

10. Daniele BOVET. — L'utilizzazione del polmone d'acciaio nello studio della tolleranza di dosi elevate di sostanze curarizzanti.

Riassunto. — Studiando alcuni prodotti curarizzanti naturali e di sintesi, si è comparata la durata di azione e la tolleranza sul cane sottoposto alla respirazione controllata per un lungo periodo di tempo in un polmone di acciaio.

Nelle condizioni descritte la durata massima della completa curarizzazione compatibile con la sopravvivenza è stata da sei a otto ore; con alcuni curari di sintesi si è constatato che era possibile far sopravvivere degli animali che avevano ricevuto in una sola volta una dose di prodotto corrispondente a 300 dosi mortali.

Résumé — Usant différents produits curarisants naturels ou synthétiques, on a comparé la durée de leur action et leur tolérance chez le chien soumis, dans un poumon artificiel, à une respiration contrôlée de longue durée.

Dans les conditions décrites la durée maxima de la curarisation complète compatible avec la survie, a été de 6 à 8 heures; avec certains curares de synthèse on a constaté qu'il était possible d'assurer une survie indéfinie à des animaux qui avaient reçu en une seule injection une dose 300 fois supérieur à la dose mortelle.

Summary. — Using different curarising drugs, both natural and synthetic, the duration of their action and their tolerance has been compared in the dog under artificial respiration for long periods in an « iron lung ».

Under the conditions described, the maximum duration of complete curarisation and their survival is from 6 to 8 hours. With certain synthetic curares it has been found possible to prolong life indefinitely in animals which had received, in a single dose, products corresponding to 300 times the letal dose.

Zusammenfassung. — Beim Studium einiger natürlicher und künstlicher Produkte mit Curare-Wirkung wurden Aktionsdauer und Verträglichkeit am in einer eisernen Lunge während längerer Zeit kontrollierter Atmung unterworfenen Hund verglichen.

Unter den beschriebenen Bedingungen war die Höchstdauer völliger Curarelähmung, die ein Ueberleben garantierte, sechs bis acht Stunden; mit einigen synthetischen Produkten wurde die Möglichkeit festgestellt, unbegrenztes Ueberleben von Tieren, die eine 300 fache letale Dosis erhalten hatten, zu erreichen.

L'appellativo di farmaci «curarizzanti» è stato attribuito, dopo le ricerche di Crum Brown, di Boehm e di Santesson, a un gran numero di sostanze che, nell'esperienza elementare praticata sulla rana, dimostrano di abolire l'azione del nervo sciatico sul muscolo gastrocnemio senza per questo sopprimere l'eccitabilità diretta del muscolo stesso.

Oggi, date le ricerche chimiche realizzate in questo campo e l'applicazione dei curari in clinica, la distinzione fra vere sostanze curarizzanti e sostanze che manifestano soltanto qualcuno degli effetti di questo tipo, si rende sempre più necessaria.

Per raggiungere questo scopo noi disponiamo attualmente di tre tipi di tecnica che corrispondono a tre stadi della ricerca:

1) *I metodi esplorativi* di cui il più noto è il «head-drop method» che consiste a somministrare al coniglio una dose limite di prodotto da saggiare, suscettibile di provocare nel 50% degli animali un rilasciamento dei muscoli della nuca tale che l'animale sia obbligato di poggiare la testa al suolo.

Con tecniche appropriate, si può anche ricercare il rilasciamento di altri gruppi di muscoli, e particolarmente di quelli dell'addome, il che, da un punto di vista clinico, riveste un interesse particolare.

2) *I metodi analitici* i quali presentano nella determinazione dell'attività curarica, un'importanza del tutto particolare. Nel cane, per esempio, si ricercherà la relazione che si può stabilire fra la sparizione dell'attività spontanea e l'ineccitabilità della preparazione neuro-muscolare, o allora le azioni generali sul sistema cardiovascolare e vegetativo.

