

## **MUTUA POTENCIALIZACION ENTRE LA SUCCINILCOLINA Y LA COLIMICINA EN EL BLOQUEO NEUROMUSCULAR**

DRA. ENRIQUETA DE NARANJO y DR. PLUTARCO NARANJO

*Departamento de Investigaciones,  
Laboratorios LIFE, Quito*

Estudiando la intoxicación aguda por estreptomina, Moliter y colaboradores<sup>1</sup> y Moliter<sup>2</sup> encontraron que, en varias especies animales: ratas, ratones y cobayos, la muerte se producía por parálisis respiratoria, la misma que era posible prevenir mediante respiración artificial. Este fenómeno, parecido al que se observa con las drogas curarizantes, indujo a Vital-Brazil y Corrado<sup>3</sup> a estudiar, en perros, el posible mecanismo de la parálisis respiratoria por estreptomina. En tal investigación, Vital-Brazil y Corrado<sup>3</sup> encontraron que la estreptomina producía bloqueo a nivel de la unión neuromuscular, en tanto que la contracción del músculo directamente estimulado, permanecía sin alteración. En trabajos posteriores, Vital-Brazil<sup>4-5</sup> y otros autores<sup>6</sup> confirmaron dicho descubrimiento y establecieron las condiciones y relaciones cuantitativas del fenómeno, así como su reversibilidad por el cloruro de calcio.

Posteriormente, Corrado y Ramos<sup>7-9</sup>

y otros autores<sup>10-11</sup> demostraron que también otros antibióticos, químicamente relacionados con la estreptomina, como la neomicina y la kanamicina, producían el efecto bloqueante tanto de la transmisión neuromuscular como a nivel de los ganglios neurovegetativos.

Recientemente, Vital Brazil y colaboradores<sup>12</sup>, han encontrado que la viomicina, antibiótico constituido esencialmente por aminoácidos, también produce efecto bloqueante neuromuscular.

Con estos antecedentes, se juzgó de interés investigar si la colimicina produce efectos parecidos a los mencionados antibióticos.

### **MATERIALES Y METODOS**

Aunque las investigaciones de otros autores se han llevado a cabo, preferentemente, en perros, gatos o ratas, por disponer en nuestro laboratorio

especialmente de cobayos, el presente trabajo se efectuó en esta especie animal, en ejemplares machos de 480 a 600 gm. de peso. Los animales fueron anestesiados con una mezcla de uretano (600 mg/kg.) y pentobarbital sódico (10mg/kg.) inyectada por vía intraperitoneal.

La tráquea fue canulada para dar respiración artificial y una manguera de polietileno se introdujo en una vena yugular externa para inyectar fácilmente las drogas.

Para el registro gráfico de los fenómenos se utilizaron los músculos tibiales anteriores, cuyos tendones de inserción distal fueron seccionados y ligados con un hilo, el cual se conectó con la palanca inscriptora.

Se disecó así mismo el nervio ciático, en un amplio segmento y se separó la rama motora del músculo tibial.

Para estimular eléctricamente se utilizaron electrodos de platino, de los cuales uno se puso en contacto con el nervio, otro sirvió para estimular directamente el músculo y un tercer electrodo, común (indiferente), se conectó con la barra de sujeción de la pierna del animal, la misma que atravesaba el extremo superior de las tibias. La estimulación se hizo mediante ondas cuadradas, de 0,2 mseg. de duración y frecuencia de 60 por minuto, provenientes de un estimulador electrónico (American Electronic Labs., Inc., modelo 751). En la mayoría de experiencias se estimuló alternativamente cada preparación, en las otras se estimuló simultáneamente. En cada animal se buscó el potencial umbral y

maximal, tanto para la estimulación directa como para la indirecta.

Para el ensayo con drogas, excepto en la serie correspondiente a colimicina sola, se utilizó una estimulación estándar equivalente al doble del potencial que produjo la contracción maximal del músculo. Cada tipo de experiencia se repitió, por lo menos, en 5 animales.

Las drogas utilizadas fueron: colimicina, en forma de metansulfonato y succinilcolina en forma de cloruro. La colimicina, como puede verse en la Fig. 1, es una cadena cíclica polipeptídica formada por 5 moléculas del ácido L-diaminobutírico y una de cada uno de los ácidos: 6-metiloctanoico, L-treonina y L y D-leucina. No posee como la estreptomocina, neomicina y kanamicina, ningún residuo glucídico. Las drogas se utilizaron en solución salina.

