

ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΤΗΣ 17ΗΣ ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΥ 1974

ΠΡΟΕΔΡΙΑ ΔΙΟΝΥΣΙΟΥ Α. ΖΑΚΥΘΗΝΟΥ

ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ.—Μελέτη τῆς φαρμακολογικῆς ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης, ὑπὸ *A. Γ. Παραδέλλη, Β. Μήρτσου καὶ Γ. Λογαρά **. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Γ. Ἰωακείμογλου.

Εἰς προηγουμένην ἐργασίαν (Paradelis, Theocharidis, Logaras, 1973) διετυπώσαμεν τὴν ἄποψιν ὅτι ὁ μηχανισμὸς ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν μεταβίβασιν τῆς νευρομυϊκῆς διεγέρσεως, πιθανῶς νὰ ὀφείληται εἰς τὴν τοπικὴν ἀναισθητικὴν ἐνέργειαν, τὴν ὁποίαν ἔχει τὸ φάρμακον (Morales Aguilera καὶ Vaughan Williams, 1965) ἢ καὶ εἰς ἄλλους μηχανισμούς, ὡς ἄμεσος ἐνέργεια ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης.

Εἰς τὴν παροῦσαν ἐργασίαν παρουσιάζομεν εὐρήματα, ἅτινα συνηγοροῦν καὶ ὑπὲρ τῆς ἄμεσου ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Κατὰ τὴν παροῦσαν ἐργασίαν χρησιμοποιοῦνται ἄρρενες λευκοὶ ἐπίμυες (Albino wistar rats), βάρους 300 g.

Ἡ χρησιμοποιουμένη τεχνικὴ παρασκευῆς τοῦ διαφράγματος μετὰ τοῦ φρενικοῦ νεύρου περιγράφεται λεπτομερῶς εἰς προηγουμένην ἐργασίαν (Παραδέλλη, 1970).

Ὡς ἠλεκτρόδιον διὰ τὴν ἀνάρτησιν τοῦ διαφράγματος καὶ τὴν διέγερσιν τοῦ φρενικοῦ νεύρου χρησιμοποιεῖται τὸ ἐπινοηθὲν ὑπὸ τῶν Barnes καὶ Duff

* A. G. PARADELIS, V. MIRTSOU AND G. LOGARAS, A study of the pharmacological effect of propranolol on cell membrane.

(1953). Το ηλεκτρόδιον μετά την ανάρτησιν τοῦ παρασκευάσματος ἐπ' αὐτοῦ τοποθετεῖται ἐντὸς λουτροῦ, χωρητικότητος 100 ml, περιέχοντος τὸ θρεπτικὸν ὑλικόν. Τὸ ὑλικὸν τοῦτο ἔχει τὴν ἀκόλουθον σύστασιν εἰς g ἀνὰ 100 ml (Paradelis καὶ Zaimis, 1969) :

NaCl	6,8
KCl	0,4
CaCl ₂	0,2
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,2
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	0,15
NaHCO ₃	2,2
Fe(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	0,00072 καὶ
Γλυκόζη	1,0

Τὸ pH τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ρυθμίζεται εἰς 7,2 καὶ ἡ θερμοκρασία εἰς 37° C, διὰ τῆς κυκλοφορίας μεταξὺ τῶν τοιχωμάτων τοῦ λουτροῦ, τῇ βοήθειᾳ καταλλήλου ἀντλίας ὕδατος, θερμοκρασίας 37° C. Καθ' ὅλην τὴν διάρκειαν τοῦ πειράματος, διοχετεύεται συνεχῶς εἰς τὸ θρεπτικὸν ὑλικὸν μίγμα ὀξυγόνου (95 %) καὶ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος (5 %).

Τὸ φρενικὸν νεῦρον διεγείρεται διὰ συνεχοῦς ὀρθογωνίου ρεύματος, τάσεως 4 V, διαρκείας 250 msec καὶ συχνότητος ἐνὸς ἐρεθίσματος ἀνὰ 10 sec.

