

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 18.

Urednik

PAVEL STERN,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO
1974.

PAVEL STERN*

HOLINERGIČNI SISTEM I RAST MALIGNIH TUMORA**

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 20. XI 1972. god.)

Studirajući ulogu medijatora na rast malignih tumora, mi smo u jednom radu nedavno ispitali čitav niz farmaka koji ili dovode do povećanja ili sniženja medijatora koji prenose podražaj s nerva na neuron ili sa neurona na izvršni organ (Štern, u štampi). U tom citiranom radu bilo je u pokusu 6 grupa: I supstance koje utječu na promet kateholamina; II supstance koje vežu metale; III supstance koje utječu na metabolizam histamina; IV supstance koje utječu na količinu serotonina; V amino-kiseline koje djeluju kao transmittori; VI supstance koje utječu na metabolizam acetilholina.

U tim eksperimentima mogli smo pokazati da uklanjanje, odnosno oslabljenje funkcije simpatikusa pomoću jednog beta-adrenergičnog blokera, aloprenolona (Abld et al., 1967) pokazuje određen terapijski efekat u smislu produžavanja života miševa sa transplantabilnim tumorima. Slično je djelovao i reserpin, za kojeg također znamo da smanjuje količinu kateholamina (Goodman, Gilman, 1970). Guanetidin također osiromašuje tkivo na adrenalinu i noradrenalinu a imao je obrnuti efekat od aloprenolona i reserpina. No, treba se podsjetiti da guanetidin istovremeno spriječava izlaz noradrenalina iz simpatičkih okončina i da dulje davanje guanetidina čini tkivo veoma osjetljivim za kateholamine (Goodman, Gilman, 1970). Tako se može razumjeti zašto je guanetidin djelovao obrnuto nego reserpin i aloprenolon. Deferoxamin koji veže na sebe željezo (Tripod, 1963) i time omogućava funkciju tirozin hidroxidaze (Taylor et al., 1969) dovodi također do smanjenja kateholamina u CNS. I ova supstanca je djelovala slično kao guanetidin, valjda iz istih razloga kao guanetidin, kao što smo već

* Adresa: Institut za farmakologiju Medicinskog fakulteta, 71000 Sarajevo

** Ovaj rad finansiran je iz sredstava Fonda za naučni rad ANU BiH (ugovor br. 1200/69)

prije naveli. Budući da se u našim pokusima pokazalo da je armin, ireverzibilni inhibitor holinesteraze (K o e l l e, 1963), što dovodi do pojačanja holinergičkog nervnog sistema, također smanjio ascites Ehrlich-ovog karcinoma, a atropin je bez efekta, smatrali smo da bi bilo interesantno ispitati grupu farmaka koja bi također pojačavala ili oslabljivala funkciju holinergičkog nervnog sistema, ali na drugi način nego armin. Zbog toga smo u ovom radu upotrijebili ne inhibitore holinesteraze nego aktivatore holinacetilaze. Osim toga, ispitali smo u ovoj seriji pokusa i inhibitore holinacetilaze.

Budući da je oxotremorin najaktivniji do sada poznati aktivator holinacetilaze (H o l m s t e d t, L u n d g r e n, 1970), bilo je interesantno ispitati i njegove hemijske analoge. Za neke od tih spojeva se zna da također utiču na proces tremora kao što utiče sam oxotremorin.

Pored aktivatora i inhibitora holinacetilaze u ovom radu ispitali smo i one otrove koji doduše ne utiču na stvaranje acetilholina nego na njegovo oslobađanje ili spriječavanje njegovog oslobađanja na okončanim motornih nerava, tj. otrov pauka *Latrodectus tredecimguttatus* (L o n g e n e c k e r et al., 1970) i otrov *Botulinus* (B u r g e n et al., 1949).

Osnovni cilj ovog rada sastoji se u tome da se utvrdi, bolje nego što smo to u prethodnom radu učinili, funkcija holinergičnog nervnog sistema na rast malignih tumora, a specijalno trofički efekt ovog transmittora (D r a c h m a n, 1967; D r a c h m a n, 1971). Zna se da acetilholin djeluje ne samo na muskulaturu nego i na neka druga zdrava tkiva, pa je razumljivo bilo interesantno da se ispita ta trofička komponenta i na bolesna tkiva.