3) *I metodi di controllo* che rappresentano la garanzia necessaria prima di un'ulteriore utilizzazione clinica. Questi metodi consistono essenzialmente nel mantenere sia il coniglio che il cane in respirazione artificiale, permettendo di precisare così il margine esistente fra la durata dell'azione e gli eventuali effetti secondari.

Uno dei miei collaboratori, il dott. V. G. Longo, ha descritto in un precedente articolo le osservazioni da lui compiute sul coniglio ⁽¹⁾. Io mi limiterò a descrivere dunque qui i risultati ottenuti nel cane con i differenti curari sperimentati.

In linea generale, il cane costituisce un test assai più severo per la prova di tali farmaci, essendosi esso rivelato assai più sensibile agli effetti secondari di queste sostanze.

I risultati che noi abbiamo così riuniti per lo studio dei curari di sintesi, vengono a completare quelli realizzati nei diversi laboratori con la d-tubocurarina.

(1) V. G. LONGO, Questi Rendiconti.

Utilizzando l'Intocostrine, A. E. Bennett ⁽²⁾ riporta che Mc Intyre ha potuto iniettare, senza provocare la morte, una dose di curaro che corrispondeva per il cane a 50 volte la dose mortale. M. A. Pearlstein e A. Weinglass ⁽³⁾ sono stati i primi a ricercare sistematicamente nel cane la resistenza a una curarizzazione prolungata, ricorrendo per questo a una istillazione continua. I loro risultati sono stati negativi poichè su tre cani, uno moriva rapidamente per ostruzione delle vie respiratorie, il secondo dopo tre ore e il terzo dopo 8 ore e 20 minuti di curarizzazione completa. Nel caso in cui la curarizzazione non era che parziale, la morte è ciò malgrado sopravvenuta negli altri animali messi in esperienza rispettivamente dopo 2, 27 e 45 ore.

Harroun, Beckert e Fischer ⁽⁴⁾ hanno riportato la sopravvivenza di 2 gruppi di 25 cani che avevano presentato un'apnea curarica completa in seguito all'iniezione di 40 e 56 mg. Questi Autori hanno anche osservato la sopravvivenza definitiva di un cane che aveva ricevuto 1 g di curaro, corrispondente a 25 dosi tossiche e nel quale i movimenti respiratori non avevano ripreso che dopo 11 ore e 45 minuti, mentre un altro animale che aveva ricevuto la stessa dose, moriva dopo 6 ore.

Dopo somministrazione di 4 g di curaro, questi Autori osservarono il ritorno della respirazione spontanea in capo a 42 ore. L'animale però morì poche ore dopo.

Allo scopo di stabilire condizioni uniformi e favorevoli per la sopravvivenza degli animali in esperimento, noi abbiamo utilizzato per le nostre prove un apparecchio del tipo « polmone d'acciaio » specialmente costruito per quest'uso ⁽⁵⁾.

Abbiamo regolarmente osservato l'effetto di una dose unica di prodotto amministrata in una sola volta e da questo punto di vista, le condizioni sperimentali adottate sono state più severe che non quelle cliniche abituali. Il solo farmaco di cui ci siamo serviti è stato l'atropina e questo per evitare l'ostruzione dei bronchi e, dopo la fine dell'esperimento, di iniezioni di penicillina. Abbiamo poi amministrato siero glucosato quando la curarizzazione doveva prolungarsi al di là di 12 ore. E' assai probabile che avremmo potuto ottenere delle sopravvivenze più prolungate con le iniezioni successive di dosi frazionate, ma dato lo scopo che noi ci proponevamo e cioè di paragonare i diversi curari, questo modo di fare non ci avrebbe permesso di farlo così chiaramente.

(2) A. E. BENNETT, Am. J. Psychiatr., 97, 1040 (1941).

(3) M. A. PEARLSTEIN e A. WEINGLASS, Am. J. Dis. Child., 67, 360 (1944).

(4) P. HARROUN, F. E. BECKERT e C. W. FISHER, Surgery Gynecol. and Obst., 84, 491 (1947).

(5) S. PALADINO, Questi Rendiconti.

TABELLA I.

