

BBA 75103

ACTIONS DE LA NORADRÉNALINE ET DE L'OCYTOCINE
SUR LE TRANSPORT ACTIF DE SODIUM ET LA PERMÉABILITÉ À L'EAU
DE LA PEAU DE GRENOUILLE. RÔLE DU 3',5'-AMP CYCLIQUE

FRANÇOISE BASTIDE ET SERGE JARD

Département de Biologie, Commissariat à l'Energie Atomique, C.E.N./Saclay, BP No. 2, Gif-sur-Yvette (France)

Reçu le 1 juin, 1967)

Manuscrit revisé reçu le 1 septembre, 1967)

SUMMARY

Action of noradrenalin and oxytocin on the active transport of Na^+ and the permeability of frog skin to water. Role of cyclic AMP

The actions of noradrenalin and oxytocin on short-circuited current, unidirectional fluxes of Na^+ and Cl^- , and water permeability of the isolated frog (*Rana esculenta*) skin are compared.

The results show that noradrenalin (10^{-8} to 10^{-6} M) produces, like oxytocin (1) a stimulation of active Na^+ transport resulting from an increase of Na^+ influx without any modification of Na^+ outflux or of the two unidirectional fluxes of Cl^- ; (2) an increase in osmotic water permeability. At a much higher concentration (10 times higher than those producing a maximal stimulation of active Na^+ transport) noradrenalin produces a large increase in the permeability of the skin for both Na^+ and Cl^- which is similar to those described by several authors.

3',5'-Cyclic AMP and theophylline (10^{-3} to 10^{-2} M) mimic the actions of oxytocin and of noradrenalin. Their potentiation by theophyllin suggests a common mechanism of action for these two hormones involving 3',5'-cyclic AMP as an intermediate. However, the lack of activity of noradrenalin on the bladder, the different time course of the actions of noradrenalin and oxytocin on the skin, the inhibition of the actions of noradrenalin by dichloroisopropylarterenol while the actions of oxytocin are maintained show that the receptors for catecholamines and neurohypophysial hormones within the skin are different.

INTRODUCTION

Le 3',5'-adénosine monophosphate cyclique, (3',5'-AMP cyclique) semble être le médiateur d'un grand nombre d'actions hormonales, comme les actions glycogénolytique¹ et lipolytique² des catécholamines, l'effet corticotrophique de l'ACTH³, celui des hormones neurohypophysaires sur la vessie de crapaud⁴⁻⁷ et le rein des mammifères⁸; ceci peut expliquer⁵ les actions glycogénolytique⁹ et corticotrophique¹⁰

Abréviation: DCI, dichloroisopropylartérénol.

de fortes doses de vasopressine, mais pose le problème de la spécificité d'action de ces hormones que l'on attribue en général à l'existence de récepteurs spécifiques.

Chez la grenouille, le transport actif de sodium et le flux net d'eau à travers la peau sont stimulés par les hormones neurohypophysaires¹¹, dont l'action sur d'autres structures semble s'exercer par l'intermédiaire du 3',5'-AMP cyclique.

Un effet des catécholamines sur la peau a également été mis en évidence à plusieurs reprises¹²⁻¹⁷.

Les expériences décrites dans ce travail sont destinées à vérifier: dans quelle mesure la réponse de la peau aux catécholamines^{12,13} peut être comparée à celle de l'ocytocine; si dans les deux cas le 3',5'-AMP cyclique est bien un intermédiaire d'action; s'il est possible de distinguer les récepteurs de l'ocytocine de ceux de la noradrénaline.

MÉTHODES

Matériel biologique

Les expériences ont été réalisées sur des grenouilles *Rana esculenta* provenant de Roumanie et conservées à jeun à la température de 2°. Les animaux sont placés 48 h au moins avant leur utilisation à la température de 22° et les expériences sont effectuées à la température du laboratoire.

Techniques de mesure

Le flux net de sodium est mesuré sur la peau isolée par la méthode du courant de court-circuit¹². L'appareil utilisé¹⁸ permet l'enregistrement continu du courant de court-circuit traversant 6 fragments indépendants prélevés dans la région ventrale de la même préparation et disposés symétriquement par rapport à l'axe antéro-postérieur de l'animal. La peau est baignée sur ses deux faces par une solution de Ringer (Na^+ , 112 mM; K^+ , 3.2 mM; Ca^{2+} , 1 mM; Mg^{2+} , 1 mM; Cl^- , 114 mM; SO_4^{2-} , 1 mM; H_2PO_4^- , 1.2 mM; HCO_3^- , 2 mM (pH 7.9)). L'oxygénéation est assurée par barbotage d'air.

Les flux unidirectionnels de sodium et de chlorure sont mesurés à l'aide de ^{24}Na et de ^{36}Cl .

