50376 1971 141

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

THESE DE TROISIEME CYCLE

Physiologie cellulaire

présentée par

BERNARD LASSALLE

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DE L'ELECTROGENESE CARDIAQUE

DU CRABE Carcinus mænas



soutenue le 26 Novembre 1971 devant la commission d'examen

MM.	R.	DEFRETIN	Président
	Ρ.	GUILBAULT	Rapporteur
	۷.	BLOCH	Examinateur
	Α.	HOLLEY	Invité

Travail réalisé à l'Institut de Biologie maritime de Wimereux et dirigé par le laboratoire de Physiologie cellulaire de Lille 50376 1971 141

A V A N T - P R O P O S

Ce travail, entrepris sous l'égide du laboratoire de Physiologie cellulaire de Lille a été réalisé à l'Institut de Biologie maritime de Wimereux.

Je remercie M. le Professeur Guilbault non seulement pour m'avoir initié aux techniques électrophysiologiques et conseillé tout au long de ce travail, mais également pour la confiance qu'il m'a toujours accordée et cela dès mon entrée dans le laboratoire de Physiologie cellulaire qu'il dirige puisqu'il m'a permis de travailler durant deux années complètes à l'Institut de Wimereux.

Je remercie M. le Professeur Defretin qui après m'avoir accueilli et hébergé durant deux années dans son laboratoire de Biologie maritime et avoir mis à ma disposition les conditions techniques nécessaires à la réalisation de ce travail me fait l'honneur, malgré ses lourdes charges, d'accepter la présidence de mon jury.

Je tiens également à remercier M. le Professeur Bloch d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce mémoire. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance.

Que M. le Professeur Holley dont la compétence en matière de physiologie cardiaque d'invertébrés est particulièrement grande soit assuré de toute ma gratitude pour avoir bien voulu examiner ce travail.

Enfin, je remercie les chercheurs et le personnel technique de l'Institut de Wimereux qui toujours, en toutes circonstances, ont su me témoigner leur sympathie.

SOMMAIRE

	pages
INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	4
1. Théorie ionique	5
2. Potentiel de membrane des fibres cardiaques de	
vertébrés	7.
3. Potentiel de membrane des fibres de crustacés	11
4. Potentiel de membrane des fibres musculaires	
d'invertébrés	14
MATERIEL et TECHNIQUES	17
1. Animaux	18
2. Dissection	18
3. Techniques électrophysiologiques	19
4. Solutions	23
RESULTATS	26
I. Etude anatomique et histologique du coeur	27
1. Rappel sur la circulation chez les crustacés	
et sur l'automatisme cardiaque	28
2. Description du coeur	30
3. Histologie	31
3.1 Le muscle cardiaque	33
3.2 Le ganglion cardiaque	35
3.3 Conclusion	37
II. Etude électrophysiologique du coeur isolé	39
1. Electrogenèse dans les conditions normales	40
2. Electrogenèse dans les conditions anormales	45
2.1 Effets des variations de concentration ionig	ue 45

2.1.1 Rôle du potassium	45
2.1.2 Rôle du chlore	48
2.1.3 Role du sodium	53
2.1.4 Rôle des ions divalents	55
2.1.5 Résumé et conclusion des effets des variation	ns
de concentration ionique	58
2.2 Effets des inhibiteurs de perméabilité ionique	
membranaire	58
2.2.1 La tétrodotoxine	58
2.2.2 Le manganèse	59
2.2.3 Le tétraéthylammonium	62
3. Résumé et conclusion de l'étude de l'action des ions	
et des inhibiteurs sur le PM cardiaque	70
III. Etude électrophysiologique des lambeaux cardiaques	75
1. Enregistrement dans les conditions normales	76
1.1 Différentes réponses enregistrées	76
1.2 Causes possibles des réponses différentes	80
2. Enregistrement de l'activité électrique dans certaines	3
conditions anormales (rôle primordial du Ca ⁺⁺)	84
3. Résumé et conclusion concernant l'étude électrophysiol	0
gique du lambeau	87
RESUME et CONCLUSIONS GENERALES	90
RESUME	96
BIBLIOGRAPHIE	98

INTRODUCTION

Abordée depuis longtemps, la physiologie cardiaque des crustacés le fut surtout d'un point de vue mécanique, les ions et les drogues les plus diverses entraînant des modifications de la fréquence et de l'amplitude des contractions. De nombreuses autres études concernent essentiellement le rôle et le fonctionnement du ganglion cardiaque, centre d'automatisme des crustacés.

Quant à l'électrophysiologie de la membrane cardiaque des invertébrés, elle constitue un domaine où les recherches sont encore très restreintes et fragmentaires. Si HOLLEY (1968) montre une certaine similitude entre les potentiels cardiaques du crustacé isopode Porcellio dilatatus et ceux des vertébrés, la membrane réagissant activement à la suite d'une stimulation par l'apparition d'un potentiel d'action, à l'inverse chez le stomatopode Squilla mantis, BROWN (1964) et PARNAS, ABBOTT et LANG (1969) chez le mérostome xiphosure Limulus polyphemus font apparaître des mécanismes totalement différents : la membrane réagit passivement.

Notre étude concernant le coeur du crustacé décapode Carcinus moenas a été réalisée dans le but de tenter de préciser d'une part les perméabilités membranaires ioniques intervenant dans le maintien du potentiel de repos et, d'autre part, l'évolution de ces perméabilités lors de l'activité électrique c'est-à-dire lors du potentiel d'action, la connaissance de ces phénomènes pouvant nous apporter un élément de réponse quant à la différence de comportement des divers coeurs de crustacés et aussi, entre ces derniers et ceux des vertébrés.

La première partie de ce travail est consacrée à l'étude histologique du matériel utilisé, étude rendue nécessaire, sinon très

-2-

souhaitable, du fait du caractère hétérogène de la préparation (muscle et ganglion nerveux).

La deuxième partie porte sur l'étude du potentiel de membrane du coeur isolé ; elle conduit à poser un certain nombre d'hypothèses quant à la nature du potentiel de repos et du potentiel d' action.

La troisième partie consacrée à l'étude électrique d'un fin lambeau de myocarde dépourvu d'éléments nerveux, bien que limitée du fait de nombreuses difficultés techniques, nous permettra cependant, de retenir une hypothèse parmi celles émises lors de l'é tude du coeur isolé et ainsi de tenter de donner une explication de l'électrogenèse du coeur isolé.

SOMMAIRE

	pages
INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	4
1. Théorie ionique	5
2. Potentiel de membrane des fibres cardiaques de	
vertébrés	7
3. Potentiel de membrane des fibres de crustacés	11
4. Potentiel de membrane des fibres musculaires	
d'invertébrés	14
MATERIEL et TECHNIQUES	17
1. Animaux	18
2. Dissection	18
3. Techniques électrophysiologiques	19
4. Solutions	23
RESULTATS	26
I. Etude anatomique et histologique du coeur	27
1. Rappel sur la circulation chez les crustacés	
et sur l'automatisme cardiaque	28
2. Description du coeur	30
3. Histologie	31
3.1 Le muscle cardiaque	33
3.2 Le ganglion cardiaque	35
3.3 Conclusion	37
II. Etude électrophysiologique du coeur isolé	39
1. Electrogenèse dans les conditions normales	40
2. Electrogenèse dans les conditions anormales	45
2.1 Effets des variations de concentration ionique	45

2.1.1 Rôle du potassium	45
2.1.2 Rôle du chlore	4 8
2.1.3 Rôle du sodium	53
2.1.4 Rôle des ions divalents	55
2.1.5 Résumé et conclusion des effets des variatio	ns
de concentration ionique	58
2.2 Effets des inhibiteurs de perméabilité ionique	
membranaire	58
2.2.1 La tétrodotoxine	58
2.2.2 Le manganèse	59
2.2.3 Le tétraéthylammonium	62
3. Résumé et conclusion de l'étude de l'action des ions	
et des inhibiteurs sur le PM cardiaque	70
III. Etude électrophysiologique des lambeaux cardiaques	75
1. Enregistrement dans les conditions normales	76
1.1 Différentes réponses enregistrées	76
1.2 Causes possibles des réponses différentes	80
2. Enregistrement de l'activité électrique dans certaine	S
conditions anormales (role primordial du Ca ⁺⁺)	84
3. Résumé et conclusion concernant l'étude électrophysio	lo '
gique du lambeau	87
RESUME et CONCLUSIONS GENERALES	90
RESUME	96
BIBLIOGRAPHIE	98

BIBLIOGRAPHIE

HISTORIQUE

1. Théorie ionique

2. PM des fibres cardiaques d'invertébrés

3. PM des fibres cardiaques de crustacés

4. PM des fibres musculaires d'invertébrés

Sur la base de la théorie ionique élaborée par HODGKIN et HUXLEY (1952) à partir de l'étude de la fibre nerveuse, de nombreux travaux ont été entrepris sur la fibre musculaire dès que les techniques d'enregistrement ont été mises au point (LING et GERARD, 1949 ; WOODBURY et BRADY, 1956).

Le présent mémoire ayant trait à la physiologie cardiaque, nous résumerons les travaux essentiels réalisés dans ce domaine tant chez les vertébrés que chez les invertébrés, non sans avoir brièvement rappelé au préalable la théorie ionique.

Ce travail s'intègre dans un programme de recherche plus vaste du laboratoire concernant notamment la physiologie du muscle strié et la physiologie de la fibre nerveuse de Carcinus moenas nous rappelerons les résultats acquis en particulier chez la fibre musculaire d'invertébrés.

1. Théorie ionique.

Les travaux de HODGKIN (1951), HODGKIN et HUXLEY (1952), sur le matériel de choix qu'est l'axone géant de calmar, ont conduit ces auteurs à élaborer une théorie selon laquelle le potentiel de repos (PR) est sous l'entière dépendance des mouvements de certains ions s'effectuant de part et d'autre de la membrane.

Ainsi le PR serait dû à un potentiel de diffusion aux ions potassium (K^+), sodium (Na^+) et chlore (Cl^-); la valeur de ce PR peut être calculée connaissant les différentes valeurs des activités ioniques intra et extracellulaires ainsi que les perméabilités relatives de la membrane à chacun de ces ions.

-5-

L'équation permettant ce calcul est appelée "équation du champ constant" de GOLDMAN (1943), HODGKIN et KATZ (1949).

$$E = \frac{R T}{n F} \log \frac{P_{K} [K^{+}]_{i} + P_{Na} [Na^{+}]_{i} + P_{C1} [C1^{-}]_{e}}{P_{K} [K^{+}]_{e} + P_{Na} [Na^{+}]_{e} + P_{C1} [C1^{-}]_{i}}$$

Dans cette équation, E exprimé en volts, correspond à la différence de potentiel existant de part et d'autre de la membrane, R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue et F le faraday (96500 coulombs). P_K , P_{Na} et P_{C1} ayant les dimensions d'une vitesse, expriment les perméabilités ioniques de la membrane respectivement aux ions K^+ , Na^+ et $C1^-$; $[K^+]$, $[Na^+]$ et $[C1^-]$ sont les activités de ces ions dans les milieux intra et extracellulaires.

Cette théorie rend mieux compte de la valeur du PR que ne le fait celle plus ancienne de BOYLE et CONWAY (1941) qui supposent que la membrane est perméable aux seuls ions K⁺ et Cl⁻ et que ces ions de signe contraire se distribuent passivement de part et d'autre de la membrane selon l'équilibre de Donnan, équilibre traduit par la relation $[K^+]_i \cdot [Cl^-]_i = [K^+]_e \cdot [Cl^-]_e$.

Quant au potentiel d'action (PA), il se traduit par une variation transitoire du PR qui se décompose en une phase initiale de dépolarisation suivie d'une phase de repolarisation. HODGKIN et HUXLEY attribuent cette variation de potentiel à des variations passagères de perméabilités ioniques, la phase de dépolarisation étant due à une augmentation de la P_{Na} , le potentiel de membrane (PM) tendant ainsi vers la valeur de la pile de

-6-

concentration aux ions Na^+ . La phase de repolarisation est due à un retour de la valeur de la P_{Na} à celle de repos, phénomène appelé par les auteurs "inactivation du système sodique", suivie d'une augmentation de la P_{K} , phénomène appelé "rectificatio normale retardée".

2. Potentiel de membrane des fibres cardiaques de vertébrés.

De nombreux travaux effectués depuis 1950 sur les fibres cardiaques de divers vertébrés, il ressort que la théorie ionique s'est trouvée confirmée dans la plupart des cas.

2.1 Potentiel de repos

La fibre cardiaque se comporte souvent comme une élec trode au K⁺ (BURGEN et TERROUX, 1953 ; ROUGIER et coll., 1968), l'excès de K⁺ du milieu augmentant la perméabilité de la membra ne à cet ion (CARMELIET, 1960). A la concentration physiologiqu normale, le PR dépend également de l'activité des ions Na⁺ (CORABOEUF et OTSUKA, 1956 ; ROUGIER et coll., 1968 ; VICK, HAZLEWOOD et NICHOLS, 1970) ; quant aux ions C1⁻, il est généra ment admis qu'ils se distribuent passivement (CARMELIET, 1961 ; HUTTER et NOBLE, 1961 ; VICK et coll., 1970).

2.2 Potentiel d'action

La théorie ionique voulant que la phase de dépolarisation soit due à l'établissement d'une pile de concentration aux ions Na⁺ du fait de l'augmentation très importante de la P_{Na} et qu'ainsi au sommet du PA la valeur du PM corresponde à celle calculée à partir de l'équation de Nernst $E = \frac{R}{n} \frac{T}{F} = \frac{\left[Na\right]_{i}}{\left[Na\right]_{e}}$ les auteurs ont essayé, avec plus ou moins de succès, de retrou-

-7-

ver expérimentalement cette relation linéaire dont la pente est de 58 mV, à la température de 20°C.

En fait, si certains tissus, tels le tissu de Purkinje, le tissu ventriculaire de mammifères (et plus particulièrement celui de rat à basse température) ainsi que le tissu ventriculaire de grenouille répondent conformément à la théorie ionique, d'autres, tels le ventricule de cobaye, de lapin, de tortue réagissent différemment (CORABOEUF, 1960).

Quant à la phase de repolarisation très durable en général, elle s explique aisément à l'heure actuelle. Elle est en effet due initialement à une diminution de la P_K de repos associée à l'apparition d'une perméabilité de la membrane aux ions Ca^{++} et à l'inactivation du système sodique responsable de la phase de dépolarisation puis, secondairement, à l'augmentation de la P_K de repos, phénomène identique à celui mis en évidence par HODG-KIN au niveau de la fibre nerveuse.

En effet, dès 1955 WILDE puis CORABOEUF, DELAHAYES et SJOSTRANT en 1968 montrent, grâce à l'emploi du radiopotassium, l'existence d'une fuite de K⁺ de la cellule contemporaine de la phase de repolarisation puis, en 1968 ROUGIER et coll. mettent en évidence, grâce à la technique du voltage imposé (voltage-clamp), les mécanismes qui interviennent lors du PA ventriculaire de grenouille. En effet, ces derniers auteurs montrent que la première phase de dépolarisation rapide est due à l'activation du système sodique, les ions Na⁺ passant par un 'canal rapide" ; elle est suivie par l'activation d'un système calcico-sodique ("canal lent") associée à la rectification anormale de la membrane au K⁺ (CAR-

-8-

MELIET, 1961 ; HALL, HUTTER et NOBLE, 1963), l'ensemble de ces phénomènes étant responsable du maintien de la dépolarisation, de l'existence du "plateau". La phase de repolarisation rapide quant à elle, est due à l'augmentation tardive de la P_K conjointement à l'inactivation du système calcico-sodique.