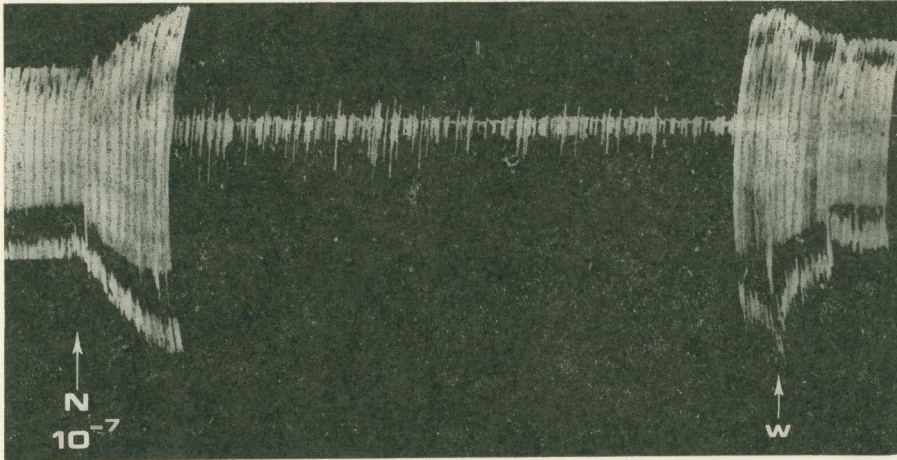
Ἡ καταγραφὴ τῶν συστολῶν τοῦ μυὸς τελεῖται ἰσοτονικῶς, διὰ καταλλήλου μοχλοῦ, ἐπὶ αἰθαλωμένου χάρτου στερεωμένου εἰς κύλινδρον κυμογραφίου, ὅστις περιστρέφεται μὲ ταχύτητα 2 mm/min. Ἡ τάσις εἰς τὴν ὁποίαν εὐρίσκεται ὁ μῦς, ἐν ἡρεμίᾳ, κυμαίνεται μεταξὺ 2,5 καὶ 3 g*.

Πρὸ τῆς προσθήκης τῶν ὑπὸ ἐξέτασιν φαρμάκων, τὸ παρασκεύασμα ἀφίεται ἐν τῷ λουτρῷ ἐπὶ 45 λεπτὰ τῆς ὥρας, καθ' ἃ τὸ φρενικὸν νεῦρον διεγείρεται μὲ συνεχῆς ὀρθογώνιον ρεῦμα, μὲ τὴν προαναφερθεῖσαν τάσιν, διάρκειαν καὶ συχνότητα.

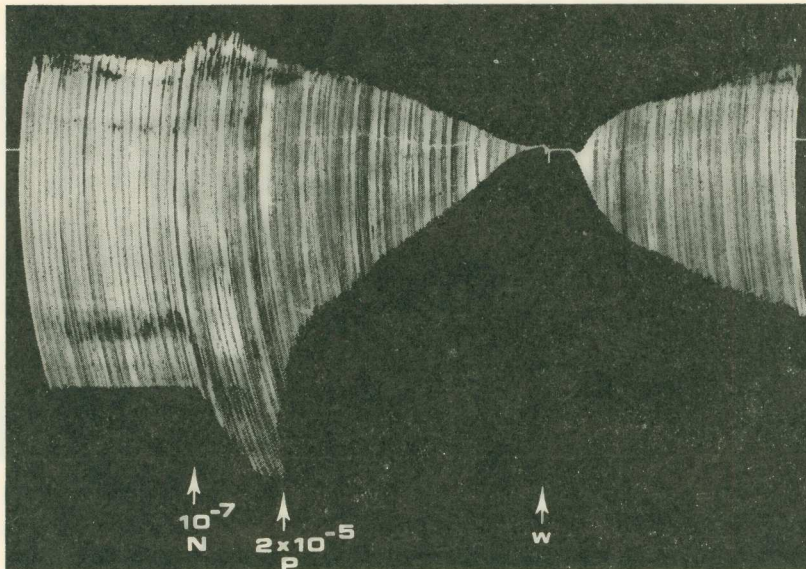
Ἐχρησιμοποιήθη ἡ ὑδροχλωρικὴ 2d-προπρανολόλη καὶ ἡ μεθυλοθεικὴ νεοστιγμίνη.

Α Π Ο Τ Ε Λ Ε Σ Μ Α Τ Α

Ἡ νεοστιγμίνη εἰς πυκνότητα 10^{-7} g/ml, ἤτοι 0,1 μg/ml, προκαλεῖ αὔξασιν τῆς δυνάμεως συστολῆς τοῦ μυός. Ἐκτὸς τούτου προκαλεῖ αὐτομάτους συστολάς ομάδων μυϊκῶν ἰνῶν (εἰκ. 1). Κατόπιν διακοπῆς τῆς διεγέρσεως τοῦ φρενικοῦ νεύρου, παρατηροῦνται σαφῶς αἱ συστολαὶ τῶν ομάδων τῶν μυϊκῶν ἰνῶν



