

Action, in vitro et in vivo, de l'angiotensine II sur le captage cardiaque de la Noradrénaline

De nombreuses expériences ont démontré les interrelations entre l'angiotensine II et le système sympathique. L'angiotensine II active en effet le système noradrénergique en stimulant les centres vasomoteurs¹⁻⁹, les ganglions¹⁰⁻¹⁴ et la médullo-surrénale¹⁵⁻²⁰. En outre, elle libère la noradrénaline au niveau de certaines artères²¹⁻²³, et facilite la libération de la noradrénaline provoquée par la stimulation des nerfs sympathiques²⁴⁻²⁷ ou, par l'administration d'amines sympathomimétiques indirectes²⁸⁻³⁰. Elle active, enfin, la synthèse de la noradrénaline cardiaque².

Certains auteurs ont signalé l'inhibition du recaptage axonal de la noradrénaline par l'angiotensine II, au niveau de l'aorte, de la rate, du tronc cérébral³¹, du cœur^{32, 33} et des vaisseaux mésentériques³⁴. Toutefois, il est difficile d'expliquer l'absence de potentialisation de la réponse pressive de la noradrénaline exogène par l'angiotensine^{29, 30, 35, 36}, et, l'absence d'action de l'angiotensine, sur l'accumulation cardiaque et splénique de la noradrénaline tritiée chez le rat amyel²⁹, effets classiques des inhibiteurs du recaptage.

Il nous a paru intéressant de reprendre l'expérimentation des effets de l'angiotensine II sur le recaptage tissulaire de la noradrénaline tritiée, en recherchant, en outre, les modifications des métabolites de l'amine, et, en comparant les effets à ceux de la désipramine, inhibiteur classique du recaptage axonal de la noradrénaline, in vivo, sur le rat, entier ou binéphrectomisé, et, in vitro, sur des coupes de cœur de rat.

Matériel et méthodes. Des rats mâles, Wistar, pesant 200 ± 30 g, sont anesthésiés par le pentobarbital (50 mg/kg; i.p.). On perfuse dans la veine jugulaire gauche la Val-5-angiotensinamide II (Hypertensine®) pendant 60 min (50 ng/kg/min chez le rat entier, et 10, 50, 150 ng/kg/min chez le rat binéphrectomisé, depuis 24 h). On perfuse un volume équivalent de soluté isotonique de chlorure de sodium (9‰), chez les animaux témoins. Après 55 min de perfusion, on injecte 25 μ Ci de noradrénaline tritiée (New England Corp., activité spécifique 10 Ci/mM) dans la veine jugulaire droite. Un groupe de rats est traité par 20 mg/kg, i.p., de désipramine, 15 min avant l'administration de noradrénaline, afin d'inhiber le recaptage. Les animaux sont sacrifiés par dislocation cervicale, 5 min après l'administration de noradrénaline tritiée. Les cœurs sont prélevés rapidement, refroidis sur la glace, pesés, homogénéisés (Ultra-Turrax; Jankel et Kunkel KG) et chromatographiés en 3 fractions: a) noradrénaline, b) normétadrénaline, c) dérivés désaminés et désaminés méthoxylés de la noradrénaline, selon la méthode décrite par THIERRY et al.³⁷. La radioactivité est mesurée à l'aide d'un spectromètre à scintillation liquide, Packard-Tricarb, 3380, avec un rendement de comptage de 25 à 28%.

La comparaison des radioactivités, totale, de la noradrénaline tritiée et des 3 fractions est effectuée entre les animaux témoins et a) les rats traités par la désipramine (test de Student, et, test de Darmon lorsque les variances des 2 distributions sont significativement différentes par le test de Snedecor), b) le groupe des animaux, binéphrectomisés non traités par l'angiotensine, et, entiers et binéphrectomisés, ayant reçu le peptide (analyse de variance).