Le flux net d'eau est mesuré en présence d'une différence de pression osmotique de 231 mosM entre les deux faces de la préparation. La face interne est baignée par une solution de Ringer (Na^+ , 114.5 mM; K^+ , 5 mM; Ca^{2+} , 1 mM; Cl^- , 119 mM; HCO_3^- , 2.5 mM (pH 8.1)) et la face externe par une solution de Ringer contenant 5.6 mM de NaCl. La technique utilisée¹⁹ permet l'enregistrement continu du flux net d'eau traversant deux fragments indépendants de la même préparation.

Produits utilisés

Les produits utilisés dans ce travail sont l'ocytocine de synthèse (Syntocinon, Sandoz), la noradrénaline (Rhône Poulenc), le 3',5'-adénosine monophosphate (Schwartz Bioresearch, Inc.), la théophylline (Serlabo), le dichloroisopropylartérol (Expandia). Ils sont ajoutés au milieu d'incubation baignant la face séreuse de la préparation. Les solutions de noradrénaline sont préparées dans l'eau distillée en présence d'acide ascorbique de manière à éviter une oxydation rapide de l'hormone. Les autres solutions sont préparées dans du liquide de Ringer et le pH ajusté si nécessaire au pH du milieu d'incubation par addition de soude.

RÉSULTATS

Comparaison des actions de l'ocytocine et de la noradrénaline sur la peau de grenouille

Perméabilité osmotique à l'eau. La noradrénaline, à des concentrations comprises entre 10^{-8} M et 10^{-6} M, produit une augmentation du flux net d'eau comparable à celle produite par l'ocytocine (voir Fig. 1). Pour l'ensemble des 33 expériences effectuées, le flux net d'eau passe d'une valeur moyenne de $0.3 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ en l'absence de noradrénaline à des valeurs comprises entre 0.5 et $1.5 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$.

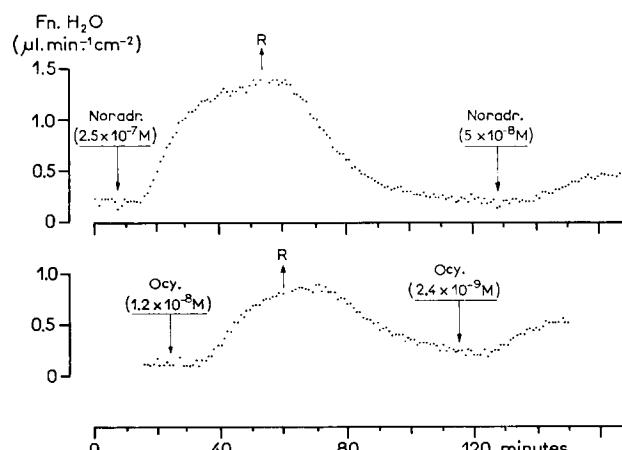


Fig. 1. Actions de la noradrénaline et de l'ocytocine sur le flux net (Fn.) d'eau à travers la peau. La figure reproduit un enregistrement du flux net d'eau (1 point par min) exprimé en μl par min et par cm^2 de surface de peau. Le moment de l'addition des hormones est indiqué par une flèche dirigée vers le bas. La concentration finale dans le Ringer est indiquée entre parenthèses. Le rinçage (R) est indiqué par une flèche dirigée vers le haut.

Perméabilité aux ions sodium et chlorure. Dans le même domaine de concentration, la noradrénaline produit également, comme l'ocytocine, une augmentation du courant de court-circuit réversible après rinçage. L'intensité de l'effet est fonction de la concentration de l'hormone. L'effet maximal, atteint pour une concentration de 10^{-6} M en noradrénaline, est d'intensité comparable à celui de l'ocytocine. La mesure simultanée du courant de court-circuit et des flux unidirectionnels de Na⁺ et Cl⁻ montre que l'augmentation du courant de court-circuit résulte uniquement d'une stimulation du transport actif de Na⁺. En effet, elle est égale à l'augmentation du flux entrant de Na⁺, tandis que les flux sortants de Na⁺ et Cl⁻ ne sont pas significativement affectés (Fig. 2).

A la concentration de $3 \cdot 10^{-5}$ M (une concentration 30 fois supérieure à celle donnant une stimulation maximale du courant de court-circuit), la noradrénaline produit une augmentation des flux unidirectionnels de sodium et de chlorure (voir Tableau I). Le tableau montre que l'augmentation du flux entrant de sodium, comparable à celle produite par les plus faibles doses d'hormone, est associée dans ce cas à une augmentation très importante du flux sortant. Les flux entrant et sortant de chlorure augmentent de manière comparable mais, alors que le flux sortant passe par une valeur maximum au cours de la première période de 30 min suivant l'addition d'hormone, le flux entrant augmente plus progressivement. L'évolution différente

