

UTJECAJ GLICEROFOSFOKOLINA NA DJELATNOST KOLINESTERAZE

Pavao Stern i Adolf Režek

U jednoj nedavno objavljenoj raspravi¹⁾ opisao je S. K r v a v i c a inhibirajući učinak glicerofosfokolina — kao jedne od triju biogenih kvarternih baza — na djelatnost kolinesteraze konjskog seruma u pokusu in vitro. Mogao je pokazati, povrhu ostalog, da glicerofosfokolin utječe na djelatnost kolinesteraze izrazito inhibirajući tek u većim koncentracijama, slično, kao što po rezultatima istraživanja H. S ü l l m a n n-a²⁾ utječu i druge dvije biogene kvarterne baze, t. j. sâm kolin i aneurin.

U posebnom nizu pokusa mi smo pokušali definirati učinak glicerofosfokolina na djelatnost kolinesteraze u pokusu na srcu žabe, leđnoj mišici pijavice i u pokusu s defibriniranom krvi, a s tim u svezi i djelovanje te tvari na tlak krvi kunića kao i njen utjecaj na koncentraciju šećera u krvi, također u pokusu na kuniću.

Glicerofosfokolin nastaje, kako je poznato, kao međuspoj u zmršćenom procesu fermentativne razgradnje lecitinskih tvari, kojima se, povrhu ostalog, pripisuje funkcija kolinske rezerve. O fiziološkom djelovanju odnosno fiziološkoj funkciji samog glicerofosfokolina malo se još zna. Prvi podaci o fiziološkom djelovanju glicerofosfokolina potječu od A. M u r a l t-a, a prikazao ih je u jednoj svojoj raspravi H. A r n o l d-a³⁾, koji je tu tvar priredio i sintetički. Po navodima A r n o l d-a, glicerofosfokolin djeluje slično acetilkolinu, i to na srce žabe, tlak krvi mačke (učinak je oko 1000 puta slabiji od učinka acetilkolina), zatim na crijevno i skeletno mišićje, a jednako tako i na mišicu pijavice (djelovanje glicerofosfokolina u koncentraciji 10^{-5} podudara se s djelovanjem acetilkolina u koncentraciji 10^{-8}). Što se pak tiče fiziološke funkcije glicerofosfokolina misli se, da bi ta tvar — s obzirom na svoje podrijetlo i tvorbu — mogla u organizmu vršiti funkciju neposrednog kolin-donatora.

Opis pokusa i ocjena rezultata. U našim pokusima služili smo se uobičajenim i poznatim metodama. Tako su pokusi na srcu žabe izvedeni po W. S t r a u b-u, na mišici pijavice po B. M i n z-u⁴⁾, s kolinesterazom defibrinirane krvi po metodi R. F r e u d e n b e r g-a i F. R e d l i c h-a⁵⁾; šećer u krvi određivan je po postupku H a g e d o r n-J e n s e n-a. Glicerofosfokolin upotrebljen je u vodenoj otopini (1 ccm = 22,3 mg). Rezultati pokusa kimografske tehnike predloženi su u 6 priloženih kimograma.

¹⁾ Veterinarski Arhiv (Zagreb) 18, 261 (1948).

²⁾ Experientia 1, 25 (1945).

³⁾ Ber. 73, 87 (1940).

⁴⁾ Arch. exp. Path. Pharm. 168, 292 (1932).

⁵⁾ Arch. exp. Path. Pharm. 188, 645 (1938).

Djelovanje na srce žabe (kimogram br. 1). Iz predočenog je kimograma prije svega vidljivo, da glicerofosfokolin, primijenjen u koncentraciji 10^{-6} , ne koči djelatnost kolinesteraze unatoč tome, što u molekuli sadržava kvarterni N-atom i što u pokusu in vitro zaustavlja djelatnost kolinesteraze seruma. Veće koncentracije glicerofosfokolina (na pr. 10^{-4}) izazivlju učinak sličan učinku acetilkolina, umanjujući amplitudu za iznos, koji odgovara učinku acetilkolina u koncentraciji kojih 10^{-7} (kimogram br. 2). Rad srca oporavlja se spontano kao i nakon primjene acetilkolina, po čemu bi se moglo zaključiti, da se i učinak glicerofosfokolina poništava hidrolitički. Po sličnosti pak djelovanja glicerofosfokolina i acetilkolina (koji je po Muralt-u⁶) označen kao prva vagus-tvar) mogla bi se nazreti i sličnost funkcija.

