

The antihypertensive effect of propranolol : an animal study into the mechanisms through which beta-adrenoceptor blocking drugs lower blood pressure

Citation for published version (APA):

Smits, J. F. M. (1980). *The antihypertensive effect of propranolol : an animal study into the mechanisms through which beta-adrenoceptor blocking drugs lower blood pressure*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19801010js>

Document status and date:

Published: 01/01/1980

DOI:

[10.26481/dis.19801010js](https://doi.org/10.26481/dis.19801010js)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 08 Oct. 2024

SUMMARY

Although since 1964 beta-adrenoceptor blocking drugs have been known to possess antihypertensive activity, the mechanism by which they lower blood pressure is still not known. The aim of this study was to investigate the dynamics of a number of hemodynamic, nervous, humoral and renal effects of these drugs in a hypertensive animal model, the spontaneously hypertensive rat (SHR). Possibly, careful analysis of effects occurring, might give a clue to the mechanism of antihypertensive action of beta-adrenoceptor blocking drugs. Propranolol, being one of the oldest and clinically most often used drugs of this class, was chosen as the substance for study.

Chapter 1 contains reviews on pharmacological properties of beta-adrenoceptor blocking drugs, pharmacokinetics of propranolol as well as a description of the pattern of the antihypertensive response in man and experimentally hypertensive rats. Finally, in section 1.5, the aim of the present thesis is stated in detail.

After a description of the methods used in this study in **chapter 2**, this thesis is divided into two parts, the first of which is dealing with effects observed after a single injection of propranolol in SHR. The pharmacokinetics of propranolol after a single subcutaneous (s.c.) injection of 1 mg/kg are studied in **chapter 3**. Propranolol is rapidly absorbed and also distribution and elimination are rapid processes ($t_{1/2\text{ alpha}} = 17$ min; $t_{1/2\text{ beta}} = 59$ min). Levels in all tissues are maximal around 30 min after s.c. injection of the drug and high as compared to plasma levels.

Furthermore, protein-binding is extensive but saturable at plasma levels above 100 ng/ml.

Beta-adrenoceptor blockade follows a time-course which is similar to that of plasma propranolol levels, as described in **chapter 4**. It is maximal around 30 min after injection. Parallel to beta-adrenoceptor blockade, heart rate (HR) was found to be reduced in conscious SHR in **chapter 5**. However, the time-course of the effect on blood pressure was different. It remained unaltered or even slightly elevated during the first few hours after injections, but fell after 2-4 hours. Mean arterial pressure (MAP) remained lowered for 20 hours following injection of either 1 or 5 mg/kg propranolol in unrestrained rats. In restrained SHR 0.2 mg/kg was capable of lowering MAP too. Effects of 1 or 5 mg/kg in these animals were larger than in unrestrained animals. The magnitude of the effects of propranolol on MAP was not dependent upon dose.

Chapter 6 describes further hemodynamic characterization of the response, for which cardiac output (CO) and blood pressure were measured continuously in conscious SHR after propranolol. CO was lowered during 12 hours after s.c. injection of 5 mg/kg propranolol. Total peripheral resistance (TPR) increased immediately after the injection, but gradually adapted. As a consequence, MAP ($=\text{CO} \times \text{TPR}$) was below control from 2-4 hours after injection. At 20 hours after injection CO was back at control values, however, TPR was lowered significantly after both 1 and 5 mg/kg propranolol.

In **chapter 7** a possible contribution of the central nervous system (CNS) to the antihypertensive effect of propranolol is studied, using intracerebroventricular (i.c.v.) bolus injections of the drug. Both chemical and physiological data do, however, indicate that this technique cannot be used for this type of study because propranolol immediately leaks out of the brain into the peripheral blood-stream.

In **chapter 8** the involvement of the baroreceptor reflex in the hemodynamic effects of propranolol is investigated. First of all, by denervation of afferent baroreceptor fibres, it is shown that the increase in TPR immediately after injection of propranolol, results from activation of the baroreceptor reflex.

