

616.853:616.831-008.9-074

NĚKTERÉ NOVĚJŠÍ POZNATKY Z BIOCHEMIE EPILEPSIE*)

Major MUDr. Hypolit DRAHOZAL, nervové oddělení Ústřední vojenské nemocnice
náčelník plk. MUDr. František PLESKOT

Biochemie nervové soustavy je nepochybně vědou budoucnosti, další rozvoj klinické neurologie bude jistě úzce spjat s rozvojem biochemie nervové soustavy. Přes velký pokrok v biochemických znalostech v posledních desetiletích přispěla však biochemie většinou jen k lepšímu pochopení normálních pochodů, kdežto pro kliniku nervových nemocí přispívá zatím málo. Je to jistě dáno obtížností úkolu, ale i malým zájmem neurologů o biochemické problémy.

Ve svém krátkém referátě chci upozornit na některé novější poznatky z biochemie epilepsie, jež se v posledních letech dostává do popředí zájmu. Některé poznatky jsou již staršího data. Již od třicátých let se ví (Penfield a spol.), že při epileptickém záchvatu stoupá průtok krve lokalizovanými oblastmi kůry, že spotřeba kyslíku během křečí stoupá a tenze O_2 klesá. Pokles tenze kyslíku předchází o několik vteřin změny eeg a maximum snížení je až po půl minutě za posledním výbojem na eeg. Rovněž dlouho je známo (Gurdjian, Webster a Stone), že mozková glukóza a glykogen v záchvatu klesají patrně vzestupem jak oxydací, tak i anaerobní glykolýzy, že rychle stoupá kyselina mléčná, její vzestup se však po minutě zastavuje a delším trváním

záchvatu již není ovlivněn. Na počátku křečí se snižuje i hladina fosfokreatinu, který se rozkládá na kreatin a anorganický fosfát, klesá i hladina adenosin-trifosfátu (Klein a Olsen). Tyto změny však patrně nejsou příčinou, ale pouhým doprovodem jakéhokoli křečového záchvatu, důsledkem značných energetických změn při záchvatu.

Naše biochemické znalosti jsou však nyní již rozsáhlejší a dovolují nám konstatovat, že epileptický záchvat, který může být vhodným podnětem vyvolán u kteréhokoli obratlovce, může mít biochemický podklad v různých případech naprosto odlišný, ač klinický obraz i eeg. záznam je totožný. To, co se jeví jako týž neuronální a bioelektrický výboj, může mít zcela odlišný biochemický mechanismus. Nejvíce nových poznatků je pochopitelně u experimentálně vyvolávaných epileptických záchvatů. Zatím můžeme rozeznávat podle biochemických zvláštností v podstatě 6 typů experimentálních epileptických záchvatů (Stone, Kring Tews a Mitchell).

Nejdéle studovaným typem je pikrotoxinový typ záchvatů — sem však řadíme i záchvaty vyvolané podáním kardiazolu nebo elektrošokem, jež tč. nelze biochemicky odlišit. Vlastní mechanismus je tu znám jen nedokonale. Kromě již popsaných změn je tu nápadný pokles acetylcholinu, který krátce předchází počátek křečí

*) Předneseno na konferenci vojenských neurologů 18. 5. 1962.

(Richter a Crossland). Po záchvatu se rychle acetylcholin vrací k normálu. Během záchvatu je acetylcholin rychle hydrolyzován cholinesterázou, jeho resyntéza je umožněna energeticky bohatými fosfáty. Někteří autoři soudí, že křečová aktivita je závislá na přiměřeném množství acetylcholinu a končí jeho vyčerpáním. Rozklad acetylcholinu prý zahajuje další metabolické změny během záchvatu (Dawson a Richter). Jiní, např. Stone, soudí, že změny acetylcholinu jsou jen důsledkem zvýšení dráždivosti a že již fakt, že podání atropinu záchvat neovlivní, svědčí pro to, že křečovou aktivitu nelze vysvětlit změnami cholinergních mechanismů. Zdá se, že důležitější tu budou změny mozkového amoniaku, který rovněž stoupá již v latentním období před vypuknutím křečí až o 75 % (Stone). Tato změna úzce souvisí s metabolismem některých aminokyselin, zejména kyseliny glutamové, jak se o tom zmíním ještě později. Se stoupaním amoniaku souvisí i pokles kyseliny asparagové, jež patří též k možným zdrojům amoniaku.

