

## ACTION DES DEUX PEPTIDES NEUROHYPOPHYSAIRES SUR LE TRANSPORT ACTIF DE SODIUM ET LE FLUX NET D'EAU À TRAVERS LA PEAU DE DIVERSES ESPÈCES DE BATRACIENS ANOURES

F. MOREL, J. MAETZ ET CL. LUCARAIN

*Service de Biologie, Centre d'Études Nucléaires, Saclay, S. & O. (France)*

On sait, depuis longtemps déjà<sup>1</sup>, que les extraits posthypophysaires augmentent la perméabilité de la peau des Amphibiens pour l'eau ("Water-balance effect"). Plus récemment, il a été démontré, *in vitro*<sup>2</sup> et *in vivo*<sup>3-5</sup>; que ces extraits stimulent également le transport de sodium. Les actions relatives des fractions antidiurétique et ocytocique ont été recherchées *in vivo* sur le flux net de l'eau<sup>6-10</sup>; les résultats font apparaître des différences d'espèces et les doses employées apparaissent le plus souvent pharmacologiques. Par contre, les actions relatives de ces deux peptides n'ont pas été recherchées systématiquement sur le flux net de sodium à travers la peau<sup>11</sup>.

Le présent travail compare les effets obtenus *in vitro* avec de faibles doses soit d'hormone antidiurétique, soit d'ocytocine (d'extraction ou de synthèse) sur le flux net d'eau et le flux net de sodium à travers la peau de trois espèces d'Anoures: *Rana esculenta*, *Rana temporaria* et *Bufo bufo*.

### TECHNIQUES

#### 1. Mesure du flux net de sodium

Le transport de sodium a été mesuré par le "courant de court-circuit", selon la technique proposée par USSING<sup>12</sup>. Cet auteur, en effet, a démontré *in vitro* qu'en l'absence de gradient électro-chimique à travers la peau, seuls les ions sodium donnent naissance à un flux net (transport actif du milieu externe vers le milieu interne). Ce flux net de sodium (exprimé en ampères) est égal à l'intensité du courant qui traverse la peau lorsqu'on annule son potentiel (courant de court-circuit).

Le dispositif utilisé comporte deux chambres coniques en plexiglass, chacune ayant un volume interne de 32 ml, opposées par la base et remplies toutes deux de liquide de Ringer. La peau est tendue entre elles (surface = 7 cm<sup>2</sup>). La différence de potentiel existant à travers la peau est mesurée à l'aide de deux électrodes au calomel, placées contre chacune de ses faces et reliées à un voltmètre de haute impédance. L'annulation du potentiel est réalisée grâce à un potentiel antagoniste, appliqué à l'extrême des chambres par l'intermédiaire de deux électrodes d'argent-chlorure d'argent, reliées à une pile par l'intermédiaire d'un montage potentiométrique. Dans notre dispositif, l'annulation est assurée grâce à un système d'asservissement: le signal d'entrée obtenu sous basse impédance à la sortie du voltmètre de mesure actionne, après amplification convenable, un moteur qui commande le potentiomètre. Ce dispositif permet l'annulation continue de la différence de potentiel à travers la peau avec une précision de l'ordre de  $\pm 0.1$  mV. Le circuit d'annulation est équivalent à un shunt de résistance nulle reliant les deux faces de la peau. L'intensité du courant de court-circuit est enregistrée par un micro-ampèremètre inscripteur.

#### 2. Mesure du flux net d'eau

Pour la mesure du flux net d'eau, nous avons employé une technique analogue à celle décrite par KOEFOED-JOHNSON ET USSING<sup>11</sup> et par DURBIN et coll.<sup>13</sup>. La peau est placée entre deux chambres de plexiglass (surface de la peau: 7 cm<sup>2</sup>). La méthode consiste à mesurer par compensation, à pression hydrostatique constante, les variations de volume de la chambre externe à l'aide

d'une seringue micrométrique et d'un repère de niveau sur un tube capillaire. Pendant les mesures, la pression hydrostatique de la chambre externe est augmentée de façon à appliquer la peau en position fixe contre une plaque concave de rhodoid perforée de nombreux trous. Le dispositif permet de mesurer les flux nets d'eau (variations de volume) avec une précision de l'ordre de  $\pm 2 \mu\text{l}$ . La différence de potentiel existant à travers la peau est mesurée simultanément à l'aide d'électrodes au calomel et d'un amplificateur à courant continu symétrique de haute impédance d'entrée.