Furthermore, changes in baroreceptor sensitivity (BRS) following propranolol in SHR, as well as normotensive Wistar-Kyoto rats (WKy) are measured, because a change in the sensitivity may explain the late reduction of TPR. BRS does, however, not change after propranolol.

Chapter 9 deals with the effects of propranolol on plasma renin activity (PRA).

It is shown that, following s.c. injection of 5 mg/kg propranolol, PRA is lowered at 1 but not 20 hours after injection, which makes a contribution of this parameter to the response doubtful. Injection of a lower dose (0.2 mg/kg) does not have any effects.

Plasma volume (PV) is diminished by 8% at 0.5 hour after injection of 5 mg/kg propranolol in SHR, as is shown in **chapter 10**. At 4 hours after injection this effect is no longer significant. Measurement of central venous pressure reveals no increase in this parameter, which indicates that the decrease in PV is not likely to be caused by increased capillary filtration. Fluid should escape via another route, and in **chapter 11** this is shown indeed to occur via the kidney, since in the first hours after injection of 5 mg/kg propranolol there is a tremendous increase in urinary excretion of water and sodium in SHR with a precise balance in water- and sodium-intake and -excretion. These parameters then return to control levels when MAP falls. Interference of propranolol with sympathetic nervous regulation of tubular function is proposed to explain the diuresis and natriuresis.

Chapter 12 is the first chapter of part two of this thesis. In this part long-term effects of propranolol in SHR are studied. First the ALZETTM osmotic minipump is tested for its ability to create and maintain a pharmacokinetic steady-state for propranolol. From excretion-measurements as well as measurement of plasma concentrations during a 6-day infusion of 1 mg/kg.day propranolol it seems that a steady-state is reached after 1-2 days of s.c. or i.c.v. infusion. With regard to the distribution of propranolol it is shown that plasma levels are equal during s.c. and i.c.v. infusion. During s.c. infusion tissue levels in all organs (with the exception of the lungs) are comparable to those in plasma. However, during i.c.v. infusion levels in the brain are 100-fold higher than those in plasma. This should make the method applicable for the study of involvement of the CNS in the antihypertensive effect of propranolol.

In **chapter 13** the hemodynamic effects of long-term s.c. infusion of propranolol in SHR are reported. Propranolol in a dose of 5 mg/kg.day lowers heart rate (HR) and cardiac output (CO) already on the first day of infusion. Total peripheral resistance

(TPR) increases concomitantly, resulting in an unchanged mean arterial pressure (MAP) on the first day. During the following 4 days MAP is reduced significantly, which is associated with a decreased CO and an adapted TPR. However, TPR remains significantly elevated. Effects on stroke volume (SV) are only small. Infusion of 1 mg/kg.day is without effects on MAP and HR.

A combination of the methods and results from the two preceding chapters is used in **chapter 14**, where it is shown that upon i.c.v. infusion of propranolol 5 mg/kg.day is needed to obtain an antihypertensive effect. Thus, in spite of 100-fold higher brain levels during i.c.v. infusion than during s.c. infusion, the same dose is needed to obtain a lowering of blood pressure.

This definitely rules out a CNS-site of antihypertensive action for propranolol.

In **chapter 15** the effects of s.c. infusion of 5 mg/kg.day propranolol on PRA are studied. PRA is not lowered at 1 day after the start of infusions but it is significantly lowered on the 4th day of infusion. A possible contribution of this effect to the antihypertensive effect is discussed.

Finally, in **chapter 16**, plasma volume is measured during long-term s.c. infusion of 5 mg/kg.day propranolol. This parameter is not influenced on days 1 and 4 after the start of infusions.

The general discussion in **chapter 17** includes the most important observations from pharmacokinetic and hemodynamic studies and a flow-diagram is presented to explain the different events occurring after acute and long-term administration of propranolol. It is concluded that renal effects or, more specifically, tubular effects are of extreme importance for the antihypertensive actions of beta-adrenoceptor blocking drugs.

In **appendix I** a model is presented for the description of pharmacokinetics of propranolol in SHR. This model is based upon physiological parameters. An explanation is provided for discrepancies which seem to exist between acute and long-term studies.

