

Clinica delle Malattie Nervose e Mentali dell'Università di Torino

Direttore : Prof. DINO BOLSI

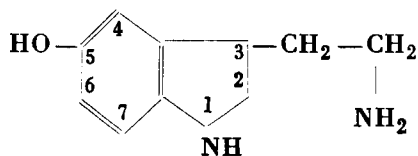
OSSERVAZIONI SUGLI EFFETTI DELL'ENTERAMINA (5-IDROSSITRIPTAMINA) NEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE. (Studio sperimentale elettrocorticografico)

Dott. F. FERRO MILONE
Assistente Volontario

Dott. G. GOMIRATO
Aiuto Libero Docente

L'enteramina già nota da tempo per alcune sue proprietà di fattore vasocostrittore periferico (vasocostrittina serica o sostanza adrenalinomimica del siero, Battelli (1905), O' Connor (1912); serotonina Rapport e Coll. (1948); enteramina Erspamer (1952)) ha recentemente acquistato grande importanza in campo biologico essendo stata riscontrata in notevole quantità nell'organismo dell'uomo e di varie specie animali, sotto due forme: libera (attiva) o legata ai tessuti (inattiva).

Fu identificata chimicamente come 5-idrossitriptamina (derivato indolico) nel 1948 da Rapport e Coll., e venne tre anni più tardi sintetizzata ad opera di Hamlin e Coll. con la seguente formula:



La sua più importante caratteristica biologica consiste nel fatto che nell'organismo vivente viene rapidamente inattivata per azione enzimatica e trasformata mediante deaminazione ossidativa ad opera di una monoamino-ossidasi in acido 5-idrossi-indolilacetico, sostanza priva di azione biologica che viene rapidamente eliminata per via renale nel quantitativo oscillante tra 2,5-6 mmg giornalieri. La suddetta caratteri-

stica di inattivazione da parte di una amino-ossidasi è comune sia alla enteramina endogena immessa in circolo dalle cellule del sistema enterocromoaffine o dai trombociti, quanto a quella esogena nella sua forma libera od attiva nota appunto come 5-HT.

L'enteramina fu trovata presente e determinata quantitativamente in molti tessuti, in particolare in quelli ricchi di cellule appartenenti al sistema enterocromoaffine, da cui il nome di enteramina proposto da Erspamer per tale sostanza. Perciò è soprattutto presente nell'intestino, nei tumori carcinoidi maligni dell' intestino (argentaaffinomi, Gennes-Fossey (1956)) dai quali tessuti si libera in notevole quantità; è inoltre presente nel sangue, nella milza e nel sistema nervoso centrale prevalendo soprattutto nell'ipotalamo (Amin e Coll. (1953)) come pure, all'infuori del sistema nervoso centrale, nel ganglio stellato (Florey-Florey (1953)).

Sono attualmente note alcune metodologie biologiche e biochimiche, altamente specifiche, che permettono la determinazione qualitativa e quantitativa dell'enteramina sia «in vivo» che «in vitro». I metodi biologici si avvalgono del potere contratturante che questa sostanza esercita sul muscolo liscio dell'utero di cavia in estro (Erspamer, 1940; Naess-Schanche (1956) e sul muscolo dorsale di sanguisuga (Poloni, 1956). I metodi biochimici utilizzano la determinazione spettrofluorometrica (Bowmann-Gaulfield-Udenfriend, 1955; Udenfriend - Brodgersky - Weissbach, 1955) e la determinazione quantitativa dello acido 5-idrossiindolilacetico metabolita terminale della 5-HT (Pletscher - Shore - Brodie, 1955; Brodie - Pletscher - Shore, 1955) che si elimina per via urinaria.

Non è ancora del tutto chiarita la funzione biologica dell'enteramina già nota come fattore emostatico, fattore del controllo arteriolare, di regolazione della funzione emodinamica del rene. Un nuovo interesse ha assunto questa sostanza da quando ne venne riscontrata la presenza e misurata la quantità nel sistema nervoso centrale (Amin e Coll., 1951; Brodie-Pletscher-Shore 1955; Brodgersky - Udenfriend, 1956), interesse ancor più vivo per alcune sue proprietà di antagonismo con la dietilamide dell'acido lisergico (LSD 25) e di integrazione sinergica con la reserpina. Sappiamo infatti (Shore-Silver-Brodie, 1955) che la reserpina e la 5-HT hanno un'azione analoga sedativa centrale che potenzia l'effetto ipnotico dell'exobarbital e dell'etanolo, azione che in entrambi i casi è bloccata dalla LSD 25,

e che d'altra parte la introduzione di reserpina provoca una rapida diminuzione dell'enteramina nel sistema nervoso centrale con diminuzione del 90% entro 4 ore (Brodie-Pletscher-Shore, 1955; Brodie-Shore-Pletscher, 1956) con aumento della eliminazione urinaria di acido 5-idrossiindolilacetico (Pletscher-Shore-Brodie, 1955). Inoltre l'azione sedativa della reserpina si manifesta fino a quando perdura la caduta del tasso di enteramina nel sistema nervoso centrale (Pletscher-Shore-Brodie, 1956).

Questi dati in aggiunta ad altri ormai numerosi nella letteratura, hanno del tutto recentemente condotto alcuni AA. a formulare l'ipotesi che l'enteramina abbia una primaria importanza nel determinismo di alcune funzioni nervose e in particolare che anche ad essa possa attribuirsi il compito di mediatore chimico della trasmissione nervosa (Florey-Florey, 1953; Welsh, 1954; Gennes-Fosse, 1956). Si è anche presunta una sua azione nel meccanismo biologico determinante la schizofrenia, in base al suo potere antagonista sull'acido lisergico e sulla LSD 25, note per le loro proprietà di produrre delle psicosi sperimentali a carattere dissociativo (Marazzi-Hart, 1955; Poloni, 1955; Schwarz-Wakim-Bickford-Lichtenheld, 1956; Garellio-Dolce, 1956). Pare infine abbia un'azione sull'epilessia riflessa secondo documentazioni sperimentali di Scarinci, 1955; Bertelli-Genovese, 1956; e sull'attività bioelettrica cerebrale (Schwarz-Wackins-Bickford, 1956; Santangelo-Sinisi, 1956).

Poichè nei lavori riguardanti questa sostanza si è voluto di recente fissare l'attenzione su alcuni aspetti farmacologici che conseguono ad antagonismi e sinergismi con altri farmaci, e particolarmente con quelli che hanno con l'enteramina affinità di struttura chimica (nucleo indolico e radicale aminoetilico sostituito) e dato che i risultati presentano tuttora lacune e contraddizioni, abbiamo ritenuto utile delimitare le nostre osservazioni sperimentali ai rapporti tra l'azione dell'enteramina e quella di altre sostanze mediante indagine elettrocorticografica. Come test di confronto sono state esaminate oltre alle modificazioni di attività bioelettrica spontanea, anche quelle dell'attività indotta mediante applicazione locale di stricnina su un'area circoscritta della corteccia motoria di un lato, o sulla attività convulsiva conseguente ad introduzione di piccole quantità di stricnina endovena (1/10 di mg.). Contemporaneamente alla indagine EEGrafica ci è parso indispensabile proce-

dere ad una indagine parallela dell'azione di questa sostanza sulla vasomotilità e sulla permeabilità vasale distrettuale, oltre al comportamento pressorio e sull'intervento di possibili antagonismi con le altre sostanze a questo livello. L'enteramina infatti è, o meglio era fino a questo momento, soprattutto nota per la sua azione farmacologica sul distretto vasale (azione emostatica) e per il suo effetto contratturante sulla fibra muscolare liscia. Questi dati sulla vasomotilità si sono rivelati perciò necessari onde meglio approfondire il meccanismo di azione e poter stabilire quanto degli effetti osservati sia da attribuire ad una azione diretta del farmaco sul sistema nervoso centrale, e quanto invece debba imputarsi alla modificazione della circolazione cerebrale, permeabilità vasale, consumo di ossigeno, etc...

A questo fine ci siamo serviti della nota tecnica di esame con la finestra cranica e registrazione microcinematografica dello stato funzionale dei vasi piali, registrazione della pressione mediante incannulazione dell'arteria femorale e misura continuata con manometro elettronico a capacità variabile (B a g g i o, 1956).

