50376
1972
11

50376
1972
11

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES
DE LILLE I

pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE ANIMALE
(3e cycle)

par

Maurice FALEMPIN

ETUDE DE LA CONTRACTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE DE CRABE

Carcinus maenas

BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE Section de SCIENCES LILLE

Soutenue le 14 mars 1972
devant la commission d'examen

M.M.	S. BOUISSET	Président
	P. GUILBAULT	Rapporteur
	J. P. ROUSSEAU	Examinateur

Travail réalisé au Laboratoire de Physiologie Cellulaire - UER de Biologie - LILLE

AVANT-PROPOS

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Physiologie Cellulaire de l'Université des Sciences et Techniques de Lille, sous la direction de Monsieur le Professeur GUILBAULT.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur GUILBAULT qui, après m'avoir enseigné la Physiologie, a bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire et me proposer ce thème de recherche. Ses conseils et ses critiques m'ont permis de mener à bien ce travail. Qu'il veuille trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur BOUISSET, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du Jury de cette thèse. Qu'il veuille bien croire à l'expression de mon profond respect.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur le Professeur ROUSSEAU qui, malgré ses nombreuses tâches, a bien voulu examiner ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire et a été facilité par l'aide plus ou moins directe de ses membres. Que chacun en soit remercié.

Madame Yvonne MOUNIER, Messieurs Gérard BRULE et Ghislain HAUDECOEUR, pour leur collaboration efficace ;

Madame Marie Madeleine GOUBEL et Monsieur Jean Pierre VILAIN, pour leur aide amicale ;

Mademoiselle Josiane BREBION, Madame Christine LECROART et Monsieur René COLSNE, pour leur active participation technique

Mademoiselle Brigitte COUSIN qui, en plus de son propre travail, a bien voulu assurer, avec beaucoup de gentillesse et de courage, la dactylographie de ce Mémoire.

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION 1

HISTORIQUE 5

I - Phénomène de la contracture

1. Caractéristique générale
2. Origine de la contracture

II - Types de contracture

III - Caractéristiques de la contracture potassique

1. Relation entre la tension maximale de contracture et la $[K^+]_e$
2. Relation entre la tension maximale de contracture et l'amplitude du potentiel de membrane (P.M.)

IV - Rôle des agents chimiques et physiques

1. Rôle du calcium (Ca^{++})
2. Rôle du sodium (Na^+)
3. Rôle du magnésium (Mg^{++})
4. Rôle de l'hypertonie

TECHNIQUES 32

A - ANIMAUX D'EXPERIENCE - DISSECTION

I - Animaux d'expérience

II - Dissection

B - TECHNIQUES D'ENREGISTREMENT

I - Installation de la fibre

II - Enregistrement de la tension développée

III - Mode d'action des différentes solutions

C - SOLUTIONS

I - Solution normale

II - Solutions anormales

1. Solutions dont la $[K^+]_e$ est modifiée
2. Solutions dont la $[Na^+]_e$ est modifiée
   . Milieux ne contenant pas de sodium
   . Milieux contracturants sans sodium
3. Solutions dont la $[Ca^{++}]_e$ est modifiée
   . Milieux hypocalciques
   . Milieux hypocalciques, enrichis en potassium
   . Milieux hypercalciques
   . Milieux hypercalciques, enrichis en potassium
4. Solutions hypertoniques
   . Milieux hypertoniques dont la $[K^+]_e$ est normale
   . Milieux hypertoniques contracturants
5. Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ est modifiée
   . Milieux hypomagnésiens
   . Milieux contracturants hypomagnésiens
   . Milieux hypermagnésiens
   . Milieux hypermagnésiens contracturants

6. Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ et la $[Ca^{++}]_e$ sont modifiées
   . Milieux hypermagnésiens hypercalciques
   . Milieux hypermagnésiens hypercalciques contracturants

RESULTATS 52

A - ETUDE DE LA CONTRACTURE DANS LES CONDITIONS NORMALES

I - Déclenchement de la contracture

II - Etude des durées des différentes phases de la contracture en fonction de la $[K^+]_e$

III - Relation entre le maximum de la tension de contracture et la $[K^+]_e$

IV - Relation entre le maximum de tension développée et le potentiel de membrane.

B - ETUDE DE LA CONTRACTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE DE CRABE EN MILIEU DEPOURVU DE SODIUM

I - Phénomènes mécaniques apparaissant liés à l'application de milieux sans Na^+

1. "Contracture spontanée"

2. Existence de secousses au début de la contracture potassique

II - Durées caractéristiques des différentes phases de la contracture en milieu sans Na^+

1. Action des milieux hyperpotassiques-choline après prétraitement de 10 mn par le milieu choline

2. Action des milieux hyperpotassiques-choline appliqués directement

III - Relation entre le maximum de tension développée et la $[K^+]_e$

IV - Comparaison des différentes phases

1. Comparaison des latences

2. Comparaison des durées de la phase ascendante

3. Comparaison des durées de la phase de relaxation

C - ETUDE DE LA CONTRACTURE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EXTRACELLULAIRE DE CALCIUM

I - Milieux hypocalciques

1. Etude de la contracture après 10 mn de prétraitement

1-1. Variations de la durée des phases ascendantes et de relaxation

1-2. Variations de la tension maximale développée lors de la contracture

2. Influence d'un prétraitement de durée variable de la fibre par un milieu pauvre en Ca^{++} ($[Ca^{++}]_{en.0,1}$) sur la contracture obtenue en milieu de $[Ca^{++}]_e$ variées

2-1. Action du milieu hyperpotassique ($[K^+]_{en.20}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$) après prétraitement par le milieu ($[K^+]_{en.1}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$)

2-2. Action du milieu hyperpotassique ($[K^+]_{en.20}$; $[Ca^{++}]_{en.1}$) après prétraitement par le milieu ($[K^+]_{en.1}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$)

II - Milieux hypercalciques

1. Etude de la durée de la phase ascendante et de la phase de relâchement

2. Action des milieux hypercalciques sur l'amplitude de la tension de contracture

III - Milieux hypertoniques isotoniques des milieux hypercalciques dont les effets viennent d'être étudiés.

D - ETUDE DE LA CONTRACTURE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EXTRACELLULAIRE DE MAGNESIUM

I - Action des milieux hypomagnésiens sur la tension de contracture

II - Action des milieux hypermagnésiens sur la tension de contracture

Pages

DISCUSSION - CONCLUSION 157

I - La contracture potassique de la fibre placée en conditions normales

II - La contracture potassique de la fibre placée en conditions anormales

RESUME 166

BIBLIOGRAPHIE 168

INTRODUCTION

Il est maintenant admis que la contraction des fibres musculaires est déclenchée par une variation brusque du potentiel de membrane associée à une entrée simultanée de calcium dans la fibre.

La dépolarisation de surface de la membrane sarcolemmique est conduite en profondeur grâce au système tubulaire transverse qui correspond à une invagination de cette membrane. La conduction de cette onde de dépolarisation à l'intérieur de la fibre par le système tubulaire transverse est réalisée, selon les auteurs, par un processus électrotonique ou par un processus de type régénératif. La dépolarisation ainsi conduite va pouvoir exciter le système membranaire constitué par le réticulum sarcoplasmique (système clos) qui, de ce fait, va libérer le calcium qu'il contient et ainsi permettre l'accroissement rapide de la concentration interne de cet ion. Cette augmentation de la concentration interne de calcium va être à l'origine du couplage mécano-chimique. Elle va permettre la libération d'un facteur de relâchement qui est associé au complexe actine-myosine-ATP. Le calcium prenant la place de ce facteur va accroître considérablement l'activité ATPasique de la myosine et par là provoquer l'hydrolyse de l'ATP, réaction enzymatique à l'origine de la libération d'énergie nécessaire au raccourcissement myofibrillaire.

Le présent mémoire concerne l'étude de la force contractile développée par la fibre striée squelettique de crabe soumise à l'action de diverses espèces ioniques. Le développement de la force contractile est provoqué par une dépolarisation artificielle et durable de la membrane sarcolemnique par action d'un milieu hyperpotassique. Dans de telles conditions, le développement de cette force au cours du temps est une contracture qui, dans le cas présent, est qualifiée de potassique, car l'agent dépolarisant est le potassium.

Cette étude a été entreprise dans le but de relier nos résultats à ceux antérieurement acquis sur la fibre de crabe tant en ce qui concerne l'activité électrique que l'activité mécanique, afin d'entrevoir les mécanismes concernant le couplage excitation-contraction des fibres d'Invertébrés. Ces fibres présentent par rapport aux fibres de Vertébrés, des différences tant du point de vue de leur structure de leurs propriétés électriques et mécaniques , comme le montrent les travaux de nombreux auteurs dont FATT et KATZ (1953) ; SHAW (1955) ; FATT et GINSBORG (1958) ; REUBEN, GIRARDIER et GRUNDFEST (1964) ; HAYS, LANG et GAINER (1968) ; MOUNIER, HAUDECOEUR et GUILBAULT (1969 a et b) ; ORENTLICHER et REUBEN (1971) ; HUXLEY (1956) ; SANDOW (1965, 1970) ; PEACHEY (1967). En effet, la fibre de Crustacé, et en

particulier celle de crabe, présente deux systèmes tubulaires transverses appelés par PEACHEY (1967) système T_{AI} et système T_Z. Le système T_{AI}, ayant un aspect identique au système tubulaire transverse (T_Z) des fibres squelettiques de Vertébrés, jouerait, de ce fait, le même rôle que ce dernier, à savoir un rôle dans le couplage excitation-contraction. Quant au système T_Z, du fait de sa morphologie et de sa grande dispersion dans la fibre, il n'aurait qu'un rôle de soutien (PEACHEY, 1967).

La première partie de ce travail porte tout d'abord sur les caractéristiques de la contracture potassique de la fibre musculaire de crabe, de façon à étudier la relation liant la force contractile à la concentration externe en ions potassium et par là au potentiel de membrane, afin de pouvoir définir la contracture de référence.

La deuxième partie concerne l'influence des ions présents habituellement dans le milieu extracellulaire sur l'amplitude de la contracture de référence dans le but de déterminer le rôle de chacun des ions dans l'initiation et le développement de la force contractile. Ont été étudiées : l'action de l'ion calcium (Ca^{++}) et l'action combinée de ce dernier avec celle du sodium (Na^{+}) de façon à voir si l'antagonisme Ca^{++} - Na^{+} mis en évidence pour la première

fois par NIEDERGERKE et LUTTGAU en 1957, est présent chez la fibre de crabe. De plus, cette deuxième partie concerne également le rôle exact des ions magnésium (Mg^{++}) considéré par la plupart des auteurs comme équivalent à celui des ions Ca^{++}, mais toutefois à un moindre degré cependant. Notre étude concernant le Mg^{++} nous incline à le considérer comme antagoniste du Ca^{++}.

La troisième partie concerne la discussion de nos résultats avec ceux obtenus antérieurement par différents auteurs, sur des préparations sinon identiques du moins très voisines de part leurs ultrastructure et propriétés, afin d'entrevoir les mécanismes présidant au couplage excitation-contraction des fibres d'Invertébrés.

HISTORIQUE

Le couplage excitation-contraction des fibres musculaires est caractérisé par une suite d'évènements qui surviennent lorsqu'une dépolarisation électrique de la membrane sarcolemmique entraîne une série de réactions qui provoquent le raccourcissement des myofibrilles.

Pour le muscle squelettique, de nombreux auteurs et plus particulièrement BOTTS (1957), MASHIMA (1963), SANDOW (1965 ; 1970) proposent différentes hypothèses dans le but d'élucider les mécanismes se déroulant pendant ce couplage. Il ressort de ces différents travaux l'idée générale suivante : la dépolarisation membranaire transitoire, le potentiel d'action (P.A.), donne naissance à un signal de nature électrique, qui est conduit à l'intérieur de la fibre par la voie du système tubulaire transverse (S.T.T.), lequel correspond à une invagination de la membrane sarcolemmique. Ainsi, la dépolarisation de surface conduite par ce système membranaire transverse permet l'excitation rapide des myofibrilles. En effet, le signal électrique permet l'excitation du réticulum sarcoplasmique (R.S.), lequel relâche un agent chimique : le calcium (Ca^{++}). Ce dernier se trouvant très rapidement à concentration élevée provoque le couplage mécano-chimique et par là active les protéines contractiles.

Cette idée générale du couplage excitation-contraction de la fibre musculaire squelettique de Vertébrés a été reprise pour l'étude du couplage excitation-contraction du muscle cardiaque et du muscle lisse, d'où les hypothèses émises pour le muscle cardiaque par NATORY et ISOJIMA (1963), BRADY (1964), et pour le muscle lisse par BOHR (1964) et TIMMS (1964) ; ces hypothèses ne sont pas fondamentalement différentes mais présentent cependant quelques originalités du fait de la structure différente de ces fibres musculaires.

Il est généralement admis (voir SANDOW, 1965, 1970) que la dépolarisation membranaire qui constitue le P.A. ne permet pas d'entrevoir les relations liant l'activité électrique et l'activité mécanique car il est impossible d'étudier directement le rôle du degré de dépolarisation sur l'amplitude de la contraction. Cependant, il faut noter que EDMAN et GRIEVE (1964), sur le couturier de grenouille, indiquent qu'une chute de l'amplitude de la contraction observée en milieu sans Ca^{++} peut s'expliquer par le déclin progressif du P.A.. La relation liant l'amplitude du raccourcissement myofibrillaire et le degré de dépolarisation peut cependant être étudiée, comme le précise SANDOW (1965), lors de l'étude des contractures. En admettant, bien sûr que les évènements se déroulant lors d'une telle réponse mécanique son

identiques à ceux survenant lors d'une contraction. Ainsi, les conclusions que l'on peut formuler à partir de l'étude de la contracture permettent de rendre compte, de façon satisfaisante, des phénomènes électromécaniques apparaissant lors de la secousse.

Le présent travail se rapportant à l'activité mécanique de la fibre musculaire de crabe et plus particulièrement à l'étude de la contracture, il convient de rappeler les résultats acquis dans ce domaine, sur les fibres musculaires d'Invertébrés sans oublier ceux concernant les fibres striées de Vertébrés ; ces derniers ayant, en effet, permis de jeter les bases concernant les mécanismes du couplage excitation-contraction.

I - PHENOMENE DE LA CONTRACTURE

1 - Caractéristique générale

Le phénomène de contracture est un phénomène différent de celui de la contraction en ce sens qu'il est en général d'apparition plus progressive et qu'il peut s'établir en absence de la rapide dépolarisation cellulaire propagée que constitue le P.A.

En effet, lors d'une contracture, la mise sous tension des myofilaments constitue une réponse artificielle, réponse pouvant être graduée en fonction de l'amplitude de la dépolarisation alors qu'à l'inverse, la mise sous tension observée au cours d'une secousse obéit à la loi du "tout ou rien" tout au moins pour les muscles squelettiques de Vertébrés. A l'inverse, les fibres d'Invertébrés et en particulier celles de barnacle (EDWARDS, CHICHIBU et HAGIWARA, 1964), celles de crabe (BRULE et coll., 1969), celles d'écrevisse (NAGAI, 1953) développent une tension mécanique qui est fonction de l'amplitude et de la durée du courant de stimulation et ainsi, les réponses sont de type gradué.

2 - Origine de la contracture

Le phénomène mécanique qu'est la contracture peut avoir des origines très différentes.

Dès 1958, LÜTTGAU et NIEDERGERKE montrent sur le coeur de grenouille que le remplacement du sodium extra-cellulaire (Na^+_e) par le chlorhydrate de choline augmente la force contractile de ce muscle et entraîne aussi le développement d'une contracture durable bien que, dans ce cas, il n'y ait pas de dépolarisation membranaire.

En 1965, FOULKS, PACEY et PERRY observent sur le muscle de grenouille que l'action de solutions privées d'ions chlore (Cl^-) conduit au développement d'une contracture d'amplitude variable mais dépendant cependant étroitement de la concentration des ions Ca^{++} du milieu. Ce type de contracture, dû à l'absence de Cl^- est également observé par GAINER (1968) sur le muscle de homard.

Un troisième type de contracture est obtenu lorsqu'est appliquée au muscle une solution enrichie en ions potassium (K^+). L'application d'une telle solution, entraînant une dépolarisation membranaire dont l'amplitude est une fonction linéaire du logarithme de la concentration externe en ions K^+, permet le développement d'une contracture. SZENT-GYORGYI (1952), HAJDU (1953) émettent l'hypothèse que le K^+ peut agir de deux façons : d'une part, par la dépolarisation qu'entraîne sa présence dans le milieu extracellulaire et d'autre part par l'action de cet ion au niveau même des myofibrilles et des molécules d'actomyosine. Ce moyen d'obtention de contracture des fibres musculaires a été appliqué par de nombreux auteurs, tant sur les Vertébrés que sur celles d'Invertébrés. Pour les Vertébrés, on peut citer les travaux de KUFFLER et VANGHAN-WILLIAMS (1953), SANDOW (1955), FRANK (1960), HODGKIN et HOROWICZ (1960),

EDMAN et SCHILD (1962), LÜTTGAU (1963), ETZENSPERGER (1970). Pour les Invertébrés, ce type de contracture est étudié par HOYLE (1953, 1961) et AIDLEY (1963, 1965) sur les muscles d'Insectes et par ATWOOD (1963), CALDWELL et WALSTER (1963), ATWOOD et DORAI RAJ (1964), ZACHAR et ZACHAROVA (1966), GAINER (1968), MOTO MATSUMURA (1968), HUDDART (1969) sur les muscles de Crustacés. Cependant, il faut remarquer que dans ce cas de contracture qualifiée de potassique, l'augmentation de la concentration en ions K^+ extracellulaires ($[K^+]_e$) peut être produite de différentes façons. En effet, l'augmentation de la $[K^+]_e$ est réalisée, soit dans des conditions d'isotonie, le produit $[K^+]_e \times [Cl^-]_e$ reste constant, soit dans des conditions d'hypertonie. Dans ce dernier cas, la $[Cl^-]_e$ est simultanément augmentée avec celle du K^+ ou au contraire est maintenue constante.

Un quatrième type de contracture apparaît lorsque les fibres musculaires sont soumises à l'action d'un alcaloïde puissant : la caféine. Ce type de réponse a été étudié par de nombreux auteurs sur diverses préparations. Pour les Vertébrés, on peut citer les travaux de GUTTMANN et SANDOW (1955) sur le muscle de rat, d'AXELSSON et THESLEFF (1958), FRANK (1962), LÜTTGAU et OETLIKER (1965), , WEBER et HERZ (1968) sur le muscle de grenouille. Pour les

Invertébrés, l'étude de ce type de contracture a été entrepris par CALDWELL et WALSTER (1963) sur la fibre musculaire de crabe et par CHIARANDINI et coll. (1970 a-b) sur la fibre musculaire d'écrevisse.

II - TYPES DE CONTRACTURE

La réponse des fibres musculaires consécutive à la dépolarisation membranaire provoquée par un excès de K^+ permet de classer les fibres en deux catégories. Dès 1953, KUFFLER et VANGHAN WILLIAMS observent, en effet, deux types de réponses mécaniques des fibres musculaires de grenouille, soumises à l'action de milieux hyperpotassiques.

Le premier type correspond aux fibres que l'on qualifie de toniques : en réponse à un enrichissement du milieu externe en ions K^+, elles développent une tension qui croît jusqu'à une valeur maximale et qui se maintient ensuite sensiblement à cette valeur tant que les fibres sont soumises à l'action dépolarisante du milieu hyperpotassique, la relaxation n'intervenant que lors de l'application du milieu normal. La courbe B de la figure 1 donne un exemple de ce type de contracture.

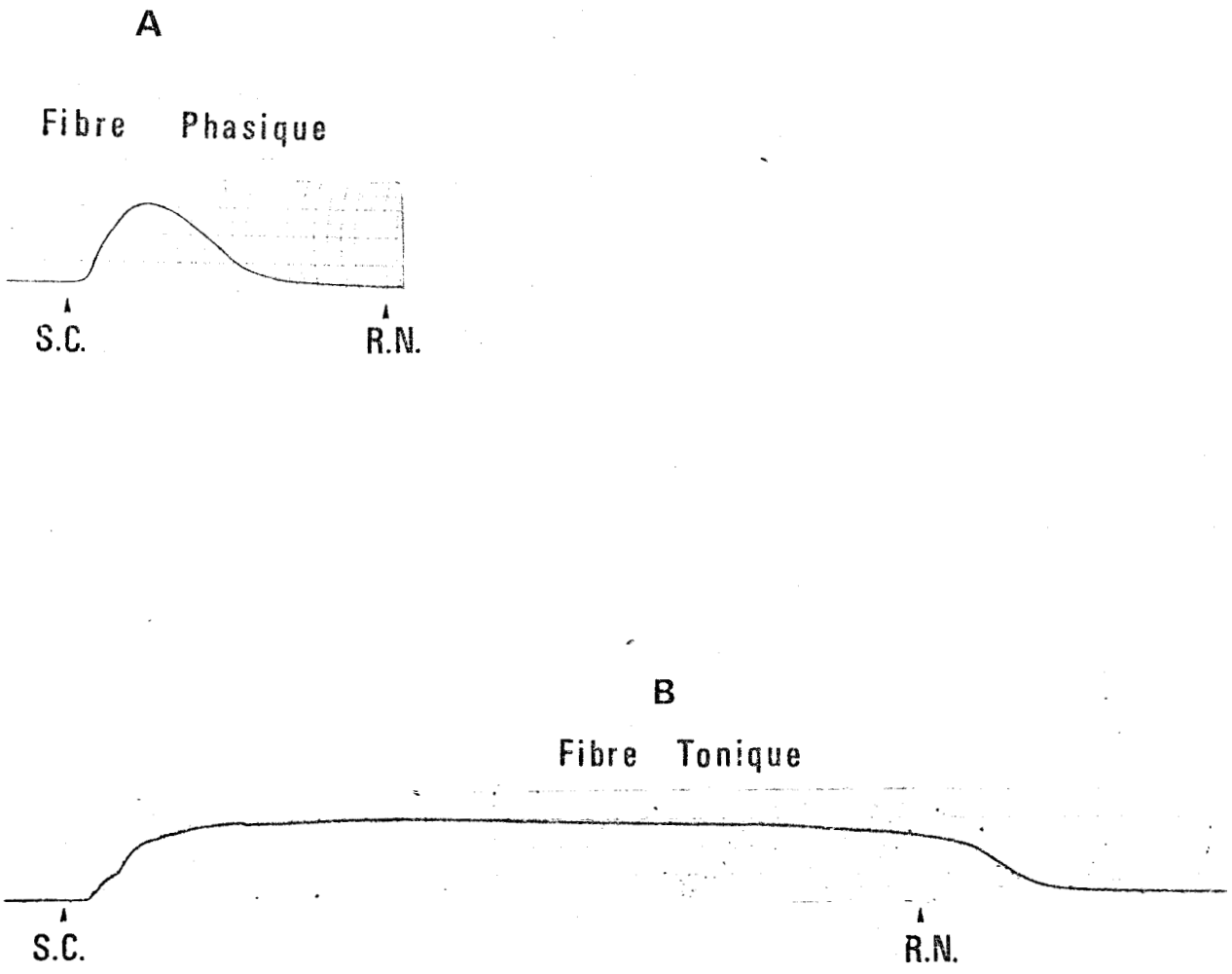


Figure 1 : Exemples des deux types de réponses obtenues suivant les deux types de fibres musculaires soumises à l'action d'une solution contracturante.

S.C. : solution contracturante

R.N. : Ringer normal.

BUS LILLE

Le deuxième type correspond aux fibres que l'on qualifie de phasiques : en réponse à la stimulation chimique, elles développent une tension qui croît plus rapidement jusqu'à une valeur maximale pour ensuite diminuer et s'annuler bien que les fibres soient toujours soumises à l'action du milieu riche en K^+. La courbe A de la figure 1 en donne un exemple.

Chez les Invertébrés, et en particulier chez les Crustacés, DORAI RAJ (1964) montre que le muscle fléchisseur accessoire du crabe (Cancer magister) contient des fibres musculaires du type phasique, mais aussi du type tonique. De plus, ces fibres diffèrent selon leurs caractéristiques morphologiques, leur P.A. et l'amplitude de leur potentiel de repos (P.R.). Ces deux types de contractures et de fibres sont retrouvées par ATWOOD et coll., la même année, sur le même muscle.

Ces deux types de réponses observés pour le muscle fléchisseur de crabe sont comparables à ceux décrits pour certains muscles de grenouille bien que leurs fibres présentent à la fois des caractéristiques morphologiques différentes (KRUGER, 1949 ; GRAY, 1958 ; PEACHEY et HUXLEY, 1962) et des propriétés électriques membranaires différentes (BURKE et GINSBORG, 1956).

III - CARACTERISTIQUES DE LA CONTRACTURE POTASSIQUE -

1 - Relation entre la tension maximale de contracture et la $[K^+]_e$

Une des caractéristiques essentielles de la tension développée lors de la contracture consiste en une gradation de la tension en fonction de la $[K^+]_e$. En effet, la relation liant cette tension au logarithme décimal de la $[K^+]_e$ (log $[K^+]_e$) correspond à l'équation d'une sigmoïde comme l'ont montré, pour la première fois, HODGKIN et HOROWICZ en 1960 sur le muscle de grenouille (Figure 2).

La courbe de la figure est, en effet, caractérisée par une première phase ascendante de pente faible, suivie d'une phase presque linéaire de pente importante, cette dernière précédant la phase finale caractérisée par un plateau de tension.

L'existence d'une telle relation entre la tension de contracture et le log $[K^+]_e$ mise en évidence par HODGKIN et HOROWICZ (1960) est en particulier retrouvée par LÜTTGAU (1963) sur les fibres phasiques de grenouille, par NASLEDOV et coll. (1966) sur les fibres toniques de grenouille, par AIDLEY (1965) sur les fibres de criquet, par ZACHAR et ZACHAROVA (1966) sur les fibres phasiques d'écrevisse, par GAINER (1968) sur les fibres de homard, par HUDDART (1969) sur les fibres de crabe.