Se realizaron 2 series de experiencias. En la primera se estudió el efecto de sólo la colimicina sobre la contrac-

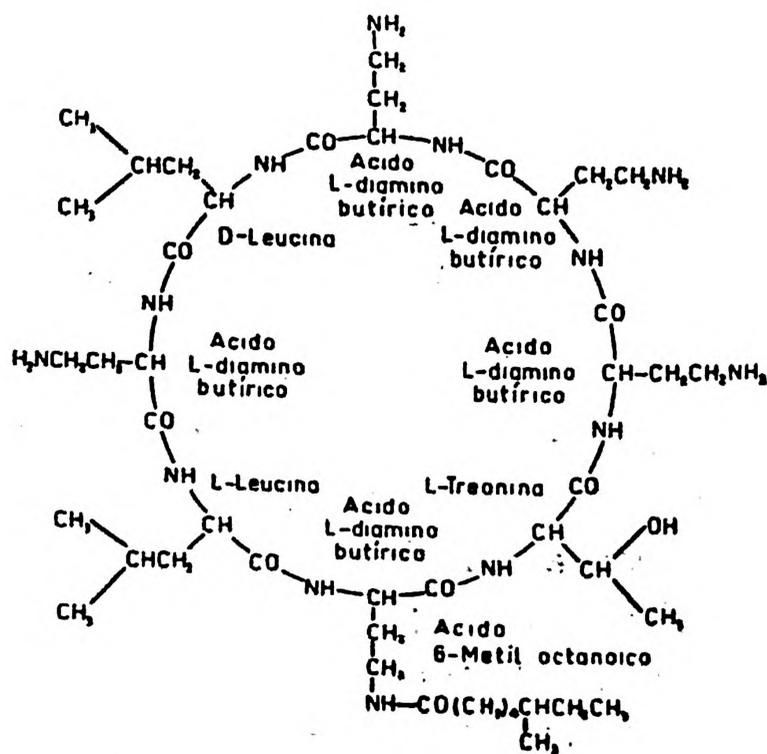


Fig. 1.—Colimicina.—Probable estructura química de la molécula.

ción muscular provocada por estimulación directa o indirecta. Se ensayaron dosis crecientes hasta de 1.000 mg/kg., de un lote de colimicina que tenía 13.500 U/mg. En esta serie se estudió, además, el efecto de estímulos cuyos potenciales fueron inferiores al doble del maximal.

En la segunda serie se estudió la influencia recíproca entre la colimicina y la succinilcolina. Después de varios ensayos preliminares y para obtener valores susceptibles de análisis estadístico, se estandarizaron dos tipos de ensayos, en la siguiente forma:

a) Se inyectó, en forma rápida, por vía intravenosa, 50 mcgm/kg. de succinilcolina; 20 minutos después, 500 mg/kg. de colimicina y 30 minutos más tarde, una segunda dosis de succinilcolina (50 mcgm/kg.).

b) Se inyectó primero colimicina, 30 minutos después, succinilcolina y 15 minutos más tarde la segunda dosis de colimicina, siempre en las dosis ya indicadas.

## RESULTADOS

1.—Efecto de la colimicina.—Utilizando estimulaciones umbrales tanto para el músculo como para el nervio, con dosis de colimicina de 100 mg/kg., se produjo tardíamente, una disminución de la amplitud de las contracciones musculares. Las contracciones provocadas por estimulación directa, disminuyeron hasta en un 30% de su amplitud. La inhibición se inició 5 minutos después de la inyección y llegó a su máximo a los 15 minutos. Las

contracciones por estimulación indirecta, disminuyeron sólo un 15% de la amplitud, fenómeno que podría deberse a un bloqueo parcial neuromuscular o a la misma disminución de la excitabilidad muscular que se evidenciaba por la inhibición a la estimulación directa.

Con dosis superiores, el efecto inhibitorio fue mayor. Con 500mg/kg., la inhibición de las contracciones, para la estimulación directa fue de un 70%, con el máximo a los 25 minutos de la inyección y para la indirecta de un 21%.

Cuando para estimular las dos preparaciones se utilizó el voltaje umbral del músculo —que fue aproximadamente 10 veces mayor que el del nervio— se encontró que la inhibición de las contracciones era mayor para la estimulación indirecta, evidenciándose el bloqueo neuromuscular.