In vitro, les coupes de cœur sont préalablement lavées par une solution de Krebs modifiée (milieu III - Cell and Tissue Culture⁴⁷). Elles sont ensuite incubées et agitées à 37°C, pendant 15 min dans la solution de Krebs, contenant sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique et acide ascorbique, sous barbotage de carbogène (CO₂: 5%; O₂: 95%), avec 0,01 μ Ci/ml de noradrénaline tritiée et la désipramine (10^{-6} M) ou l'angiotensine (10^{-9} M);

10^{-5} M). Les incubations effectuées en l'absence de ces drogues constituent les témoins. Après incubation, le tissu cardiaque subit le même traitement que précédemment in vivo. La noradrénaline endogène est dosée selon la méthode d'ANTON et SAYRE³⁹.

Les concentrations de noradrénaline endogène et exogène, la radioactivité spécifique de la noradrénaline, les proportions de noradrénaline et de métabolites sont comparées entre, témoins effectués pour chaque traitement et, essais d'angiotensine et de désipramine (tests de Student et de Darmon).

¹ R. K. BICKERTON et J. P. BUCKLEY, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 106, 834 (1961).

² J. F. BUCKLEY, R. K. BICKERTON, R. P. HALLIDAY et N. KATO, Ann. N.Y. Acad. Sci. 104, 299 (1963).

³ C. J. DICKINSON et J. R. LAURENCE, Lancet 7, 1354 (1963).

⁴ B. S. NASHOLD, E. MANNARINO et M. WUNDERLICH, Nature 193, 1297 (1962).

⁵ H. SCHMITT et H. SCHMITT, Rev. Can. Biol. 27, 255 (1968).

⁶ G. C. SCROOP et R. D. LOWE, Nature 220, 1331 (1968).

⁷ H. H. SMOOKLER, W. B. SEYER, W. J. KINNARD et J. BUCKLEY, J. Pharmac. exp. Ther. 153, 485 (1966).

⁸ H. UEDA, Y. UCHIDA, T. GONDEIRA et S. KATAGANA, Jap. Heart J. 10, 243 (1969).

⁹ R. YU et C. J. DICKINSON, Lancet 2, 1276 (1965).

¹⁰ J. W. AIKEN et E. REIT, J. Pharmac. exp. Ther. 159, 107 (1968).

¹¹ W. C. FARR et G. GRUPP, Fedn Proc. 20, 465 (1967).

¹² G. R. LEWIS et E. REIT, J. Physiol., Lond. 179, 538 (1965).

¹³ J. C. PANISSET, P. BIRON et A. BEAULNES, Experientia 22, 394 (1966).

¹⁴ U. TRENDELENBURG, J. Pharmac. exp. Ther. 154, 418 (1966).

¹⁵ G. CESSON et A. CESSON-FOSSION, C. r. Soc. Biol. 157, 1830 (1963).

¹⁶ W. FELDBERG et G. P. LEWIS, J. Physiol., Lond. 177, 98 (1964).

¹⁷ E. HAAS et H. GOLDBLATT, Am. J. Physiol. 196, 763 (1959).

¹⁸ Y. KANEKO, J. W. MCCUBBIN et I. H. PAGE, Circulation Res. 9, 1247 (1961).

¹⁹ M. J. PEACH, M. S. CLINE et D. T. WATTS, Circulation Res. 19, 571 (1966).

²⁰ R. L. ROBINSON, Fedn Proc. 24, 241 (1965).

²¹ A. DISTLER, H. LIEBAU et H. P. WOLFF, Nature 207, 764 (1965).

²² B. K. KIRAN et P. A. KHAIRALLAH, Europ. J. Pharmac. 6, 102 (1969).

²³ H. J. SCHUMANN et W. GÜTHER, Arch. exp. Path. Pharmac. 256, 169 (1967).

²⁴ D. PALAIC et P. A. KHAIRALLAH, J. Neurochem. 15, 1195 (1968).