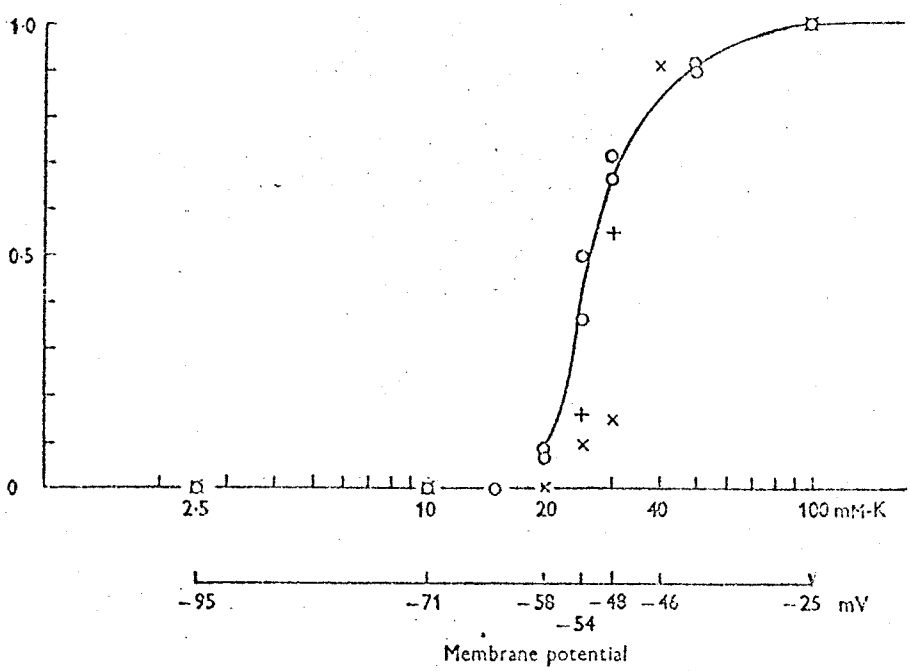


Fig. 2. Relation between peak tension and potassium concentration or membrane potential. ○, Fibre *E*, tension only. +, Fibre *G*, tension only. ×, Fibre *G*, tension and membrane potential. The numbers attached to the lower scale are the internal potentials measured at the same time as the tension. The scale for the potassium concentration is logarithmic and for potential is approximately linear, the difference in scale corresponding to 45 mV for a tenfold change. Choline-Ringer's fluid with K replacing choline. Fibre *E*, diameter 88 μ, maximum tension 3·0 kg/cm², temperature 16·5° C. Fibre *G*, diameter 75 μ, maximum tension 4·0 kg/cm², temperature 18° C.

Figure 2 : Exemple de la relation existant entre la tension maximale de contracture et la $[K^+]_e$.

(d'après HODGKIN et HOROWICZ, 1960)

BUS LILLE

2 - Relation entre la tension maximale de contractu
et l'amplitude du potentiel de membrane (P.M.)

Il est bien connu que l'addition au liquide physiologique de Ringer, d'une quantité déterminée de K^+, a pour effet principal d'exercer une dépolarisation membranai En effet, l'amplitude de cette dépolarisation varie linéairement avec le log de $[K^+]_e$. Cette relation a été établie avec précision par de nombreux auteurs sur divers tissus, et en particulier, par CURTIS et COLE (1942) sur l'axone géant de seiche, LING et GERARD (1950) sur le couturier de grenouille, HUXLEY et STAMPFLI (1951) sur le nerf myélinis de grenouille, BURGEN et TERROUX (1953) sur l'oreillette de chat. La dépolarisation observée en milieux hyperpotassiques est d'ailleurs d'autant plus grande que la $[K^+]_e$ est élevée. A l'inverse, les milieux hypopotassiques n'entraînent pas ou peu d'hyperpolarisation membranaire. La figure 3 donne un exemple d'une telle relation.

Cette relation liant le P.R. au log $[K^+]_e$ est retrouvée par ADRIAN (1956), CSAPO et WILKIE (1956) et HODGKIN et HOROWICZ (1959) sur la fibre musculaire de grenoui le, par FATT et KATZ (1953), HAYS et coll. (1968), MOUNIER et coll. (1970) sur la fibre striée de crabe et par ZACHAR et coll. (1964) sur la fibre d'écrevisse.

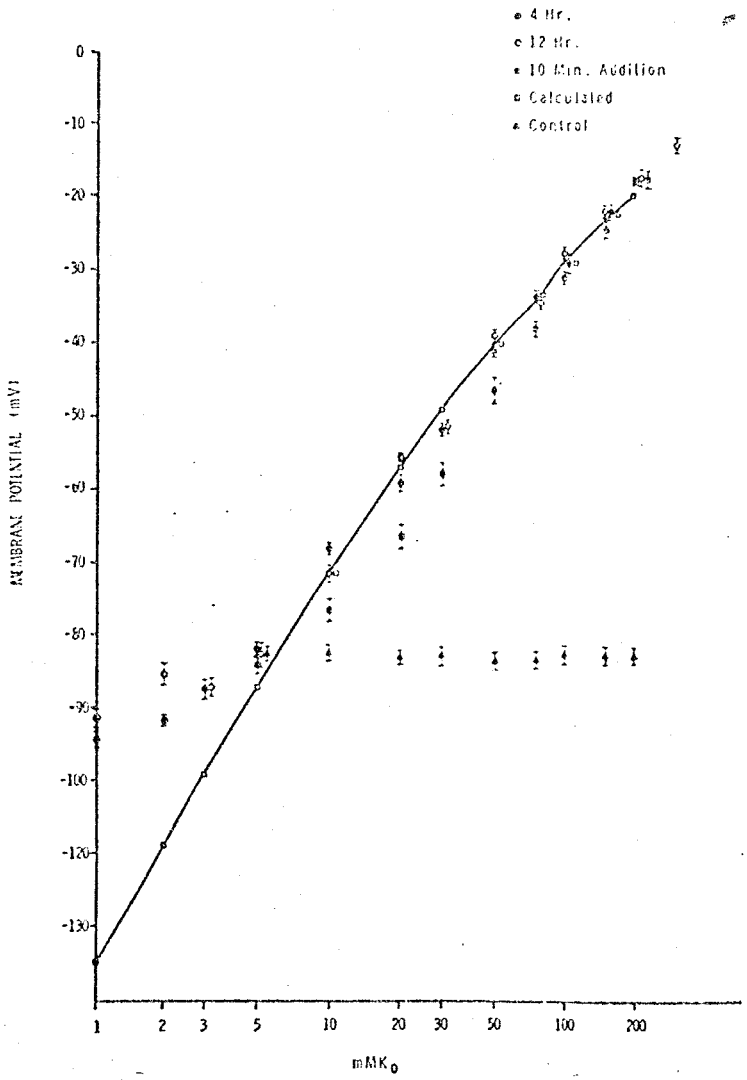


FIG. 3. The effects of hyperosmotic addition of KCl on the membrane potential (E_m) of *Callinectes* muscle fibers in "normal" saline (stock solution A). A. Ten-min equilibrations (closed squares). The values for "normal" saline from Fig. 2 are replotted here for purposes of comparison. B. Ten-min equilibrations with repeated flushes with 5 mM K_o "normal" saline (closed triangles). Five muscles were equilibrated at 5 mM K_o "normal" saline for 14 hr at 4°C and then equilibrated for 1 hr to room temperature. The E_m was measured from ten fibers per muscle. The muscles were flushed with fresh 5 mM K_o "normal" saline, and the E_m was measured after 10 min. This process was repeated at 10-min intervals as in A except that the KCl concentration was not increased. No potential changes occurred in the preparation. Therefore, the depolarizations found in the other experimental conditions were not due to the repeated penetrations of the muscle

Figure 3 : Exemple de la relation existant entre le potentiel de membrane et la $[K^+]_e$.

(d'après HAYS et coll., 1968)

BUS LILLE

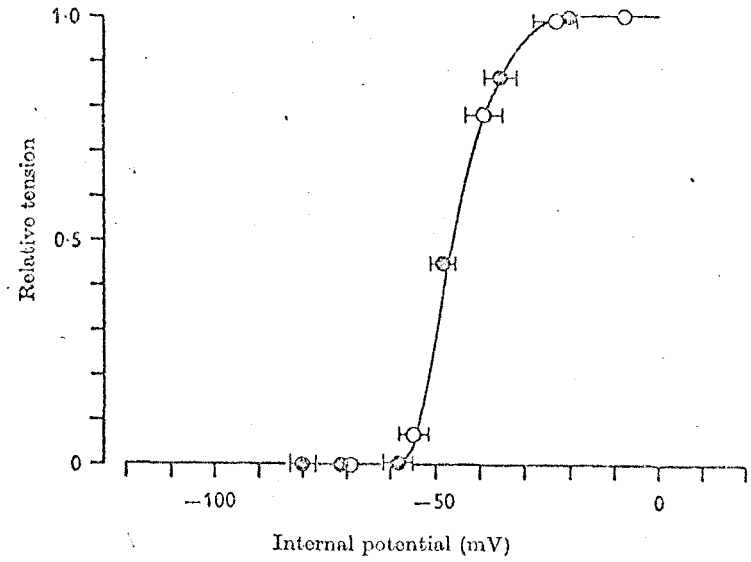
Ainsi, puisqu'il existe d'une part une relation entre la tension maximale de contracture et le log de $[K^+]_e$ et d'autre part, une relation entre le P.M. et le log de $[K^+]$ une relation de même type lie la tension maximale de contracture à la valeur du P.M. L'existence d'une telle relation est ainsi observée par de nombreux auteurs tant sur les muscles de Vertébrés que sur les muscles d'Invertébrés. HODGKIN et HOROWICZ (1960) la mettent en évidence sur le muscle de grenouille, ORKAND (1962), EDWARDS (1964), ZACHAR et ZACHAROVA (1966), GAINER (1968) sur les muscles de Crustacés.

Ainsi, comme le montre l'exemple de la figure 4, empruntée à ZACHAR et ZACHAROVA (1966), la tension de contracture varie en fonction du P.M. selon une loi dont l'équation est celle d'une sigmoïde.

IV - ROLE DES AGENTS CHIMIQUES ET PHYSIQUES

1 - Rôle du calcium (Ca^{++})

Il a été montré que la dépolarisation membranaire transitoire (P.A.) ou durable (application de milieux hyperpotassiques) ne peut pas être la cause directe de la contraction puisqu'en absence de Ca^{++}, il ne peut y avoir de raccourcissement myofibrillaire. De plus, un P.A. d'une durée



Text-fig. 4. Relation between peak tension of contracture and membrane potential. O depolarization evoked by a sudden change of $[K]_o$ at constant $[K]_o[Cl]_o$ product (propionate substituted for Cl), ⊗ depolarization caused by increased external potassium at constant external chloride. Horizontal bars indicate ± two S.E. at $n > 3$. Values of relative tension are mean values from the relation in Text-fig. 2.

Figure 4 : Exemple de la relation existant entre la tension maximale de la contracture et le potentiel de membrane.

(d'après ZACHAR et ZACHAROVA, 1966)

BUS LILLE

de 1 à 3 ms entraîne généralement une contraction d'une durée au moins 100 fois plus longue alors que la dépolarisation durable due à l'augmentation de la $[K^+]_e$ peut provoquer une contracture temporaire de type phasique. Ainsi, dans les conditions normales, la dépolarisation ne serait donc que le premier élément d'une chaîne d'évènements se déroulant entre l'excitation et la contraction.

Bien que pour certains auteurs, comme HODGKIN et HOROWICZ (1960), ORKAND (1962), l'activité mécanique soit couplée à la valeur du P.M. absolu et que pour d'autres, REUBEN et coll. (1967), cette activation soit liée à l'intensité du courant membranaire, on pense à l'heure actuelle que la tension développée est en relation directe avec l'augmentation de la concentration interne en ions Ca^{++} ($[Ca^{++}]_i$) pendant l'activité.

Suivant cette hypothèse, deux possibilités peuvent alors se présenter. L'augmentation de la $[Ca^{++}]_i$ est produite soit par translocation du Ca^{++} intracellulaire (SANDOW, 1965) soit par une entrée de Ca^{++} dans la fibre (BIANCHI et SHANES, 1959 ; EDWARDS et LORKOVIC, 1967). Dans les deux possibilités la première étant la plus couramment admise, il est supposé que les ions Ca^{++} jouent un rôle identique en agissant directement sur les protéines de structure : myosine et actine.

Cependant, toute une série d'arguments indique que les ions Ca^{++} extracellulaires jouent un rôle primordial dans l'activation en profondeur (AUBERT, 1963 ; SANDOW, 1965). En effet, l'absence totale de Ca^{++} dans le milieu externe abolit la tension obtenue lors d'une contracture potassique par la fibre musculaire striée de Vertébrés (LÜTTGAU et NIEDERGERKE, 1958; FRANK, 1960 ; LÜTTGAU, 1963) ainsi que celle des fibres d'Invertébrés (GAINER, 1968 ; ZACHAROVA et ZACHAR, 1967). Pour certains auteurs cependant, c'est la dépolarisation membranaire qui serait la cause de l'abolition de la tension, dépolarisation provoquée par l'absence de Ca^{++} extracellulaire (BULBRING et coll., 1956 ; ISHIKO et SATO, 1957 ; EDMANN et GRIEVE, 1961). A l'inverse, FRANK (1964) montre que le P.M. des fibres de grenouille, dans un milieu sans Ca^{++} conserve une même amplitude durant les quelques minutes nécessaires à l'élimination complète des contractures potassiques ; cet auteur en conclue que l'abolition de la tension serait due à l'absence d'entrée des ions Ca^{++}. Ainsi, l'influx de Ca^{++} pendant l'activité serait nécessaire pour déclencher le raccourcissement myofibrillaire. A l'appui de ce résultat, on peut citer les expériences de NIEDERGERKE (1956) qui montre, sur la fibre cardiaque de grenouille, que la dépolarisation induite par un excès de K^{+} ne provoque aucune contracture en milieu sans Ca^{++} et celle de HAGIWARA et NAKA (1964), sur

la fibre musculaire de barnacle, qui observent que l'injection d'ions chélateurs comme l'E.G.T.A. annule le développement de la tension. De plus, sur la fibre d'Invertébrés, et en particulier sur celle de crabe, la chute de potentiel ne peut être invoquée, car ces fibres, tout en conservant un P.M. normal ne présentent pas de raccourcissement myofibrillai en milieu sans Ca^{++} (GAINER, 1968 ; ZACHAROVA et ZACHAR, 1967 HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1971). Ainsi, l'abolition de la tension de contracture serait essentiellement due à une suppression de l'entrée de Ca^{++} dans la fibre. Cette quantité de Ca^{++}, pénétrant dans la fibre au moment de l'activation et étant expulsée ultérieurement a été mise en évidence par BIANCHI et SHANES (1959) sur le couturier de grenouille, par SHANES (1961) sur le muscle rectal abdominal de grenouill par SPERELAKIS (1962) et WINEGRAD et SHANES (1962) sur le muscle lisse, par HAGIWARA et TORAO NAGAI (1970) sur le muscle de la moule. Dans tous les cas, l'entrée de Ca^{++} au moment de l'activation augmente par rapport à la quantité entrant pendant une même période de repos ; cette quantité de Ca^{++} entrant lors de l'activité est cependant trop faible pour expliquer l'activation minimale du mécanisme contractile, 10 fois trop faible selon WINEGRAD (1961), SANDOW (1965, 1970).

L'entrée de Ca^{++} qui apparaît cependant comme un des éléments indispensables au couplage excitation-contraction

pose bien évidemment le problème concernant son lieu de passage. On sait que la membrane cytoplasmique présente des vésicules qui pourraient selon MOORE et RUSKA (1957), PORTER et PALADE (1957) s'ouvrir vers l'extérieur. Ainsi, de nombreuses substances (ions, sucres, protéines) pourraient traverser la membrane dans un sens ou dans l'autre, en absence de pores membranaires et sans changement des caractéristiques de perméabilité. Récemment, de telles vésicules ont été décrites par F. DENOIT (1967) sur le muscle cardiaque. Cet auteur montre en effet que ces vésicules apparaissent plus ou moins grosses et plus ou moins nombreuses suivant la composition ionique du milieu extracellulaire et notamment suivant la $[Ca^{++}]_e$ et la $[Mg^{++}]_e$.

L'entrée de Ca^{++} dans la fibre pendant l'activité et la présence des micro-vésicules sous-sarcolemmiques impliquent la notion de sites superficiels pour le passage de ces ions. Cette notion n'est pas nouvelle, elle a déjà été formulée par FRANK (1960) sur le muscle squelettique de Vertébrés. Ce dernier auteur admet que, sur ces sites, le Ca^{++} est peu lié et de ce fait peut être éliminé rapidement par diffusion. C'est également ce qu'admet GAINER (1968) sur le muscle squelettique de homard, qui par l'étude notamment des ions strontium, conclue que ces sites seraient extrêmement sélectifs à l'ion Ca^{++} et seraient de par leur nature et

de par leur rôle, différents des sites profonds sur lesquels le Ca^{++} serait fortement lié.

Si l'influx de Ca^{++} est nécessaire au couplage excitation-contraction mais, si cette entrée est insuffisante pour provoquer le raccourcissement myofibrillaire (20 fois trop faible pour permettre d'atteindre le seuil mécanique et 100 fois trop faible pour permettre l'activation maximale selon SANDOW, 1965) il faut rechercher dans le milieu intra-cellulaire un réservoir de Ca^{++} qui libèrerait ce dernier lors du couplage mécano-chimique. Les données d'HASSELBACH et MAKINOSE (1961), EBASHI (1961), HASSELBACH (1964) montrent que le Ca^{++} est accumulé à l'intérieur des vésicules du reticulum sarcoplasmique (R.S.) et que la fraction microsomale de ce R.S. est capable de concentrer le Ca^{++}. LEE (1966) montre que les suspensions de R.S. sont capables non seulement de se charger en Ca^{++} mais par contre de le libérer lors d'une stimulation électrique pour finalement le réabsorber après cessation de la stimulation. De plus, COSTANTIN (1965) montre que les sacs terminaux du R.S. accumulent le Ca^{++} et WINEGRAD (1965 a-b) observe que le Ca^{++} se trouve en des régions qu'occupent les sacs terminaux du R.S. pendant le repos de la fibre, par contre, durant la contraction, ce Ca^{++} se trouve être déplacé et occupe les sites actifs au niveau de la zone de chevauchement des myofilaments. Ainsi, l'idée du contrôle

de la $[Ca^{++}]_i$ par le R.S. au cours du couplage excitation-contraction ne semble plus devoir être négligée à l'heure actuelle.

Enfin, un dernier problème se pose, en ce qui concerne le Ca^{++}, c'est de savoir sous quelle forme il se trouve être stocké dans le R.S. D'aucuns prétendent que ce Ca^{++} se trouve sous forme libre puisqu'ils observent que le volume des sacs terminaux du R.S. est en relation avec les réserves calciques (voir SANDOW, 1965). D'autres, par contre, dont WEBER (1966) suggèrent qu'une partie de ce Ca^{++} est sous forme liée, l'autre partie sous forme libre ; c'est la conception de FRANK (1960) et GAINER (1968) puisqu'ils montrent qu'une partie du Ca^{++} peut être libérée lors d'une contracture normale, alors que l'autre partie plus liée ne peut être libérée que par des agents tels que la caféine, la quinine (SANDOW, 1965).

Quant au rôle du Ca^{++}, dans le couplage mécano-chimique, diverses hypothèses sont avancées. Ainsi, selon GERGELY (1959), l'activation mécanique résulte d'une inhibition par le Ca^{++} d'un facteur relaxant (F.R.) dont l'existence est postulée par MARSH (1951, 1952). Ce F.R., isolé de la fraction microsomale du muscle dérivant de la membrane du R.S. (EBASHI et LIPMANN, 1962), est capable d'accumuler l'ion Ca^{++} en présence d'ATP (HASSELBACH et MAKIMOSE, 1961).

A l'inverse, pour WEBER, HERZ et REISS (1964), le Ca^{++} pourrai activer le mécanisme contractile par action directe sur les myofilaments.

De l'ensemble de ces travaux, et en accord avec SANDOW (1970) et VASSORT et coll. (1971), il semble se dégager la notion selon laquelle la tension développée par les fibres musculaires est déterminée par le taux de Ca^{++} intracellulaire tandis que le niveau de tension peut être considéré comme une mesure indirecte de la concentration du Ca^{++} activateur du mécanisme contractile. Ce Ca^{++} activateur et celui correspondant à l'influx nécessaire au couplage excitation-contraction n'ont pas la même origine.

2 - Rôle du sodium (Na^{+})

On sait, depuis les travaux de FATT et KATZ (1953) et récemment ceux de HAUDECOEUR et coll. (1970), que la suppression de Na^{+} externe entraîne une augmentation de l'amplitude du P.A. de la fibre de crabe. A cette augmentation de l'activité électrique est associée une augmentation de l'amplitude de la secousse, ainsi qu'un accroissement de sa durée (BRULE et coll., 1969). A l'inverse, cette absence de Na^{+} du milieu externe, provoque chez les muscles striés de Vertébrés, une disparition du P.A. conduisant à l'annulation de la réponse mécanique.

En ce qui concerne l'activité mécanique, dès 1921 DALY et CLARK observent que, sur le coeur de grenouille, la suppression partielle de chlorure de sodium du milieu externe entraîne un accroissement de la force contractile semblable à celui qu'entraîne un excès de Ca^{++}. Cette observation confirmée définitivement en 1948 par WIL BRANDT et coll., conduit ces derniers auteurs à énoncer une loi selon laquelle la force contractile est réglée par le rapport $[Ca^{++}]_e$ / $[Na^{+}]_e^{2}$. Ces résultats sont retrouvés sur le coeur de grenouille en état de contracture par NIEDERGERKE et LUTTGAU (1957). En effet, la tension mécanique du coeur au repos peut être forte ou faible suivant la teneur en Na^{+} du milieu extracellulaire : en effet, aucune contracture ne se développe pour une polarisation cellulaire normale lorsque la teneur du milieu externe en Na^{+} est normale, une contractur maximale s'établit au contraire, même en absence de toute dépolarisation ($[K^{+}]_e$ = normale) si le Na^{+} externe est supprimé. Ce phénomène est la conséquence d'une entrée plus importante d'ions Ca^{++} pendant la contracture qu'au repos, car même en absence de Na^{+} et en présence d'une dépolarisation cellulaire importante, aucune contracture ne se manifeste en absence de Ca^{++} extracellulaire. De l'ensemble de leurs résultats, ces auteurs concluent à l'existence d'un antagonism Ca^{++} - Na^{+}. Ces deux ions entrent en compétition lors de leur passage au niveau membranaire pour un transporteur commun chargé négativement pour former soit un composé Ca^{++}

activateur de la contracture, soit un composé Na^+ inefficace. L'existence d'un tel antagonisme a été retrouvée depuis par de nombreux auteurs sur des préparations musculaires très diverses (SANDOW, 1965, 1970).

Il faut signaler de plus, les travaux récents de VASSORT et coll. (1971) qui montrent sur les faisceaux sino-auriculaires de grenouille que l'activité contractile de ces fibres musculaires est en rapport avec les ions Na^+ intra-cellulaires. Ces ions Na^+ déplaceraient d'un site membranaire les ions Ca^{++} qui ainsi concourraient à l'augmentation de la concentration interne des ions Ca^{++} activateurs et par là permettaient l'augmentation de tension. Le rôle joué alors par les ions Na^+ est très sélectif car même les ions lithium sont incapables de les remplacer.

3 - Rôle du magnésium (Mg^{++})

L'absence ou la variation de la concentration externe en Mg^{++} ($[Mg^{++}]_e$) n'exerce aucune influence sur le P.R. des fibres de Crustacés (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971). Par contre, il semble cependant qu'il joue un rôle lors de l'activité. Si l'amplitude du P.A.n'est pas modifiée par les variations de la $[Mg]_e$ (FATT et KATZ, 1963 ; HAUDECOEUR, 1971), le Mg^{++} intervient sur la vitesse de la phase de dépolarisation de ce P.A. (HAUDECOEUR, 1971).

Ce dernier auteur observe, en effet, que la vitesse de la phas ascendante est augmentée en milieu pauvre en Mg^{++} et que par contre, elle diminue en milieu enrichi en Mg^{++}.

En ce qui concerne l'activité mécanique, CALDWELL et WALSTER (1963) observent que l'injection de Mg^{++} dans la fibre musculaire de crabe ne se traduit pas par un raccourcissement localisé des myofibrilles comme c'est le cas pour l'injection de Ca^{++}. De même GAINER (1968) montre qu'il est impossible pour la fibre de homard de développer une tension de contracture lorsque tout le Ca^{++} extracellulaire est remplacé par le Mg^{++}.

Cependant, LUTTGAU (1963) observe que les ions Mg^{++} peuvent remplacer partiellement les ions Ca^{++} puisque ces ions peuvent provoquer une augmentation du seuil de tensio comparable à celle provoquée par les ions Ca^{++} et ainsi qu' une augmentation de la durée du plateau de la tension de la contracture potassique. Ainsi le Mg^{++}, selon LUTTGAU, agirait comme un Ca^{++} faible. Ce point de vue est conforme à celui énoncé par FRANKENHAEUSER et HODGKIN (1957) à la suite de travaux concernant l'effet des ions Mg^{++} sur les propriétés électriques de la membrane de l'axone géant.

Enfin, signalons que selon BURGEN (1968), le Ca^{++} et le Mg^{++} peuvent se remplacer, le Mg^{++} agissant comme un

Ca^{++} faible. A l'inverse pour WEBER et HERZ (1963), ces deux ions sont compétitifs car le Mg^{++} est capable de déplacer le Ca^{++} des myofibrilles.