Les expériences de mesure du flux net d'eau ont été réalisées en présence de gradients électrochimiques variables: le milieu interne a toujours été du liquide de Ringer, parfois additionné de mannitol (1 %); le milieu externe, du liquide de Ringer, du Ringer-choline avec ou sans mannitol, ou de l'eau du robinet.

Les hormones employées dans cette étude ont été:

— pour l'ocytocine: soit de l'ocytocine d'extraction ("Pitocin" Parke-Davis), soit de l'ocytocine de synthèse\*.

— pour l'hormone antidiurétique: de l'ADH d'extraction ("Pitressin" Parke-Davis).

Dans tous les cas, les hormones ont été introduites dans le liquide de Ringer baignant la face interne de la peau.

Toutes les expériences rapportées dans ce travail ont été effectuées entre les mois d'avril et de septembre.

## RÉSULTATS

Les données les plus nombreuses ont été obtenues chez *Rana esculenta*.

### 1. *Rana esculenta*

(a) L'intensité du courant de court-circuit des peaux en survie dépend de plusieurs paramètres: diminution en fonction du temps de survie, pour une peau donnée; variations individuelles d'un animal à l'autre; variations saisonnières. Ces facteurs rendent moins précise l'étude quantitative de l'effet des hormones neurohypophysaires sur le courant de court-circuit. Néanmoins un certain nombre de points se dégagent.

*Action de l'ocytocine.* La Fig. 1 présente une expérience typique. On y observe la diminution progressive, signalée ci-dessus, de l'intensité du courant de court-circuit en l'absence d'hormone. L'ocytocine provoque une augmentation caractéristique de ce courant. Le temps de latence et la pente de la réponse sont fonction de la dose. Sur cette préparation, la dose liminaire est voisine de 5 mU (0.15 mU/ml) tandis que 20-40 mU (0.6 à 1.2 mU/ml) provoquent déjà un effet sensiblement maximum.

La dose liminaire varie beaucoup d'un animal à l'autre: quelques peaux n'ont pas répondu à des doses de plus de 10 mU/ml, tandis que chez d'autres, la dose de 0.15 mU/ml provoquait déjà un effet maximum.

Nous avons recherché s'il était possible de mettre en évidence une corrélation entre la dose d'ocytocine et l'intensité de l'effet (pour cent d'augmentation du courant de court-circuit); nous avons arbitrairement subdivisé les 81 essais effectués en deux groupes selon que l'intensité du courant avant l'administration de l'hormone était inférieure ou supérieure à 150  $\mu\text{A}$ . Les 9 essais restés sans réponse ont été écartés. La Fig. 2 présente les résultats obtenus dans ces deux groupes en fonction des différentes doses d'ocytocine utilisées. Dans nos conditions expérimentales, nous n'observons pas de proportionnalité entre ces doses et l'augmentation absolue ou relative du courant de court-circuit. Par contre, il est évident que les augmentations sont plus prononcées pour le groupe dans lequel le courant était faible avant l'administration de l'hormone

\* Nous tenons à exprimer ici nos remerciements à la Maison "Sandoz" qui a gracieusement mis à notre disposition l'ocytocine de synthèse nécessaire à ces recherches.

(168  $\mu$ A, soit 204 %) que pour celui dans lequel il était élevé (97  $\mu$ A, soit 45 %). Les résultats rapportés sur la Fig. 2 concernent exclusivement des essais effectués le premier jour de survie; nous avons, en effet, observé que le 2ème jour de survie, ces mêmes peaux ne présentent plus qu'une réponse affaiblie ou nulle à l'ocytocine.

