

*Chaire de Pharmacologie et de Toxicologie de la Faculté de Médecine
Vétérinaire de l'Université d'Ankara
Prof. Dr. M. Şahin Akman*

**L'ACTION DE L'OUABAINÉ SUR LA
SENSIBILITÉ À L'ION POTASSIUM DE LA
FIBRE MUSCULAIRE LISSE OU STRIÉE**

Kemal Ozan*

Des recherches précédentes nous ont permis de constater que l'effet contracturant du chlorure de potassium sur les fibres striées et les fibres lisses s'accroît notablement lorsque l'on met l'organe isolé pendant quelques minutes au contact de faibles quantités d'inhibiteurs enzymatiques comme le cyanure de potassium, le dinitrophénol ou le fluorure de sodium (4,6,7,8,9,10).

Ces résultats imputés à l'effet des inhibiteurs enzymatiques sur les transports actifs des cations K^+ et Na^+ , nous ont amené à étudier l'effet d'une autre substance réputée pour ses effets ioniques comme l'ouabaine, sur l'effet contracturant exercé sur les fibres musculaires lisses ou striées par le chlorure de potassium.

Dans le présent travail, nous relatons donc, les résultats que nous avons obtenus avec l'ouabaine sur les muscles striés et lisses. D'autre part, à titre de comparaison sont portées, dans ce travail, les courbes obtenues avec le cyanure de potassium.

Matériel et Méthode

Les préparations utilisées pour l'étude de l'ouabaine "in-vitro" sur les muscles lisses et striés sont les suivants:

Muscles rectus abdominis de Grenouille: On prélève sur une grenouille décérébrée, avec les précautions habituelles, le faisceau

* Professeur agrégé, Faculté de Médecine Vétérinaire, Chaire de Pharmacologie et de Toxicologie. Ankara-Turquie.

latéral du muscle droit abdominal et on l'introduit immédiatement dans un bain de liquide de Ringer*. Le muscle mis en relation avec un myographe isotonique et plongé dans une cuve de 20 ml de capacité remplie de liquide de Ringer à la température du laboratoire et soumis à un barbotage d'air. Une tension de 2 g environ est appliquée au muscle et l'amplification est de 1:15. Après une période de 30 minutes, le chlorure de potassium est ajouté au bain selon des cycles de 6 minutes. L'inscription de la contraction est faite pendant 1 minute, suivie de 3 lavages successifs. Lors de l'essai l'ouabaine est ajoutée 5 minutes avant l'addition du chlorure de potassium.

Iléon isolé de Cobaye: Un fragement d'iléon, long de 20 mm. environ est prélevé sur un cobaye de 300-400 g. Ce fragement d'intestin est aussitôt mis dans la solution de tyrode**.

D'autre part, cette solution est additionnée d'une dose de 0,5 mg. par litre de sulfate d'atropine pour neutraliser les effets de l'acétylcholine endogène, éventuellement libéré au cours du contact de l'organe avec différents agents pharmacologiques. Le liquide du bain est soumis à un barbotage d'air. La température est maintenue constante à 37°C, la tension appliquée sur l'organe est de 1 à 2 g et le levier amplifie de 15 fois.

Résultats

Effet de l'ouabaine sur le rectus abdominis de Grenouille:

Nous avons constaté que ce glucoside cardiotonique, reconnu comme inhibiteur de transports actifs des cations K^+ et Na^+ , sensibilise le rectus abdominis de Grenouille à l'action contracturante du chlorure de potassium (fig.: 1). L'effet sensibilisant de l'ouabaine apparaît nettement pour des doses comprises entre 2×10^{-8} et $1,25 \times 10^{-5}$ M comme on le voit sur le tableau: 1.

Des expériences répétées nous ont montré que l'intensité de cet effet sensibilisant de l'ouabaine est liée au temps de contact de ce glucoside avec la préparation (figure: 2 et tableau: II).

D'autre part, nous avons pu vérifier que cet effet sensibilisant de l'ouabaine se produit avec le plus d'intensité pour des concentrations en chlorure de potassium comprises entre 2 et 4×10^{-3} M comme on voit sur la figure: 3. A titre de comparasion est portée sur la même

* Le Ringer utilisé contient: NaCl 6,5 g; KCl 0,1 g; CaCl₂ anhydre 0,25 g; NaHCO₃ 0,2 g; H₂O bidist. q.s.p 1 litre.

