

Summary

In 21 rabbits, the average concentration of sodium and potassium in the aqueous humor was found to be respectively 149 ± 4.3 mEq/l and 5.34 ± 0.39 mEq/l.

Eleven of these animals were injected with Diamox (100 mg/kg of body weight); a significant drop of potassium concentration in the aqueous humor was observed three hours later, as compared with the ten control animals. No change in sodium concentration occurred.

Our findings are considered in correlation with the fall of intraocular pressure produced by the carbonic anhydrase inhibitor, and the role of this enzyme is discussed.

Action d'un inhibiteur de la carboanhydrase, l'acétazolamide, sur l'excitabilité du cortex, du thalamus et du rhinencéphale

La carboanhydrase se trouve dans le système nerveux central de l'homme et de différentes espèces d'animaux¹, mais le rôle qu'elle y joue n'est pas connu. Or, nous possérons actuellement un inhibiteur spécifique de ce ferment, l'acétazolamide ou Diamox. A côté de son action diurétique, ce dérivé entraîne parfois chez l'homme quelques effets secondaires, tels que paresthésies et légère somnolence². En outre, il exerce une influence favorable dans certains cas d'épilepsie³. Nous nous sommes donc proposés d'étudier chez l'animal l'action de l'acétazolamide sur différentes structures cérébrales.

Technique et matériel expérimental. Nos expériences furent effectuées chez des lapins non narcotisés de 2,5 à 3 kg. Après anesthésie locale et dénudation du crâne, un socle stéréotaxique est fixé sur la voûte, dans une position définie par rapport aux sutures — voir technique MONNIER et LAUE⁴, GANGLOFF et MONNIER⁵. Une série

¹ W. ASHBY et D. V. CHAM, J. Biol. Chem. 151, 515 (1943). — W. ASHBY, R. F. GARZOLI et E. M. SCHUSTER, A. M. Physiol. 170, 116 (1952).

² C. K. FRIEDBERG, R. TAYMOR, J. B. MINOR et M. HALPERN, New England J. Med. 248, 883 (1953). — A. FALBRIARD, Praxis 14, 293 (1954).

³ W. H. BERGSTROM, R. F. GARZOLI, C. LOMBROSO, D. T. DAVIDSON et W. M. WALLACE, Amer. J. Dis. Child. 84, 771 (1952).

⁴ M. MONNIER et H. LAUE, Helv. Physiol. Acta 11, 73 (1953).

⁵ H. GANGLOFF et M. MONNIER, Tagung der Österreichischen Arbeitsgemeinschaft für E.E.G. Bad Ischl, septembre 1954 (à paraître dans Pflügers Arch. 1955).

de perforations permet d'introduire dans le cerveau des électrodes de stimulation et de dérivation. A l'aide de ce dispositif, on peut stimuler le cortex, le noyau latéral du thalamus et le rhinencéphale; simultanément, on dérive les ripostes électriques de ces mêmes structures. Le stimulateur de Wyss nous a fourni une impulsion ayant la forme du potentiel d'action d'un nerf périphérique (durée de l'impulsion 7 ms, fréquence 40 c/s, durée de la salve 15 s). Nous avons déterminé le seuil d'excitabilité de chaque structure, en augmentant progressivement le voltage des stimuli jusqu'à l'apparition d'une after-discharge; cette dernière était enregistrée par un électro-encéphalographhe de GRASS.

Après détermination des paramètres de base (seuil d'excitabilité, durée et aspect qualitatif de l'after-discharge), 100 mg/kg d'acétazolamide ont été injectés par voie intraveineuse. Notre étude porte sur 14 lapins, dont 7 témoins n'ayant pas reçu de médicament. Chaque animal a été sacrifié à la fin de l'expérience. Nous avons pratiqué des coupes séries dans le cerveau, pour dépister d'éventuelles lésions des structures stimulées. Ont été écartés systématiquement les résultats concernant les points lésés: ce fut le cas pour un point du rhinencéphale (cas 6) et pour un point du cortex (cas 7).

