

4. Bei den beobachteten Hemmungen durch das im Versuch abgespaltene Phosphat sowie durch $\text{CO}_3''/\text{HCO}_3'$, handelt es sich grösstenteils um eine Verdrängungshemmung, indem Phosphat und Carbonat mit dem Substrat um die substratbindende Gruppe konkurrieren. Infolgedessen ergibt die Bestimmung von K_s in carbonathaltigen Puffern und auch bei zu weit gehender Substratspaltung fehlerhafte (zu hohe) Resultate. Die Hemmung durch NH_4 -Ionen verläuft nach dem gewöhnlichen Typus (non-competitive Inhibition).

5. Unter Verwertung eigener Beobachtungen und derjenigen anderer Autoren wird ein vereinfachtes Enzymmodell skizziert, das als Arbeitshypothese für weitere Untersuchungen dienen soll.

Herrn Prof. *Abelin*, der mich zur Durchführung dieser Untersuchungen veranlasst hat, möchte ich an dieser Stelle für sein Wohlwollen und sein Interesse hiermit herzlich danken.

Bern, Medizinisch-chemisches Institut der Universität.

62. Über die Cholinesterase des Elefantengehirns

12. Mitteilung über Cholinesterasen¹⁾

von **E. A. Zeller.**

(31. I. 49.)

Aus vielen Gründen bildet das Elefantengehirn ein interessantes Studienobjekt. Als sich die Gelegenheit bot, ein solches zu untersuchen²⁾, wurden einige Fragen der Physiologie und Chemie der Cholin-esterasen (ChE) geprüft, um das seit manchen Jahren gesammelte Material über die ChE verschiedener Tierarten³⁾ durch Daten ergänzen zu können, die vom Gehirn des einzigen Landtieres stammen, das ein grösseres Hirngewicht als der Mensch besitzt.

¹⁾ Die bisherigen Publikationen über die Cholinesterasen werden nach ihrem Erscheinungsdatum fortlaufend nummeriert, um künftighin die Literaturhinweise vereinfachen zu können: 1. Mitt. Helv. **23**, 1457 (1940); 2. Mitt. Helv. **23**, 1460 (1940); 3. Mitt. Helv. **24**, 120 (1941); 4. Mitt. Helv. **24**, 962 (1941); 5. Mitt. Helv. **24**, 1465 (1941); 6. Mitt. Helv. **25**, 216 (1942); 7. Mitt. Helv. **25**, 1099 (1942); 8. Mitt. Helv. **26**, 1619 (1943); 9. Mitt. Helv. **26**, 2063 (1943); 10. Mitt. Helv. **32**, 94 (1949); 11. Mitt. Helv. **32**, 338 (1949).

²⁾ Herrn Prof. Dr. *H. Hediger* sei für die Überlassung dieses und vieler anderer Materialien aus dem Zoologischen Garten Basel bestens gedankt.

³⁾ *E. A. Zeller, H. Birkhäuser, H. Mislin* und *M. Wenk*, Helv. **22**, 1381 (1939); ferner 1., 7. und 8. Mitt., 1. c.

Aus den Ergebnissen von *D. Nachmansohn*¹⁾, *G. Pighini*²⁾ und *H. Birkhäuser*³⁾ geht die „bemerkenswerte Tatsache hervor, dass die ChE-Werte für die gleichen Hirnteile und für die gleichen Spezies sehr konstant sind, im Gegensatz zu den grossen Unterschieden zwischen den ChE-Werten verschiedener Hirnteile und verschiedener Spezies“⁴⁾. Es scheint somit sinnvoll zu sein, auch dann an einem Gehirn ChE-Messungen vorzunehmen, wenn keine Hoffnung besteht, in absehbarer Zeit Gehirne der gleichen Tierart zu erhalten.