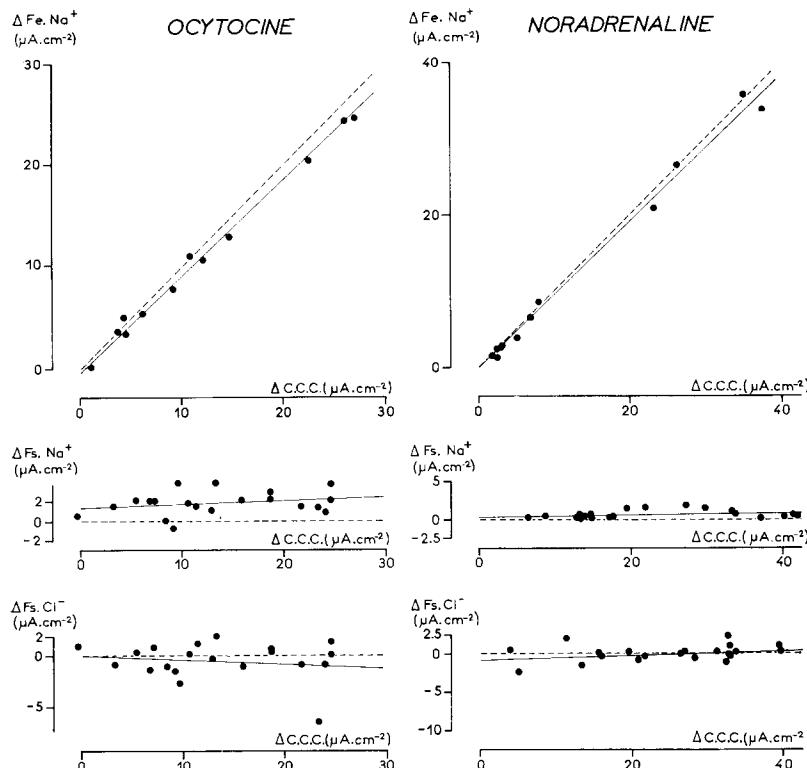


Fig. 2. Comparaison des actions de l'ocytocine et de la noradrénaline sur le courant de court-circuit (C.C.C.) et les flux unidirectionnels de sodium et de chlorure. Les variations du flux entrant (ΔF_e) de sodium ($F_e.Na^+$), du flux sortant (ΔF_s) de sodium ($F_s.Na^+$), et du flux sortant de chlorure ($F_s.Cl^-$) sont portées en fonction de l'augmentation du courant de court-circuit due à l'action de l'ocytocine (partie gauche) ou de la noradrénaline (partie droite). Les variations des flux unidirectionnels ou du courant de court-circuit ont été calculées par la différence entre les valeurs mesurées pendant la période correspondant au maximum de l'augmentation du courant de court-circuit et les valeurs mesurées au cours de la période témoin précédant la stimulation hormonale. Les effets de l'ocytocine et de la noradrénaline sur le flux entrant de sodium ont été mesurés sur les mêmes préparations. Les flux sortants de sodium et de chlorure ont été mesurés simultanément dans le cas de l'ocytocine et séparément dans le cas de la noradrénaline. On observe une corrélation significative entre l'augmentation du flux entrant et l'augmentation du courant de court-circuit ($r = 0.997 P < 0.001$ dans le cas de l'ocytocine, $r = 0.997 P < 0.001$ dans le cas de la noradrénaline). La pente des droites de régression linéaire (en traits pleins): ($a = 0.938, t = 2.403, 0.025 < P < 0.05$ dans le cas de l'ocytocine $a = 0.963, t = 1.609, 0.1 < P < 0.2$ dans le cas de la noradrénaline), ne diffère pas significativement de la première bissectrice (en pointillés). En revanche, il n'existe de corrélation significative ni pour les variations du flux sortant de sodium ($r = 0.239 P > 0.1, r = 0.226 P > 0.1$) ni pour les variations du flux sortant de chlorure ($r = 0.173 P > 0.1, r = 0.324 P > 0.1$). Les pentes des droites de régression linéaire ($a = 0.0355, t = 1.047, 0.2 < P < 0.4$ et $a = -0.0414, t = 0.745, 0.4 < P < 0.5$ dans le cas de l'ocytocine, $a = 0.010, t = 0.976, 0.2 < P < 0.4$ et $a = 0.0368, t = 1.455, 0.1 < P < 0.2$ dans le cas de la noradrénaline) ne diffèrent pas significativement de 0.

des flux unidirectionnels de chlorure permet de rendre compte de l'évolution, variable d'une expérience à l'autre, du courant de court-circuit. D'une manière générale, le courant de court-circuit subit une augmentation rapide et transitoire dont le maximum se situe de 5 à 10 min après l'addition de noradrénaline.