Tecnica degli esperimenti.

Come animale abbiamo usato il gatto e il coniglio (25 animali in totale) ma l'animale di elezione è stato il coniglio, perchè ha il vantaggio di permettere ottime registrazioni elettrocorticografiche nelle condizioni più fisiologiche possibili, cioè senza narcosi.

Gli elettrodi erano costituiti da viti di 2 mm. fissate all'osso fino a diretto contatto con la madre; in qualche caso sono stati usati anche elettrodi di Ag-AgCl, posti a diretto contatto con la corteccia cerebrale esposta, questo soprattutto nei casi in cui si è esperita la contemporanea registrazione dei potenziali bioelettrici nell'interno della finestra cranica contemporaneamente alla registrazione microcinematografica dei vasi piali.

Le diverse sostanze venivano poste per un tempo più o meno lungo a diretto contatto della corteccia della regione motoria, sia in soluzione che mediante applicazione del dischetto di carta bibula impregnata della sostanza, e direttamente applicata sulla corteccia attraverso una piccola breccia previamente aperta nell'osso della volta cranica.

La registrazione era effettuata mediante elettroencefalografo Grass.

modello 3A a sei penne scriventi. Le derivazioni per la registrazione erano a preferenza bipolari, ma anche monopolari, con elettrodo indifferente posto sullo scalpo avanti ai lobi olfattori. Contemporaneamente si eseguiva la registrazione dell'elettrocardiogramma (Ecg) e talora a scopo di controllo della pressione arteriosa, dell'arteria femorale.

I farmaci erano introdotti nel circuito generale mediante iniezione endovenosa; nel caso del coniglio, tramite la vena marginale dell'orecchio; nel gatto utilizzando la safena.

Abbiamo usato i seguenti farmaci:

L'enteramina sotto forma di solfato doppio di 5-idrossitriptamina-creatinina mmgr. 5 + solfito sodico mmgr. 3 + mertiolato sodico mmgr. 0,4 + cloruro sodico mmgr. 10 + acqua piretogenica q. s. a 2 cc. Questo prodotto ci è stato appositamente confezionato ad uso sperimentale dalla Farmitalia.

La reserpina nella confezione per uso clinico in fiale da mmgr. 2,5 fornitaci dalla Ciba.

La dietilamide dell'acido lisergico confezionata in fiale da 100 gamma per uso sperimentale fornitaci dalla Sandoz.

Altre sostanze usate furono: la stricnina in soluzione all'uno per mille e all'uno per cento, l'atropina solfato, il cloridrato di acetilcolina Roche, gynergen-ergotamina-Stoll, largactil Farmitalia, cardiazol, citrato sodico.

Descrizione e risultati degli esperimenti.

Questi furono condotti al fine di rispondere ai seguenti quesiti:

1) Vi è un effetto da parte dell'enteramina sul tracciato elettrocorticografico normale in condizioni di riposo fisiologico?

2) L'enteramina modifica l'attività convulsiva artificialmente indotta, sia mediante applicazione locale diretta di stricnina sulla corteccia, che per introduzione endovenosa di stricnina o di cardiazol?

3) Quali sinergismi o antagonismi esistono tra l'enteramina da un lato e le seguenti altre sostanze note per la loro azione sul sistema nervoso centrale: LSD 25, reserpina, clorpromazina, atropina, acetilcolina, diidroergotamina?

Siccome la maggior parte degli esperimenti sono stati condotti sul coniglio premettiamo una breve descrizione dei caratteri tipici dell'Ecg di questo animale, non anestetizzato, e dell'azione che su di esso hanno le diverse sostanze usate.

Allo stato di riposo fisiologico si osservano onde lente 1-3 c/s di ampio voltaggio (250-500 microV.) di forma irregolare con sovrainposte frequenze più rapide alternate a spindle di frequenza 14 c/s, di ampio voltaggio (300-500 microV.) e talvolta brevi treni di onde lente 4-6 c/s di medio voltaggio (50-100 microV.).

Allo stato di veglia, che può comparire bruscamente per qualsiasi stimolo sensoriale o nocicettivo, interviene una attività di basso voltaggio costituita da onde di 4-6 c/s (100-200 microV.) con ritmi rapidi sovrainposti di frequenza 28-32 c/s non sempre identificabili per il loro basso voltaggio (25-50 microV.) ed evidenti soprattutto in corrispondenza della zona motrice.

L'applicazione locale di stricnina provoca con latenza di alcuni minuti per la soluzione all'uno per mille, assai minore per la soluzione all'uno per cento la comparsa di punte stricniche (P.S.) spontanee, negative, di ampio voltaggio, anche di 1-3 mV, della durata di 30 msec., dapprima isolate, poi più frequenti e raggruppate a due, tre, accompagnate da un breve treno di attività postuma di 16 c/s e dalla riduzione dell'attività bioelettrica corticale con graduale scomparsa dell'attività spontanea per modo che tra una P.S. e l'altra il tracciato assume un aspetto appiattito con attività per lo più rapida e di basso voltaggio. In seguito ad applicazioni ripetute e protratte compaiono dapprima scosse cloniche agli arti controlaterali ed in seguito crisi convulsive elettroencefalografiche e cliniche. L'introduzione di stricnina per via endovenosa nella quantità di 1/10 di mg provoca oltre la comparsa di un'attività convulsiva corticale, anche un evidente tetano midollare che si manifesta per ogni più piccolo stimolo sensoriale.

L'iniezione endovenosa di piccola quantità di cardiazol (5 mg/Kg) provoca la comparsa di un'attività ipersincrona diffusa, ritmica, con ampie onde lente ed irregolari 3-6 c/s (200-300 microV) che dura per 40-60 minuti primi, senza convulsioni chiaramente dimostrabili, sia EEGraficamente che clinicamente.

L'iniezione di LSD 25 (70-80 gamma/Kg) provoca dopo alcuni minuti una più o meno totale desincronizzazione del tracciato con ritmi rapidi e di basso voltaggio, però non sempre così evidente come affermato da Verdeaux-Marty (1954).

La reserpina nella dose da 0,5-2 mg/Kg modifica il tracciato analogamente a quanto già osservato nel gatto (Ferro Milone e Gomitato, 1955) e nel coniglio (Rinaldi-Himwich, 1955) provocando, con una latenza di 10-20 minuti primi, un quadro elettroencefalografico tipico dello stato di veglia, per nulla differenziabile da quello caratteristico dell'animale in condizioni fisiologiche con scomparsa dei ritmi da sonno e dei fusi di ampio voltaggio.

La cloropromazina (1-5 mg/Kg) provoca nel coniglio come nel gatto una scomparsa dei ritmi rapidi (Ferro Milone e Gomitato, 1955) ed una progressiva attenuazione della reazione di risveglio con la comparsa di una attività lenta a onde regolari (2-4-5 c/s) e fusi di 8-12 c/s tipica del sonno EEGrafico e clinico (Terzian, 1954).

L'atropina alla dose di 3 mg/Kg non provoca modificazioni tipiche dell'EEG a riposo ma produce un blocco completo della reazione di risveglio non accompagnata però dal sonno EEGrafico.

Il cloridrato di acetilcolina a dosi non convulsivanti (1-5 gamma/Kg) provoca una brusca desincronizzazione del tracciato, scomparsa delle onde lente e dei fusi di 14 c/s; a dosi appena superiori, invece una reazione lenta e diffusa. Tale azione è evidente oltre che per l'introduzione endovenosa del farmaco, anche per la sua applicazione locale a soluzione concentrata dell'uno per mille.

Il gynergen-ergotamina (0,5 mg/Kg) non modifica apprezzabilmente il tracciato corticografico a riposo.

La enteramina iniettata per via endovenosa provoca già alla dose di 100-500 gamma pro/Kg delle transitorie modificazioni dell'EEG che nelle successive introduzioni si ripetono con caratteri analoghi. Tali modificazioni si possono identificare con una reazione di risveglio EEGrafico con la scomparsa delle onde lente e dei fusi a 14 c/s, desincronizzazione del tracciato con presenza di onde a 6 c/s di basso voltaggio e ritmi rapidi 36 c/s, appiattimento del tracciato; entro 1-3 minuti primi al massimo ricompaiono, gradualmente, i ritmi da riposo con spindle dapprima a 11-12 c/s e dopo alcuni minuti a 14 c/s ed onde lente di ampio voltaggio. Tale azione desincronizzante, anche se in modo meno manifesto, è pure evidente con applicazioni locali del farmaco sulla corteccia.

