

S.CRIFO', E.SARTARELLI, M.GAGLIARDI, L.BELLUSSI

IONOFORESI TRANSTIMPANICA CON CISTEINA NELLA CAVIA

Estratto dal Vol. LIV (1978) - fascicolo 20 del

**BOLLETTINO
DELLA SOCIETA' ITALIANA
DI BIOLOGIA SPERIMENTALE**

CASA EDITRICE V. IDELSON
di F. Gnocchi
Via A. De Gasperi, 55 - Napoli

N. 371

TONOFORESI TRANSTIMPANICA CON CISTEINA NELLA CAVIA

S. Crifò, E. Sartarelli, M. Gagliardi, L. Bellussi

Cattedra di Audiologia dell'Università di Roma

Sezione di Roma - Seduta del 20 giugno 1978

IONOFORESI TRANSTIMPANICA CON CISTEINA NELLA CAVIA

S. Crifò, E. Sartarelli, M. Gagliardi, L. Bellussi

Cattedra di Audiologia dell'Università di Roma

Sezione di Roma - Seduta del 20 giugno 1978

Questa nota riporta i risultati di esperimenti condotti nella cavia per dimostrare che il metodo ionoforetico può favorire il passaggio attraverso la membrana timpanica di un agente mucolitico, la N-acetil-cisteina. Ciò potrebbe acquistare importanza nella terapia delle otiti medie caratterizzate da un versamento altamente viscoso. La proprietà mucolitica della cisteina (1) dipende principalmente dal suo gruppo -SH libero, che rompe i ponti S-S delle muco-proteine, riducendoli, attraverso una reazione di interscambio, con la formazione di piccoli frammenti legati con N-acetil-cisteina e gruppi -SH liberi (2-3). Tale interscambio porta ovviamente ad una riduzione della viscosità del versamento. Inoltre la N-acetil-cisteina non scinde i legami peptidici delle proteine, per cui non provoca erosioni delle mucose con cui viene a contatto. La N-acetil-cisteina deriva dalla cisteina per la sostituzione di un H del radicale aminico con un gruppo acetilico $\text{CH}_3\text{-CO}$, e in una soluzione acquosa, si comporta come un acido debole per la presenza di un solo gruppo COOH . In una soluzione poco concentrata, quindi l'anione N-acetil-cisteina tenderà a migrare verso il polo positivo.

Scopo della ricerca è stato di dimostrare se e in che misura la N-acetil-cisteina istillata in soluzione acquosa nel condotto uditivo esterno passa mediante ionoforesi nella cassa timpanica attraverso una membrana timpanica intatta.

MATERIALI E METODI - L'apparecchio utilizzato è un applicatore ionoforetico mod. 22 della Medical System Ltd, 70821 U.S.A., comprendente un generatore di corrente regolabile in grado di imprimere una corrente di prefissata intensità ad un circuito

Boll. Soc. It. Biol. Sper., 1978. Vol. LIV

con caratteristiche essenzialmente resistive quale può considerarsi l'insieme dei tessuti della cavia, e da uno strumento indicatore (milliamperometro) (4). Due cavi di collegamento fuori escono dal generatore e terminano con due elettrodi conformati in modo da consentire una semplice applicazione e di garantire l'efficace contatto con i tessuti della cavia.

Dopo preliminari ricerche su temporali isolati di cavia, gli esperimenti sono stati condotti su 24 cavie narcotizzate per via intraperitoneale con tiopentale sodico (15 mg/kg). Dopo incisione dei tessuti retroauricolari, si è praticato con ago sottile un foro a livello della bulla e controllata con otoscopia l'integrità della membrana timpanica, vi sono stati iniettati 0,2 ml di tampone fosfato 0,1 M, pH 7,2. Il condotto uditivo esterno è stato quindi riempito di una soluzione allo 0,165 % (o allo 0,33 %) di N-acetil-cisteina preparata estemporaneamente, badando ad impedire la formazione di bolle d'aria. Si è preceduto, quindi, all'applicazione degli elettrodi: quello negativo, ad ago, è stato posto nel condotto uditivo esterno in modo che la punta pescasse nella soluzione senza toccare le pareti del condotto; quello positivo, appiattito, era applicato mediante pasta conduttrice alla parete della bulla. Una volta chiuso il circuito la ionoforesi è stata protratta con una intensità di 0,7 mA per tempi variabili di 5, 10, 15, 20 minuti. Raggiunto ogni tempo stabilito, il liquido iniettato nell'orecchio medio era aspirato delicatamente e si procedeva a lavaggio con 0,1 ml di tampone fosfato per asportare eventuali residui di N-acetil-cisteina. Per impedire l'eventuale ossidazione, ad ogni campione appena prelevato dal cavo timpanico erano aggiunti 0,1 ml di soluzione di HCl 1 N. Per la rilevazione e per il dosaggio della N-acetil-cisteina si è impiegato il metodo spettrofotometrico di Ellman (5) basato sulla riduzione dell'acido 5,5 ditio-