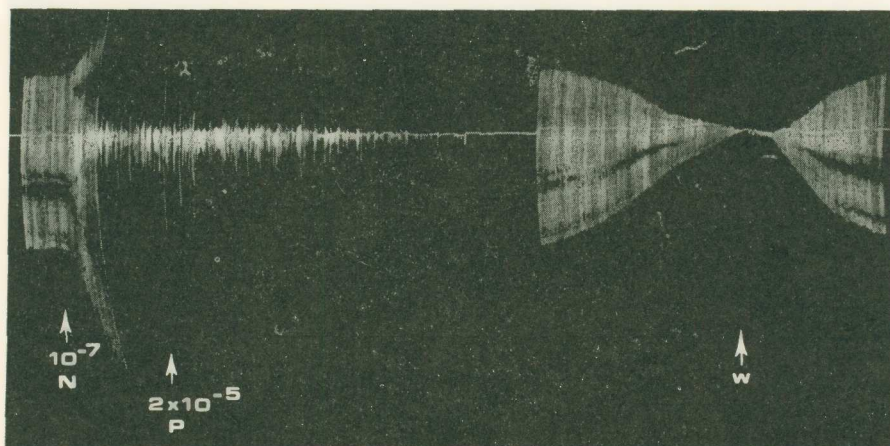
Εικ. 1. Ένεργεια μεθυλοθειικής νεοστιγμίνης, πυκνότητας 10^{-7} g/ml, επί απομονωθέντος διαφράγματος έπίμυος. Παρατηρείται αύξησης του εύρους συστολής του μυός, ως και έμφάνισις αυτόματων συστολών του μυός, μετά την διακοπήν της διεγέρσεως του φρενικού νεύρου. Είς τὸ σημεῖον W τελείται έκπλυσις του παρασκευάσματος.



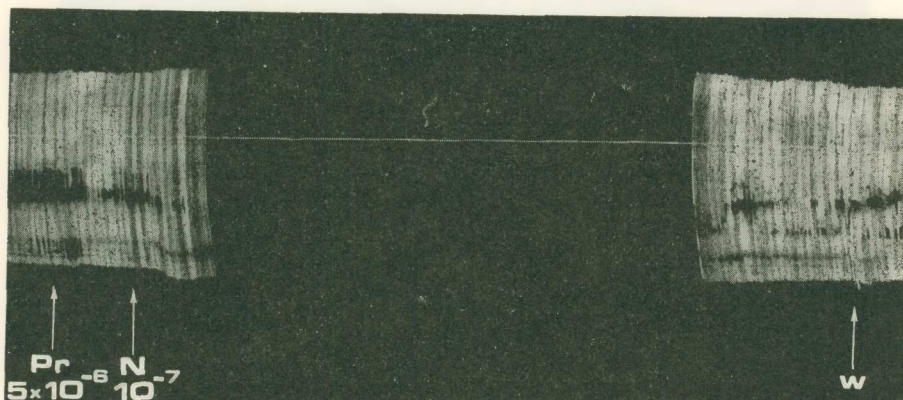
Εικ. 2. Η ύδροχλωρική προπρανολόλη εις πυκνότητα $2 \cdot 10^{-5}$ g/ml προκαλεί κατάργησιν των ένεργειών της μεθυλοθειικής νεοστιγμίνης πυκνότητας 10^{-7} g/ml και πλήρη νευρομυϊκόν αποκλεισμόν. Είς τὸ σημεῖον W τελείται έκπλυσις του παρασκευάσματος.

(εἰκ. 1). Μετὰ τὴν ἔκπλυσιν τοῦ παρασκευάσματος διὰ θεραπευτικοῦ ὑλικοῦ ὁ μῦς ἀναλαμβάνει τὴν προτέραν φυσιολογικὴν του συστολὴν.