En ce qui concerne l'intervention éventuelle des mouvements d'ions Cl⁻ lors du PA, il y a lieu de signaler les travaux de CARMELIET (1959, 1961) effectués sur le tissu de Purkinje, ceux de GUILBAULT (1966) réalisés sur le ventricule de mammifères qui montrent que le remplacement des ions Cl⁻ par des anions non pénétrants tels que le pyroglutamate ou l'acétylglycinate dans le milieu extracellulaire, entraîne des retards de repolarisation. De même, l'intervention probable des ions Cl⁻ sur le muscle squelettique de grenouille est signalée dès 1960 par FALK et LANDA puis en 1968 par ILDEFONSE et ROUGIER. Ces derniers auteurs émettent l'hypothèse du rôle du Cl⁻ au cours de la phase de repolarisation lors de l'étude des propriétés d'activation et d'inactivation du courant sortant.

Ainsi compte-tenu des caractères propres de la membrane myocardique et de la mise en évidence des différents phénomènes intervenant lors du PA, des schémas électriques dérivant de celui donné par HODGKIN et HUXLEY (1952 - fig 1) ont pu ainsi être proposés. Le schéma de la figure 2, schéma le plus récemment proposé par GARGOUIL (1970), fait état de l'existence d'une conductance G_{Na_1} équivalente à celle de la fibre nerveuse, d'une double conductance $G_{Na_2}G_{Ca}$ qui correspond au système calcico-sodique, d'une conductance G_{K_1} correspondant à la rectification anormale, d'une

-9-



Figure 1 : Schéma électrique de la membrane excitable (d'après HODGKIN et HUXLEY)

 E_{Na} : pile de concentration aux ions sodium ; E_K : pile de concentration aux ions potassium ; E_F : pile de concentration aux autres ions ; G_{Na} : conductance membranaire sodique ; G_K : conductance membranaire potassique ; G_F : conductance membranaire aux autres ions ; R_e : résistance du milieu externe ; R_i : résistance du milieu interne ; C_m : capacité membranaire. conductance G_{K_2} correspondant à la rectification normale, équivalente à celle de la fibre nerveuse et enfin d'une conductance hypothétique G_{C1} .

3. Potentiel de membrane des fibres de crustacés.

3.1 Potentiel de repos

Mis à part les travaux de HOLLEY (1968) sur Porcellio dilatatus, aucune étude approfondie n'a été entreprise concernant l'action des ions sur le PR des fibres cardiaques de crustacés. Chez cet isopode, HOLLEY montre le rôle important des ions K^+ puisqu'il donne les valeurs suivantes des pentes de la droite expérimentale exprimant les variations du PR en fonction de $[K^+]_e$ 35 à 65 mV. En ce qui concerne la participation des mouvements sodiques, elle n'a pas été clairement mise en évidence, l'absence d'ions Na⁺ dans le milieu externe ne provoquant qu'une très faible dépolarisation.

3.2 Potentiel d'action

Si peu de travaux sur les crustacés concernent les mécanismes ioniques survenant lors de l'activité des fibres cardiaques, beaucoup par contre, permettent de connaître la morphologie des différents types de PA. En effet, au vu de la littérature, deux grands types de PA se distinguent : les uns, enregistrés sur Limulus (Mc CANN, 1962 ; ROBB et RECH, 1964 ; TANAKA et coll., 1966 ; PARNAS et coll., 1969) et sur Squilla (IRISAWA et coll., 1962 ; BROWN, 1964) se présentent comme des dépolarisations de faible amplitude, sans inversion de potentiel, suivies d'un "plateau" comportant de nombreuses oscillations de très fai-



<u>Figure 2</u> : Schéma électrique de la membrane cardiaque. (d'après GARGOUIL, 1970)

 E_{Na} : pile de concentration aux ions sodium ; E_{Ca} : pile de concentration aux ions calcium ; E_K : pile de concentration aux ions potassium ; E_{C1} : pile de concentration aux ions chlore ; G_{Na1} : conductance sodique correspondant au canal rapide ; G_{Na2} G_{Ca} : conductance calcico-sodique correspondant au canal lent ; G_{K1} : conductance potassique correspondant à la rectification anormale ; G_{K2} : conductance potassique correspondant à la rectification anormale ; G_{K2} : conductance potassique correspondant à la rectification normale ; G_{C1} : conductance hypothétique au chlore ; C_{m1} : capacité sarcolemmique ; C_{m2} : capacité tubulaire ; R_e : résistance du milieu externe ; R_i : résistance du milieu interne.

ble amplitude ; les autres sont généralement enregistrés chez les décapodes tels que Carcinus moenas (LAPLAUD et coll., 1961; BROWN, 1964), Maïa squinado (BROWN, 1964), Palinurus (CARRICA-BURU et FILLIOL, 1962 ; TRICOCHE et coll., 1966), mais également chez les isopodes tels que Porcellio dilatatus (HOLLEY, 1968); dans ce cas, selon les espèces et les conditions d'enregistrement, les PA, souvent caractérisés par l'absence d'inversion de potentiel, présentent une phase de repolarisation pourvue ou non d'accidents électriques. Quand les accidents se présentent, ils sont différents des oscillations observées chez les stomatopodes et les xiphosures, en ce sens qu'ils sont de grande amplitude et présentent plutôt l'allure de PA "avortés", peut-être de PA propagés électrotoniquement. Entre ces deux types d'activité électrique, un type intermédiaire de PA peut être décrit. Ce type est enregistré chez les décapodes tels que Procambarus clarkii (VAN DER KLOOT, 1970). Dans ce cas la phase de dépolarisation présente l'allure d'une pointe, avec ou sans inversion de potentiel alors que la phase de repolarisation est durable du fait de la présence d'un plateau pourvu de très faibles oscillations.

En ce qui concerne les mécanismes intervenant lors du PA, peu de travaux, comme nous l'avons précédemment indiqué, ont été réalisés. Il faut citer ceux de HOLLEY et de VAN DER KLOOT (1970), le premier travaillant sur le coeur de Porcellio et le second sur celui de Procambarus. Ces mécanismes seraient similaires à ceux du coeur des vertébrés, la faible amplitude (45 mV) étant due selon HOLLEY (1968) à un faible rapport des conductances de la membrane au sodium (G_{Na}) et au potassium (G_K). VAN DER KLOOT montre que chez Procambarus la dépolarisation initiale est de

--13--

nature calcique alors que les oscillations contemporaines du plateau, nécessitent la présence de Na⁺ dans le milieu externe.

4. Potentiel de membrane des fibres musculaires d'invertébrés.

4.1 Potentiel de repos

Des divergences importantes quant à la nature du PR des fibres musculaires d'invertébrés apparaissent selon les auteurs et les préparations utilisées.

Ainsi, pour les fibres des crabes Callinectes (HAYS, LANG et GAINER, 1968) et Carcinus moenas (SHAW, 1955) et pour les fibres de la balane (HINKE et GAYTON, 1971 ; GAYTON et HINKE, 1971), le PR serait dû à une pile de concentration aux ions K⁺, les ions Cl^- se distribuant passivement de part et d'autre de la membrane, la P_{Na} étant négligeable ou nulle. Ceci est en accord d'ailleurs avec les travaux concernant les fibres squelettiques de grenouil-le. Citons entre autres les premiers travaux réalisés sur cette préparation, ceux de HODGKIN et HOROWICZ (1959) et de HARRIS (1963 confirmés depuis par de nombreux auteurs.

Par contre, GIRARDIER, REUBEN, BRANDT et GRUNDFEST (1963) sur la fibre d'écrevisse et MOUNIER et GUILBAULT (1970) sur la fibre de Carcinus moenas montrent que les ions Cl⁻ ne se distribuent pas passivement car la valeur du PR est intermédiaire entre celle de la pile de concentration aux ions Cl⁻ (56 mV) et celle de la pile de concentration aux ions K⁺ (\leq 75 mV). De plus, à l'appui de l'absence d'équilibre thermodynamique, ces auteurs montrent que la P_{Na} n'est pas négligeable. Dans de telles conditions, le PR correspond à un potentiel de diffusion.

-14-

4.2 Potentiel d'action

Il est admis maintenant que les réponses graduées, généralement enregistrées, que constituent les PA des fibres musculaires de crustacés, présentent une phase de dépolarisation engendrée par l'apparition d'un courant de Ca⁺⁺ (FATT et GINSBORG, 1958 ; LOCKWOOD, 1968). A ce courant de Ca⁺⁺ serait associé (HAU-DECOEUR, 1971) un mouvement de Cl⁻, ces deux courants d'ions étant d'ailleurs contrôlés par le Na⁺ extracellulaire, celui-ci jouant le rôle d'inhibiteur.

Quant à la phase de repolarisation, elle correspondrait, au niveau de la fibre de crabe (HAUDECOEUR,1971) à une augmentation de la conductance au Cl⁻ associée à une diminution progressive de celle au Ca⁺⁺, la conductance au K⁺ se maintenant à sa valeur de repos.

Ces hypothèses corroborent celles de WERMAN et GRUNDFEST (1961) et de KOKETSU (1965) qui montrent en particulier que le remplacement du Na⁺ externe par la choline transforme les réponses graduées en réponses de grande amplitude (tout ou rien) ainsi que celles de REUBEN et coll. (1967) et GAINER et GRUNDFEST (1963) qui montrent que l'absence de Cl⁻ dans le milieu externe annule le processus d'excitation. Quant à l'augmentation de P_{Ca} mise en évidence déjà en 1958 par FATT et GINSEORG sur la fibre d'écrevisse, confirmée par CHIARANDINI et coll. (1970) et par WERMAN et GRUNDFEST (1961) sur la fibre de homard, elle est maintenant bien connue puisqu'on la retrouve chez la fibre de balane (HAGI-WARA, CHICHIBU et NAKA, 1964) et chez les fibres lisses de mammifères (NONOMURA et coll., 1966 ; EULBRING et TOMITA, 1968 ; MIRONNEAU et LENFANT, 1971). La nature calcique des PA d'invertébrés est de plus confirmée par l'emploi du Mn⁺⁺ qu'ORKAND (1962) a montré être un agent bloquant le courant de Ca⁺⁺.

MATERIEL et TECHNIQUES

1. Animaux.

L'animal utilisé pour toutes les expériences, le crustacé décapode brachyoure, Carcinus moenas ou crabe vert provient de la Manche. Il est récolté généralement par chalutage et conservé dans des bacs oùcircule en permanence de l'eau de mer à la température de 5 à 18°C selon la saison, à l'Institut de Biologie maritime de Wimereux.

De façon à éliminer tout facteur non contrôlable et pour l'homogénéité des résultats, les animaux sacrifiés sont choisis pendant la période d'intermue, au stade C_4 de la table de DRACH (1939 qui se caractérise par la présence d'une couche membraneuse et par la rigidité totale des téguments.

2. Dissection.

L'animal est disséqué sans anesthésie préalable, il est simplement immobilisé sur une planchette de liège par quelques épingles. La carapace est sectionnée entre le céphalothorax et l'abdomen, au niveau des aires branchiales et de l'aire hépatique. Le volet ainsi constitué est soulevé et la membrane sousjacente est sectionnée délicatement. Rapidement, par quelques incisions dans les masses musculaires environnantes, le coeur est prélevé et mis dans une cuve remplie de liquide physiologique où la dissection est poursuivie afin d'éliminer les tissus musculaire, hépatique et génital adhérents au muscle cardiaque et le péricarde.

Lors de la préparation coeur isolé, la dissection se termine par le dégagement de l'artère sternale située ventralement. C'est par cette artère que la canulation est effectuée, le liquide physiologique de perfusion pénétrant ainsi directement dans la cavité cardiaque.

Généralement, pendant la dissection, les battements cessent lors de l'extirpation rapide du coeur, mais cet arrêt cardiaque est de courte durée puisque les battements reprennent sitôt la perfusion commencée.

Lors de l'utilisation des faisceaux musculaires isolés, la dissection se poursuit par l'ouverture de la paroi dorsale du coeur ; les bandelettes musculaires internes (fig 6) sont alors disséquées délicatement.

Toutes les manipulations sont réalisées à la température de 18 à 20°C.

3. Techniques électrophysiologiques.

3:1 Coeur isolé

La préparation étant utilisée en rythme spontané, le montage se résume au circuit d'enregistrement (fig 3) des potentiels membranaires. Ces derniers sont enregistrés à l'aide d'une microélectrode flottante (WCODBURY et BRADY, 1956), système suffisamment souple pour suivre les mouvements cardiaques, par rapport à une électrode indifférente impolarisable Ag/AgCl reliée au liquide physiologique baignant la préparation par l'intermédiaire d'un pont d'agar KC1 3M.

Les microélectrodes sont étirées à la main ou l'aide d'un appareil à gravité ; elles ont une impédance comprise entre 7 et 15 M**Ω** lorsqu'elles sont remplies d'une solution de KCl 3M.

Les électrodes sont reliées à un oscilloscope TEKTRONIX (502A)

-19--



Figure 3 : Schéma de montage pour l'enregistrement du potentiel de membrane du coeur isolé.

A : pont d'agar KCl 3M ; C : coeur isolé ; CF : changeur d'impédance ; EI : électrode indifférente ; E_{CF} : entrée du changeur d'impédance ; E_R : microélectrode flottante ; M : micromanipulateur ; O : oscilloscope ; P : canule de perfusion ; R_b : robinet à 4 voies.



par l'intermédiaire d'un abaisseur d'impédance (CHEVAL, 1966). Ce dernier est rendu nécéssaire du fait de l'impédance élevée des microélectrodes devant l'impédance d'entrée (1 M Ω) de l'oscilloscope et les variations de la résistance de l'électrode ainsi que de celles de la résistance membranaire.

Une caméra Polaroïd permet de photographier les oscillogrammes.

3.2 Faisceaux musculaires isolés

La vérification de certaines hypothèses émises lors de l'étude du coeur isolé nous ayant obligés de travailler sur un mince faisceau isolé de fibres musculaires, un circuit de stimulation (fig 4) a donc été rendu nécéssaire du fait de l'absence d'activité spontanée de ces préparations.

Seul ce circuit sera décrit ici puisque le système d'enregistrement du PM est identique à celui présenté précédemment mis à part l'électrode flottante qui est remplacée par une électrode fixe.

La stimulation est obtenue par l'intermédiaire d'une microélectrode de même type que celles décrites précédemment. Les courants de stimulation sont délivrés par un générateur d'impulsions rectangulaires. Le courant est rendu constant grâce à une résistance de valeur élevée (50 M Ω) placée en série avec la microélectrode, les variations d'impédance de cette dernière sont ainsi rendues négligeables.

La mesure des variations de potentiel aux bornes d'une résistance de faible valeur (100 K Ω) donne à chaque instant la valeur de l'intensité du courant de stimulation ; les courants ainsi délivrés varient de 0 à 700 nA.

-21-



Figure 4 : Schéma de montage pour l'enregistrement du potentiel de membrane de la fibre cardiaque isolée.