bis-2-nitrobenzoico in 2-nitro-5-tiobenzoico colorato in giallo.
RISULTATI E CONCLUSIONI - La figura 1 riporta i valori delle con-
centrazioni della N-acetil-cisteina trovati nel liquido entotimpa

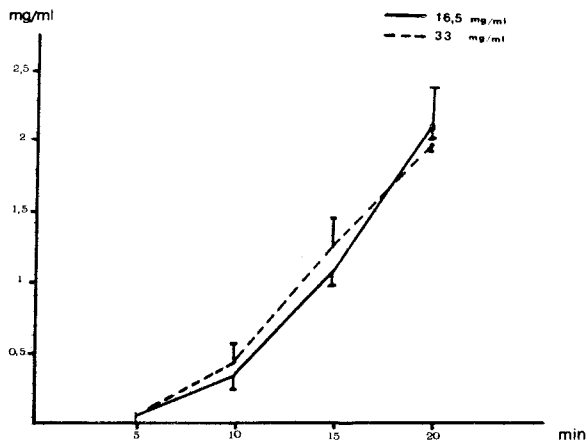


Fig. 1 - Livelli (\pm ES) di cisteina nel liquido endotimpanico in rapporto alla sua concentrazione nel condotto uditivo esterno ed al tempo di ionoforesi.

nico in rapporto alla durata della ionoforesi e alle due concentrazioni della soluzione istillata nel condotto uditivo esterno (16,5 e 33 mg/ml). In base a questi risultati appare evidente che il metodo ionoforetico risulta capace di far passare la N-acetil-cisteina attraverso la membrana timpanica di cavia. Inoltre, che la quantità di N-acetil-cisteina che per ionoforesi attraversa la membrana è relativamente indipendente, almeno per le due concentrazioni da noi usate, dalla sua concentrazione nel condotto uditivo esterno. Questo fa supporre che il limite alla permeabilità della membrana, rappresentato dai possibili siti di passaggio delle molecole di N-acetil-cisteina attraverso la membrana stessa, è piuttosto basso e che quindi siano sufficienti

ti minime concentrazioni del farmaco. Un elemento determinante, invece, sembra il tempo corrispondente al passaggio di corrente. Infatti nel passare da 5 a 10 a 15 e a 20 minuti vi è un costante aumento delle concentrazioni nel cavo timpanico, con un andamento che nei grafici si avvicina molto ad un rapporto di proporzionalità diretta.

In conclusione, i risultati ottenuti sull'animale da esperimento suggeriscono la possibilità di impiegare la ionoforesi transtimpanica con N-acetil-cisteina nel tentativo di curare la otite media secretiva o almeno di modificare l'elevata viscosità del muco riscontrabile in una sua tipica varietà, il glue-ear. Tale accentuata viscosità, infatti, è responsabile da un lato della non risoluzione dell'otite, dall'altro, in caso di intervento chirurgico, rende assai difficoltoso lo svuotamento completo del cavo timpanico con l'aspiratore.

-
- 1) SHEFFNER A.L., LISH P.M.: International Encyclopedia of Pharmacology and therapeutics, vol. III, section 27.
 - 2) REAS H.W.: J. Pediatrics, 1963, 62: 31-35.
 - 3) BALLI R.: O.R.L. Ital., 1868, 37: 76.
 - 4) KUNKEL H.G.: Analysis, ed. by Glick, vol. I, Interscience Publ., New York, 1954 - In "Galileo", 1964, 4: 21.
 - 5) DE MARCO C.: Principi di metodologia biochimica, Soc. Ed. Universo, Roma.
 - 6) ECHOLS D.F., NORRIS C.H., TABB H.G.: Arch. Otolaryng., 1975 101, 418-420.
 - 7) HUDE G.I.: Arch. Otolaryng., 1957, 66: 391-407.