** La Composition du Tyrode est la suivante: NaCl 8 g; KCl 0,2 g; CaCl₂ anhydre 0,1 g; MgCl 0,1 g; glucose 1 g; NaHCO₃ 1 g; H₂O bidist. q.s.p 1 litre.

TABLEAU: I

Effet de l'ouabaine sur les contractions provoquées par le chlorure de potassium sur le rectus abdominis de Grenouille*

Concentrations de l'ouabaine (molar)	Chlorure de potassium (mM/ml)	Amplifications de contractions (mm/mn \pm Smx)
0	20.1	11 \pm 1.0
2.0×10^{-9}	20.1	24 \pm 2.3
1.0×10^{-7}	20.1	30 \pm 1.7
5.0×10^{-7}	20.1	36 \pm 1.7
2.5×10^{-6}	20.1	41 \pm 1.0
1.25×10^{-5}	20.1	45 \pm 2.3
0	20.1	12 \pm 1.0

Smx : écart type de la moyenne

TABLEAU: II

Effet de l'ouabaine en fonction du temps, sur la sensibilité du rectus abdominis de grenouille à l'effet contracturant d'une dose fixe de chlorure de potassium.

Concentration de l'ouabaine (molar)	Temps contacts (minutes)	L'augmentation de contractions
2.5×10^{-6}	3	$\times 2.0$
"	5	$\times 2.7$
"	10	$\times 3.1$
"	20	$\times 4.0$
"	40	$\times 5.0$

La moyenne des résultats est tirée de 3 expériences pour chaque temps de contact soit au total 15 expériences.

figure la courbe obtenu avec le cyanure de potassium. Ainsi on s'aperçoit que le raccourcissement du muscle en fonction de la concentration en ions K^+ , comme dans le cas du cyanure de potassium, la courbe se déplace vers l'axe des ordonnées tout en restant presque parallèle à la courbe qui traduit les réponses normales du muscle.

Effet de l'ouabainé sur l'ileon isolé de Cobaye: L'ouabaine modifie la réponse contractile de cet organe dans les deux sens opposés: dans une première phase, lorsqu'on ajoute l'ouabaine dans le bain de l'ordre de 6×10^{-9} M nous assistons d'abord à une augmentation

* La moyenne des résultats est tirée de 5 expériences pour chaque concentration de l'ouabaine soit au total 35 expériences.

des contractions initiales. Cet effet renforçateur de l'ouabaine persiste, après plusieurs lavage de l'organe, jusqu'à troisième contraction; puis l'amplitude de la réponse commence à diminuer (figure: 4). Nous avons fait agir, sur ces contractions diminuées la même dose d'ouabaine, les résultats furent semblables.

Nous avons étudié la premier phase, c'est-à-dire l'augmentation de l'amplitude des contractions en présence de l'ouabaine, en fonction des ions K^+ . Ainsi, nous voyons sur la figure: 5, l'effet sensibilisant de l'ouabaine.

D'autre part l'effet renforçateur de l'ouabaine est lié au temps de contact avec la préparation (tableau: III et figure: 6).

TABLEAU: III

Effet de l'ouabaine, en fonction du temps sur la sensibilité de l'iléon isolé de Cobaye à l'effet contracturant d'une dose fixe de chlorure de potassium (10,6 mM).

Concentration de l'ouabaine (molar)	Temps contacts (minutes)	L'augmentation des contractions
6×10^{-9}	1/2	$\times 1.3$
"	1	$\times 2.5$
"	2	$\times 1.5$
"	3	$\times 1.3$
"	5	$\times 1.2$
"	10	$\times 1.0$

La moyenne des résultats est tirée de 3 expériences pour chaque temps de contact, soit au total 15 expériences.

