
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

FERRUCCIO CHIUINI

Azione della penicillina sulla capacità lavorativa del muscolo di rana

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 38 (1965), n.3, p. 415–421.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1965_8_38_3_415_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

Fisiologia. — *Azione della penicillina sulla capacità lavorativa del muscolo di rana* (*). Nota di FERRUCCIO CHIUINI, presentata (**)
dal Corrisp. G. AMANTEA.

Secondo la definizione data da Waksman⁽¹⁾, per antibiotico si intende una sostanza chimica, prodotta da microorganismi, che ha il potere di inibire, in soluzione diluita, l'accrescimento di batteri e di altri microorganismi ed anche di distruggerli.

L'antibiotico di cui ci interessiamo, la penicillina, è il primo di una serie ormai lunghissima, e certamente quello meglio studiato e conosciuto. Esso si considera derivato dalla condensazione equimolecolare di due aminoacidi, la penicillamina ed un acido penaldico a radicale R variabile. Per $R = -CH_2-C_6H_5$ abbiamo la penicillina G, la più adoperata.

Inizialmente⁽²⁾ si era pensato che essa fosse un agente capace di far risentire la sua azione inibitrice su attività enzimatiche e processi biologici molteplici. Tuttavia una sostanza avente attività così vasta nei riguardi di processi delicati ed essenziali sarebbe stata altamente tossica oltre che per la cellula batterica anche per qualsiasi altra cellula vivente e quindi anche per l'organismo umano. Ma la ormai lunga esperienza farmacologica e clinica ha permesso di stabilire che la somministrazione del farmaco, anche a dosi notevolmente elevate e protratte, è bene tollerata pure se inconvenienti e pericoli non mancano.

Circa l'intimo meccanismo d'azione si è pensato che l'effetto antibiotico fosse legato ad una turba di captazione dell'ac. glutammico⁽³⁾, ad alterata ossidazione del riboso⁽⁴⁾, ad inibizione della lisi dei mononucleotidi o della fosforilazione dell'ATP, alla mancata utilizzazione del riboso nucleico; ciò che induceva ad orientarsi, grosso modo, verso una turba del metabolismo nucleotidico⁽²⁾ e più specificatamente l'inibizione di un processo enzimatico del metabolismo del ribomonucleotidi.

Poiché i ribomonucleotidi o i loro derivati intervengono in un gran numero di processi biologici (sintesi proteiche, strutture di superficie del citoplasma, coenzimi nucleotidici, trasporto di radicali fosforici, ecc.) si può invero ritenere che una turba del loro metabolismo possa farsi risentire su una larga serie di processi biologici. Ammettendo inoltre che la tappa interessata di

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università di Perugia.

(**) Nella seduta del 13 marzo 1965.

(1) M. M. JANOT e J. KEUFER, *Mécanismes biochimique de l'activités des antibiotiques*, ed. Masson, Paris 1953.

(2) M. MACHEBOEUF e F. GROSS, *Exposés annuels de Biochimie Médical*, XXII, 141, ed. Masson, Paris 1951.

(3) GALE, cit. da MACHEBOEUF e GROSS.

(4) KRAMPITZ e WERKMANN, cit. da MACHEBOEUF e GROSS.

questo metabolismo si realizzi per vie diverse negli animali e nei batteri, si potrebbe giustificare come l'antibiotico possa agire sul batterio senza danneggiare la cellula dell'ospite.

Ancora Macheboeuf e Gross ⁽²⁾ hanno notato che la penicillina inibisce la distruzione dell'ATP operata in una sospensione di *Clostridium sporogenes*, ma negano che questo sia il punto d'azione centrale dell'antibiotico, perché l'ATP non verrebbe disturbato nel suo ruolo di datore di ac. fosforico per le fosforilazioni metaboliche della glicolisi.

In conclusione l'insieme delle osservazioni fa ritenere che l'attività batteriostatica possa essere spiegata da un blocco, da parte della penicillina, di strutture enzimatiche agenti in funzione di gruppi —SH, con i quali la penicillina interferirebbe ⁽⁵⁾ provocando l'arresto della moltiplicazione cellulare. Inoltre la penicillina avrebbe la proprietà di abbassare in modo marcato la tensione superficiale e di esercitare una inibizione sensibile (45-60%) nelle trasformazioni dell'ATP, senza che peraltro secondo alcuni Autori ⁽²⁾ questo pregiudichi il normale metabolismo dei glicidi.