A : pont d'agar KCl 3M ; CF : changeur d'impédance ; EI : électrode indifférente ; E_R : microélectrode d'enregistrement ; E_S : microélectrode de stimulation ; F : fibre ; G : générateur d'impulsions rectangulaires ; O_1 : première voie de l'oscilloscope ; O_2 : deuxième voie de l'oscilloscope ; R : résistance de 50 M Ω rendant constant le courant de stimulation ; r : résistance de 100 K Ω permettant de mesurer l'intensité du courant de stimulation. Les microélectrodes de stimulation et d'enregistrement sont implantées à proche distance l'une de l'autre (100 à 200 microns) grâce à deux micromanipulateurs (Leitz).

4. Solutions.

Le liquide perfusion de référence est celui proposé par FATT et KATZ (1953) dont la composition ionique est la suivante :

> Na⁺ : 509 mEq/lK⁺ : 12,7 "Ca⁺⁺ : 11,3 "Mg⁺⁺ : 23,6 "Cl⁻ : 592 "HCO₃⁻ : 2,6 "

L'étude de l'action des ions entreprise en modifiant leur concentration dans le liquide physiologique peut entraîner un effet imputable à une variation de pression osmotique ; de façon à éliminer ces derniers effets, des quantités équimoléculaires de NaCl sont ajoutées ou diminuées. Les tableaux I et II donnent la composition des différents milieux utilisés.

ki - Marayan yang menangkan kanyan ang kanya kanya menangkan dan Manahadi di kahamatan kanya kanya kanya kanya	·			• • • • • • •			
	100	422	22,6	11,3	23,6	2,6	422
appauvris en Cl hyperpotassiques	50	472	22,6	11,3	23,6	2,6	472
Milieux _	25	497	22,6	11,3	23,6	2,6	497
пуророгуратинея	6	516	22,6	11,3	23,6	2,6	516
appauvris en Cl ⁻ ,	3	519	22,6	11,3	23,6	2,6	519
Milieux	0	522	22,6	11,3	23,6	2,6	522
Milieu appauvri en Cl	12,7	509	22,6	11,3	23,6	2,6	сн ₃ соо 509
	100	421,7	592	11,3	23,6	2,6	
Milleux hyperpotassiques	50	471,7	592	11,3	23,6	2,6	
M#1#	25	496,7	592	11,3	23,6	2,6	
	6	515,7	592	11,3	23,6	2,6	

TABLEAU I.



so₄=

30

24

 $\mathbf{25}$

27

36

49

74

autres

substances

-24-

 Na^+

509

521,7

518,7

к+

12,7

0

3

Milieux

Milieu de

référence

Milieux

hypopotassiques

en mEq/1.

C1⁻

592

592

592

 Mg^{++}

23,6

23,6

23,6

CO3H

2,6

2,6

2,6

 Ca^{++}

11,3

11,3

11,3

Milieux	к+	Nat	C1 ⁻	Ca^{++}	Mg ⁺⁺	со _з н-	autres substances
	12,7	0	592	11,3	23,6	2,6	choline 509
Milieux	12,7	127	592	11,3	23,6	2,6	382
hyposodiques	12,7	254	592	11,3	23,6	2,6	255
	12,7	521	579	11,3	11,8	2,6	
Mllleux	12,7	530	570	11,3	2,36	2,6	
appauvris en Mg ⁺⁺	12,7	532	568	11,3	0	2,6	
	12,7	520	580	0	23,6	2,6	
Milieux	12,7	517	583	3	23,6	2,6	
hypocalciques	12,7	514	586	6	23,6	2,6	
	12,7	511	589	9	23,6	2,6	
	12,7	498	602	22,6	23,6	2,6	
Milieux	12,7	486	614	33,9	23,6	2,6	
hypercalciques	12,7	464	637	56,5	23,6	2,6	
Milieu propionate de Ca	0.	0	0	11,3	0	2,6	CH ₃ CH ₂ CO ₂ ⁻ :22,6 saccharose : 1109 mM/1

TABLEAU II.



RESULTATS

I. Etude anatomique et histologique du coeur

II. Etude électrophysiologique du coeur isolé

III. Etude électrophysiologique des lambeaux cardiaques

						-27-	.						
v													
		I.	ЕТ	υD	Ε	A	N A	то	MIC) U E			
	et	Ħ	T S	τ O	τ. Ο	1 G 1	r o '	দ দ	du	C	0 5	מ זו	
	Ŭ L			* •	11 0			0 13	uu	C	0 Ľ	U N	
										•			
									·				
								•	•				
1. Rappel sur la circulation chez les crustacés et sur l'automatisme cardiaque.

1.1 Circulation

Chez les crustacés, la circulation est ouverte. Le coeur sac ou tube simple percé d'ostioles, reçoit lors de la distension diastolique le sang ou plus précisément l'hémolymphe, accumulé dans le sinus péricardique. La contraction systolique propulse le sang dans le système de lacunes et de sinus, par les artères et les capillaires ; il s'oxygène au niveau des branchies et retourne au sinus péricardique par les veines branchiopéricardiques (fig 5).

1.2 Automatisme cardiaque

L'on sait que chez les vertébrés, les contractions rythmi ques sont induites par certaines régions du coeur formées d'un tissu musculaire très embryonnaire : de tels coeurs sont dits myogènes.

Chez les crustacés en revanche, le déclenchement de la contraction cardiaque dépend de l'intégrité d'un système de cellules nerveuses (ganglion cardiaque) dont les corps cellulaires et les axones sont localisées dans la paroi dorsale du myocarde : de tels coeurs sont dits neurogènes.

Des critères pharmacologiques ont été établis, permettant de distinguer même lorsque les neurones intrinsèques n'ont pas été mis en évidence, les coeurs neurogènes des coeurs myogènes. C'est ainsi que l'acétylcholine accélère tous les coeurs neurogènes connus, alors qu'elle inhibe tous les coeurs myogènes (mollus-



Figure 5 : Représentation schématique de la circulation chez les Crustacés.

(MAYNARD, 1960)

BUS

A : aorte médiane antérieure ; V : vaisseau branchiopéricardique ;
C : capillaires de la surface respiratoire ; Ca.v. : valvule
cardio-artérielle ; G : tube digestif ; H : coeur ; o : ostioles ;
P : péricarde ; s.l. : ligaments suspenseurs ; V : sinus ventral

Les flèches en trait plein indiquent le déplacement de l'hémolymphe dans les vaisseaux. Les flèches en pointillé, la direction de la circulation dans les sinus. ques, vertébrés). L'éther bloque l'activité des premiers alors que les seconds demeurent insensibles à son action.

La démonstration de l'automaticité neurogène des coeurs de crustacés et plus généralement des arthropodes, a été tentée par de nombreux auteurs à l'aide de méthodes les plus diverses. KRIJGSMAN (1952) a fait la synthèse de l'ensemble des travaux effectués jusqu'en 1951, donc antérieurs à l'utilisation des techniques microélectrophysiologiques. Les données les plus probantes en faveur d'un automatisme d'origine nerveuse sont dues à WELSH et MAYNARD (1951), MAYNARD (1955), MATSUI (1955) : le ganglion cardiaque des décapodes reste actif après son isolement et cette activité précède toujours d'au moins 10 à 14 ms les réponses électriques et mécaniques du myocarde ; de plus, les portions de muscle cardiaque montrant une activité spontanée contiennent encore une ou plusieurs cellules nerveuses.

2. Description du coeur.

Le coeur, de forme pentagonale, est situé dans la région postérieure du céphalothorax. D'une taille de 1 cm environ dans ses plus grands axes, il est appendu au tégument de la face dorsale par le péricarde, paroi mince et transparente. La partie ventrale du sinus péricardique est formée par un tissu élastique, le septum péricardique, possédant de nombreuses connexions avec les organes viscéraux sous-jacents.

Le coeur est percé de 3 paires d'ostioles : 2 paires dorsales, 1 paire latérale.

Les artères sont au nombre de 7. Antérieurement, on trouve

-30-

une artère ophtalmique, une paire d'artères antennaires, plus latéralement un paire d'artères hépatiques, postérieurement une artère abdominale et enfin se détachant de la face ventrale, une grosse artère, l'artère sternale.

Chaque orifice artériel est limité par des valvules contrôlant ainsi le flux unidirectionnel de l'hémolymphe. Ces valvules représentent d'ailleurs un obstacle à la canulation de l'artère sternale.

Quand la paroi myocardique dorsale est fendue et reclinée (fig 6) apparaît la structure tridimensionnelle du muscle cardiaque. Les couches musculaires constituant les parois s'anastomosent entre elles alors que des faisceaux bien distincts traversent la cavité cardiaque de part en part. Ce sont ces bandelettes musculaires qui sont disséquées pour l'étude de la préparation "faisceau musculaire isolé".

3. Histologie.

Des coupes sériées de coeur isolé ont été pratiquées, principalement dans le but de repérer et de localiser exactement le ganglion cardiaque et par là même les cellules nerveuses responsables de l'automatisme. Néanmoins, il nous a paru intéressant de faire une étude du myocarde lui-même, afin d'en préciser la structure et d'en tirer des corrélations existant entre cette struc ture et le fonctionnement. Les colorations utilisées sont les colorations topographiques générales (Hématoxyline de Groat-picroindigocarmin ; azan) ou certaines colorations spécifiques des cellules nerveuses (Hématoxyline plumbique).

-31-



Figure 6 : Musculature interne du coeur de Carcinus.



3.1 Le muscle cardiaque

3.1.1 Epicarde

L'épicarde enveloppe entièrement le myocarde sauf au niveau des ostioles. Il est composé de plusieurs couches de cellules de forme et de taille variées, caractérisées par un cytoplasme homogène et un noyau excentré (fig 7). Il peut atteindre une épaisseur de 400 à 500 microns. Il est limité extérieurement par une couche amorphe de 4 à 5 microns d'épaisseur. Entre l'épicarde et le myocarde, la même couche amorphe est présente, mais elle est plus difficilement observable, son épaisseur étant de l'ordre du micron.

3.1.2 Myocarde

Sur les coupes histologiques, le myocarde présente un aspect spongieux. En effet, les fibres musculaires ne s'agencent pas en une structure dense et régulière comme chez les vertébrés, mais en un réseau lâche de faisceaux de fibres. Cellesci peuvent soit courir parallèlement les unes aux autres formant ainsi de véritables faisceaux musculaires, soit s'anastomoser entre elles.Les zones de convergence entre ces différents faisceaux présentent alors un aspect étoilé, les fibres radiant dans tous les sens à partir de la zone de jonction. Coupées longitudinalement, les fibres musculaires apparaissent striées transversalement elles sont multinuclées, le cytoplasme est périphérique, les myofibrilles centrales. Leur diamètre moyen est de 30 microns.

3.1.3 Endocarde

Il n'existe pas d'endocarde, signalons cependant qu'en lieu et place de celui-ci se rencontrent des cellules inters

-33-

titielles en étroite association avec les fibres musculaires.

La structure cardiaque de Carcinus moenas présente donc l'aspect général de celle décrite chez les décapodes (MAYNARD, 1960). Nos observations histologiques sont à rapprocher de celles de HOWSE, FERRANS et HIBBS (1970) sur le coeur de langouste (Procambarus clarkii) à cause d'une nette similitude de structure. Ces derniers auteurs attribuent à l'épicarde un rôle de réserve glycogénique et, secondairement, un rôle préventif dans la distension exagérée du coeur lors de la diastole. Il est tentant d'établir comme le font également ces auteurs, une corrélation physiologique entre l'absence de vascularisation cardiaque et l'aspect spongieux du myocarde qui permet ainsi à chaque fibre d'être baignée par l'hémolymphe circulant dans la cavité cardiaque ; les échanges nutritionnels et gazeux seraient alors rendus possible et, de plus, facilités par la stucture d'aspect lâche des fibres du myocarde. Quant aux zones de jonction entre les faisceaux de fibres, HOWSE et coll. leur confèrent un rôle dans la mécanique cardiaque : la structure en trabécules du myocarde suggère que des points d'attache stables des fibres musculaires sont nécéssaires pour une contraction efficace ; les zones de convergence des fibres seraient ces points stables. Si l'aspect de ces zones n'est pas à négliger en ce sens qu'elles laissent entrevoir selon HOWSE et coll. un rôle mécanique, il ne faut pas non plus négliger l'hypothèse d'un rôle électrique dans la conduction de la dépolarisation membranaire déclenchant la contraction.

Nos observations n'ayant portées que sur des coupes histologiques classiques, en microscopie optique, il ne nous est donc pas possible de préciser l'aspect de certaines structures telles que les myofibrilles et le réseau sarcotubulaire que seule la microscopie électronique révèlerait. L'ultrastructure du myocarde des autres décapodes qui pourrait nous apporter un élément de réponse a été relativement peu étudiée. Citons toutefois les travaux de SMITH (1963), KAWAGUTI (1963), KOMURO (1969-70) et principalement œux de HOWSE et coll. (1971). Les résultats récents de ces derniers auteurs montrent que les myofibrilles du coeur de Procambarus sont composées de filaments fins (50 A) et de filaments épais (166 Å) apparaissant en coupe transversale disposés régulièrement 6 filaments fins entourent un filament épais. De plus sont observés un système d'invaginations de la membrane plasmatique (système T), un réticulum sarcoplasmique et des disques intercalaires au niveau de la ligne Z.

3.2 Le ganglion cardiaque

La présence de cellules nerveuses dans la paroi myocardique des décapodes révélée dès 1877 a été seulement analysée finement de 1929 à 1952 par ALEXANDROWICZ qui grâce à la coloration au bleu de méthylène, précise de façon remarquable la structure du ganglion cardiaque des crustacés décapodes (1932), stomatopodes (1934) et isopodes (1952). C'est ainsi que chez les décapodes, le ganglion contient des cellules nerveuses dont le nombre et la disposition sont constants pour chaque espèce ; généralement chez les individus marins, on trouve 9 corps cellulaires, 5 grands et 4 petits ; les grands étant situés à la partie

-35-



Figure 7. Détail de la partie externe du muscle cardiaque de Carcinus moenas montrant en particulier l'épicarde et et des fibres musculaires coupées transversalement et obliquement (Hématoxyline de groat).



Figure 8. Ganglion cardiaque de Carcinus moenas.

a : vue de la partie postérieure du ganglion (Hématoxyline de Groat) ; b : détail de la partie postérieure du ganglion montrant une grosse et une petite cellule ; c : détail d'une petite cellule (Hématoxyline de Groat). antérieure du tronc ganglionnaire, les petits à la partie postérieure, exception faite des brachyoures dont 2 grands se trouvent rejetés à la partie postérieure.

Le ganglion cardiaque de Carcinus moenas reconstitué d'après les coupes frontales de coeur (fig Sa) se présente sous la forme d'un tronc bifurqué à ses deux extrémités, parfaitement bien délimité et occupant la région médio-dorsale du myocarde. Selon la taille des crabes, il s'étend sur une longueur de 2 à 5 mm et envoie de nombreuses ramifications dans les fibres musculaires. Comme chez tous les brachyoures, nos observations témoignent de l'existence de 3 grandes cellules nerveuses occupant la partie antérieure du ganglion, les 6 autres étant groupées à la partie posrieure. La dimension des cellules varie avec la taille des animaux Chez les individus de petite taille, les grosses cellules ont une dimension de 80 microns sur 40 (fig 8b, 9a et c) alors que celle des petites n'est que de 20 sur 14 (fig 8b et c, 9b).