TABLA I

### INHIBICION DE LA CONTRACCION MUSCULAR PRODUCIDA POR COLIMICINA

Dosis	% de inhibición	
	Estimulación indirecta	Estimulación directa
300 mg/kg	13,2	9,2
500 "	38,3	18,3
1.000 "	55,4	31,4

N = 5

Aumentando el voltaje del estímulo —estimulación superumbral— y utilizando la misma magnitud de estimula-

ción para las dos preparaciones, se encontró que la colimicina a dosis inferiores a 250 mg/kg., no producía inhibición de la contracción muscular. A dosis superiores produjo una moderada inhibición, mayor a mayor dosis (Tabla I). Dicha inhibición fue más intensa cuando el músculo fue estimulado indirectamente. El fenómeno fue, como en los casos anteriores, tardío. Comenzó después de aproximadamente 3 minutos de la inyección y el máximo de inhibición se produjo al rededor de los 25 minutos después. Si antes de 20 minutos de la primera inyección se administró una segunda, el efecto fue más intenso, seguramente por acumulación de la droga.

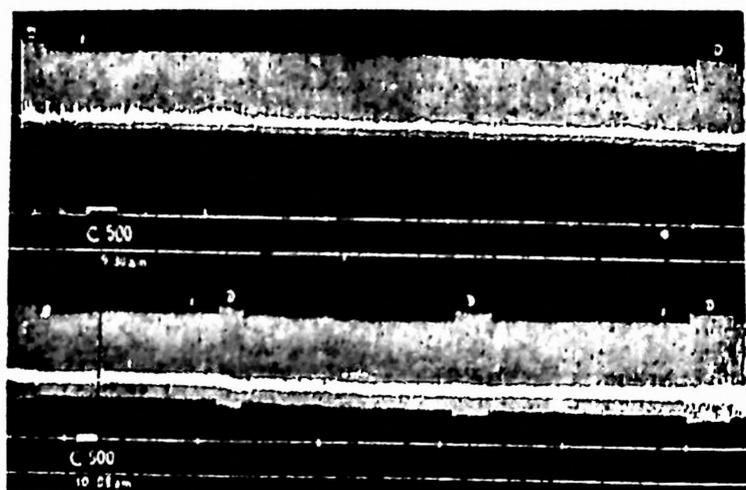


Fig. 2.—Efecto de la colimicina sola (estimulación doble-maximal).— Cobayo 480 gm. Preparación de los músculos tibiales anteriores de ambas piernas. Registro alternativo de las contracciones, por estimulación directa (D), lado izquierdo e indirecta (I), lado derecho.— C500 = colimicina, 500 mg/kg, i-v. Señales de tiempo, cada minuto.

Cuando se utilizaron potenciales equivalentes al doble del maximal del músculo, la colimicina por sí sola no produjo disminución de la contracción muscular ni cuando se estimuló la preparación en forma directa ni cuando se estimuló el nervio. Se ensayaron

dosis sucesivas (Fig. 2), hasta un límite de 1 gm/kg., como dosis parcial máxima, sin que se observen modificaciones en las contracciones musculares. Con dosis de 500 a 1.000 mg/kg., el control se prolongó hasta 30 minutos después de la inyección, ante la posibilidad de un efecto tardío, sin embargo, hasta este límite de tiempo no se observó ninguna modificación. En varios animales, al administrar dosis sucesivas de colimicina se llegó hasta una dosis total de 2 gm/kg. en un lapso de 60 minutos, habiendo sido, en todos los casos, la última dosis de 1 gm/kg. Tampoco en estas condiciones se observó disminución de la amplitud de las contracciones musculares.

TABLA II

**INHIBICION DE LA CONTRACCION MUSCULAR PRODUCIDA POR LA SUCCINILCOLINA (50 mcgm/kg.)**

Grado y duración de la inhibición antes y después de una dosis de colimicina (500 mg/kg.)

	Estimulación	
	Indirecta	Directa
% de inhibición:		
Antes	84	28
Después	100	66
P±	0,05	0,01
Duración de la inhibición máxima:		
Antes	3,1'	1,2'
Después	47,5'	40,3'
P±	0,01	0,01

± = Valor de la probabilidad de que la diferencia sea estadísticamente significativa. N = 8.