Die ChE des Gehirnes ist ein Vertreter des e-Typs⁵⁾. Sie scheint eigenen und der Literatur entnommenen Resultaten zufolge im allgemeinen um so stärker wirksam zu sein, je kleiner das Gehirn ist. Es wurde durch die in der vorliegenden Publikation mitgeteilten Experimente die Frage zu beantworten versucht, ob die ChE des Elephantengehirns hinsichtlich der erwähnten Punkte sich ähnlich wie diejenige anderer Gehirne verhält.

Experimentelles.

Der weibliche indische Elefant, von dem das Gehirn stammte, war ungefähr 30–40 Jahre alt und wurde am 26. November 1947 wegen ausgeprägter Alterserscheinungen abgetan.

Als Messverfahren wurde, wie in den vorangehenden Arbeiten, das manometrische benutzt, und die Freisetzung von Kohlendioxyd aus einer Hydrogencarbonat-haltigen Lösung durch die enzymatisch entstehende Essigsäure verfolgt⁶⁾. Aus dem graphisch dargestellten Reaktionsverlauf wurden die Quotienten Q_{ACH} , Q_{MCh} und Q_{BCh} berechnet, die die Anzahl der pro Stunde und pro Gramm Frischgewebe entwickelten Mikroliter Kohlendioxyd angeben, wobei die Indices auf das angewandte Substrat — Acetylcholin, Acetyl- β -methylcholin, Benzoylcholin — hinweisen. Die von *D. Nachmansohn* eingeführten Quotienten sind mit dem Faktor 1530 zu multiplizieren, um sie in die hier definierten umzuwandeln.

Die *Birkhäuser*'sche Vorschrift zur Untersuchung der ChE des Menschenhirns⁷⁾, die im übrigen genau befolgt wurde, erfuhr zwei Änderungen: Die Gewebe wurden nicht mit Reibschale und Quarzsand, sondern mit einem gläsernen Homogenizer zerrieben⁸⁾, womit auch die Filtration der Gewebssuspension hinfällig wurde. Ferner wurde eine 0,0075-m. statt einer 0,0225-m. Acetylcholin-Konzentration gewählt, da die letztere, wie spätere Untersuchungen zeigten⁹⁾, überoptimal ist. Die erstere liegt nahe beim Optimum (0,005-m.¹⁰⁾) und erlaubt die Verfolgung der Hydrolyse mit hinreichender Genauigkeit.

¹⁾ Bull. soc. chim. biol. **21**, 760 (1939).

²⁾ Riv. sper. freniatr. **62**, 439 (1938).

³⁾ Helv. **23**, 1071 (1940).

⁴⁾ Übersetzt aus *D. Nachmansohn*, The Role of Acetylcholine in the Mechanism of Nerve Activity, Vitamins and Hormones **3**, 337 (1945); und zwar pag. 346.

⁵⁾ 7. und 8. Mitt., I. c.; *B. Mendel* und *H. Rudney*, Biochem. J. **37**, 59 (1943). Zusammenfassung: *E. A. Zeller*, Advances in Enzymology **8**, 459 (1948).

⁶⁾ Vgl. vorangehende Mitteilungen und die darin enthaltenen Literaturhinweise, desgleichen *H. Langemann*, Helv. **25**, 464 (1942).

⁷⁾ *H. Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).

⁸⁾ Eine Beschreibung des benützten Homogenizer findet sich bei *F. Roulet* und *E. A. Zeller*, Helv. **31**, 1915 (1948).

⁹⁾ 8. Mitt., I. c.

¹⁰⁾ Dieser Wert wurde am Menschenhirn ermittelt (8. Mitt., I. c.).

Ergebnisse.

Die beiden ChE-Typen unterscheiden sich durch ihr Verhalten gegenüber Acetyl- β -methyl-cholin, Benzoyl-cholin, Coffein und hohen Acetyl-cholin-Konzentrationen. Der e-Typ („echte“ ChE) greift nur das erstere Substrat an und wird durch hohe Acetyl-cholin-Konzentrationen und durch Coffein gehemmt, während der s-Typ („Pseudo“-ChE) nur die Hydrolyse des letztern Substrats beschleunigt und weder durch hohe Acetyl-cholin-Konzentrationen noch durch Coffein eine Aktivitätsverminderung erfährt¹⁾.