TABLEAU I

ACTIONS DE LA NORADRÉNALINE ($3 \cdot 10^{-5}$ M) SUR LES FLUX UNIDIRECTIONNELS DE SODIUM ET DE CHLORURE

Les valeurs numériques sont des moyennes de 12 déterminations (mesures effectuées sur 6 fragments indépendants de 2 préparations). Les flux de sodium et de chlorure ont été mesurés simultanément. Les flux entrant et sortant ont été mesurés sur des préparations différentes. Les valeurs moyennes du courant de court-circuit (C.C.C.) correspondant à ces deux séries expérimentales sont indiquées dans les Colonnes 5 et 8.

Temps (min)	Traitement	Flux entrant ($\mu A \cdot cm^{-2}$)		C.C.C. ($\mu A \cdot cm^{-2}$)	Flux sortant ($\mu A \cdot cm^{-2}$)		C.C.C. ($\mu A \cdot cm^{-2}$)
		Na^+	Cl^-		Na^+	Cl^-	
0-30	Témoin	34.30	25.36	26.08	5.57	10.84	15.84
30-60	Témoin	31.91	22.84	23.84	6.18	12.25	14.72
60-90	Noradrénaline	48.02	54.25	30.81	30.89	46.62	27.53
90-120	$3 \cdot 10^{-5}$ M	43.40	67.30	24.12	19.97	35.04	20.89
120-150		43.71	66.00	26.11	16.96	28.16	20.50

Actions du 3',5'-AMP cyclique et de la théophylline sur la peau

Le 3',5'-AMP cyclique et la théophylline (inhibiteur de la phosphodiestérase), appliqués à des concentrations élevées (10^{-4} à 10^{-2} M) à la face sèreuse de la peau, reproduisent les effets de l'ocytocine et de la noradrénaline sur le courant de court-circuit (Fig. 3) et le flux net d'eau. L'action propre du 3',5'-AMP cyclique est amplifiée par la théophylline: la présence simultanée de ces deux substances à des doses liminaires ou sous-maximales, entraîne un effet biologique dont l'intensité (a) est toujours supérieure à la somme (b) des effets de ces deux produits appliqués séparément à la même préparation (Fig. 3); le rapport a/b est d'autant plus grand que les effets propres représentent une fraction plus faible de l'effet maximum. La moyenne de

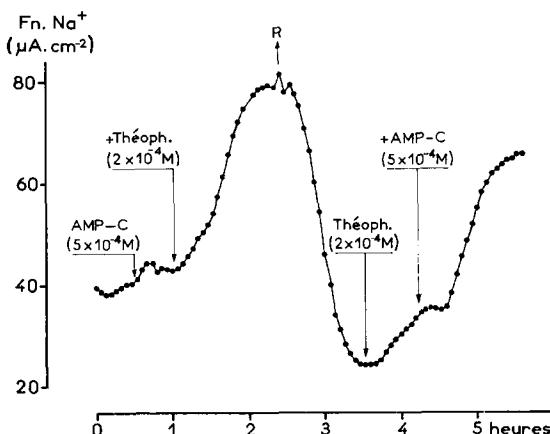


Fig. 3. Potentialisation par la théophylline des effets du 3',5'-AMP cyclique (AMP-C) sur le flux net (Fn.) de sodium à travers la peau. Evolution en fonction du temps du courant de court-circuit (1 point toutes les 4 min). On remarquera que l'effet de la théophylline ajoutée au maximum de l'action produite par le 3',5'-AMP cyclique est plus grand que celui que la théophylline produit seule; de même, l'effet du 3',5'-AMP cyclique ajouté au maximum de l'action produite par la théophylline est plus grand que celui produit par le 3',5'-AMP cyclique seul.

ce rapport est de: 4.2, valeurs extrêmes 1.1 et 14.3 (8 expériences) pour le courant de court-circuit, et de 6.0, valeurs extrêmes 1.8 et 14.8 (6 expériences) pour le flux net d'eau; dans 2 expériences, l'addition simultanée de doses sous-liminaires de théophylline et 3',5'-AMP cyclique a produit un effet significatif.

De la même manière, la théophylline potentialise les actions de doses faibles d'ocytocine et de noradrénaline: pour le courant de court-circuit, $a/b = 1.7$, valeurs extrêmes 1.3 et 2.2, et $a/b = 1.3$, valeurs extrêmes 1.1 et 1.4 (12 expériences); pour le flux net d'eau, $a/b = 1.9$, valeurs extrêmes 1.3 et 2.2, et $a/b = 3.3$, valeurs extrêmes 1.3 et 8.2 (6 expériences).