Djelovanje na mišicu pijavice. U tome reakcionom mehanizmu, veoma osjetljivom za očitovanje djelatnosti kolinesteraze, zamijenili smo specifični inhibitor kolinesteraze, t. j. eserin, glicerofosfokolinom. Rezultat pokusa — vidljiv iz kimograma br. 3 — pokazuje, da glicerofosfokolin ni pod takvim pokusnim uvjetima ne izazivlje efekt inhibicije, pa čak ni onda, ako se primijeni i u većim koncentracijama (na pr. u razrjeđenju 1 : 5000).

Osim toga, pokušali smo pomoću eserina senzibilizirati mišicu pijavice za učinak glicerofosfokolina na način, kojim se ona daje senzibilizirati za učinak acetilkolina. Iz kimograma br. 4, koji predočuje rezultat jednog takvog pokusa razabire se, da se učinak glicerofosfokolina na mišicu pijavice — za razliku od učinka acetilkolina — ne daje pojačati prethodno izvršenom senzibilizacijom. Po takvom ishodu pokusa dalo bi se zaključiti, da je djelovanje glicerofosfokolina (barem pod navedenim pokusnim uvjetima) nezavisno od djelovanja kolinesteraze, odnosno da eserin ne zahvaća u mehanizam, koji je odgovoran za razgradnju (ponišćavanje učinka) glicerofosfokolina. Drugi je slučaj naročito zanimljiv zbog toga, što otvara pitanje o naravi tog mehanizma (odcjepljenje kolina s glicerofosfokolina kao kolin-donatora). Rezultati naših pokusa na mišici pijavice, kao i oni u pokusu na srcu žabe, svakako upućuju na razgradnju, no teško je reći, da li je ona fermentativne naravi ili je, možda, samo posljedica obične hidrolize⁷). Pogotovo je teško ocijeniti narav tog mehanizma, ako se uzme u obzir, da glicerofosfokolin u pokusu in vitro koči djelatnost kolinesteraze seruma¹), zatim

⁶) A. Muralt: Die Signalübermittlung im Nerven. Basel 1945.

⁷) U našim pokusima nismo se obazirali na efekt, koji bi mogao potjecati i od odcijepljenog kolina.

da je vodena otopina glicerofosfokolina prilično postojana⁸⁾ i napokon, da se razgradnja glicerofosfokolina djelovanjem seruma odvija izvanredno polagano, a stupanj razgradnje da je neznatan⁹⁾.

Djelovanje na kolinesterazu defibrinirane krvi (kimogram br. 5). Ti su pokusi izvedeni tako, da je za prekidanje djelovanja kolinesteraze, mjesto 0,5 ccm 20% otopine trikloroctene kiseline upotrebljeno 2 mg glicerofosfokolina. Kako se iz predloženog kimograma razabire, glicerofosfokolin ne koči djelatnost kolinesteraze ni pod takvim pokusnim uvjetima.

Djelovanje na tlak kunića (kimogram br. 6). Glicerofosfokolin primijenjen na pr. u količinama 0,5 i 1 mg snižuje osjetno tlak krvi kunića; tlak se brzo normalizira, a nakon toga čak i neznatno poraste. Izvrši li se atropinizacija (dodatkom 5 mg atropin-sulfata uz potpuno isključenje parasimpatikusa), efekt povišenja tlaka izostaje. Glicerofosfokolin djeluje dakle, kako je to naveo već i Arnold³⁾, tipično kolemmimetički.

Djelovanje na koncentraciju šećera u krvi kunića. Glicerofosfokolin u količini od 2 do 3 mg, unesen i. v., povišuje koncentraciju šećera u krvi kunića jedva primjetno, i to nakon 15 min. za svega oko 10%; koncentracija se zatim brzo normalizira.