Si può pensare dunque che, sia pure in maniera diversa, la penicillina interferisca sulle attività cellulari in genere per le sue proprietà fisico-chimiche e soprattutto per l'interessamento di attività enzimatiche fondamentali per la vita del batterio, mentre non è da trascurare una particolare azione nei riguardi del metabolismo dell'ATP.

* * *

Tuttavia la questione riguardante l'attività degli antibiotici non si esaurisce con lo studio della loro attività specifica. La loro applicazione ha fatto sorgere il problema dello studio degli effetti secondari i quali, anche al di fuori dell'azione antibiotica, sono pur degni del massimo rilievo, in quanto possono coinvolgere in vasta misura l'organismo con essi trattato.

Gli effetti secondari possono distinguersi in tre gruppi:

- a) azioni legate ad impurità da difetto di preparazione;
- b) azioni dipendenti da sostanze associate;
- c) azioni dovute all'antibiotico come tale.

Noi prenderemo in considerazione soltanto il terzo gruppo, escludendo i primi due, per evidenti motivi, dai limiti della nostra ricerca.

Gli effetti secondari dovuti all'antibiotico come tale dimostrano la sua capacità di influenzare determinate attività dell'organismo ospite, quali che possono esserne gli intimi meccanismi d'azione. È risultato infatti ⁽⁶⁾ che alte concentrazioni di penicillina G pura deprimono l'ampiezza delle contrazioni del cuore di rana, basse concentrazioni sembra le favoriscano ⁽⁷⁾. Kuna ⁽⁸⁾

(5) W. J. NICKERSON e N. VAN RIJ, « Biochim. Biophys. Act. », 3, 461 (1949).

(6) H. MOLITOR e O. E. GRAESSLE, « Journ. Pharm. Exper. Ther. », II, 98 (1950).

(7) W. BLAICH e U. GERLACH, « Arch. Dermat. Siph. Disch. », 3, 277 (1952).

(8) S. KUNA, comunicazione personale in MOLITOR e GRAESSLE.

ha osservato che somministrando per via venosa, a gatti anestetizzati, singole dosi di 500 mila U/Kg di penicillina G pura si otteneva caduta di modesta entità della pressione carotidea accompagnata da leggera dispnea, e che l'aggiunta da 5 a 100 mgr di penicillina G sodica pura a 200 cc di sol. fisiologica provocava leggero rilasciamento dell'intestino isolato di coniglio. Van Dyke (9) notava che lo stesso tipo di penicillina a certe concentrazioni determinava leggera contrazione dell'utero isolato di cavia, mentre Leavitt (10) affermava addirittura che la somministrazione di penicillina durante la gravidanza della donna, poteva produrre aumento dell'attività motoria dell'utero e perfino aborto.

In numerosi altri esperimenti venivano riscontrate azioni inibitrici o acceleratrici di diversi processi biologici in animali ed anche vegetali (11), soprattutto in rapporto alle diverse concentrazioni usate. Nel nostro Istituto (12) si è trovato, tra l'altro, come diverse concentrazioni di penicillina pura agiscano diversamente sull'accrescimento e sulla differenziazione di larve di *Bufo vulgaris*. Infine è stato notato da numerosi Autori un evidente rapporto tra somministrazione di antibiotici (sia pure diversi dalla penicillina come streptomycina e neomicina) (13) (14), e la risoluzione della curarizzazione o anestesia con diverse sostanze, che viene sensibilmente rallentata in uomini e animali. Si pensa al proposito ad una azione dell'antibiotico sulla placca neuromuscolare, tale da bloccare la trasmissione dell'impulso.

* * *

Questi dati della letteratura, la nozione, ormai pressoché popolare, dell'azione astenizzante degli antibiotici, il fatto che il muscolo in genere fosse da considerare, almeno apparentemente, tra le strutture più interessate alla azione dell'antibiotico, ci hanno convinto dell'utilità dell'indagine diretta circa la capacità lavorativa del muscolo sotto l'azione di antibiotici.