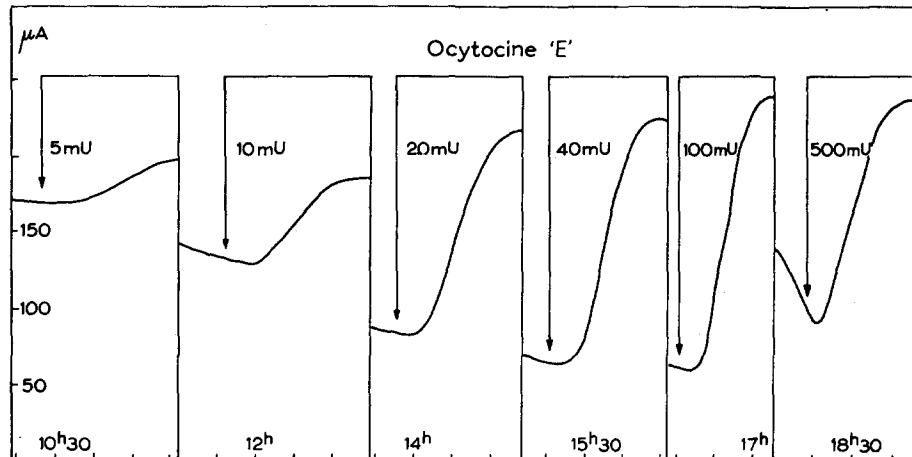


Fig. 1. Expérience du 29-9-'57. *Rana esculenta* (41 g). Milieux interne et externe: liquide de Ringer. En ordonnées: le courant de court-circuit ( $\mu$ A/7  $\text{cm}^2$ ). En abscisses: le temps (graduation par 10 min, mise en route de l'expérience à 9 h). Action de doses croissantes d'ocytocine d'extraction, exprimées en  $\mu$ U/32 ml. Le liquide de Ringer de la chambre interne a été changé lorsque l'effet maximum de l'hormone a été obtenu. On observe: (a) que le courant de court-circuit spontané (en l'absence d'hormone) diminue progressivement en fonction du temps. (b) Qu'une dose de 20-40 mU (0.6 à 1.2 mU/ml) provoque déjà, sur cette peau, une augmentation sensiblement maximale du courant de C-C.

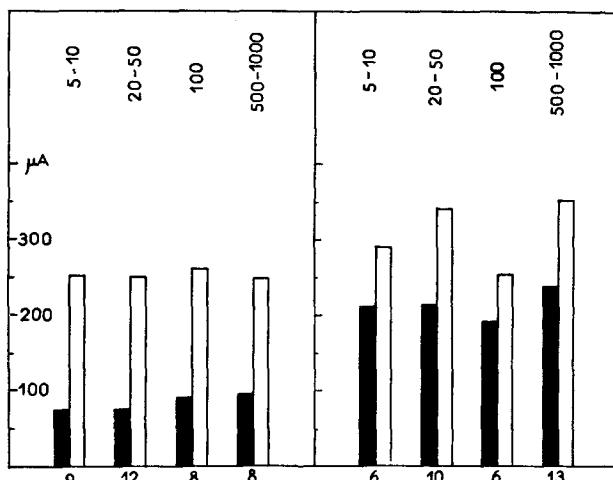


Fig. 2. *Rana esculenta*. Action moyenne de différentes doses d'ocytocine sur le courant de court-circuit ( $\mu$ A/7  $\text{cm}^2$ ). Colonnes noires: le courant mesuré avant l'addition d'hormone. Colonnes blanches: le courant maximum mesuré sous l'effet de l'ocytocine. Les indications portées au-dessus des colonnes désignent les doses d'ocytocine ( $\mu$ U/32 ml); celles portées en-dessous, le nombre des essais. A gauche: essais réalisés sur les préparations présentant un courant spontané inférieur à 150  $\mu$ A. A droite: préparations présentant un courant spontané supérieur à 150  $\mu$ A.