Tabelle 1.

Abbau von basischen Estern durch Elefantengehirn.

Substrate: 0,0075-m. (Endkonzentration); Volumen der Reaktionsmischung: 2.0 Milliliter.

Hirnteil	Q_{ACh}	Q_{MCh}	$\frac{Q_{ACh}}{Q_{ACh}}$	Q_{BCh}	$\frac{Q_{ACh}}{Q_{BCh}}$
Weisse Substanz . . .	220				
Rinde (grau). . . .	440	300	1.5	260	1.7
Thalamus	1260	620	2.0	280	4.5
N. caudatus	9300	5600	1.7	160	58.2
„Gehirn“ ²⁾	2740	1960	1.4	140	19.6

Aus der Tabelle 1 geht hervor, dass die verschiedenen Hirnteile nicht nur Acetyl-cholin, sondern auch dessen Methyl-Derivat in erheblichem Ausmass hydrolysieren können. Das Verhältnis der beiden Reaktionsgeschwindigkeiten ist annähernd dasselbe (1.5–2.0), obwohl die absoluten Werte um rund das Zwanzigfache variieren. Dieses Ergebnis spricht für die Identität der für die Hydrolyse der beiden Substrate verantwortlichen Fermente.

Wesentlich anders verhält sich der Abbau von Benzoyl-cholin, der durch die Suspensionen der verschiedenen Hirnteile mit nahezu gleichmässiger Geschwindigkeit beschleunigt wird. Das Verhältnis der Hydrolyse-Geschwindigkeiten von Acetyl-cholin und Benzoyl-cholin schwankt um das 24fache, ein Hinweis auf das Vorhandensein zweier Fermente. Es ist schon lange bekannt, dass im Gehirn neben einem Acetyl-cholin abbauenden Ferment noch eine oder mehrere andere Esterasen vorhanden sind. So werden beispielsweise Buttersäureäthyl-ester³⁾, Salicylsäurephenyl-ester⁴⁾ und Chloressigsäureäthyl-ester⁵⁾ durch Hirnextrakte hydrolysiert.

¹⁾ Eine eingehendere Diskussion dieser Fragen und Literaturhinweise finden sich in der 10. Mitteilung, l. c.

²⁾ K. B. Augustinsson, Acta Physiol. Scand. **15**, Suppl. 52 (1948), pag. 65.

³⁾ C. Quinan, J. Med. Res. **35**, 79 (1916).

⁴⁾ H. M. English und C. G. McArthur, Am. Soc. **37**, 653 (1915).

⁵⁾ Dieser Ester wird zu einem kleinen Teil durch die e-ChE des Gehirns, zu einem grössern Teil aber durch eine weitere Esterase angegriffen: unpublizierte Versuche.

Die Ergebnisse von *K.-B. Augustinsson*¹⁾ über die ChE des Elephantengehirns, die nach der Durchführung der vorliegenden Versuche publiziert wurden, stehen mit diesen in Übereinstimmung, wie aus Tabelle 1 hervorgeht. Der Hirnteil, dem die ChE entstammte, wurde nicht genannt.

Da Acetyl-cholin und Benzoyl-cholin höchst wahrscheinlich durch verschiedene, Acetyl-cholin und Acetyl- β -methyl-cholin durch das gleiche Enzym angegriffen werden, so ist das letztere als e-ChE zu bezeichnen.

Tabelle 2.

Coffein-Hemmung der ChE des Nucleus caudatus des Elephantengehirns.

ACh-Konzentration	Q_{ACh}	Coffein-Konzentration	$Q_{ACh, Cff.}$	Hemmung
0,01-m.	8100	0,0065-m.	4100	49%
0,025-m.	7300	0,005-m.	3480	52%

Diese Schlussfolgerung wurde durch weitere Experimente bestätigt. So hemmte Coffein in üblichem Ausmass die ChE des Elephantengehirns (Tabelle 2).