4 - Rôle de l'hypertonie

Ce facteur physique intervient de façon considérable sur le développement de la tension mécanique. De nombreux auteurs montrent le rôle de la pression osmotique (π) sur le P.M. : l'augmentation de la π a des effets sensibles mais au bout d'un temps d'action important.

Les solutions rendues hypertoniques diminuent la force contractile développée par les fibres musculaires (OVERTON, 1902). ASHLEY et RIDGWAY (1970) montrent sur le muscle de barnacle qu'en doublant la π du milieu par addition de saccharose, la tension mécanique disparaît. BRULE (1971) observe aussi une diminution de la tension de la secousse musculaire de la fibre de crabe lors de l'augmentation de la π.

CAPUTO (1966) indique que, sur le muscle de grenouille des solutions hypertoniques annulent la tension de la contracture potassique mais, que par contre elles ne modifient nullement le décours de la tension de contracture obtenu par application de caféine. On peut citer aussi les travaux de

FUJIMO et FUJIMO (1964) sur le couturier de grenouille qui observent qu'il est possible d'annuler la tension de la contracture potassique de ce muscle alors qu'il est par contre impossible d'annuler la secousse musculaire dans les mêmes conditions d'hypertonie.

Ainsi, le traitement par les solutions rendues hypertoniques entraînerait une dissociation entre la dépolarisation membranaire et la réponse contractile (HODGKIN et HOROWICZ, 1957 ; FUJIMO et FUJIMO, 1964). Ces solutions exerceraient leurs effets sur les protéines contractiles en augmentant la force ionique du milieu intracellulaire. WEBER et HERZ (1963) montrent en effet, qu'une augmentation de la force ionique diminue l'activité ATPasique de la myosine. De plus, HOMSHER et BRIGGS (1968) supposent que les solutions hypertoniques réduisent le taux du Ca^{++} utilisable par le R.S.

TECHNIQUES

A - ANIMAUX D'EXPERIENCE - DISSECTION

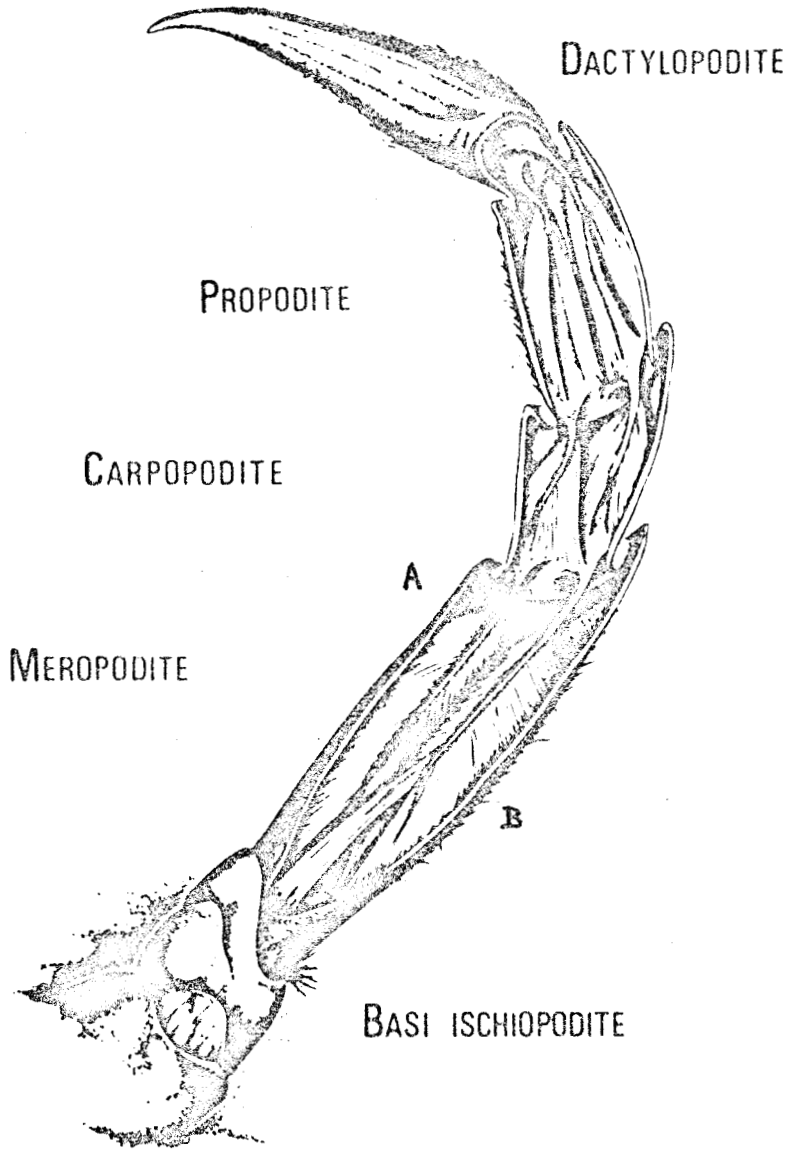
I - ANIMAUX D'EXPERIENCE

Les animaux utilisés pour l'étude de la contracture potassique de la fibre musculaire striée sont des crabes enragés (Carcinus maenas), (classe des Crustacés, sous-classe des Malacostracés, ordre des Décapodes, sous ordre des Brachyoures). Les animaux proviennent des côtes de la Mer du Nord et sont fournis chaque semaine au Laboratoire par l'Institut de Biologie Maritime de WIMEREUX.

Les crabes, conservés une semaine au maximum au Laboratoire, sont maintenus en vie dans des bacs contenant de l'eau de mer naturelle provenant de leur habitat d'origine. Cette eau, dont la température est maintenue constante à 12°C est continuellement oxygénée et régénérée en circuit fermé par passage sur un filtre. Les animaux ne sont utilisés qu'après avoir séjourné 24 heures dans les bacs à partir de leur arrivée.

II - DISSECTION

Les fibres employées proviennent du méropodite, des périopodes P_2, P_3, P_4 (Figure 5). Ces fibres apparaissent,



PEREIOPODE P_2 DE CARCINUS MÆNAS

Figure 5 : Musculature de la patte de crabe.

BUS LILLE

aprés section de la carapace suivant les deux arêtes A et B et destruction soigneuse de l'innervation musculaire. Les deux demi-segments du méropodite obtenus sont alors immédiatement immergés dans le liquide physiologique de survie. L'examen sous loupe binoculaire montre la disposition des fibres, parallèles les unes aux autres en deux faisceaux. Ces fibres, dont la longueur varie de 3 à 12 mm et leur diamètre de 50 à 350 µ, présentent chacune un point d'insertion sur l'axostyle (endosquelette) et l'autre sur la carapace (exosquelette). Le demi-segment de méropodite utilisé est fixé au moyen d'épingles dans le fond de la cuve à dissection. Une fois choisie la fibre dont on veut étudier le comportement, les fibres avoisinantes du même faisceau, ainsi que celles de l'autre faisceau, sont éliminées par section au niveau de leurs points d'insertion à l'aide de fins ciseaux. Puis, dans un deuxième temps, les fibres adjacentes, souvent accolées les unes aux autres à cause de leur innervation multiple, sont progressivement éliminées une à une par leur section très soigneuse. La fibre isolée ainsi obtenue (Figure 2) est alors placée dans une coupelle de verre contenant le liquide physiologique de survie pendant une période de 30 à 45 mn d'immersion, les fibres présentant des lésions membranaires apparaissent blanchâtres et granuleuses sous contrôle binoculaire alors que

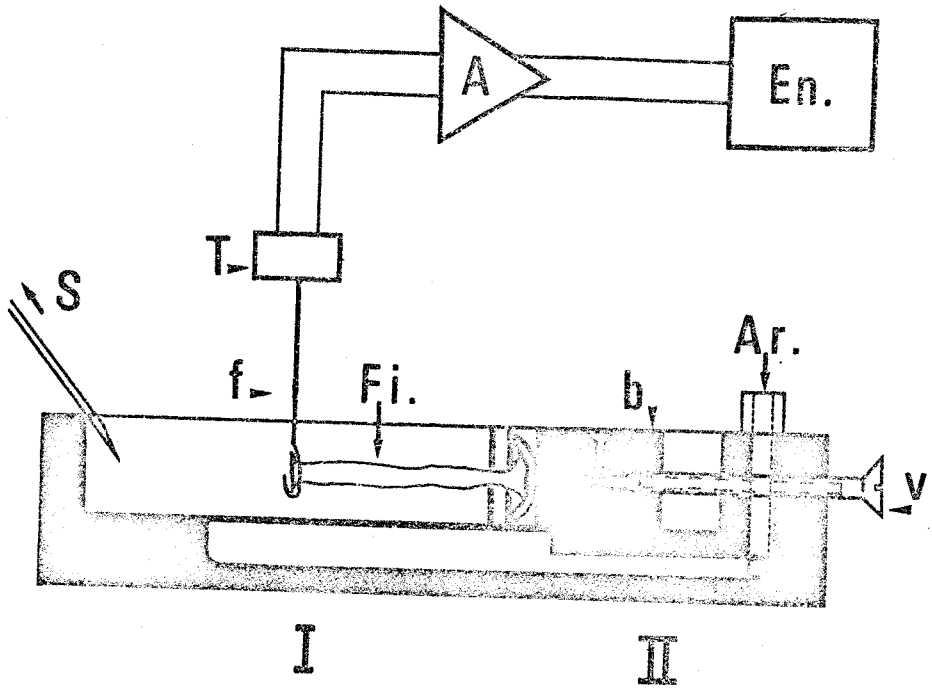
les fibres saines restent parfaitement transparentes. Toutes les fibres lors de la dissection et de l'expérience, sont maintenues à une température ambiante de 18 à 20°C grâce au renouvellement continuel de la solution physiologique de survi dont le débit est de 20 ml/mn. Ce débit assure en outre un maintien rigoureux de la concentration extracellulaire de chacun des ions.

B - TECHNIQUES D'ENREGISTREMENT

I - INSTALLATION DE LA FIBRE

Une fois la fibre isolée, elle est placée dans la cuve expérimentale remplie de liquide physiologique (Figure 6). Cette cuve en plexiglas, d'une faible contenance (2 cm^3) est divisée en deux compartiments distincts (I et II) par une cloison incomplète. Au moyen d'un petit bloc de plexiglas (b) mu par une vis de nylon (v), le morceau de carapace est bloqué contre la cloison transversale. L'autre extrémité de la fibre inserrée sur l'axostyle est alors engagée dans un crochet fabriqué à l'aide d'un fil de tungstène (f). Ce crochet est fixé à la pointe d'un transducteur isométrique construit à partir d'une cellule UI 5P et dont la sensibilité maximale est de 1 mg. Ce transducteur est solidaire du bras d'un micromanipulateur PRIOR à embase magnétique.

De manière à placer les fibres dans des conditions les plus identiques possibles, elles sont étirées de 25 p.100 à partir d'une longueur l_0 qui représente la longueur pour laquelle les fibres exercent la plus faible tension enregistrable au niveau du transducteur.



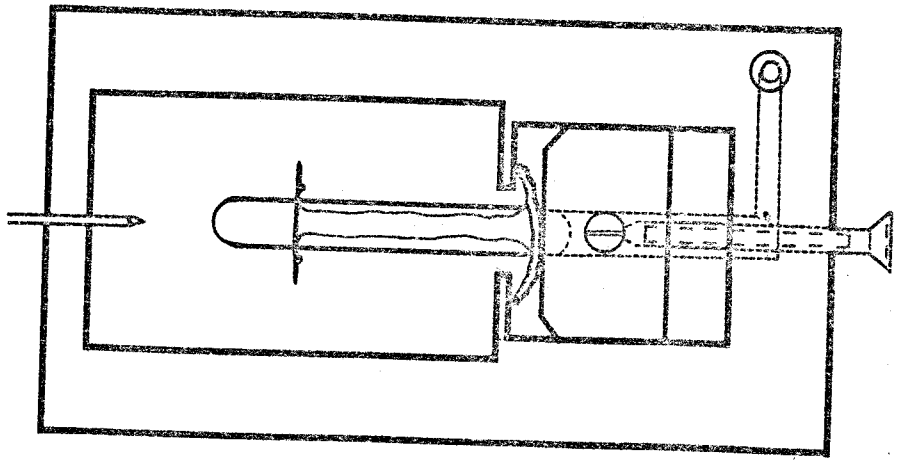


Figure 6 : Schéma de l'installation utilisée pour l'enregistrement de la tension développée lors de la contracture.

En : enregistreur
A : amplificateur
T : transducteur
f : crochet de tungstène
fi : fibre isolée en place

b : bloc de plexiglas
v : vis de nylon
Ar : arrivée des solutions à tester
S : évacuation des solutions (par aspiration au moyen d'une pompe à vide)

BUS LILLE

II - ENREGISTREMENT DE LA TENSION DEVELOPPEE

La tension mécanique musculaire, développée par les fibres, transformée en une variation de potentiel électrique par la cellule UI 5P, est amplifiée au moyen d'un amplificateur UNITRON. L'enregistrement de la tension sur papier est réalisé sur un enregistreur RAPIDGRAPH.

Avant et après chaque expérience, le transducteur est étalonné au moyen de poids statiques de 1 mg à 1 g pour vérifier sa linéarité. Ce transducteur est très fidèle car les droites d'étalonnage sont confondues même après six mois d'utilisation journalière.

Pour l'ensemble de nos résultats, la tension de contracture (maximum de tension obtenue) est exprimée en kg/cm^2 et correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum. Cette moyenne est donnée avec son écart-type.

III - MODE D'ACTION DES DIFFERENTES SOLUTIONS

La solution physiologique de référence, celle proposée par FATT et KATZ (1953), dite aussi solution normale, ainsi que les solutions de concentrations variées

en ions dont l'étude sur la contracture est entreprise, sont, comme cela a été précisé, renouvelées grâce à leur écoulement à débit constant (20 cm^3/mn). Ce fort débit assure un maintien rigoureux des concentrations ioniques extracellulaires.

L'évolution de la tension de contracture en fonction de la concentration en potassium ($[K^+]_e$) est obtenue par l'action de la solution de référence enrichie en ions K^+. Cet enrichissement étant produit par apport de SO_4K_2.

L'étude des effets des solutions anormales sur la contracture potassique nous amène à définir, au préalable, une contracture de référence. Cette contracture de référence correspond à la tension développée par la fibre soumise au milieu normal enrichi 20 fois en K^+.

L'étude de la contracture potassique de la fibre soumise aux milieux de concentrations variées, soit en Na^+, soit en Ca^{++} et enfin soit en Mg^{++}, se déroule de la façon suivante : tout d'abord la fibre est soumise à l'action du milieu anormal, dont la $[K^+]_e$ est normale, pendant une période de 10 mn qui constitue le prétraitement, puis la fibre est ensuite soumise au même milieu anormal contenant 20 fois la $[K^+]_e$ normale.

C - SOLUTIONS

I - Solution normale

La solution physiologique considérée comme normale et assurant une survie satisfaisante des fibres musculaires, est celle proposée par FATT et KATZ (1953) et dont la composition en mEq/l est la suivante :

Na^+ : 513 mEq/l

K^+ : 12,9 mEq/l

Ca^{++} : 23,6 mEq/l

Mg^{++} : 47,2 mEq/l

CO_3H^- : 2,6 mEq/l

Cl^- : 594 mEq/l

Eau désionisée, q.s.p. 1 litre (ρ = 10 MΩ cm)

Son pH est de 7,8 et sa pression osmotique (π) est celle d'une solution contenant 1163 milliosmoles/litre.

II - Solutions anormales

1. Solutions dont la $[K^+]_e$ est modifiée (Tableau 1)

L'apport en ions K^+ est effectué par addition de sulfate de potassium (SO_4K_2) à la solution normale, en tenant compte du fait qu'une millimole de SO_4K_2 apporte deux mEq de K^+ contre 2 mEq de SO_4.

Milieux	KCl mM/l	SO_4K_2 mM/l
Milieu normal	12,9	0
Milieux hyperpotassiques		
$K_{en.2}$ = 25,8 mEq/l	12,9	6,45
$K_{en.8}$ = 103,2 mEq/l	12,9	45,15
$K_{en.10}$ = 129 mEq/l	12,9	58,05
$K_{en.12}$ = 154,8 mEq/l	12,9	70,95
$K_{en.13}$ = 167,7 mEq/l	12,9	77,4
$K_{en.14}$ = 180,6 mEq/l	12,9	83,85
$K_{en.15}$ = 193,5 mEq/l	12,9	90,30
$K_{en.16}$ = 206,4 mEq/l	12,9	96,45
$K_{en.17}$ = 219,3 mEq/l	12,9	103,2
$K_{en.18}$ = 232,2 mEq/l	12,9	109,65
$K_{en.20}$ = 258 mEq/l	12,9	122,55
$K_{en.25}$ = 322,5 mEq/l	12,9	154,80
$K_{en.30}$ = 387 mEq/l	12,9	184,05

Tableau 1 : Composition des milieux hyperpotassiques utilisés

K_{en} : concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l

Tous les autres sels, NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, CO_3HNa, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

2. Solutions dont la $[Na^+]_e$ est modifiée

. Milieux ne contenant pas de sodium

L'absence de Na^+ est obtenue par le remplacement du NaCl de la solution normale par du chlorhydrate de choline

. Milieux contracturants sans sodium

La teneur en ions K^+ de ces milieux correspond à celle du tableau 1.

L'absence presque totale du Na^+ est obtenue par le chlorhydrate de choline qui remplace le NaCl.

Tous les autres sels ($CaCl_2$, $MgCl_2$, CO_3HNa, KCl) sont maintenus à leur concentration normale.

3. Solutions dont la $[Ca^{++}]_e$ est modifiée

. Milieux hypocalciques (Tableau 2)

La réduction ou l'absence de Ca^{++} est réalisée par la suppression d'une partie ou de la totalité du $CaCl_2$, la $[Cl^-]_e$ étant rétablie par un apport convenable de chlorhydrate de choline.

. Milieux hypocalciques, enrichis en potassium

La composition en ions Ca^{++} de ces milieux est identique à celle donnée au tableau 2.

L'enrichissement en potassium correspond à un apport de 245,1 mEq/l, apporté sous forme de SO_4K_2. La $[K^+]_e$ est alors 20 fois supérieure à la $[K^+]_e$ normale.

Milieux	$CaCl_2$ mM/l	Chlorhydrate de choline mM/l
Solution normale	11,8	0
Solutions hypocalciques		
$Ca_{en.0}$ = 0 mEq/l	0	23,6
$Ca_{en.0,10}$ = 2,36 mEq/l	1,18	21,2
$Ca_{en.0,25}$ = 5,90 mEq/l	2,95	16,7
$Ca_{en.0,50}$ = 11,8 mEq/l	5,90	11,8
$Ca_{en.0,75}$ = 17,70 mEq/l	8,85	5,90

Tableau 2 : Composition des milieux hypocalciques utilisés.

Ca_{en} : concentration externe normale en calcium = 23,6 mEq/l

Tous les autres sels, NaCl, $MgCl_2$, CO_3HNa, KCl, sont maintenus à leur concentration normale

BUS LILLE

. Milieux hypercalciques (Tableau 3)

L'excès de calcium est réalisé sous forme de propionate de calcium.

Tous les autres sels (NaCl, $MgCl_2$, CO_3HNa, KCl) sont maintenus à leur concentration normale.

. Milieux hypercalciques enrichis en potassium

La composition en ions Ca^{++} de ces milieux est identique à celle donnée au tableau 3.

L'enrichissement en potassium correspond là encore à un apport de 245,1 mEq/l sous forme de SO_4K_2

4. Solutions hypertoniques (Tableau 4)

. Milieux hypertoniques dont la $[K^+]_e$ est normal

L'examen du tableau 3 , correspondant aux milieux enrichis en calcium, montre que ces milieux présenten une π bien évidemment supérieure à la normale. Cela nous a conduits à étudier les effets de l'augmentation de la π sur la contracture de référence. Ces milieux hypertoniques sont obtenus par addition de saccharose à la solution normale de façon à obtenir des milieux isoosmotiques des différents milieux hypercalciques utilisés.

Milieux	$CaCl_2$ mM/l	Propionate de calcium mM/l
Solution normale	11,8	0
Solutions hypercalciques		
$Ca_{en.2}$ = 47,2 mEq/l	11,8	11,8
$Ca_{en.3}$ = 70,8 mEq/l	11,8	23,6
$Ca_{en.4}$ = 94,4 mEq/l	11,8	35,4
$Ca_{en.7}$ =165,2 mEq/l	11,8	70,8
$Ca_{en.10}$ = 236 mEq/l	11,8	106,2
$Ca_{en.15}$ = 354 mEq/l	11,8	165,2

Tableau 3 : Composition des milieux hypercalciques utilisés.

Ca_{en} : concentration externe normale en calcium = 23,6 mEq/l

Tous les autres sels, NaCl, $MgCl_2$, CO_3HNa, KCl, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

Milieux	π mosm	Saccharose mM/l
Solution normale	1163	0
Solutions hypertoniques		
Solution dont la π est identique au milieu $Ca_{en.2}$	1198	106,2
Solution dont la π est identique au milieu $Ca_{en.3}$	1234	212,4
Solution dont la π est identique au milieu $Ca_{en.4}$	1269	318,6
Solution dont la π est identique au milieu $Ca_{en.7}$	1375	637,2
Solution dont la π est identique au milieu $Ca_{en.10}$	1481	955,8

Tableau 4 : Composition des milieux hypertoniques utilisés.

Tous les sels, NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, CO_3HNa, KCl, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

. Milieux hypertoniques contracturants

La composition en saccharose de ces milieux est la même que celle donnée au tableau 4.

L'enrichissement en potassium correspond à un apport de 245,1 mEq/l sous forme de SO_4K_2, la $[K^+]_e$ est alors 20 fois supérieure à la $[K^+]_e$ normale

5. Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ est modifiée

. Milieux hypomagnésiens (Tableau 5)

La réduction ou l'absence de Mg^{++} est provoquée par la suppression d'une partie ou de la totalité du $MgCl_2$ de la solution normale, la $[Cl^-]_e$ étant rétablie par un apport convenable de chlorhydrate de choline.

. Milieux hypomagnésiens contracturants

La composition en Mg^{++} de ces différents milieux est la même que celle donnée au tableau 5 .

L'enrichissement en potassium correspond à un apport de 245,1 mEq/l sous forme de SO_4K_2. La concentration potassium est alors 20 fois la concentration normale.

. Milieux hypermagnésiens (Tableau 6)

L'excès de Mg^{++} est apporté sous forme de sulfate de magnésium (SO_4Mg).

Milieux	$MgCl_2$ mM/l	Chlorhydrate de choline mM/l
Solution normale	23,6	0
Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ est < à la normale		
$Mg_{en.0,75}$ = 35,4 mEq/l	17,7	11,8
$Mg_{en.0,50}$ = 23,6 mEq/l	11,8	23,6
$Mg_{en.0,25}$ = 11,8 mEq/l	5,9	35,4
$Mg_{en.0,10}$ = 4,72 mEq/l	2,36	42,4
$Mg_{en.0}$ = 0 mEq/l	0	47,2

Tableau 5 : Composition des milieux hypomagnésiens utilisés.

Mg_{en} : concentration externe normale en magnésium = 47,2 mEq/l

Tous les autres sels, KCl, NaCl, CO_3HNa, $CaCl_2$, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

Milieux	$MgCl_2$ mM/l	$MgSO_4$ mM/l
Solution normale	23,6	0
Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ est > à la normale		
$Mg_{en.2}$ = 94,4 mEq/l	23,6	23,6
$Mg_{en.3}$ = 141,6 mEq/l	23,6	47,2
$Mg_{en.4}$ = 188,8 mEq/l	23,6	70,8
$Mg_{en.5}$ = 256 mEq/l	23,6	94,4

Tableau 6 : Composition des milieux hypermagnésiens utilisés.

Mg_{en} : concentration en magnésium externe normale = 47,2 mEq/l

Tous les autres sels, KCl, NaCl, CO_3HNa, $CaCl_2$, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

. Milieux hypermagnésiens contracturants

La composition en Mg^{++} de ces milieux est la même que celle donnée au tableau 6.

L'enrichissement en potassium correspond à un apport de 245,1 mEq/l sous forme de SO_4K_2.

6. Solutions dont la $[Mg^{++}]_e$ et la $[Ca^{++}]_e$ sont modifiées (Tableau 7)

. Milieux hypermagnésiens hypercalciques

L'enrichissement en Mg^{++} est réalisé par apport de SO_4Mg.

L'excès de Ca^{++} est réalisé par apport de propionate de calcium.

. Milieux hypermagnésiens hypercalciques contracturants

La composition en Mg^{++} et en Ca^{++} de ces milieux est la même que celle donnée au tableau 7.

L'enrichissement en potassium correspond à un apport de 245,1mEq/l sous forme de SO_4K_2.

Milieux	$MgCl_2$ mM/l	SO_4Mg mM/l	$CaCl_2$ mM/l	Propionate de calcium mM/l
Solution normale	23,6	0	11,8	0
Solutions riches en Mg^{++} et en Ca^{++}				
$Mg_{en.2}$ = 94,4 mEq/l $Ca_{en.2}$ = 47,2 mEq/l	23,6	23,6	11,8	11,8
$Mg_{en.3}$ = 141,6 mEq/l $Ca_{en.3}$ = 70,8 mEq/l	23,6	47,2	11,8	23,6

Tableau 7 : Composition des milieux hypermagnésiens enrichis en calcium.

Tous les autres sels, KCl, NaCl, CO_3HNa, $CaCl_2$, sont maintenus à leur concentration normale.

BUS LILLE

RESULTATS

A - ETUDE DE LA CONTRACTURE DANS LES CONDITIONS NORMALES

I - DECLENCHEMENT DE LA CONTRACTURE

La contracture de la fibre isolée de crabe est obtenue par application directe de la solution normale enrichie en ions K^+. Cet enrichissement est réalisé par addition de SO_4K_2 à la solution de référence (Tableau 1 Techniques). La concentration en chlore de chaque milieu est ainsi gardée constante.