3.3 Conclusion

Nos observations anatomiques et histologiques nous permettent donc de conclure qu'il est possible d'obtenir un petit lambeau myocardique dépourvu d'éléments nerveux. Ceci, comme nous le préciserons ultérieurement, est très important pour l'analyse de nos résultats électrophysiologiques présentés aux chapîtres suivants.

-37-



Figure 9. Ganglion cardiaque.

a : détail d'une grosse cellule postérieure montrant en particulier son axone (Azan) ; b : détail de la partie postérieure du ganglion montrant deux petites cellules côte à côte la zone sombre dans la partie supérieure gauche du cliché représente une portion cytoplasmique d'une grosse cellule postérieure (Azan) ; c : une grosse cellule antérieure dont l'axone est nettement visible (Hématoxyline plumbique).

II. ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE COEUR ISOLE D U

1. Electrogenèse dans les conditions normales.

L'enregistrement du PM, nous l'avons déjà précisé, est effectué à l'aide de microélectrodes flottantes dont l'impédance est comprise entre 7 et $15 \text{ M}\Omega$. Il faut souligner dès à présent que l'utilisation de ces électrodes est délicate pour le coeur de Carcinus moenas du fait même semble-t-il, de la présence d'une adventice épaisse. En effet, l'emploi d'électrodes dont le diamètre à la pointe est de l'ordre de 0,5 micron fut toujours particulièrement problématique, la microélectrode se bouchant très rapidement, souvent même avant de pouvoir enregistrer le PM.

L'électrogramme interne du myocarde de Carcinus moenas est caractérisé par un potentiel diastolique de 65,7 mV (= 4,5 mV) et par un potentiel d'action d'une amplitude moyenne de 50 mV.

Les figures 10a, b, c représentent les réponses les plus couramment enregistrées : le PA se détache brusquement de la ligne diastolique isopotentielle pour atteindre un niveau de polarisation de -20 à -10 mV avec une vitesse de l'ordre de 10 V/s. La repolarisation s'effectue en deux phases : l'une rapide formant la pointe du PA et l'autre plus lente formant un plateau peu marqué. Sur ce plateau viennent se greffer 2 à 3 pointes qui, dans les conditions normales, n'atteignent ou ne dépassent jamais l'amplitude de la première pointe. La durée de ces PA, fonction du nombre de pointes secondaires, varie entre 200 et 400 ms.

La figure 10d montre un potentiel d'action dont la phase de repolarisation est dépourvue d'accidents électriques, sa durée n'est alors que de 220 ms. Il faut signaler que ce genre de PA

-40-

se rencontre assez peu souvent et que de plus il ne semble pas y avoir de relation entre la présence ou l'absence de pointes secondaires et l'état physiologique de la préparation, puisqu'après 10 à 15 heures de survie, les coeurs isolés présentent toujours une activité mécanique et un PA dont le décours ne varie pas d'allure comme le montrent les tracés de la figure 11.

Il faut noter également que la fréquence des battements cardiaques est plus ou moins grande selon le débit de perfusion ; pour un débit moyen, elle est généralement comprise entre 1 et 1,2 cycles par seconde. De plus, le débit de perfusion influe sur le nombre de pointes. La figure 12 donne un exemple de l'influence du débit du liquide physiologique sur le nombre de pointes secondaires et sur la fréquence des battements.

Les enregistrements de l'électrogramme intracellulaire de Carcinus moenas sont quelque peu différents de ceux décrits par LAPLAUD et coll. (1961). Si ces derniers auteurs enregistrent des PA dont la morphologie est tout à fait semblable à celle que nous présentons, par contre la valeur de l'amplitude du PA est de 100 mV pour ces auteurs et n'est que de 50 mV dans nos conditions expérimentales. Il faut cependant indiquer que nos enregistrements sont en tout point semblables à ceux obtenus par BROWN (1964) sur le même matériel, tant en ce qui concerne la morphologie, l'amplitude du PA et la valeur du PR.

Ainsi, les électrogrammes sont caractérisés par une faible amplitude du PA, par l'absence d'inversion de potentiel, par la

-41-



Figure 10. Exemples d'activité électrique enregistrée dans les conditions normales, sur le coeur entier, en activité spontanée.



Figure 11. Evolution du PA du coeur isolé au cours du temps. a) PA enregistré après 20 mn de perfusion

b) PA enregistré après 12 heures de perfusion



Figure 12. Influence du débit de perfusion sur l'activité électrique cardiaque. Noter l'augmentation de la fréquence et la diminution du nombre de pointes secondaires.

- a) Débit lent
- b) Débit moyen
- c) Débit élevé



présence d'accidents électriques survenant lors de la phase de repolarisation et enfin par une faible valeur du PR. Ces caractéristiques, surtout l'amplitude du PA et celle du PR sont communes à la plupart des tissus cardiaques d'invertébrés mis à part ceux des insectes (MC CANN, 1961 ; MILLER, 1969) et communes aux tissus automatiques de vertébrés (HUTTER et TRAUTWEIN, 1956 ; WEST, 1955).

Quant aux accidents électriques, ils sont totalement différents de par leur morphologie des oscillations électriques de la membrane constituant le plateau du PA des stomatopodes (Squilla), des xiphosures (Limulus) et même de certains décapodes (Procambarus, Homarus) que les auteurs assimilent à des potentiels synaptiques déclenchés par le fonctionnement des cellules nerveuses du ganglion cardiaque. Si l'on admet donc que les pointes secondaires du PA de Carcinus ne sont pas des potentiels synaptiques, deux causes alors peuvent encore être à l'origine de ceuxci : soit, un tendance à l'automatisme du myocarde comme on l'observe entre autres sur le tissu conducteur de chien en milieu acide (CORABOEUF, BOISTEL et DISTEL, 1955), soit la trace électrotonique de PA naissant dans des zones plus ou moins éloignées de la zone d'enregistrement. En fait, les durées voisines des potentiels secondaires et du potentiel initial ainsi que la diminution du nombre de ces potentiels secondaires en fonction de la fréquence cardiaque nous conduisent à préférer, et nous rejoignons par là les hypothèses de LAPLAUD et coll., le deuxième point de vue. De plus, comme nous le verrons ultérieurement, la grande constan-

-44-

te d'espace de ce tissu plaide là encore, en faveur de la propagation électrotonique.

Quant aux mécanismes ioniques du PA et du PR, ils ne peuvent semble-t-il être comparés à ceux des tissus cardiaques de vertébrés du fait que les caractéristiques de ces PA et PR, comme nous l'avons signalé plus haut, sont très différentes.

Ainsi, une analyse des variations des caractéristiques du PM du coeur de Carcinus sous l'influence des changements de concentrations ioniques du milieu extracellulaire ou d'action d'inhibiteurs de perméabilité membranaire est rendue nécéssaire de façon à entrevoir les mécanismes ioniques.

2. Electrogenèse dans les conditions anormales.

2.1 Effets des variations de concentration ionique

2.1.1 Rôle du potassium

Les effets des milieux de concentration variée en K⁺, tant en ce qui concerne le PR que le PA, entraînent des modifications parfaitement et rapidement réversibles.

Sur le PR, ces variations en fonction du logarithme décimal (log) de la concentration externe en K⁺ se traduisent par une droite (fig 13) pour des $[K^+]_e$ supérieures à 12 mEq/1 : la pente de cette droite a une valeur de 57 mV pour des variations de 10 fois $[K^+]_e$.

Les dépolarisations obtenues en milieu hyperpotassique sont rapides ; c'est ainsi que lors du passage d'un milieu normal (12,7 mEq/1) à un milieu contenant 100 mEq/1, le PR passe d'une valeur de 66 à 30 mV en 20 secondes ; la phase finale de dépola-

-45-

risation de 30 à 15 mV est plus lente, elle dure quelques minutes.

Les hyperpolarisations observées en milieu hypopotassique sont importantes : pour une $\left[K^{+}\right]_{e}$ de 3 mEq/1, le PR passe de la valeur normale à une valeur moyenne de 91 mV.

Sur le PA, les milieux hyperpotassiques entraînent sa disparition quand le PR atteint une valeur de 35 mV.

En milieu hypopotassique, la pointe du PA s'éloigne du potentiel zéro de référence ; les accidents de la phase de repolarisation disparaissent, les PA deviennent triangulaires (fig 14b).

En l'absence de K^+ , apparaît une activité de type automatique qui peut se maintenir très longtemps (fig 14c).

Le fait que la valeur du PR se trouve sur la partie rectiligue de la droite expérimentale, elle même confondue pratiquementavec la droite théorique prévue par l'équation de Nernst, tend à montrer que le PR est essentiellement contrôlé par les mouvements potassiques à travers la membrane myocardique, la fibre se comportant comme une électrode au K^+ .

On peut également remarquer qu'à l'inverse des autres tissus excitables, la courbe expérimentale pour des $\left[K^{+}\right]_{e}$ faibles, ne s'éloigne pas notablement de la droite théorique, indiquant sans doute que la P_K ne diminue pas sensiblement ou que les autres perméabilités ioniques sont relativement peu importantes par rapport à P_w.

Par contre, l'absence totale de K⁺ dans le milieu externe ne provoque pas d'hyperpolarisation marquée, comme le montre la com-

-46-







Figure 14. Action des milieux hypopotassiques sur le PA.

PA obtenus :

- a) en milieu de référence (PR = -66 mV)
- b) dans un milieu contenant 6 mEq/l de K⁺ (PR = -80°
- c) dans un milieu sans K⁺ · activité de type automatique.



paraison des tracés a et c de la figure 14. Ce phénomène est généralement expliqué (HODGKIN et HOROWICZ, 1959) par la diminution de la P_{K} qui, de ce fait, rend la P_{Na} non négligeable ; dans ce cas ce n'est plus par l'équation de Nernst qu'est régi le PR mais par l'équation du champ constant (GOLDMAN, 1943).

Quant à l'activité automatique observée dans les milieux dépourvus de K⁺, elle peut s'expliquer par une lente diminution de P_K, le potentiel tendant alors vers le niveau critique de dépolarisation à partir duquel prend naissance la phase rapide de dépolarisation ; l'augmentation précoce de la P_K lors de la repolarisation explique alors la brièveté du PA, la valeur du PM tendant alors vers celle de la pile de concentration aux ions K⁺.

2.1.2 Rôle du chlore

Le remplacement du NaCl par le propionate ou l'acétate de sodium entraîne une hyperpolarisation maximale de 15 mV en moyenne qui s'installe plus rapidement en milieu propionate qu'en milieu acétate. Cette hyperpolarisation tend à diminuer au bout de 30 mn en milieu propionate et seulement au bout de 1 à 2 heures en milieu acétate.

Il est à noter que la membrane reste toujours très perméable au K⁺ même lorsqu'elle est hyperpolarisée par le milieu acétate : 3 mEq/l de K⁺ donne une valeur de PR de 100 à 105 mV. Pour des K⁺ e supérieures à 12 mEq/l, la relation linéaire de pente 58 mV qui exprime les variations du PR en fonction du log de $[K^+]_e$, en l'absence de Cl⁻, existe toujours (fig 15).

Le propionate et l'acétate provoquent une augmentation immédiate de l'amplitude du PA (fig 16b) de 5 à 10 mV et déclenchent

-48-

une activité sur les préparations inertes. Transitoirement, sur certains coeurs en rythme spontané, on observe une phase d'hyperactivité (fig 17) : la fréquence cardiaque est considérablemnt augmentée, les contractions sont désynchronisées, des accidents sur la phase initiale de dépolarisation du PA apparaissent. Finalement au bout de quelques minutes, le rythme se ralentit, les accidents disparaissent et les PA ont des décours semblables à ceux présentés aux figures 16c et 18 ; en effet, après la période transitoire d'hyperactivité, les PA enregistrés sur un même coeur ou sur des coeurs différents présentent un certain polymorphisme (fig 18).

Le fait que dans les conditions normales, le PR de la fibre myocardique se comporte comme une électrode au K⁺, laisse supposer que le Cl⁻ se distribue passivement de part et d'autre de la membrane selon l'équilibre de Donnan traduit par la relation : $\begin{bmatrix} K^+\\ e \end{bmatrix}_e \cdot \begin{bmatrix} Cl^-\\ e \end{bmatrix}_e = \begin{bmatrix} K^+\\ i \end{bmatrix}_i \cdot \begin{bmatrix} Cl^-\\ i \end{bmatrix}_i \cdot S'il en est ainsi, la substitu$ tion du Cl⁻ par des anions non pénétrants tels que le propionateou l'acétate doit entraîner une fuite de Cl⁻ intracellulaire etpar là même une dépolarisation transitoire tant que l'équilibre $<math>\begin{bmatrix} K^+\\ e \end{bmatrix}_e \cdot \begin{bmatrix} Cl^-\\ e \end{bmatrix}_e = \begin{bmatrix} K^+\\ i \end{bmatrix}_i \cdot \begin{bmatrix} Cl^-\\ i \end{bmatrix}_i$ n'est pas rétabli (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; HAYS, LANG et GAINER, 1968 ; HINKE et GAYTON, 197 ZOLLMAN et GAINER, 1970).

Cependant, l'hyperpolarisation observée peut s'expliquer en admettant d'une part, que la fibre s'enrichit en K⁺ comme semble le montrer la relation linéaire de la figure 15 et, d'autre part, que la P_{Cl} diminue. La diminution de la P_{Cl} par rapport à la P_{K}



Figure 15. Evolution de l'amplitude du PR en fonction du $\log \left[K^{+}\right]_{e}$: - en milieu très pauvre en Cl⁻, les ions Cl⁻ sont remplacés par les ions acétate (trait plein)

- en milieu de concentration normale en Cl (trait pointillé).



Figure 16. Evolution du PA en absence de Cl⁻.

a) PA de référence

b) après 5 mn d'action du milieu acétate

c) après 20 mn

Noter l'augmentation d'amplitude du PA et de celle du PR.



Figure 17. Phase d'hyperactivité observée 1 mn après la substitution du $\dot{C1}$ du liquide physiologique par l'acétate ou le propionate.



Figure 18. Exemples de PA obtenus après 20 mn d'action d'un milieu très appauvri en Cl⁻ (l'acétate ou le propionate remplace le Cl⁻).

c'est-à-dire la diminution du rapport P_{C1}/P_K expliquerait l'hyperpolarisation observée mais aussi les différences de comportement de la membrane selon que celle-ci serait plus ou moins perméable à l'anion de remplacement utilisé (HUTTER et PASHDA, 1959 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1959).

La phase d'activité mécanique qui suit le remplacement du Cl par un anion supposé imperméant a déjà été signalée par HODGKIN et HOROWICZ (1959) sur la fibre de grenouille et par MOUNIER (1970) sur la fibre musculaire striée de patte de Carcinus moenas. Cette activité du coeur est d'origine myocardique car elle se produit non seulement sur le coeur perfusé mais également sur des fibres cardiaques isolées. L'intervention éventuelle du ganglion cardiaque étant ainsi écartée, il semble probable que cette phase d'activité électrique et mécanique de fréquence élevée soit due à une diminution du seuil d'excitabilité liée à une augmentation de la perméabilité de la membrane au Ca⁺⁺ (P_{Ca}) puisque, comme nous l'avons constaté, les activités multiples disparaissent en l'absence de Ca⁺⁺. Cette phase d'hyperactivité que l'on peut enregistrer également au niveau des centres d'automatisme de vertébrés placés en milieu acide (CORABOEUF, BOISTEL et DISTEL, 1955), pourrait trouver sa cause dans les mouvements de Cl⁻ intervenant lors du remplacement de cet anion par un anion imperméant puisque HAU-DECOEUR (1971) montre que, sur les fibres musculaires striées de la patte de Carcinus moenas, la phase de dépolarisation du PA est due à une augmentation de la P_{Ca} couplée à une diminution de la P_{C1}.