L'enteramina per applicazione locale provoca una netta riduzione della frequenza e dell'ampiezza delle P.S. ottenute mediante applicazione locale di stricnina seguita da un «rebound» dell'attività stricnica,

talora con comparsa immediata della crisi convulsiva, nel momento in cui la enteramina viene allontanata dalla corteccia. Questa azione locale si esaurisce spontaneamente nel giro di pochi minuti ed è particolarmente evidente se si usa una soluzione di stricnina all'uno per mille applicata localmente; in caso di stricnizzazione più intensa (soluzione uno per cento) si può osservare solo una più o meno netta riduzione nella ampiezza e nella frequenza delle P.S.

L'iniezione endovenosa di dosi variabili da 100 gamma a 5 mmg, provoca una brusca scomparsa delle P.S. nello spazio di 20" al massimo dal termine dell'iniezione, per una durata di tempo variabile da uno a due minuti primi ed eccezionalmente di tre. Dopo di che le P.S. ricompaiono dapprima una ogni 10-20" poi con frequenza sempre maggiore fino a riportarsi al ritmo precedente. Tale effetto è costante ad ogni nuova iniezione di enteramina, ma nelle introduzioni successive le dosi minime risultano talvolta insufficienti e nel caso di dosi medie (un mmg) la durata dell'inibizione delle P.S. è proporzionalmente minore rispetto alla dose massima di 5 mmg; analogo comportamento si verifica se la stricnizzazione corticale è ottenuta con soluzione concentrata (uno per cento). Dopo ripetute iniezioni endovenose di enteramina, le P.S. che ricompaiono dopo il periodo di blocco tendono a raggrupparsi in salve di 6-12 punte con frequenza di 8-11 c/s assumendo un aspetto che ricorda assai da vicino quello delle P.S. stricniche dopo iniezione di acetilcolina. Dopo iniezioni ripetute di dosi medie (1-2 mmg) le P.S. tendono inoltre a ridursi progressivamente di frequenza e di ampiezza e generalmente se la stricnizzazione non è molto intensa, scompaiono del tutto di colpo dopo l'ultima introduzione di enteramina. La introduzione di 1-3 mmg di enteramina per via endovenosa è in grado di arrestare una crisi convulsiva nel suo pieno sviluppo. Ripetute introduzioni di enteramina possono arrestare le crisi tetaniche conseguenti alla iniezione di un mmg di stricnina endovena e permettere la sopravvivenza dell'animale per 10-12' dopo la introduzione di dosi massive di 2,5 mmg di stricnina pari a 1,5 mmg/Kg quantità sicuramente mortale nel giro di qualche minuto.

Fra le numerose sostanze usate nei nostri esperimenti anche altre hanno un'azione sulla P.S., per lo più nel senso di una riduzione di queste, salvo il citrato sodico che le aumenta di frequenza e di intensità.

Abbiamo anche osservato che la diidroergotamina e la LSD 25 in particolar modo, tendono a ridurre le P.S. per quanto in un grado

assai modesto e con caratteristiche di frequenza ed ampiezza diverse da quelle della enteramina, la qual cosa non si verifica se l'area corticale è stricnizzata intensamente con soluzione all'uno per cento.

L'atropina e la cloropromazina, sostanze ben note per la loro azione bloccante sulla formazione reticolare non hanno effetto alcuno sull'attività EEGrafica indotta dalla stricnina.

L'acetilcolina e la reserpina provocano la scomparsa delle P.S. con caratteristiche tali che meritano un cenno particolare. E' noto (V e r d e a u x-M a r t y, 1954), e già in precedenza ne abbiamo accennato, che l'acetilcolina introdotta per via endovenosa, provoca a dosi non convulsivanti una brusca desincronizzazione ed un appiattimento del tracciato, parallelamente a tale effetto si ha una improvvisa scomparsa delle P.S. entro 10" dall'iniezione. Le P.S. ricompaiono, a seconda della dose usata, e dell'entità dell'effetto collaterale desincronizzante, entro 30-60" o al più tardi entro 2-3 minuti. Il fenomeno si verifica con caratteri analoghi ad ogni nuova introduzione del farmaco per via endovenosa. Dopo ripetute dosi di acetilcolina, l'attività stricnica tende a trasformarsi assumendo un aspetto caratteristico costituito dalla comparsa di brevi treni di punte (8-10 punte alla frequenza di 12-19 c/s) analoghi a quelli già osservati per l'iniezione di enteramina. Sulla natura di questi treni di onde ipersincrone rimane tutt'ora il dubbio se debbano essere interpretati come «onde acetilcoliniche» oppure come salve di punte stricniche. Il fatto che a distanza di tempo di 5-10' questi complessi si trasformino di nuovo gradatamente nelle tipiche P.S. organizzate singolarmente, a coppie o a triadi, lascia pensare che si tratti soprattutto di una particolare organizzazione delle P.S. determinata dalla iniezione di acetilcolina.

Per quanto riguarda l'effetto della reserpina confermiamo le osservazioni di C a r r e r a s e C o l l. (1955) che hanno osservato una scomparsa delle P.S. successiva ad una iniezione endovenosa di piccole dosi (100-300 gamma) di reserpina. L'effetto non è così immediato come avviene nel caso della enteramina, ma è molto più duraturo. Questo è assai evidente quando l'area corticale viene stimolata con stricnina a debole concentrazione (uno per mille); se si usa invece la stricnina a forte concentrazione (uno per cento) si osserva puramente una graduale riduzione nella frequenza e nell'ampiezza delle P.S. senza per altro riuscire neppure con forti dosi di reserpina (5 mmg/Kg) a provocarne la completa scomparsa, almeno negli abituali limiti di tempo per i quali si protrae l'esperimento.

Anche con l'uso della reserpina, come già si è notato con quello della enteramina e dell'acetilcolina, sebbene in modo meno evidente che per questi due ultimi farmaci, l'attività stricnica provocata da forti concentrazioni (uno per cento) tende ad organizzarsi in salve di punte di 8-10 unità.

Come già premesso, l'azione antagonista delle sostanze studiate nei confronti della enteramina, è stata analizzata tenendo come elemento di paragone l'azione della enteramina sull'attività convulsiva stricnica.

Dai nostri esperimenti risultano avere azione antagonista nei riguardi della enteramina:

1) L'atropina. Una volta comparsa l'attività stricnica per azione locale di stricnina (uno per cento) sulla corteccia, e controllata l'azione frenatrice su questa attività della enteramina, si iniettano 3 mmg endovena di atropina solfato ed a progressiva distanza di tempo si controlla il suo effetto sull'azione della enteramina. Abbiamo notato che dopo pochi minuti dalla introduzione dell'atropina anche forti dosi di enteramina (5 mmg/Kg) sono completamente inefficaci.

2) La LSD 25 iniettata per via endovenosa (80-100 gamma/Kg) blocca l'azione dell'enteramina con un effetto che è massimo dopo 20-30 minuti dalla iniezione della LSD 25. Ciò nonostante già dopo qualche minuto si osserva l'inizio di un effetto antagonista nei confronti della enteramina che si estrinseca a questo punto unicamente con una riduzione nel voltaggio e nella frequenza delle P.S. per dosi basse di enteramina (500 gamma/Kg) mentre per quelle superiori (2-3 mg/Kg) l'effetto frenatore della enteramina sulle P.S. è ancora ben evidente. Questo effetto della enteramina viene totalmente annullato come già detto, quando questa sostanza sia iniettata alle dosi di 2-3 mg/Kg dopo 20-30' dalla introduzione in circolo della LSD 25. Notiamo per inciso come l'azione frenatrice sulle P.S. propria della enteramina abbia caratteri assai diversi e perciò ben distinguibili da quella dovuta alla LSD 25.

3) La diidroergotamina che, come già osservato, ha di per sé una azione inibitrice sulle P.S. presenta solo modesto effetto bloccante nei confronti della enteramina.

4) La cloropromazina da sola non presenta alcun effetto nè sulla attività corticale di tipo stricnico, nè a riguardo della enteramina.

Azione enteraminosimile hanno invece l'acetilcolina e la reserpina.