Zcela odlišným typem jsou epileptické záchvaty vyvolávané anticholinesterázami, inhibitory cholinesterázy. Při těchto záchvatech se hromadí v mozku enormně acetylcholin a je patrně stimulačním činitelem odpovědným za zvýšenou iritabilitu (Stone). Specifický účín tu má atropin, který tento typ záchvatů spolehlivě tlumí (kdežto u jiných typů je neúčinný). Stejný mechanismus mají křeče po podání samotného acetylcholinu v intravenózní aplikaci.

Zvláštní skupinou jsou epileptické záchvaty vyvolané kyselinami fluoromastnými, tj. kyselinou fluorooctovou a fluoromáselnou. Pro tento typ záchvatů je charakteristické prudké stoupaní hladiny kyseliny citronové, což je způsobeno tím, že zde vzniká jako intermediární produkt kyselina fluorocitronová, která inhibuje akonitázu, důležitý enzym v Krebsově cyklu trikarboxylových kyselin. Tak vzniká uvnitř tohoto cyklu, nepostradatelného v intermediárním metabolismu, blokáda a jejím výsledkem pak je hromadění citrátu (Buffa a Peters; Elliot a Kalnitsky; Lotspeich, Peters a Wilson). Skutečným křečovým činitelem není však citrát, ale jiná sloučenina, prudce stoupající ještě před počátkem křečí a hromadící se nakonec enormně — a tou je amoniak (Benitez, Pscheidt a Stone). Pokles některých aminokyselin, např. asparagové kyseliny, naznačuje, že v nich je jeden ze zdrojů amoniaku. Pochopitelně stejný mechanismus, tj. křeče z enormně zvýšeného amoniaku mají epileptické záchvaty provokované podáním amonných solí, např. chloridu amonného (Sapirstein).

Strychninový typ křečí, jimž se blíží křeče vyvolané tetanotoxinem, bruceinem a podobnými látkami, má patrně zcela odlišný biochemický mechanismus, který je však zatím znám jen nedokonale. Snad má pravdu Eccles, když říká, že strychnin nic neexcituje, ale jen vyvolává blokádu inhibičního mediátoru, zatím neznámého.

Dalším typem, v poslední době dosti podrobně studovaným, jsou epileptické záchvaty vyvolá-

vané u psů krmením pšeničnou bílkovinou glutanem. Toxickým faktorem v těchto výrobcích z bělené mouky je poměrně jednoduchá látka, nazvaná methionin sulfoximin. Kromě amerických autorů, z nichž jmenujme aspoň Towera, se tímto způsobem vyvolávání epileptických záchvatů zabývá skupina pracovníků Fyziologického ústavu ČSAV, od r. 1956 Lodin a Koloušek a nyní v poslední době Folbergrová. Porucha se nejprve hledala v metabolismu bílkovin, později v poruše přeměny methioninu. V poslední době se zdá, že hlavním článkem tu je porucha metabolismu kyseliny glutamové, glutaminu a s ním spojeného amoniaku. Methionin sulfoximin totiž inhibuje syntézu glutaminu (Folbergrová; Peters a Tower).