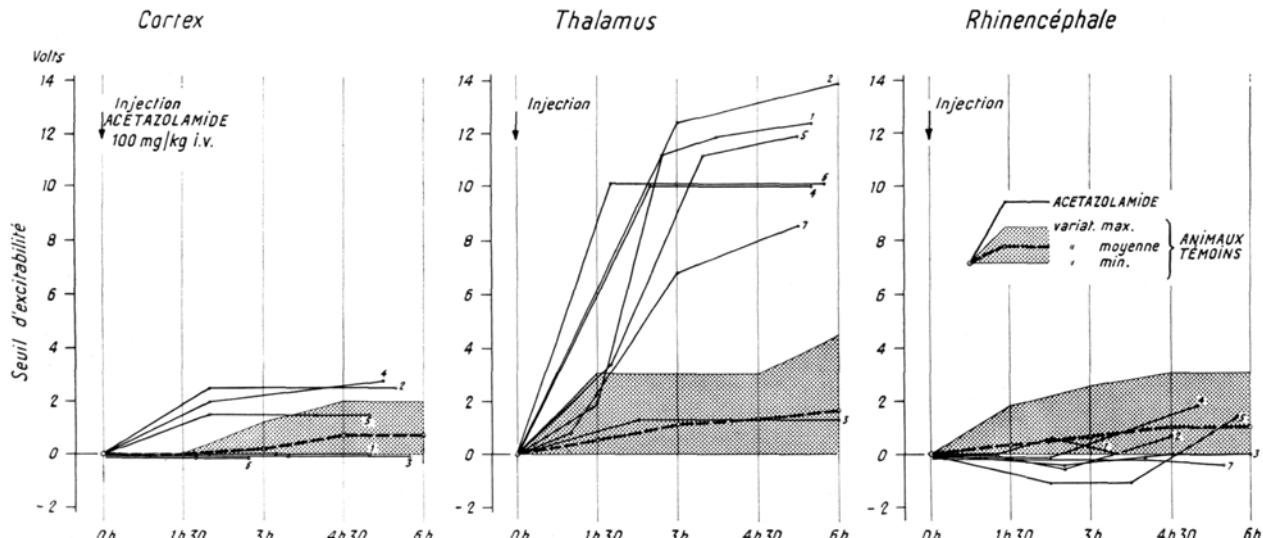
Résultats et discussion. Nous résumons par une figure les variations relatives des seuils d'excitabilité sous l'effet du Diamox, par rapport aux seuils initiaux. Ces variations sont comparées aux valeurs obtenues chez les animaux témoins.

a) *Cortex* (6 cas). Trois cas n'ont pas présenté de modifications notables du seuil d'excitabilité (1, 3, 6). Chez les 3 autres animaux, on observe une légère élévation du seuil cortical, qui n'excède guère les variations extrêmes observées dans les cas témoins.

b) *Thalamus* (7 cas). Six cas présentent une importante élévation du seuil d'excitabilité diencéphalique. Cet effet se manifeste assez rapidement: dans un cas, une heure après l'injection d'acétazolamide; il s'accentue encore par la suite.

c) *Rhinencéphale* (6 cas). Dans trois cas, le seuil d'excitabilité rhinencéphalique s'abaisse à peine après l'injection; il tend à remonter vers la fin de l'expérience. Chez trois autres animaux, le seuil est resté pratiquement stable.

La durée et l'aspect qualitatif de l'after-discharge, au niveau des trois structures stimulées, n'ont pas été modifiés d'une façon systématique par le Diamox.



Action de l'acétazolamide (Diamox) sur les seuils d'excitabilité du cortex, du thalamus et du rhinencéphale chez le lapin (7 cas), en comparaison avec des expériences témoins (7 cas). — Il s'agit de variations relatives par rapport aux seuils initiaux.

Ainsi, l'action la plus frappante de l'acétazolamide consiste en une diminution de l'excitabilité du *diencephale*. Dans l'interprétation de nos résultats, il est malaisé de faire la part de l'acidose sanguine que provoque le Diamox et d'une inhibition spécifique de la carboanhydrase cérébrale. Ce dernier mécanisme est suggéré notamment par l'action relativement précoce de la substance étudiée, de même que par son effet presque électif sur une structure cérébrale. Dans trois cas¹, nous avons mesuré le pH sanguin veineux en cours d'expérience, au moyen d'une «cup-electrode» de BECKMAN: le seuil d'excitabilité diencéphalique s'est élevé avant toute variation du pH sanguin. Cependant, on ne peut exclure complètement la participation de l'acidose, même compensée, dans l'action de l'acétazolamide sur le système nerveux.

Il serait intéressant d'établir des corrélations entre l'action sédatrice du Diamox sur l'excitabilité diencéphalique, que nous avons observée, et la répartition topographique de l'anhydrase carbonique cérébrale. Cependant, selon ASHBV, cette répartition est variable suivant chaque espèce animale et les éléments dont nous disposons, en ce qui concerne le lapin, portent sur un nombre de cas limité (1). Des données topographiques plus précises, confrontées avec les effets de l'acétazolamide, permettraient d'approfondir le rôle de la carboanhydrase dans le système nerveux central.

¹ Nous remercions vivement, pour sa précieuse collaboration, Monsieur A. ZEHNDER, chimiste, Laboratoire central de l'Hôpital cantonal.

A. FALBRIARD et H. GANGLOFF

Laboratoire de Neurophysiologie appliquée, Genève, et Clinique de Thérapeutique Universitaire de Genève, le 3 mars 1955.

Summary

The electrical activity induced by stimulation of the cortex, diencephalon and rhinencephalon was studied in the rabbit under the influence of a carbonic anhydrase inhibitor, acetazolamide or Diamox. A significant decrease of the excitability was found in the diencephalon.