La reserpina dimostra una netta azione frenatrice sulle P.S. che compare nei riguardi di quella della enteramina con una latenza assai maggiore, ma con effetto prolungato. Questa azione antistricnica della reserpina, come quella della enteramina, sono bloccate dalla LSD 25 e dall'atropina.

La acetilcolina presenta a minime dosi (non convulsivanti), come già detto all'inizio di questa nota, un'azione frenatrice sulle P.S. che viene bloccata dalla atropina, ma non dalla LSD 25. Questo permette di concludere che l'effetto acetilcolinico alle dosi studiate è pertanto simile a quello della enteramina ma non identico a causa del mancato blocco da parte della LSD 25 dell'azione frenatrice acetilcolinica, mentre si manifesta nel caso della enteramina.

Azioni vegetative.

Uno degli effetti più caratteristici ed assolutamente costante della enteramina introdotta per via endovenosa è la immediata comparsa di una intensa bradicardia che si risolve rapidamente perdurando al massimo pochi secondi dalla fine della iniezione. L'entità della riduzione di frequenza del battito cardiaco è notevole, oscillando tra il 50 ed il 75 % della frequenza iniziale. Sia la reserpina che l'acetilcolina dimostrano azione bradicardizzante, meno intensa per la reserpina (25-50 per cento) assai più forte per l'acetilcolina (che può giungere fino all'arresto del cuore per qualche secondo).

L'atropina blocca l'effetto bradicardizzante sia della enteramina, dell'acetilcolina che della reserpina.

La LSD 25 blocca l'effetto bradicardizzante della enteramina e della reserpina, ma non dell'acetilcolina.

Collateralmente all'elettrocardiogramma il controllo della pressione sanguigna arteriosa ha confermato nei confronti della enteramina l'effetto anfibarico di questa sostanza che provoca all'inizio una ipotensione per lo più modesta che si risolve con una fugace fase ipertensiva. Se si tiene conto che la clorpromazina ha un effetto ipotensivo assai più marcato e duraturo rispetto a quello della enteramina, secondo i nostri controlli, e che la clorpromazina non modifica l'attività delle P.S., è evidente che la ipotensione arteriosa non è un fattore determinante nell'azione frenatrice della enteramina sull'attività delle P.S.

Osserviamo in particolare che mai nei nostri esperimenti si è raggiunto con l'enteramina un grado tale di ipotensione da poter annullare la attività bioelettrica corticale, mediante una anossia ischemica, a differenza di quanto ha potuto ottenere Terzian (1954) nel coniglio usando il pendiomid. Inoltre l'effetto ipotensivo della enteramina compare con una latenza maggiore di quella anticonvulsiva e si prolunga al di là della durata dell'effetto anticonvulsivo.

Le osservazioni sul comportamento dei vasi piali non rientrano propriamente nell'esposizione di questo argomento, tuttavia accenniamo che la enteramina ha una modestissima azione vasocostrittrice, che viene bloccata dalla LSD 25. Entrambe queste sostanze annullano l'effetto permeabilizzante della caffeina applicata localmente. L'acetilcolina provoca una modesta vasodilatazione e non modifica la permeabilità aumentata dalla caffeina.

Comportamento clinico.

Ci limitiamo a riferire soltanto alcuni dei più evidenti effetti collaterali clinicamente osservabili nel coniglio in seguito alla introduzione endovenosa di enteramina:

- 1) Quasi costantemente subito dopo la prima iniezione endovenosa di 1-2 mg si ha una immediata contrazione della vescica con emissione di urina sotto forte pressione.
- 2) Aumento della peristalsi intestinale con espulsione di feci.
- 3) Azione sedativa blanda che si manifesta con una leggera perdita della iniziativa motoria volontaria.
- 4) Effetto sedativo analogo, d'altra parte ben noto nella letteratura, si osserva in seguito alla introduzione della reserpina.
- 5) L'iniezione di LS D25 provoca al contrario la comparsa di uno stato di agitazione e di irrequietezza che si protrae per lungo tempo.

In sintesi si può pertanto concludere che la enteramina nel coniglio e nel gatto dimostra:

- 1) Azione desincronizzante sul tracciato EEGrafico nell'animale a riposo.

2) Azione inibitrice transitoria delle P. S. ed anticonvulsivante sul tetano stricnico e sulle convulsioni da cardiazol.

3) Tale azione inibitrice antistricnica è a sua volta bloccata dalla LSD 25 e dalla atropina iniettati in precedenza. Hanno invece azione sinergica con la enteramina la reserpina e la acetilcolina. Questo sinergismo è del tutto identico per quanto riguarda la reserpina, ma non nei confronti dell'acetilcolina la cui azione antistricnica viene bloccata dalla atropina ma non dalla LSD 25.

Pertanto in base ai dati sperimentali da noi finora acquisiti, circa la analogia di azione a livello del sistema nervoso centrale fra enteramina e reserpina, si può avvalorare la tesi già esposta all'inizio di questa nota, in base alla quale parte dell'azione della reserpina sarebbe da imputarsi alla liberazione della enteramina a livello centrale. Al contrario la cloropromazina agisce sul sistema nervoso centrale indipendentemente da un meccanismo enteraminico.

Le analogie di azione tra acetilcolina a piccole dosi ed enteramina sul sistema nervoso centrale confortano altresì l'ipotesi di un'attività della enteramina a carattere di mediatore chimico.

RIASSUNTO

Dopo una breve esposizione sui principali dati della letteratura sull'argomento, gli AA. espongono i risultati di una serie di esperimenti condotti su conigli e gatti mediante indagini elettrocorticografiche. Da questi risulta che la enteramina possiede:

- 1) Azione desincronizzante sul tracciato EEGrafico dell'animale a riposo.
- 2) Azione inibitrice transitoria sulle punte stricniche ed anticonvulsivante sul tetano stricnico e sulle convulsioni da cardiazol.

Tale azione inibitrice antistricnica è a sua volta bloccata dalla LSD 25 e dalla atropina e dalla diidroergotamina, precedentemente iniettate. Hanno azione sinergica con la enteramina, la reserpina e l'acetilcolina. Questo sinergismo è identico nel caso della reserpina mentre l'azione antistricnica dell'acetilcolina è bloccata solo dall'atropina e non dalla LSD 25 (dietilamide dell'acido lisergico).

Questo conferma da un lato la possibilità che la reserpina agisca a livello del sistema nervoso centrale mediante liberazione di enteramina e dall'altro la ipotesi che la enteramina stessa possa essere considerata come mediatore chimico per alcune sue proprietà generali che l'avvicinano assai alla acetilcolina. La cloropromazina dimostra un'azione sul sistema nervoso centrale che è indipendente dalla liberazione di enteramina.

R É S U M É

Les AA. exposent les résultats d'une série d'études sur les lapins et sur les chats effectués par des examens corticographiques. Il en résulte que la entéramine (5-hydroxitryptamine) présente:

1) une action désynchronisante sur le tracé EEGraphique de l'animal à repos;

2) Une action d'inhibition de courte durée sur les pointes strychniques et une action anticonvulsive sur le tétano strychnique et sur les convulsion par cardiazol.

Cette action inhibitrice antistrychnique est bloquée par la LSD 25, par l'atropine et par la dihydroergotamine précédemment injectées. L'entéramine, la réserpine et l'acétylcholine ont une action synergique.

Ce synergisme est le même lorsqu'il s'agit de la réserpine tandis que l'effet antistrychnique de l'acétylcholine est bloqué seulement par la atropine et non par la LSD 25.

Ces données ajoutées à celles de la littérature, appuyent l'hypothèse que la réserpine agisse au niveau du système nerveux central par libération de 5-HT et aussi que la 5-HT même puisse être considérés comme médiateur chimique de même que l'acétylcholine. La 5-HT au niveau du système nerveux central n'est pas modifiée par l'action de la chlorpromazine.

SUMMARY

A short survey on the literature is done: then the Authors relate about the electroencephalographic results of some experimental researches, on rabbit and cat, which can be summarized as follows:

1). Enteramine shows a desynchronizing action at rest, and a temporary inhibiting activity on strychnine spikes (EEG pattern).

2). Anticonvulsive effects on strychnine and cardiazol convulsive condition. The anti-strychnine effect, on the other hand, is blocked by LSD 25 (lysergic acid-diethylamide), atropine, and dihydroergotamine.