D-TUBOCURARINA

Cane	Peso Kg.	Dose mg/kg.	Numero di dosi	Premedicazione	Durata della curarizzazione	Durata della esperienza	Condizioni alla fine dell'esperienza
a) cane normale							
10-11-47	8 m.	0,2			Head drop 5 min.		
11-11-47	9,500 f.	0,4			Curarizzazione 35 min.		
15- 1-48	4 m.	0,5			Morto in 20 min.		
12-11-47	9,500 f.	0,70			Morto in 5 min.		
b) cane in respirazione controllata							
30- 4-48	4,900 f.	0,8	1,6		1 h.		Sopravvivenza
30- 4-48	5 m.	1	2		30 min.		Sopravvivenza
19- 8-48	7,800 m.	2	4		3 h.	4 h.	Morte nell'apparecchio
20- 8-48	5,700 m.	2	4		2 h. 40	4,30	Sopravvivenza
5- 5-48	6 f.	3	6		4 h.	7 h. 30	Sopravvivenza
20- 1-49	7,200 m.	4	8	Atropina 1 mg	5 h.		Morte nell'apparecchio
11- 8-48	8,500 f.	5	10	Atropina 1 mg	8 h.	9 h	Morto 1 ora dopo uscito dall'apparecchio
12- 8-48	5,300 f.	5	10	Atropina 1 mg			Morto immediatamente dopo l'iniezione
5-11-48	7,500 f.	6	12	Atropina 1 mg	9 h.	9 h.	Morto nell'apparecchio
17- 5-48	8,500 m.	10	20	Atropina 1 mg			Morto immediatamente dopo l'iniezione

TABELLA II.

β -DIDROERITROIDINA

Cane	Peso Kg.	Dose mg/kg.	Numero di dosi	Premedicazione	Durata della curarizzazione	Durata della esperienza	Condizioni alla fine dell'esperienza
a) cane normale ⁽¹⁾							
		0,75			Curarizzazione		
		1,5			Morte		
b) cane in respirazione controllata							
16-8-48	7,800 f.	5,0	3,3		30 min.	45 min.	Sopravvivenza
17-8-48	7,200 f.	10,0	6,6		30 min.	40 min.	Sopravvivenza
18-8-48	10,100 f.	20,0	13,3		1 h. 30	2 h. 10	Sopravvivenza

⁽¹⁾ Secondo H. F. CHASE, A. J. LEHMANN e E. RICKARDS, J. Pharmacol., 82, 266 (1944).

TABELLA IV. DIODOETILATO DEL SUCCINATO DI BIS-DIMETILAMINOETILE (362 I. S.)

Cane	Peso Kg.	Dose mg/kg.	Numero di dosi	Premedicazione	Durata della curarizzazione	Durata della esperienza	Condizioni alla fine dell'esperienza
a) cane normale							
27-9-48	19 m.	0,1			Atassia fugace		
	19 m.	0,2			Paralisi respiratoria		
	10,500 m.	0,3			Morte in 10 min.		
b) cane in respirazione controllata							
1-9-48	3,100 m.	1 mg.	3,3		15 min.	30 min.	Sopravvivenza
30-8-48	7,100 m.	2 mg.	6,6		35 min.	1 h. 15	Sopravvivenza
4-9-48	5 m.	5 mg.	16,6		1 h. 20	2 h.	Sopravvivenza
27-8-48	4,500 f.	10 mg.	33,3	Atropina 1 mg	1 h. 20	2 h. 45	Morto durante la notte
31-8-48	4,500 m.	20	66,6		2 h. 35	4 h. 30	Sopravvivenza
23-11-48	10 f.	100	333	Atropina 1 mg	8 h. circa	12 h.	Sopravvivenza

TABELLA III TRIODOETILATO DI TRI-(β -DIETILAMMINOETOSI)-1,2,3-BENZENE (2539 F., FLAXEDIL, SINCURARINA)