Dissociation des réponses à l'ocytocine et à la noradrénaline

Comparaison des cinétiques d'action. Dans le domaine de concentration de noradrénaline (10^{-8} M à 10^{-6} M) où cette hormone donne des réponses de nature comparable à celles de l'ocytocine, l'action de la noradrénaline se développe plus rapidement. Le temps de demi-réponse pour le courant de court-circuit (pour 10 expériences où deux doses sous-maximales d'hormone produisent des augmentations comparables), est de 8.8 min pour l'ocytocine et de 5.9 min pour la noradrénaline avec une différence moyenne: $\bar{d} = 2.9 \pm 1.5$ min ($P < 0.001$). De même, les temps de demi-réponse mesurés dans 10 expériences pour le flux net d'eau sont de 22.0 min et de 17.8 min avec une différence moyenne $\bar{d} = 4.60$ min ($P < 0.01$). On peut remarquer que l'augmentation du flux net d'eau se développe plus lentement que celle du courant de court-circuit.

TABLEAU II

EFFET DU DCI SUR L'ACTION DE LA NORADRÉNALINE OU DE L'OCYTOCINE SUR LE TRANSPORT ACTIF DE SODIUM PAR LA PEAU

Le tableau donne successivement: l'effet du dichloroisopropylartérénol (DCI): augmentation du courant de court-circuit ($Af n. Na^+$) au-dessus du niveau de base; les effets de la noradrénaline mesurés avant (DCI:0) et après traitement par le DCI (+DCI); les effets de l'ocytocine mesurés avant et après traitement par le DCI; les valeurs portées au bas des colonnes sont des moyennes accompagnées de leur déviation standard. Les valeurs moyennes des effets de la noradrénaline et de l'ocytocine mesurés en présence de DCI ont été comparées à 0.

DCI (10^{-4} M)	Noradrénaline			Ocytocine		
	$Af n. Na^+$ ($\mu A \cdot cm^{-2}$)	Concen- tration (μM)	$Af n. Na^+$ ($\mu A \cdot cm^{-2}$)	Concen- tration (μM)	$Af n. Na^+$ ($\mu A \cdot cm^{-2}$)	DCI:0
			DCI:0		+DCI 10^{-4} M	
3.24	0.1	20.82	1.00	8.90	13.34	6.73
3.24	0.1	24.81	0.62	8.90	16.45	10.47
7.60	0.1	25.43	-4.49	4.45	10.32	5.61
2.12	0.1	16.20	-1.12	4.45	4.97	2.49
23.43	0.1	23.68	-0.50	8.90	12.71	6.98
14.21	0.1	9.72	-0.50	8.90	9.47	5.48
24.68	0.1	20.69	0	8.90	6.98	2.49
4.49	0.5	20.94	1.99	8.90	9.97	4.99
6.98	0.5	24.18	-3.74	8.90	13.46	8.97
10.0		20.7	-1.2		10.9	6.0
± 8.7		± 5.0	± 1.9		± 3.5	± 2.7
$t = 1.893$ $0.1 > P > 0.05$				$t = 6.807$ $P < 0.001$		

Actions du DCI sur les réponses de la peau à l'ocytocine et à la noradrénaline. A la concentration de 10^{-4} M, le dichloroisopropylartérol: DCI (agent bloquant les récepteurs β des catécholamines²⁰), produit une augmentation du courant de court-circuit (Tableau II, 1^{ère} colonne) dont l'intensité, variable d'une expérience à l'autre est toujours inférieure à l'intensité des réponses maximales produites par l'ocytocine ou la noradrénaline. L'action est irréversible; en effet, elle est maintenue pendant plusieurs heures même après des rinçages répétés de la préparation. Sur le flux net d'eau, le DCI ($2 \cdot 10^{-5}$ M) n'a jamais produit d'effet marqué (Tableau III, 1^{ère} colonne).

TABLEAU III

EFFET DU DCI SUR L'ACTION DE LA NORADRÉNALINE OU DE L'OCYTOCINE SUR LE FLUX NET D'EAU TRAVERSANT LA PEAU

Légende: voir Tableau II. ΔF_n . H₂O représente l'augmentation du flux net d'eau au-dessus du niveau de base.