*Action de l'hormone antidiurétique.* Les résultats obtenus (10 essais) avec l'hormone antidiurétique (ADH), chez cette espèce, sont très différents: on n'observe pratiquement aucune augmentation du courant de court-circuit pour des concentrations inférieures à 30 mU/ml. La Fig. 3 illustre la différence d'action des deux peptides; dans cette expérience, 25 mU (0.75 mU/ml) d'ocytocine d'extraction ou de synthèse produisent des effets d'intensité comparable, tandis que 100 mU (3 mU/ml) d'ADH restent sans action nette. Les concentrations d'ADH égales ou supérieures à 30 mU/ml produisent parfois une augmentation lente et faible du courant de court-circuit qui pourrait résulter des traces d'ocytocine que contient toujours la vasopressine d'extraction.

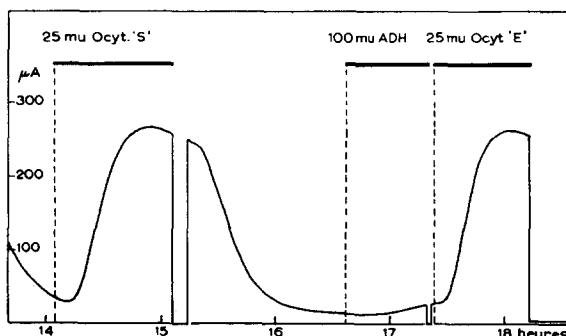


Fig. 3. Expérience du 18-4-'57. *Rana esculenta*. Milieux interne et externe: liquide de Ringer. Début de l'expérience à 10 h. Photographie de l'enregistrement du courant de court-circuit ( $\mu\text{A}/7 \text{ cm}^2$ ). Les interruptions du courant correspondent au remplacement du milieu interne contenant l'hormone par du liquide de Ringer pur. On observe que 25 mU (0.75 mU/ml) d'ocytocine "S" de synthèse ou d'ocytocine "E" d'extraction produisent des effets comparables, tandis que 100 mU (3 mU/ml) d'ADH d'extraction restent sans effet net.

Nous observons, pour des doses égales, une différence d'action considérable entre l'ocytocine et l'ADH, chez *Rana esculenta*.

(b) L'action des mêmes peptides sur le flux net d'eau a été recherchée en quinze occasions sur des peaux de *Rana esculenta*, et en présence de gradients électrochimiques divers. Dans les dix essais mettant en oeuvre l'ocytocine (ocytocine "S" ou ocytocine "E") à des concentrations échelonnées entre 0.1 et 25 mU/ml, l'hormone a toujours provoqué une augmentation certaine du flux net d'eau (augmentation moyenne de 125%). Au contraire, dans les cinq essais mettant en oeuvre l'ADH (1 à 40 mU/ml), aucune variation du flux net d'eau n'a pu être observée. La Fig. 4 montre deux exemples de ces différences d'action.

L'action relative de ces deux hormones sur le flux net d'eau *in vitro* apparaît donc analogue à celle observée sur le courant de court-circuit.

## 2. *Rana temporaria*

Les résultats concernant cette espèce portent sur un petit nombre d'expériences seulement et ne permettent pas de conclusions formelles, surtout en ce qui concerne les flux d'eau.

Une augmentation du courant de court-circuit se produit en présence d'ocytocine, mais les doses nécessaires sont plus élevées (1 mU/ml ou davantage) que chez la grenouille verte. La réponse, en outre, reste plus lente et moins ample (Fig. 5).

Aux mêmes doses, l'ADH est restée sans effet dans la majorité des cas (Fig. 5); en deux occasions sur dix essais, néanmoins, une augmentation certaine du courant de court-circuit a été observée, mais beaucoup plus faible que celle produite par l'ocytocine. Par contre, l'ADH (3 essais) comme l'ocytocine (2 essais) semble capable d'augmenter le flux net d'eau.