Aus dem Vergleich der Q_{ACh} -Werte für Nucleus caudatus in den Tabellen 1 und 2 geht weiterhin hervor, dass die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Substratkonzentration abnimmt, ein Verhalten, das für die e-ChE typisch ist.

Tabelle 3.

ChE-Aktivität in den Gehirnen verschiedener Tierarten.

Die Werte stammen teils aus der Literatur, teils aus Tabelle 1. Die Bestimmungen sind nicht unter den gleichen Bedingungen durchgeführt worden (vgl. Experimentelles), dürfen aber doch zu vergleichbaren Resultaten geführt haben. Die Hirngewichte nehmen in der angegebenen Reihenfolge zu. Die Zahlen geben die Q_{ACh} -Werte an.

Hirnteil	Kaninchen ²⁾	Ochse ²⁾	Mensch ³⁾ ♀	Elefant ♀
Weisse Substanz .	—	310	—	220
Rinde (grau) . . .	10700	3820	2450	440
Thalamus	18300	7650	4280	1260
N. caudatus . . .	88200	66500	42800	9300

Die Verteilung der ChE-Aktivität im Elephantengehirn ist in grossen Zügen dieselbe, wie sie für das Zentralnervensystem anderer Arten gefunden wurde (Tabelle 3). Die absoluten Werte sind bei weitem die

¹⁾ L. c.

²⁾ *D. Nachmansohn*, Vitamins and Hormones **3**, 337 (1945).

³⁾ *H. Birkhäuser*, l. c.

geringsten aller bisher geprüften Säugergehirne. Sie stimmen somit mit der allgemeinen Tendenz überein, dass mit zunehmendem Hirngewicht die ChE-Werte kleiner werden (Tabelle 3).

Es ist kaum zu erwarten, dass die angedeutete Gesetzmässigkeit für systematisch weit auseinanderliegende Säugerarten streng gültig ist. Hingegen wäre es von Interesse zu erfahren, wie weit sie bei nahe verwandten Tieren von verschiedener Körper- und Gehirngrösse erfüllt ist. In diesem Zusammenhang wurde die ChE des (Gesamt-) Gehirns der weissen Maus und Ratte miteinander verglichen. Q_{Ach} des Rattenhirns beträgt nach eigenen Untersuchungen im Mittel 3500 (Acetyl-cholin: 0,005-m.), während für das Maushirn Q_{Ach} den Wert 10800 (Acetyl-cholin: 0,003-m.) erreicht¹⁾.

Zusammenfassung.

1. Die Cholin-esterase des Elefantengehirns baut neben Acetylcholin auch Acetyl- β -methylcholin ab. Die geringe Hydrolyse von Benzoylcholin in Gegenwart von Hirnsuspensionen ist wahrscheinlich auf die Wirkung einer weiteren Esterase zurückzuführen. Hohe Substratkonzentrationen und Coffein setzen die Reaktionsgeschwindigkeit herab. Diese Eigenschaften sind für den α -Typ der Cholin-esterase („echte“ ChE) charakteristisch.

2. Die ChE-Aktivität von weisser Substanz, grauer Rinde, Thalamus opticus und Nucleus caudatus des Elefantengehirns nimmt in der angegebenen Reihenfolge zu.

3. Die Q_{Ach} -Werte des Elefantengehirns sind wesentlich geringer als die aller bisher geprüften Säugergehirne. Sie stimmen daher mit der allgemeinen Tendenz der kleiner werdenden ChE-Aktivität mit zunehmendem Hirngewicht überein.

Herrn Prof. Dr. A. Werthemann danke ich bestens für die Erlaubnis zur Durchführung der Versuche in seinem Institut, und Frl. I. Muhr für die wertvolle Mitarbeit.

Pathologisch-anatomische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ B. Mendel und H. Rudney, Biochem. J. **37**, 59 (1943).