

12. S. GUARINO. — Considerazioni cinematiche sulla contrattura da acetilcolina.

Riassunto. — La curva della contrattura del muscolo retto addominale di Rana provocata da acetilcolina può essere considerata la rappresentazione grafica di una funzione analitica. Questa funzione è stata identificata nella relazione

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x} \quad (1)$$

che mette in rapporto l'altezza di contrazione raggiunta col tempo che è stato necessario per raggiungerla. Mentre finora si è considerato generalmente, nello studio della contrazione da acetilcolina, solo l'altezza, bisogna quindi invece prendere in considerazione anche il fattore velocità, di cui può essere preso come indice la costante k .

Questi due fattori differenti (altezza e velocità), risultanti dalla contrazione, possono essere differenziati anche da un'analisi farmacologica, mediante sostanze, come il blu di metilene, che in una contrazione da acetilcolina, aumentano l'altezza di contrazione e diminuiscono la velocità.

Ammissa la distinzione tra altezza e velocità, si è passati a vedere il comportamento di altre sostanze. Si è esaminata la contrazione provocata da prodotti di costituzione chimica vicina all'acetilcolina, rispetto alla acetilcolina stessa. Eseguendo la contrazione con quella quantità di sostanza che contragga il muscolo fino alla stessa altezza raggiunta con acetilcolina, si è osservato che nella contrazione da queste diverse sostanze, pur rimanendo valevole la relazione (1), viene raggiunta la stessa altezza di contrazione con velocità differente. Ognuna di queste sostanze è quindi rappresentata da un diverso valore della costante k , indice della velocità di contrazione.

Si può concludere quindi come la determinazione del valore della costante, ad altezza uguale, può servire all'identificazione di sostanze contratturanti biologiche.

Résumé. — La courbe de la contraction, provoquée par l'acétylcholine, du muscle droit abdominal de la grenouille, peut être considérée comme l'expression graphique d'une fonction analytique, fonction qui a été identifiée à la relation

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x} \quad (1)$$

qui établit le rapport entre la hauteur de la contraction atteinte à un instant donné, et le temps écoulé depuis le début de l'expérience. Alors que dans l'étude de la contraction acétylcholinique, on a jusqu'ici à peu

près exclusivement considéré la hauteur de la contraction, il importe par conséquent de considérer également la vitesse de la réaction, à laquelle correspond le facteur k , dans l'équation donnée.

Les deux facteurs (hauteur et vitesse) qui caractérisent la contraction, peuvent se trouver dissociés également par des méthodes pharmacologiques, au moyen des substances, telles que le bleu de méthylène, qui accroissent la hauteur de la contracture acétylcholinique, tout en diminuant la vitesse.

La distinction entre hauteur et vitesse une fois établie, dans le cas de la contraction acétylcholinique, l'A. a examiné alors le comportement d'autres substances, que leur constitution chimique permettait de rapprocher de l'acétylcholine elle-même; en mettant de chacune d'entre elles une dose telle que la hauteur finale de la contraction fut la même, on a constaté que pour chaque produit existait un facteur k caractéristique, la relation (1) demeurant valable dans tous les cas examinés.

On peut penser que la détermination d'une telle constante pourrait être utilisée pour l'identification des substances contracturantes d'origine biologique.

Summary. — The curve of the contraction of the rectus abdominis muscle produced by acetylcholine may be considered as the graphic representation of an analytical function. This function has been identified by the relation

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x} \quad (1)$$

which relates the height of the resulting contraction with the time. While until now only the height has usually been considered, in the study of the contraction caused by acetylcholine, it is necessary to take also into consideration the velocity, which can be represented by the constant k .

These two different factors (height and velocity) resulting from the contraction may be differentiated also by a pharmacological analysis, by means of substances such as methylene blue, which in contractions caused by acetylcholine augments the height and diminishes the velocity.

Having made the distinction between height and velocity it was possible to see the behavior of other substances. The contractions caused by substances of similar chemical constitution to acetylcholine were compared with acetylcholine itself. Using quantities of substances sufficient to give the same height of contraction as acetylcholine it was found that the relation (1) remained valid, except that the velocities were different. Each of these substances could be represented by a different value from the constant k indicating the velocity of the contraction.

It was concluded that the determination of the value of the constant at equal heights could serve as a means of identifying biological substances causing muscular contractions.

Zusammenfassung. — Die Kurve der Kontraktion des Musculus rectus abdominis von Rana unter dem Einfluss von Acetylcholin kann aufgefasst werden als graphische Darstellung einer analytischen Funktion, wiedergegeben in der Gleichung

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x} \quad (1)$$

welche den Grad der Kontraktion mit der Zeit, in der sie erreicht wurde, in Zusammenhang bringt. Während bis anhin beim Studium der Kontraktion durch Acetylcholin nur der Kontraktionsgrad beobachtet wurde, ist somit auch der Faktor Geschwindigkeit, der durch die Konstante k ausgedrückt wird, in Betracht zu ziehen.

Diese beiden verschiedenen Faktoren (Grad, Geschwindigkeit), die bei der Kontraktion auftreten, können auch durch eine pharmakologische Analyse aufgedeckt werden, wenn man Substanzen, wie zum Beispiel Methylenblau, die bei der Kontraktion durch Acetylcholin den Grad erhöhen und die Geschwindigkeit verkleinern, zu Hilfe nimmt.

Nach der Stabilisierung der Begriffe Grad und Geschwindigkeit wurde das Verhalten anderer Substanzen untersucht, die dem Acetylcholin chemisch nahe stehen, und mit der Muttersubstanz verglichen. Führt man die Kontraktion mit derjenigen Menge Substanz aus, die das Kontraktionsniveau des Acetylcholins erreichte, wurde, unter fortbestehender Gültigkeit der Gleichung (1), verschiedene Kontraktionsgeschwindigkeit beobachtet. Jede dieser Substanzen ist somit durch einen unterschiedlichen Wert k , Koeffizienten der Kontraktionsgeschwindigkeit, definiert.

Es wird gefolgert, dass die Bestimmung des Werts der Konstante für gleichen Kontraktionsgrad zur Identifizierung kontrahierender biologischer Substanzen verwendet werden kann.

E' noto dalla fisica che il concetto di movimento è in relazione allo spazio ed al tempo, infatti è caratterizzato da una velocità, che, in equazione dimensionale, si rappresenta ($l. t^{-1}$). Invece nello studio della contrattura muscolare con agenti farmacologici, si è analizzato finora con cura particolare solo l'ampiezza della contrazione, registrata meccanicamente, cioè solo il fattore spazio, e sembra che non si è tenuto conto sufficientemente della velocità di contrazione, cioè del fattore tempo in relazione allo spazio. Eppure la contrazione può rivestire delle forme molto differenti, il che dimostra la possibilità che essa abbia nei differenti momenti una velocità differente.