Discussion

Les résultats obtenus tels qu'ils sont rapportés ci-dessus, nous montrent que l'ouabaine sensibilise les fibres musculaires lisses et striées à l'effet contracturant des ions K^+ . Les résultats sont presque analogues à ceux qui ont été obtenus en utilisant des inhibiteurs enzymatiques dans nos recherches antérieurs (8,9). La seule différence est que l'ouabaine exerce une action diphasique sur la réponse contractile de l'iléon de cobaye au chlorure de potassium. Cette action diphasique a déjà été observé par Godfraind et ses collobarateurs sur le muscle lisse à l'égard de l'histamine et de l'acétylcholin (2, 3).

Il nous semble que l'explication de nos résultats se trouve dans le rôle des mouvements ioniques au travers de la membrane cellulaire.

Dans la cellule ouabainée le transport actif des ions Na^+ et K^+ est partiellement ou complètement inhibé selon la dose de la substance utilisée. Mais dans la même cellule le transport passif des ions reste possible (1, 5). On peut facilement imaginer que si cette cellule est une fibre musculaire, elle accumulera du sodium et à la fois libérera du potassium à la suite des mouvements passifs de ces ions. Mais cette cellule ne sera plus capable d'excréter le sodium capté et de réabsorber le potassium perdu, puisque son système de transport actif est bloqué. Ainsi le gradient de concentration de la membrane de cette cellule qui est nécessaire pour une excitabilité normale sera déjà modifié. Dans ces conditions, si on fait agir un sel de potassium sur cette cellule intoxiquée, les ions K^+ du milieu extra cellulaire ne pourront pas traverser la membrane pour s'inactiver par désionisation. Ils maintiendront donc un état d'excitation à la surface de la cellule. La réponse des fibres musculaires sera donc exaltée à l'action contracturante des ions K^+ en présence de l'ouabaine.

Résumé

1. Les résultats obtenus nous ont montré que l'effet contracturant du chlorure de potassium sur le rectus abdominis isolé de grenouille s'accroît notablement lorsque $2,5 \times 10^{-6}$ M d'ouabaine est laissé en contact avec l'organe.

2. Des résultats analogues ont été obtenus à la suite d'expérience pratiquées sur le muscle lisse en utilisant l'iléon isolé de cobaye.

3. L'intensité de cet effet sensibilisant varie en fonction de la dose de chlorure de potassium et de l'ouabaine. Elle dépend aussi du temps pendant lequel l'organe est maintenu au contact de l'ouabaine avant addition de l'agent contracturant.

4. Pour expliquer les phénomènes observés nous avons envisagé et discuté le rôle possible du transport actif des ions Na^+ et K^+ .

Özet

Ouabaine'in, Çizgili ve Düz Kasların, Potasyum İyonlarına Karşı Duyarlı Kılınması Üzerindeki Etkisi.

Daha evvelce yaptığımız yayınlarda (4,6,7,8,9,10), anzim inhibitörlerinin etkisi altında, potasyum klorür'ün, çizgili veya düz kaslar üzerindeki kasıltıcı etkisinin çok net bir şekilde arttığını göstermiştik. Anzim inhibitörlerinin K ve Na katyonlarının aktif transport'u üze-

rindeki tesirlerine atfettiğimiz bu biyolojik fenomenin, aynı şekilde, özellikle aktif iyon taşınmasının spesifik bir inhibitörü olan, uabain'le de gözlenip gözlenemeyeceğini araştırdık. Bu maksatla, izole kurbağa çizgili kasları üzerinde yaptığımız 77 ve izole kobay düz kasları üzerinde de 39 deneyden elde ettiğimiz neticeleri kısaca özetlersek:

1. Potasyum klorür'ün, izole kurbağa rectus abdominis'i üzerinde sebep olduğu kasıltıcı etkisi, ml'de $2,5 \times 10^{-6}$ M uabain bulunan ortamda çok net bir şekilde artmaktadır ((şekil: 1).

2. Aynı şekilde, uabain, potasyum klorür'ün kobay ileumu üzerindeki kasıltıcı etkisini de arttırmaktadır (şekil: 4).

3. Uabain'in kasılmaları arttırıcı etkisinin şiddeti potasyum klorür'ün dozuna göre değiştiği gibi (şekil:3 ve 5); keza aynı şekil'de izole organın, uabain'le temas etme müddetince de bağlıdır (şekil: 2, 6 ve tablo: II, III).