²⁵ K. S. STARKE, U. WERNER et H. J. SCHUMANN, Arch. Pharmac. 265, 170 (1969).

²⁶ B. G. ZIMMERMANN et J. GISSLEN, J. Pharmac. exp. Ther. 16, 320 (1968).

²⁷ B. G. ZIMMERMANN et L. WHITMORE, Int. J. Neuropharmac. 6, 27 (1967).

²⁸ J. W. MCCUBBIN et I. H. PAGE, Circulation Res. 12, 553 (1963).

²⁹ D. T. PALS, R. W. FULTON et F. D. MASUCCI, J. Pharmac. exp. Ther. 162, 85 (1968).

³⁰ H. SCHMITT et H. SCHMITT, C. r. Soc. Biol. 161, 753 (1967).

³¹ D. PALAIC et P. A. KHAIRALLAH, J. Pharm. Pharmac. 19, 396 (1967).

³² D. J. MILETICH, W. D. HORST, G. E. EISNER, J. V. PRINCIPOTTO et L. M. SLOTKOFF, Fedn Proc. 27, 326 (1968).

³³ M. J. PEACH, F. M. BUMPUS et P. A. KHAIRALLAH, J. Pharmac. exp. Ther. 167, 191 (1969).

³⁴ J. C. PANISSET et P. BOURDOIS, Can. J. Physiol. Pharmac. 46, 125 (1968).

³⁵ G. BENELLI, D. DELLA BELLA et A. GANDINI, Br. J. Pharmac. 22, 211 (1964).

³⁶ M. P. DAY et D. A. A. OWEN, Arch. int. Pharmacodyn 179, 460 (1969).

³⁷ A. M. THIERRY, F. JAVOY, J. GLOWINSKI et S. S. SEYMOUR, J. Pharmac. exp. Ther. 163, 163 (1968).

³⁸ D. M. PATTON et C. N. GILLIS, Nature 208, 391 (1965).

³⁹ A. H. ANTON et D. F. SAYRE, J. Pharmac. exp. Ther. 138, 360 (1962).

Résultats. Le Tableau I montre que les concentrations de noradrénaline tritiée et de ses métabolites ne sont pas significativement différentes chez les animaux entiers et chez les animaux binéphrectomisés. De même, la perfusion d'angiotensine, à doses subpressive et/ou pressives, ne modifie pas ces concentrations chez les rats entiers ou binéphrectomisés.

In vitro (Tableau II), l'angiotensine ne modifie pas non plus l'accumulation de la noradrénaline tritiée, et, les concentrations de métabolites.

Par contre, la désipramine réduit significativement, in vivo et in vitro, l'incorporation cardiaque de la noradrénaline tritiée, accroît les concentrations de normétadrénaline, et des métabolites, désaminés et désaminés méthoxylés.

Discussion. Ce travail montre que contrairement à la désipramine, l'angiotensine II n'inhibe pas, chez le rat, l'accumulation cardiaque de la noradrénaline tritiée, et, n'influence pas son métabolisme, aussi bien in vivo qu'in vitro.

Ces résultats sont en accord avec ceux de PALS et al.²⁹, qui ne constatent pas, sur le rat amyélé de modifications significatives des captages, cardiaque et splénique, de la noradrénaline. Chez nos animaux, à moelle épinière intacte, il en est de même, montrant que la persistance des effets réflexes et centraux n'a pas d'influence.