Appendix II shows computer-simulations of several proposed hypotheses for the antihypertensive action of beta-adrenoceptor blockade in a model for the over-all regulation of blood pressure. The outcome of the simulations is, that the model predicts that a combination of reduced cardiac output and a diminished tubular reabsorption does indeed lead to a lowering of blood pressure.

SAMENVATTING

Sinds 1964 is reeds bekend dat beta-adrenoceptor blokkerende middelen in staat zijn de bloeddruk te verlagen. Toch is nog steeds niet bekend via welk mechanisme ze dit doen. Het doel van de studies in dit proefschrift was, de dynamiek van een aantal hemodynamische, nerveuze, humorale en renale effecten van deze klasse van geneesmiddelen te bestuderen in een hypertensief diermodel, de spontaan hypertensieve rat (SHR). Mogelijk zou een zorgvuldige analyse van optredende effecten een aanwijzing geven tot het antihypertensieve werkings-mechanisme van de beta-adrenoceptor blokkerende stoffen. Als model-stof werd gekozen voor het propranolol dat één van de oudste en klinisch meest gebruikte beta-adrenoceptor blokkerende stoffen is.

In **hoofdstuk 1** worden literatuur-overzichten gegeven m.b.t. farmacologische eigenschappen van beta-adrenoceptor blokkerende stoffen, de farmacokinetiek van propranolol, alsook een beschrijving van het patroon van de antihypertensieve respons in de mens en in experimenteel hypertensieve ratten. Tenslotte wordt in sectie 1.5 het doel van de onderzoeken in dit proefschrift uitvoerig aangegeven.

Na een beschrijving van gebruikte methodes in **hoofdstuk 2**, is dit proefschrift verdeeld in twee delen. In het eerste daarvan wordt ingegaan op effecten die optreden na eenmalige toediening van propranolol in SHR.

De farmacokinetiek van propranolol na eenmalige subcutane (s.c.) toediening van 1 mg/kg wordt beschreven in **hoofdstuk 3**. Propranolol wordt snel in het bloed opgenomen en ook de verdeling over het lichaam en eliminatie zijn snelle processen ($t_{1/2\text{alfa}}=17$ min; $t_{1/2\text{beta}}=59$ min). In weefsels worden hoge spiegels gevonden, in vergelijking tot die in het plasma. Deze zijn maximaal rond 30 minuten na de injectie. Bovendien blijkt propranolol sterk aan plasma-eiwitten te binden. Deze binding is echter verzadigbaar als de plasma-spiegel boven 100 ng/ml komt.

De blokkade van beta-adrenoceptoren volgt een tijdsverloop dat vergelijkbaar is met dat van de plasma-spiegels van propranolol, zoals beschreven wordt in **hoofdstuk 4**. Ook deze blokkade is maximaal rond 30 minuten na de injectie. Parallel aan de beta-adrenoceptor-blokkade blijkt de hartfrequentie van wakkere SHR te worden verlaagd (**hoofdstuk 5**). Het tijdsverloop van de effecten op de bloeddruk is echter geheel anders. De gemiddelde arteriële bloeddruk (MAP) blijft onveranderd of is zelfs licht verhoogd gedurende de eerste uren na injectie. Na 2-4 uur zakt de MAP echter en hij blijft verlaagd gedurende meer dan 20 uur na de injectie van 1 of 5 mg/kg propranolol in vrij bewegende ratten. Wanneer de dieren in hun bewegingen beperkt worden, is niet alleen een dosis van 0.2 mg/kg ook in staat de bloeddruk te verlagen, maar bovendien zijn de effecten van 1 en 5 mg/kg groter. De mate van uiteindelijke bloeddruk-verlaging blijkt onafhankelijk te zijn van de dosis propranolol.