Nejzajímavějším typem záchvatů jsou křeče z nedostatku pyridoxinu. Již 20 let je známo, že při nedostatku pyridoxinu dochází u zvířat ke křečím (Daniel, Kline a Tolle), v nedávných letech byly zcela stejné záchvaty popsány u lidských novorozeňat (Hunt, Stokes, McCrory a Stroud). Pyridoxin je významným koenzymem řady fermentů, a to ve formě pyridoxalfosfátu. Zejména je důležitý jako koenzym dekarboxylázy kyseliny glutamové. Při nedostatku vitamínu B₆ skutečně dochází ke snížení aktivity tohoto enzymu (Roberts, Younger a Frankel). Nedostatek pyridoxinu u zvířat a novorozeňat vyvolá dysfunkci systému Krebsova kruhu na úrovni stupně kyselina α -ketoglutarová — kyselina glutamová — kyselina γ -aminomáselná — kyselina jantarová, což je spojeno se snížením kyseliny γ -aminomáselné v mozku. Stejný mechanismus mají křeče vyvolané tzv. toxopyrimidinem (tj. pyrimidinovou polovinou thiaminu), který je, antagonistou pyridoxinu (Makino a Koike; Nishizawa) a dále i křeče vyvolávané hydrazidy, např. INH (Killam a Bain; Horák; Kostka a Brož). Ve všech těchto případech dochází k inhibici dekarboxylázy kyseliny glutamové a tím ke snížení kyseliny γ -aminomáselné v mozku. Kyselina γ -aminomáselná (KGAM) je velmi pozoruhodná látka, patří k nejmocnějším inhibičním působkům. Byla objevena před 50 lety (Ackermann, Kutcher), ale její fyziologický význam byl postupně poznán až v posledních 12 letech, kdy byla nalezena ve velkém množství v mozku (Roberts, Frankel a Harman). Patří mezi aminokyseliny, jež se v mozku nejhojněji vyskytují. Vzniká dekarboxylací z kyseliny glutamové a odbourává se transaminací. KGAM je hlavní součástí inhibičního Floreyova faktoru I., který byl objeven a podrobně studován při pokusech s inhibicí impulsů v neuronu receptoru rozvírače potočního raka. Je to látka velmi účinná, 1 gama podáno do velké cisterny stačí potlačit křečový záchvat vyvolaný elektrošokem nebo přiložením krystalku strychninu na mozkovou kůru (McIlwain). Zásluhou KGAM se nyní výzkum křečových záchvatů začíná více všímat inhibičním mechanismům v CNS, o kterých do té doby nebyly vůbec doklady. Inhibičních faktorů je více, jmenujme aspoň kyselinu β -hydroxy- γ -aminomáselnou, která má inhibiční aktivitu při nejmenším rovnou KGAM

(Hayashi) a dále 3-hydroxytyramin, který podle McGeera a spol. má inhibiční aktivitu ještě asi 100krát vyšší než KGAM. Pěkným přehledem o KGAM a křečových stavech je referát Langa a Kubíčka z r. 1960. U popisovaného typu záchvatů z nedostatku pyridoxinu je tedy faktorem zvyšujícím záchvatovou pohotovost snížení KGAM v mozku.

Zvláštní cestou v experimentálním výzkumu epilepsie jdou Japonci, kteří si vypěstovali zvláštní myši kmen, kde se dominantně dědí zvýšená záchvatová pohotovost, takže lze vyvolat typický myší záchvat několikerým vyhozením myši do výše 15–20 cm. Tyto myši nyní důkladně biochemicky vyšetřují (Naruse, Kato a spol.), na jejich výsledky tu však nelze zacházet.