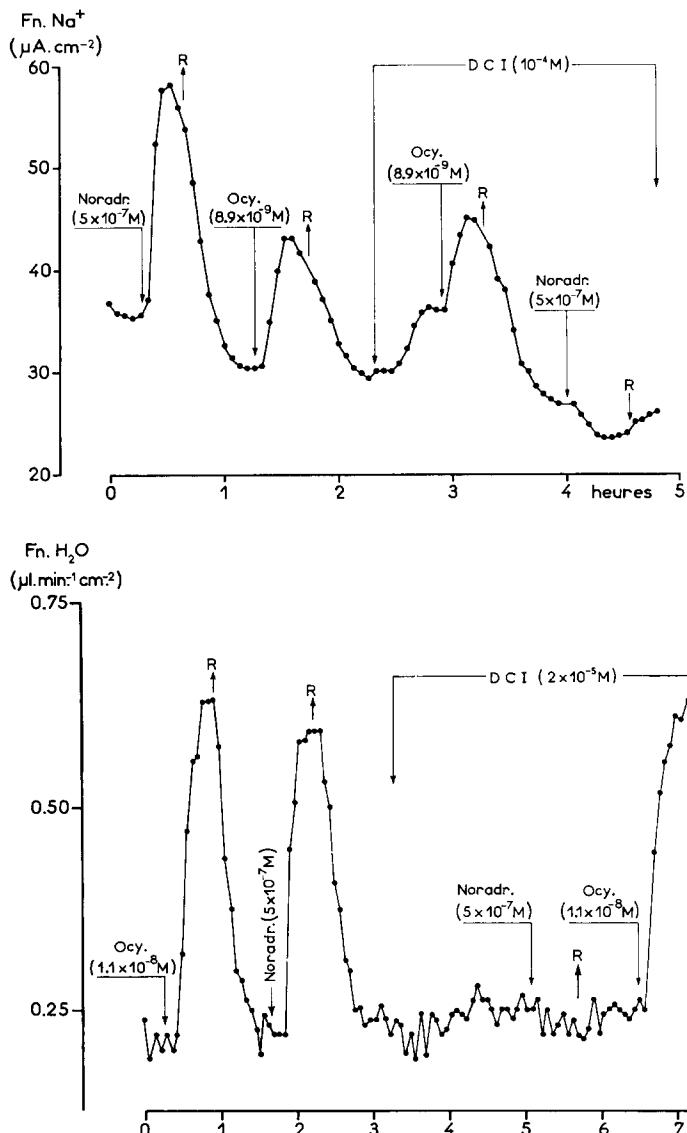
DCI $2 \cdot 10^{-5}$ M	Noradrénaline: $0.5 \mu M$		Ocytocine: $11 \mu M$	
	DCI: o		DCI: o	
	$+DCI 2 \cdot 10^{-5} M$	$+DCI 2 \cdot 10^{-5} M$	$+DCI 2 \cdot 10^{-5} M$	$+DCI 2 \cdot 10^{-5} M$
-0.013	0.500	-0.044	0.275	0.357
-0.032	0.525	0.012	0.300	0.231
-0.019	0.419	0.019	0.312	0.431
-0.026	0.499	0.038	0.293	0.426
0.149	0.394	-0.043	0.356	0.269
0.119	0.412	-0.069	0.319	0.313
0.044	0.425	-0.031	0.431	0.475
0.012	0.425	-0.030	0.356	0.363
0.029	0.450	-0.019	0.330	0.358
± 0.070	± 0.050	± 0.037	± 0.049	± 0.084
$t = 1.451$		$t = 12.013$		
$0.1 < P < 0.2$		$P < 0.01$		

Les Figs. 4. et 5 illustrent les résultats de deux expériences qui montrent que les actions de la noradrénaline sur le courant de court-circuit et le flux net d'eau sont complètement supprimées après traitement de la préparation par le DCI, alors que les effets de l'ocytocine sont intégralement conservés dans le cas de l'action sur le flux net d'eau (Fig. 5) et partiellement maintenus dans le cas de l'action sur le courant de court-circuit (Fig. 4). Les Tableaux II et III résument les résultats d'une série d'expériences identiques.

Déférence de sensibilité à l'ocytocine et à noradrénaline. Sur la peau, une dissociation des actions de la noradrénaline et de l'ocytocine a été observée à plusieurs reprises. Ainsi, sur 2 des 24 préparations étudiées, l'ocytocine a produit une augmentation du flux net d'eau alors que la noradrénaline est restée sans effet. D'autre part, il existe entre les fragments antérieurs et postérieurs de la peau une différence dans l'intensité des réponses à une même dose d'hormone; cette différence est beaucoup plus marquée dans le cas de la noradrénaline que dans celui de l'ocytocine: le rapport de la réponse du fragment postérieur sur celle du fragment antérieur est, pour la

stimulation du courant de court-circuit, 1.54 ± 0.75 dans le cas de l'ocytocine et 2.93 ± 1.09 (10 expériences) dans le cas de la noradrénaline; les valeurs correspondantes pour l'augmentation du flux net d'eau sont 0.68 ± 0.33 et 3.20 ± 1.30 (8 expériences).

Actions de la noradrénaline sur la vessie. Le Tableau IV résume les résultats obtenus. La noradrénaline, même à des concentrations élevées (10^{-6} , 10^{-5} et 10^{-4} M)



Figs. 4 et 5. Effet du DCI sur les réponses à l'ocytocine et à la noradrénaline. Fn., flux net. Fig. 4. Effet sur le flux net de sodium. Fig. 5. Effet sur le flux net d'eau. Comparaison des effets de deux doses non maximales identiques d'ocytocine ou de noradrénaline ajoutées avant et après traitement par le DCI. Le DCI est resté au contact de la préparation pendant toute la deuxième partie de l'expérience. On remarquera l'action propre du DCI sur le flux net de sodium.