4. Gözlenen olayda, uabain'in Na ve K iyonlarının aktif taşınması üzerindeki etkisinin rol oynıyabileceği ihtimali tartışılarak; daha evvelce yaptığımız araştırmaların ışığı altında neticeler tefsir edilip değerlendirildi.

Bibliographie

- 1- **Glynn, I.M.** (1964): *The action of cardiac glycosides on ion movements.* Pharmac. Rev., 16, 381-407.
- 2- **Godfraind, T. and Godfraind-De Becker, A.** (1963): *Actions des glucosides cardiotoniques sur le muscle lisse.* Arch. Int. Pharmacodyn., 144, 226.
- 3- **Godfraind, T.** (1964): *L'action biphasique des glucosides cardiotoniques.* Actualités Pharmacologiques, Masson, Paris, 17, 237-269.
- 4- **Ozan, K.** (1964): *L'action des inhibiteurs enzymatiques sur la sensibilité de l'iléon de Cobaye à l'histamine.* C.R.Acad. Sc. Paris, 259, 2312-2314.
- 5- **Schatzmann, H.J. and Witt, P.N.** (1954): *Action of k-strophanthin on potassium leakage from frog sartorius muscle.* J. Pharmacol. Exp. Ther., 112, 501.
- 6- **Valette, G. et Ozan, K.** (1964): *Effet des cyanures sur le rectus abdominis de Grenouille.* C.R.Acad. Sc. Paris., 258, 1648-1650.
- 7- **Valette, G. et Ozan, K.** (1964): *Effet du fluorure de sodium sur le rectus abdominis de la Grenouille.* C.R. Acad. Sc. Paris, 258, 4382-4383.

- 8- **Valette, G. et Ozan, K.** (1964): *Action des inhibitions enzymatiques sur la sensibilité à l'ion potassium de la fibre musculaire lisse ou striée.* J. Physiol., 56, 455.
- 9- **Valette, G. and Ozan, K.** (1964): *Action of enzymatic inhibitors on muscle fibre sensitivity to potassium ion.* Nature, 204, 586-587.
- 10- **Valette, G. Ozan, K.** (1966): *Action du cyanure de potassium sur la sensibilité de la musculature du ver de terre à l'ion potassium.* J. Physiol. 58, 630.