The pharmacological properties of enteramine are reinforced by reserpine and acetylcholine, the antistrychnine action of which (Ach) is hindered by atropine only, and not by LSD 25.

These events confirm the possibility that reserpine operates on the Central Nervous System by liberation of enteramine, and also the hypothesis that enteramine itself is to be considered a chemical transmitter, since some pharmacological similarities with acetylcholine.

Chlorpromazine's action on the central nervous system is not bound by acetylcholine's liberation.

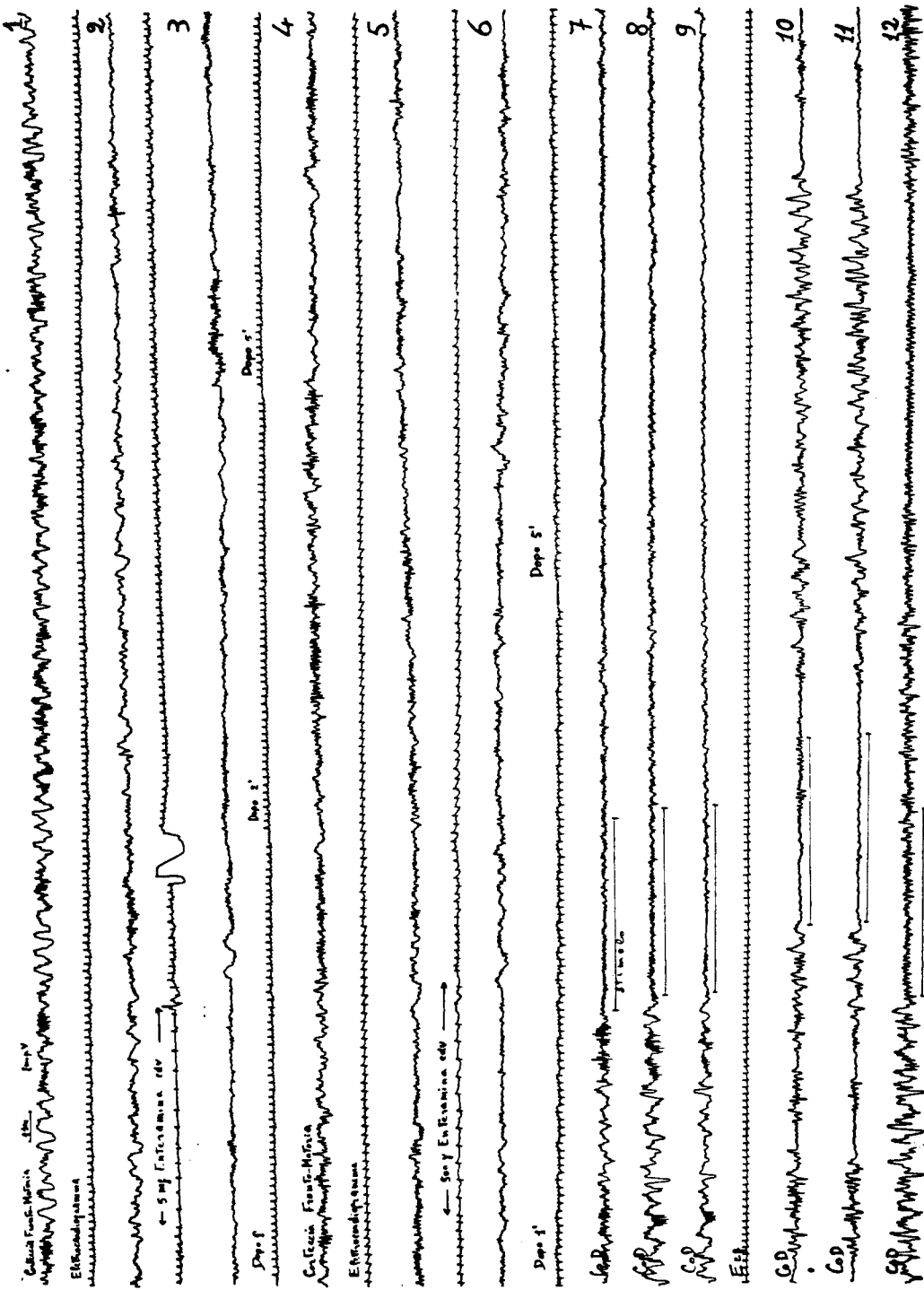


Fig. 1. Azione dell'enteramina sull'EEG. In 11 animali (Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6) medesimo tracciato, secondo l'ordine: l'iniezione di enteramina si è svolta a riposo e sulla reazione di risveglio del conflitto. L'iniezione di enteramina (100-500 μ g/Kg) provoca una destincronizzazione del tracciato analogo alla reazione di risveglio nell'animale normale. Ciò nell'animale a riposo senza anestesia (7/8/89), in 10/11/12 la medesima reazione è notevolmente ridotta di intensità e durata corrispondentemente allo stato di quiete, clinicamente evidente, che si osserva dopo ripetute introduzioni di enteramina, a distanza di tempo. E' evidente l'effetto dell'enteramina a livello neurovegetativo (bradicardia, vedi Ecg).