Sous l'action des différentes solutions hyperpotassiques utilisées, la fibre développe une tension de contracture dont la figure 7 donne un exemple. D'après le tracé obtenu, on peut voir qu'il apparaît initialement une période de latence qui précède la phase ascendante de la contracture, suivie de la phase de relâchement. Ces différentes phases, comme nous allons le voir, ont des durées respectives qui varient avec la $[K^+]_e$. De plus, le fait que la tension de contracture ne se maintienne pas, bien que la fibre soit toujours en contact avec la solution hyperpotassique, caractérise ainsi la fibre comme étant du type phasique, par opposition avec la fibre de type tonique

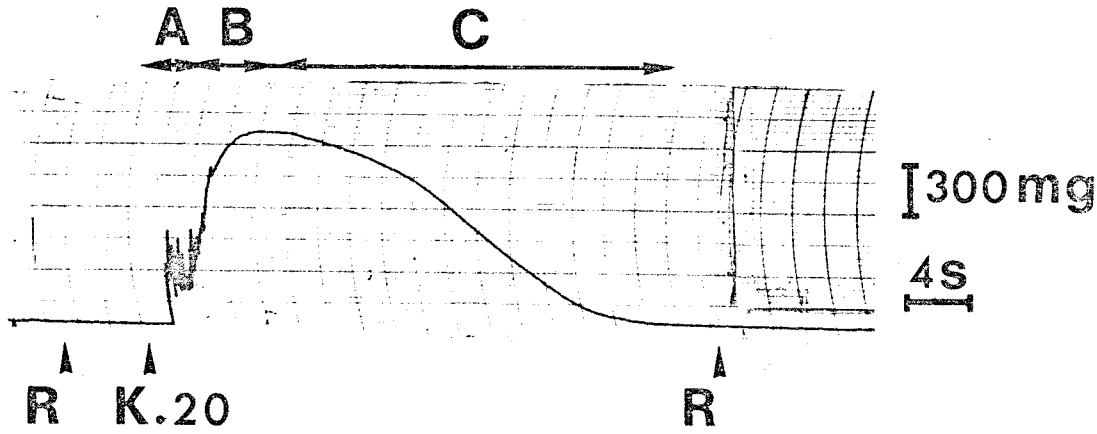


Figure 7 : Exemple montrant la tension de contracture développée par la fibre de crabe au cours du temps.

A : phase de latence
B : phase ascendante
C : phase de relaxation spontanée
R : Ringer (solution de référence)
K_{20} : solution contracturante contenant 253 mEq/l K^+

BUS LILLE

qui présente une tension se maintenant, le plus souvent à son niveau maximum tant que dure l'application de la solution anormale.

Il faut signaler que les fibres sont toujours prélevées au même niveau du méropodite, et sont toutes de type phasique. Sur l'ensemble des fibres ayant servi à l'expérimentation, quatre seulement ont présenté une réponse du type tonique. En effet, il est connu (ATWOOD et DORAI RAJ, 1964) qu'au niveau d'un même segment de la patte, ces deux types de fibres existent, ainsi qu'un troisième type intermédiaire des deux précédents. Les fibres utilisées pour les expériences sont prélevées dans la partie distale du méropodite et sont caractérisées par leur grand diamètre (200 à 300 μ) ainsi que par leur grande longueur (7 à 10 mm).

Il faut enfin mentionner que l'amplitude de la tension de contracture, développée par la fibre sous l'action du milieu hyperpotassique dont la $[K^+]_e$ est suffisamment élevée ($[K^+]_{en}$. 15), obtenue lors d'une première application du milieu contracturant est de valeur bien plus forte que lors de la deuxième application à moins que l'intervalle de temps séparant les deux actions soit égal ou supérieur à une heure (Figure 8). Cet intervalle de temps est de valeur très supérieure à celui trouvé par ZACHAR et ZACHAROVA (1966) sur la fibre phasique d'écrevisse.

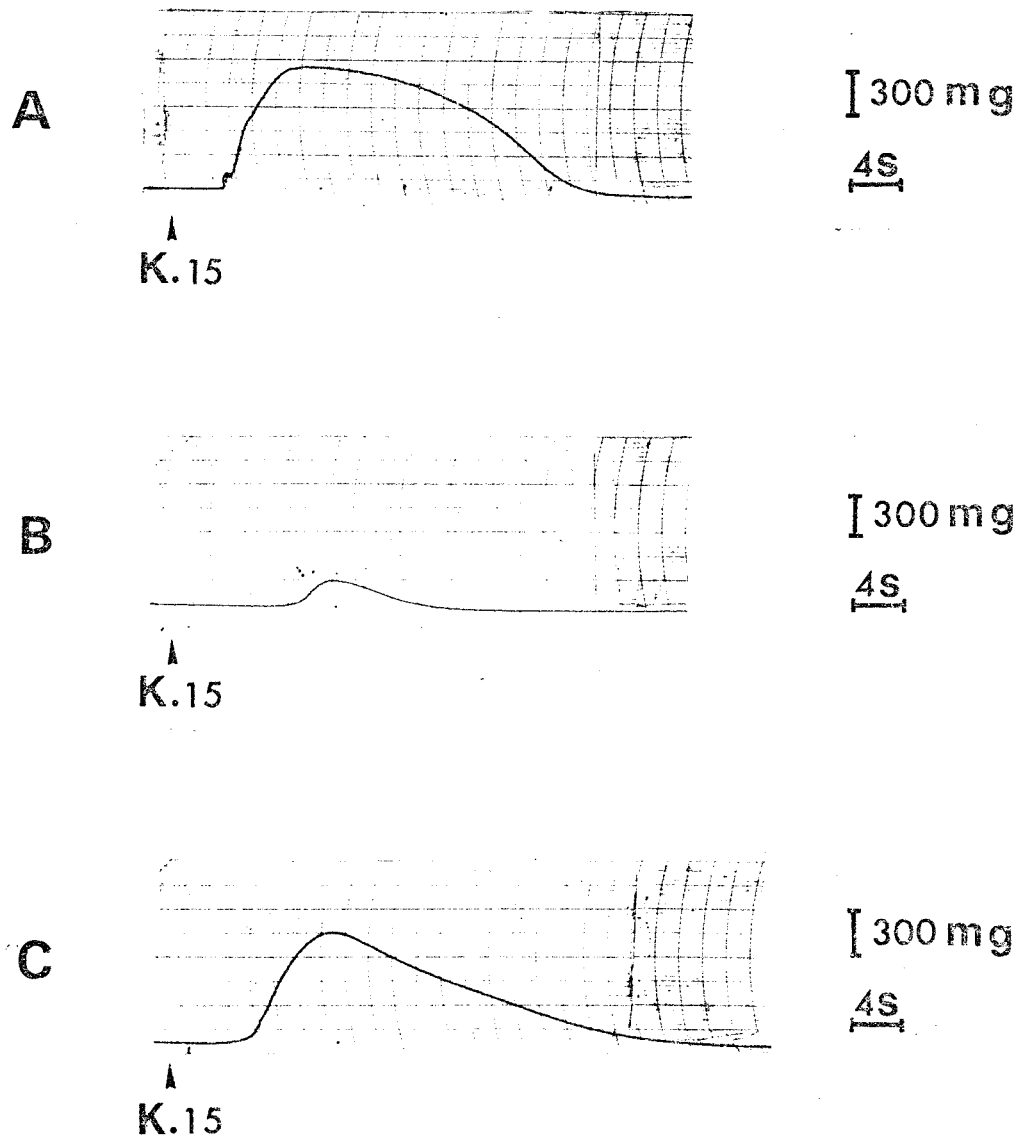


Figure 8 : Variation de l'amplitude et du décours de la contracture développée par une fibre en fonction de l'intervalle de temps séparant deux applications successives de la solution contracturante.

A - Tension obtenue lors de la 1ère application du milieu contracturant

B - Tension obtenue lors de la 2e application du milieu contracturant (10 mn après la 1ère application)

C - Tension obtenue lors de la 3e application du milieu contracturant (60 mn après la 1ère application).

BUS LILLE

II - ETUDE DES DUREES DES DIFFERENTES PHASES DE LA CONTRACTURE EN FONCTION DE LA $[K^+]_e$

La figure 9 donne des exemples de la réponse de la fibre sous l'action de milieux enrichis en K^+.

L'examen des tracés montre que la durée de la contracture dépend de la $[K^+]_e$. Cette durée diminue d'autant plus que le milieu est plus enrichi en K^+. Ce résultat est conforme à celui de HUDDART (1969) obtenu également sur la fibre de crabe et à celui de ZACHAR et ZACHAROVA (1966) obtenu sur la fibre d'écrevisse.

Le tableau 8 précise la variation de la durée (exprimée en p.100) de chacune des phases décrites précédemment. On peut remarquer que la période de latence, la phase ascendante et la phase de relaxation spontanée diminuent simultanément au fur et à mesure que la solution externe s'enrichit en ions K^+.

Les courbes de la figure 10 montrent l'évolution respective de ces différentes phases en fonction de la $[K^+]_e$. Elles révèlent que la durée de la période de latence ainsi que celle de la phase ascendante de la réponse, sont proportionnellement plus touchées que la durée de la phase

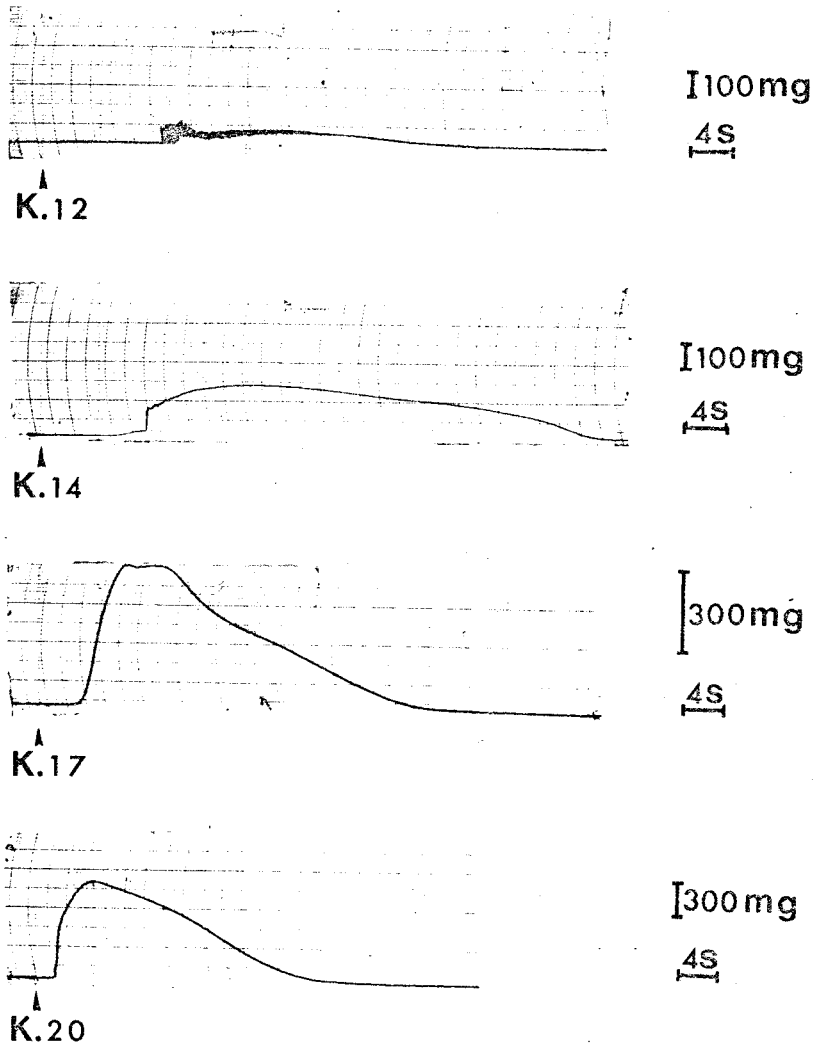


Figure 9 : Contractures des fibres de crabe obtenues par application directe de solutions de $[K^+]_e$ différentes mais de $[Cl^-]_e = [Cl^-]_{en}$.

Milieux	Latence		Phase ascendante		Phase de relaxation	
	s	p.100	s	p.100	s	p.100
De $K_{en.1}$ à $K_{en.11}$			0	0	0	0
$K_{en.12}$	12	100	14	100	40	100
$K_{en.14}$	8	66,5	12	86	36	90
$K_{en.17}$	4	33,3	6	43	30	75
$K_{en.20}$	2	16,7	4	28,6	22	55
$K_{en.30}$	2	16,7	4	28,6	21	34

Tableau 8 : Evolution de la durée moyenne de la phase de latence, de la phase ascendante, et de la phase de relaxation, en fonction de la $[K^+]_e$.

Les temps donnés correspondent à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum.

K_{en} : concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l.

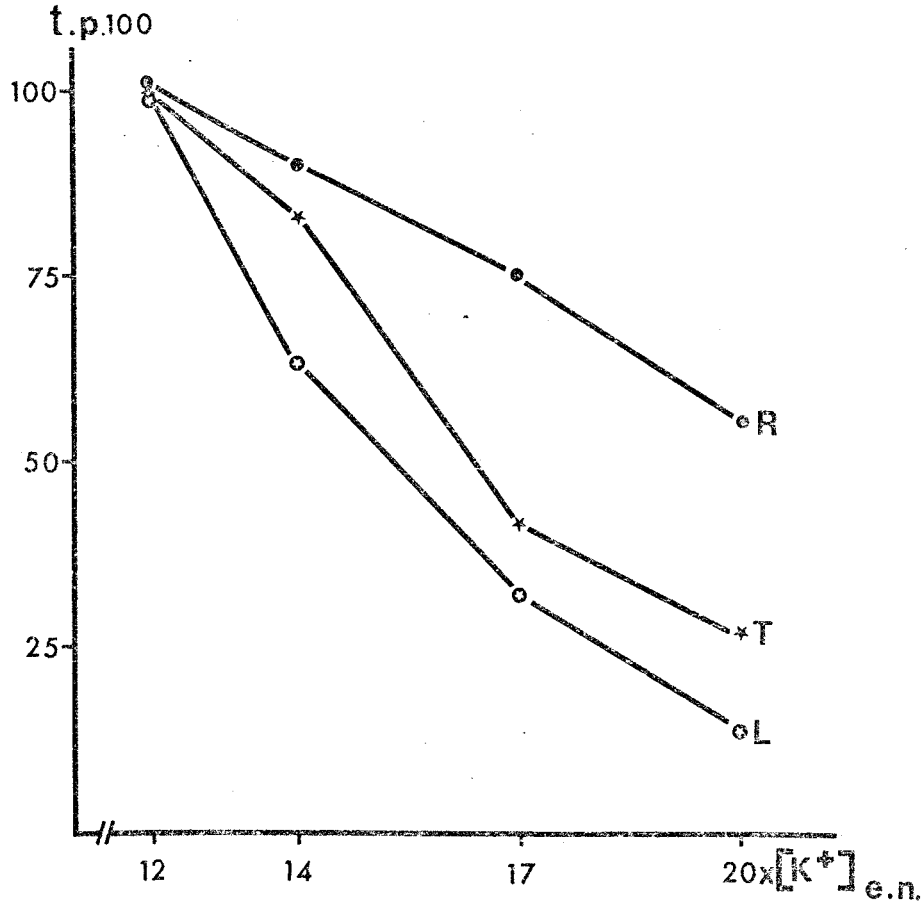


Figure 10 : Variations moyennes de la durée de la phase de latence et des deux phases de la réponse mécanique, en fonction des différentes $[K^+]_e$ utilisées.

L : phase de latence
T : phase ascendante
R : phase de relaxation spontanée.

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

de relaxation. Pour les milieux dont la $[K^+]_e$ est supérieure à 258 mEq/l ($[K^+]_{en.20}$), la durée de chacune des trois phases n'est pas modifiée.

III - RELATION ENTRE LE MAXIMUM DE LA TENSION DE CONTRACTURE ET LA $[K^+]_e$

Sous l'action de la solution normale enrichie en potassium, les fibres développent une tension dont l'importance croît avec l'augmentation de la $[K^+]_e$. Le tableau 9 donne les valeurs moyennes des tensions, exprimées en kg/cm^2, obtenues pour les différentes solutions hyperpotassiques utilisées.

La figure 11 (courbe A) montre la relation liant la tension de contracture aux différentes $[K^+]_e$ utilisées. La courbe obtenue est une sigmoïde, similaire à celle déterminée par ZACHAR et ZACHAROVA (1966) pour la fibre musculaire d'écrevisse, par HOYLE (1961) pour la fibre musculaire d'Insectes, par HODGKIN et HOROWICZ (1960) pour la fibre squelettique de grenouille. Cependant, le seuil du mécanisme contractile, appelé par SANDOW (1965), seuil mécanique, est obtenu, dans nos conditions expérimentales, lors de l'application à la fibre d'un milieu contenant 154,8 mEq/l de K^+

Milieux	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2
$K_{en.1}$	0	0
$K_{en.10}$	0	0
$K_{en.12}$	0,145	0,005
$K_{en.13}$	0,415	0,035
$K_{en.14}$	0,865	0,035
$K_{en.15}$	1,230	0,080
$K_{en.16}$	1,645	0,070
$K_{en.17}$	1,980	0,090
$K_{en.18}$	2,235	0,085
$K_{en.20}$	2,740	0,100
$K_{en.25}$	2,835	0,080
$K_{en.30}$	2,810	0,080

Tableau 9 : Valeurs des tensions de contracture obtenues pour différentes $[K^+]_e$.

Chaque valeur correspond à la moyenne des valeurs obtenues pour 8 fibres.

K_{en} : concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l

Il faut préciser que les tensions obtenues pour les milieux $K_{en.20}$; $K_{en.25}$; $K_{en.30}$, ne sont pas significativement différentes (F = 0,403).

BUS LILLE

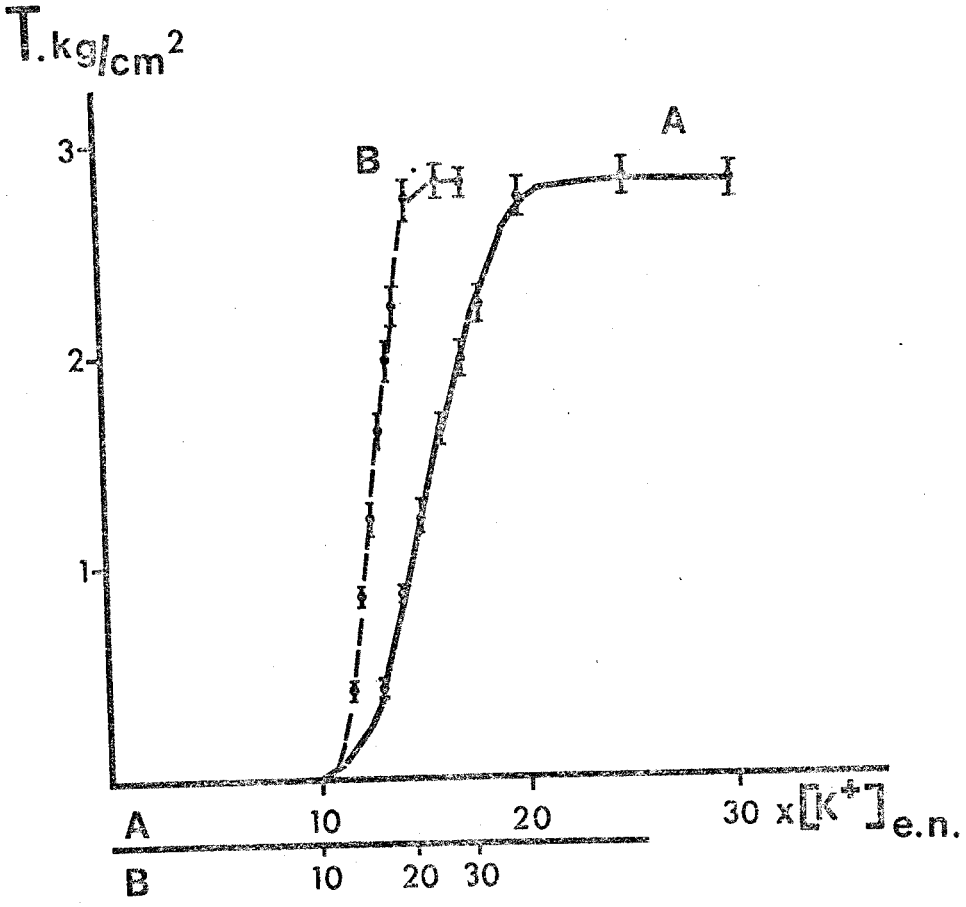


Figure 11 : Relation liant la tension maximale de contracture à la $[K^+]_e$.

A : échelle linéaire

B : échelle logarithmique

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

($[K^+]_{en.12}$). Pour des concentrations supérieures à 154,8 mEq/l et jusqu'à une concentration de 258 mEq/l ($[K^+]_{en.20}$), la tension croît et passe ainsi de 0,145 kg/cm^2 à 2,740 kg/cm^2. Enfin, au delà de la $[K^+]_e$ correspondant à $[K^+]_{en.20}$, la tension reste pratiquement constante, tout au moins pour des valeurs comprises entre 258 mEq/l ($[K^+]_{en.20}$) et 387 mEq/l ($[K^+]_{en.30}$).

* *

*

En résumé, la valeur du seuil d'activation du mécanisme contractile de la fibre de crabe, correspondant dans nos conditions expérimentales à une $[K^+]_e$ de 154,8 mEq/l, ainsi que celle correspondant à l'activation maximale (258 mEq/l), sont très différentes des valeurs trouvées par HUDDART (1969) sur le muscle du même animal.

En effet, les valeurs trouvées par cet auteur sont respectivement : 20 mEq/l pour le seuil et 120 mEq/l pour le maximum de tension. Cette différence peut s'expliquer en tenant compte du fait que notre préparation concerne une fibre isolée de type phasique alors que celle de HUDDART concerne le muscle entier qui renferme à la fois des fibres phasiques et des fibres toniques (ATWOOD et DORAI RAJ, 1964).

Ces fibres toniques, chez la grenouille, présentent un seuil de potentiel correspondant au seuil mécanique de - 50 mV selon NASLEDOV et coll. (1966) pour un potentiel de repos relativement bas, de l'ordre de - 60 mV (KUFFLER et VAUGHAN-WILLIAMS, 1953). De même, les fibres toniques de crabe sont caractérisées par un seuil de potentiel de - 52 mV pour un potentiel de repos de - 61 mV (ATWOOD et DORAI RAJ, 1964). Ainsi, dans de telles conditions, le seuil mécanique déterminé par HUDDART correspondrait au seuil des fibres toniques ; et non des fibres phasiques. Peut-être s'agit-il également du fait que HUDDART utilise des solutions hyperpotassiques mais isotoniques , alors que nos solutions sont hypertoniques ? Ce dernier point de vue ne semble pas devoir être retenu dans la mesure où, dans nos conditions expérimentales, la solution enrichie en K^+ est appliquée directement à la fibre qui répond rapidement et transitoirement, et dans la mesure où une solution hypertonique modifie la réponse de la fibre à la solution contracturante après un long délai d'application préalable.

Nos résultats diffèrent également d'une part de ceux de ZACHAR et ZACHAROVA (1966) obtenus sur la fibre d'écrevisse, et d'autre part, de ceux de HODGKIN et HOROWICZ (1960) sur la fibre squelettique de grenouille. En effet, pour l'écrevisse, les premiers auteurs donnent pour le seuil d'activation une $\left[K^+\right]_e$ égale à 21,6 mEq/l et

172,8 mEq/l pour l'activation maximale ; pour la grenouille, les seconds auteurs donnent respectivement 20 mEq/l et 100 mEq/l. Pour les fibres de crabe, nos valeurs sont de 154,8 mEq/l et 258 mEq/l. Ces différences peuvent se comprendre dans la mesure où, d'une part, la fibre de grenouille est très perméable aux ions K^+ (HODGKIN, 1952) alors que celle de crabe l'est beaucoup moins (FATT et KATZ, 1953 ; MOUNIER, 1970) et où, d'autre part, la fibre d'écrevisse présente des conductances membranaires au Cl^- et au K^+ équivalentes (ZACHAR et ZACHAROVA, 1966) alors que celle de crabe présente une conductance membranaire au chlore très supérieure à celle du K^+ (MOUNIER et GUILBAULT, 1971 ; MOUNIER, 1971).

Nos résultats ne semblent, de plus, pas entachés d'erreurs dans la mesure où la tension maximale de contracture qui est obtenue pour le crabe est de valeur voisine de celle obtenue par HODGKIN et HOROWICZ (1960) pour la grenouille. Nos valeurs sont de l'ordre de 2,8 kg/cm^2 et celles de HODGKIN et HOROWICZ, de 3 kg/cm^2. Il faut malgré tout préciser que la tension maximale de contracture développée par la fibre d'écrevisse est de l'ordre de 8 kg/cm^2 (ZACHAR et ZACHAROVA, 1966). Cette différence peut s'expliquer en tenant compte de la théorie des filaments glissants de HUXLEY (1958) qui fait intervenir la longueur des sarcomères.

IV - RELATION ENTRE LE MAXIMUM DE TENSION DEVELOPPEE ET LE POTENTIEL DE MEMBRANE

On sait que, d'après MOUNIER et coll. (1969), MOUNIER (1970), les milieux hypopotassiques entraînent une faible hyperpolarisation, maximale lorsque $[K^+]_e$ est égale à 38,7 mEq/l, et qu'en revanche, les milieux hyperpotassiques provoquent des dépolarisations d'autant plus amples que la $[K^+]_e$ est plus forte. En effet, la perméabilité menbranaire aux ions K^+, ou plus exactement, la conductance croît avec l'augmentation de $[K^+]_e$ (MOUNIER, 1970).