Nos résultats, in vitro, sont en désaccord apparent, avec ceux obtenus, sur des fragments d'aorte, de rate et de

tronc cérébral par PALAIC et al.³¹, sur le cœur par PEACH et al.³³, MILETICH et al.³² et, sur les vaisseaux mésentériques par PANISSET et al.³⁴. Toutefois, les réductions d'accumulation tissulaire observées par ces auteurs peuvent résulter de la libération de noradrénaline ou de modifications hémodynamiques provoquées par l'angiotensine car, a) l'angiotensine à fortes doses est susceptible de libérer la noradrénaline de certains organes, en particulier de l'aorte²¹⁻²³, b) la perfusion d'angiotensine dans les coronaires^{32,33} et les vaisseaux mésentériques³⁴ provoque une vasoconstriction et, à débit de perfusion constant, accroît la vitesse linéaire d'écoulement, pouvant ainsi réduire l'accumulation de noradrénaline^{33,40}, c) sur le cœur isolé, l'angiotensine est douée d'effets chronotrope^{33,41} et inotrope^{25,32} positifs. L'inotropisme indépendant du tonus sympathique^{42,43}, ne s'accompagne pas de libération de la noradrénaline²⁵. L'action inotrope positive peut cependant réduire, à elle seule, l'accumulation de noradrénaline⁴⁴. C'est pour échapper à ces critiques, que

⁴⁰ G. HERRING et T. SCHIEFHALER, Arch. exp. Path. Pharmac. 246, 13 (1963).

⁴¹ A. BEAULNES, Biochem. Pharmac. 12, suppl. 181 (1963).

⁴² T. J. BAUM, J. Pharmac. exp. Ther. 141, 30 (1963).

⁴³ N. O. FOWLER et J. C. HOLMES, Circulation Res. 14, 191 (1964).

⁴⁴ J. LELORIER et F. E. SHIDEMAN, Fedn Proc. 27, 468 (1968).

Tableau I. Influence de l'angiotensine II, in vivo, sur le captage cardiaque de la noradrénaline chez le rat entier et binéphrectomisé

Traitement	Pourcentage d'incorporation de la radioactivité totale	NAH ₃ en cpm/g 10 ³	Séparation de la noradrénaline et de ses métabolites en %		Dérivés désaminés et désaminés méthoxylés	η
			NA	NM		
Témoins	2,54 ± 0,20	365 ± 33	77,5 ± 1,2	12,8 ± 1	9,7 ± 0,5	5
DMI 20 mg/kg i.p.	0,88 ± 0,14 ^b	152 ± 21 ^b	7,9 ± 0,5 ^a	42 ± 3,6 ^a	50,1 ± 3,6 ^a	7
A II 50 ng/kg/min i.v.	2,56 ± 0,20	365 ± 32	77 ± 0,5	11,7 ± 0,5	11,9 ± 0,5	6
Binephrectomie						
a) Sans A II	2,25 ± 0,13	400 ± 35	77,4 ± 2,1	12,8 ± 1,4	9,8 ± 0,5	7
b) A II 10 ng/kg/min i.v.	2,44 ± 0,15	377 ± 26	82,7 ± 0,9	8,6 ± 1,2	9,7 ± 0,7	10
c) A II 50 ng/kg/min i.v.	2,46 ± 0,05	381 ± 17	75,4 ± 1,1	13,9 ± 0,9	10,7 ± 0,7	6
d) A II 150 ng/kg/min i.v.	2,55 ± 0,24	373 ± 42	79,4 ± 1,8	10 ± 0,8	10,6 ± 1,1	6

DMI, désipramine; NA, noradrénaline; A II, angiotensine II; NM, normétadrénaline. NAH₃, noradrénaline tritiée. ^a *p* < 0,10, seuil unique du test de Darmon. ^b *p* < 0,001.