Da quando Riesser ⁽¹⁾ trovò il forte potere contratturante dell'acetilcolina, questa sostanza è stata frequentemente utilizzata per la contrazione muscolare in relazione alla discussione sulla teoria chimica della

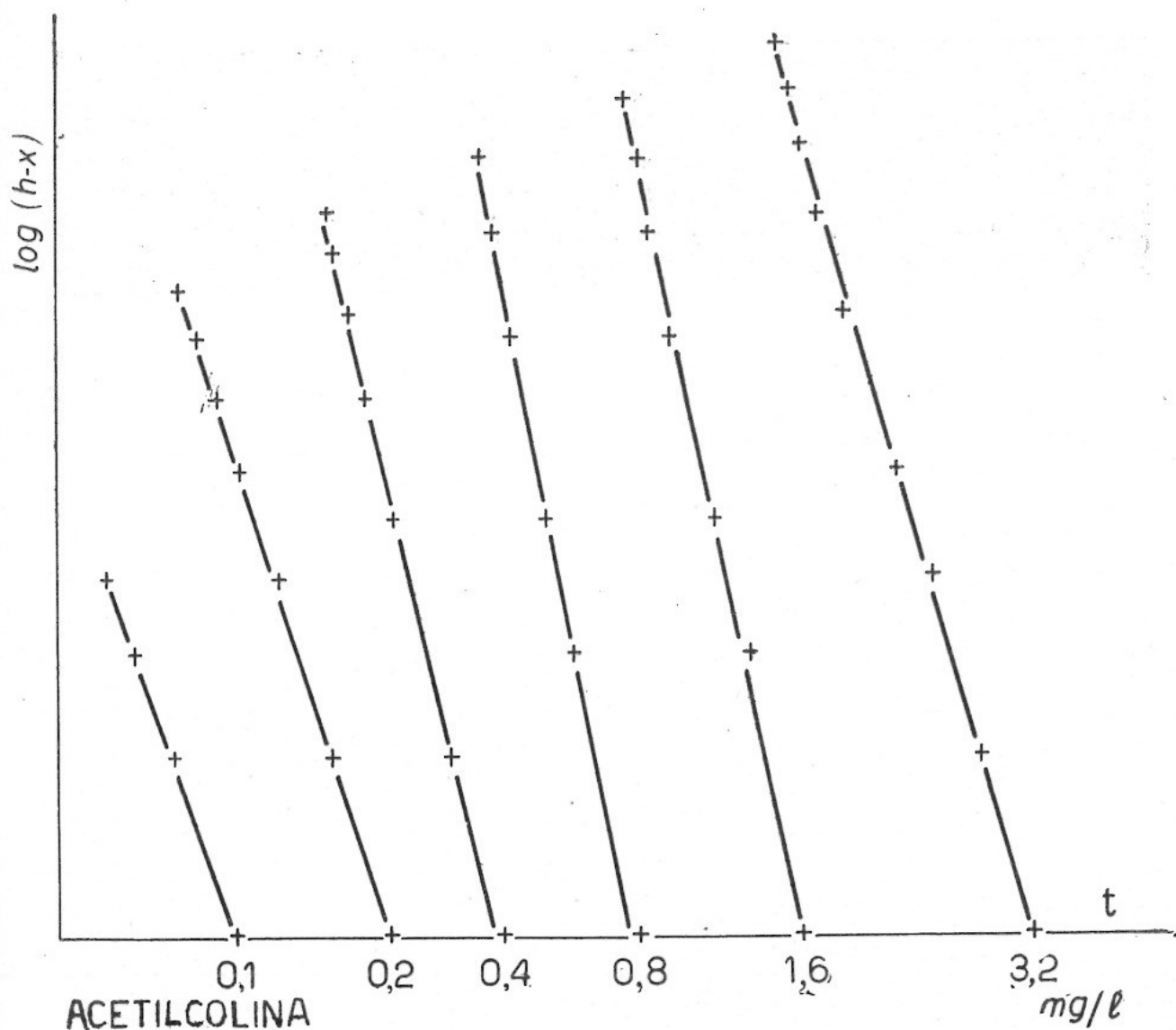


FIGURA 1.

Rettificazione delle curve ottenute dalla contrazione con acetilcolina del muscolo retto addominale di Rana (v. fig. 2). Sull'asse delle ascisse, i valori dei tempi impiegati nella contrazione; sull'asse delle ordinate, i logaritmi della differenza tra la massima altezza di contrazione e la contrazione raggiunta in un determinato tempo. Le curve di contrazione possono essere rappresentate quindi dalla formula:

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x}$$

trasmissione nervosa. Abbiamo quindi pensato che avrebbe potuto essere utile uno studio accurato della espressione matematica della curva di contrazione ottenuta con l'acetilcolina (*).

(¹) O. RIESSER, Arch. exp. Path. 91, 342, (1921).

(*) E' stato usato bromuro di acetilcolina.

Tecnica. — Il muscolo retto addominale di Rana temporaria veniva immerso in una soluzione Ringer (**) (100 cm³).

La registrazione della contrazione veniva effettuata su un chimografo utilizzando un miografo isotonico con il sistema a due molle contrappo-

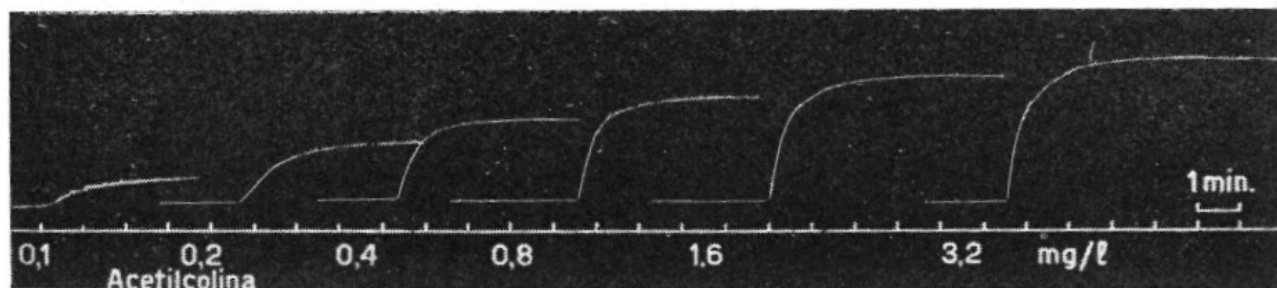


FIGURA 2.