TABLEAU IV

ACTIONS DE LA NORADRÉNALINE SUR LA VESSIE

Les valeurs sont des moyennes \pm S.D. $\Delta F_n. H_2O$ et $\Delta F_e. Na^+$ représentent respectivement la différence entre les valeurs du flux net d'eau ($F_n. H_2O$) et du flux entrant de sodium ($F_e. Na^+$) mesurées avant l'addition de noradrénaline (Témoin) et au cours de la période de mesure comprise entre 10 et 20 min après l'adjonction d'hormone. Aucune de ces différences n'est significativement différente de 0 au seuil de probabilité de 0.05.

Noradrénaline ($M \cdot 10^5$)	$F_n. H_2O: \mu l \cdot min^{-1} \cdot cm^{-2}$		$F_e. Na^+: \mu A \cdot cm^{-2}$	
	Témoin	$\Delta F_n. H_2O$	Témoin	$\Delta F_e. Na^+$
0.1 (4)	0.093 \pm 0.041	-0.003 \pm 0.017	6.09 \pm 1.99	0.05 \pm 0.11
1.0 (4)	0.084 \pm 0.022	-0.002 \pm 0.011	6.01 \pm 2.48	-0.37 \pm 0.35
10.0 (4)	0.057 \pm 0.037	0.007 \pm 0.005	6.16 \pm 2.48	-0.11 \pm 0.31

produisant sur la peau des réponses d'intensité maximale, ne modifie significativement ni le flux d'eau mesuré en présence d'une différence de pression osmotique ni le flux entrant de sodium bien que, sur les mêmes préparations, l'ocytocine ait produit une augmentation marquée de ces deux grandeurs.

DISCUSSION

La noradrénaline produit sur la peau de la grenouille des actions de nature différente suivant le domaine de concentrations utilisées. Entre 10^{-8} et $10^{-6} M$, ses effets sont identiques à ceux de l'ocytocine (augmentation de la perméabilité osmotique pour l'eau et stimulation du transport actif de sodium). Des concentrations plus élevées ($3 \cdot 10^{-5} M$) provoquent chez *Rana esculenta*, comme chez *Rana temporaria*^{12,13}, une perméabilisation importante de la peau aux ions Na^+ et Cl^- . Pour KOEFOED-JOHNSEN, USSING ET ZERAHN¹³, le flux net de chlorure dirigé vers l'extérieur qui apparaît dans ces conditions expérimentales est lié vraisemblablement au déclenchement de la sécrétion des glandes à mucus de la peau. L'effet de stimulations nerveuses sur le courant de court-circuit et la différence de potentiel transmembranaire étudiés chez plusieurs espèces d'amphibiens¹⁴⁻¹⁷, a été interprété de la même façon et relié à une action des catécholamines.

Ces deux types d'action peuvent être complètement dissociés puisqu'on peut produire une stimulation maximale du transport actif de sodium sans modification des flux de chlorure, et que des stimulations répétées du courant de court-circuit peuvent être obtenues même si les ions chlorure sont remplacés par des ions sulfate.

Sur la peau, les mêmes arguments expérimentaux que ceux présentés par ORLOFF ET HANDLER pour la vessie de crapaud suggèrent que le 3',5'-AMP cyclique pourrait être le médiateur d'action des hormones neurohypophysaires. En effet: le 3',5'-AMP cyclique reproduit les actions de l'ocytocine; la théophylline potentialise les effets du 3',5'-AMP cyclique et reproduit à elle seule ses actions ce qui suggère une production continue du nucléotide même en l'absence d'hormone; enfin, comme sur la vessie⁷, la théophylline potentialise les actions de l'hormone. La potentialisation des actions de la noradrénaline par la théophylline suggère un mécanisme d'action identique impliquant la stimulation de la production de 3',5'-AMP cyclique.

De nombreuses informations recueillies au cours de ce travail montrent cependant que les récepteurs de l'ocytocine et de la noradrénaline sont différents. (1) Sur la vessie de la grenouille comme sur celle du crapaud²¹, la noradrénaline est complètement dépourvue des actions biologiques de l'ocytocine. (2) Sur la peau, les actions de la noradrénaline et de l'ocytocine peuvent être dissociées comme le montre la sensibilité différente aux deux hormones des divers fragments d'une même préparation ou de préparations différentes. (3) La cinétique de développement de l'action dans le temps est plus rapide pour la noradrénaline que pour l'ocytocine. (4) Le DCI, analogue de structure de la noradrénaline, supprime complètement les effets de cette hormone sur la peau alors qu'il n'inhibe pas les actions de l'ocytocine. Sur cette structure, nous n'avons pas confirmé les résultats de STRAUCH ET LANGDON²² qui décrivent une inhibition significative par le DCI de l'augmentation de la perméabilité à l'eau de la vessie sous l'influence de la vasopressine.