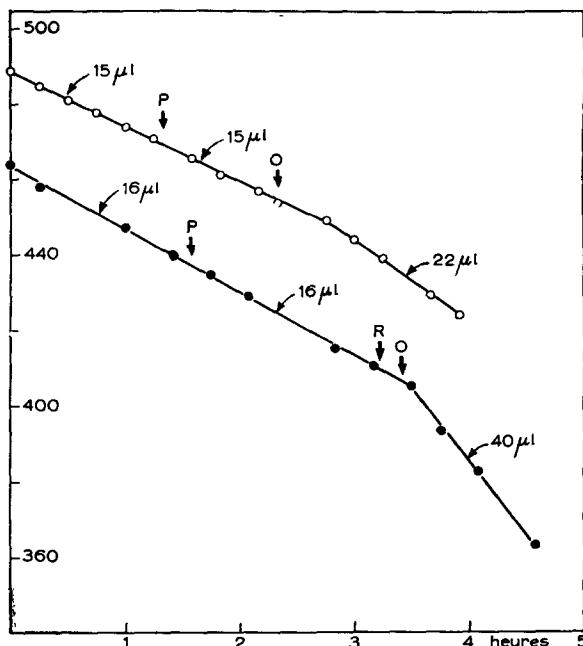


Fig. 4. Expérience du 29-4-'57 et du 3-5-'57. *Rana esculenta*. Milieux interne et externe: liquide de Ringer. Peau non court-circuitée. Variations du volume de la chambre externe ( $\mu$ l) en fonction du temps (heures). P: Introduction de 1 mU/ml d'ADH dans la chambre interne. R: Rinçage de la chambre interne. O: Introduction de 1 mU/ml d'ocytocine "S" dans la chambre interne. Les chiffres portés sur le graphique indiquent les flux nets d'eau ( $\mu$ l/7  $\text{cm}^2/\text{h}$ ). On observe que dans les deux expériences le flux net d'eau n'est pas modifié par l'hormone antidiurétique, tandis qu'il est augmenté par l'ocytocine.

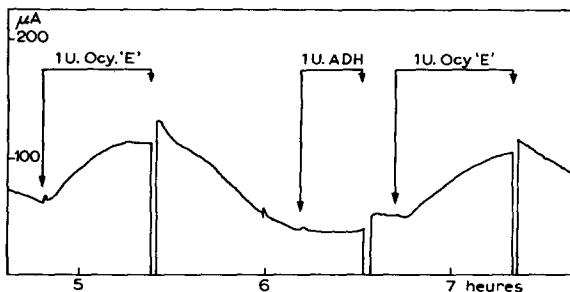


Fig. 5. Expérience du 20-6-'57. *Rana temporaria*, 25 g. Milieux interne et externe: liquide de Ringer. En abscisses, le temps (heures) depuis la mise en route de l'expérience. Photographe de l'enregistrement du courant de court-circuit ( $\mu$ A/7  $\text{cm}^2$ ). On observe, dans cette expérience, que 1 U d'ADH (30 mU/ml) reste sans action, alors que la même dose d'ocytocine produit en deux occasions des effets nets et comparables.

### 3. *Bufo bufo*

La taille des animaux employés nous a permis de diviser en deux la peau abdominale et d'étudier ainsi parallèlement le courant de court-circuit et le flux net d'eau sur les deux moitiés symétriques.

Dans quatre expériences sur cinq, l'ocytocine chez cette espèce comme chez *Rana temporaria*, n'a augmenté le courant de court-circuit que pour des concentrations relativement élevées (1 mU/ml ou davantage); l'effet maximum a été obtenu avec des doses de l'ordre de 30 mU/ml. Dans ces quatre expériences, l'ADH, aux mêmes concentrations, a produit des effets aussi prononcés que ceux de l'ocytocine (Fig. 6). La peau utilisée dans le 5ème expérience n'a répondu ni à l'ocytocine (30 mU/ml), ni à l'ADH (même dose), malgré un courant de court-circuit élevé (125  $\mu$ A/7  $\text{cm}^2$ ).

Le flux net d'eau de la peau des mêmes animaux a été augmenté aussi bien par l'ADH (Fig. 7) que par l'ocytocine, sauf dans la 5ème expérience où les deux hormones sont restées sans action.

Chez *Bufo bufo*, nous n'observons pas de différence d'action entre des doses égales d'ocytocine et d'ADH, ni sur le courant de court-circuit ni sur le flux net d'eau.