Hoofdstuk 6 beschrijft een verdere hemodynamische karakterisering van de antihypertensieve respons. Hiertoe werd het hartminuut-volume (CO) en de bloed-

druk continu gemeten in wakkere, vrij bewegende SHR na injectie van propranolol. Na injectie van 5mg/kg is het hartminuut-volume gedurende 12 uur verlaagd. De totale vaatweerstand (TPR) neemt echter meteen na de injectie toe. Deze parameter past zich geleidelijk aan. Tengevolge daarvan is de MAP (=COxTPR) verlaagd na 2-4 uur na de injectie. Twintig uur na de injectie van zowel 1 als 5 mg/kg propranolol is de CO terug op zijn uitgangswaarde, echter de vaatweerstand is significant verlaagd.

In **hoofdstuk 7** wordt een mogelijke bijdrage van het centraal zenuwstelsel tot het antihypertensieve effect van propranolol onderzocht. De effecten van bolus-injecties van propranolol in de hersenventrikels van SHR worden beschreven. Zowel chemische als fysiologische gegevens laten echter zien dat deze techniek niet geschikt is voor dit type van onderzoek, daar propranolol onmiddellijk uit de hersenen naar het bloed weg-lekt.

Hoofdstuk 8 beschrijft onderzoeken naar de rol die de baro-reflex speelt in de hemodynamische effecten van propranolol. Op de eerste plaats blijkt dat de stijging van de vaatweerstand na injectie van propranolol het gevolg is van een activatie van deze reflex. Na doorsnijding van de afferente baroreceptor vezels blijkt propranolol nl. in staat de bloeddruk onmiddellijk te verlagen. Verder worden in dit hoofdstuk mogelijke veranderingen van de gevoeligheid van de baro-reflex na propranolol gemeten, zowel in SHR als in normotensieve Wistar-Kyoto ratten. Een verandering in deze gevoeligheid zou een mogelijke verklaring kunnen bieden voor de late bloeddruk-verlaging. De resultaten geven echter geen verandering van de reflex-gevoeligheid te zien.

De effecten van propranolol op de plasma renine activiteit (PRA) worden beschreven in **hoofdstuk 9**. Het blijkt dat de PRA 1 uur, maar niet 20 uur na s.c. injectie van 5 mg/kg propranolol verlaagd is. Dit maakt een belangrijke bijdrage van deze parameter aan het antihypertensieve effect twijfelachtig. Injectie van een lagere dosis (0.2 mg/kg) heeft geen effecten.

Het plasma volume (PV) is een half uur na de injectie van 5 mg/kg propranolol significant met 8% verlaagd, zoals blijkt in **hoofdstuk 10**. Vier uur na de injectie is dit effect niet langer significant. Meting van de centraal veneuze druk laat geen verandering in deze parameter zien, hetgeen aangeeft dat de verlaging van het PV waarschijnlijk niet door een verhoogde capillaire vloeistof filtratie veroorzaakt wordt. Er moet dus vloeistof via een andere weg verdwijnen en in **hoofdstuk 11** wordt aangetoond dat dit inderdaad gebeurt en wel via de nier. Gedurende de eerste uren na injectie van 5 mg/kg propranolol is er een geweldige toename van de water- en zout-uitscheiding in de urine van SHR die tevoren in een nauwkeurige zout-balans zijn gebracht. Na enige uren keren deze parameters terug naar hun normale waarden, terwijl de bloeddruk zakt. Dit wordt bediscussieerd in het licht van de sympathisch-nerveuze regulatie van de renale tubulus functie, waarop propranolol mogelijk effecten heeft.

Hoofdstuk 12 is het eerste hoofdstuk van deel twee van dit proefschrift. In dit deel worden de lange termijn effecten van propranolol in de SHR bestudeerd. Eerst wordt getest of het ALZETTM osmotische minipompje gebruikt kan worden om een stationaire toestand in farmacokinetische zin op te bouwen en te handhaven.

Zowel uit excretie-metingen als metingen van de plasma-spiegels gedurende een 6 dagen durende infusie van propranolol in een dosis van 1 mg/kg. dag blijkt dat na 1-2 dagen een stationaire toestand wordt bereikt.

De infusies werden zowel s.c. als intracerebroventriculair (i.c.v.) gegeven. De plasma-spiegels van propranolol zijn identiek tijdens s.c. en i.c.v. toediening.