Muscolo retto addominale di Rana. Registrazione isotonica di contratture con quantità crescenti di acetilcolina, eseguite ad intervalli di trenta minuti. Per il calcolo su queste curve, v. tabella II. Il valore $\left(\frac{I}{t} \log \frac{h}{h-x} \right)$ è praticamente costante per ogni curva

ste, una delle quali si rilascia e l'altra si tende. Si è usato per controllo in alcuni casi un differente sistema di registrazione (una leva mobile che sottopone il muscolo a tensione con l'aggiunta di pesi diversi) col quale si sono avuti risultati del tutto comparabili.

L'equazione della curva e l'identificazione dei due fattori (velocità e altezza). — La curva della contrattura che si ottiene con l'acetilcolina può essere considerata la rappresentazione grafica di una funzione analitica, in un sistema di coordinate in cui la linea di riposo del muscolo rappresenta l'asse delle ascisse, la perpendicolare a questa l'asse delle ordinate, prendendo come origine degli assi il punto in cui la curva comincia, cioè l'istante in cui il muscolo comincia a contrarsi. In questo sistema di coordinate l'asse delle ascisse rappresenta quindi i tempi, e l'asse delle ordinate (che chiameremo altezza) una grandezza proporzionale alla contrazione del muscolo.

Trovare l'espressione matematica della curva significa rettificarla, cioè con opportune trasformazioni sui dati sperimentali ottenere una espressione che sia rappresentata da una retta. Abbiamo trovato che in un sistema di assi cartesiani ortogonali in cui siano sulle ascisse i valori dei tempi, e sulle ordinate i valori di $\log(h-x)$, cioè i logaritmi della differenza tra la massima altezza di contrazione (che viene naturalmente raggiunta alla fine della contrazione) e la contrazione raggiunta in un tempo t , si ottengono generalmente delle rette (fig. 1).

(**) 0/100 NaCl	g 6,5
KCl	0,2
CaCl ₂	0,18
Na ₂ HPO ₄	0,5

Poichè la forma generale dell'equazione di una retta è:

$$a x + b y + c = 0$$

nel nostro caso abbiamo:

$$a t + b \log (h-x) + c = 0 \quad (1)$$

Quindi verifichiamo la presenza di due costanti. E' facile mettere in relazione queste costanti con l'altezza massima di contrazione, e con la velocità con la quale viene raggiunto il massimo della contrazione (la quale è data dal rapporto $-\frac{a}{b}$ (coefficiente angolare).

Siamo quindi stati indotti a ritenere che le curve da acetilcolina possono essere rappresentate, con sufficiente approssimazione, dalla relazione:

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x} \quad (2)$$

che è facilmente riconducibile a (1). Infatti da (2) si ha:

$$h-x = h e^{-k t}$$

e poi:

$$\log (h-x) = \log h - k t$$

Nella relazione (2) con h rappresentiamo la massima altezza alla fine della contrazione, con x una qualsiasi altezza raggiunta nel tempo t , e k è la costante della relazione (2).

Per il calcolo delle curve, alcune volte si è ricorso direttamente alla relazione (2), effettuandó per comodità il calcolo in logaritmi decimali invece dei logaritmi neperiani.

In pratica si è applicato la formula equivalente:

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{h-x_1}{h-x_2} \quad (3)$$

la quale permette dei calcoli molto più rapidi, quando si siano presi intervalli di tempo $t_2 - t_1$ eguali. Con questa formula i risultati sono meno regolari, ma questo inconveniente è eliminato prendendo come valore di k la media dei valori calcolati per i vari valori di x (tab. II - fig. 2).

Come si vede subito, la relazione (2) (che è una espressione che si ritrova frequentemente in biologia [v. Janisch ⁽²⁾], ha due variabili, x e t , cioè il valore dell'altezza e quello del tempo impiegato a raggiungerla, il che conferma quello che volevamo dimostrare, che per uno studio esatto della contrattura da acetilcolina, occorre tener conto oltre che dell'altezza, anche della velocità.

(2) E. JANISCH, Das Exponentialgesetz als Grundlage einer vergleichenden Biologie, Springer, Berlin (1927).

TABELLA I.

CALCOLO DI UNA CURVA (PRESA A CASO) MEDIANTE LA RELAZIONE

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x}$$

(la contrazione è stata ottenuta con 0,75 mg/l di acetilcolina)

h	log h	$\frac{x}{t}$ (in mm)	t (*)	$\frac{1}{t}$	$\frac{h-x}{t}$	log (h-x)	$\log \frac{h}{h-x}$	$k_1 = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h-x}$ (**)
24	1,3802	1	0,4	2,5	23	1,361	0,0192	0,048
		2	0,8	1,25	22	1,342	0,0377	0,047
		3	1,25	0,8	21	1,322	0,0581	0,0462
		4	1,7	0,59	20	1,301	0,0792	0,0465
		5	2,2	0,454	19	1,279	0,1008	0,046
		6	2,6	0,385	18	1,256	0,1243	0,0477
		7	3,2	0,312	17	1,230	0,15	0,0469
		8	3,7	0,27	16	1,204	0,1761	0,0476
		9	4,1	0,244	15	1,176	0,2041	0,0498
		10	4,5	0,222	14	1,146	0,2341	0,052
		11	5,4	0,185	13	1,114	0,2663	0,049
		12	5,9	0,169	12	1,079	0,3010	0,051
		13	6,5	0,154	11	1,041	0,3388	0,0516
		14	7,2	0,139	10	1,—	0,3802	0,053
		15	8,2	0,122	9	0,954	0,428	0,0523
		16	9,0	0,111	8	0,903	0,4771	0,053
		17	10,3	0,097	7	0,845	0,5351	0,052
		18	11,7	0,085	6	0,778	0,602	0,0515
		19	13,2	0,075	5	0,699	0,6812	0,0516
		20	15,9	0,063	4	0,602	0,7781	0,049
		21	18,7	0,053	3	0,477	0,9031	0,0483
		22	22,7	0,044	2	0,301	1,0792	0,0475
		23	32,6	0,031	1	0,—	1,3802	0,0423
								$0,0491 \pm 0,00000004$

(*) Il tempo è espresso in mm in rapporto alla velocità del cilindro registratore, cioè 11 mm per minuto.