Cane	Peso Kg.	Dose mg/kg.	Numero di dosi	Premedicazione	Durata della curarizzazione	Durata della esperienza	Condizioni alla fine dell'esperienza
a) cane normale							
6- 2-48	5,450 m.	0,4			Head drop 8 min.		
6- 2-48	7,500 f.	0,6			Head drop 90 min.		
	7,600 f.	0,8			Morto in 10 min.		
	5,700 f.	1,8			Morto in 4 min.		
b) cane in respirazione controllata							
22-12-48	5,200 m.	2,0	2,5		30 min.	1 h.	Morto il giorno dopo
7- 9-48	11,800 m.	5,0	6,1		2 h. 25	4 h.	Sopravvivenza
24- 8-48	3,800 f.	5,0	6,1		1 h. 45	2 h. 45	Sopravvivenza
19-12-48	5,500 m.	5,0	6,1		2 h. 45	3 h. 30	Morto (ascesso al polmone)
25- 8-48	6,700 f.	10,0	12,2		3 h. 30	4 h. 15	Sopravvivenza
29- 4-48	5,200 m.	16,0	20		4 h. 30	5 h. 30	Sopravvivenza
12- 5-48	8,500 m.	20	25		5 h. circa	7 h.	Morto il giorno dopo
29- 5-48	10 m.	20	25		6 h.		Sopravvivenza
15- 1-49	4,300 f.	30	36		6 h. 20	9 h.	Sopravvivenza
19- 1-49	6,500 m.	40	50	Atropina 1 mg	5 h.	7 h.	Morto
6-12-48	7,200 m.	50	61		12 ore circa		Morto il giorno dopo
12- 5-48	6,150 f.	60	75	Atropina 1 mg	11 ore circa		

DIODURO DI DECAMETILENE BIS-TRIMETILAMMONIO (C₁₀)

TABELLA V.

Cane	Peso Kg.	Dose mg/kg.	Numero di dosi	Premedicazione	Durata della curarizzazione	Durata della esperienza	Condizioni alla fine dell'esperienza
a) cane normale							
8-8-48	7,200 m.	0,1			Atassia fugace		
8-8-48	4,400 f.	0,2	1		Morto in 8 min.		
15-1-49	6,000 f.	0,2			Morto in 10 min.		
b) cane in respirazione controllata							
20-11-48	8,100	0,3	1,5		20 min.	1 h.	Sopravvivenza
21- 3-38	5,700	0,4	2		20 min.	1 h. 30	Sopravvivenza
9- 8-48	9 m.	0,5	2,5		2 h. 45	3 h. 30	Sopravvivenza
5-10-48	4 m.	0,8	4		2 h. 15	2 h. 34	Sopravvivenza
7- 8-48	11,500 m.	1,0	5		3 h. 30	6 h.	Sopravvivenza; il giorno dopo resta parzialmente paralizzato
11-10-48	8,800 f.	2,0	10	Atropina 1 mg	3 h.	4 h.	Sopravvivenza
11-10-48	11,100 f.	2,0	10	Atropina 1 mg	3 h. 30	5 h. 15	Il giorno dopo paralisi parziale.
6- 8-48	9 m.	2,0	10		4 h. 10	5 h. 15	Paralisi; morte dopo tre giorni.
12-10-48	11,800 f.	5,0	25		7 h.	11 h.	Morte dentro l'apparecchio
23-11-48	7,500 m.	5,0	25		6 h. circa	12 h. 30	Morto dopo sei giorni

Alla d-tubocurarina abbiamo paragonato la diidroeritroidina ⁽⁶⁾ e tre prodotti di sintesi, il 2559 F. [triiodoetilato di tri-(β -dietilammino etilossi)1,2,3-benzolo] o Flaxedil o Sincurarina ⁽⁷⁾, il 362 I. S. (diiodoetilato del succinato di bis-dimetilamminoetile ⁽⁸⁾ e il prodotto C₁₀ (diioduro di decametilene bis-trimetilammonio) ⁽⁹⁾.

I risultati delle diverse esperienze sono stati riuniti in 5 tabelle, e i risultati generali riportati sommariamente nella tabella VI.

TABELLA VI.