Ἡ προσθήκη προπρανολόλης ἐν τῷ θεραπευτικῷ ὑλικῷ εἰς πυκνότητα

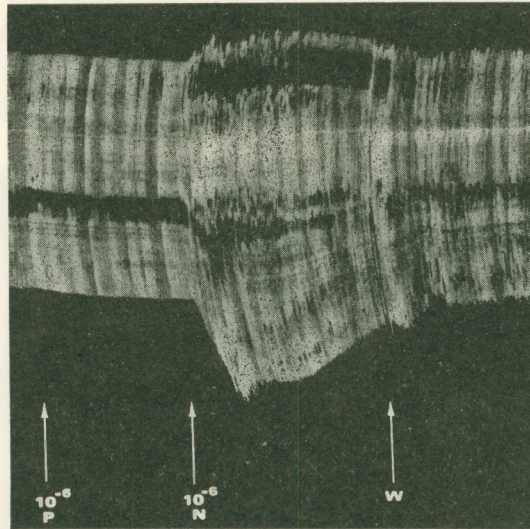


Εἰκ. 3. Κατάργησις τῶν ἐνεργειῶν τῆς μεθυλοθεικῆς νεοστιγμίνης ὑπὸ τῆς ὑδροχλωρικῆς προπρανολόλης. Ἡ κατάργησις τῶν αὐτομάτων συστολῶν τοῦ μυὸς προηγεῖται τοῦ πλήρους νευρομυϊκοῦ ἀποκλεισμοῦ.

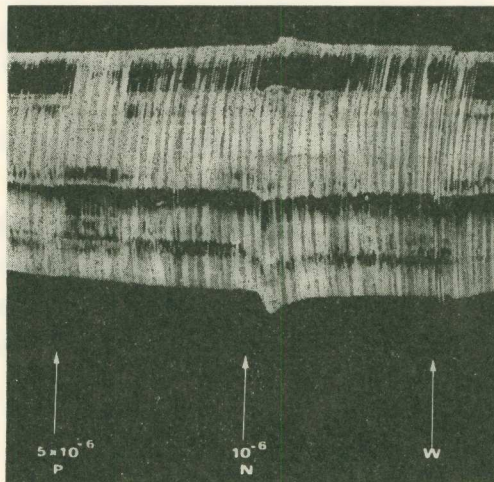


Εἰκ. 4. Κατάργησις τῶν ὑπὸ τῆς νεοστιγμίνης προκαλουμένων αὐτομάτων συστολῶν τοῦ διαφράγματος ὑπὸ δόσεως ὑδροχλωρικῆς προπρανολόλης, μὴ δυναμένης νὰ προκαλέσῃ νευρομυϊκὸν ἀποκλεισμόν.

$2 \cdot 10^{-5}$ g/ml, ἢτοι 20 μ g/ml, 10 λεπτὰ τῆς ὥρας μετὰ τὴν προσθήκην 0,1 μ g/ml νεοστιγμίνης, προκαλεῖ ἐλάττωσιν τοῦ εὗρους συστολῆς τοῦ μυὸς καὶ τέλος πλήρη νευρομυϊκὸν ἀποκλεισμόν (εἰκ. 2).



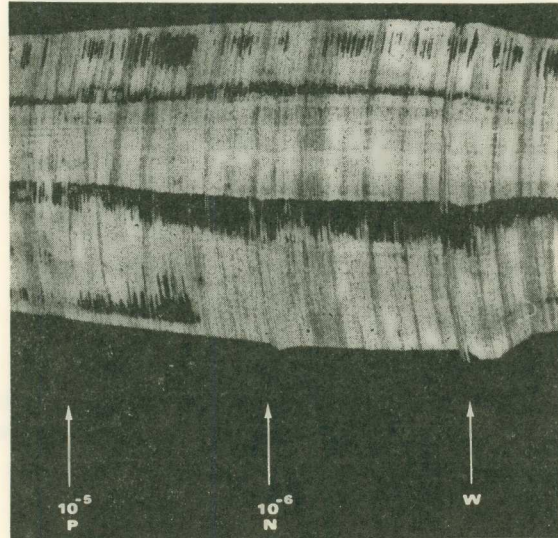
Είκ. 5. *Η υπό τής προπρανολόλης μερική κατάργησις τῶν ἐνεργειῶν τής νεοστιγμίνης. Σχέσις πυκνοτήτων ὑδροχλωρικῆς προπρανολόλης καὶ μεθυλοθεικῆς νεοστιγμίνης 1 : 1.



Είκ. 6. *Η υπό τής προπρανολόλης μερική κατάργησις τῶν ἐνεργειῶν τής νεοστιγμίνης. Σχέσις ὑδροχλωρικῆς προπρανολόλης καὶ μεθυλοθεικῆς νεοστιγμίνης 5 : 1.

Ὡσαύτως ἡ προπρανολόγη, πρὶν ἢ ἐπέλθῃ ὁ πλήρης νευρομυϊκὸς ἀποκλεισμός, προκαλεῖ κατάργησιν τῶν αὐτομάτων συστολῶν τῶν μυϊκῶν ἰνῶν (εἰκ. 3).