METODA

U pokusu su bili bijeli miševi oba spola, težine 20 ± 2 g (soj *Pasterovog* instituta, Novi Sad). Jedino za studij leukemije miša upotrebljavan je soj *DBA* miševa, također oba spola, težine 20 g. Sve životinje su hranjene kolačićima »Kalinovica«, a vodu su dobijale *ad libitum*. Temperatura sobe u kojoj su vršeni eksperimenti je konstantna, cca 20 stepeni C.

Upotrijebljeni su slijedeći tumori. Ehrlich ascitni karcinom na mišu (L o e w e n t h a l u. J a h n, 1932), sarkom miša *S — 180* (B i e s e l e et al., 1952), limfatička leukemija miša *Ly 1210* (L a w et al., 1949) i *Yoshida* sarkom štakora.

Za prosuđivanje rezultata uzeta su dva kriterija — dužina života životinje sa transplantiranim tumorom i veličina tumora. Kontrolni miševi sa Ehrlich karcinomom ugibaju za cca 10 dana, sarkom miša *S-180* ugiba spontano za 12—15 dana, a limfatička leukemija *Ly 1210* za 8—10 dana. *Yoshida* sarkom štakora ugiba za 8—10 dana.

REZULTATI

Tabela I

SUPSTANCA	DOZA	VRSTA TUMORA			OPASKA
		Ly 1210	S-180	Ehrlich asc.	
Oxotremorin	0,025 mg/kg i.p.	—	—	—	
Recosen	0,25 ml orig. otopine i.p.	—	—	—	
K-Strophantin	1 mg/kg i.p.	—	—	—	
Pentolinium	8 mg/kg i.p.	⊖	⊖	⊖	
Alfa-pyrrolidon	100 mg/kg i.p.	⊖	⊖	⊖	
DSO-16	1 mg/kg s. c.	—	—	—	
Otrov pauka Latrodectus tredecimguttatus	0,1 ml/miša otopine 1 žlj. u 10 ml.±		±		Tumori veći nego kod kontrole
Botulinus toxin »A«	25 mld/kg s. c.	—	—	—	Tumori manji nego kod kontrole
Alfa-bromo-2-acetonaphtone	0,1 mg/kg i.p.	⊖	⊖	⊖	
4-Brom-phenacyl-bromid	0,1 mg/kg i.p. u 2% gumiarabici	⊖	⊖	⊖	

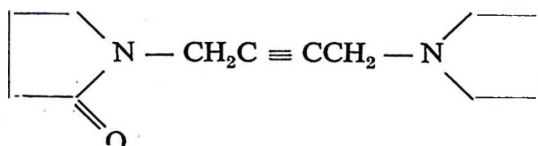
— životinje sa tumorom žive kraće od kontrole

⊖ životinje sa tumorom žive isto tako dugo kao kontrola

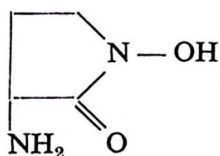
± životinje sa tumorom žive nešto duže od kontrola