(**) Si otterrebbe il valore reale di k che figura nella relazione (2): 1) moltiplicando k₁ per 2,303, per passare dai logaritmi decimali ai logaritmi neperiani; 2) operando la correzione necessaria per passare dai valori dei tempi espressi in mm ad un tempo espresso in secondi; 3) tenendo conto dell'amplificazione del sistema registratore. Ma tale calcolo sarebbe poco utile per la differenza di sensibilità delle preparazioni su differenti muscoli.

La relazione (2) risulta inoltre essere equivalente a quella indicata da Hill ⁽³⁾ per la contrattura con deboli dosi di nicotina, del muscolo retto addominale:

$$y = k (1 - e^{-a t})$$

cioè con le lettere che abbiamo impiegato:

$$x = h (1 - e^{-k t})$$

⁽³⁾ A. V. HILL, J. Physiol., 39, 361 (1909).

da cui si ha :

$$x = h - he^{-kt}$$

$$\frac{h - x}{h} = e^{-kt} ;$$

e poi :

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{h}{h - x}$$

La stessa espressione è stata ritenuta valevole da Ramsey ⁽⁴⁾ per la contrazione di differenti muscoli striati, eccitati elettricamente. Egli l'ha dedotta indirettamente dai dati di Fenn e Marsh ⁽⁵⁾, Hill ⁽⁶⁾, e Katz ⁽⁷⁾ sulla velocità all'inizio della contrazione. Infatti per il rapporto forza/velocità della contrazione muscolare varrebbe la formula

$$\frac{dS}{dt} = \beta(S_T - S)$$

in cui β è una costante di velocità, S è la contrazione nel tempo t , S_T la massima contrazione ottenibile col peso T . Integrando, si ha :

$$S = S_T (1 - e^{-\beta t})$$

cioè, sostituendo le nostre lettere :

$$x = h (1 - e^{-k t})$$

formula di cui già abbiamo indicato la trasformazione nella relazione (2).

Il significato fisico di questa espressione matematica, che, come abbiamo visto, viene ritrovata così frequentemente nella contrazione muscolare, è che la velocità di contrazione del muscolo è proporzionale alla contrazione che il muscolo deve ancora effettuare.

La formula corrisponde quindi ad un fenomeno unico, in modo che non sembra necessario, come propongono Gesell, Mason e Brassfield ⁽⁸⁾, immaginare che si tratti dell'intervento di due fenomeni successivi (la contrazione breve immediata, e una risposta più prolungata) corrispondenti a dei ricettori più o meno profondi. Ogni curva esponenziale semplice del resto presenta le due inclinazioni differenti, una maggiore ed una minore, pur essendo espressione di un unico fenomeno.

Differenziazione tra velocità e altezza in presenza di blu di metilene e dopo curaro. — Che questi due fattori indicati siano in qualche misura indipendenti, è un fatto che è dimostrato facilmente dall'analisi farmacologica. Citeremo l'esempio del blu di metilene.

(4) R. W. RAMSEY, Muscle: Physics, in O. Glasser: Medical Physics, Chicago pag. 788 (1944-1947).

(5) W. O. FENN e B. S. MARSH, J. Physiol. 85, 277 (1935).

(6) A. V. HILL, Proc. Royal Soc. London, s. B, 126, 136 (1938).

(7) B. KATZ, J. Physiol., 96, 45 (1939).

(8) R. GESELL, A. MASON, e C. BRASSFIELD, Am. J. Physiol., 142, 131 (1944).

TABELLA II.

CALCOLO DELLE CURVE DELLA FIGURA (2), MEDIANTE LA RELAZIONE

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{h - x_1}{h - x_2}$$

h	t	x	h-x	log (h-x)	log (h-x ₁) - log (h-x ₂)
I curva (0,1 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,037					
7	6	3	4	0,6021	0,0836
	8	3,7	3,3	0,5185	0,0713
	10	4,2	2,8	0,4472	0,1250
	12	4,9	2,1	0,3222	0,0669
	14	5,2	1,8	0,2553	0,0792
	16	5,5	1,5	0,1761	0,0622
	18	5,7	1,3	0,1139	0,0725
	20	5,9	1,1	0,0414	0,0414
	22	6	1	0,—	
					0,07526 ± 0,000007
II curva (0,2 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,032					
16	5	6,4	9,6	0,9826	0,2044
	10	10	6	0,7782	0,1984
	15	12,2	3,8	0,5798	0,1484
	20	13,3	2,7	0,4314	0,1304
	25	14	2	0,3010	0,1549
	30	14,6	1,4	0,1461	0,1461
	35	15	1	0,—	0,1549
	40	15,3	0,7	1,8451	
					0,1621 ± 0,000021
III curva (0,4 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,077					
20	5	11,5	8,5	0,9294	0,4243
	10	16,8	3,2	0,5051	0,329
	15	18,5	1,5	0,1761	0,273
	20	19,2	0,8	1,9031	0,426
	25	19,7	0,3	1,4771	0,4771
	30	19,9	0,1	1,0	
					0,3858 ± 0,00056
IV curva (0,8 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,075					
26	2	8	18	1,2553	0,1946
	4	14,5	11,5	1,0607	0,1974
	6	18,7	7,3	0,8633	0,1643
	8	21	5	0,6990	0,1549
	10	22,5	3,5	0,5441	0,067
	12	23	3	0,4771	0,0969
	14	23,6	2,4	0,3802	0,1761
	16	24,4	1,6	0,2041	
					0,1501 ± 0,00004
V curva (1,6 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,065					
31	2	12	19	1,2788	0,175
	4	18,3	12,7	1,1038	0,1488
	6	22	9	0,9542	0,1217
	8	24,2	6,8	0,8325	0,1249
	10	25,9	5,1	0,7076	0,0939
	12	26,9	4,1	0,6128	0,1357
	14	28	3	0,4771	0,1154
	16	28,7	2,3	0,3617	0,1064
	18	29,2	1,8	0,2553	0,1416
	20	29,7	1,3	0,1139	
					0,1303 ± 0,000053

Segue: TABELLA II.

h	t	x	h-x	log (h-x)	log (h-x ₁) - log (h-x ₂)
VI curva (3,2 mg/l di acetilcolina); $k_1=0,059$					
36	2	12,5	23,5	1,3711	0,1670
	4	20	16	1,2041	0,1249
	6	24	12	1,0792	0,1250
	8	27	9	0,9542	0,1091
	10	29	7	0,8451	0,0969
	12	30,4	5,6	0,7482	0,1047
	14	31,6	4,4	0,6435	0,1250
	16	32,7	3,3	0,5185	0,1206
	18	33,5	2,5	0,3979	0,0969
	20	34	2	0,3010	
					$0,1189 \pm 0,000014$

Secondo Raventòs ⁽⁹⁾ il blu di metilene avrebbe un'azione difasica, perchè piccole concentrazioni aumentano l'azione dell'acetilcolina, mentre con alte concentrazioni (M:1000) esiste invece tra le due sostanze un « powerful antagonism ». Herschberg ⁽¹⁰⁾ ha inserito il blu di metilene, tra l'atropina, il curaro, e gli anestetici locali, tra gli antagonisti dell'acetilcolina. Torda e Wolff ⁽¹¹⁾ hanno invece descritto solo una netta sensibilizzazione dell'acetilcolina al blu di metilene.