	Numero delle prove	Dose minima curarizzante mg/kg	Dose tossica mg/kg.	Dose massima tollerata in respirazione controllata mg/kg	Numero di dosi tossiche tollerate dall'animale in respirazione controllata	Durata massima della curarizzazione
I = Tubocurarina	10	0,2	0,5	3	6	7 h. 30
II = Diidro- β -eritroidina	3	0,75 ⁽⁴⁾	1,5	20 ⁽²⁾	13 ⁽²⁾	1 h. 30 ⁽²⁾
III = 2559 F.	12	0,4	0,8	40	50	6 h. 20
IV = 362 I. S.	6	0,2	0,3	100	300	8 h.
V = C ₁₀	10	0,1	0,2	5	25	6 h.

⁽⁴⁾ Secondo CHASE e Coll., loc. cit.

⁽²⁾ Le prove sono state limitate dalla quantità di prodotto di cui disponiamo e queste cifre sono probabilmente al di sotto del limite che potrebbe essere raggiunto.

Da tutto quel che precede si può osservare che:

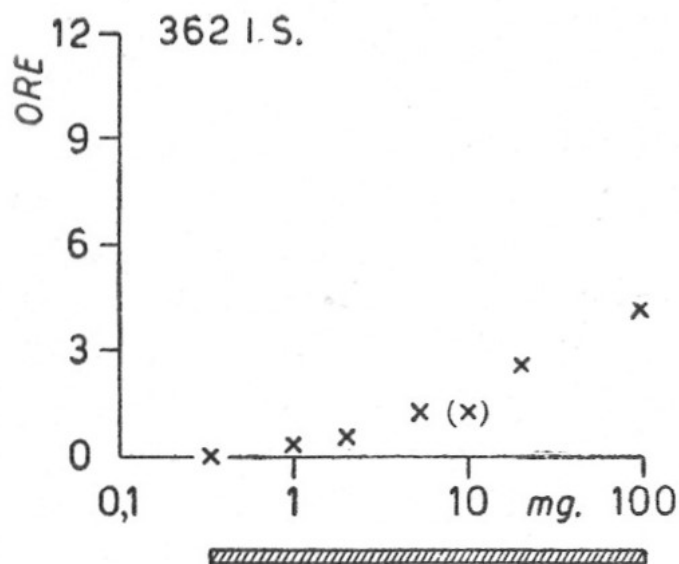
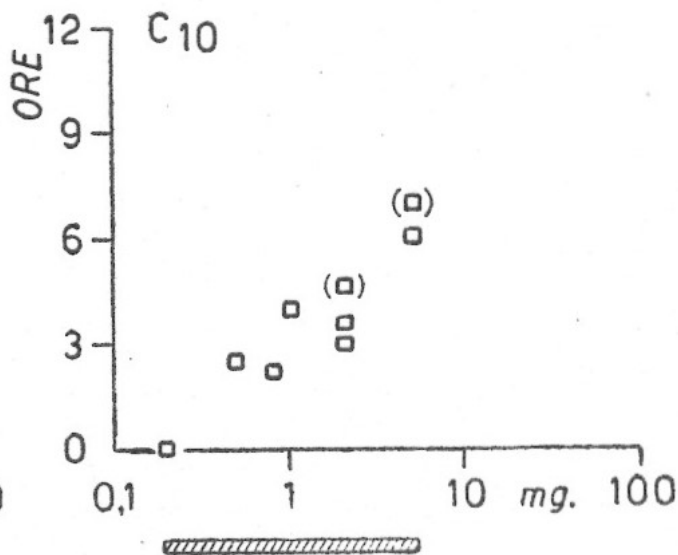
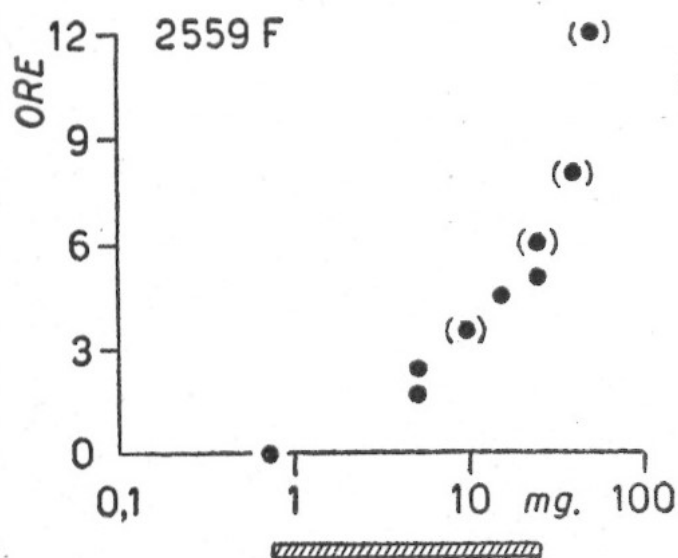
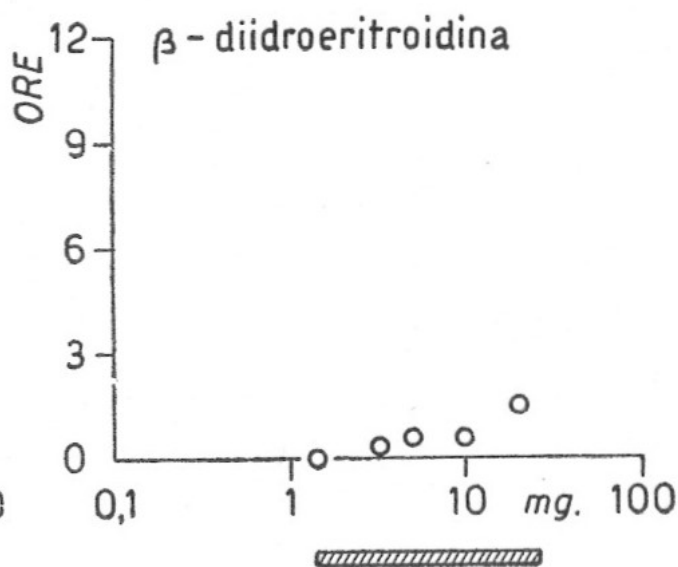