En dépit du fait que l'absence de Cl entraîne des modifica-

-52-

tions de l'activité electrique, cet ion ne semble pas indispensable au fonctionnement du myocarde de Carcinus, alors qu'à l'inverse il l'est pour la fibre striée de la patte puisque son absen ce entraîne une disparition du PA (MOUNIER et GUILEAULT, 1970 ; HAUDECOEUR, 1971).

Le K^+ et le Cl^- extracellulaires n'étant pas indispensables au développement du PA cardiaque de Carcinus, l'origine du déclenchement et de la phase de dépolarisation du PA doit être recherchée dans les mouvements ioniques autres que ceux de ces ions à savoir dans ceux du Na⁺, du Ca⁺⁺ et du Mg⁺⁺, ions présents habituellement dans le milieu extracellulaire.

2.1.3 Rôle du sodium

Les modifications réversibles qu'entrainent les changements de concentration externe en Na⁺ touchent uniquement le PA, le PR restant stable.

Les milieux hyposodiques conduisent à une diminution de l'amplitude du PA (fig 19), l'évolution de cette amplitude en fonction du log de $\left[\operatorname{Na}^{+}\right]_{e}$ se traduit par une droite dont la pente a une valeur de 33 mV pour une variation de 10 fois $\left[\operatorname{Na}^{+}\right]_{e}$ (fig 20). Ces milieux entraînent également une diminution de la vitesse maximale de dépolarisation (100 p.100 Na⁺ : 10 V/s ; 50 p.100 Na⁺ : 4,2 V/s ; 25 p.100 Na⁺ : 1,5 V/s).

Dans un milieu totalement dépourvu de Na⁺, les PA disparaissent

Le fait que les variations de $\left[Na^{+} \right]_{e}$ n'entrainent pas de modi-

-53-



Figure 19. Action des milieux hyposodiques sur le PA.

- a) PA de référence
- b) PA enregistré 10 mn après le début d'action d'un milieu hyposodique (50 p.100)
- c) et 10 mn après le début d'action d'un autre milieu hyposodique (25 p.100).





fications du PR confirme bien l'hypothèse précédemment émise selon laquelle la fibre se comporterait comme une électrode au K^+ et qu'ainsi, elle serait en équilibre thermodynamique avec le milieu externe.

Quant au PA, la diminution de son amplitude et de sa vitesse de dépolarisation sont des arguments en faveur d'une participation des mouvements des ions Na⁺ lors de la phase de dépolarisation. Cependant la valeur de la pente de la droite exprimant les variations d'amplitude du PA en fonction du log de $\left[Na^{+}\right]_{e}$ n'étant pas de 58 mV pour une température de 20°C mais seulement de 33 mV, indiquerait que les mouvements des ions Na⁺ ne sont pas les seuls impliqués, à moins de supposer que l'augmentation de la P_{Na} ne permet pas d'accroître considérablement le rapport des perméabilités de la membrane aux ions Na⁺ et aux ions K⁺ (P_{Na}/ P_K) comme dans le cas des fibres de vertébrés.

2.1.4 Rôle des ions divalents (Mg^{++} et Ca^{++})

Les mouvements des ions Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺ ne semblent jouer aucun rôle dans le maintien du PR puisque celui-ci est insensible aux variations de la concentration extracellulaire de ces ions.

En ce qui concerne l'activité électrique, les ions Mg^{++} semblent égalementne jouer aucun rôle puisque le coeur très appauvri en ces ions conserve une phase d'activité normale, par contre les ions Ca⁺⁺ sont indispensables car leur absence supprime cette activité et, à faible concentration, le PA diminue d'amplitude (fig 21b). En milieu hypocalcique, la diminution d'amplitude varie selon une relation linéaire en fonction du log de $\begin{bmatrix} Ca^{++} \end{bmatrix}_e$

-55-

(fig 22), la pente de cette droite a une valeur de 30 mV.

En milieu hypercalcique, les PA n'augmentent pratiquement pas d'amplitude ; la phase de repolarisation est dépourvue d'accidents en particulier pour un milieu contenant 3 fois la $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{c}$ normale (fig 21c). En milieu plus riche en Ca⁺⁺ (5 fois), les PA disparaissent.

Tout comme chez les vertébrés (CORABOEUF, 1960 ; GUILBAULT, 1960 le tissu cardiaque de Carcinus moenas est insensible au Mg⁺⁺ en milieu de concentration normale en Ca⁺⁺.

Le Ca⁺⁺ ne joue aucun rôle dans le maintien du PR contrairement à ce qu'observe HOLLEY (1965) sur le myocarde d'un autre arthropode (Porcellio dilatatus) où son absence dépolarise la membrane, cette dépolarisation étant provoquée, selon l'auteur, par une augmentation de la P_{Na} .

La disparition de l'activité électrique en milieu hypercalcique (5 fois $\left[Ca^{++}\right]_{e}$) est, semble-t-il, à associer à la diminution d'excitabilité comme dans le cas de la fibre du tissu conducteur (WEIDMAN, 1955).

La pente de 30 mV exprimant les variations de l'amplitude du PA en fonction du log de $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ correspond à la pente théorique pour une pile de concentration aux ions Ca^{++} ; ceci semble démontrer le rôle primordial de ce cation dans la genèse du PA. Cependant l'absence de toute augmentation appréciable de l'amplitude de celui-ci en milieu hypercalcique ne nous permet pas de prendre en considération cette hypothèse sans réserves, d'autant plus que

-56-





- a) PA de référence (Ca⁺⁺ = 11,3 mEq/1)
- b) 10 mn après l'action d'un milieu hypocalcique (3 mEq/1
- c) 10 mn après l'action d'un milieu hypercalcique (3 fois







le Na⁺, comme nous l'avons vu précédemment, semble intervenir également dans la genèse de la phase de dépolarisation du PA.

2.1.5 Résumé et conclusion des effets des variations de concentration ionique.

L'analyse des résultats concernant l'action des variations de composition ionique du milieu externe montre que le PR de la fibre cardiaque de Carcinus moenas est sous la dépendance d'un équilibre thermodynamique satisfaisant à la relation suivante $\frac{\left[K^{+}\right]_{e}}{\left[K^{+}\right]_{i}} = \frac{\left[C1^{-}\right]_{i}}{\left[C1^{-}\right]_{e}}$ c'est-à-dire à l'équilibre de Donnan. Le PA, quant à lui, insensible à la présence ou non de Cl

dans le liquide physiologique semble, par contre, dépendre uniquement quant à son amplitude, des concentrations du Na⁺ et du Ca⁺⁺ puisque la suppression de l'un ou de l'autre de ces deux ions entraîne la disparition de toute activité électrique.

Ainsi l'action d'inhibiteurs de perméabilité membranaire tels que la tétrodotoxine (TTX) ou l'ion manganèse (Mn^{++}) devrait confirmer cette dernière hypothèse ; le tétraéthylammonium (TEA) inhi biteur de la perméabilité potassique d'activité devrait lui, nous renseigner sur le rôle éventuel de la P_K dans le décours du PA.

2.2 Effets des inhibiteurs de perméabilité ionique membranaire.

2.2.1 La tétrodotoxine (TTX)

La TTX considérée comme inhibiteur spécifique de la P_{Na} (NARASHI, 1964) ou plus exactement du "canal rapide" sodique (ROUGIER et coll., 1968) provoque sur le PA myocardique de Carcinus moenas des modifications rapides et parfaitement réversibles. A la concentration de 10^{-7} g/ml, dose habituellemnt utilisée par les auteurs dont CORABOEUF et VASSORT (1967), HOLLEY (1968) sur les tissus cardiaques, l'activité électrique est abolie en 2 à 3 secondes. A des concentrations de l'ordre de 10^{-8} et même de 5. 10^{-9} g/ml, l'activité électrique disparait progressivement en quelques minutes. Les figures 23 et 24 montrent les résultats de l'action de la TTX à la concentration de 10^{-8} g/ml sur le coeur isolé, perfusé respectivement par le milieu normal et par un milieu hypercalcique. Dans les deux cas, les pointes caractéristiques du PA disparaissent en quelques minutes.

Le fait que l'action de la TTX inhibe la phase rapide de la dépolarisation du PA de Carcinus, suggère que les mouvements de Na⁺ sont responsables de cette phase comme dans le cas des fibres myocardiques de vertébrés tels que le cobaye et le rat (CORAEOEUF et VASSORT, 1967). Il est intéressant de souligner que cette substance semble agir différemment au niveau de la fibre myocardique de Porcellio dilatatus puisque HOLLEY (1968) ne constate qu'un ralentissement de la vitesse de dépolarisation, l'amplitude de la pointe restant inchangée.

2.2.2 Le manganèse (Mn⁺⁺)

Le Mn⁺⁺, inhibiteur de la P_{Ca}, des PA communément appelés calciques (HAGIWARA et NAKAJIMA, 1966) ou du "canal" calcico-sodique de la membrane myocardique des vertébrés (ROU-GIER et coll., 1968) entraine selon sa concentration dans le liquide phy-



Figure 23. Evolution des PA en présence de 10^{-8} g/ml de TTX la $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ étant normale.

- a) PA de référence
- b) après 1 mn d'action
- c) après 2 mn
- d) après 5 mn
- e) 10 mn après le retour aux conditions normales.





- a) PA enregistré en milieu hypercalcique
- b) 1mn après le début d'action de la TTX
- c) après 3 mn
- d) après 5 mn
- e) Réversibilité 10 mn après le retour aux conditions normales.



siologique, au niveau des cellules de Carcinus, des modifications plus ou moins importantes de l'activité électrique. A la concentration de 2 mM/l, le chlorure de manganèse diminue l'amplitude du PA de quelques mV, rapidement et réversiblement (fig 25b). Par contre, à une concentration de 5 mM/l et au bout de quelques minutes, l'activité électrique disparaît presque totalement (fig 26c).

La diminution de l'amplitude du PA en présence de Mn⁺⁺ confirme le fait que le Ca⁺⁺ intervient pour une part importante dans les mécanismes ioniques impliqués lors de la dépolarisation ; cet effet important des ions Mn⁺⁺ sur la phase de dépolarisation est à rapprocher de celui également important de l'action des milieux appauvris ou privés de Ca⁺⁺. Ce dernier effet nous a conduit à formuler l'hypothèse selon laquelle la fibre se comporterait lors de la pointe du PA comme une électrode au Ca⁺⁺. Ainsi pour rendre compatible les effets du Ca⁺⁺ avec ceux du Na⁺, il faut émettre l'hypothèse d'une possible intervention de l'activité nerveuse du ganglion cardiaque sur celle du myocarde, les PA nerveux pouvant se propager électrotoniquement à la structure contractile, hypothèse qui permet en plus d'expliquer le rôle de la TTX sur les PA enregistrés sur le coeur entier.

2.2.3 Le tétraéthylammonium (TEA)

Depuis les travaux de FATT et KATZ (1953) sur les fibres de crabe, de FATT et GINSEORG (1958) sur la fibre d'écrevisse, de HAGIWARA et WATANABE (1955) sur le muscle de grenouille et de CORAEOEUF et VASSORT (1967) sur le muscle cardiaque des



Figure 25. Action des ions Mn^{++} à la concentration de 2 mEq/1

- a) PA de référence
- b) après 5 mn d'action du Mn⁺⁺
- c) Réversibilité après 10 mn de retour aux conditions normales.


Figure 26. Action des ions Mn^{++} à la concentration de 5 mEq/1

- a) PA de référence
- b) après 2 mn d'action du Mn⁺⁺
- c) après 5 mn
- e) Réversibilité après 10 mn de retour aux conditions normales.

vertébrés, on sait que le TEA est un inhibiteur de la ${\rm P}_{\rm K}$ d'activité.

Sur les fibres cardiaques de Carcinus, le TEA fait apparaître des PA de grande amplitude (fig 27d) dont l'allure générale rappelle celle des PA ventriculaires de rat (CORABOEUF, KAYSER et GARGOUIL, 1956). La figure 27 révèle en effet que ces PA sont caractérisés par une phase ascendante composite (tracé d) permettant de supposer que la prolongation de la phase de dépolarisation ainsi que celle de repolarisation serait due à l'apparition ou à la facilitation d'un courant entrant non contrebalancé par un courant sortant responsable de la phase terminale de repolarisation. Cette modification considérable du PA ne se produit que de rares fois lorsque le TEA est ajouté au liquide physiologique normal, son action se limitant alors bien souvent à une légère augmentation de l'amplitude du PA comme le montre le tracé c de la figure 27. Les tracés des figures 28 et 29 indiquent que ces effets sont d'ailleurs d'autant plus amples que la concentration en Ca⁺⁺ est d'autant plus forte. Il faut souligner que dans ce cas l'inversion de potentiel n'apparaît que très tardivement par rapport à la dépolarisation initiale. A cette inversion est associée une très violente contraction durable, voire une "contracture" semblant indiquer que les fibres myocardiques restent longtemps dépolarisées.

Si l'on admet, comme c'est le cas au niveau de la plupart des tissus excitables, que le TEA inhibe spécifiquement la P_{κ} d'acti-

-65-



Figure 27. Action du TEA (20 mEq/l).

- a) PA de référence
- b) après 5 mn d'action du TEA
- c) après 10 mn
- d) après 20 mn

Sur chaque cliché, le trait horizontal supérieur figure le zéro de potentiel.



Figure 28. Action des milieux hypercalciques (22,6 mEq/l) additionnés de TEA (20 mEq/l) sur les PA.

- a) PA de référence
- b) après 2 mn d'action du milieu hypercalcique-TEA
- c) après 5 mn
- d) après 10 mn
- e) après 20 mn

b) après 10 mn



Figure 29. Action des milieux hypercalciques (33,9 mEq/1) additionnés de TEA (20 mEq/1) sur le PA.

a) après 5 mn d'action du milieu anormal

(BUS)

vité, il faut en conclure que la faible amplitude du PA de la fibre de Carcinus placée dans les conditions normales est due d'une part, à la forte P_K de repos et, d'autre part, à l'activation peu importante des mécanismes dépolarisants. En effet, la diminution de la P_K d'activité provoquée par le TEA n'est généralement pas suffisante pour déclencher l'apparition de potentiels très amples, à moins d'augmenter le gradient de concentration du Ca⁺⁺.

La sensibilité au Ca⁺⁺ des PA en milieu TEA tant en ce qui concerne leur amplitude que leur durée est prouvée d'une part, par l'influence de la $\left[Ca^{++}\right]_e$ et, d'autre part, comme nous le verrons ultérieurement, par leur disparition en présence de Mn⁺⁺.

Les potentiels "gigognes" observés par HOLLEY (1968) sur Porcellio dilatatus en milieu TEA, la concentration de Ca⁺⁺ étant normale, sont à rapprocher de ceux présentés à la figure 23 (tracé c) où la deuxième phase du PA se détache du début de la phase de repolarisation. Ceci suggère donc que dans le cas de Porcellio, la P_K de repos vis à vis des autres perméabilités ioniques de repos est moins forte que celle de Carcinus moenas, ce qui permettrait au PM de Forcellio d'atteindre plus facilement le potentiel d'équilibre de la pile de concentration aux ions Ca⁺⁺; HOLLEY signale en effet, qu'il est possible d'enregistrer des PA de grande amplitude même dans un liquide physiologique normal donc dépourvu de TEA.