Tabela II

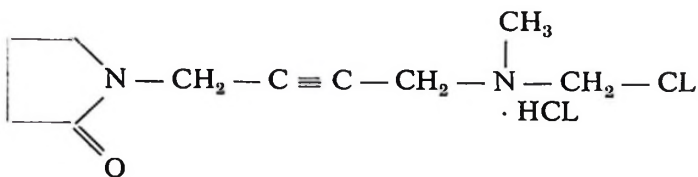
OXOTREMORIN I NJEGOVI KEMIJSKI ANALOZI



OXOTREMORIN



1-HYDROXY-3-AMINO-PYRROLIDON-2



DSO-16

Kako se vidi iz priloženih tabela, oxotremorin (Holmstedt, Lundgren, 1970., Ratković et al., 1965), recosen (Bašagić et al., 1962) i K-strofantin (Švec, privatno saopštenje) koji spadaju u grupu aktivatora holinacetilaze skraćuju život i karcinoma i sarkoma i leukemije miša, dok kemijski analozi oxotremorina pentolinium koji je jedan blokator ganglija (Goodman, Gilman, 1970), te alfa-pirolidon, jedna antitremorogena supstanca (Bonta et al., 1971), su potpuno bez efekta. DSO-16 (1-2-oxo-1-pyrrolidino/-4-/2-chloroethyl-methyl-amino/but 2-yne HCl) koji je i antitremorogena i tremorogena supstanca (György et al., 1971) pogoršao je kliničku sliku. Životinje su ranije ugibale u toku kontrola. Interesantno je da inhibitori holinacetilaze alfa-bromo-2-acetonaphtone i 4-brom-phenacyl-bromide (Ching-chieh Yu, Both, 1971) su potpuno bez efekta na sve tri vrste tumora.

Inficirane životinje koje su primale botulinus toxin pokazivale su vrlo interesantne rezultate. Tumori su veći od kontrola ali žive nešto duže, 4—5 dana. Otrov *Latrodectus*-a (Longenecker et al., 1970) koji djeluje suprotno od botulinusa (Burgan et al., 1949) djelovao je na tumore suprotno od botulinusa. Tumori su bili doduše manji od kontrola, ali životinje su živjele kraće.

DISKUSIJA

Najvažnije što bismo htjeli istaknuti u diskusiji, a što slijedi iz naših rezultata, je činjenica da supstance koje aktiviraju holinacetilazu, oxotremorin, recosen i K-strofantin dovode do pogoršanja svih triju vrsta transplatabilnih malignih tumora koje smo mi upotrijebili. Iz toga se može zaključiti da trofički efekt kojega tako intenzivni ispoljava acetilholin (Drachman, 1967, Drachman, 1971), u našem slučaju djelovao je trofički u tom smislu da je maligno tkivo vjerojatno brže raslo i dovelo do pogoršanja kliničke slike. Mi doduše ne možemo ničim tvrditi, ali možemo pretpostaviti da su oni biokemijski procesi koji čine stanicu malignom, vjerojatno isto intenzivirani, jer konačno o tome ovisi rast tkiva. Ovu pretpostavku o trofičkom djelovanju acetilholina na maligna tkiva u smislu ubrzavanja rasta bolesnog tkiva podupire i nalaz kojega smo dobili sa otrovom pauka *Latrodectus tredecimguttatus*, jer su i tu životinje živjele kraće, a obrnuto životinje koje smo tretirali sa *Botulinusom* živjele su sa svojim tumorima nešto dulje.

Treba još napomenuti da inhibitori holinacetilaze koje smo mi upotrijebili (Ching-chieh Yu, Both, 1971) nisu imali suprotni

efekat u odnosu na aktivatore holinacetilaze. Teško je reći u ovim preliminarnim eksperimentima zašto je to tako. Možda oni sami po sebi djeluju toksično na nosioca tumora, no to je samo pretpostavka za koju nemamo još nikakvih dokaza.

Na koncu želim da istaknem samo jednu ideju koja se možda može u kliničkoj praksi i provjeriti. Postavljamo, naime, pitanje da li lijekovi koji se daju u terapijske svrhe za sam tumor ili kao supstance za ublažavanje bola, mogu eventualno negativno utjecati na rast tumora u smislu ubrzavanja njegovog rasta, ako povećavaju količinu acetilholina. Spominjemo to zato jer je npr. poznato da ciklofosfamid, jedan od najčešće upotrebljivanih citostatika, inhibira holinacetilazu (Schmitz, 1967), prema tome povećava količinu acetilholina u tkivu. Isto tako poznato je da morfijum povećava količinu acetilholina u nervnom tkivu (Crossland, Slater, 1968). Razumljivo je da ne mislimo da bi iz tih razloga trebalo stvoriti zaključak da je ciklofosfamid ili morfijum kontraindiciran u terapiji malignih tumora, ali možda je ipak interesantno upozoriti i na ovu činjenicu, barem sa teoretskog stanovišta.

ZAKLJUČAK

Pokazano je da aktivatori holinacetilaze — oxotremorin, recosen i K-strofantin — pogoršavaju rast malignih tumora miša Ehrlich ascitnog carcinoma, sarkoma S-180 i leukemije Ly 1210.

Pretpostavlja se da bi uzrok ovakvog efekta mogao biti trofičko djelovanje acetilholina koje dovodi do ubrzanog rasta ne samo zdravog nego i malignog tkiva.