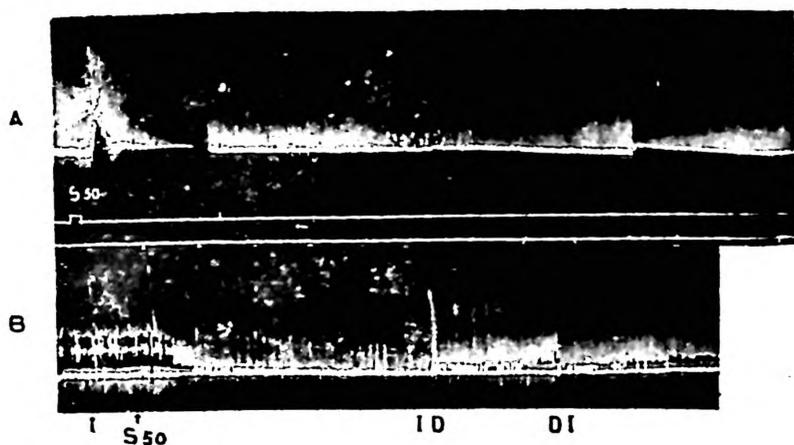


Fig. 3.—Efecto de la succinilcolina sola.— A. Cobayo de 480 gm.; B. Cobayo de 500 gm. Detalles de las preparaciones como en la Fig. 2.— S50 = Succinilcolina, 50 mcgm/kg, i - v. Señales de tiempo, cada 30 segundos.— Nótese en A, bloqueo neuromuscular completo y en B, sólo parcial.

2.—Potencialización del efecto de la succinilcolina.—La Tabla II contiene los promedios del por ciento de inhibición de la contracción muscular, así como de la duración de la inhibición máxima, producida por la succinilcolina, antes y después de la colimicina. En 4 de los 8 animales, como puede verse en la Fig. 3A, la succinilcolina, por sí mismo, produjo bloqueo total de la transmisión neuromuscular, aunque de breve duración, en los otros produjo bloqueo parcial (Fig. 3B). También hubo inhibición de la contracción muscular, aunque no muy intensa, cuando se estimuló directamente el músculo.

La misma dosis de succinilcolina, 20 minutos después de la colimicina, produjo una inhibición de la contracción

muscular más intensa y sobre todo muy duradera (Fig. 4). Así por ejemplo, el bloqueo completo neuromuscular se prolongó 15,3 veces más que antes de la colimicina. Cuando se administró, para control, una segunda dosis de succinilcolina, con el mismo intervalo, pero sin que medie la administración de la colimicina, tanto el grado de inhibición como su duración, fue semejante a la producida por la primera dosis.

Después de colimicina, dosis de succinilcolina, como 10 mcgm/kg., que en los ensayos de control no produjeron inhibición de la contracción, después de colimicina produjeron una inhibición de 60 a 85% (estimulación indirecta) que duró de 12 a 15 minutos.

Cuando después de dos o más dosis de colimicina se inyectó la dosis estándar de succinilcolina (50 mcgm/kg.) produjo la muerte inmediata de los animales (Fig. 5).

3.—Potencialización del efecto de la colimicina.—La colimicina, antes de la succinilcolina (Tabla III), conforme se describió anteriormente, no produjo inhibición de la contracción muscular, en cambio, cuando se administró hasta 20 minutos después de una dosis previa de succinilcolina, produjo inhibi-