Si la faible amplitude du PA de Carcinus est due, comme nous venons de le suggérer à l'existence d'une forte P_K de repos et

--68--

à une activation peu importante du courant de Ca⁺⁺, le fait de modifier l'un ou l'autre facteur ou les deux en même temps, doit entraîner l'apparition de potentiels de grande amplitude. L'action du TEA confirme en partie cette hypothèse et dans de telles conditions, l'adrénaline dont les effets sont connus sur la P_{Ca} (CARMELIET, 1969 ; VASSORT et coll., 1969) doit modifier la phase de dépolarisation. L'adrénaline en effet, comme nous allons le montrer, agent activateur de la P_{Ca} , augmente l'amplitude du PA d'autant plus que la P_{K} d'activité est plus inhibée par le TEA.

2.3 Effets de l'adrénaline et des inhibiteurs (TEA, Mn⁺⁺).

Les résultats les plus probants concernant l'adrénaline sont obtenus à la concentration de 10^{-5} M/1.

A la concentration de 5.10^{-5} M/l (fig 30b), la fréquence cardiaque est augmentée de 10 p.100 environ ainsi que l'amplitude du PA.

A la concentration de 10^{-5} M/l, après vingt mn d'action, la fréquence augmente de 100 p.100 et l'amplitude de 50 p.100 en moyenne (fig 30c et d), la pointe du PA atteignant souvent le potentiel zéro de référence. Il faut remarquer que le décrochement très net visible sur la phase ascendante ainsi que l'augmentation de durée du PA de la fibre soumise à l'action de l'adrénaline sont tout à fait semblables à ceux observés lors de l'action du TEA (voir fig 27 et 28).

De plus, l'augmentation de la concentration en Ca⁺⁺ simultanément à l'addition d'adrénaline dans le milieu conduit à l'obtention de PA de grande amplitude (80 mV) et de durée importante

-69-

comme le témoigne la figure 31 (tracé b).

Enfin, l'addition de TEA, à la concentration de 20 mEq/l et d'adrénaline à la concentration de 10^{-5} M/l entraîne l'apparition de PA de décours sigmoïde, comparables à ceux observés au niveau de la fibre myocardique de rat en hypothermie (GARGOUIL, 1958) d'une amplitude moyenne de 90 mV et de grande durée (fig 32b).

Dans les deux derniers cas, l'addition de $MnCl_2$ (1 à 2 mM/l) conduit à la disparition de la pointe des PA supposée précédemment de nature calcique. Cette disparition de la pointe par le Mn^{++} (fig 31c et 32c) confirme donc bien cette hypoyhèse.

Cet effet particulier de l'adrénaline sur l'activité électrique cellulaire, jamais signalé à notre connaissance chez les invertébrés, confirme l'hypothèse de la faible activation de la P_{Ca} lors de l'activité de la fibre myocardique de Carcinus placée dans le milieu physiologique normal ; cette faible activation de la P_{Ca} est de plus corroborée par l'étude des effets du Mn⁺⁺ agissant à très faible concentration (1 à 2 mM/1) sur l'amplitude du PA.

3. Résumé et conclusion de l'étude de l'action des ions et des inhibiteurs sur le PM cardiaque.

L'action combinée des ions, des inhibiteurs spécifiques de perméabilité membranaire et de l'adrénaline nous a permis de montrer :

- que la fibre au repos est en équilibre thermodynamique avec le milieu extracellulaire et qu'en cela le PR est sous la dépendance d'un équilibre de Donnan traduit par la relation $\begin{bmatrix} K^+ \end{bmatrix}_e \cdot \begin{bmatrix} CI^- \end{bmatrix}_e = \begin{bmatrix} K^+ \end{bmatrix}_i \cdot \begin{bmatrix} CI^- \end{bmatrix}_i$



Figure 30. Action de l'adrénaline $(10^{-5} M/1)$.

- a) PA de référence
- b) après 2 mn d'action de l'adrénaline
- c) après 10 mn
- d) après 20 mn

-71-



Figure 31. Action des ions Mn^{++} sur les PA de grande amplitude obtenus en milieu hypercalcique (33,9 mEq/l) additionné d'a-drénaline (10^{-5} M/l).

- a) PA de référence
- b) 10 mn après l'action du milieu hypercalcique-adrénatine
- c) après 20 s d'action des ions Mn⁺⁺ sur les PA obtenus en milieu anormal.



Figure 32. Action des ions Mn^{++} sur les PA de grande amplitude obtenus en milieu TEA (20 mEq/l) additionné d'adrénaline (10^{-5} /l)

- a) 10 mn après l'action du milieu TEA-adrénaline
- b) après 20 s d'action des ions Mn⁺⁺ sur les PA obtenus en milieu anormal.



- que le PA myocardique déclenché par l'activité automatique du ganglion nécéssite dans le liquide physiologique d'une part, la présence d'ions Na⁺ puisque le retrait de ces ions ou l'introduction de TTX au milieu supprime toute activité électrique et, d'autre part la présence d'ions Ca⁺⁺, puisque le retrait de ceux-ci ou la présence de Mn⁺⁺ abolit le PA.

Compte-tenu de ce qui précède, on pourrait penser que la fibre myocardique de Carcinus moenas en activité, se comporte comme la fibre myocardique de mammifères en ce sens que la phase de dépolarisation du PA serait de nature sodique et calcique. En cela, le comportement de cette fibre serait voisin de celle de Porcellio dilatatus (HOLLEY, 1968). Cependant, l'étude des ions Ca⁺⁺ nous a conduit à émettre l'hypothèse selon laquelle la fibre se comporterait comme une électrode au Ca⁺⁺ lors de la pointe du PA (action des milieux appauvris en Ca⁺⁺) et de plus, la nature sodique de cette phase de dépolarisation semble démontrée (action des milieux hyposodiques). Ces deux hypothèses contradictoires peuvent malgré tout se concilier dans la mesure où l'on émet l'hypothèse supplémentaire suivante : le PA de la fibre myocardique serait en fait un PA composite, en ce sens que la microélectrode permettrait d'enregistrer certes l'activité de la fibre, mais en plus, l'activité des éléments nerveux. Dans de telles conditions, la phase de dépolarisation du PA myocardique serait de nature calcique tandis que la nature sodique de la dépolarisation correspondrait au fonctionnement des éléments nerveux.

Ainsi, le problème reste donc de savoir si les ions Na⁺ interviennent effectivement lors de cette phase de dépolarisation du

-73-

PA ou si leur présence est seulement indispensable au fonctionnement du centre d'automatisme. L'utilisation de faisceaux de fibres musculaires isolés dont on sait, après étude histologique qu'ils ne possèdent pas d'éléments nerveux, devrait donc nous permettre de confirmer ou d'infirmer cette dernière hypothèse.

III. ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE

DES LAMBEAUX CARDIAQUES

Ce chapître concerne l'étude de l'action de certains ions et d'inhibiteurs de perméabilité ionique membranaire sur le PA des fibres myocardiques dépourvues d'éléments nerveux dans le but de confirmer l'hypothèse selon laquelle la phase ascendante du PA serait purement de nature calcique, la nature sodique du PA myocardique enregistré sur le coeur entier correspondant aux éléments nerveux.

1. Enregistrement dans les conditions normales.

1.1 Différentes réponses enregistrées.

La fibre myocardique du lambeau isolé est stimulée par des courants rectangulaires d'une durée de 250 à 300 ms conduits à l'intérieur de la fibre par une microélectrode.

Le PR, enregistré au niveau d'une bandelette musculaire isolée toujours prélevée au même endroit, est généralement inférieur à celui enregistré sur le coeur entier ; la valeur de ce PR n'est que de 58 mV.

Lors de la stimulation électrique, les réponses les plus couramment enregistrées sont présentées à la figure 33. Comme le montrent les tracés de cette figure, les courants dépolarisants entraînent l'apparition de très faibles réponses électriques graduées. La courbe courant-voltage de la figure 34 établie à partir de tracés équivalents à ceux de la figure 33, à la fin de l'impulsion électrique, montre l'existence d'une rectification normale pour des courants dépolarisants. Bien que nous n'ayons jamais enregistré l'activité mécanique, il est intéressant d'indiquer que le lambeau réagit au courant de stimulation par une variation de lon-



Figure 33. Exemples de réponses les plus couramment enregistrées par application de courants transmembranaires.

en bas : courant de stimulation en haut : réponses électriques



Figure 34. Courbe courant-voltage d'une fibre placée dans les conditions normales.

Les points représentent l'amplitude de la variation de potentiel membranaire pour les différents courants rectangulaires appliqués. gueur observable sous contrôle binoculaire. Ainsi, le raccourcissement est induit par des courants dépolarisants tandis que les courants hyperpolarisants induisent à l'inverse un relâchement, ce qui laisse entrevoir, au niveau de ce lambeau, la possibilité du déclenchement d'une activité mécanique sans seuil.

Il faut également souligner que les réponses graduées sont d' amplitude inégale d'une préparation à l'autre comme l'attestent les tracés des figures 33 et 35. En effet, les tracés de la figure 33 sont de faible amplitude alors que ceux de la figure 35 sont plus amples et par là, présentent une allure quelque peu similaire à celle du PA enregistré sur le coeur entier.

Enfin, un troisième type de réponse peut être de rares fois enregistré (fig 36b) : il correspond alors à une réponse de type "tout ou rien".

Les faibles réponses graduées obtenues, par application de courants transmembranaires sur le lambeau de Carcinus, sont semblables à celles enregistrées par HOLLEY (1968) sur le myocarde entier de Porcellio. Toutefois, l'auteur ne signale pas l'existence de PA, sur le coeur privé d'automatisme, identiques à ceux qu'il enregistre normalement sur le coeur en fonctionnement spontané. On peut par contre, trouver une similitude entre nos réponses et celles signalées sur le muscle lisse par KURIYAMA et TO-MITA (1965), par TOMITA (1967) et sur le muscle de mollusque par TWAROG (1967).

Les fibres d'un tout petit lambeau de myocarde de Carcinus

-78-



Figure 35. Exemples de réponses graduées enregistrées dans les conditions normales.

Les tracés du haut correspondent à la réponse électrique, les tracés du bas correspondent aux courants rectangulaires appliqués.



Figure 36. Exemplos de réponses "tout ou rien" enregistrées dans les conditions normales.

- a) réponse sous-liminaire : réponse locale
- b) réponse "tout ou rien"



dépourvu d'éléments nerveux comme cela a été montré au chapître I, laisse entrevoir une hétérogénéité fonctionnelle du fait de l'existence de réponses différentes enregistrées au niveau de cette préparation. Peut-être cette hétérogénéité dépendrait-elle entre autres de la polarisation faible des fibres, ou de certaines d'entre elles, ne permettant donc pas le déclenchement de la réponse par tout ou rien, peut-être aussi de fibres ayant des résistances de membrane de valeur différente et présentant de ce fait entre elles, des interactions électrotoniques plus ou moins fortes.

1.2 Causes possibles des réponses différentes.

Deux causes essentielles sont susceptibles, compte-tenu des données classiques, d'être à l'origine de ces réponses différentes ; ce sont d'une part, le PR de faible amplitude et, d'autre part, la géométrie du tissu.

En ce qui concerne la première cause, il semble qu'il faille l'écarter. En effet, sur nos préparations, une même fibre peut au cours du temps, voir son activité électrique évoluer de réponses graduées en réponses de grande amplitude sans que pour autant la valeur du PR change. De plus, la pénétration de la microélectrode en divers endroits du lambeau permet l'enregistrement d'un PR de même valeur et des réponses d'allure différente. Ces constatations sont à rapprocher de celles de FORRESTER et SCHMIDT (1970) qui, en maintenant la membrane du muscle lisse de grenouille dans un état hyperpolarisé, enregistrent des potentiels électrotoniques dont le décours est en tout point semblable à ceux enregistrés à potentiel plus bas, ces potentiels électrotoniques

-80-

étant incapables de provoquer l'apparition d'une réponse par "tout ou rien". De même sur la fibre striée de la patte de Carcinus, HAUDECOEUR (1971) signale que l'hyperpolarisation n'entraîne pas d'augmentation d'amplitude de la réponse.

En ce qui concerne la deuxième cause, l'analyse de nos résultats que nous allons décrire, montre qu'elle peut être prise en considération. En effet, la figure 37a indique schématiquement le lieu d'enregistrement du potentiel électrotonique par rapport à l'électrode électrotonisante. La figure 37b montre que les interactions électrotoniques entre les cellules sont particulièrement importantes puisque le décrément exponentiel varie peu d'amplitude en fonction de la distance inter électrode. La constante d'espace déterminée graphiquement à partir de la courbe de la figure 38 donne une valeur de 1,2 mm.

Ces résultats concernant les interactions électrotoniques des fibres cardiaques de Carcinus sont à rapprocher de ceux obtenus par BROWN (1964) sur le myocarde de Squilla, par VAN DER KLOOT (1970) sur le myocarde de Procambarus. Par contre, PARNAS et coll. (1969) sur le coeur de Limulus et ANDERSON et COOKE (1970) sur celui de Homarus signalent l'absence d'interactions.

Ainsi l'existence de l'importante propagation électrotonique dans le myocarde de Carcinus tendrait à montrer que la résistance membranaire est de forte valeur ; à l'appui de cette hypothèse, TOMITA en 1967 sur les fibres lieses de mammifères, TILLE (1966) sur les fibres myocardiques de lapin, FABIATO et GUILBAULT

-81-



Figure 37. Mise en évidence des interactions électrotoniques.

- a) Représentation schématique de la position de l'électrode de stimulation par rapport à l'électrode d'enregistrement
 - E_R : électrode d'enregistrement
 - \mathbb{E}_{S} : électrode de stimulation

b) Interactions électrotoniques entre les fibres musculaires d'une même bandelette myocardique.



Figure 38 : Mise en évidence de la propagation électrotonique. Détermination graphique de la constante d'espace.



(1967) sur celles de cobaye montrent que les interactions électrotoniques sont très faibles et que leur seuil d'excitabilité est élevé ce qui correspond, comme cela est maintenant admis, à une valeur de résistance faible. De plus à l'appui de l'existence d'une valeur élevée de la membrane myocardique de Carcinus, on peut faire remarquer que les courants utilisés, comme l'attestent les tracés de la figure 37, sont de très faible valeur. Enfin, l'existence de cette forte résistance s'accorde avec le fait que la fibre myocardique se comporte comme une électrode au K⁺.

2. Enregistrement de l'activité électrique dans certaines conditions anormales (rôle primordial du Ca⁺⁺).

Le TEA, employé à la concentration de 20 mEq/l transforme les réponses graduées (fig 39a) en PA ayant d'une part, une grande amplitude, celle-ci atteignant dans le cas de la figure 60 mV, (la moyenne étant de 80 mV)et, d'autre part, une grande durée (fig 39b).

La figure 39c montre que la suppression des ions Na⁺ remplacés par des ions choline, n'entraîne pas de variations du PA de grande amplitude obtenu en milieu TEA. Ainsi, ce résultat montre que la phase ascendante ne semble pas de nature sodique ce qui est d'ailleurs confirmé par l'absence d'effets d'un milieu sans sodium sur le PA normal et par la suppression du PA en milieu dépourvu de Ca⁺⁺ (fig 40). La figure 41 confirme également, comme cela a été montré sur le coeur isolé, l'absence d'effets des ions C1⁻.