The rapidity and the electivity of this action, as well as the blood pH variations simultaneously registered, suggest a specific inhibition of cerebral carbonic anhydrase by Diamox, although a participation of the metabolic acidosis cannot be fully excluded.

Actions de la néostigmine, du D.F.P. et du 3318 CT sur la sensibilité du rectus de grenouille aux esters acétique, propionique et butyrique de la choline

En 1933, CHANG et GADDUM¹ ont montré que l'ésérine sensibilise le rectus de grenouille aux trois esters, acétique, propionique et butyrique de la choline; cet effet est classiquement attribué à une inhibition des cholinestérases. Toutefois, depuis cette date, les problèmes relatifs aux enzymes hydrolysant les esters de choline sont devenus très complexes: en particulier, il a été montré (cf. WHITTAKER²) que les trois esters cités ne sont pas, *in vitro*, hydrolysés par les mêmes estérases, l'acétylcholine l'étant surtout par les cholinestérases «vraies» (acétylcholinestérasées, AcChE), les propionyl- et buty-

rylcholines surtout par des «pseudo»-cholinestérasées (XChE). En outre, des phénomènes de sensibilisation, indépendants d'une inhibition enzymatique, ont été décrits par divers auteurs (cf RIKER¹).

Il nous a semblé utile de reprendre l'étude des potentialisations de ces trois esters en mettant en œuvre des agents anticholinestérasiques de types différents et en comparant ces potentialisations à celle d'un sel d'ammonium quaternaire non hydrolysable, l'amyltriméthylammonium.

Les inhibiteurs utilisés sont: la néostigmine qui inactive indifféremment la plupart des cholinestérasées, le diisopropylfluorophosphate (D.F.P.) qui inhibe préférentiellement les XChE, et le diiodométhylate de la bis-(pipéridinométhylcoumaranyl-5)-cétone (3318 CT), agent anti-AcChE sélectif décrit dans des notes antérieures de ce Laboratoire².

Les effets de la néostigmine sont illustrés par la Figure 1. Comme l'ésérine, cet agent potentialise les trois esters étudiés; aucune différence nette n'apparaît entre la sensibilisation à l'acétylcholine et celle à la propionylcholine, mais la butyrylcholine est moins affectée que ses deux homologues inférieurs. Cette potentialisation de la butyrylcholine est cependant beaucoup plus importante que l'accroissement de l'action de l'amyltriméthylammonium et résulte donc, comme celle des deux autres esters, essentiellement d'inhibitions enzymatiques. Dans ces essais, comme dans ceux de CHANG et GADDUM, la propionylcholine est le plus efficace des agents contracturants étudiés.

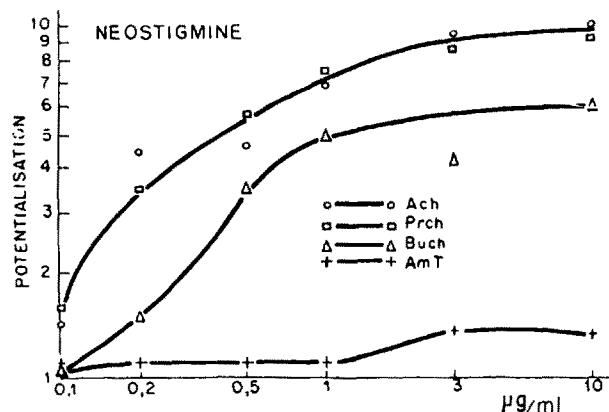


Fig. 1. En abscisse: Concentrations de Néostigmine en $\mu\text{g}/\text{ml}$ (échelle logarithmique). En ordonnée: Potentialisation exprimée par le rapport des doses provoquant une contracture d'environ 50% avant et après administration de l'anticholinestérasique (échelle logarithmique): ○—○ Acétylcholine (chlorure); □—□ Propionylcholine (bromure); Δ—Δ Butyrylcholine (bromure); +—+ Amyltriméthylammonium (iodure). Chaque point correspond à la moyenne d'au moins trois essais.

Le D.F.P. (Fig. 2) différencie très nettement la butyrylcholine des deux autres esters; la butyrylcholine est potentialisée par les faibles concentrations (1 μg et 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$) de cet inhibiteur et la sensibilisation ne progresse plus si on accroît la dose de D.F.P.; les deux autres esters sont seulement potentialisés à partir de 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, mais le phénomène progresse avec des concentrations de D.F.P. croissant jusqu'à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$; pour

¹ W. F. RIKER, Pharmacol. Rev. 5, 1 (1953).

² A. FUNKE, J. JACOB et K. VON DÄNIKEN, C. r. Acad. Sci. 236, 149 (1953). — J. JACOB et A. FUNKE, C. r. Acad. Sci. 237, 1809 (1953). — J. JACOB, Exper. 10, 33 (1954); Arch. Int. Pharmacodyn. (sous presse).

¹ H. C. CHANG et J. H. GADDUM, J. Physiol. 79, 255 (1933).

² V. P. WHITTAKER, Physiol. Rev. 31, 312 (1951).