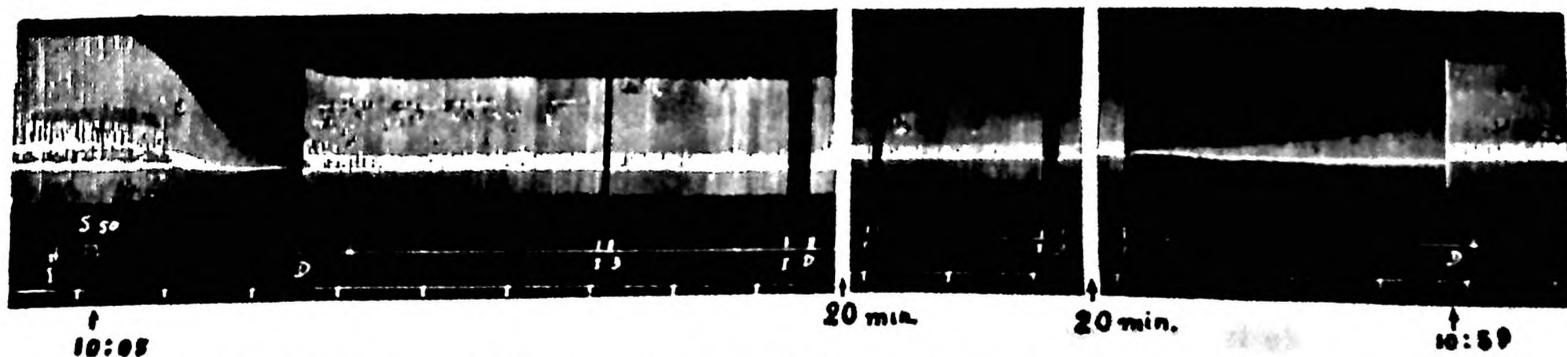


Fig. 4.—Efecto de la succinilcolina después de la colimicina.— Cobayo de 500 gm. Detalle de la preparación como en la figura 2.— S50 = Succinilcolina, 50 mcgm/kg, i - v, después de 20 minutos de una dosis de 500 mcgm/kg, de colimicina.— Señales de tiempo cada 30 segundos.

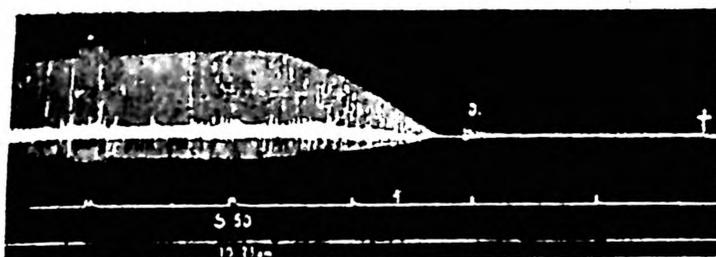


Fig. 5.—Efecto de la succinilcolina después de colimicina.— Cobayo de 480 gm. Detalles de la preparación, como en la Fig. 2.— S50 = Succinilcolina, 50 mcgm/kg, i - v, después de 2 dosis sucesivas de colimicina de 500 mg/kg.— El animal murió dentro de los 5 minutos siguientes a la administración de succinilcolina.

ción de la contracción muscular, tanto de la provocada por estimulación directa, como por indirecta (Fig. 6). Como la colimicina, administrada a intervalos aún mayores de 1 hora, provocó efectos acumulativos, para este estudio se prefirió utilizar dos grupos de animales. Los datos de la Tabla III, corresponden a los dos grupos, en uno se utilizó el efecto de sólo la colimicina y en el otro el de esta misma sustancia pero administrada después de la succinilcolina. El efecto inhibitorio aparece con una latencia de 2 a 3 mi-

nutos y es progresivo hasta, aproximadamente, 25 minutos después de la inyección, luego comienza la recuperación, la cual, así mismo, es lenta.

### DISCUSION

Los resultados descritos revelan que la colimicina, a dosis muy altas y sólo con estímulos de baja potencia (um-

TABLA III  
INHIBICION DE LA CONTRACCION MUSCULAR PRODUCIDA POR COLIMICINA (500 mg/kg.)

Grado de inhibición antes y después de una dosis de succinilcolina (50 mcgm/kg.)

	Estimulación		
	N	Indirecta	Directa
% de inhibición:			
Antes	5	0	0
Después	10	77	60
Máxima inhibición después de			
		25'	24'

N = Número de animales.