Ainsi, le Ca⁺⁺ apparaît comme le seul ion dont la présence soit indispensable dans le milieu extracellulaire pour permettre le



Figure 39. Transformation des réponses graduées en réponses de grande amplitude sous l'influence du TEA (20 mEq/1).

- a) réponse graduée (conditions normales)
- b) après 10 mn d'action du TEA ($\begin{bmatrix} Na^+ \end{bmatrix}_e = 509 \text{ mEq/l}$) c) après 15 mn d'action du TEA ($\begin{bmatrix} Na^+ \end{bmatrix}_e = 0$) ; l'augmentation apparente du courant de stimulation est due à une sortie de la microélectrode de stimulation.



Figure 40. Action des ions Ca⁺⁺ sur les réponses graduées de la fibre myocardique.

- a) réponse graduée de référence
- b) après 10 mn d'action du milieu sans Ca⁺⁺



Figure 41. Rôle des ions Cl⁻ sur les réponses de grande amplitude obtenues en milieu TEA.

- a) PA en milieu TEA
- b) PA après 15 mn d'action d'un milieu TEA, dépourvu de Cl⁻ (le Cl⁻ est remplacé par l'acétate).

maintien de l'activité électrique. En effet, un milieu ne contenant que du Ca⁺⁺ à la concentration normale et dont la pression osmotique est compensée par du saccharose, n'entraîne aucune variation de l'activité électrique de la fibre même 40 mn après son immersion dans ce milieu anormal comme l'atteste la figure 42.

3. Résumé et conclusion concernant l'étude électrophysiologique du lambeau.

L'étude de l'activité électrique des fibres myocardiques isolées a permis de montrer d'une part, qu'il existe de fortes interactions électrotoniques, ceci laissant donc supposer que chaque cellule peut être influencée par le fonctionnement de ses voisines ainsi que par celui des éléments nerveux et, d'autre part, que le PA est essentiellement de nature calcique.

A la lumière de ces constatations, il est alors possible de comprendre l'électrogenèse cardiaque du coeur entier. Le ganglion cardiaque délivre des potentiels d'action qui se propageant à travers tout le myocarde, déclencheraient alors la réponse électrique des cellules myocardiques, par activation de la perméabilité de la membrane à l'ion Ca⁺⁺.

Cette hypothèse présente l'avantage de permettre d'expliquer la sensibilité des PA du coeur isolé, à l'absence du Na⁺ ou du Ca⁺⁺ dans le milieu extracellulaire.

Enfin, bien que le problème n'ait pas fait l'objet d'une étude approfondie, il faut malgré tout souligner le rôle de la polarisation membranaire des fibres myocardiques de Carcinus sur son activité mécanique. En effet, bien que l'activité mécanique n'ait pas été enregistrée mais seulement observée sous contrôle binocu-

-87-



Figure 42. Rôle exclusif des ions Ca⁺⁺ dans la genèse du PA du lambeau myocardique.

- a) réponse graduée obtenue en milieu normal
- b) réponse obtenue après 20 mn d'action d'un milieu ne contenant que des ions Ca⁺⁺ à la concentration normale et des ions propionate comme anions d'accompagnement, la pression osrotique étant rétablie à sa valeur normale par du saccharose.

laire, l'on peut signaler sans aucun doute possible que les variations de potentiel provoquées par des courants rectangulaires induisent selon leur sens, soit un raccourcissement (contraction), soit un allongement (relâchement). Ce comportement particulier du coeur de Carcinus n'est pas pour surprendre puisque déjà BROWN en 1964 l'observe sur le coeur de Squilla ainsi que HOLLEY en 1968 sur le coeur de Porcellio. De même, récemment ROUGIER, VASSORT et FAVELIER (1971) décrivent un tel phénomène sur les fibres isolées sinoauriculaires de grenouille. Pour ces derniers auteurs, le niveau de polarisation de la membrane déterminerait le taux de Ca⁺⁺ libre intracellulaire et par là, l'état de tension. Ce point de vue, bien que du domaine de l'hypothèse, a le mérite d'expliquer le relâchement des préparations lors d'une hyperpolarisation de la membrane. RESUME et CONCLUSIONS GENERALES

.....

Le but de ce présent travail a été de tenter de combler une lacune concernant les perméabilités membranaires ioniques de la fibre cardiaque d'un crustacé marin (Carcinus moenas).

Les modifications des concentrations ioniques du liquide physiologique ainsi que l'addition à celui-ci d'inhibiteurs spécifiques de perméabilité membranaire et d'adrénaline ont permis d'entrevoir différents aspects du problème.

Le PM de la fibre cardiaque de Carcinus moenas est caractérisé par un PR dont la valeur est de l'ordre de 66 mV et par un PA de faible amplitude, sans inversion de potentiel et présentant, lors de la phase de repolarisation, des accidents électriques. Diverses observations telles que la durée semblable des potentiels secondaires et du potentiel initial, de la diminution du nombre des pointes en fonction de la fréquence ainsi que la constante d'espace suffisamment grande du tissu myocardique, nous permettent de penser que les accidents électriques sont en fait dus à la propagation électrotonique de PA naissant dans des zones plus ou moins éloignées de la zone d'enregistrement.

- Potentiel de repos

Les mouvements ioniques intervenant dans le maintien du PR sont essentiellement de nature potassique puisque sa valeur est une fonction linéaire du log $\begin{bmatrix} K^+ \end{bmatrix}_e$, la pente étant de 58 mV, du moins pour des concentrations égales ou supérieures à celle du liquide de perfusion.

Ceci implique donc que les ions Cl⁻ se distribuent passivement de part et d'autre de la membrane selon le gradient électrique, la fibre se trouvant ainsi en équilibre thermodynamique

-91-

avec le milieu extracellulaire. Cet état peut s'exprimer par la relation $\begin{bmatrix} K^+ \end{bmatrix}_i \cdot \begin{bmatrix} Cl^- \end{bmatrix}_i = \begin{bmatrix} K^+ \end{bmatrix}_e \cdot \begin{bmatrix} Cl^- \end{bmatrix}_e \cdot$

Les hyperpolarisations, maintenues ou transitoires, observées lors du remplacement des ions Cl⁻ par des anions considérés comme imperméants (non pénétrants) tels que le propionate ou l'acétate, peuvent s'expliquer d'une part, par une diminution de la P_{Cl} par rapport à la P_{K} (HODGKIN et HOROWICZ, 1959) et, d'autre part, par un enrichissement de la fibre en K⁺ (fig 15).

Le fait que le PR de cette fibre soit régi par l'équilibre de Donnan est corroboré, comme ceci a été montré, par l'absence d'effets sur la valeur du PR, des variations de concentration externe des ions Na⁺ et des ions divalents.

A ce sujet, il est intéressant de souligner la différence entre la fibre cardiaque de Carcinus et la fibre musculaire striée de la patte du même animal, en ce qui concerne le rôle des mouvements des ions dans le maintien du PR puisqu'il a été montré cidessus que la fibre cardiaque est en équilibre thermodynamique avec le milieu externe tout comme d'ailleurs les fibres squelettiques de grenouille (HODGKIN et HOROWICZ, 1959) et du crabe Callinectes (HAYS et coll., 1968), alors que le PR de la fibre de la patte (MOUNIER, 1970 ; MOUNIER et GUILEAULT, 1970) est dù à un potentiel de diffusion aux ions K^+ , Cl⁻ et Na⁺.

- Potentiel d'action

Les effets des variations de concentration ionique du milieu externe ont montré que le PA enregistré sur le coeur entier, perfusé, en activité spontanée, est sous la dépendance des ions Na⁺ et Ca⁺⁺, le Cl⁻ n'étant pas indispensable au développement du PA.

Que le Na⁺ et le Ca⁺⁺ interviennent de façon prépondérante dans la genèse du PA n'est pas pour surprendre puisqu'il est connu maintenant que le PA des fibres myocardiques de vertébrés présente une phase de dépolarisation qui est due essentiellement à un fort courant entrant de Na⁺ ou de Na⁺ et de Ca⁺⁺ (ROUGIER et coll., 1968 et 1969). Cependant, le fait que la valeur de l'amplitude du PA de la fibre myocardique de Carcinus diminue linéairement en fonction du log $|Ca^{++}|_e$, la pente étant de 30 mV, semble démontrer le rôle primordial du courant de Ca⁺⁺. Cette hypothèse se trouve cependant en apparence en contradiction avec nos résultats concernant l'action des inhibiteurs de P_{Na} (TTX) et de P_{Ca} (Mn⁺⁺) ; les effets de ces inhibiteurs semblent confirmer la nature calcico-sodique de la phase de dépolarisation du PA enregistré sur le coeur entier puisque l'introduction de l'un ou de l'autre de ces inhibiteurs dans le liquide de perfusion annule rapidement et réversiblement toute activité électrique.

La nature sodique de la phase de dépolarisation, mise en évidence également lors de l'étude des milieux appauvris en Na⁺, ne peut se comprendre que si l'on admet l'hypothèse d'un PA composite. En effet, sur le coeur entier, non seulement serait enregistrée l'activité du myocarde proprement dit c'est-à-dire des éléments musculaires, mais également celle des éléments nerveux, activité qui se propagerait électrotoniquement dans le myocarde. Cette dernière hypothèse se trouve en effet confirmée par l'étude de l'activité électrique de minces bandelettes musculaires isolées. Sur ces préparations, la suppression des ions Ha⁺ du milieu externe n'entraîne aucune modification du PA myocardique. De plus, la nature essentiellement calcique de la dépolarisation est prouvée par le maintien d'une activité électrique normale pendant plus de 40 mn, après le remplacement du liquide physiologique par un liquide ne contenant que du Ca⁺⁺ à la concentration normale, l'anion d'accompagnement étant l'ion propionate, la pression osmotique étant compensée par un apport convenable de saccharose.

Ainsi, contrairement à ce qui se passe chez la fibre striée de la patte de Carcinus où le développement du PA est dù à l'activation de la P_{Ca} associée à une diminution de la P_{Cl} (HAUDE-COEUR, 1971), le PA de la fibre cardiaque de Carcinus se rapproche de celui des fibres lisses de mammifères, ce deruier PA étant dù essentiellement à un fort courant entrant de Ca⁺⁺ (MIEONNEAU et LENFANT, 1971). D'ailleurs, d'autres caractéristiques telles que l'absence de rectification anormale, la faible amplitude du PA transformé en réponse de grande amplitude par le TEA, plaident là encore en faveur d'un fonctionnement voisin (STEFANI et STEIN-BACH, 1969 ; FORRESTER et SCHMIDT, 1970 ; ITO, KURIYAMA et SAKA -MOTO, 1970).

Quant à la faible amplitude du PA, elle pourrait s'expliquer soit, par le maintien lors du PA d'une forte P_K dominant toujours les autres perméabilités et ramenant ainsi rapidement le PM vers sa valeur de repos, valeur égale à celle de la pile de concentration aux ions K⁺ soit, par une faible activation des mécanismes dépolarisants. En fait, il semble qu'il faille faire intervenir ces deux phénomènes puisque premièrement, l'introduction dans le liquide de perfusion d'un inhibiteur de la P_K d'activité (TEA) transforme les réponses normales de faible amplitude en PA très amples et très durables, transformation d'autant plus fréquente et plus ample que la $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ est plus forte et que deuxièmement , l'addition d'adrénaline (agent activateur de la P_{Ca}) dans le liquide physiologique entraîne aussi l'apparition de PA également d'autant plus amples que la $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ est elle-même plus forte ou que la P_K d'activité est plus inhibée par le TEA.

-96-RESUME

L'étude des variations du PM en fonction des variations de concentrations ioniques externes et de l'action des inhibiteurs de perméabilité membranaire ainsi que de l'adrénaline a permis d'interpréter

- le PR comme étant dû à une pile concentration aux ions K⁺, les ions Cl⁻se distribuant passivement de part et d'autre de la membrane selon l'équilibre de Donnan traduit par la relation $\frac{\left[K^{+}\right]_{e}}{\left[K^{+}\right]_{i}} = \frac{\left[Cl^{-}\right]_{i}}{\left[Cl^{-}\right]_{e}}, \text{ les mouvements des ions Na}^{+}, Ca^{++} \text{ et Mg}^{++}$ ne se produisant pas quand la fibre est au repos.

- le PA du coeur entier comme étant un PA composite, la nature calcique de ce PA étant d'origine purement myocardique comme l'atteste l'absence d'effets de la substitution des ions Na⁺ par la choline sur le PA des fibres musculaires cardiaques isolées, la nature sodique étant due aux éléments nerveux (centre d'automatisme du coeur des crustacés) dont l'activité électrique se propagerait électrotoniquement à la structure contractile.

BIBLIOGRAPHIE

ALEXANDROWICZ, J.S. (1932)

The innervation of the heart of crustacea. I- Decapoda Quart. J. Micr. Sci., 75, 181-249.

ALEXANDROWICZ, J.S. (1934)

The innervation of the heart of crustacea. II-Stomatopoda. Quart. J. Micr. Sci., 76, 511-548

ALEXANDROWICZ, J.S. (1952)

Innervation of the heart of Ligia oceanica.

J. Marine Biol. Assoc. United Kingdom, 33, 709-719

ANDERSON, M. et COOKE, I.M. (1970)

Electrophysiology of the heart of the lobster, Homarus americanus.

J. Gen. Physiol., 55, 137.

BOYLE, P.J. et CONWAY, E.J. (1941)

Potassium accumulation in muscle and associated changes. J. Physiol., 100, 1-63.

BROWN, H.F. (1964)

Electrophysiological investigation of the heart of Squilla mantis. II- The heart muscle.

J. exp. Biol., <u>41</u>, 701-722.

BULBRING, E. et TOMITA T. (1968)

The effect of Ba^{++} and Mn^{++} on the smooth muscle of guineapig toenia coli.

J. Physiol., 196, 137P.

BURGEN, A.S.V. et TERROUX, K.G. (1953)

The membrane resting and action potentials of the cat auricle. J. Physiol., 119, 139-152.

CARMELIET, E. (1960)

L'influence de la concentration extracellulaire du K^+ sur la perméabilité de la membrane des fibres de Purkinje de mouton pour les ious $42K^+$.

Helv. Physiol. et Pharmacol. acta, 18, C15.
CARMELIET, E. (1961)

Chloride ions and the membrane potential of Purkinje fibres. J. Physiol., Londres, 156, 375-388.

CARMELIET, E. et VEREECKE, J. (1969)

Adrenaline and the plateau phase of the cardiac action potential. Importance of Ca^{++} , Na^{+} and K^{+} conductances. Pflügers Arch., 313, 300-316.

CARRICABURU, P. et FILLIOL, M.H. (1962)

E.C.G. intracellulaire de la langouste.

C. R. Soc. Biol., Paris, 156,716-718.

CHEVAL, J. (1966)

Changeur d'impédance à transistor à effet de champ. Electronique et électromécanique appliquée à la physiologie. Bull. d'information technique CNRS 2.

CHIARANDINI, D.J., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GRUNDFEST, H. (1970) Effects of caffeine on crayfish muscle fibers. I- Activation of contraction and induction of Ca-spike electrogenesis. J. Gen. Physiol., 55, 640-664.

CORABOEUF, E. (1960)

Aspects cellulaires de l'électrogenèse cardirque chèz les vertébrés.