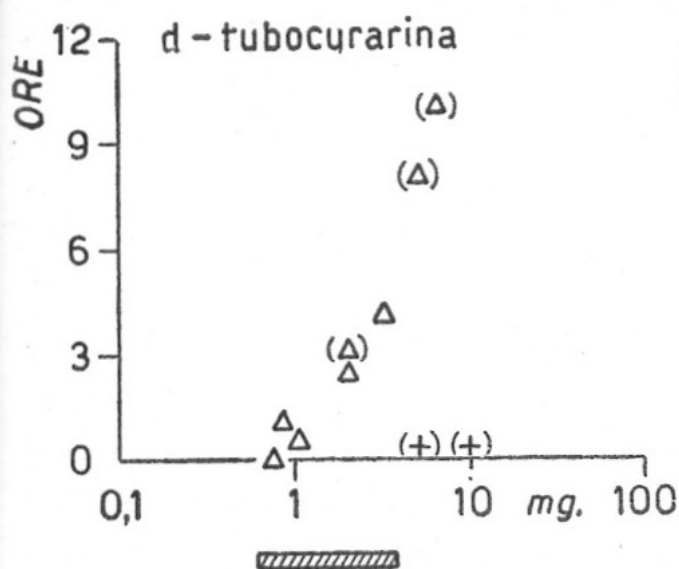
1) la d-tubocurarina provoca una curarizzazione estremamente prolungata e questo fatto spiega in parte la ragione per cui la respirazione artificiale non esercita in questo caso che una protezione limitata. Per quel che riguarda questo prodotto i risultati che abbiamo ottenuti sono assai inferiori a quelli riferiti da Harroun e dai suoi collaboratori: ciò può essere spiegato dal modo diverso con cui il prodotto viene amministrato, le iniezioni uniche e brutali operate da noi producendo uno shock che probabilmente non si verifica con le iniezioni frazionate praticate dagli altri Autori. Il metodo utilizzato per la respirazione artificiale ha anche la sua importanza: anche altri AA. prima di noi avevano già constatato che la tecnica dell'insufflazione si rivela come più efficace nel caso in cui si sia prodotta una broncocostrizione.