Abbiamo cominciato la sperimentazione valendoci del preparato neuromuscolare di rana test veramente ideale e per la sua maneggevolezza e per e per la squisita sensibilità.

TECNICA E DATI SPERIMENTALI.

Per l'espletamento della nostra ricerca ci siamo serviti di 25 rane (*Rana aesculenta*) di ambedue i sessi.

(9) H. B. VAN DYKE, « Proc. Soc. Exper. Biol. Med. », 56, 212 (1944).

(10) H. M. LEAVITT, « Journ. Ven. Dis. Inform. », 28, 150 (1945).

(11) L. G. NICKELL, « Antib. and Chemiot. », III, 4 (1953).

(12) F. CHIUINI e L. MILLETTI, « Atti Acc. Naz. Lincei », XX, 2-3 (1956).

(13) E. FULCHIERO, M. R. TURCOTTO e J. S. MARTIN, « Soc. Exper. Biol. Med. », 99, 537 (1958).

(14) M. LODER e H., WALHER « Lancet », I, 812 (1959).

La preparazione del gastrocnemio veniva eseguita con la tecnica nota. Una volta separato il gruppo neuro-muscolare questo veniva lasciato per 5' in liquido di Ringer per batraci e quindi montato su miografo in condizioni isotoniche, rimanendo il preparato stesso immerso in bicchierino ripieno di liquido di Ringer.

Si eseguiva per prima, ora sull'arto destro ora sul sinistro, la prova in bianco.

Per la stimolazione si utilizzavano elettrodi collegati a stimolatore elettronico, con stimoli di frequenza 50/m, $A = 60$ e $D = 0,8$ ms, con carico applicato alla leva in generale di 7 gr, solo raramente si arrivò ad un carico di 10 gr.

Il muscolo veniva fatto lavorare ininterrottamente fino ad esaurimento.

Terminata questa prima prova si iniettava intracisternalmente nella rana 1/2 cc di soluzione di penicillina G sodica in Ringer pari a 1000 U. Dopo 15' dall'iniezione si procedeva all'allestimento del secondo preparato neuro-muscolare e si sperimentava nelle stesse condizioni che per il primo. A scopo di ulteriore controllo sono state fatte anche prove dopo iniezione di solo Ringer.

Il lavoro è stato calcolato in gmm secondo la formula:

$$L = a \frac{m}{l} \left(P - \frac{c}{m} + \frac{p}{2} \right)$$

Dove:

a = altezza della contrazione;

m = braccio del muscolo;

l = braccio della leva;

P = peso applicato;

c = braccio del peso;

p = peso del muscolo.

Riportiamo appresso la Tabella dei dati ottenuti.

CONSIDERAZIONI.

Dall'esame dei risultati ottenuti appare nettissima la differenza tra l'entità del lavoro eseguito dal muscolo in condizioni, diciamo così, normali e quelle del muscolo corrispondente sottoposto all'azione dell'antibiotico.

In tutte le rane la iniezione di penicillina ha diminuito la capacità lavorativa del gastrocnemio in maniera notevolissima. Nessun effetto si è avuto invece dopo iniezione di solo Ringer (rane n° 7-14-15-23).

Ciò conferma perfettamente i dati desunti dalla letteratura sulla obbiettiva azione del farmaco in condizioni sperimentali e il dato oggettivo delle astenie fisiche conseguenti a trattamento antibiotico che, ripetiamo, pare avere una marcata azione sull'attività muscolare. Non è da escludere che improvvisi collassi, considerati complicanza nel decorso delle malattie infettive siano, invece, da imputare all'azione astenizzante dell'antibiotico che può sommarsi all'azione nota in tale senso delle diverse forme morbose.

TABELLA.