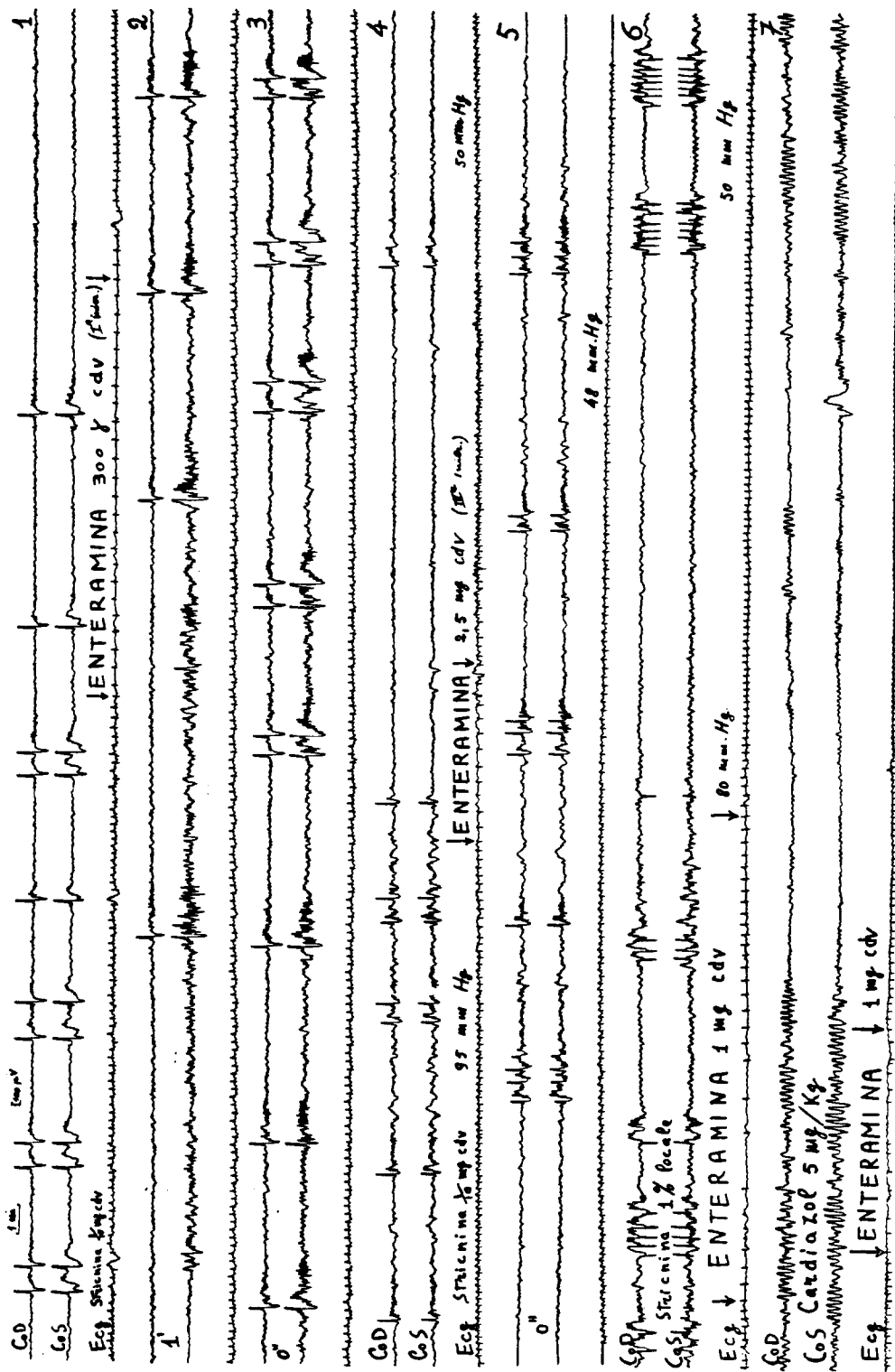
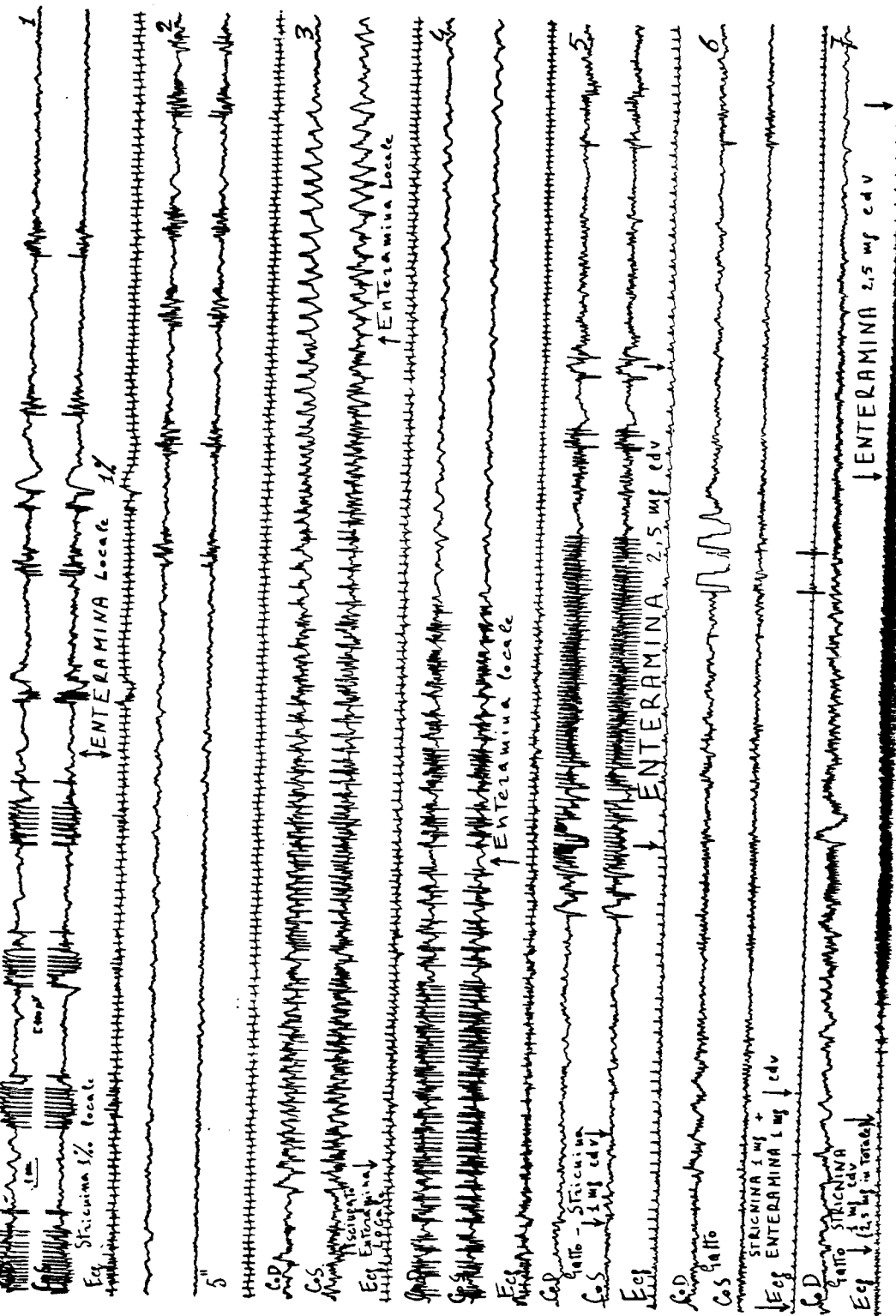
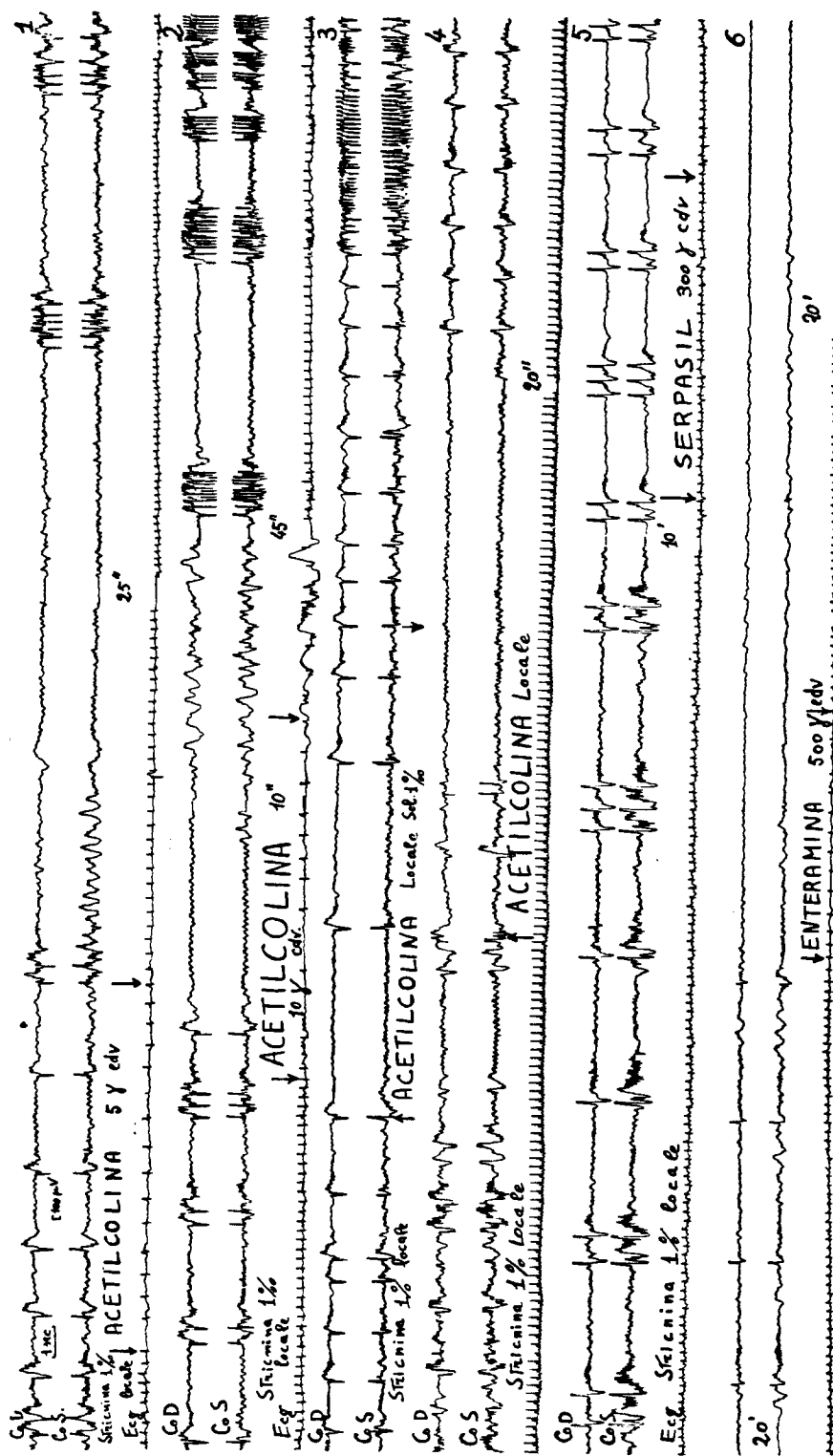


Fig. 2). Azione dell'enteramina sull'attività convulsiva corticale da stricnina e da Cardiazol. Strychnina: applicazione locale di soluzioni 1 per mille e 1 per cento, per iniezione endovenosa di dosi ritratte - un decimo di mmg/Kg - o mediante entrambi i sistemi associati. Cardiazol: 5 mg/Kg endovena. Registrazione bipolare sulla corteccia frontomotoria destra e sinistra (CoD e CoS). L'iniezione endovena di enteramina a dosi basse (300 gamma/Kg), medie (6) 1 mg/Kg) o alte (4) 5 2,5 mg/Kg) provoca la scomparsa delle PS, entro il termine della iniezione per un periodo di 20-80 secondi. In 7) desincronizzazione e appiattimento per un periodo di 20 secondi, scomparsa dell'attività ipersincrona, subconvulsiva da cardiazol.