Travail reçu le 5 Juin. 1970

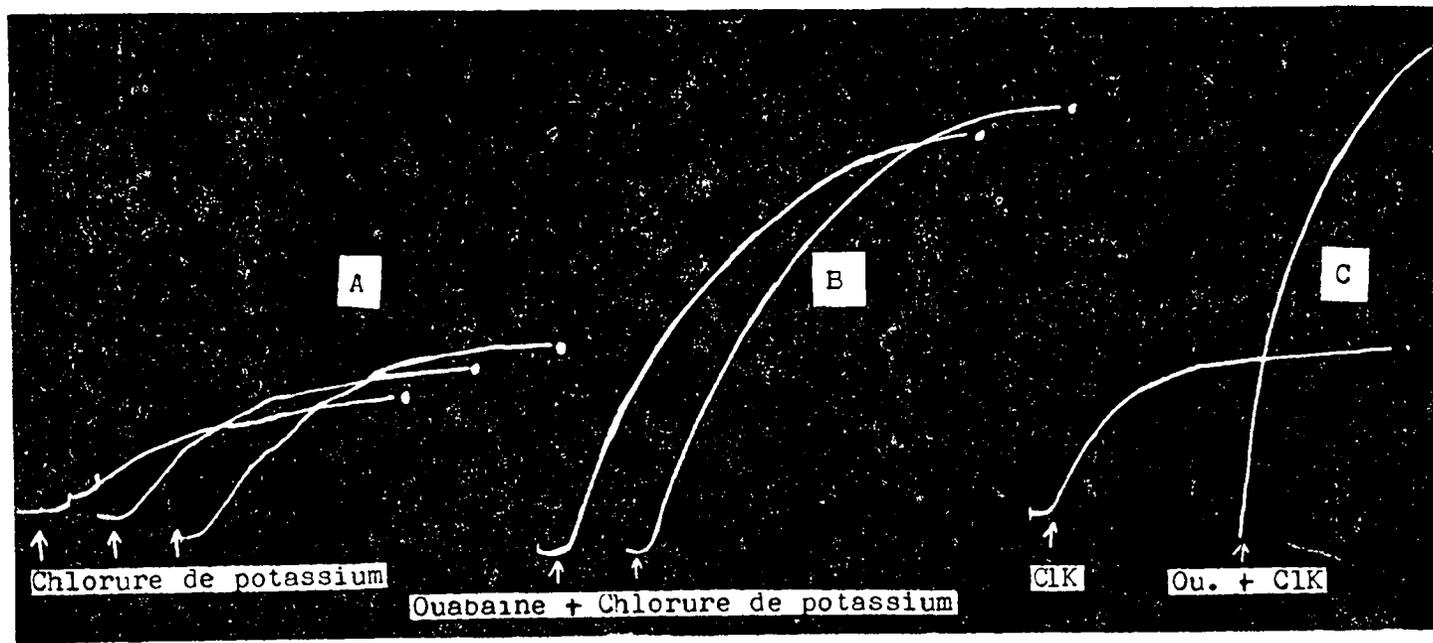


Fig. 1

Effet de l'ouabaine sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur le rectus abdominis isolé de grenouille. *En A* : Contractions provoquées par le chlorure de potassium (20 mM) dans le liquide physiologique pur. *En B* : Augmentation de l'amplitude des contractions dans le liquide physiologique additionné de $2,5 \times 10^{-6}$ M d'ouabaine. *En C* : à la première contraction : l'action du chlorure de potassium (20 mM) revient à la normale après lavages successifs au liquide physiologique pur et à la deuxième contraction : l'amplitude augmente en présence de l'ouabaine.

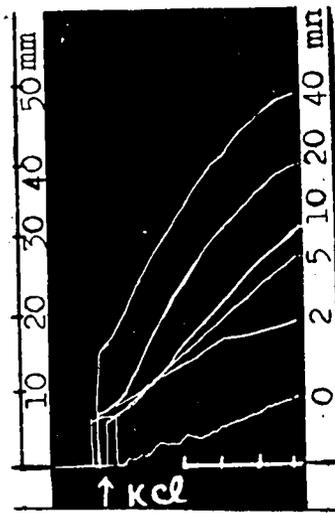


Fig. 2

Effet de l'ouabaine en fonction du temps, sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur le rectus abdominis de grenouille.

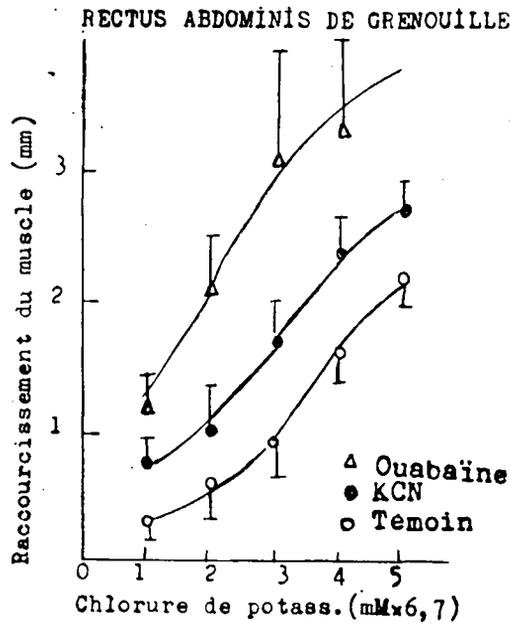


Fig. 3

Effet de l'ouabaine sur la sensibilité du rectus abdominis de grenouille à l'effet contracturant du chlorure de potassium (moyenne de trois expériences pour chaque point). *En abscisses* : concentrations en chlorure de potassium, en mM. *En ordonnées* : raccourcissement du muscle en mm.