J. Physiol., Paris, 52, 323-417.

CORABOEUF, E., EOISTEL, J., DISTEL, R. (1955)

Les différentes modalités de l'activité électrique du tissu conducteur de mammifàre.

C. R. Soc. Biol., 149, 1138-1142.

CORABOEUF, E., DELAHAYES, J., SJOSTRAND, U. (1969)

A comparative study of K^{42} and Na^{24} movement during the cardiac cycle.

Acta Physiol. Scand., 76, 40-48.

CORABORUF, E., KAYSER, C., GARGOUIL, Y.M. (1953)

Enregistrements parallèles de l'E.C.G. externe et de l'activité électrique d'une fibre myocardique unique chez trois mammifères.

C. R. Acad. Sci., Paris, 243, 1444-1447.

CORABOEUF, E. et OTSUKA, M. (1956)

L'action de solutions hyposodiques sur les potentiels cellulaires du tissu cardiague de mammifère.

C. R. Acad. Sci., Paris, 243, 441-444.

CORABOEUF, E. et VASSORT, G. (1967)

Effets de la TTX, du TEA et du Mn sur l'activité du myocarde de rat et de cobaye.

C. R. Acad. Sci., Paris, 264, 1072-1075.

DRACH, P. (1939)

Mue et cycle d'intermue chez les crustacés décapodes. Ann. Inst. Océanogr., <u>19</u>, 103-391.

FABIATO, A. et GUILBAULT, P. (1967)

Stimulation par microélectrode du ventricule de cobaye. J. Physiol., Paris, <u>59</u>,236.

FATT, P. et GINSEORG, B.L. (1958)
The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibers.
J. Physiol., Londres, 142, 516-543.

FATT, P. et KATZ, B. (1953)

The electrical properties of crustacean muscle fibers. J. Physiol., Londres, 120, 171-204.

FORRESTER, T. et SCHMIDT, H. (1970)

An electrophysiological investigation of the slow fiber system in the frog rectus abdominis muscle.

J. Physiol., Londres, 207, 477-492.

GAINER, H. et GRUNDFEST, H. (1968)

Permeability of alkali metal cations in lobster muscle.

a comparison of electrophysiological and osmometric analysis.

J. Gen. Physiol., 51, 399-425.

GARGOUIL, Y. M. (1958)

Relation entre l'activité électrique cellulaire et globale du coeur et certains aspects de son métabolisme. Thèse de doctorat. Poitiers,

GAYTON, D.C. et HINKE, J.A.M. (1971)

Evidence for the heterogenous distribution of chloride in the barnacle muscle.

Canad. J. Physiol. Pharmacol., 49, 323-330.

GIRARDIER, L., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GRUNDFEST, H. (1963)
Evidence for anion permeable membrane in crayfish muscle
fibers and possible role in excitation-contraction coupling.
 J. Gen. Physiol., 47, 189-214.

GOLDMAN, D.E. (1943)

Potential, impedance and rectification in membranes.

J. Gen. Physiol., 27, 37-60.

GUILBAULT, P. (1966)

Action des ions sur l'activité électrique et l'activité mécanique du coeur de mammifère. Thèse de doctorat. Orsay.

HAGIWARA, S., CHICHIBU, S., NAKA, K. (1964)

The effects of various ions on resting and spike of barnacle muscle fibers.

J. Gen. Physiol., 48, 163-172.

HAGIWARA, S. et NAKAJIMA, S. (1966)

Differences in Na and Ca spikes as examined by application of tetrodotoxin, procaine and Mn ions.

J. Gen. Physiol., 49, 793-806.

HAGIWARA, S. et WATANABE, A. (1955)

The effect of tetraethylammonium chloride on the muscle membrane examined with an intracellular microelectrode. J. Physiol., Londres, 129, 513-527.

HALL, A.E., HUTTER, O.F., NOBLE, D. (1963) Current-voltage relations of Purkinje fibers in sodium- deficient solutions. J.Physiol., Londres, 166, 225-

HARRIS, E.J. (1963)

Distribution and movement of muscle chloride.

J. Physiol., Londres, 166, 87-109

HAUDECOEUR, G. (1971)

Etude des perméabilités ioniques membranaires de la fibre musculaire striée de crabe. Thèse de 3^{ème} cycle. Lille.

HAYS, E.A., LANG, M.A., GAINER, H. (1968)

A re-examination of the Donnan distribution as a mechanism for membrane potentials and potassium and chloride ions distributions in crab muscle fibers. Comp. Biochem. Physiol., 26, 761-792.

HINKE, J.A.M. et GAYTON, D.C. (1971) Transmembrane K⁺ and Cl⁻ activity gradients for the muscle fiber of the giant barnacle. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 49, 312-322.

HOLLEY, A. (1968)

Physiologie du coeur d'un crustacé isopode : activité mécanique, électrique, régulation nerveuse. Thèse de doctorat. Poitiers.

HOLLEY, A. et SALOMON, C. (1965)

Action des ions Ca⁺⁺ sur l'activité mécanique et l'activité électrique intracellulaire du coeur isolé d'un crustacé isopode.

C.R. Soc. Biol., Paris, 159, 2005-2009.

HODGKIN, A.L. (1951)

The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc., 26, 339-409.

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (1959)

The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibers.

J. Physiol., Londres, 148, 127-160.

HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1952)

Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol., 17, 43-52.

HODGKIN, A.L. et HUXLEY, A.F. (1952)

Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo.

J. Physiol., Londres, 116, 449-472.

A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol., Londres, 117, 500-544.

HODGKIN, A.L. et KATZ, B. (1949)

The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid.

J. Physiol., Londres, <u>108</u>, 37-77.

HOWSE, H.D., FERRANS, V.J., HIBBS, R.G. (1970) A light and electron microscopic study of the heart of a crayfish, Procambarus clarkii.I-Histology and histochemistry. J. Morphol., <u>131</u>, 237-251.

HOWSE, H.D., FERRANS, V.J., HIBBS, R.G. (1971) A light and electron microscopic study of the heart of a crayfish, Procambarus clarkii. II-Fine structure. J. Morphol., 133, 353-373

HUTTER, O.F. et NOBLE, D. (1961)

Anion conductance of cardiac muscle.

J. Physiol., Londres; 157, 335-350.

HUTTER, O.F. et PASHDA, S.M. (1959)

Effect of nitrate and other anions on the membrane resistance of frog skeletal muscle.

J. Physiol., Londres, <u>146</u>, 117-132.

HUTTER, O.F. et TRAUTWEIN, W. (1956)

Vagal and sympathetic effects on the pacemaker fibers in the sinus venosus of the heart.

J. Gen. Physiol., 39, 715-733.

ILDEFONSE, M. et ROUGIER, O. (1968)

Activation et inactivation du courant potassique de la fibre musculaire squelettique.

C.R. Acad. Sci., Paris, 267, 2344-2347,

IRISAWA, H., IRISAWA, A., MATSUBAYASHI, T., KOBAYASHI, M. (1962) The nervous control of the intracellular action potential of the Squilla mantis heart.

J. Cell Comp. Physiol., 59, 55-60.

ITO, Y., KURIYAMA, H., SAKAMOTO, Y. (1970)

Effects of tetraethylammonium chloride on the membrane activity of guinea-pig stomach smooth muscle.

J. Physiol., Londres, 211, 445-460.

KAWAGUTI, S. 1963)

Electron microscopic study on the cardiac muscle of the horseshoe crab.

Biol. J. Okayama Univ., 9, 11-26.

KOKETSU, K. (1965)

The role of calcium in membrane excitation.

Proc. Int. Physiol. Sci., 4, 521-541.

KOMURO, T. (1969)

The fine structure cardiac muscle.

J. Electron Microscop., 18, 291-297.

KRIJGSMAN, B.J. (1952)

Contractile and pacemaker mechanisms of the hearts of arthropods.

Biol. Rev., 27, 320-346.

KURIYAMA, H. et TOMITA, T. (1965)

The responses of single smooth muscle cells of guinea-pig toenia coli to intracellularly applied currents and their effect on the spontaneous electrical activity.

J. Physiol., Londres, 178, 270-289.

LAPLAUD, J., TRICOCHE, R., GARGOUIL, Y.M., CORABOEUF, E. (1951) Enregistrement de l'activité électrique intracellulaire du coeur de crabe (Carcinus moenas).

C. R. Soc. Biol., 155, 1990-1993.

LING, G. et GERARD, R.W. (1949) The normal membrane potential of frog sartorius fibers. J. Cell Comp. Physiol., 34, 383-396.

LOCKWOOD, A.P.M. (1968)

The neuromuscular system, in "Aspects of the Physiology of crustacea".

Olivier et Boyd Ed. Edimburgh et London 160-205.

Electrical activity in single cells of the moth myocardium. Fed. Proc., 10, 124.

MC CANN, F.V. (1962)

Electrical activity in single myocardial cells of Limulus polyphemus.

Science, 137, 340-341

MAYNARD, D.M. (1955)

Activity in a crustacean ganglion. II- Pattern and interaction in burst formation.

Biol. Bull., 109, 420-436.

MAYNARD, D.M. (1960)

Circulation and heart function in "The Physiology of Crustacea" VI.

Ed. Talbot Waterman, Academic Press, New york and London.

MATSUI, K. (1955)

Spontaneous discharges of the isolated ganglionic trunk of the lobster heart (Palinurus japonicus).

Sci. Rep. Tokyo kyoiku Daig., 7B : 163-176.

MILLER, T. (1969)

Initiation of activity in the cockroach heart. Experientia, suppl. 15.

MIRONNEAU, J. et LENFANT, J. (1971)

Analyse des réponses électriques de la fibre musculaire lisse d'utérus de ratte : mise en évidence d'un courant lent calcico-sodique.

C. R. Acad. Sci., 272, 436-440.

MOUNIER, Y. (1970)

Conductances ioniques membranaires de repos de la fibre musculaire de crabe.

Thèse de 3^{ème} Cycle. Lille.

MOUNIER, Y. et GUILBAULT, P. (1970)

Influence du chlore sur les phénomènes électriques de repos de la fibre musculaire striée de crabe. C. R. Acad. Sci., 271, 415-418 NARASHI, T., MOGRE, J.W., SCOTT, W.R. (1964)

TTX blockage of sodium conductance increase in lobster giant axons.

J. Gen. Physiol., 47, 965-974.

NONOMURA, Y., HOTTA, Y., OHASHI, H. (1966)

Tetrodotoxin and manganese ions : effects on electrical activity and tension in taenia coli of guinea-pig. Science, 152, 97-99.

ORKAND, R.K. (1962)

Chemical inhibition of contraction in directly stimulated crayfish muscle fibers.

J. Physiol., Londres, 164, 103-115.

PARNAS, I., ABBOTT, B.C., LANG, F. (1969) Electrophysiological properties of Limulus heart and effect of drugs. Amer. J. Physiol., 217, 1814-1823.

REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GARCIA, H., GRUNDFEST, H. (1967) Excitation- contraction coupling in crayfish. Amer. Zool., 7, 623-645.

ROBB, J. et RECH, R. (1964) Analysis of action potentials in cardiac muscle of Limulus polyphemus.

J. Cell Comp. Physiol., 63, 299-307.

ROUGIER, O., VASSORT, G., GARNIER, D., GARGOUIL, Y.M., CORABOEUF, E. (1968)

Données nouvelles concernant le role des ions Na⁺ et Ca⁺⁺ sur les propriétés électrophysiologiques des membranes cardiaques, existence d'un canal lent.

C. R. Acad. Sci., 266, 802-805.

ROUGIER, O., VASSORT, G., GARNIER, D., GARGOUIL. Y.M. CORABOEUF, E. (1969)

Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential. Pflügers Arch., 308, 91-110

.

ROUGIER, O., VASSORT, G., STAMPFLI, R. (1967)

Expériences de voltage-clamp de fibres musculaires cardiaques à l'aide de la technique du sucrose-gap. J.Physiol., Paris, 59, 490.

SHAW, J. (1955)

Ionic regulation in the muscle fibers of Carcinus moenas.

I- The electrolyte composition of single fibers.

J. exp. Biol., 32, 383-396.

SMITH, J.R. (1963)

Observations of the ultrastructure of the myocardium of the common lobster (Homarus americanus) especially of the myofibrils.

Anat. Rec., 145, 391-400.

STEFANI, E. et STEINBACH, A. B. (1969)

Resting potential and electrical properties of the frog slow muscle fibers. Effects of different external solutions. J. Physiol., Londres, 203, 383-401.

TANAKA, I., SASAKI, Y., SHIN- MURA, H. (1966)

Some observations on the electrical activity in the cardiac muscle fiber of horseshoe crab.

Jap. J. Physiol., 16, 142-153.

TILLE, J. (1966)

Electrotonic interaction between muscle fibers in the rabbit ventricle.

J. Gen. Physiol., 50, 189-201.

TOMITA, T. (1967)

Current spread in the smooth muscle of the guinea-pig vas deferens.

J. Physiol., Londres, 189, 163-176.

TRICOCHE, R. et TRICOCHE, M.B. (1956)

E.C.G. intracellulaire et mécanogramme du coeur de langouste : Palinurus vulgaris.

Vie et Milieu, 17, 187-197.

TWAROG, B.M. (1967)

Excitation of Mytilus smooth muscle.

J. Physiol., Londres, 192, 857-868.

VAN DER KLOOT, W. (1970)

The electrophysiology of muscle fibers in the hearts of decapod crustaceans.

J. exp. Zool., 174, 367-380.

VASSORT, G., ROUGIER, O., FAVELIER, J. (1971)

Influence du potentiel de membrane et de courants transmembranaires sur l'activité contractile des faisceaux sino-auriculaires de la grenouille.

Arch. intern. Physiol. Biochim., 79, 401-406.

VASSORT, G., ROUGIER, O., GARNIER, D., SAUVIAT, M.P., CORABOEUF, E., GARGOUIL, Y.M. (1969)

Effects of adrenaline on membrane inward currents during the cardiac action potential.

Pflügers Arch., 309, 70-81.

VICK, R.L., HAZLEWOOD, C.F., NICHOLS, B.L. (1970) Distribution of Na, K and Cl in canine Purkinje and ventricular tissues : relation to cellular potential. Circul. Res., 27, 159-170.

WEIDMANN, S. (1955)

Effects of Ca⁺⁺ and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibers.

J. Physiol., Londres, 129, 568-582.

WELSH, J.H. et MAYNARD, D.M. (1951)

Electrical activity of a simple ganglion.

Fed. Proc., 10, 145.

WERMAN, R. et GRUNDFEST, H. (1961)

Graded and all-or none electrogenesis in arthropod muscle. II- The effects of alkali-carth and onium ions on lobster muscle fibers.

J. Gen. Physiol., 44, 997-1027.

WEST, T.C. (1955)

Ultramicroelectrode recording from the cardiac pacemaker. J. Pharmacol., 115, 283-290. WILDE, W.S. (1960)

Cité par Coraboeuf (1960).

WOODBURY, J.W. et BRADY, A.J. (1956)

Intracellular recording from moving tissues with a flexibly mounted ultramicroelectrode.

Science, 123, 100-101.

ZOLLMAN, J.R. et GAINER, H. (1971)

Electrophysiological properties of nerve cell bodies in the sixth abdominal ganglion of the Maine lobster, Homarus americanus.

Comp. Biochem, Physiol., 38, 407-434.