La courbe de la figure 12, empruntée à MOUNIER (1970), traduisant l'évolution du potentiel de repos (P.R.) en fonction du logarithme décimal de la concentration potassique exprimé en unités arbitraires (1 correspondant à la $[K^+]_{en}$) montre que la relation P.R. = f(log $[K^+]_e$) est linéaire lorsque $[K^+]_e$ est de valeur supérieure à 12,9 mEq/l. La pente de la droite est de 37 mV lorsque $[K^+]_e$ varie d'un facteur x 10.

Ainsi, par extrapolation, en prolongeant la partie linéaire de la courbe de la figure 12 vers les $[K^+]_e$ très fortes, l'on peut obtenir la valeur du P.R. pour chaque $[K^+]_e$ utilisée dans nos conditions pour déclencher la contracture (Figure 13).

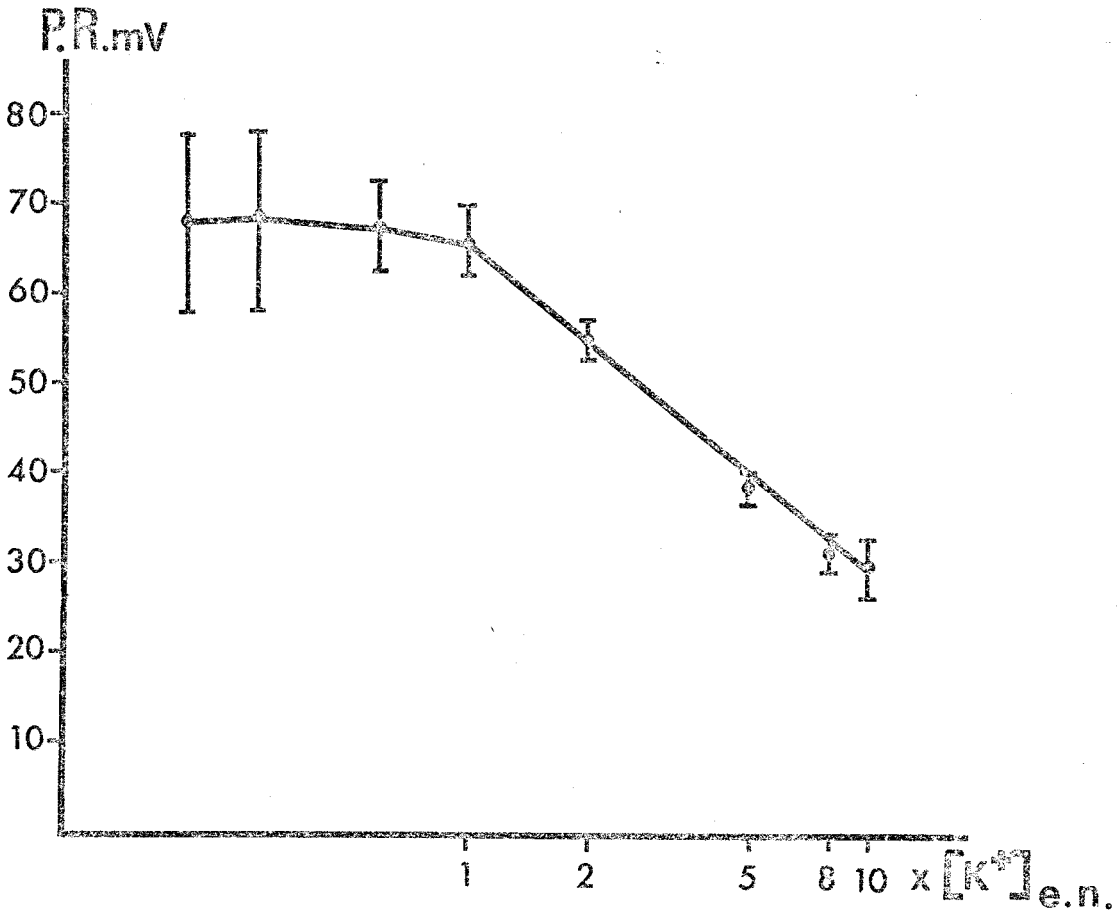


Figure 12 : Amplitude du P.R. en fonction du logarithme décimal de la $[K^+]_e$.

($[Cl^-]_e$ = Cste = 594 mEq/l)

(d'après MOUNIER, 1970)

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

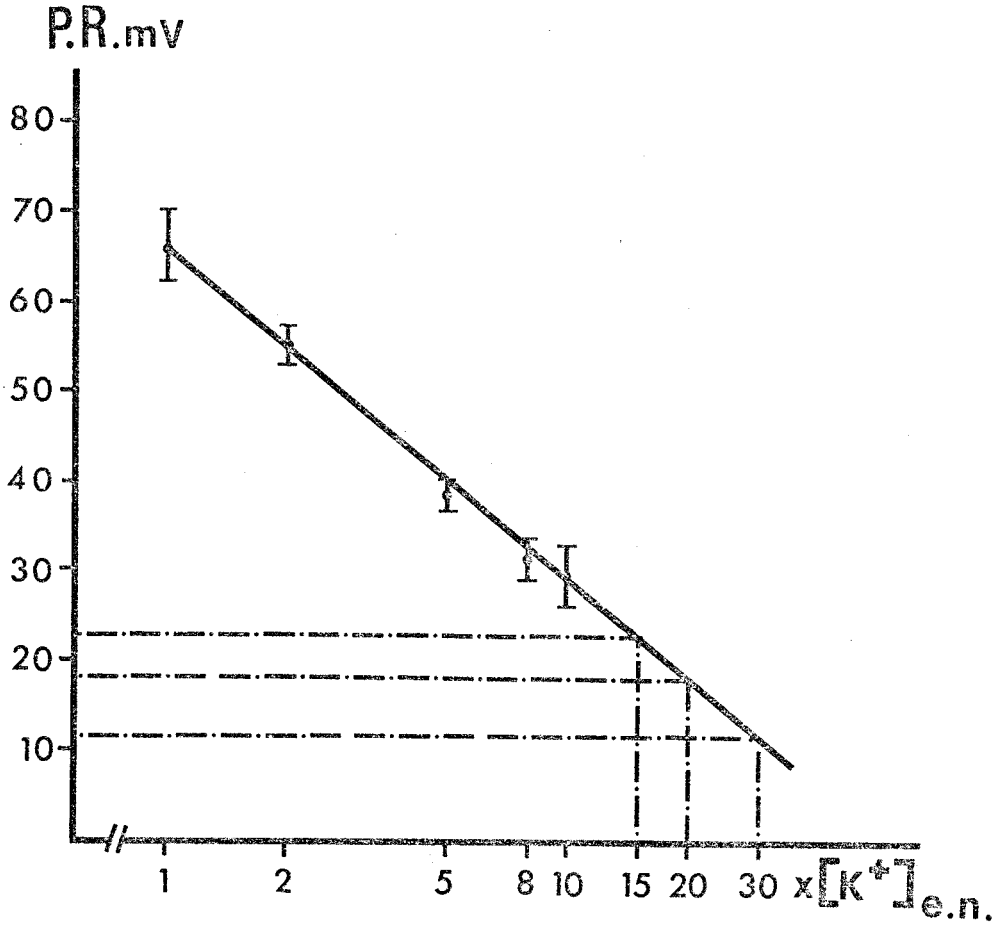


Figure 13 : Valeurs présumées du P.R. pour les milieux $K_{en.15}$; $K_{en.20}$, $K_{en.30}$. Valeurs extrapolées à partir de la droite de la figure 12.

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS ULLF

Le tableau 10 donne les différentes valeurs du P.R. déduites de la courbe de la figure 13 pour les différentes $[K^+]_e$ employées.

Ainsi, dans la mesure où le potentiel de membrane varie linéairement avec le log $[K^+]_e$ (Figures 12 et 13) et où la tension maximale de contracture est une fonction linéaire du log $[K^+]_e$, comme le montre la courbe B de la figure 11, la relation liant les variations de la tension aux variations du P.R. doit être linéaire.

En effet, les figures 14 et 15 montrent l'existence de cette relation entre la tension développée et le P.R. L'allure de la courbe obtenue (Figure 14) est la même que celle mise en évidence pour la première fois par HODGKIN et HOROWICZ (1960) sur la fibre de grenouille et retrouvée en 1966 par ZACHAR et ZACHAROVA sur celle d'écrevisse.

* *

*

Le seuil mécanique, préalablement défini comme étant la valeur du potentiel de membrane pour laquelle on obtient la plus petite tension mécanique mesurable et correspondant pour la fibre de crabe à une $[K^+]_e$ égale à 154,8 mEq/l est de l'ordre de - 26 mV. Il faut noter que ce seuil est différent de celui obtenu sur la fibre d'écrevisse (- 55 mV)

Milieux	PR mV	Tension kg/cm²
$K_{en.1}$	- 66,1	0
$K_{en.10}$	- 29,5	0
$K_{en.12}$	- 26,2	0,145
$K_{en.13}$	- 25	0,415
$K_{en.14}$	- 24	0,865
$K_{en.15}$	- 22,6	1,230
$K_{en.16}$	- 21,5	1,645
$K_{en.17}$	- 20,5	1,980
$K_{en.18}$	- 19,7	2,235
$K_{en.20}$	- 18	2,740
$K_{en.25}$	- 14,5	2,835
$K_{en.30}$	- 11,5	2,810

Tableau 10 : Valeurs moyennes du P.R. correspondant aux $[K^+]_e$ utilisées, pour déclencher la contracture.

Valeurs obtenues graphiquement à partir de la droite de la figure 13.

K_{en} : concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

par ZACHAR et ZACHAROVA (1966), de celui des fibres toniques de grenouille (- 50 mV) par NASELDOV et coll., 1966, et enfin de celui des fibres phasiques de grenouille (- 55 mV) observé par HODGKIN et HOROWICZ (1960).

La valeur du P.R. correspondant à l'activation maximale du mécanisme contractile définie par SANDOW (1965) comme étant la valeur du P.R. pour lequel le maximum de tension est obtenu, est de l'ordre de - 18 mV, pour la fibre de crabe d'après nos résultats. Cette valeur est en revanche très voisine de celle nécessaire pour obtenir l'activation mécanique totale de la fibre phasique de grenouille, - 25 mV d'après HODGKIN et HOROWICZ (1960) et quasiment identique à celle trouvée par ZACHAR et ZACHAROVA (1966) sur les fibres d'écrevisse (- 20 mV).

Ainsi, d'après nos mesures, il semble que l'activation mécanique soit comprise dans un intervalle de potentiel très réduit, d'une dizaine de mV environ. La tension développée par les fibres dans cet intervalle, varie linéairement avec la dépolarisation membranaire et le maximum de tension obtenu est de l'ordre de 2,8 kg/cm^2.

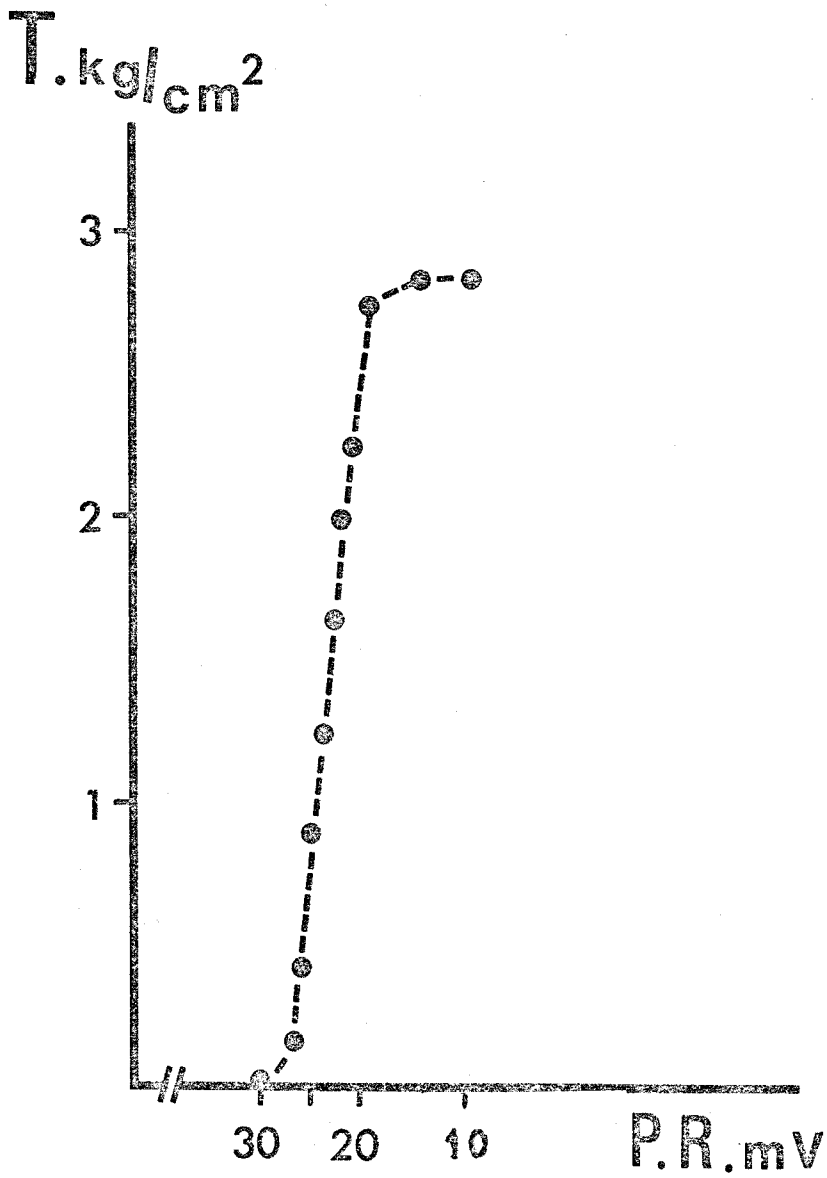


Figure 14 : Relation liant la tension de contracture à la valeur du P.R.

BUS LILLE

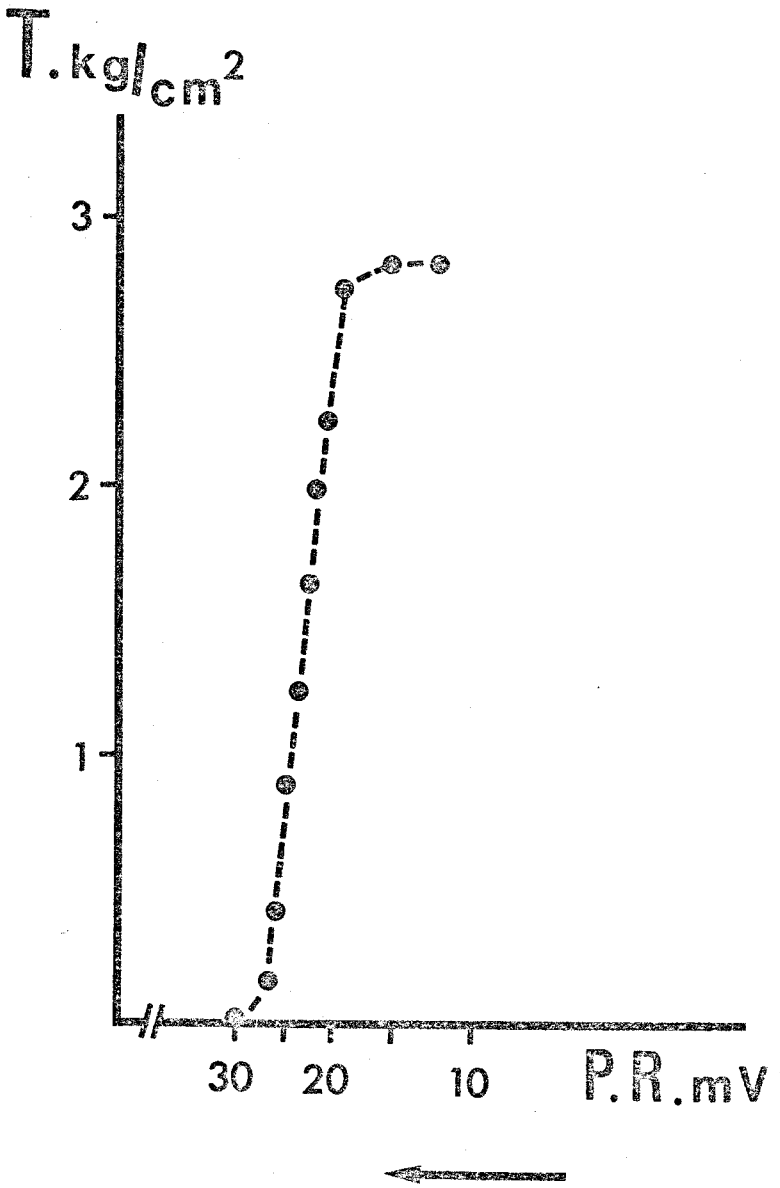


Figure 15 : Relation liant la tension de contracture au logarithme décimal du P.R.

BUS LILLE

Enfin, le fait que :

- d'une part, le seuil de dépolarisation correspondant au seuil mécanique soit différent de celui trouvé par les auteurs précédémment cités ci-dessus sur les fibres phasiques et toniques de grenouille ainsi que sur celles de l'écrevisse mais que, par contre la valeur du P.R. correspondant à l'activation maximale du mécanisme contractile soit de valeur sinon égale, du moins très voisine.

- que d'autre part, la valeur de la tension maximale soit très voisine (2,8 kg/cm^2 pour la fibre isolée de crabe ; 3 kg/cm^2 pour la fibre de grenouille) semblent montrer que nos résultats différents traduisent alors un comportement particulier de la fibre de crabe à un enrichissement modéré de la $[K^+]_e$.

B - ETUDE DE LA CONTRACTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE DE CRABE EN MILIEU DEPOURVU DE SODIUM

On sait depuis longtemps que le Na^+ du milieu externe peut freiner l'entrée du Ca^{++} (NIEDERGERKE et LUTTGAU, 1957) et par là diminuer l'activation du mécanisme contractile. En se basant sur ce résultat, l'étude de la contracture potassique a été envisagée en absence de Na^+, le Na^+ étant remplacé par du chlorhydrate de choline.

A cet effet, les fibres après dissection dans le milieu normal sont soumises préalablement pendant une période de 10 mn à l'action du milieu dépourvu de Na^+. Après cet intervalle de temps, les fibres sont soumises à l'action de ce même milieu dans lequel la $[K^+]_e$ est soudainement augmentée.

I - PHENOMENES MECANIQUES APPARAISSANT LIES A L'APPLICATION DE MILIEUX SANS Na^+

1 - "Contracture spontanée"

Avant d'aborder l'étude de la contracture potassique en milieu sans sodium, il convient de signaler qu'une

contracture durable apparaît dans 80 p.100 des cas (50 fibres sur 60 interrogées), lors de l'application du milieu sans Na^+ dont la $[K^+]_e$ est normale.

En effet, trois minutes en moyenne après l'application du milieu sans Na^+, la fibre développe une contracture d'amplitude relativement grande (1 kg/cm^2, en moyenne), très durable comme le montre la figure 16 La durée de ce type de " contracture spontanée " est de l'ordre de 2 mn à 2 mn 30 s. Cette durée est de valeur bien supérieure à la durée de la contracture potassique obtenue au niveau du seuil (45 s) et à la durée de la contracture correspondant à l'activation maximale (30 s).

* *

*

Une telle contracture peut se comprendre dans la mesure où CROSS et coll. (1965), FRUMENTO (1965) montrent, sur le couturier de grenouille, que durant le remplacement du Na^+ intracellulaire par le K^+ en milieu sans sodium, le potentiel interne de la cellule devient suffisamment négatif par rapport au potentiel électrochimique potassique pour qu'un mouvement net entrant de K^+ puisse se produire et déclencher ainsi une dépolarisation membranaire.

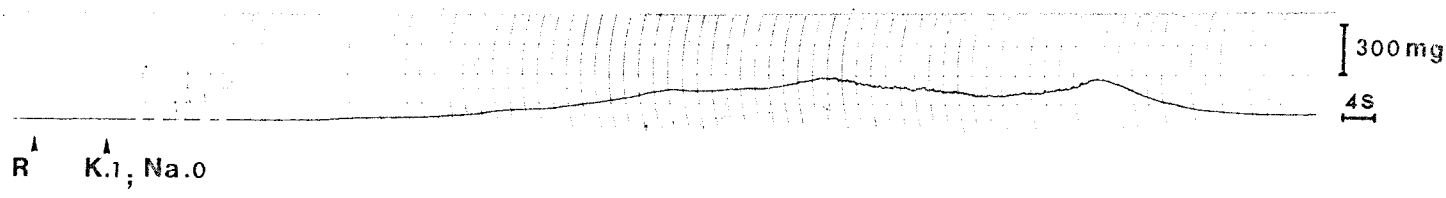


Figure 16 : Exemple de "contracture spontanée" obtenue lors de l'application à la fibre de crabe d'un milieu dépourvu de Na^+, mais de $[K^+]_e$ normale.

(La contracture apparaît 3 minutes en moyenne après le début de l'application de ce milieu).

BUS LILLE

A cette "contrature spontanée" est associé un autre phénomène. En effet, un renflement blanchâtre de 250 μ environ apparaît dans la partie proche de la carapace et se déplace lentement en direction de l'axostyle. Ce renflement, une fois arrivé à cette extrémité disparaît et la fibre redevient alors, en tous points, parfaitement transparente.

Deux raisons nous interdisent d'envisager ce phénomène de variations de transparence comme la conséquence d'une lésion de la fibre puisque :

- le renflement blanchâtre ne présente pas le même aspect que celui observé lors d'une lésion provoquée. En effet, dans ce dernier cas, apparaît en plus une structure granuleuse.

- toutes les fibres ayant présenté cette variation de transparence réversible demeurent mécaniquement actives. En effet, lors de l'application d'une solution hyperpotassique, les contractures enregistrées présentent un décours identique à celui des contractures potassiques obtenues sur les fibres ne présentant pas ce phénomène de variation de transparence mais aussi identique à celui des contractures potassiques obtenues en milieu de $[Na^+]_e$ normale.

2 - Existence de secousses au début de la contracture potassique

L'effet des milieux hyperpotassiques dépourvus de Na^+ est étudié après 10 mn de prétraitement de la fibre dans le milieu $Na_{en.0}$ et ainsi après l'apparition de la contracture réversible qui survient dans la plupart des cas comme nous l'avons déjà précisé.

Pour des concentrations en K^+ supérieures ou égales à 77,4 mEq/l de K^+ ($[K^+]_{en\ .\ 6}$), se greffe au début de la contracture comme l'atteste les tracés de la figure 17 une série de secousses dont l'amplitude variable peut cependant être égale à l'amplitude maximale de la contracture proprement dite. Il faut signaler que l'apparition de ces contractions transitoires ne modifie en rien la suite du déroulement de la contracture.

Ces contractions déclenchées au début de l'application des milieux hyperpotassiques ($[K^+]_e = [K^+]_{en.6}$) sont à associer à l'abaissement du seuil de dépolarisation critique du potentiel d'action (P.A.) observé en milieu sans Na^+ (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971) et à l'installation progressive de la dépolarisation membranaire qui suit l'hyperpolarisation initiale (MOUNIER, 1971). Ces deux phénomènes peuvent ainsi concourir au déclenchement d'une activité électrique detype automatique.

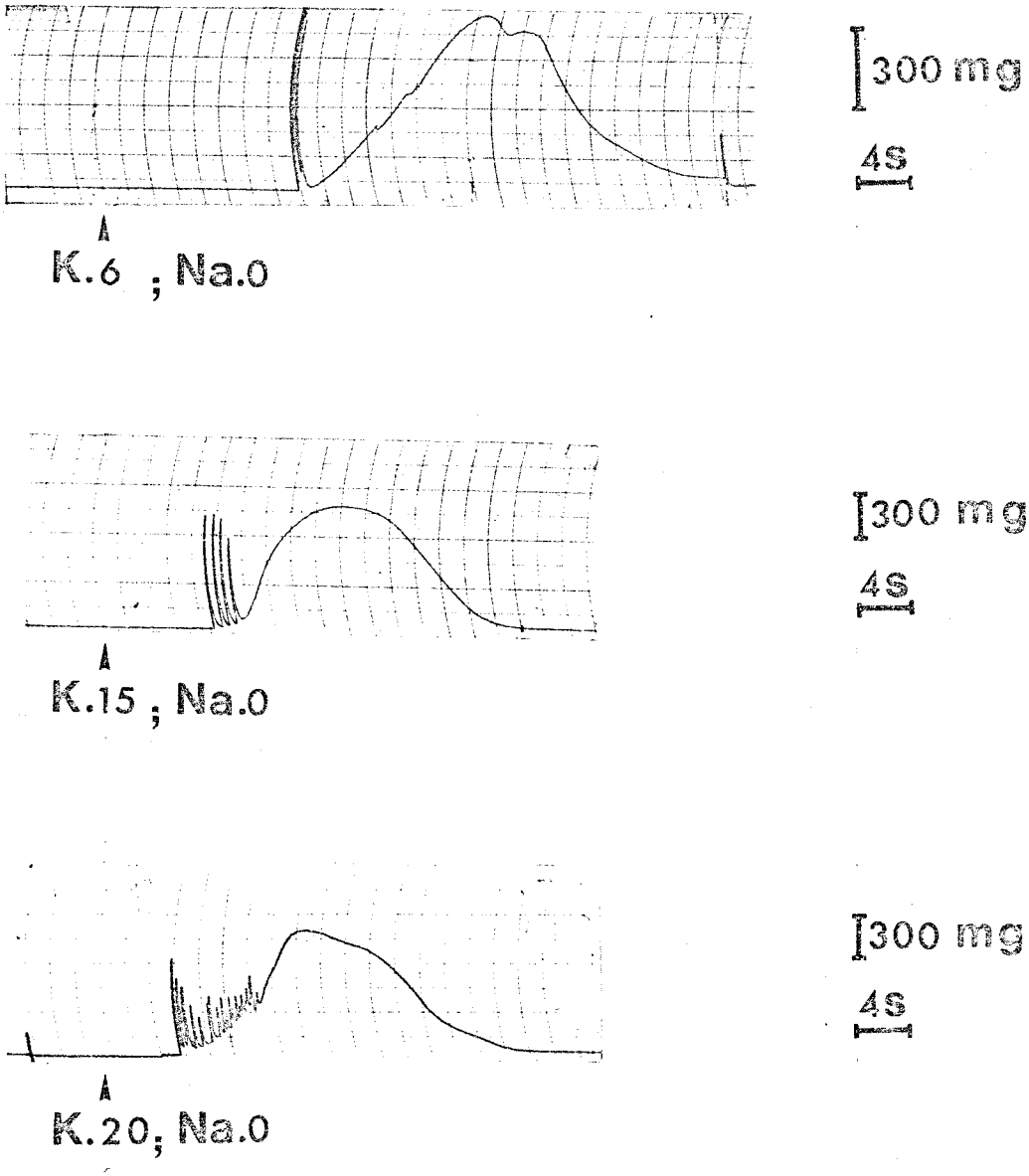


Figure 17 : Exemples de contractions apparaissant au début de la contracture, déclenchées par l'application de différents milieux hyperpotassiques, dépourvus de Na^+ après 10 mn de prétraitement de la fibre par le milieu sans sodium.