Tableau II. Influence de l'angiotensine II, in vitro, sur le captage cardiaque de la noradrénaline

Traitement	Noradrénaline endogène ng/g	NA H ₃ en cpm/g 10 ³	RAS cpm/ng	Séparation de la noradrénaline et de ses métabolites en %		Dérivés désaminés et désaminés méthoxylés	η
				NA	NM		
Témoins	748 ± 71	37,2 ± 7,1	487 ± 75	79,4 ± 3,1	9,1 ± 0,9	13,6 ± 1,8	5
DMI 10 ⁻⁶ M	753 ± 50	11,2 ± 1,2 ^a	149 ± 8 ^a	47,6 ± 2,4 ^b	22,6 ± 0,5 ^b	29,8 ± 1,8 ^b	5
Témoins	916 ± 50	39,3 ± 3	432 ± 38	83,4 ± 0,8	8,5 ± 0,4	8,1 ± 0,6	5
A II 10 ⁻⁹ M	859 ± 36	37 ± 2,7	465 ± 38	80,2 ± 1	10,4 ± 0,5	9,4 ± 0,8	5
Témoins	512 ± 12	36,5 ± 3,3	710 ± 51	77,2 ± 1,5	6,9 ± 0,5	16 ± 1	6
A II 10 ⁻⁵ M	543 ± 41	39,3 ± 3,1	728 ± 42	80,8 ± 1,3	7,4 ± 0,3	12,3 ± 1,3	6

DMI, désipramine; NA H₃, noradrénaline tritiée; A II, angiotensine II; NA, noradrénaline; NM, normétadrénaline; RAS, radioactivité spécifique. ^a *p* < 0,10 seuil unique de Darmon. ^b *p* < 0,001.

l'expérimentation *in vitro* a été effectuée sur des coupes de cœur. Sur celles-ci, l'angiotensine ne provoque pas la libération de la noradrénaline²⁵ et les variations hémodynamiques sont évitées. Il est cependant possible de différencier les réductions d'accumulation tissulaire de noradrénaline provoquées par les variations hémodynamiques de celles qui sont secondaires à une inhibition du captage axonal membranaire. L'inhibition du captage accroît la quantité de médiateur sur les récepteurs adrénergiques; il en résulte une augmentation tissulaire des métabolites de la noradrénaline et, en particulier, des dérivés méthoxylés (IVERSEN et al.⁴⁶), simultanée à la réduction de l'incorporation de noradrénaline, comme nous l'avons constaté avec la désipramine. Aucun des auteurs précédents n'a dosé les dérivés de la noradrénaline^{46, 47}.

En outre, nos expériences montrent l'absence d'inhibition par l'angiotensine des mono-amino-oxydases.

Ainsi, nos résultats montrent que l'angiotensine ne perturbe pas l'accumulation de noradrénaline au niveau du cœur, ce qui est en accord avec les résultats pharmacologiques ne montrant pas d'augmentation des effets presseurs de la noradrénaline exogène par le peptide.

Summary. The action of angiotensin II on cardiac uptake of norepinephrine was investigated in the rat *in vivo* and *in vitro*. In contrast to desipramine, neither infusion of subpressive (10 ng/kg/min) or pressive (50–150 ng/kg/min) amounts of angiotensin on intact and/or binephrectomized rats, nor incubation of cardiac slices with angiotensin II (10^{-5} ; 10^{-9} M) impair the accumulation of tritiated norepinephrine and the level of metabolites. It is thus concluded that there is no inhibiting action of angiotensin II on the cardiac uptake of norepinephrine.

C. CHEVILLARD et J. ALEXANDRE

*Centre de Recherches sur l'Hypertension Artérielle,
Hôpital Broussais, 96, rue Didot, Paris XIV (France),
19 mai 1970.*

⁴⁵ L. I. IVERSEN, J. GLOWINSKI et J. AXELROD, *J. Pharmac. exp. Ther.* 166, 273 (1966).

⁴⁶ M. C. BOADLE, J. HUGHES et R. H. ROTH, *Nature* 222, 987 (1969).

⁴⁷ J. PAUL, *Cell and Tissue Culture* (E. and S. Livingstone Ltd., Edinburgh – London 1965), p. 84.

