einfluß auf die Glykolyse.

Tab. 10

Anaerobe Glykolyse von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen bei Einwirkung von Silubin in Ringer-Bikarbonat-Puffer mit 18,0 μ Mol Fructose-1,6-diphosphat (krist. tetra-Cyclohexylammoniumsalz)/Ansatz

Zugefügtes Silubin (μ Mol)	Milchsäurebildung (in μ Mol) von Asziteszellen in 60 Min.	
	Ohne Zusatz	Zusatz von Silubin
10		3,79
20	3,74	3,97
30		3,44
40	3,54	3,41
50		3,40
60	3,30	3,39
70	3,25	3,20

Wir sind zu Dank verpflichtet:

der Arbeitsgemeinschaft für Krebsbekämpfung im Lande Nordrhein-Westfalen, Sitz Bochum, Ruhrknappschaft, für die Ermöglichung dieser Untersuchung;

den Bayerwerken Leverkusen für die Herstellung und Überlassung der FDP-ase-Fermentlösung;

den Farbwerken Hoechst für die Überlassung des „Rastinons“; der Firma Chemie-Grünenthal, Stolberg (Rheinland), für die Überlassung von „Silubin“;

Fräulein ERIKA WIEMERSLAGE für ihre technische Assistenz.

Literatur

1. LÜHRS, W. und K. CHROMETZKA, diese Z., im Druck. — 2. WERNER, W., Zschr. Krebsforsch. 60, 399 (1955). — 3. ROCKSTROH, H. und H. SCHRÖTER, Münch. med. Wschr. 102, 897 (1960). — 4. LEVINE, R. und A. GOLDSTEIN, Diabetes, N. Y. 10, 421 (1961). — 5. CREUTZFELD, W., Med. Klin. 58, 41 (1963). — 6. CAHILL, C. F. jr., J. ASHMORE, A. E. RENOLD und A. B. HASTING, Amer. J. Med. 26, 264 (1959). — 7. MADISON, L. L. und R. H. UNGER, J. Clin. Invest. 37, 831 (1958). — 8. SHOEMAKER, W. C., P. J. CARRUTHERS, J. C. POWERS und A. M. YANES, Amer. J. Physiol. 207, 804 (1961). — 9. ACHELIS, J. D. und K. H. MAI-

WALD, Anglo-german. Med. Rev. 1, 310 (1962). — 10. SADOW, H. S., Überblick über exp. und klin. Erfahrungen mit der Biguanidtherapie in den USA und Kanada. Int. Biguanid-Symp. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1960). — 11. WARBURG, O., Über den Stoffwechsel der Tumoren, Springer-Verlag, Berlin (1926). — 12. BARKER, S. B. und W. H. SUMMERSON, J. biol. Chemistry 138, 535 (1941). — 13. SEELICH, F., Persönl. Mitteilung, Wien (1963). — 14. HENNES, A. R., B. L. WAJCHENBERG, S. S. FAJANS und J. W. CONN, Metabolism 6, 63 (1957).

Professor Dr. med. W. Lührs
8183 Rottach-Egern
Ringbergstr. 30