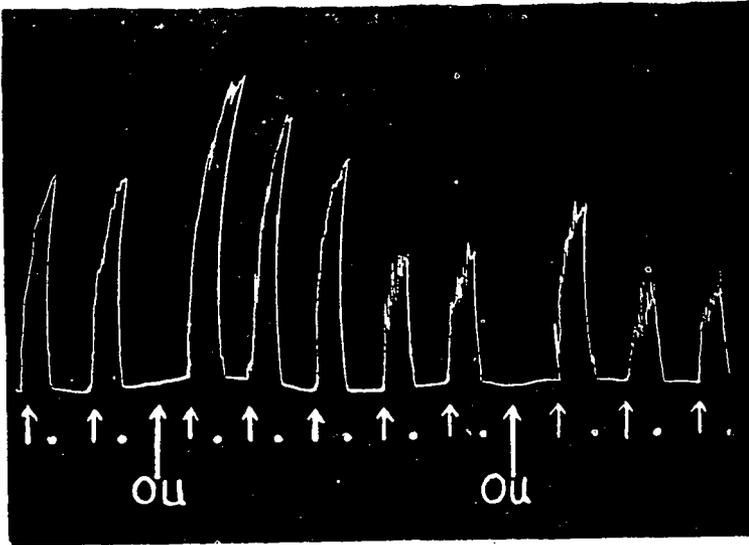


Fig. 4

Effet de l'ouabaine sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur l'iléon isolé de Cobaye. Aux petites flèches: l'action de 8 mM de chlorure de potassium. En OU: action d'ouabaine (6×10^{-9} M) pendant 1 minute. Les points indiquent le renouvellement du liquide du bain.

ILÉON ISOLE DE COBAIE

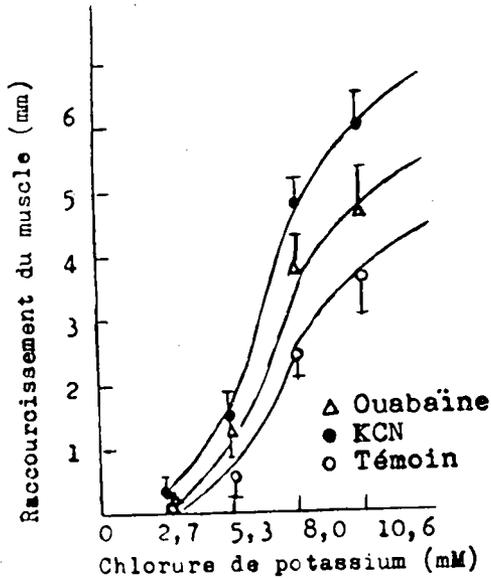


Fig. 5

Effet de l'ouabaine sur de l'iléon isolé de Cobaye à l'effet contracturant du chlorure de potassium (Moyenne de trois expériences pour chaque point). En abscisses: concentration en chlorure de potassium, en mM. En ordonnées: raccourcissement du muscle en mm.

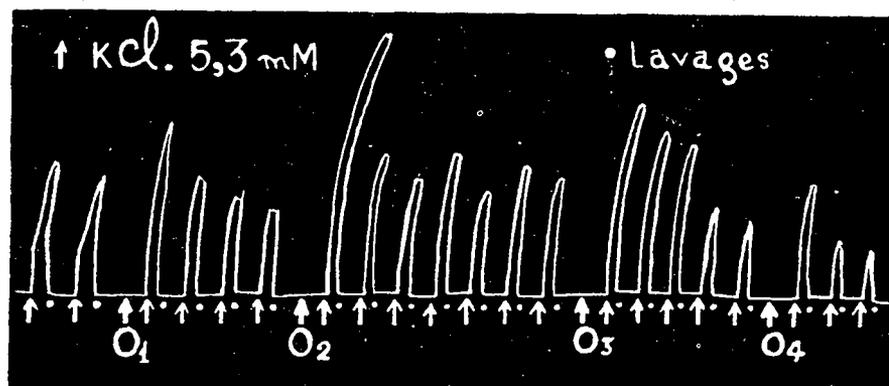


Fig. 6

Effet de l'ouabaïne en fonction du temps, sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur l'iléon isolé de Cobaye.

O: action d'ouabaïne ($6 \times 10^{-6} M$) pendant 1/2, 1,2,3 minutes.