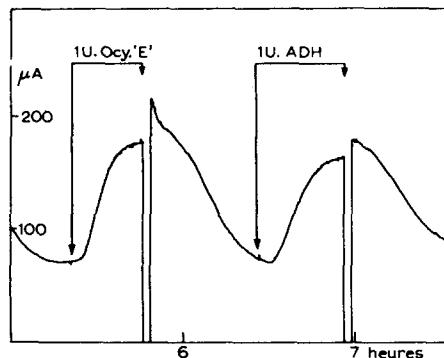


Fig. 6. Expérience du 15-7-'57. *Bufo bufo*, 40 g. Milieux interne et externe: liquide de Ringer. En abscisses, le temps (heures) depuis la mise en route de l'expérience. Photographie de l'enregistrement du courant de court-circuit ( $\mu\text{A}/7\text{ cm}^2$ ). On observe, chez cette espèce, que l'ocytocine (30 mU/ml) et l'ADH (30 mU/ml) provoquent toutes deux une augmentation comparable du courant de court-circuit.

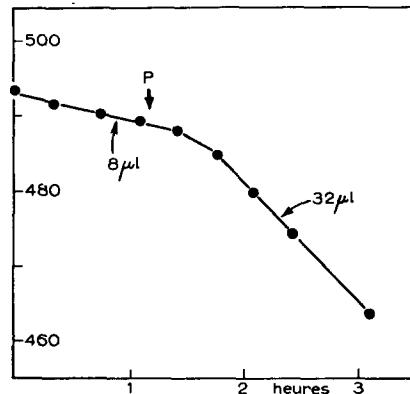


Fig. 7. Expérience du 11-7-'57. *Bufo bufo*, 65 g. Milieux interne et externe: liquide de Ringer. Peau non court-circuitée. Variations du volume de la chambre externe ( $\mu\text{l}$ ) en fonction du temps (heures). On observe que l'introduction dans la chambre interne de 30 mU/ml d'ADH (en P) fait passer le flux net d'eau de 8 à 32  $\mu\text{l}/7\text{ cm}^2/\text{h}$ .

#### DISCUSSION

USSING<sup>12</sup> a montré que le courant de court-circuit, en l'absence de gradient électrochimique, correspond au seul flux net du sodium à travers la peau. Chez *Rana esculenta*, en mesurant simultanément le flux de sodium traversant la peau dans les deux sens par la technique du double marquage, nous avons vérifié que le flux net ainsi obtenu est effectivement équivalent au courant de court-circuit et que son augmentation sous l'influence de l'ocytocine correspond bien à une augmentation du transport de sodium. Il est donc légitime de considérer que l'action des hormones sur le courant de court-circuit mesure leur action sur le flux net de sodium, c'est-à-dire sur le transport actif de sodium effectué par la peau.

Nous avons vérifié d'autre part que les augmentations du flux net d'eau produites par l'ocytocine correspondent à une augmentation de la perméabilité de filtration de la peau; dans nos conditions expérimentales, en effet, le flux total d'eau traversant la peau de l'extérieur vers l'intérieur (perméabilité de diffusion), mesuré à l'aide d'eau tritiée, n'est pratiquement pas modifié par l'ocytocine (*Rana esculenta*); l'action de cette hormone sur le flux net d'eau doit donc résulter d'un "effet de pores"<sup>11</sup>.

Les résultats rapportés mettent en évidence un certain nombre de points:

Les hormones neuro-hypophysaires de Mammifères (de synthèse ou d'extraction) manifestent sur la peau en survie de différentes espèces d'Anoures des actions qualitativement et quantitativement différentes selon les espèces étudiées:

— En ce qui concerne le flux net de sodium, l'ocytocine agit aux concentrations les plus faibles (0.15 mU/ml) et produit les actions les plus marquées (augmentation jusqu'à 10 fois) chez *Rana esculenta*. Chez *Rana temporaria* et chez *Bufo bufo*, le seuil d'action est plus élevé et les augmentations du flux de sodium moins considérables.

L'ADH en doses équivalentes, au contraire, n'agit pas chez *Rana esculenta*, n'agit qu'exceptionnellement et encore faiblement chez *Rana temporaria*, tandis que chez *Bufo bufo*, elle s'avère aussi efficace que l'ocytocine.