Ἡ προσθήκη προπρανολόγης εἰς πυκνότητα, ἣτις δὲν δύναται νὰ ἐπηρεάσῃ τὴν νευρομυϊκὴν διέγερσιν, ἥτοι εἰς πυκνότητα 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ἐμποδίζει ἀφ' ἑνὸς μὲν



Εἰκ. 7. Ἡ ὑπὸ τῆς προπρανολόγης πλήρης κατάργησις τῶν ἐνεργειῶν τῆς νεοστιγμίνης. Σχέσις πυκνοτήτων ὑδροχλωρικῆς προπρανολόγης καὶ μεθυλοθεικῆς νεοστιγμίνης 10 : 1.

τὴν ὑπὸ τῆς νεοστιγμίνης αὐξήσιν τῆς ἐντάσεως συστολῆς τοῦ μυός, ἀφ' ἑτέρου τὴν ἐμφάνισιν τῶν αὐτομάτων συστολῶν τοῦ μυός (εἰκ. 4).

Ἐξ ἄλλου ἡ προσθήκη τῆς προπρανολόγης ἐντὸς τοῦ θρηπτικοῦ ὕλικοῦ εἰς διαφόρους πυκνότητας, ἥτοι 1,5 καὶ 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, πρὸ τῆς προσθήκης νεοστιγμίνης εἰς πυκνότητα 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, προκαλεῖ προοδευτικὴν ἐλάττωσιν καὶ τέλος κατάργησιν τῆς ὑπὸ τῆς νεοστιγμίνης προκαλουμένης ἀξήσεως τῆς δυνάμεως συστολῆς τοῦ μυός (εἰκ. 5, 6 καὶ 7).

Σ Υ Ζ Η Τ Η Σ Ι Σ

Ἡ προπρανολόγη εὐρέθη ὅτι ἐμποδίζει τὴν μεταβίβασιν τῆς νευρικῆς διέγερσεως διὰ τῶν νευρομυϊκῶν συνάψεων τοῦ διαφράγματος τοῦ ἐπίμου (Paradelis, Theocharidis, Logaras, 1973). Ἡ τοιαύτη ἐνέργεια τῆς προπρανολόγης ἀπεδόθη ἀφ' ἑνὸς μὲν εἰς τὴν τοπικὴν ἀναισθητικὴν ἐνέργειαν αὐτῆς (Morales

Aguilera και Vaughan Williams, 1965), ἀφ' ἑτέρου εἰς τὴν πιθανὴν ἐνέργειαν αὐτῆς ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης.

Κατὰ τὴν διερεύνησιν τῆς δευτέρας ταύτης ὑποθέσεως, ἤτοι τῆς ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης, προέκυψαν τὰ ἀκόλουθα εὐρήματα :

Ἡ νεοστιγμίνη δεσμεύουσα προσκαίρως τὴν ἀκετυλοχολινεστεράσιν προκαλεῖ ἀφ' ἑνὸς μὲν αὔξησιν τῆς δυνάμεως συστολῆς τοῦ μυός, ἀφ' ἑτέρου αὐτομάτους συσπάσεις ὁμάδων μυϊκῶν ἰνῶν (εἰκ. 1). Αἱ συσπάσεις τῶν ὁμάδων τῶν μυϊκῶν ἰνῶν δεικνύουν τὴν ἄμεσον ἐνέργειαν τῆς νεοστιγμίνης ἐπὶ τῶν κυττάρων τούτων.

Ἡ προπρανολόλη προστιθεμένη πρὸ ἢ μετὰ τὴν προσθήκην τῆς νεοστιγμίνης ἐν τῷ θρεπτικῷ ὑλικῷ προκαλεῖ ἀφ' ἑνὸς μὲν προοδευτικὴν ἐλάττωσιν τῆς ὑπὸ τῆς νεοστιγμίνης προκαλουμένης αὐξήσεως τῆς δυνάμεως συστολῆς τοῦ μυός (εἰκ. 2), ἀφ' ἑτέρου κατάργησιν τῶν αὐτομάτων συστολῶν τῶν μυϊκῶν ἰνῶν (εἰκ. 3) Ἡ κατάργησις τῶν αὐτομάτων τούτων συστολῶν τοῦ μυός ὑπὸ τῆς προπρανολόλης προηγεῖται τοῦ πλήρους νευρομυϊκοῦ ἀποκλεισμοῦ (εἰκ. 3). Τοῦτο καταφαίνεται σαφῶς καὶ εἰς τὴν εἰκ. 4, ἔνθα ἡ προπρανολόλη εἰς πυκνότητα, ἣτις δὲν δύναται νὰ προκαλέσῃ νευρομυϊκὸν ἀποκλεισμόν, καταργεῖ ἀφ' ἑνὸς μὲν τὴν ὑπὸ τῆς νεοστιγμίνης προκαλουμένην αὔξησιν τῆς δυνάμεως συστολῆς τοῦ μυός, ἀφ' ἑτέρου τὰς αὐτομάτους συστολάς τοῦ μυός. Τὸ τελευταῖον τοῦτο εὔρημα συνηγορεῖ ὑπὲρ τῆς ἄμεσου ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης τῶν γραμμωτῶν μυϊκῶν ἰνῶν.