Rana n°	Peso della rana in gr	Peso del muscolo in gr	Peso applicato gr	Lavoro espresso in gmm
1	17	0,90	7	387,95 normale
1 p.				168,45 dopo penicillina
2	20	1	7	481
2 p.				203
3	16	0,90	7	963,95
3 p.				273,95
4	18	0,95	7	873,40
4 p.				322,20
5	16	0,90	7	917,61
5 p.				164,28
6	25	1,20	10	1142,26
6 p.				685,60
7	22	1,10	7	1120,15
7				1180,20 dopo sol.Ringer
8	20	1	7	881,45
8 p.				462,20
9	24	1,20	10	455,10
9 p.				301,76
10	26	1,20	10	990,65
10 p.				421,40
11	25	1,20	7	1257,43
11 p.				318,76
12	26	1,20	7	6481,26
12 p.				246,76

Segue: TABELLA.

Rana n°	Peso della rana in gr	Peso del muscolo in gr	Peso applicato gr	Lavoro espresso in gmm
13	32	1,60	7	1117,63
13 p.				172,63
14	32	1,60	7	1502,63
14				1480,20 dopo sol.Ringer
15	24	1,10	7	1200
15				1100 dopo sol.Ringer
16	18	1	7	425
16 p.				280
17	23	1	7	200
17 p.				0
18				325,20
18 p.				195,45
19	16	0,90	7	890,20
19 p.				425,10
20	20	1	7	1230,40
20 p.				375,45
21	18	1	7	2501,70
21 p.				1275,55
22	21	1	7	3502,20
22 p.				2008,75
23	20	0,90	7	2400
23				2000,20 dopo sol.Ringer
24	22	1	7	1260
24 p.				747,60
25	21	1	7	982,26
25 p.				508,16

Per questo noi riteniamo meritevoli di considerazione i risultati ottenuti. Ci ripromettiamo di estendere le ricerche anche al fine di chiarire la reale natura ed il meccanismo intimo dell'azione sfavorevole sulla capacità lavorativa del muscolo.

Per spiegare i dati riscontrati si possono fare alcune ipotesi, le quali tuttavia andranno vagliate ancora utilizzando la stessa tecnica e lo stesso preparato.

Ipotesi di lavoro al riguardo potrebbero essere:

1° *Azione di danneggiamento sulle strutture del muscolo.* — Dai dati della letteratura appare evidente come tutto il tessuto muscolare sia sensibile all'azione della penicillina. Ci si deve pertanto domandare se essa, penetrata attraverso la membrana, non trovi particolari condizioni per provocare alterazioni delle strutture protoplasmatiche con conseguente alterazione della funzione.

2° *Azione sul metabolismo.* — Il fatto rilevato da vari Autori che dosi diverse hanno azione diversa, dovrebbe tuttavia farci propendere più verso un meccanismo metabolico che per un'azione lesiva la quale, oltre tutto, sarebbe irreversibile. Anche se da tutti non confermata l'azione sul metabolismo dell'ATP non è da escludere in quanto è pure dimostrata la protezione della penicillina sulla scissione del medesimo. L'ATP d'altra parte non ha solo importanza sul metabolismo glicidico, ma ha azione plasticizzante sulle fibre di actomiosina ed è noto ancora che tale azione è inibita dal fattore di Marsh-Bendall, che a sua volta è inibito dallo spostamento di Mg^{++} e Ca^{++} . In questa serie di fenomeni e metabolici e di spostamento di ioni potrebbe dimostrarsi una interferenza della penicillina.

3° *Azione sulla trasmissione dell'impulso.* — A quanto ci risulta è stata riscontrata per altri antibiotici anche se non ne risulta ancora chiarito il meccanismo. Ha l'antibiotico da noi usato un'azione depolarizzante prolungata? agisce bloccando i mediatori chimici? interferisce sulla migrazione di ioni? È da osservare anche che l'azione riscontrata nel campo dell'anestesia e le ipotesi avanzate per spiegarla richiedono la presenza di una struttura giunzionale neuro-muscolare quale abbiamo solo sul muscolo striato volontario, mentre l'azione dell'antibiotico pare interessare tutti i tipi di tessuto muscolare.

Questi interrogativi vanno chiariti in via sperimentale e riteniamo che il preparato neuro-muscolare per le sue caratteristiche possa essere d'aiuto all'indagine.