Biochemický výzkum lidské epilepsie nutně musí zaostávat za výzkumem experimentálním již z toho důvodu, že nelze epileptiky během záchvatu házet do tekutého kyslíku, aby promptně ustaly všechny metabolické pochody v mozku, jak se to dělá s krysami či myšmi při výzkumu. Biochemický výzkum experimentální epilepsie nám přesto pomohl ujasnit řadu zásadních otázek i lidské epilepsie. Ukázal, že acetylcholin nemůže být považován za vyvolávající příčinu křečí, jak se o tom uvažovalo do nedávna. Bez experimentálního výzkumu bychom dnes asi nic nevěděli o inhibičních faktorech typu KGAM, jejíž účast nám tak dobře vysvětluje novorozenecké záchvaty z nedostatku pyridoxinu. Zatím však zůstává otázkou, do jaké míry se inhibiční faktory účastní na běžné lidské epilepsii. Experimenty přinesly i mnoho faktických dokladů pro důležitost přeměny kyseliny glutamové a amoniaku pro vznik řady křečových stavů. Řadu dalších faktů přinesl výzkum vyňatých epileptogenních ložisek při operacích. U těchto excizí bylo potvrzeno, že spotřeba kyslíku, výdej CO_2 , aerobní oxydace a anaerobní glykolýza se neliší od poměrů ve zdravé tkáni (Elliot a Penfield). Tower a Elliot prokazují, že řezy z normální a epileptogenní tkáně produkují stejné množství volného acetylcholinu, ale vázaného tvoří více normální tkáň. To znamená, že fokální ložisko nedovede skladovat acetylcholin v inaktivní formě. Přidání glutaminu nebo asparaginu tento jev odstraní. Výzkum KGAM u lidí je v plénkách. Zajímavý názor vyslovují Roberts, Rothstein a Baxter, kteří zjistili, že dekarboxyláza kyseliny glutamové a transamináza KGAM jsou sice aktivní při pH 7, 4, ale že optimální pH pro dekarboxylázu je 6,5 a pro transaminázu je to při 8, 2. Proto při acidóze nastává zvýšení aktivity dekarboxylázy kyseliny glutamové, tím zvýšení hladiny KGAM a tím snížení záchvatové pohotovosti. Při alkalóze naopak zvýšením aktivity transamináz se hladina KGAM snižuje a záchvatová pohotovost stoupá. Stejně vlivem na pH vysvětlují Koch a Woodbury antikonvulzivní účinek CO_2 a diamoxu, tj. snížením intracelulárního pH se sníží pohotovost k záchvatu. Nesporný je význam KGAM pro rozvoj epileptických záchvatů po podání hydrazidů (INH), jak jsem se již zmínil. Většina zatímních výsledků však nasvědčuje

tomu, že hlavním činitelem i u lidské epilepsie je porucha metabolismu kyseliny glutamové a amoniaku. Tento systém je spojen s metabolismem vysokomolekulárních dusíkatých sloučenin, zejména bílkovin, a je centrálním uzlem přeměny glukózy na aminokyseliny. V mozku nastává velmi aktivní dekarboxylace kys. glutamové na KGAM a vzniká tedy otázka o úloze této reakce ve funkčním metabolismu tkáně (Roberts, Frankel). Kromě toho je tu značně aktivní glutamínáza, která uvolňuje z glutaminu amoniak. Přesto tím není možno vysvětlit vznik všeho amoniaku. Systém kys. glutamová — glutamín má spíše význam pro vazbu amoniaku než pro jeho vznik (Folbergrová). Vrba formuloval hypotézu o úloze tohoto systému pro funkční aktivitu a následující odpočinek mozku, odkazují v podrobnostech na jeho práci. Zatím je tu mnoho nejasného, mnoho jen tušeného, ale tímto směrem probíhá nejintenzivnější výzkum a jistě již brzo přinese své výsledky. Kdyby se potvrdila správnost závěru práce Hsüeh-Ch'í-minga o tom, že existuje vztah mezi obsahem amoniaku a klinickým stavem nemocného, bylo by např. možno z vyšetření likvoru po proběhlém záchvatu říci podle hladiny amoniaku, zda šlo o záchvat epileptický nebo nikoli.

Biochemie dosud neřekla své poslední slovo k epilepsii. Stojíme vlastně teprve na počátku poznání biochemických mechanismů. Již nyní se však zdá, že stejně, jako jsou různorodé klinické projevy epilepsie, jsou i různorodé biochemické pochody, které se na vzniku záchvatu účastní a patrně se nepodaří všechny záchvaty převést na společného jmenovatele. Biochemie nervového systému se prudce rozvíjí. Na výsledky její práce v dalších letech jsme právem zvědaví.

Souhrn

Autor podává přehled novějších poznatků z biochemie epilepsie podle dostupné literatury. Uvádí 6 typů experimentálních epileptických záchvatů podle biochemických zvláštností a širše se dotýká otázky inhibičních působků, zejména kyseliny γ -aminomáselné. U lidské epilepsie zdůrazňuje poruchu metabolismu kyseliny glutamové a amoniaku. Výzkum inhibičních působků u lidské epilepsie je dosud v počátcích. Zdá se, že na vzniku epileptických záchvatů se účastní různorodé biochemické pochody a že se patrně nepodaří všechny záchvaty převést na společného jmenovatele