PAVEL STERN

HOLINERGIC SYSTEM AND GROWTH OF MALIGNANT TUMOR

SUMMARY

It has been shown that activators of acetylcholinetransferase — oxotremorine, recosen and K-strophantin — can suppress the growth of Ehrlich ascites carcinoma, sarkoma S-180 and leukemia Ly 1210. The hypothesis has been forwarded that the cause of this effect is acetylcholine which causes growth both in health and malignant tissue.

LITERATURA

- Ablad, B., Brogard M, El. L. *Pharmacological properties of H 56/28 a betaadrenergic receptor antagonist*. Acta Pharmacol. et Toxicol. 25 Suppl. 2, (1967).
- Bašagić Enisa, Bošković B., Stern P. *Activation of choline acetylase by a protein-free aqueous extract of heart muscle*. Arch. int. Pharmacodyn, 137, 49—53 (1962).

- Bonta, I.L. De Vos C. J. Grijzen H. Hillen F. C. Noach E. L. Sim A. W. *1-Hydroxy-3-amino-Pyrrolidone-2-(HA-966) a new GABA-like compound, with potential use in extrapyramidal diseases.* — Br. J. Pharmac. 43, 514—535 (1971).
- Burgen, A. S. V., Dickens F., Zatman L. J., *The action of botulinum toxin on the neuromuscular junction.* J. Physiol. (London) 109, 10—24 (1949).
- Ching-chieh Yu, Booth Gary M., *Inhibition of choline acetylase from the house fly (Musca domestica L.) and mouse.* Life Sciences 10, Part II, 337—347 (1971).
- Crossland J., Slater P., *The effect of some drugs on the »free« and »bound« acetylcholine content of rat brain.* Br. J. Pharmac. Chemother. 33, 42—47 (1968).
- Drachman D. B., *Is acetylcholine the trophic neuromuscular transmitter?* Arch. Neurol. 17, 206—218 (1967).
- Drachman, D. B., *Botulinum toxin as a tool for research on the nervous system.* In: Simpson L. L. »Neuropoisons — their pathophysiological Actions«. 1, Bisons of Animal Origin. Plenum Press, New York, London 1971, 325—347.
- Goodman L. S., Gilman A. *The pharmacological basis of therapeutics* IV Edit. The Macmillan Comp., New York, 1970.
- György L., Gellén B., Doda M., Sterk L., *Pharmacology of 1-/2-Oxo-1-Pyrrolidino-4-(2-Chloroethyl-Methylamino) but-2-yne-HCL (DSO-16).* 1. Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae 40, str. 373—379 (1971).
- Holmstedt B., Lundgren, G., *Effects of oxotremorine and atropine on choline acetylase activity.* In: E. Heilbron, A. Winter, *Drugs and cholinergic mechanisms in the CNS.* Research Institute of National defence, Stockholm, 1970, 339—354.
- Koelle G. B., *Cholinesterase and Anticholinesterase Agents.* Springer Verlag, Berlin (1963).
- Longenecker H. E., jun. Hurlbut W. P., Mauro A., Clark A. W., *Effects of black widow spider venom on the frog neuromuscular junction.* Nature 225, 701—703 (1970).
- Ratković, D., Stern P., Bošković B., *Ueber die Wirkung des Tremorins auf die Cholinacetylase.* Bull. Sc. Cons. Acad. R.P.F. Yugoslav 10, 40 (1965).
- Schmitz, G. Gross R., *Erste klinische Erfahrungen mit ultrahohen Einzeldosen von Cyclophosphamid.* Die Medizinische Welt 18, 985—989 (1967).
- Stern P., *Utjecaj medijatora na rast malignih tumora.* RADOVI (u štampi). Švec F., privatno saopštenje.
- Taylor R. J., Stubbs C. S., Ellenbogen L. Jr. *Tyrosine hydroxylase inhibition in vitro and in vivo by chelating agents.* Biochemical. Pharmacol. 18, 587—594 (1969).
- Tripod J., *Tierexperimenteller Nachweis der Affinität von Desferal für Eisen.* Schweiz. med. Wschrift. 93, 969—973 (1963).