Zaključak. Biogena tvar glicerofosfokolin ne djeluje (pod opisanim pokusnim uvjetima) na djelatnost kolinesteraze, iako u svojoj molekuli sadržava N-atom kvarterne naravi (tip eserinskog inhibitora) i premda u pokusu in vitro koči djelatnost kolinesteraze seruma. Takvo se ponašanje glicerofosfokolina daje razumjeti, ako se uzme u obzir biogeno podrijetlo i moguća funkcija te tvari. Nadalje, glicerofosfokolin djeluje fiziološki slično acetilkolinu (na rad srca žabe i tlak krvi kunića), no od tog se djelovanja razlikuje po tome, što mu se učinak (u pokusu na mišici pijavice) ne daje pojačati prethodno izvedenom eserinizacijom. Prema tome, eserin ne bi zahvaćao u mehanizam, koji je odgovoran za razgradnju glicerofosfokolina (odcjepljenje kolina). S tim pak u svezi valja pretpostaviti, da bi se takva razgradnja glicerofosfokolina mogla u organizmu odvijati i afermentativno, možda samo trenutačnom promjenom aktuelne

⁸⁾ Stabilitet vodenih otopina glicerofosfokolina pri različitim aktuelnim kemijskim reakcijama nije još dovoljno istražen. Takvo istraživanje (kao i istraživanje fermentativne razgradnje glicerofosfokolina uopće) otežava nedostatak podesne mikro-metode za kvantitativno određivanje kolina. Nepriključak je naime u tome, što u reakcijama, koje su primijenjene u postojećim metodama, reagira i sâm glicerofosfokolin.

⁹⁾ A. Režek i N. Škarica: Razgradnja glicerofosfokolina djelovanjem fosfataza. U rukopisu.

kemijske reakcije. Na temelju pak sličnosti djelovanja glicero-fosfokolina i acetilkolina moglo bi se pomisliti i na sličnost funkcija. Napokon, što se tiče učinka glicerofosfokolina na koncentraciju šećera u krvi, taj je neznatan.

FARMAKOLOŠKI INSTITUT
MEDICINSKI FAKUTET

I

ZAVOD ZA KEMIJU
VETERINARSKI FAKULTET
ZAGREB

Primljeno 11. siječnja 1949.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluss von Glycerophosphocholin auf die Wirkung der Cholinesterase

Pavao Stern und Adolf Režek

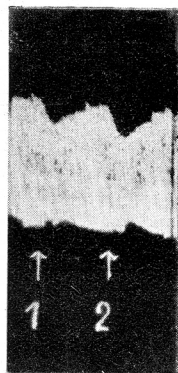
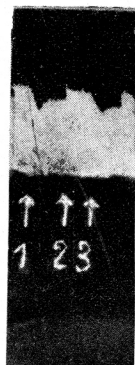
Der biogene Stoff Glycerophosphocholin übt (bei den angeführten Versuchsbedingungen) keinen Einfluss auf die Wirksamkeit der Cholinesterase aus, obwohl es in seinem Moleküle ein Stickstoffatom quarternärer Natur enthält (Typus der Eserin-Inhibitoren) und weiterhin sogar beim Versuch in vitro die Wirksamkeit der Cholinesterase des Serums hemmt. Ein derartiges Verhalten des Glycerophosphocholins wird verständlich, wenn man seine biogene Herkunft und die Funktionsmöglichkeit dieses Stoffes berücksichtigt. Fernerhin wirkt Glycerophosphocholin ähnlich dem Acetylcholin (nämlich auf die Arbeit des Froschherzens und den Blutdruck des Kaninchens), diese Wirkungen unterscheiden sich jedoch darin, dass sich der Effekt der Glycerophosphocholin-Wirkung (im Versuch am Blutegel-muskel) durch vorhergehende Eserinisierung nicht verstärken lässt. Demgemäss würde Eserin in den Mechanismus, der für den Abbau des Glycerophosphocholins verantwortlich ist (Abspaltung des Cholins), nicht eingreifen. In diesem Zusammenhange wäre anzunehmen, dass eine solche Zerlegung des Glycerophosphocholins im Organismus auch afermentativ erfolgen könnte, vielleicht lediglich durch eine Veränderung der aktuellen chemischen Reaktion. Auf Grund der Ähnlichkeit der Wirksamkeiten des Glycerophosphocholins und Acetylcholins, könnte auch an eine Ähnlichkeit ihrer Funktionen gedacht werden. Die Einwirkung des Glycerophosphocholins auf die Blutzuckerkonzentration ist unbedeutend.