14. 3). Azione dell'enteramina locale sull'attività convulsiva corticale da stricnina e azione generale sul tetano midollare da stricnina. La applicazione dell'enteramina in soluzione madre o a concentrazione 1%, determina la scomparsa (112) delle P.S. per 40 secondi circa. Assorbendo la enteramina in loco, prima che abbia esaurito spontaneamente la propria azione, si ha la immediata comparsa di una crisi convulsiva Elettro e Clinica. L'applicazione locale di nuova enteramina provoca un arresto della (3-4). Nel Gatto 5) già sensibilizzato con applicazioni locali ed iniezione di piccole quantità di stricnina (0,5 mg) l'iniezione endovenosa di 1 mg di stricnina provoca, con latenza di pochi secondi, la comparsa di una crisi convulsiva: l'introduzione di enteramina (1 mg) assorbita alla stricnina (1 mg) previene, nelle condizioni suaccennate la comparsa della crisi conseguente alla iniezione della sola stricnina (6). L'enteramina alla dose di 2,5 mg è ancora in grado di bloccare il tetano midollare conseguente alla introduzione di 2,5 mg di stricnina permettendo la sopravvivenza dell'animale per 10-12 minuti (7), quando in condizioni analoghe, ma senza la enteramina, la morte sopravviene entro pochi minuti per asfissia.



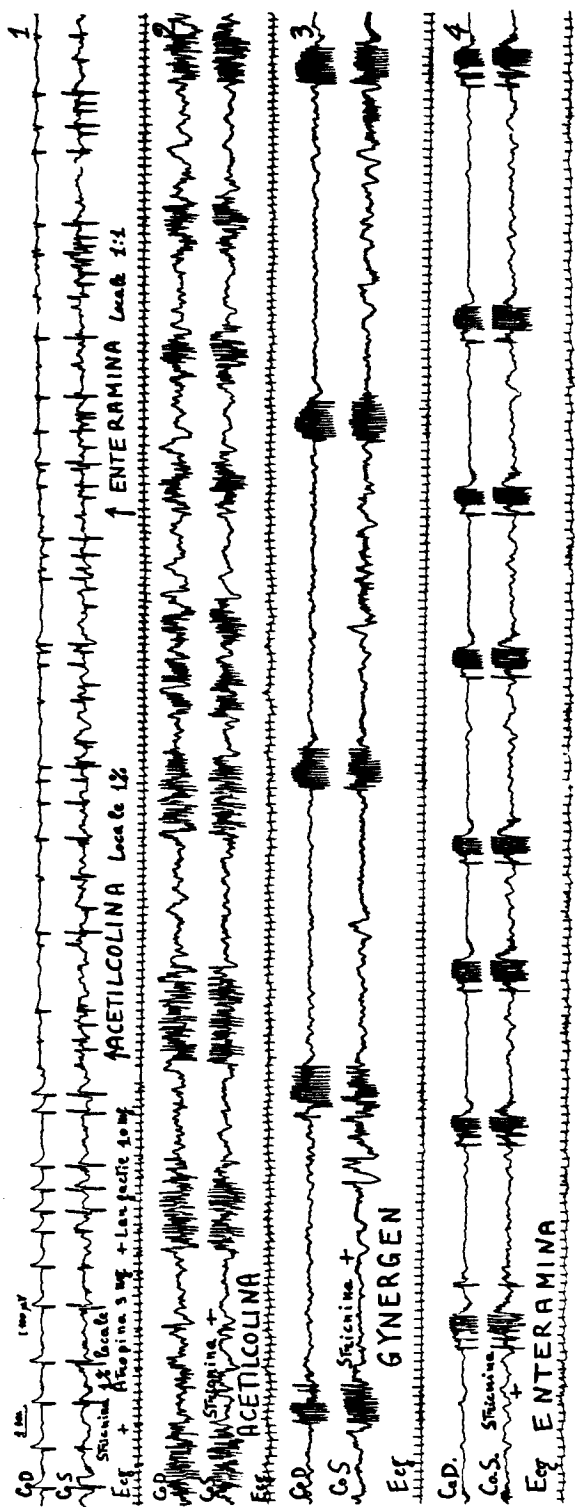


Fig. 6). Antagonismo fra atropina e clorpromazina da un lato e acetilcolina ed enteramina dall'altro. Sinergismo fra acetilcolina, Gynergen ed enteramina. (1) Sia la atropina che la clorpromazina non modificano per nulla l'attività sfirica corticale. L'atropina sola inibisce l'azione locale sia della acetilcolina che della enteramina sulla P.S. 2)3)4). E' possibile osservare la stretta analogia morfologica che esiste fra l'organizzazione delle P.S. sotto l'azione della acetilcolina (vedere anche al 2) della fig. 4), del Gynergen (vedere anche al 2) della fig. 5), e della enteramina.