— Les actions respectives des deux peptides sur le flux net d'eau sont parallèles à celles observées sur le flux net de sodium, au moins chez *Rana esculenta* et chez *Bufo bufo* (les expériences de mesure du flux net d'eau chez *Rana temporaria* sont trop peu nombreuses pour permettre de mettre en évidence une corrélation nette). Ce parallélisme se manifeste non seulement d'une espèce à l'autre, mais encore dans une même espèce; ainsi sur cinq expériences faites chez *Bufo bufo*, une seule et même peau n'a répondu aux deux peptides ni par une augmentation du flux de sodium, ni par une augmentation du flux net d'eau.

Chez deux des espèces étudiées, il apparaît donc nettement que les effets des deux hormones essayées sur le flux net d'eau et sur le transport de sodium sont toujours ou simultanément présents ou simultanément absents. Sans apporter de précision sur les mécanismes de l'action hormonale, cette observation indique cependant que les effets sur la perméabilité de filtration et le transport actif de sodium sont étroitement liés. La spécificité des actions observées mérite d'être soulignée. Étudiées sur divers aspects du métabolisme de l'eau ("Water-balance effect", clearance rénale de l'eau libre, réabsorption d'eau vésicale) des différences d'action entre les deux hormones neuro-hypophysaires avaient déjà été observées *in vivo*, selon les espèces; le problème a été discuté récemment par SAWYER<sup>14</sup>. Nos résultats indiquent que des différences d'espèces semblables existent aussi pour la stimulation du transport actif de sodium.

Bien que les doses employées dans les expériences rapportées ici soient relativement faibles et concernent notamment une hormone de synthèse exempte de toute contamination par une éventuelle hormone physiologique inconnue, il reste cependant probable que les hormones qui contrôlent la régulation de la balance hydro-minérale des Vertébrés inférieurs sont différentes de celles isolées chez les Mammifères. HELLER<sup>6</sup> et SAWYER<sup>7, 14</sup> l'ont postulé en ce qui concerne le "Water-balance principle". Il en va probablement de même pour le contrôle du transport de sodium à travers la peau. La Fig. 8 montre les résultats d'une expérience préliminaire: l'intensité du courant de court-circuit d'une peau de *Bufo*, le 2ème jour de survie, n'augmente plus sous l'effet ni de l'ocytocine (1U), ni de l'ADH (1U), ni de l'extrait salin frais de neurohypophyse de Rat ( $\frac{1}{2}$  glande), mais augmente encore de façon caractéristique en

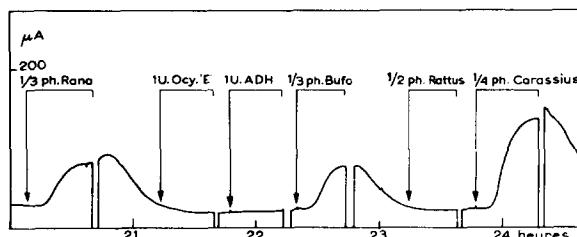


Fig. 8. Suite de l'expérience présentée sur la Fig. 6. *Bufo bufo*, 40 g. Mêmes conditions que pour la Fig. 6, mais le 2ème jour de survie. On observe que les mêmes doses d'ocytocine et d'ADH (30 mU/ml) qui stimulaient le courant de court-circuit le premier jour de survie (voir Fig. 6), restent sans action le deuxième jour. De même, l'extrait salin de post-hypophyse de rat n'agit pas, tandis que des extraits frais similaires de *Rana esculenta*, de *Bufo bufo* et de *Carassius auratus* provoquent une augmentation caractéristique du courant de court-circuit.

présence d'extraits salins frais de post-hypophyse de *Rana* ( $1/3$  de glande), de *Bufo* ( $1/3$  de glande), de *Carassius* ( $1/4$  de glande).

### RÉSUMÉ

Les effets de l'ocytocine (d'extraction et de synthèse) et de l'ADH sur le transport actif de sodium (enregistré par le courant de court-circuit) et sur le flux net d'eau, ont été recherchés sur la peau en survie *in vitro* de trois espèces d'Anoures: *Rana esculenta*, *Rana temporaria* et *Bufo bufo*.