Na s.c. toediening van propranolol zijn bovendien de weefsel-spiegels in alle organen (m.u.v. die in de longen) hetzelfde als de plasma-spiegels.

Echter, na i.c.v. toediening van propranolol zijn de spiegels in de hersenen 100 maal hoger dan die in het plasma. Dit maakt het gebruik van deze methode geschikt om een mogelijke bijdrage van het centraal zenuwstelsel tot het antihypertensieve effect van propranolol nader te onderzoeken.

In **hoofdstuk 13** wordt ingegaan op de hemodynamische effecten van langdurig s.c. toegediend propranolol in de SHR. In een dosis van 5 mg/kg. dag blijkt propranolol in staat de hartfrequentie en het hartminuut-volume van SHR al op de eerste dag significant te verlagen. Tegelijkertijd stijgt echter de vaatweerstand wat tot gevolg heeft dat de bloeddruk op de eerste dag niet verandert. Gedurende de verdere 4 dagen van de experimenten is de bloeddruk echter wel verlaagd, hetgeen gepaard gaat met een verlaagd hartminuut-volume en een aangepaste vaatweerstand. Deze laatste blijft echter significant boven zijn uitgangswaarde. De effecten van propranolol op het slagvolume zijn slechts gering. Wanneer een dosis van 1 mg/kg.dag wordt geïnfundeed, veranderen bloeddruk en hartfrequentie niet.

Een combinatie van de methodes en resultaten uit de twee voorgaande hoofdstukken wordt gebruikt in **hoofdstuk 14**, waar wordt aangetoond dat gedurende i.c.v. infusie van propranolol een dosis van 5 mg/kg. dag nodig is om een antihypertensief effect te verkrijgen. Hieruit volgt dat dezelfde dosis nodig is als die, welke tijdens s.c. infusie de bloeddruk verlaagt, ondanks het feit dat de hersen-spiegels 100-voudig hoger zijn dan die tijdens s.c. infusie. Hierdoor kan een werkingsplaats van het propranolol in het centraal zenuwstelsel m.b.t. het antihypertensieve effect definitief worden uitgesloten.

In **hoofdstuk 15** worden de effecten van infusie van 5 mg/kg. dag propranolol op de PRA bestudeerd. De PRA is niet verlaagd op de eerste, maar wel op de vierde dag na de start van de infusie.

Een mogelijke bijdrage hiervan aan het antihypertensieve effect wordt bediscussieerd.

Tenslotte wordt in **hoofdstuk 16** het plasma volume van SHR tijdens infusie van 5 mg/kg.dag propranolol gemeten. Dit blijkt op dag 1 en dag 4 van de infusies niet veranderd te zijn, vergeleken met de controles.

De algemene discussie in **hoofdstuk 17** bevat de belangrijkste waarnemingen uit de verschillende studies. Er wordt een flow-diagram uit geconstrueerd dat de verschil-

lende effecten, die na eenmalige en langdurige toediening optreden, verklaart. De conclusie is dat renale, en meer in het bijzonder tubulaire, effecten uitzonderlijk belangrijk zijn voor de verklaring van het antihypertensieve effect van beta-adrenoceptor blokkerende geneesmiddelen.

In appendix I wordt een model beschreven voor de farmacokinetiek van propranolol in de SHR. Dit model is gebaseerd op fysiologische grootheden. Er wordt een verklaring geboden voor schijnbare discrepanties tussen de resultaten na *eenmalige en langdurige toediening*.

Appendix II bevat computer-simulaties van verschillende hypothesen voor het antihypertensieve werkingsmechanisme van beta-adrenoceptor blokkade. Deze werden gedaan in een model dat de belangrijkste componenten van de bloeddrukregulatie bevat. Het resultaat is dat het model voorspelt, dat de door ons voorgestelde combinatie van een verminderde tubulaire reabsorptie van water en zout samen met een verlaging van het hartminuut-volume inderdaad tot een langdurige bloeddrukverlaging zal leiden.