BUS LILLE

II - DUREES CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTES PHASES DE LA CONTRACTURE EN MILIEU SANS Na^+

1 - Action des milieux hyperpotassiques-choline après prétraitement de 10 mn par le milieu choli

Les tracés de la figure 18 montrent l'allure des contractures obtenues lors de l'application des différents milieux hyperpotassiques-choline.

On peut noter que, comme précédemment pour les milieux de $[Na^+]_e$ normale (Résultats, § A), la durée totale de la réponse dépend de la $[K^+]_e$ employée : cette durée diminue au fur et à mesure que la $[K^+]_e$ augmente.

Le tableau 11 et la figure 19 montrent les variations de la durée de chacune des trois phases définies précédemment (Résultats, § A) en fonction des différentes $[K^+]_e$ étudiées. Pour chacune des courbes, la durée respective des trois phases, obtenues pour une $[K^+]_e$ égale à 38,7 mEq/l ($[K^+]_{en\ .\ 3}$), correspond à 100 p.100. Les différentes durées pour chaque période lors de l'application de milieux plus hyperpotassiques que $[K^+]_{en.3}$ sont exprimées en p.100.

Il ressort de l'examen de ces pourcentages que la période de latence est encore affectée par les milieux très

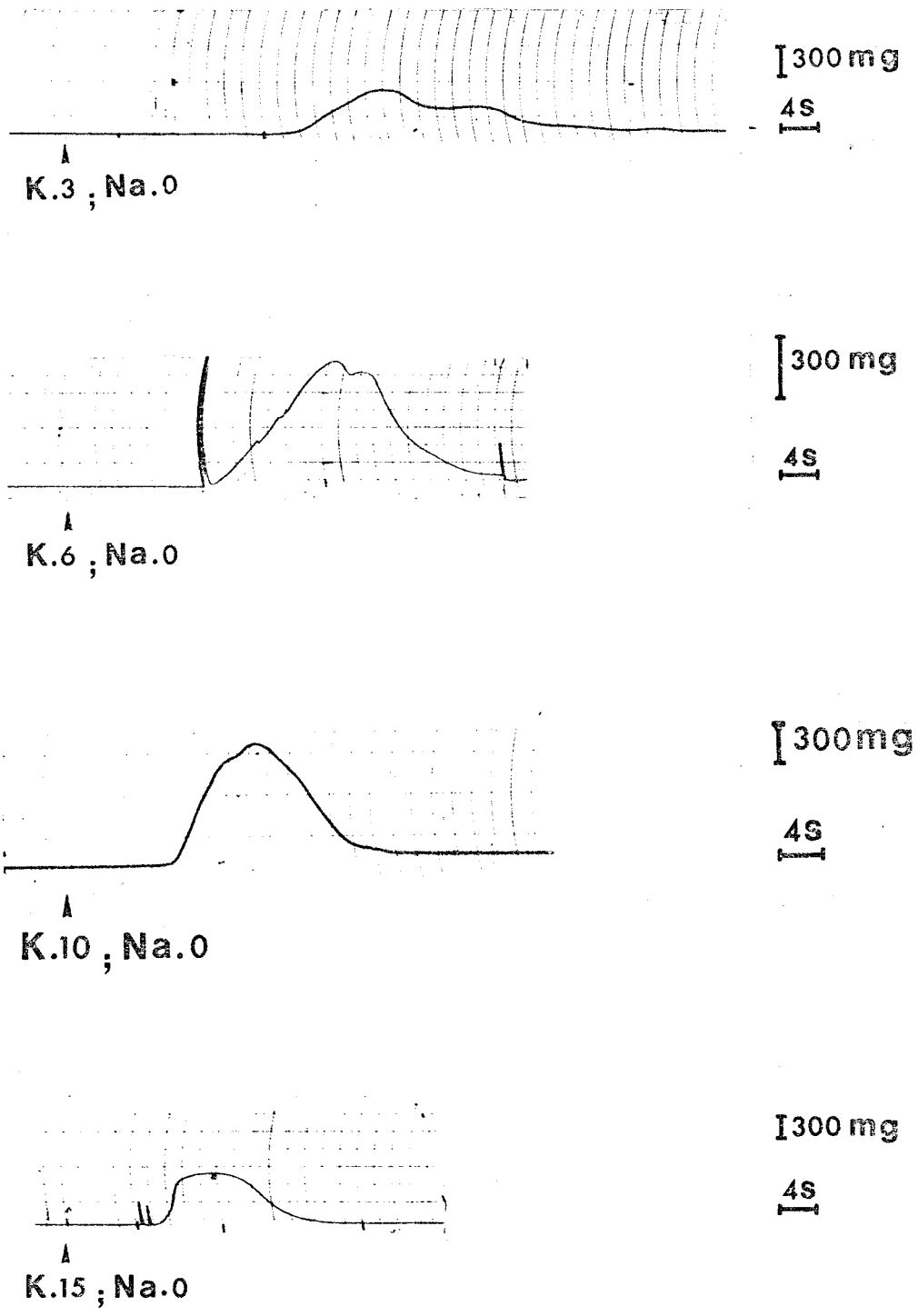


Figure 18 : Contractures de la fibre musculaire de crabe déclenchées par l'application de milieux hyperpotassiques dépourvus de Na^+ après 10 mn de prétraitement par un milieu dépourvu de Na^+.

BUS LILLE

Milieux	Phase de latence		Phase ascendante		Phase de relaxation	
	Secondes	p.100	Secondes	p.100	Secondes	p.100
$Na_{en.0}$ $K_{en.3}$	26	100	16	100	29	100
$Na_{en.0}$ $K_{en.6}$	17	65,5	13	81	21	72,5
$Na_{en.0}$ $K_{en.10}$	12	66	12	75	18	62
$Na_{en.0}$ $K_{en.15}$	8	31	12	75	18	62
$Na_{en.0}$ $K_{en.20}$	5	19	12	75	18	62

Tableau 11 : Evolution de la durée moyenne de la phase de latence, et des deux phases de la réponse mécanique en fonction de la $[K^+]_e$ en absence de Na^+.

Prétraitement de 10 mn par le milieu ($Na_{en.0}$ - $K_{en.1}$)

K_{en} :concentration externe normale en potassium

= 12,9 mEq/l

Na_{en} :concentration externe normale en sodium

= 513 mEq/l

BUS LILLE

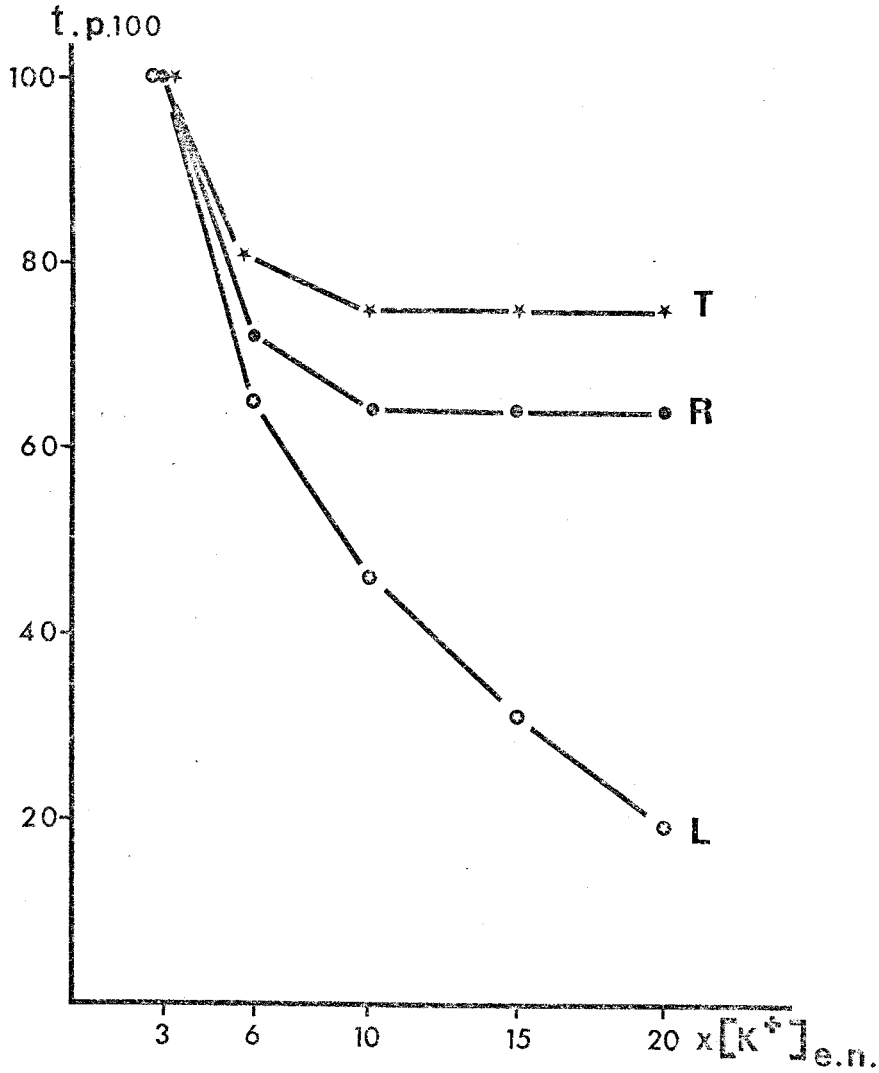


Figure 19 : Variations moyennes de la durée de la phase de latence et des deux phases de la réponse mécanique en fonction de la $[K^+]_e$, après 10 mn de prétraitement par un milieu dépourvu de Na^+.

L : phase de latence

T : phase ascendante

R : phase de relaxation spontanée.

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

riches en K^+ alors que les phases ascendantes et de relaxation ne le sont plus. En effet, la latence diminue constamment au fur et à mesure que la $[K^+]_e$ augmente. Par contre, la phase ascendante et la phase de relaxation ne sont diminuées que lorsque $[K^+]_e$ varie de 38,7 mEq/l à 129 mEq/l, c'est-à-dire de $[K^+]_{en}$. 3 à $[K^+]_{en}$ .10 ; au-delà de cette dernière valeur, la durée reste constante.

2 - Action des milieux hyperpotassiques-choline appliqués directement

Le tableau 12 mentionne les valeurs des différentes durées de chacune des trois phases. Dans les conditions d'application directe, la contracture ne peut être déclenchée qu'avec un milieu contenant 103,2 mEq/l de K^+, le seuil d'activation correspond dans ce cas au milieu $[K^+]_{en}$. 8.

Les tracés de la figure 20 montrent une diminution progressive des durées des trois phases en fonction de la teneur en K^+ du milieu dépourvu de Na^+. L'évolution de la durée de ces trois phases en fonction de la $[K^+]_e$ se trouve être intermédiaire entre celles correspondant d'une part, aux milieux hyperpotassiques non privés de Na^+ et d'autre

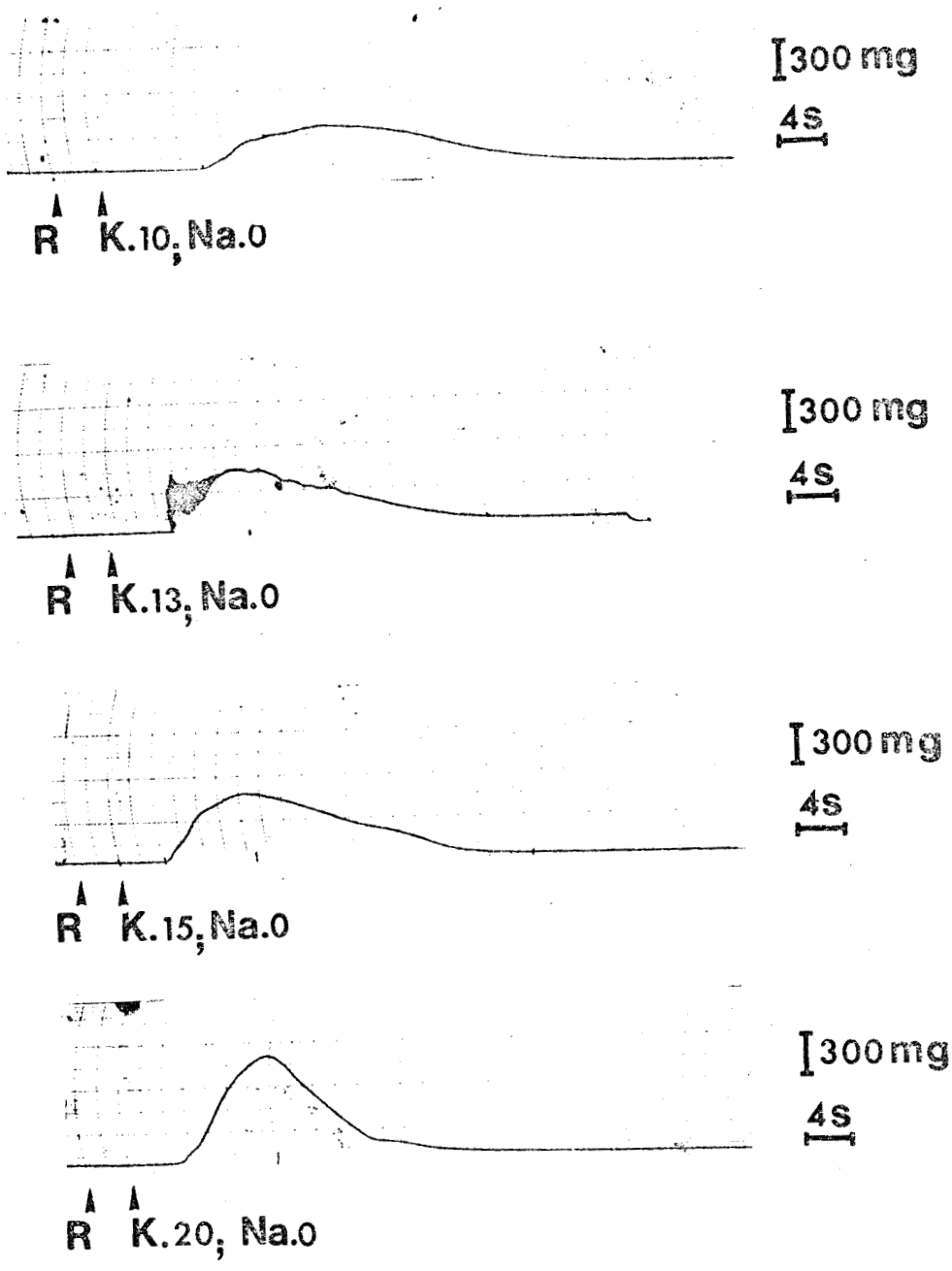


Figure 20 : Contractures de la fibre isolée de crabe obtenues lors de l'application de milieux hyperpotassiques dépourvus de sodium.

BUS LILLE

Milieux	Phase de latence		Phase ascendante		Phase de relaxation	
	Secondes	p.100	Secondes	p.100	Secondes	p.100
$Na_{en.0}$ $K_{en.8}$	14	100	15	100	40	100
$Na_{en.0}$ $K_{en.10}$	10	71,5	12	80	34	87
$Na_{en.0}$ $K_{en.13}$	5	35	10	66,6	30	75
$Na_{en.0}$ $K_{en.15}$	4	28,5	7	46,6	27	67,5
$Na_{en.0}$ $K_{en.20}$	4	28,5	6	40	26	65

Tableau 12 Evolution de la durée moyenne de la phase de latence et des deux phases de la réponse mécanique en fonction de la $[K^+]_e$ lors de l'application de milieux hyperpotassiques dépourvus de Na^+ (la choline remplaçant le Na^+).

Na_{en} : concentration externe normale en sodium = 513 mEq/l

K_{en} : concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l

BUS Lille

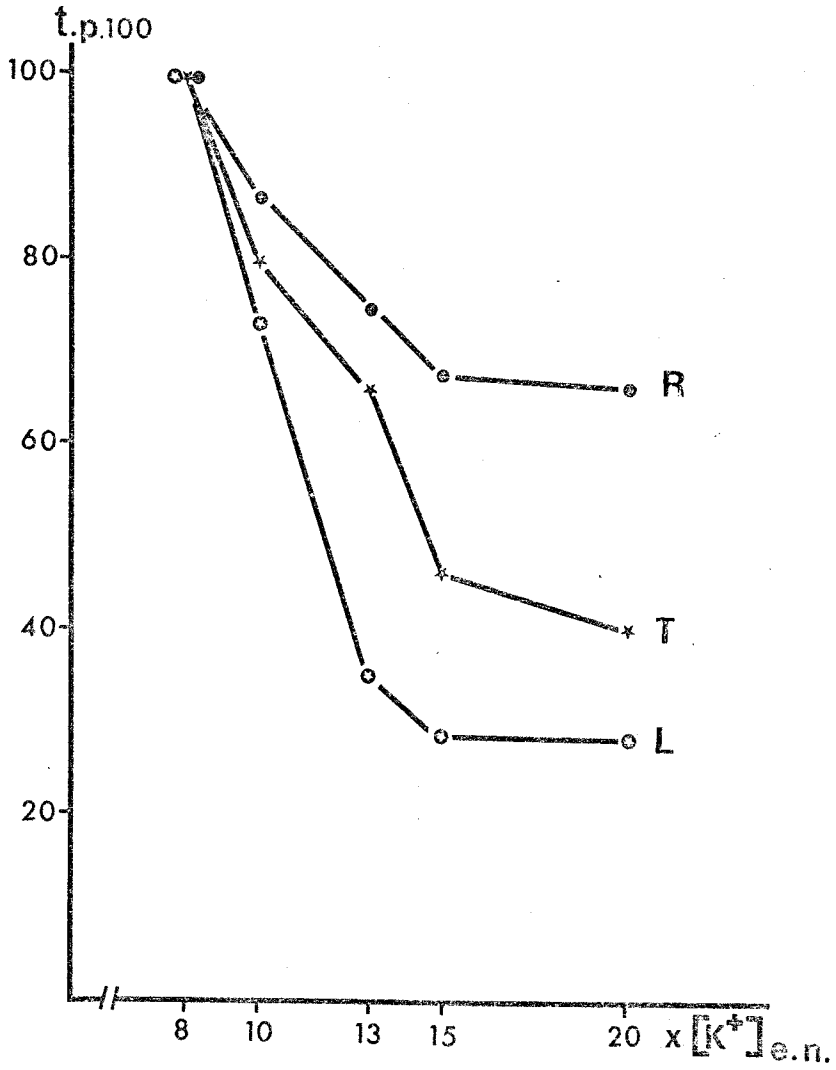


Figure 21 : Variations moyennes de la durée de la phase de latence et des deux phases de la réponse mécanique en fonction de la $[K^+]_e$.

L : phase de latence
T : phase ascendante
R : phase de relaxation spontanée.

$[K^+]_{en}$ = 12,0 mEq/l

BUS LILLE

part, aux milieux hyperpotassiques privés de Na^+ agissant seulement 10 mn après l'application du milieu dépourvu de Na^+ et de $[K^+]_e$ normale.

III - RELATION ENTRE LE MAXIMUM DE TENSION DEVELOPPEE ET LA $[K^+]_e$

Au fur et à mesure que la $[K^+]_e$ augmente, les fibres développent une tension de contracture croissante.

Les points expérimentaux de la courbe (a) de la figure 22 ainsi que les valeurs portées au tableau 13 correspondent à des tensions obtenues lors de l'application de milieux hyperpotassiques-choline aux fibres ayant subi au préalable un prétraitement de 10 mn par un milieu ne contenant pas de Na^+.

Les points de la courbe (b) de la figure 22 ainsi que les valeurs du tableau 14 correspondent aux tensions développées par les fibres n'ayant pas subi le prétraitement.

Ces courbes (a) et (b) présentent le même décours sigmoïde que celui décrit précédemment (courbe c, figure 22). Toutefois, si la relation liant l'amplitude

Milieux	Tension kg/cm^2	Ecart-type
$K_{en.3}$	0,220	0,025
$K_{en.5}$	0,590	0,030
$K_{en.6}$	0,860	0,050
$K_{en.8}$	1,340	0,060
$K_{en.10}$	1,710	0,080
$K_{en.12}$	2,270	0,060
$K_{en.15}$	2,875	0,090
$K_{en.20}$	2,850	0,100

Tableau 13 : Valeurs moyennes des tensions de contracture obtenues lors de l'application de milieux hyperpotassique.choline, après que les fibres aient subi un prétraitement de 10 mn dans un milieu ne contenant pas de Na^+.

K_{en} = concentration externe normale en potassium
= 12,9 mEq/l

BUS LILLE

Milieux	Tension kg/cm^2	Ecart-type
$K_{en.8}$	0,023	0,002
$K_{en.9}$	0,310	0,020
$K_{en.10}$	0,685	0,040
$K_{en.13}$	1,645	0,050
$K_{en.15}$	2,140	0,060
$K_{en.17}$	2,600	0,085
$K_{en.20}$	2,770	0,095
$K_{en.22}$	2,800	0,090

Tableau 14 : Valeurs moyennes des tensions de contracture déclenchée par application de milieux hyperpotassiques dépourvus de Na^+ (la choline remplace le Na^+).

K_{en} = concentration externe normale en potassium

= 12,9 mEq/l

BUS LILLE

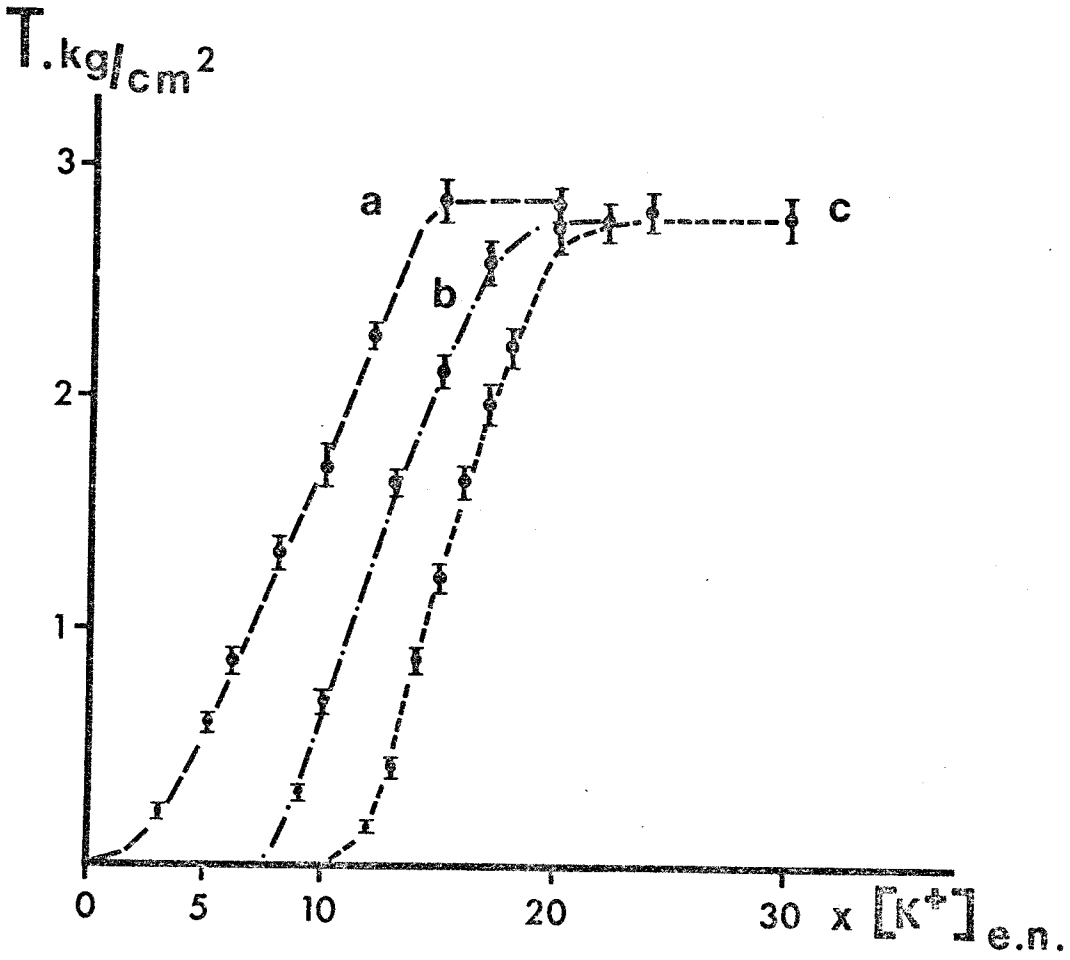


Figure 22 : Relation liant la tension maximale de contracture à la $[K^+]_e$.