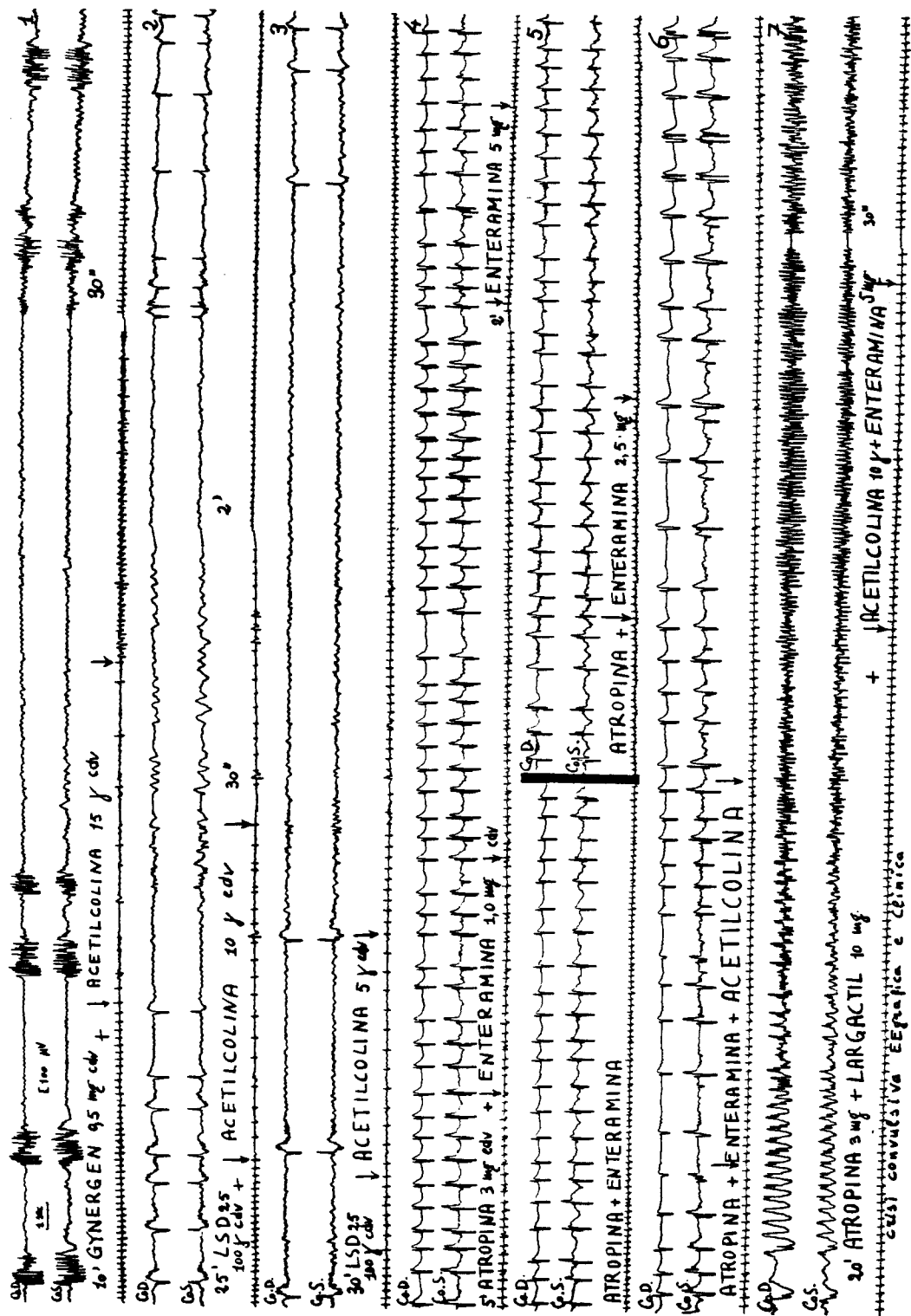


Fig. 7). Antagonismi tra: atropina-acetilcolina, enteramina, reserpina-gynergen, LSD 25. Il gynergen 1) e la LSD25 2) non modificano né l'azione vegetativa (bradicardia) né l'azione sul SNC (scomparsa delle P.S.) dell'acetilcolina introdotta per vena a dosi non convulsive (15 gamma). L'atropina blocca completamente sia per la risposta vegetativa (bradicardia) che quella del SNC (blocco delle P.S.) tanto per l'enteramina che per la acetilcolina 4) 5) 6) anche se associata e in dosi massive 7) (10 gamma di acetilcolina + 5 mg di enteramina).

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verff. fassen Kurz die Hauptdaten der bisher veröffentlichten einschlägigen Literatur zusammen. Sie legen dann die Ergebnisse einiger in Kaninchen und Katzen durchgeführter elektrokortikographischer Beobachtungen dar. Sie fanden dass das Enteramin:

1) das Hirnstrombild beim ruhenden Tiere in synchronisierendem Sinne beeinflusst;

2) eine vorübergehende hemmende Wirkung auf die Strychninwellen und eine krampfhemmende Wirkung auf den Strychnintetanus und auf die Kardiazolkonvulsionen ausübt.

Wenn man vor dem Experiment LSD 25, Atropin oder Dihydroergotamin zuführt erweist sich dieser antistrychnische Hemmungseffekt als blockiert. Reserpin und Azetylcholin hingegen haben eine mit dem Enteramins völlig gleichartig, während die antistrychnische Aktion des Azetylcholins nur vom Atropin und nicht vom LSD 25 aufgehoben wird. Es bestätigt sich somit die Möglichkeit, dass das Reserpin im Nervensystem durch Befreiung von Enteramin wirksam ist; es wird auch die Hypothese bekräftigt, dass das Enteramin als eine aufgrund gewisser Grundeigenschaften dem Azetylcholin recht nahe stehende chemische Mittelsubstanz angesehen werden muss.

Der Wirkungsmechanismus des Chlorpromazins auf das Zentralnervensystem ist dagegen unabhängig von der Befreiung von Enteramin.

BIBLIOGRAFIA (*)

(*) Per le fonti bibliografiche degli Autori citati nel testo e non compresi in questo elenco, confronta Erspamer, 1954, al quale si rimanda anche per la estesissima bibliografia generale sull'argomento.

Baggio G. — Azione dell'enteramina (5-idrossitriptamina) sui vasi piali (in corso di stampa).

Bertelli A. e Genovese E. — Azione della reserpina sulla epilessia riflessa - *Arch. Psicol. Neurol. Psich.*, 17, 288, 1956.

Bodgansky D. F. a. Udenfriend D. S. — *Journ. of Pharmacol. a. Exper. Ther.*, 7, 116, 1956 (citato da Gennes-Fosse, 1956).

Bowman R. L., P. A. Caufield a. S. Udenfriend — Spectrophotofluorometric assay in the visible a. ultraviolet - *Science*, 122, 32, 1955.

Brodie B. B., A. Pletscher a. P. A. Shore — Evidence that Serotonin has a role in Brain function - *Science*, 122, 968, 1955.

- Brodie B. A., P. A. Shore a. A. Pletscher — Serotonin-releasing activity limited to rauwolfia alkaloids with tranquillizing action - *Science*, 123, 992, 1956.
- Carreras M. e F. Angeleri — Basi sperimentali alle indicazioni della clorpromazina e della reserpina nella terapia neuropsichiatrica - *Riv. di Neurobiol.*, 1, 473, 1955.
- Erspamer V. — Rendiconti scientifici Farmitalia - vol. I - Ed. Laboratori ricerche Soc. Farm. Italia, Milano, 1954.
- Ferro Milone F. et G. Gomirato — Etude expérimental de l'action des drogues neuroleptiques sur l'activité corticale spontanée et évoquée du chat - *L'Encéphale*, 1956.
- Florey E. et E. Florey — *Naturwissenschaften* 15, 413, 1953 (citato da Gennes-Fossey, 1956).
- Garello L. e G. Dolce — Intorno alla azione risolvente della dietilamide dell'acido lisergico e della metilamfetamina sulla catalessia sperimentale da 5-idrossitriptamina (5-HT). Ricerche sperimentali sul cane - *Sistema Nervoso*, 8, 61, 1956.
- Gennes L. et M. de Fossey — La sérotonine, un nouveau médiateur chimique - *La Press. Méd.*, 64, 1066, 1956.
- Marrazzi A. S. a. R. E. Hart — Evoked cortical responses under the influence of hallucinogens and related drugs - *EEG. Clin. Neurophysiol.*, 1, 146, 1955.
- Naes K. a. S. Schanche — Effect of Reserpine or serotonin in rabbit serum - *Nature*, 177, 1130, 1956.
- Peters R. e F. Dickens — Gli enzimi - Ed. Il pensiero Scientifico (Garzanti). Roma, 1954, pp. 223 e seg.
- Pletscher A., P. A. Shore a. B. B. Brodie — *Journ. Pharm. a. Exper. Ther.*, 84, 116, 1956 (citato da Gennes-Fossey, 1956).
- Pletscher A., P. A. Shore et B. B. Brodie — Serotonin release as possible mechanism of reserpine action - *Science*, 122, 374, 1955.
- Poloni A. — L'attività serotoninica nel sistema nervoso centrale - *Il Cervello*, 32, 36, 1956.
- Poloni A. — Serotonina e schizofrenia - *Il Cervello*, 31, 355, 1955.
- Rinaldi F. a. H. E. Himwich — A comparaison of effects of reserpine and some Barbiturates on the electrical activity of cortical and subcortical structures of the brain of rabbits - *Ann. New York Acad. of Sciences*, 61, 27, 1955.
- Santangelo F. e G. Sinisi — Azione della serotonina sull'elettroencefalogramma nell'uomo - *Il Pisani*, 70, 220, 1956.
- Scarinci V. — Ricerche farmacologiche sulla idrossitriptamina. Azione sulla epilessia riflessa - *Arch. Ital. Scienze Farmac.*, 5, 265, 1955.

- Schwaez B. E., K. G. Wakim, R. G. Bickford a. F. R. Lichtenheld — Behavioral an electroencephalographic effects of hallucinogenic drugs - *Arch. Neurol. a. Psych.*, 75, 83, 1956.
- Shore P. A., S. L. Silver a. B. B. Brodie — Interaction of reserpine, serotonin, and Lysergic acid dyethylamide in brain - *Science*, 122, 284, 1955.
- Terzian H. — Etude de l'action du Largactil (45RP) et du pendiomide sur l'activité électrique cérébrale du lapin - *Rev. Neurol.*, 91, 445, 1954.
- Verdeaux G. et R. Marty — Action sur l'électroencéphalogramme des substances pharmacodinamiques d'interêt clinique - *Rev. Neurol.*, 91, 405, 1954.
- Welsh J. H. — *Fed. Proc.*, 13, 162, 1954 (citato da Gennes-Fossey), 1956).
-