Questi risultati apparentemente contraddittori si chiariscono quando si pensi che il blu di metilene può avere due distinte azioni: sull'altezza, e sulla velocità. Usando forti dosi di esso la contrazione si svolge con una velocità molto rallentata (azione sulla velocità). Ma l'altezza di contrazione viene, da dosi opportune di blu di metilene, aumentata più o meno fortemente; ecco quindi il caso di una sostanza che diminuisce la velocità ed aumenta l'altezza di contrazione, nello stesso tempo.

Così, misurando l'azione sulla contrazione, fermandola ad un tempo stabilito, si può osservare una diminuzione dell'altezza di contrazione, avendo bisogno la contrazione di un tempo più lungo; osservando invece la contrazione fino a che la curva raggiunga il suo massimo, si trova invece che il blu di metilene, anche alla concentrazione M: 1000 ha un'azione sensibilizzante all'acetilcolina, quantunque sia rallentata la velocità della contrazione (fig. 3).

Ecco un altro esempio da cui si può vedere l'imprecisione che si ha terminando la contrazione dopo un tempo stabilito.

Dopo due contrazioni in cui il muscolo è stato paralizzato da dosi sufficienti di 2559 F. [triiodoetilato di tri-(β -diethylamminoetossi)-1,2,3-ben-

⁽⁹⁾ J. RAVENTÒS, Quart. J. exp. Physiol. 27, 102 (1937).

⁽¹⁰⁾ A. HERSCHBERG, Contribution à l'étude de la regulation physiologique du système Acetylcholine-Cholineestérase, Paris, pag. 24 (1946).

⁽¹¹⁾ C. TORDA e H. G. WOLFF, Proc. Soc. exp. Biol. Med., 57, 236 (1944).

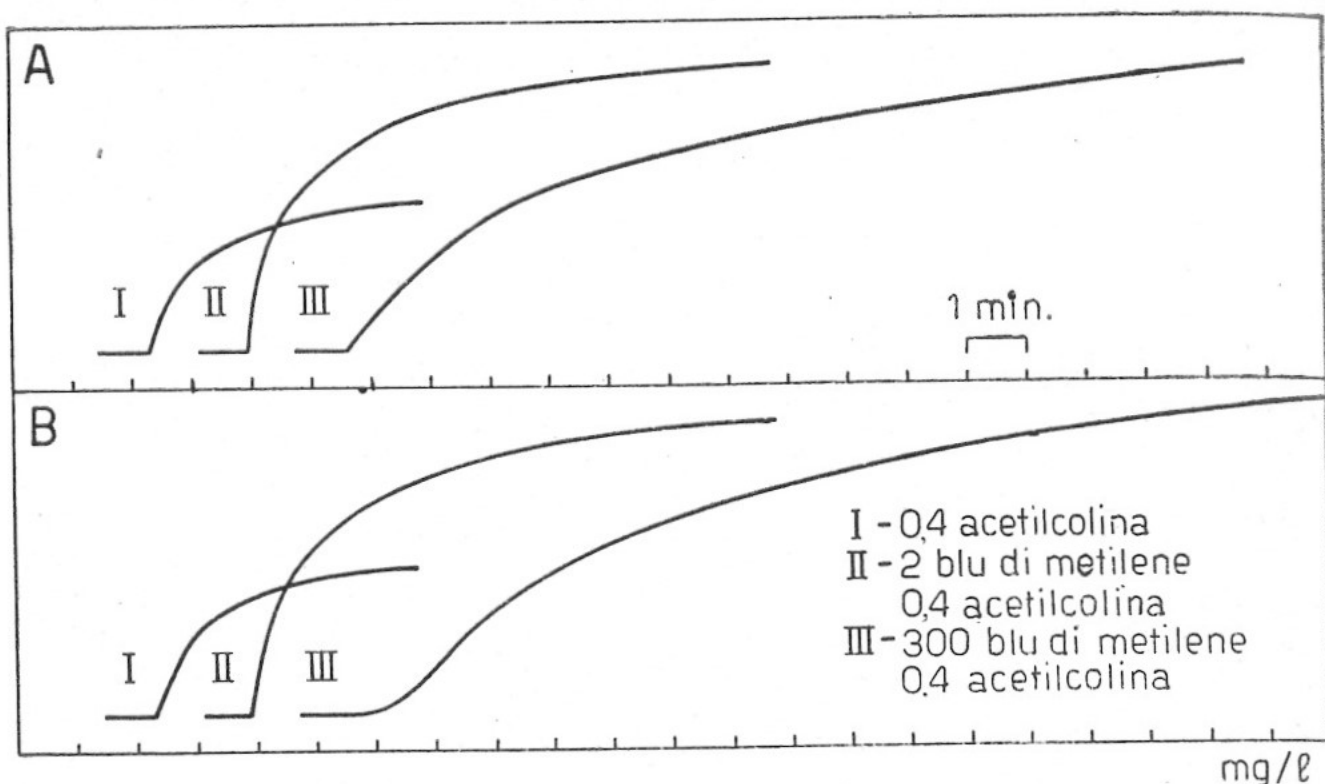


FIGURA 3.