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- B a r n e s, J. M. and D u f f, J. I.—The role of cholinesterase at the myoneural junction. *Brit. J. Pharmacol.* 8 (1953), pp. 334 - 339.
- M o r a l e s - A g u i l e r a, A. and V a u g h a n W i l l i a m s, E. M.—The effects on cardiac muscle of b-receptor antagonists in relation to their activity as local anaesthetics. *Brit. J. Pharmacol.* 24 (1965), pp. 332-338.
- Π α ρ α δ ἔ λ λ η ς, Α.—Φαρμακοδυναμικὴ τῶν νευρομυϊκῶν συνάψεων. Διατριβὴ ἐπὶ Ὑφηγεσίᾳ. Θεσσαλονίκη (1970).
- P a r a d e l i s, A. and Z a i m i s, E.—Organ culture medium used in substitution for physiological salines. *J. Physiol. (London)*. 201 (1969), pp. 104-105.
- P a r a d e l i s, A. G. - T h e o c h a r i d i s, N. and L o g a r a s, G.—Effect of propranolol on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Arzneim. Forsch.*, 23 (1973), pp. 38 - 40.

S U M M A R Y

Since the introduction of dichloroisoproterenol, as a beta-blocking agent, numerous analogues of isoproterenol, as well as many compounds of different chemical structure, have been described the last decade as possessing beta-adrenergic receptor blocking activity.

The beta-adrenergic receptor blocking agents have been introduced in therapeutics for the treatment of cardiac arrhythmias, hypertension, angina pectoris and myocardial infarction.

The clinical use of some of the beta-blocking agents was limited because of their undesirable effects.

In the present paper we describe the effect of propranolol on the neuromuscular transmission of the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. It was found that propranolol hydrochloride produces, at a concentration of 2×10^{-5} g/ml, a complete neuromuscular blockade. The neuromuscular blockade caused by propranolol is not removed by neostigmine. It was also found that propranolol abolishes the effects of neostigmine on rat diaphragm, i.e. the potentiation of the muscle twitches and the spontaneous twitches of the muscle.

We conclude that the latter effect of propranolol on the rat diaphragm proves the direct effect of the drug on cell membranes.



Ὁ ἀκαδημαϊκὸς κ. Γ. Ἰωακείμογλου παρουσιάζων τὴν πειραματικὴν μελέτην τῶν κυρίων Α. Γ. Παραδέλλη, Β. Μήρτσου καὶ Γ. Λογαρά, ὑπὸ τὸν τίτλον «Μελέτη τῆς φαρμακολογικῆς ἐνεργείας τῆς προπρανολόλης ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης», λέγει τὰ ἑξῆς :

Ἡ προπρανολόλη εἶναι νεώτερον φάρμακον, τὸ ὁποῖον χρησιμοποιεῖται διὰ τὴν θεραπείαν παθήσεων τῆς καρδίας, ὡς στηθάγχης, ἀρρυθμιῶν, ἠϋξημένης πίεσεως τοῦ αἵματος καὶ ἐμφράγματος. Ἡ καρδία ἀποτελεῖται ἀπὸ γραμμωτοὺς μῦς, αἰμοφόρα ἀγγεῖα, νεῦρα κτλ. Ἔργον τοῦ φαρμακολόγου εἶναι νὰ ἀνεύρη τὸν τρόπον ἐνεργείας τοῦ φαρμάκου. Εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν τὰ πειράματα ἀπέδειξαν ὅτι ἡ προπρανολόλη δρᾷ ἐπὶ τῆς κυτταρικῆς μεμβράνης.

Αἱ λεπτομέρειαι ἀναγράφονται ἀνωτέρω.