RÉSUMÉ

Les actions de la noradrénaline et de l'ocytocine sur l'intensité du courant de court-circuit, les flux unidirectionnels de sodium et de chlorure et la perméabilité à l'eau de la peau isolée de *Rana esculenta* sont comparées.

La noradrénaline (10^{-8} à 10^{-6} M) produit, comme l'ocytocine, (1) une augmentation de la perméabilité à l'eau, (2) une stimulation du transport actif de sodium résultant d'une augmentation du flux entrant sans modifications du flux sortant et des flux unidirectionnels de chlorure. A une concentration 10 fois supérieure à celle produisant une stimulation maximale du transport actif de sodium, la noradrénaline produit une perméabilisation importante au sodium et au chlorure analogue à celle décrite par plusieurs auteurs.

Le 3',5'-AMP cyclique et la théophylline (10^{-3} à 10^{-2} M) reproduisent les actions de l'ocytocine et de la noradrénaline. La potentialisation des actions de ces deux hormones par la théophylline suggère l'existence d'un mécanisme d'action commun dans lequel le 3',5'-AMP cyclique serait impliqué. L'inhibition des effets de la noradrénaline par le dichloroisopropylartérénol alors que ceux de l'ocytocine ne sont pas modifiés, les différences observées entre les vitesses de développement des actions de ces deux hormones, l'absence d'activité biologique de la noradrénaline sur la vessie, montrent cependant l'existence de récepteurs distincts pour l'ocytocine et la noradrénaline.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Docteur VILLEMET qui a réalisé la synthèse du dichloroisopropylartérénol.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 E. W. SUTHERLAND ET T. W. RALL, *Pharmacol. Rev.*, 12 (1960) 265.
- 2 R. W. BUTCHER, R. J. HO, H. C. MENG ET E. W. SUTHERLAND, *J. Biol. Chem.*, 240 (1965) 4515.
- 3 R. C., Jr. HAYNES ET L. BERTHET, *J. Biol. Chem.*, 225 (1957) 115.
- 4 J. ORLOFF ET J. S. HANDLER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 5 (1961) 63.
- 5 J. ORLOFF ET J. S. HANDLER, *J. Clin. Invest.*, 41 (1962) 702.

- 6 J. S. HANLDER, R. W. BUTCHER, E. W. SUTHERLAND ET J. ORLOFF, *J. Biol. Chem.*, 240 (1965) 4524.
- 7 J. BOURGUET, *Biochim. Biophys. Acta*, 150 (1968) 104.
- 8 J. J. GRANTHAN ET M. B. BURG, *Am. J. Physiol.*, 211 (1966) 255.
- 9 S. S. Jr. BERGEN, R. SULLIVAN, J. G. HILTON, S. W. Jr. WILLIS ET T. B. VAN ITALLIE, *Am. J. Physiol.*, 199 (1960) 136.
- 10 J. G. HILTON, L. F. SCIAN, C. D. WESTERMANN ET O.R. KRUESI, *Science*, 129 (1959) 971.
- 11 F. A. FUHRMAN ET H. H. USSING, *J. Cell. Comp. Physiol.*, 38 (1951) 109.
- 12 H. H. USSING ET K. ZERAHN, *Acta Physiol. Scand.*, 23 (1951) 757.
- 13 V. KOEFOED JOHNSEN, H. H. USSING ET K. ZERAHN, *Acta Physiol. Scand.*, 27 (1952) 38.
- 14 J. MARCELIN-PLAISANCE ET J. CONCHA-BARAHONA, *J. Physiol. (Paris)*, 55 (1963) 425.
- 15 E. SCHOFFENIELS ET M. L. SALEE, *Comp. Biochem. Physiol.*, 14 (1965) 587.
- 16 M. VIDREQUIN-DELIEGE ET M. L. SALEE, *Arch. Intern. Physiol. Biochim.*, 74 (1966) 331.
- 17 C. S. GONZALEZ, J. O. SANCHEZ ET J. B. CONCHA, *Biochim. Biophys. Acta*, 120 (1966) 186.
- 18 F. MOREL, M. ODIER ET C. LUCARAIN, *J. Physiol. (Paris)*, 53 (1961) 737.
- 19 J. BOURGUET ET S. JARD, *Biochim. Biophys. Acta*, 88 (1964) 442.
- 20 C. E. POWELL ET I. H. SLATER, *J. Pharmacol.*, 122 (1958) 480.
- 21 A. LEAF, J. ANDERSON ET L. B. PAGE, *J. Gen. Physiol.*, 41 (1958) 657.
- 22 B. S. STRAUCH ET R. G. LANGDON, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 16 (1964) 27.

Biochim. Biophys. Acta, 150 (1968) 113-123