Dissociazione dei due fattori, velocità e altezza di contrazione, mediante un'analisi farmacologica. Esempio del blu di metilene. Preparazione del muscolo retto addominale di Rana, contrazioni ogni trenta minuti; il blu di metilene è stato aggiunto cinque minuti prima della contrazione. Il blu di metilene sensibilizza il muscolo all'acetilcolina (a dosi eguali di acetilcolina, in presenza del blu di metilene, il muscolo ha una contrazione più ampia) ma nello stesso tempo rallenta la velocità della contrazione. Nell'esempio della figura, mentre i valori di h in presenza di blu di metilene sono aumentati, i valori di k sono progressivamente più piccoli. (In A, $h_1 = 30$ mm, $h_2 = 53$ mm, $h_3 = 52$ mm; $k_1 = 0,022$, $k_2 = 0,016$, $k_3 = 0,009$. In B, $h_1 = 28$ mm, $h_2 = 54$ mm, $h_3 = 55$ mm; $k_1 = 0,030$, $k_2 = 0,014$, $k_3 = 0,007$). Particolarmente la contrazione II sia in A che B mostra con chiara evidenza i vantaggi dell'analisi matematica, che permette immediatamente di individuare la dissociazione tra i due fattori altezza e velocità

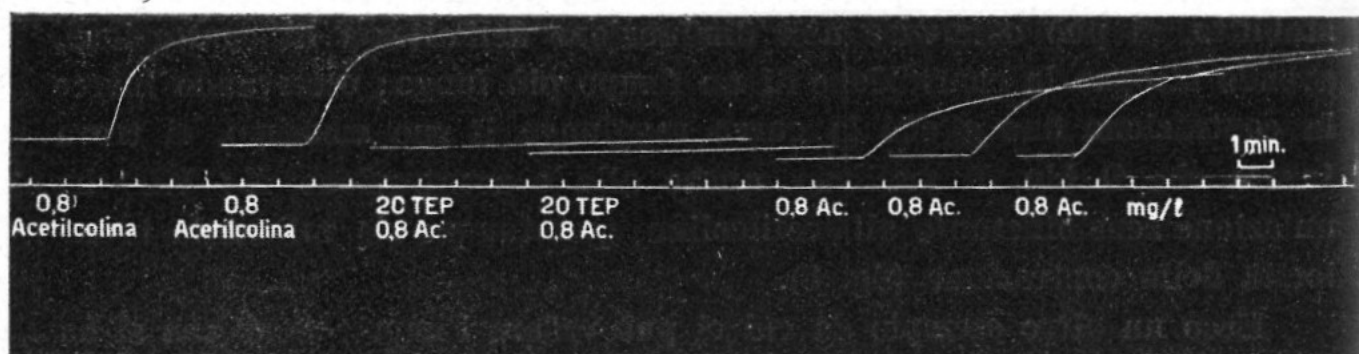


FIGURA 4.

Dissociazione dei due fattori, velocità e altezza di contrazione, mediante un'analisi farmacologica. Contrazioni post-curariche. Preparazione del muscolo retto addominale di Rana, contrazioni ogni trenta minuti, il curaro (2559 F.) è stato aggiunto cinque minuti prima della contrazione. Le prime due contrazioni sono state eseguite in assenza di curaro, con 0,8 mg/l di acetilcolina. La terza e la quarta, con la stessa quantità di acetilcolina, in presenza di 20 mg/l di curaro. Le ultime tre sono state eseguite ancora con la stessa quantità di acetilcolina, ma senza curaro. La loro velocità è fortemente rallentata. Se si fosse fermata la registrazione di queste contrazioni dopo un tempo fissato a priori, ad esempio 2 minuti, come si fa generalmente, si sarebbe creduto il muscolo ancora paralizzato dal curaro

zene], sostanza curarizzante di sintesi ⁽¹²⁾, le successive contrazioni senza il curaro sono più lente, ma raggiungono la stessa altezza; se si arrestasse la contrazione ad un tempo determinato, il muscolo sembrerebbe ancora paralizzato dal curaro (fig. 4).

Come risulta quindi da questi esempi, e dalla relazione (2), bisogna dedurre che in una contrazione da acetilcolina, oltre all'altezza di con-

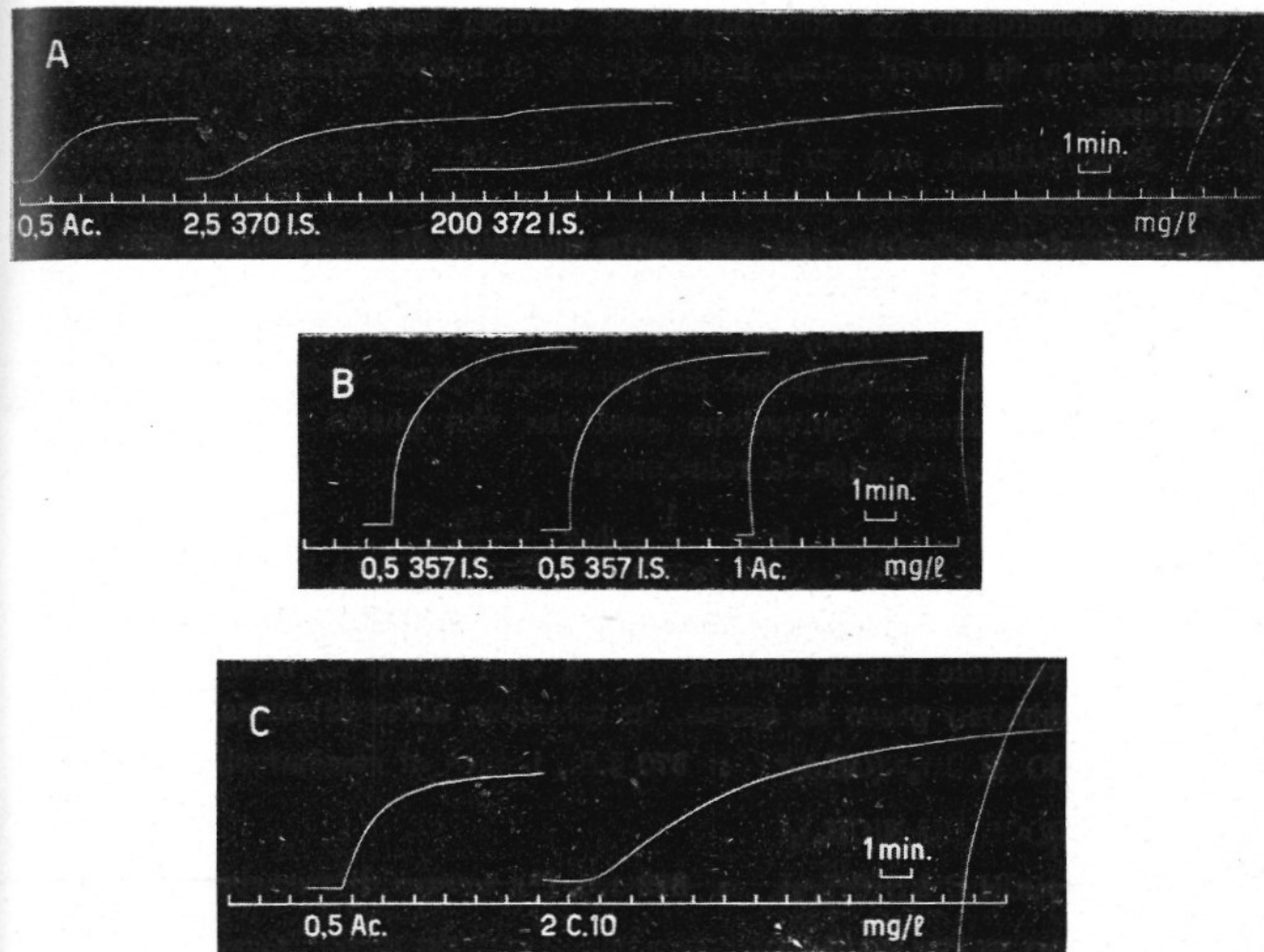


FIGURA 5.