- en milieu sans sodium
. courbe a : après prétraitement de la fibre pendant 10 mn par un milieu sans Na^+
. courbe b : sans prétraitement
- en milieu de $[Na^+]_e = [Na^+]_{en}$ = courbe c

$[K^+]_{en}$ = 12,9 mEq/l

BUS LILLE

de la contracture à la $[K^+]_e$ est similaire, on constate cependant que l'absence de Na^+ entraîne une translation des courbes vers l'origine, déplacement d'autant plus net que la fibre a subi plus longtemps le prétraitement. Ce phénomène de translation traduisant une diminution du seuil mécanique est conforme à celui observé sur de nombreuses fibres musculaires en particulier sur celle de grenouille (LÜTTGAU et NIEDERGERKE, 1958 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1960).

* *

*

En résumé, en absence de Na^+, la valeur du seuil mécanique est atteinte quand la fibre ayant subi le prétraitement est immergée dans un milieu sans Na^+ contenant seulement 38,7 mEq/l de K^+ ($[K^+]_{en\ .\ 3}$) au lieu de 154,8 mEq/l ($[K^+]_{en\ .\ 12}$) en présence de Na^+. De plus, en absence de Na^+, le maximum de tension développée par la fibre apparaît pour une $[K^+]_e$ de 193,5 mEq/l ($[K^+]_{e\ .\ 15}$) alors qu'en présence de Na^+, la valeur est de 258 mEq/l ($[K^+]_{e\ .\ 20}$). Dans de telles conditions, l'hypothèse formulée précédemment selon laquelle l'augmentation de la π n'entraîne ni variations de la valeur de seuil, ni diminution d'amplitude se trouve vérifiée dans ces nouvelles conditions expérimentales puisque le maximum de tension en présence ou en absence de Na^+ est de valeur identique (2,8 kg/cm^2).

La diminution de l'amplitude de la dépolarisation nécéssaire pour atteindre, d'une part le seuil mécanique et d'autre part l'activation maximale du mécanisme contratile, observée en milieu sans Na^+ , traduit , semble-t-il , l'existence de l'antagonisme Ca^{++}-Na^+ postulé par NIEDERGERKE et LUTTGAU (1957) et admise depuis par de nombreux auteurs.

IV - COMPARAISON DES DIFFERENTES PHASES

La comparaison des durées des différentes phases de la contracture lors de l'application de :

- milieux hyperpotassiques,

- milieux hyperpotassiques, dépourvus de Na^+, appliqués directement sur la fibre équilibrée dans la solution normale (application directe),

- milieux hyperpotassiques, dépourvus de Na^+, appliqués après un prétraitement de 10 mn de la fibre par le milieu $\left[Na^+\right]_{en} = 0$,

conduit à un certain nombre d'hypothèses.

1 - Comparaison des latences (Tableau 15)

Les latences obtenues pour des contractures de même amplitude, déclenchées par les différents milieux hyperpotassiques étudiés, contenant ou non du Na^+, semblent au vu des chiffres du tableau, de valeurs différentes ; il convient de signaler que ces valeurs ne sont pas significativement différentes dans la mesure où ces milieux agissent directement, les fibres n'ayant pas subi l'épreuve du prétraitement.

Par contre, lorsque les milieux hyperpotassiques sans Na^+ sont appliqués après le prétraitement de la fibre dans le milieu ($[Na^+]_{en.0}$; $[K^+]_{en.1}$), les latences dans tous les cas sont de valeurs différentes et les différences sont significatives ; ces latences doublent en moyenne : ce retard d'apparition de la contracture en absence de Na^+, dans le cas du prétraitement peut s'expliquer dans la mesure où l'absence de Na^+ entraîne une hyperpolarisation de la membrane (MOUNIER et coll., 1969 ; MOUNIER, 1970). Ainsi, le temps nécessaire pour atteindre le seuil de dépolarisation serait plus long dans la mesure où les auteurs cités ci-dessus montrent que l'hyperpolarisation en absence de Na^+ n'est pas soudaine mais progressive. De plus, le fait que les latences soient de même valeur en présence

Tensions kg/cm²	Solutions	Latence secondes	Test de signification	
Tension obtenue au niveau proche du seuil d'activation	$Na_{en.1}$	12 (σ=1,5)	N.S. t=1,770	S. t=10,3
	$Na_{en.0}$ A.D.	14 (σ=1,8)		
	$Na_{en.0}$ Pret.	26,3 (σ=1,6)		
0,800	$Na_{en.1}$	8 (σ=1,3)	N.S. t=1,335	S. t=5,436
	$Na_{en.0}$ A.D.	10 (σ=3,4)		
	$Na_{en.0}$ Pret.	17,7 (σ=3,3)		
1,850	$Na_{en.1}$	5 (σ=1,6)	N.S. t=0,565	S. t=5,080
	$Na_{en.0}$ A.D.	5,5 (σ=2,1)		
	$Na_{en.0}$ Pret.	12 (σ=3,6)		
2,800	$Na_{en.1}$	2 (σ=1)	N.S. t=3,316	S. t=4,638
	$Na_{en.0}$ A.D.	4,1 (σ=2)		
	$Na_{en.0}$ Prét.	8 (σ=2)		

Tableau 15 : Comparaison de la durée moyenne de la phase de latence en présence ou en absence de Na^+.

Na_{en} : concentration externe normale en sodium = 513 mEq/l

A.D. : application directe

Prét. : prétraitement de 10 mn

N.S. : non significatif

S. : significatif

BUS LILLE

ou en absence de Na^+ sans prétraitement de la fibre plaide en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'absence de Na^+ ne modifie pas la vitesse de dépolarisation obtenue en milieu hyperpotassique (MOUNIER, 1970).

2 - Comparaison des durées de la phase ascendante (Tableau 16)

Les durées de la phase ascendante ne semblent pas modifiées par l'absence de Na^+ dans la solution externe, à condition que la fibre n'ait pas subi le prétraitement.

En revanche, après prétraitement, la durée de la phase ascendante est augmentée, mais dans ce cas, les valeurs comme l'indique le tableau 18 ne sont pas statistiquement différentes, sauf dans le cas où la $\left[K^+\right]_e$ est très importante.

3 - Comparaison des durées de la phase de relaxation (Tableau 17)

Là encore, comme pour les autres données, l'absence de Na^+ ne conduit à aucune variation de la durée de la phase de relâchement, dans la mesure où la fibre n'a pas été équilibrée pendant 10 mn dans la solution normale privée de Na^+.

Tensions kg/cm²	Solutions	Phase ascendante secondes	Test de signification
Tension obtenue au niveau proche du seuil d'activation	$Na_{en.1}$	14 (σ=3,5)	N.S. F = 0,163
	$Na_{en.0}$ A.D.	15 (σ=2,5)	
	$Na_{en.0}$ Prét.	16,6 (σ=2,5)	
0,800	$Na_{en.1}$	12 (σ=2)	N.S. F = 2,364
	$Na_{en.0}$ A.D.	12 (σ=2,5)	
	$Na_{en.0}$ Prét.	13 (σ=2,5)	
1,850	$Na_{en.1}$	8 (σ=1,4)	N.S. F = 3,275
	$Na_{en.0}$ A.D.	10 (σ=2,6)	
	$Na_{en.0}$ Prét.	12 (σ=2)	
2,900	$Na_{en.1}$	4 (σ=1)	N.S. t=1,680 S. t=6,060
	$Na_{en.0}$ A.D.	6 (σ=1)	
	$Na_{en.0}$ Prét.	14 (σ=3)	

Tableau 16 : Comparaison des durées moyennes de la phase ascendante de la réponse des fibres en présence ou en absence de Na^+.

Na_{en} : concentration externe normale de sodium = 513 mEq/l

A.D. : application directe

Prét. : prétraitement de 10 mn

N.S. : non significatif

S. : significatif

BUS LILLE

Par contre, après prétraitement, la phase de relaxation est très diminuée à tous les niveaux de tension étudiées. Cette diminution peut être expliquée en faisant intervenir l'augmentation de la vitesse de la synthèse d'un inhibiteur de la contracture dont l'existence a été postulée par HODGKIN et HOROWICZ (1956) et qui, à l'heure actuelle, semble être un facteur intervenant au niveau de la pompe à Ca^{++} du réticulum sarcoplasmique (SANDOW, 1965, 1970).

BUS LILLE

Tensions kg/cm²	Solutions	Phase de relaxation secondes	Test de signification
Tension obtenue au niveau proche du seuil d'activation	$Na_{en.1}$	10 (σ=5,7)	N.S.
	$Na_{en.0}$ A.D.	40 (σ=3,6)	S. t=12,4
	$Na_{en.0}$ Prét.	29 (σ=2,5)	
0,800	$Na_{en.1}$	36 (σ=2,7)	N.S.
	$Na_{en.0}$ A.D.	34 (σ=3,4)	S. t=3,4
	$Na_{en.0}$ Prét.	21 (σ=1,8)	
1,850	$Na_{en.1}$	30 (σ=3)	N.S.
	$Na_{en.0}$ A.D.	30 (σ=3,3)	S. t=4,52
	$Na_{en.0}$ Prét.	18 (σ=4)	
2,800	$Na_{en.1}$	24 (σ=2)	N.S.
	$Na_{en.0}$ A.D.	26 (σ=3)	S. t=3,83
	$Na_{en.0}$ Prét.	18 (σ=2)	

Tableau 17 : Comparaison des durées moyennes de la phase de relaxation de la réponse des fibres en présence ou en absence de Na^+.

Na_{en} : concentration externe normale en sodium = 513 mEq/l

A.D. : application directe

Prét. : prétraitement de 10 mn

N.S. : non significatif

S. : significatif

BUS

C - ETUDE DE LA CONTRACTURE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EXTRACELLULAIRE DE CALCIUM

Il est connu que la présence de Ca^{++} dans le milieu extracellulaire est indispensable au couplage excitation-contraction des muscles de Vertébrés. La présence de ces ions Ca^{++} est nécessaire pour l'obtention chez ces Vertébrés, des contractures potassiques des muscles squelettiques (FRANK, 1960 ; LÜTTGAU, 1963), du coeur (NIEDERGERKE, 1956), des muscles lisses (EDMAN et SCHILD, 1962) et celles des muscles de certains Invertébrés (GAINER, 1968). Par contre, pour les muscles d'Insectes, le problème ne semble pas totalement résolu dans la mesure où HOYLE (1961) montre que le couplage excitation-contraction du muscle de criquet n'implique pas un rôle prépondérant des ions Ca^{++} extracellulaires, alors qu'en revanche, AIDLEY (1965), sur un muscle différent du même animal mentionne que ces ions sont nécessaires au développement de la contracture potassique.

Dans le but de préciser au niveau de notre préparation, d'une part, le rôle du Ca^{++} extracellulaire dans le couplage excitation-contraction et d'autre part,

l'influence de sa concentration sur le maximum de la tension développée, une étude systématique de l'influence des ions Ca^{++} extracellulaires sur la contracture a été entreprise.

Les fibres isolées sont soumises à l'action de milieux hypocalciques ou hypercalciques (Voir Techniques) pendant une durée de 10 mn. Après cet intervalle de temps, la contracture est obtenue par application du même milieu contenant 20 fois la $[K^+]_{en}$. Cette $[K^+]_e$ a été choisie car elle permet, dans les conditions normales, l'activation totale du mécanisme contractile.

I - MILIEUX HYPOCALCIQUES

1 - Etude de la contracture après 10 mn de prétraitement

1-1. Variations de la durée des phases ascendante et de relaxation

Le tableau 18 et les tracés de la figure 23 montrent l'évolution des durées de chacune des deux phases étudiées

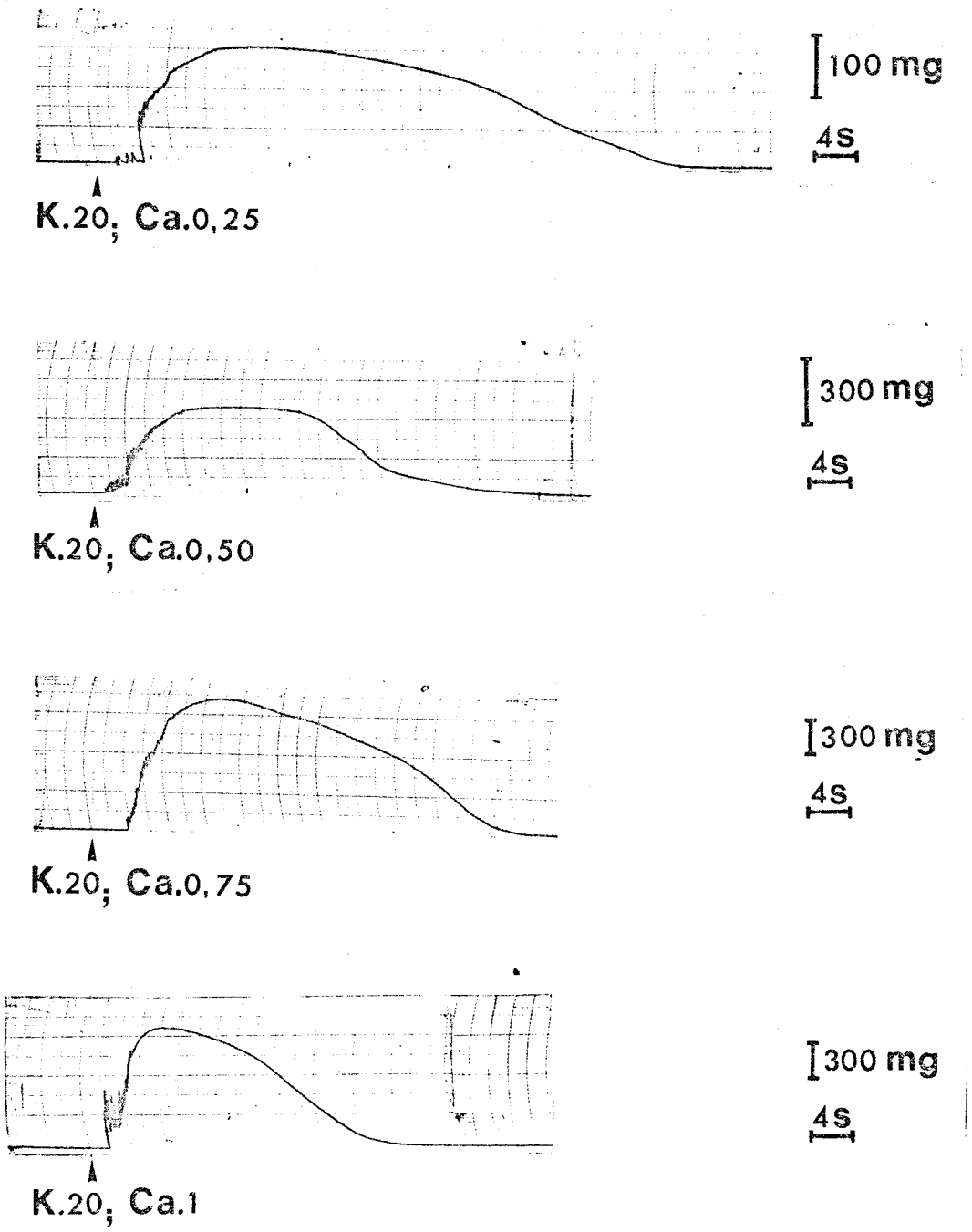


Figure 23 : Contractures de la fibre de crabe obtenues lors de l'application d'un milieu hyperpotassique (K.20) à différentes $[Ca^{++}]_e$.

Les fibres ont été préalablement soumises pendant 10 mn à l'action des mêmes milieux hypocalciques de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

Milieux	Phase ascendante Secondes	Phase de relaxation Secondes
$Ca_{en.0}$	-	-
$Ca_{en.0,25}$	18	40
$Ca_{en.0,50}$	15	30
$Ca_{en.0,75}$	10	28
$Ca_{en.1}$	4	22

Tableau 18 : Valeurs de la durée moyenne des phases ascendante et de relaxation des réponses mécaniques des fibres pour différents milieux hypocalciques.

Ca_{en} : concentration externe normale en calcium = 23,6 mEq/l

BUS LILLE

en fonction de la $[Ca^{++}]_e$. On peut remarquer que la durée de chaque période augmente au fur et à mesure que la $[Ca^{++}]_e$ diminue. Le début de la phase de relaxation a été arbitrairement choisi comme correspondant au maximum de tension. Dans de telles conditions, il faut noter que c'est la phase de relaxation qui semble la plus influencée par les milieux hypocalciques. En effet, en milieu très hypocalcique, cette phase se traduit par une vitesse de décroissance rapide faisant suite à une vitesse relativement lente.

1-2. Variations de la tension maximale développée lors de la contracture

Le tableau 19 et la figure 24 montrent l'évolution de la tension développée par la fibre en fonction de la réduction de la $[Ca^{++}]_e$. La tension développée par la fibre diminue au fur et à mesure que diminue la $[Ca^{++}]_e$, diminution allant jusqu'à l'annulation pour une $[Ca^{++}]_e$ nulle. De plus, une durée du prétraitement aussi longue que 10 mn, s'est révélée ne pas être nécessaire à l'annulation de la tension. En effet, un prétraitement de 1 mn est largement suffisant pour obtenir l'annulation de la tension. Ce délai d'imbibition par le milieu ($[Ca^{++}]_{en.0}$) est comparable à celui observé par ZACHAROVA et ZACHAR (1966) sur la fibre musculaire d'écrevisse. Par contre, sur le muscle de criquet, AIDLEY (1965) signale que la tension de contracture ne chute que de moitié

Milieux	Tension kg.cm^2	Ecart-type kg.cm^2
$Ca_{en.0}$	0	± 0
$Ca_{en.0,1}$	0	± 0
$Ca_{en.0,25}$	0,995	± 0,090
$Ca_{en.0,50}$	2,000	± 0,130
$Ca_{en.0,75}$	2,680	± 0,095
$Ca_{en.1}$	2,800	± 0,130

Tableau 19 : Valeurs moyennes des tensions de contracture obtenues pour différents milieux hypocalciques ($K_{en.20}$).

Les fibres sont préalablement soumises pendant 10 mn à l'action de ces mêmes milieux hypocalciqu de $[K^+]_e$ normale.

Ca_{en} = concentration externe normale en calcium

= 23,6 mEq/l

BUS LILLE

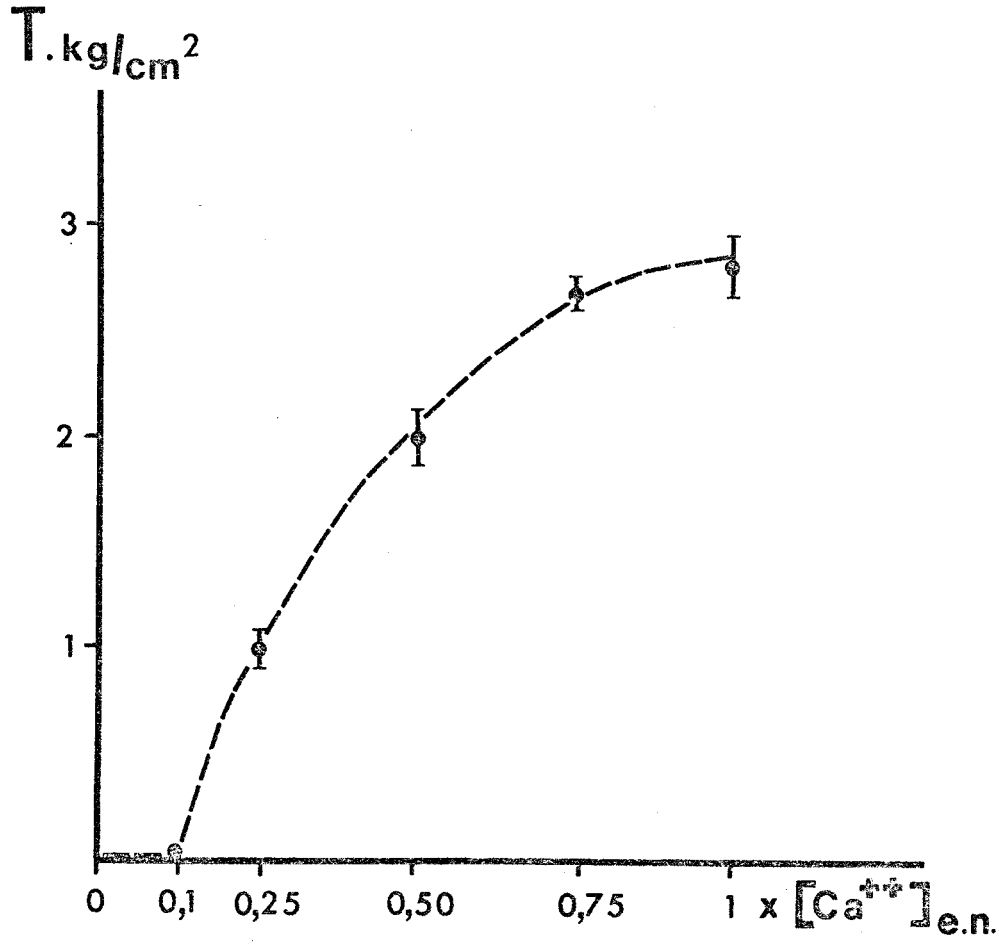


Figure 24 : Relation liant la tension maximale moyenne de contracture à la $[Ca^{++}]_e$.

$[Ca^{++}]_{en}$ = 23,6 mEq/l

BUS LILLE

quand le muscle a subi au préalable l'action d'un milieu sans Ca^{++} pendant 100 mn. Pour le muscle de homard, l'annulation est obtenue après son prétraitement pendant 15 mn par le milieu sans Ca^{++} (GAINER, 1968). Une durée de prétraitement, de l'ordre de 20 mn, est requise pour le couturier de grenouille (LÜTTGAU, 1963).

Il faut préciser que, pour la fibre de crabe, une solution dont la $[Ca^{++}]_e$ est assez faible, (réduction des 3/4 de la $[Ca^{++}]_{en}$) suffit à permettre, après 10 mn de prétraitement, le déclenchement d'une contracture potassique importante de l'ordre de 30 p.100 de la contracture de référence.

* * *

Les résultats concernant l'action des milieux hypocalciques sur la tension de contracture de la fibre de crabe mettent en évidence, d'une part l'importance de la présence des ions Ca^{++} extracellulaires sur le déclenchement de la contracture et d'autre part, l'influence de leur concentration sur l'amplitude de la tension développée.

La courbe $T = f([Ca^{++}]_e)$ montre que la tension de contracture chute au fur et à mesure que la $[Ca^{++}]_e$ diminue,

la tangente aux points de la courbe étant de valeur d'autant plus grande que la $[Ca^{++}]_e$ est elle-même plus faible. Ce résultat est en accord avec ceux de FRANK (1960), LÜTTGAU (1963), ETZENSPERGER (1970), obtenus sur la fibre de grenouille, celui de GAINER (1968) obtenu sur la fibre de homard, ainsi que ceux de SHOJI SHIBATA (1968) sur la fibre musculaire lisse. L'accroissement de la valeur de la tangente pour de faibles $[Ca^{++}]_e$ peut être expliqué par une entrée moindre de Ca^{++} dans la fibre pour une même amplitude de dépolarisation membranaire en dépit du fait que la $[Ca^{++}]_i$ soit très faible. En effet, il a été montré que la quantité d'ions Ca^{++} libres dans la fibre est au repos très basse grâce à l'activité de la pompe à Ca^{++} qui est présumée être située dans les membranes du reticulum (EBASHI, 1961 ; HASSELBACH et MAKIMOSE, 1961).

De plus, le fait que la réduction des 3/4 de la $[Ca^{++}]_e$ n'entraîne pas l'annulation de la tension de contracture plaide en faveur d'une entrée relativement importante de Ca^{++} puisque le gradient osmotique pour le Ca^{++} conserve une valeur élevée ($[Ca^{++}]_i$ est très basse pour la fibre au repos). Ainsi, l'entrée de Ca^{++} dans la fibre nécessaire au processus du couplage excitation-contraction, mise en évidence par BIANCHI et SHANES (1959), FRANCK (1958, 1960), EDWARDS et LORKOVIC (1967) sur le muscle de grenouille

et par HAGIWARA et coll. (1970) sur le muscle de la moule, pourrait être maintenue plus longtemps en milieu pauvre en Ca^{++} du fait d'une inhibition plus importante de la pompe à Ca^{++} du reticulum (HODGKIN et HOROWICZ, 1960). Cette hypothétique entrée plus durable de Ca^{++} lors de la contractur est d'ailleurs à associer au maintien plus durable de la tensi maximale de cette contracture observée en milieu hypocalcique.

En outre, le fait que la tension de contracture disparaisse quand la fibre subit un prétraitement de 1 mn dans le milieu sans Ca^{++} et que l'application directe d'un milieu hyperpotassique, sans Ca^{++} entraîne une diminution importante de l'amplitude de la réponse laisse supposer, compte tenu de la rapidité de l'influence de la variation de la $[Ca^{++}]_e$, que l'entrée de Ca^{++} dans la fibre, déclenchée par la dépolarisation membranaire induite par l'excès de K^+, pourrait se produire à un niveau superficiel comme le suggèrent ZACHAROVA et ZACHAR (1968) chez l'écrevisse. Ces auteurs émettent en effet, l'hypothèse que la partie de Ca^{++} intracellulaire échangeable par diffusion avec celle du milieu extracellulaire est située dans un compartiment proche de la membrane sarcolemmique. De plus, FRANK en 1960, sur le muscle squelettique de grenouille postule l'existence de sites superficiels sur lesquels le Ca^{++} serait peu lié. Ces sites seraient différents de ceux situés en profondeur de la fibre et avec lesquels le Ca^{++} serait fortement lié ; la

libération de ce Ca^{++} profond ne serait possible que lors de l'application aux fibres musculaires, de caféine, de quinine, d'acétylcholine ou de cations lourds. L'existence de ces sites profonds est également entrevue par GAINER (1968) sur la fibre de homard, et par CHIARANDINI et coll. (1970) sur la fibre d'écrevisse.