PHARMAKOLOGISCHES INSTITUT
MEDIZINISCHE FAKULTÄT

UND

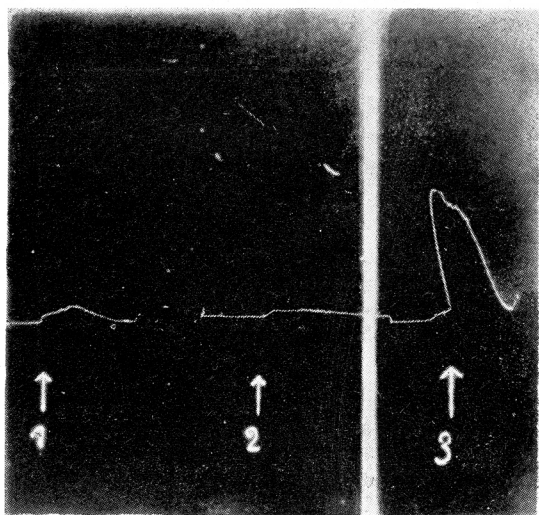
CHEMISCHES INSTITUT
VETERINÄR-FAKULTÄT
ZAGREB (KROATIEN)

Eingegangen am 11. Januar 1949.

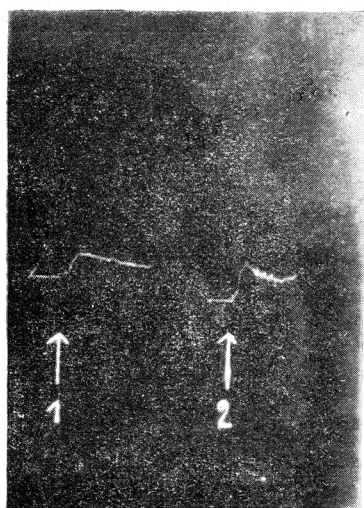


K i m o g r a m br. 1 (djelovanje na srce žabe). 1=ack. 10^{-7} ; 2.=gfk. 10^{-6} ;
3=nakon 5 min. opet ack. 10^{-7} .

K i m o g r a m br. 2 (djelovanje na srce žabe). 1= gfk. 10^{-4} ; 2 = ack. 10^{-7} .

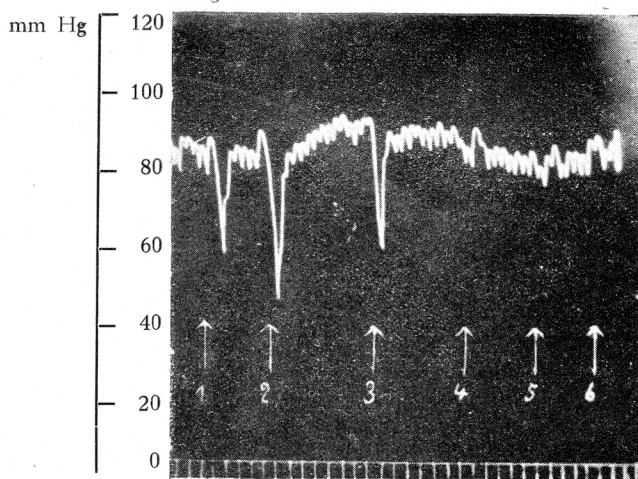


K i m o g r a m br. 3 (djelovanje na mišiću pijavice). 1 = ack. 10^{-7} ; 2 = ack.
 10^{-7} ; između 1 i 2 = gfk. 1:5000; 3 = prethodno 10^{-5} eserín-salicilata (15
min.), a zatim ponovno ack. 10^{-7} .



Kimogram br. 4 (djelovanje na mišiću pijavice). 1 = gfk. 2 mg; 2 = gfk 2 mg; između 1 i 2 = eserin-salicilat 10^{-5} (15 min.).

Kimogram br. 5 (djelovanje na srce žabe). 1 = prekid hidrolize ack (10^{-4}) nakon 5 sek. pomoću trikloroctene kiseline; 2 = prekid hidrolize ack dodatkom 2 mg gfk.



Kimogram br. 6 (djelovanje na tlak krvi kunića). ♂ — 3700 g — narkoza pomoću uretana (1 g/kg) — tlak mjereno iz lijeve karotide — injicirano u venu femoralis — vrijeme 30 sek.; 1 = gfk. 0,5 mg; 2 = gfk. 1 mg; 3 = ack. 10^{-7} ; 4 = atropin-sulfat 5 mg; 5 = gfk. 1 mg; 6 = ack. 10^{-7} .