Identificazione di sostanze contratturanti mediante i differenti valori della velocità ad altezza costante. Preparazione del muscolo retto addominale. Contrazioni ogni trenta minuti. A), B), e C) corrispondono a tre diversi muscoli. Le differenti sostanze raggiungono una stessa altezza di contrazione con una velocità differente, il cui indice è il differente valore della costante k (tabella III e IV). Il valore della costante k può quindi servire a caratterizzare una sostanza contratturante

trazione, che è stata finora quasi generalmente il solo fattore della curva preso in considerazione, è importante anche considerare la velocità di contrazione.

E anzi, se si terminano le contrazioni quando è passato un tempo stabilito a priori, si ha l'inconveniente che se una sostanza riduce solo

⁽¹²⁾ D. BOVET, F. DEPIERRE e Y. DE LESTRANGE, C. R. Acad. Sci. Paris, 225, 74 (1947).

la velocità di contrazione, senza diminuire l'altezza, figura invece come se diminuisse l'altezza, e fosse una sostanza antagonista.

E' necessario quindi, per uno studio accurato, lasciare ogni volta contrarre il muscolo fino a che raggiunga l'altezza massima di contrazione (che viene raggiunta assintoticamente).

I differenti valori della velocità ad altezza costante come mezzo di identificazione di sostanze contratturanti. — Negli esempi precedenti abbiamo considerato la possibilità che diverse sostanze agiscano sulla contrattura da acetilcolina, influenzando in modo diverso la velocità e l'altezza.

Prospettiamo ora un problema differente: se sostanze contratturanti diverse dall'acetilcolina raggiungano una stessa altezza massima di contrazione ottenuta con una certa quantità di acetilcolina, con una velocità eguale o diversa.

Condizione necessaria, naturalmente, perchè possa stabilirsi un simile confronto, è che la contrazione che provocano queste sostanze sia rappresentata dalla stessa espressione analitica che quella dell'acetilcolina; cioè anche per esse valga la relazione:

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{h - x_1}{h - x_2}$$

Come abbiamo già precedentemente detto, Hill già ha trovato questa relazione valevole per la contrattura da dosi deboli di nicotina.

Noi abbiamo preso in esame, in relazione all'acetilcolina:

- 1) $\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$: 370 I.S., ioduro di succinilcolina ⁽¹³⁾
 $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I} \end{array}$
- 2) $\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$: 372 I.S. (*), ioduro di tricarballylilcolina
 $\begin{array}{c} | \\ \text{CH COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I} \\ | \\ \text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I} \end{array}$
- 3) $\text{I}(\text{CH}_3)_3\text{N}(\text{CH}_2)_{10}\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$: C₁₀ ⁽¹⁴⁾
- 4) $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$: 357 I.S., ioduro di adipilcolina ⁽¹³⁾
 $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I} \end{array}$

Queste sostanze contraggono il muscolo retto addominale con una curva che segue la stessa relazione (3), come si vede dalla tabella iv; ma

(*) Questo prodotto è stato sintetizzato in questo laboratorio dal Prof. Fusco e sarà oggetto di prossima pubblicazione.

⁽¹³⁾ BOVET e Coll., questo fascicolo.

⁽¹⁴⁾ R. B. BARLOW e H. R. ING, Nature, 16, 718, (1948); W. D. M. PATON e E. J. ZAIMIS, Nature, 16, 718, (1948).

è molto interessante notare che raggiungono una stessa altezza di contrazione ottenuta con acetilcolina, con velocità differente da questa.

Poichè il numero che rappresenta l'altezza è per ipotesi costante (noi eseguiamo la contrazione con quella quantità di sostanza che contragga il muscolo fino alla stessa altezza raggiunta con acetilcolina), queste diverse sostanze sono quindi rappresentate da un diverso valore della costante k , indice della velocità di contrazione; riteniamo quindi possibile l'identificazione di queste varie sostanze contratturanti mediante i diversi valori che ha per ciascuna di esse il fattore velocità.

TABELLA III.

CONTRATTURA DEL MUSCOLO RETTO ADDOMINALE DA ACETILCOLINA
E SOSTANZE ACETILCOLINOSIMILI

Differenti valori della costante k , per altezza di contrattura approssimativamente eguale

	h	k_1	Rapporto con l'acetilcolina=1
A) 1. 0,5 mg/l di acetilcolina	21	0,038	1
2. 2,5 mg/l di 370 I.S.	21	0,013	1/2,9
3. 200 mg/l di 372 I.S.	19	0,0069	1/5,5
B) 3. 1 mg/l di acetilcolina	60	0,0357	1
1. 0,5 mg/l di 357 I.S.	62	0,0289	1/1,28
2. 0,5 mg/l di 357 I.S.	61	0,0266	
C) 1. 0,5 mg/l di acetilcolina	44	0,0237	1
2. 2 mg/l di C_{10}	62	0,0065	1/3,64

In C) presumibilmente il rapporto tra 1) e 2) è ancora maggiore, perchè si deve supporre, per la curva 2), per $h=44$ un valore di k_1 ancora più piccolo.

Naturalmente i valori k sono soltanto confrontabili su uno stesso muscolo e per condizioni sperimentali eguali; è esperienza comune come muscoli diversi reagiscano differentemente anche a dosi eguali di acetilcolina.

Ma, se si ha una sostanza contratturante sconosciuta, e si crede di poterla identificare in una certa sostanza x , basterà cercare di ottenere con tutte e due, due curve di contrazione che raggiungano la stessa altezza, ed esaminarle matematicamente con i criteri sopra esposti; se le due curve hanno la costante della equazione (3), k , eguale, non si potrà sapere se le due sostanze sono eguali o differenti; ma, se le costanti delle due curve hanno valore differente, si potrà con fondamento ritenere che le due sostanze sono di natura differente.