⁽⁶⁾ K. UNNA M. KNIAZK e J. G. GRESLIN, J. Pharmacol., 80, 39 (1944).

⁽⁷⁾ F. DEPIERRE, D. BOVET e Y. DE LESTRANGE, C. R. Ac. Sc., 225, 74 (1947).

⁽⁸⁾ D. BOVET, F. BOVET NITTI, S. GUARINO, V. LONGO e M. MAROTTA, Questi Rendiconti.

⁽⁹⁾ R. B. BARLOW e H. R. ING, Nature, 16, 718 (1948); W. D. M. PATON e E. J. ZAIMIS, Nature, 16, 718 (1948).



*Effetto di dosi elevate di differenti curari
sul cane in respirazione controllata.*

d-tubocurarina

β -diidroeritroidina

2559 F. = triiodoetilato di tri(β -dietilamminoetossi) 1,2,3-benzolo, (Flaxedil, Sincurarina)

362 I. S. = diiodoetilato del succinato di bis dimetilamminoetile

C₁₀ = diioduro di decametilene bis-trimetilammonio

Si è rappresentato sull'ordinata, la durata della curarizzazione completa; sull'ascissa, in scala logaritmica, le dosi iniettate dei differenti prodotti (mg/kg, via e. v.).

La linea orizzontale tratteggiata rappresenta il margine che separa la dose tossica del prodotto per l'animale normale dalla dose tossica per l'animale in respirazione controllata.

2) La durata massima della curarizzazione completa compatibile con la sopravvivenza è stata di 6 a 8 ore nelle esperienze realizzate con il 2559 F., con la d-tubocurarina e con il 362 I. S. Quando le dosi di curaro somministrate sono state molto elevate, i primi movimenti spontanei (della lingua in particolare e del faringe) non son seguiti che dopo un tempo abbastanza lungo dalla ripresa di una respirazione sufficiente per produrre l'ematosi, così che la respirazione controllata deve continuare per circa 12 ore.

3) Le esperienze di cui sopra ci permettono di dimostrare che con la d-tubocurarina, la β -diidroeritroidina, il 2559 F. e il 362 I. S. si può realizzare una curarizzazione prolungata con un'iniezione unica di sostanza senza che si abbiano a deplorare fenomeni d'intossicazione tardivi. E' così che abbiamo potuto conservare per più di un mese degli animali a cui era stato iniettato 6 volte la dose normalmente tossica di d-tubocurarina, 13 volte la dose tossica di diidro- β -eritroidina, 50 volte la dose tossica di 2559 F. e fino a 300 volte la dose tossica di 362 I. S. Da questo punto di vista i prodotti che esercitano un effetto transitorio e rapidamente reversibile sono quelli naturalmente in cui il margine di sicurezza si rivela il più grande. La sola eccezione è portata dal derivato C_{10} che senza che il fenomeno possa essere stato spiegato dalla quantità di prodotto iniettato, ma sempre però a dosi superiori a quelle normalmente tossiche ha provocato, in numerosi casi, paralisi durate parecchi giorni ⁽¹⁰⁾.

(10) Ringraziamo qui assai vivamente il Dr. J. A. Shannon (Squibb's Institute of Medical Research, New Brunswick N. J.) e il Dr. R. K. Richards (Abbott Research Laboratories, North Chicago Ill.) che ci hanno fornito con molta cortesia le quantità necessarie di d-tubocurarina; il Prof. H. Molitor (Merck Institute for therapeutic Research, Rahway N. J.) per la β -diidroeritroidina; il Prof. R. Paul (Rhone-Poulenc, Parigi) e il Dott. G. Bertini (Farmitalia, Milano) per il 2559 F.; il Prof. H. King (National Institute for Medical Research, Londra) e il Prof. H. R. Ing (Dept. of Pharmacology, University, Oxford) per il prodotto C_{10} .