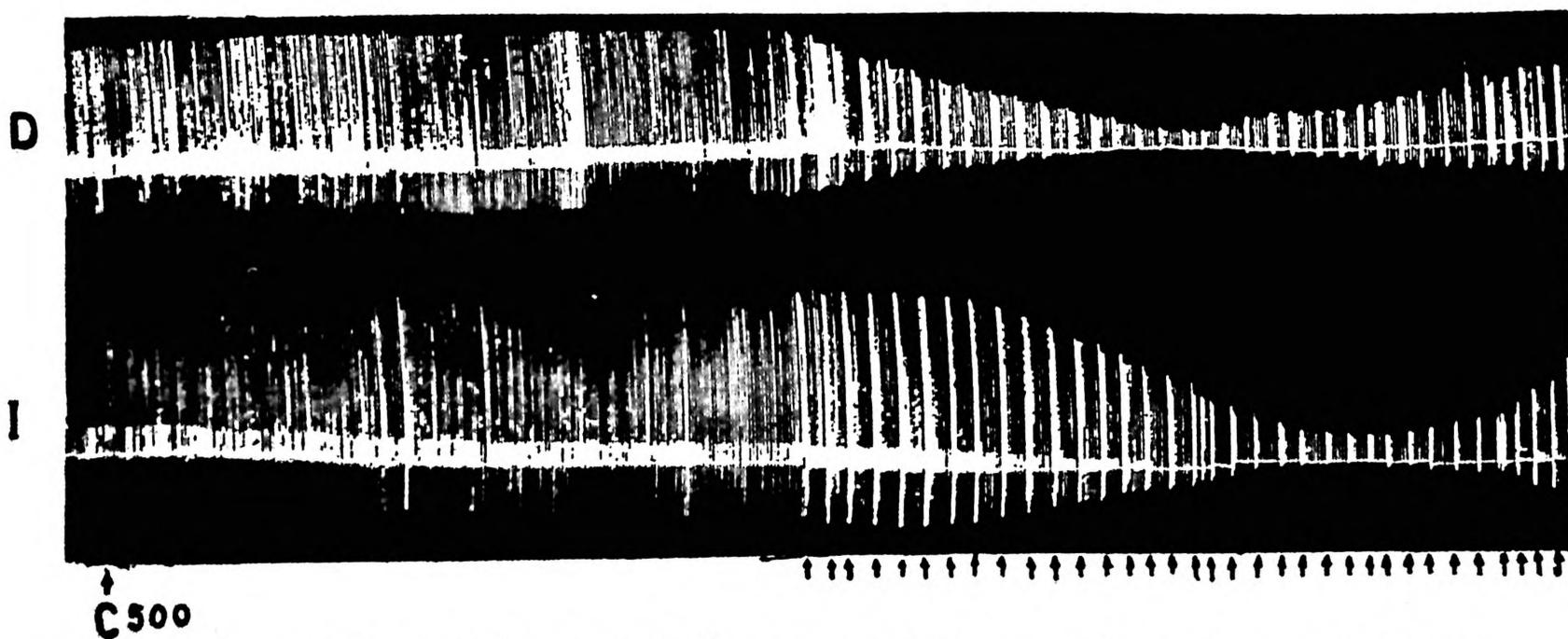


Fig. 6.—Efecto de la colimicina después de la succinilcolina.— Cobayo de 490 gm. Detalles de la preparación, como en la Fig. 2, excepto que el registro de las contracciones, por estimulación directa e indirecta, se hizo simultáneamente.— C500 = Colimicina, 500 mg/kg, i -, después de 15 minutos de una inyección de 50 mcgm/kg. de succinilcolina. En cada flecha se paró el kimógrafo, hasta completar un minuto.

bral o superumbral), es capaz de inhibir la contracción muscular provocada por estimulación directa, como por indirecta. Su potencia como bloqueante de la transmisión neuromuscular sería bastante inferior a la de la estreptomina, la neomicina y la kanamicina<sup>4-7-11</sup>.

Las investigaciones de Vital-Brazil y colaboradores<sup>12</sup> llevaron a dichos autores a considerar como necesaria dentro de la estructura molecular del antibiótico la existencia de una fracción inositolica, parcialmente substituída, la cual sería la responsable del efecto curarizante. Los resultados obtenidos con la colimicina hacen pensar que si la hipótesis de Vital-Brazil y colaboradores es correcta, otras estructuras moleculares también podrían producir cierto grado de bloqueo neuromuscular, pues la colimicina no tiene ninguna fracción molecular inositolica.

Por otra parte, el hecho más sobresaliente en el presente estudio, es la mutua potencialización observada entre la colimicina y la succinilcolina, lo cual puede tener importancia clínica si el fenómeno se produce también en la especie humana, en pacientes que estando bajo tratamiento con este antibiótico, fueran sometidos a una intervención quirúrgica, para la cual sea necesaria el empleo de la succinilcolina.

Este efecto potenciativo que, al parecer, no ha sido observado por los autores que trabajaron con otros antibióticos, es tan evidente con colimicina que, con estímulos tan altos, que la colimicina por sí sola no logra provocar ninguna inhibición, en cambio,

cuando se administra después de succinilcolina, aparece dicha inhibición, bastante intensa y duradera, pero sobre todo, es el efecto de la succinilcolina, tanto en intensidad como en duración el que aumenta cuando previamente se administra la colimicina.