Chez *Rana esculenta*, l'ocytocine à des concentrations égales ou supérieures à 0.15 mU/ml augmente fortement le transport de sodium et le flux net d'eau, tandis que l'ADH reste sans effet. Chez *Rana temporaria*, l'action de l'ocytocine sur le flux net de sodium est moins marquée, mais reste cependant beaucoup plus nette que celle de l'ADH. Chez *Bufo bufo* enfin, les deux hormones produisent des effets équivalents et augmentent toutes deux le flux net de sodium et le flux net d'eau. En dehors de ces différences d'espèces, la présente étude montre que les actions sur le transport actif de sodium et sur la perméabilité de filtration sont toujours associées et en corrélation étroite. Chez *Rana esculenta*, au moins, la netteté de la réponse aux doses d'ocytocine les plus faibles employées, milite en faveur d'un rôle des peptides neuro-hypophysaires dans la régulation du métabolisme du sodium. Il semble probable néanmoins que les hormones physiologiquement sécrétées par les Vertébrés inférieurs soient différentes de celles extraites de la neuro-hypophyse des Mammifères.

### SUMMARY

The effect of oxytocin (extracted or synthesized) and of antidiuretic hormone (ADH) on the active transport of sodium (recorded by short-circuit current) and on the net flux of water has been studied *in vitro* on skins of three species of Anura: *Rana esculenta*, *Rana temporaria* and *Bufo bufo*.

In *Rana esculenta*, at concentrations of 0.15 milliunits/ml or higher, oxytocin greatly increases sodium transport and net flux of water, while ADH has no effect.

In *Rana temporaria*, the influence of oxytocin on the transport of sodium is less marked, but it is still far more clearly discernible than that of ADH.

In *Bufo bufo*, the two hormones are equally effective, both increasing the net flux of sodium and of water. Apart from these differences as regards species, this investigation has demonstrated that the action of the hormones on the active uptake of sodium through the skin and on its filtration permeability go hand in hand, and are closely correlated. At least in *Rana esculenta*, the clear response to even the lowest doses of oxytocin argues in favour of the role attributed to neurohypophyseal peptides in the control of sodium metabolism. It seems, however, that the hormones physiologically secreted by the lower Vertebrates differ from those extracted from the posterior lobe of the hypophysis of Mammals.

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> F. BRUNN, *Z. ges. expkl. Med.*, 25 (1921) 170.
- <sup>2</sup> F. A. FUHRMAN ET H. H. USSING, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 38 (1951) 109.
- <sup>3</sup> C. B. JOERGENSEN ET H. H. USSING, *Acta Physiol. Scand.*, 12 (1946) 350.
- <sup>4</sup> C. B. JOERGENSEN, H. LEVI ET K. ZERAHN, *Acta Physiol. Scand.*, 30 (1954) 178.
- <sup>5</sup> S. M. KALMAN ET H. H. USSING, *J. Gen. Physiol.*, 38 (1955) 361.
- <sup>6</sup> H. HELLER, *Experientia*, 6 (1950) 368.
- <sup>7</sup> W. H. SAWYER, D. F. TRAVIS ET N. G. LEVINSKI, *Am. J. Physiol.*, 163 (1950) 364.
- <sup>8</sup> R. F. EWER, *J. Exptl. Biol.*, 29 (1952) 429.
- <sup>9</sup> R. F. EWER, *J. Exptl. Biol.*, 28 (1951) 374.
- <sup>10</sup> C. B. JOERGENSEN, *Acta Physiol. Scand.*, 22 (Suppl. 78) (1950).
- <sup>11</sup> V. KOEFOED-JOHNSON ET H. H. USSING, *Acta Physiol. Scand.*, 28 (1953) 60.
- <sup>12</sup> H. H. USSING, *Symposium No. 8 of the Soc. for Exptl. Biol.*, (1954) 407.
- <sup>13</sup> R. P. DURBIN, H. FRANK ET A. K. SOLOMON, *J. Gen. Physiol.*, 32 (1956) 535.
- <sup>14</sup> W. H. SAWYER, *8th Colston Symposium, Bristol*, (1956) 171.

Reçu le 27 Novembre, 1957