The Effect of Oestradiol-17 β on Uterine Adenosine Triphosphatase in the Rat

SKOU¹ has suggested that Mg²⁺, Na⁺, K⁺ stimulated adenosine triphosphatase (ATPase; E.C. 3.6.1.4 ATP phosphohydrolase) could be an essential mechanism by which cells maintain a low concentration of sodium. HALL² has demonstrated a decrease in uterine ATPase in mice during ovum implantation, and it has been suggested that alterations in activity of this enzyme could be related to the influx of water and sodium into the oestrous uterus³. The following is an extension of this work by examining the histochemical localization of ATPase in the uteri of oestrogen treated ovariectomized rats, and by measuring the levels of this enzyme in the microsomal and mitochondrial fractions of uterine homogenates.

Methods. White Wistar female adult rats weighing 220 ± 20 g were used. Ovariectomy was performed, and after 7 days oestradiol-17 β (5 μ g in 0.1 ml arachis oil/rat) or 0.1 ml oil was administered by s.c. injection to test and control animals respectively. After 23–24 h the rats were killed by cervical dislocation.

The uteri were then examined for ATPase activity using histochemical and quantitative chemical methods. For the histochemical study sections of uterus 10 μ m thick were cut at -20°C and then stained for ATPase^{4, 5}.

¹ J. C. SKOU, *Physiol. Rev.* 45, 596 (1965).

² K. HALL, *J. Endocr.* 41, 53 (1968a).

³ P. K. KARMAKAR, *Experientia* 25, 319 (1969).

⁴ D. NAIDOO and O. E. PRATT, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 15, 164 (1952).

⁵ O. E. PRATT, *Biochem. biophys. Acta* 14, 380 (1954).

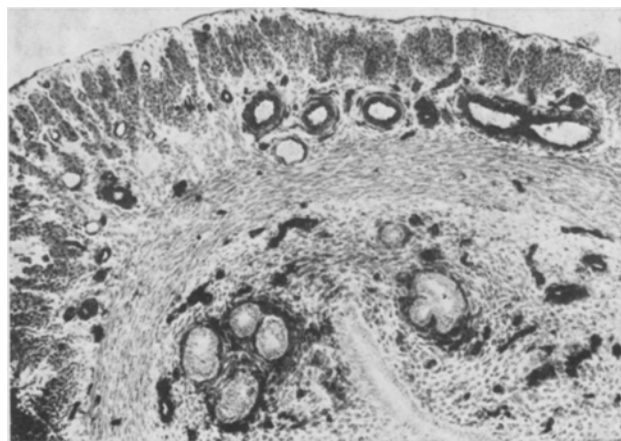


Fig. 1. Section of uterus of ovariectomized adult rat stained for ATPase activity. Black colouration indicates the presence of the enzyme. ATPase present in greater amounts in outer muscle layers, blood vessels and stromal connective tissue cells. $\times 86$.

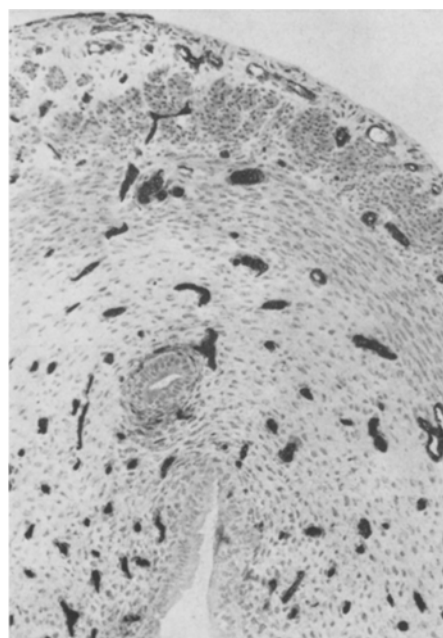


Fig. 2. Section of uterus from a rat treated with 5 μ g of oestradiol-17 β 24 h previously. Compared with Figures 1 and 3 there is much loss of ATPase in the outer muscle layers and persistence of activity in blood vessels. $\times 84$.