### RESUMEN

La colimicina, inyectada intravenosamente, a la dosis de 100 mg/kg., produjo escasa disminución de la amplitud de la contracción de los músculos tibiales anteriores del cobayo y sólo cuando la estimulación fue de carácter umbral tanto la directa como la indirecta. La inhibición fue mayor para la estimulación directa. Con dosis mayores aumentó el grado y la duración de la inhibición.

Estimulando, con voltajes mayores, en cambio, el grado de inhibición fue cada vez menor, especialmente de las contracciones provocadas por estimulación directa. Con estimulación doble maximal, ni con dosis de 1 gm/kg., hubo inhibición de las contracciones.

La administración previa de succinilcolina permitió a la colimicina bloquear parcialmente la transmisión neuromuscular así como inhibir la contracción muscular, provocada por estimulación directa con estímulos doble maximales.

Así mismo, la administración previa de colimicina, hizo aumentar considerablemente la intensidad y la duración del efecto bloqueante neuromuscular de la succinilcolina, como su toxicidad.

SUMMARY

Colistin (Colymycin) intravenously injected, in doses of 100 mg/kg., produced a decrease in the contractile response of the tibialis anticus of guinea pig. This inhibition appeared only when threshold stimulation was applied to the nerve and the muscle, respectively. The inhibition was slight but with higher doses both intensity and the duration of the effect where increased.

Using threshold voltages, twitches elicited by direct stimulation were inhibited more than those elicited indirectly. It was found that the higher the voltage, the lower was the inhibition, especially for twitches elicited by direct stimulation. With stimuli twice the maximal of the muscle, there was no inhibition at all.

After a previous administration of a standar dose of succinilcholine, colistin produced neuromuscular blockade as well as partial inhibition of the muscular twitches, which were caused directly by stimuli twice the maximal. When colistin was administered prior to the standard dose of succinilcholine it was found that both the blocking effect and the toxicity of the latter agent increased greatly. The duration of the blockade increased fifteenfold.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.—MOLITOR, H. & colab.: Some toxicological and pharmacological properties of Streptomycin. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 86: 151, 1946.

2.—MOLITOR, H.: In Waksman, S. A.: Streptomycin, nature and practical application. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1949.

3.—VITAL BRAZIL, O. & PINTO CORRADO, A.: The curariform action of streptomycin. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 120: 452, 1957.

4.—VITAL BRAZIL, O.: Efeitos da estreptomicina no músculo esquelético desnervado. *Folia Clin. et Biol.* 29: 20, 1960.

5.—VITAL BRAZIL, O.: Streptomycin effect on the skeletal muscle stimulation produced by acetylcholine. *Arch. int. pharmacodyn.* 130: 136, 1961.

6.—JINDAL, M. N. & DESHPANDE, V. R.: Neuromuscular blockade by streptomycin and dihydrostreptomycin. *Brit. J. Pharmacol.* 15: 506, 1960.

7.—CORRADO, A. P. & RAMOS, A. O.: Neomycin -its curariform and ganglioplegic action. *Rev. Brasil. Biol.* 18: 81, 1958.

8.—CORRADO, A. P., RAMOS, A. O., and ESCOBAR, C. T.: Neuro-muscular blockade by neomycin potentiation by ether anesthesia and d-tubocurarine and antagonism by calcium and prostigmine. *Artch. int, pharmacodyn.* 121: 380, 1959.

9.—CORRADO, A. P., & RAMOS, A. O.: Some pharmacological aspects of a new antibiotic-kanamycin. *Rev. Brasil, biol.* 20: 43, 1960.

10.—PITTINGER, C. B., & LONG, J. P.: Neuromuscular blocking action of neomycin sulfate. *Antibiot. Chemother.* 8: 198, 1960.

11.—TIMMERMAN, J. C., LONG, J. P., & PITTINGER, C. B.: Neuromuscular blocking properties of various antibiotics agents. *Toxicology and applied pharmacol.* 1: 299, 1959.

12.—VITAL BRAZIL, O., RAMOS, A. O., SPERANDIO, L. G., and MARTINEZ, A. L.: Viomycin pharmacological actions on myoneural junction ganglionic synapse and smooth muscle. *Chemotherapy.* 3: 521, 1961.