TABELLA IV.

CALCOLO DELLE CURVE DELLA FIGURA (5), MEDIANTE LA RELAZIONE

h	t	x	h-x	log (h-x)	log (h-x ₁) - log (h-x ₂)
A) I curva (0,5 mg/l di aceticolina); k ₁ =0,038					
21	5	5,7	15,3	1,1847	0,1891
	10	11,1	9,9	0,9956	0,2174
	15	15	6	0,7782	0,1984
	20	17,2	3,8	0,5798	0,1819
	25	18,5	2,5	0,3979	0,1675
	30	19,3	1,7	0,2304	0,1890
	35	19,9	1,1	0,0414	0,1963
	40	20,3	0,7	1,8451	
					0,1914 ± 0,00000039
A) II curva (2,5 mg/l di 370 I.S.); k ₁ =0,013					
21	5	2,5	18,5	1,2672	0,0631
	10	5	16	1,2041	0,0611
	15	7,1	13,9	1,1430	0,0785
	20	9,4	11,6	1,0645	0,0767
	25	11,3	9,7	0,9868	0,0730
	30	12,8	8,2	0,9138	0,0687
	35	14	7	0,8451	0,0527
	40	14,8	6,2	0,7924	0,0442
	45	15,4	5,6	0,7482	0,0670
	50	16,2	4,8	0,6812	
					0,0650 ± 0,00000025
A) III curva (200 mg/l di 372 I.S.); k ₁ =0,0069					
19	10	1,9	17,1	1,2330	0,0560
	20	3,9	15,1	1,1790	0,0718
	30	6,2	12,8	1,1072	0,0778
	40	8,3	10,7	1,0294	0,0704
	50	9,9	9,1	0,9590	0,0559
	60	11	8	0,9031	0,0580
	70	12	7	0,8451	0,0669
	80	13	6	0,7782	0,0792
	90	14	5	0,6990	0,0758
	100	14,8	4,2	0,6232	0,0669
	110	15,4	3,6	0,5563	0,0792
	120	16	3	0,4771	0,0792
	130	16,5	2,5	0,3979	
					0,0696 ± 0,00000018
B) I curva (0,5 mg/l di 357 I.S.); k ₁ =0,0289					
62	5	30	32	1,5051	0,1529
	10	39,5	22,5	1,3522	0,1374
	15	45,6	16,4	1,2148	0,1466
	20	50,3	11,7	1,0682	0,1388
	25	53,3	8,5	0,9294	0,1512
	30	56	6	0,7782	0,1447
	35	57,7	4,3	0,6335	0,1564
	40	59	3	0,4771	0,1347
	45	59,8	2,2	0,3424	0,1382
	50	60,4	1,6	0,2041	
					0,1445 ± 0,00000017

Segue: TABELLA IV.

h	t	x	h-x	log (h-x)	log (h-x ₁) - log (h-x ₂)
B) II curva (0,5 mg/l di 357 I.S.); k ₁ =0,0266					
61	5	32	29	1,4624	0,1614
	10	41	20	1,3010	0,1396
	15	46,5	14,5	1,1614	0,1200
	20	50	11	1,0414	0,1383
	25	53	8	0,9031	0,1249
	30	55	6	0,7782	0,1250
	35	56,5	4,5	0,6532	0,1217
	40	57,6	3,4	0,5315	0,1336
	45	58,5	2,5	0,3979	0,1307
	50	59,15	1,85	0,2672	
					0,1328±0,00000029
B) III curva (1 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,0357					
60	5	46	14	1,1461	0,2167
	10	51,5	8,5	0,9294	0,1890
	15	54,5	5,5	0,7404	0,1383
	20	56	4	0,6021	0,1707
	25	57,3	2,7	0,4314	0,1304
	30	58	2	0,3010	0,2710
	35	58,65	1,35	0,1303	0,1303
	40	59	1	0,—	
					0,1783±0,00000134
C) I curva (0,5 mg/l di acetilcolina); k ₁ =0,0237					
44	5	16	28	1,4472	0,1684
	10	25	19	1,2788	0,1327
	15	30	14	1,1461	0,0854
	20	33,5	11,5	1,0607	0,1364
	25	35,6	8,4	0,9243	0,1250
	30	37,7	6,3	0,7993	0,1003
	35	39	5	0,6990	0,0969
	40	40	4	0,6021	0,1107
	45	40,9	3,1	0,4914	0,1112
	50	41,6	2,4	0,3802	
					0,1185±0,00000563
C) II curva (2 mg/l di C. 10); k ₁ =0,0065					
62	10	6	56	1,7482	0,0322
	15	10	52	1,7160	0,0348
	20	14	48	1,6812	0,0338
	25	17,6	44,4	1,6474	0,0367
	30	21,2	40,8	1,6107	0,0344
	35	24,3	37,7	1,5763	0,0539
	40	27,7	33,3	1,5224	0,0173
	45	30	32	1,5051	0,0368
	50	32,6	29,4	1,4683	0,0369
	55	35	27	1,4314	0,0317
	60	36,9	25,1	1,3997	0,0323
	65	38,4	23,3	1,3674	0,0250
	70	40	22	1,3424	0,0349
	75	41,7	20,3	1,3075	0,0265
	80	42,9	19,1	1,2810	0,0557
	90	45,2	16,8	1,2253	0,0637
	100	47,5	14,5	1,1614	0,0576
	110	49,3	12,7	1,1038	0,0704
	120	51,2	10,8	1,0334	0,0649
	130	52,7	9,3	0,9685	0,0600
	140	53,9	8,1	0,9085	0,0697
	150	55,1	6,9	0,8388	0,0606
	160	56	6	0,7782	
					0,0326±0,00000009

Naturalmente le curve di contrattura debbono rispondere alla equazione

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{h - x_1}{h - x_2}$$

ma, se una delle due non corrispondesse a questa equazione, è chiaro che le due sostanze le cui curve di contrazione hanno espressioni analitiche differenti, sono differenti.

Dato che questa stessa equazione ha una validità quasi generale [Rosenblueth ⁽¹⁵⁾ l'ha ritenuta valevole anche per la contrazione da adrenalina della membrana nititante dell'occhio del gatto], riteniamo utile sottolineare l'importanza che la determinazione del valore della costante, ad altezza eguale, può avere nella identificazione di sostanze contratturanti biologiche.

(15) A. ROSENBLUETH, *Am. J. Physiol.* 101, 149 (1932).