Písemnictví

1. Ackermann D., Kutscher F.: Z. physiol. Chem. 69, 265, 1910.
2. Benitez D., Pscheidt G. R., Stone W. E.: Am. J. Physiol. 176, 488, 1954.
3. Buffa P., Peters R. A.: J. Physiol. 110, 488, 1949.
4. Daniel E. P., Kline O. L., Tolle C. D.: J. Nutr. 23, 205, 1942.
5. Dawson R. M. C., Richter D.: Am. J. Physiol. 160, 203, 1950.
6. Eccles J. C.: The Physiology of Nerve Cells. Baltimore, The Johns Hopkins Press, 1957.
7. Elliot K. A. C., Kalnitsky G.: J. Biol. Chem. 186, 487, 1950.
8. Elliot K. A. C.: „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
9. Elliot K. A. C., Penfield W.: cit. Elliot, „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
10. Florey E.: Naturwissenschaften 40, 413, 1953.
11. Folbergrová J.: Čs. fysiol. 10, 13, 1961.

12. Folbergrová J.: Nature — v tisku.
13. Gurdjian E. S., Webster J. E., Stone W. E.: A. Res. Nerv. Dis. Proc. 26, 184, 1947.
14. Hayashi T.: Nature 182, 1078, 1958.
15. Horák J.: Lék. listy 8, 449, 1953.
16. Hsueh-Ch'-ming: Exc. med. VIII., 1361, 1960.
17. Hunt A. D., Stokes J., McCrory W. W., Stroud H. H.: Pediatrics 13, 140, 1954.
18. Killam K. F., Bain J. A.: J. Pharmacol. 119, 255, 1957.
19. Klein J. R., Olsen N. S.: J. Biol. Chem. 167, 747, 1947.
20. Koch A., Woodbury D. M.: J. Pharmacol. 122, 335, 1958.
21. Koloušek J., Lodin Z.: Physiol. bohemoslov. 8, 129, 1959.
22. Kostka Z., Brož O.: Čas. lékař. Čes. 92, 1145, 1953.
23. Lang B., Kubiček R.: Aktiv. nerv. super. 2, 4, 1960.
24. Lodin Z., Koloušek J.: Čs. neurolog. XIX., 83, 1960.
25. Lodin Z., Koloušek J.: Physiol. bohemoslov. 5, 43, 1956.
26. Lotspeich W. D., Peters R. A., Wilson T. H.: Biochem. J. 51, 20, 1952.
27. Makino K., Koike M.: Nature 174, 1056, 1954.
28. McGeer E. G., McGeer P. L., McLennan H.: J. Neurochem. 8, 36, 1961.
29. McIlwain H.: „Biochemistry and central nervous system“. London 1959.
30. Naruse H., Kato M., Kurokawa M., Haba R., Yabe T.: J. Neurochem. 5, 359, 1960.
31. Nishizawa Y.: cit. podle Langa a Kubička.
32. Penfield W.: cit. Stone W. E.: „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
33. Peters E. L., Tower D. B.: J. Neurochem. 5, 80, 1959.
34. Richter D., Crossland J.: Am. J. Physiol. 159, 247, 1949.
35. Roberts E., Frankel S.: J. Biol. Chem. 187, 55, 1950.
36. Roberts E., Frankel S., Harman P. J.: Proc. Soc. exp. Biol. 74, 383, 1950.
37. Roberts E., Rothstein H., Baxter C. F.: Proc. Soc. exp. Biol. 97, 796, 1958.
38. Roberts E., Younger F., Frankel S.: J. Biol. Chem. 191, 277, 1951.
39. Saperstein: cit. Elliot W. B.: „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
40. Stone W. E.: „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
41. Stone W. E.: Am. J. Physiol. Med. 36, 222, 1957.
42. Stone W. E., Kring Tews J., Mitchell E. N.: Neurology 10, 241, 1960.
43. Tower D. B., Elliot K. A. C.: cit. Elliot: „Neurochemistry“, ed. Elliot-Page-Quastel, Ch. C. Thomas, Springfield 1955.
44. Vrba R.: Usp. sovr. biol. 46, 322, 1956.