Un autre effet de l'action des milieux hypocalciques sur le décours de la tension de contracture obtenue est l'allongement de la phase ascendante et de la phase de relaxation. Cet allongement peut s'expliquer par l'inhibition moins forte ou simplement retardée du facteur de relâchement. En effet, l'on sait que, selon GERGELY (1939) l'activation du mécanisme contractile résulte d'une inhibition d'un facteur de relâchement dont l'existence est postulée dès 1951, 1952 par MARSH. Ce facteur de relâchement est capable d'accumuler les ions Ca^{++} en présence d'ATP (EBASHI, 1960 ; EBASHI et LIPMANN, 1962). Ce facteur de relâchement exerce son action en prenant la place du Ca^{++} au niveau des myofilaments aussi bien in vivo qu'in vitro.

2 - Influence d'un prétraitement préalable de durée variable de la fibre par un milieu pauvre en Ca^{++} ($[Ca^{++}]_{en.0,1}$) sur la contracture obtenue en milieu de $[Ca^{++}]_e$ variées

2-1. Action du milieu hyperpotassique ($[K^+]_{en.20}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$) après pré-traitement par le milieu ($[K^+]_{en.1}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$)

Les enregistrements de la figure 25, donnant quelqu exemples de réponse de fibres, montrent que l'amplitude de la contracture diminue avec l'augmentation de la durée du prétraitement.

Le tableau 20 et la courbe de la figure 26 résument l'ensemble des résultats obtenus.

L'examen de la courbe indique que la tension de contracture chute très rapidement. De plus, on peut remarquer que l'application directe d'un milieu hyperpotassique ($[K^+]_{en.20}$) hypocalcique ($[Ca^{++}]_{en.0,1}$) permet l'obtention d'une contracture dont l'amplitude est déjà inférieure à la tension obtenue dans les conditions normales : 1,930 kg/cm^2 contre 2,780 kg/cm^2. Après 30 secondes, la tension est réduite de moitié, elle est quasiment annulée après 60 seconde de prétraitement de la fibre par le milieu ($[Ca^{++}]_{en.0,1}$).

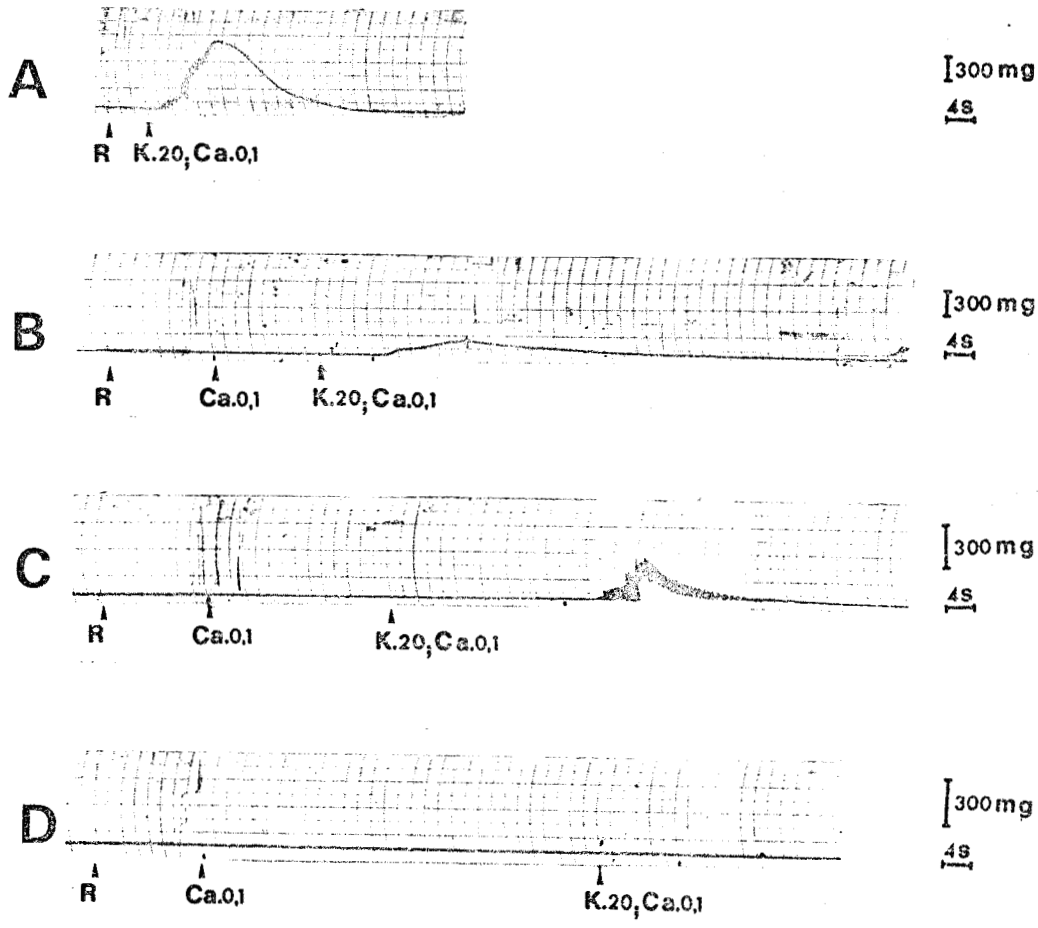


Figure 25 : Contractures de la fibre de crabe obtenues lors de l'application d'un milieu hypocalcique (K.20) après action préalable de ce même milieu hypocalcique de $[K^+]_e$ normale agissant plus ou moins longtemps.

en A : application directe
en B : 15 secondes de prétraitement
en C : 30 secondes de prétraitement
en D : 60 secondes de prétraitement.

Durée du prétraitement par le milieu $Ca_{en.0,1}$ (secondes)	Tension obtenue lors de l'application du milieu $K_{en.20}$-$Ca_{en.0,1}$ kg/cm^2
0	1,930 (= 0,070)
15	1,510 (= 0,080)
30	1,000 (= 0,059)
45	0,540 (= 0,030)
60	0,030 (= 0,000)
100	0,000 (= 0,000)

Tableau 20 : Valeurs moyennes des tensions de contracture des fibres en milieu hypocalcique enrichi en K^+ ($K_{en.20}$) après un prétraitement de durée variable par ce même milieu hypocalcique de $[K^+]_e$ normale.

Ca_{en} : concentration externe normale de calcium = 23,6 mEq/l

K_{en} : concentration externe normale de potassium = 12, 9 mEq/l

BUS LIEGE

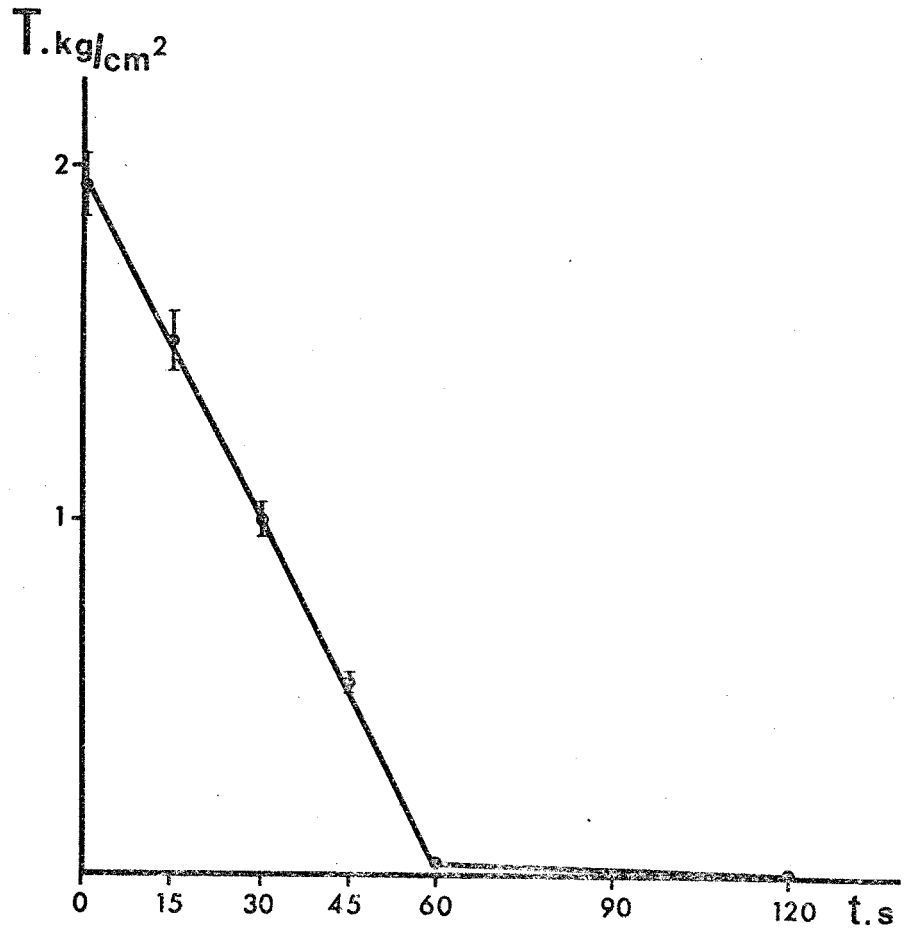


Figure 23 : Relation liant la tension moyenne maximale de contracture à la durée du prétraitement par le milieu hypocalcique.

BUS LILLE

2-2. Action du milieu hyperpotassique ($[K^+]_{en.20}$; $[Ca^{++}]_{en.1}$) après prétraitement par le milieu ($[K^+]_{en.1}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$)

Les enregistrements présentés à la figure 27 montrent comme précédemment que l'amplitude de la réponse diminue au fur et à mesure qu'augmente le temps de prétraitement. En effet, après 1 mn, la tension est réduite de moitié, après 2 mn elle n'atteint que le sixième de la tension normale et après 6 mn, cette tension est presque annulée.

Les valeurs du tableau 21 et la courbe A de la figure 28 traduisant la tension moyenne développée par les fibres en milieu ($[K^+]_{en.20}$; $[Ca^{++}]_{en.1}$) en fonction de la durée du prétraitement par le milieu ($[K^+]_{en.1}$; $[Ca^{++}]_{en.0,1}$ montrent la rapidité d'action des ions Ca^{++} extracellulaires puisque la courbe A est décalée vers la droite par rapport à la courbe B obtenue lorsque le milieu contracturant contien la même $[Ca^{++}]_e$ que le milieu utilisé pour le prétraitement.

* *

*

En résumé, l'ensemble des résultats concernant le prétraitement par un milieu pauvre en Ca^{++} sur la tension développée par la fibre indique que la diminution de tension

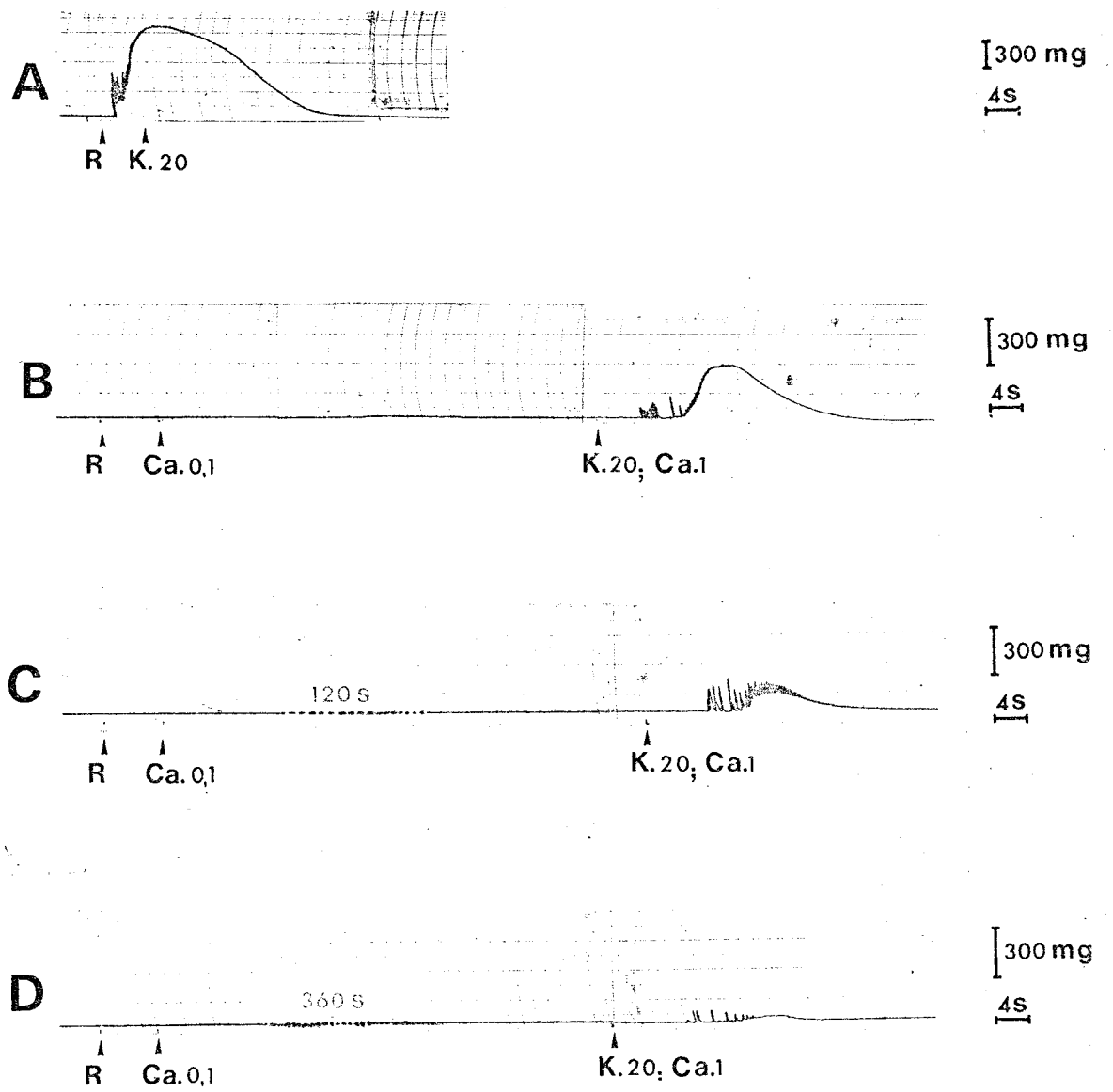


Figure 27 : Contractures des fibres de crabe obtenues par application d'un milieu hyperpotassique (K.20) agissant après un prétraitement plus ou moins long par un milieu hypocalcique de $[K^+]_e$ normale.

en A : application directe
en B : prétraitement de 30 secondes
en C : prétraitement de 120 secondes
en D : prétraitement de 360 secondes.

BUS LILLE

Durée du prétraitement par le milieu $K_{en.1}$-$Ca_{en.0,1}$ (seconde)	Tension obtenue lors de l'application du milieu $K_{en.20}$-$Ca_{en.1}$ kg/cm^2
0	2,780 ± 0,110
15	2,420 ± 0,090
30	2,100 + 0,090
45	1,660 ± 0,070
60	1,500 ± 0,070
75	1,140 ± 0,060
90	0,910 ± 0,055
120	0,470 ± 0,055
180	0,350 ± 0,030
240	0,245 ± 0,030
300	0,110
360	0,080
420	0,000

Tableau 21 Valeurs moyennes des tensions maximales de contracture obtenues en milieu $K_{en.20}$ - $Ca_{en.1}$ après un prétraitement d'une durée variable des fibres par un milieu hypocalcique $K_{en.1}$ - $Ca_{en.0,1}$

K_{en} = concentration externe normale en potassium = 12,9 mEq/l

Ca_{en} = concentration externe normale en calcium = 23,6mEq/l

BUS LILLE

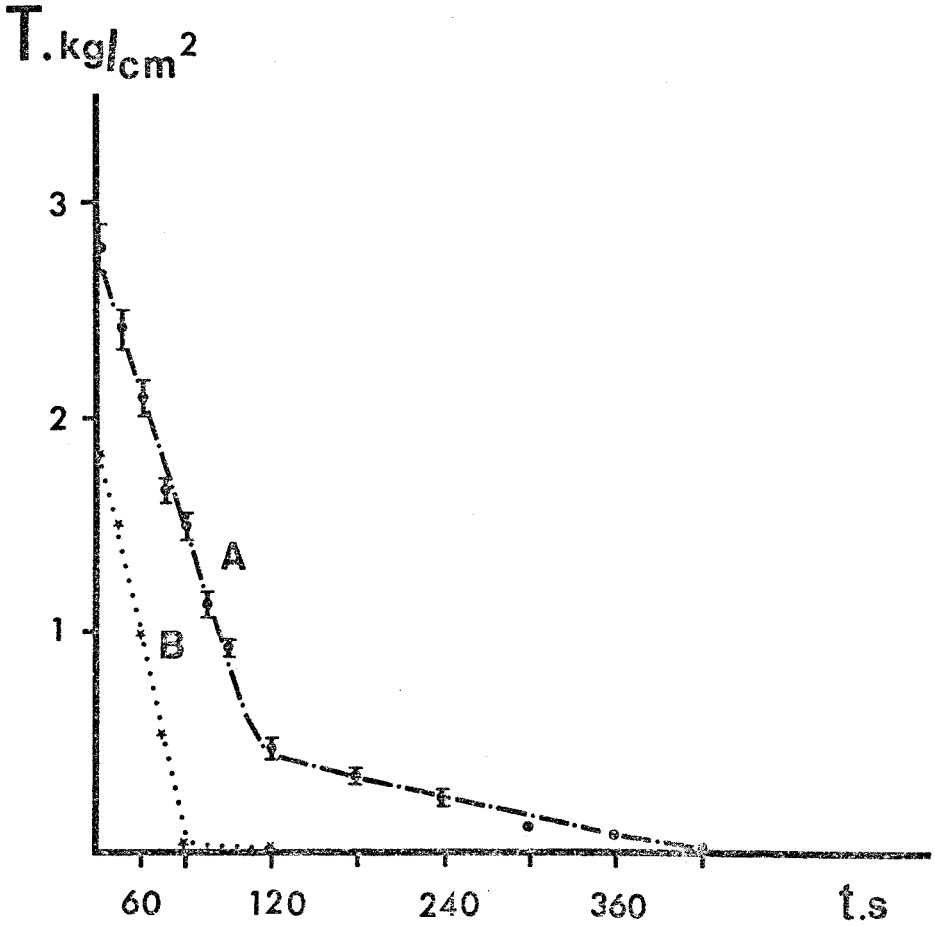


Figure 38 : Relation liant la tension moyenne maximale de contracture à la durée de prétraitement par le milieu hypocalcique ($Ca_{en.0,1}$) pour deux $[Ca^{++}]_e$ différentes du milieu contracturant.

en A : milieu contracturant dont la $[Ca^{++}]_e$ est normale ($Ca_{en.1}$)

en B : milieu contracturant dont la $[Ca^{++}]_e$ est égale au 1/10e de la $[Ca^{++}]_e$ normale ($Ca_{en.0,1}$).

BUS LILLE

qu'il provoque peut être très rapidement réduite par l'augmentation de la $[Ca^{++}]$ du milieu contracturant. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par GAINER (1968) sur la fibre musculaire de homard.

La diminution de tension observée en milieu pauvre en Ca^{++} n'est pas imputable à une dépolarisation membranaire très progressive qui pourrait rendre compte de la baisse, voire de l'annulation de la tension (LULLMAN et REISS, 1963) dans la mesure où la $[Ca^{++}]_e$ n'a aucune influence sur la valeur du P.R. de la fibre de crabe (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970). Cette influence nulle des milieux hypocalciques sur le P.R. a également été observée par ZACHAROVÁ et ZACHAR (1968) sur la fibre d'écrevisse et par GAINER (1968) sur celle de homard.

Le fait que les courbes de la figure 28, traduisant la diminution de tension en fonction de la durée du prétraitement, présentant chacune un point d'inflexion, semble indiquer l'existence de plusieurs compartiments intracellulaires pour le stockage du Ca^{++}. L'existence de ces compartiments est à l'heure actuelle, couramment admise (voir SANDOW, 1970). Ainsi, la première partie des courbes, de pente forte, traduirait l'existence d'un compartiment

superficiel où le Ca^{++} serait peu lié et facilement échangeable avec celui du milieu intracellulaire. Au contraire, la deuxième partie traduirait l'existence d'un compartiment plus profond où le Ca^{++} serait plus difficilement échangeable avec celui du milieu externe. Enfin, le point d'inflexion des courbes, ne correspondant pas à la même abscisse, semble indiquer que le Ca^{++} du compartiment plus profond (SANDOW, 1965, 1970) ne serait touché que dans la mesure où le compartiment superficiel se trouve être privé de Ca^{++}.

Enfin, la rapidité d'échanges du Ca^{++} du compartiment superficiel avec le Ca^{++} extracellulaire au niveau de la fibre de crabe tendrait également à montrer que cet ion puisse passer préférentiellement au niveau de la membrane sarcolemmique dans la mesure où MOUNIER (1970), MOUNIER et coll. (1971) montrent que le blocage de la perméabilité potassique de la membrane sarcolemmique est très rapide alors que celui de la perméabilité préférentielle au Cl^{-} de la membrane du système tubulaire transverse est très lent.

II - MILIEUX HYPERCALCIQUES

1 - Etude de la durée de la phase ascendante et de la phase de relâchement

Comme pour les milieux hypocalciques précédemment étudiés, la contracture en milieux riches en Ca^{++} est effectuée après un prétraitement de 10 mn des fibres par les milieux hypercalciques.

Les tracés des figures 29 et 29 bis et les valeurs consignées au tableau 22 montrent l'évolution respective de la durée de la phase ascendante et de la phase de relaxation des contractures obtenues en milieux hypercalciques.

Pour un milieu enrichi 15 fois en Ca^{++}, les durées de ces deux phases augmentent en moyenne de 600 p.100. Ces milieux très hypercalciques modifient de plus considérablement l'allure de la réponse en ce sens qu'ils assurent le maintien de la tension à une valeur maximale ne permettant pas, de ce fait, de déterminer avec une relative précision l'instant caractérisant la fin de la phase de contracture et le début de la relaxation.

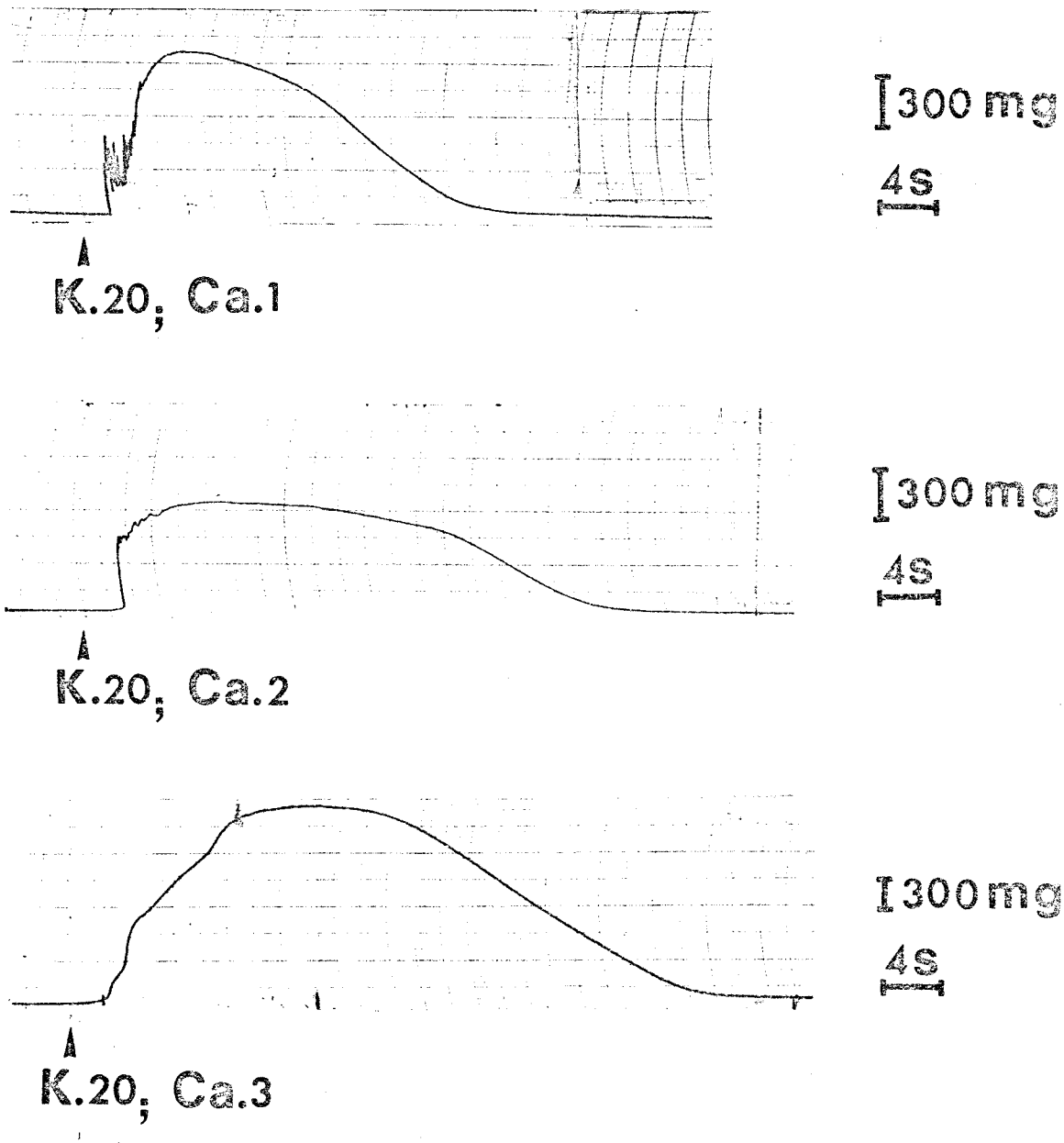


Figure 29 : Contractures de la fibre de crabe obtenues lors de l'application de divers milieux hypercalciques enrichis en K^+ (K.20) après 10 mn de prétraitement par ces mêmes milieux hypercalciques de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

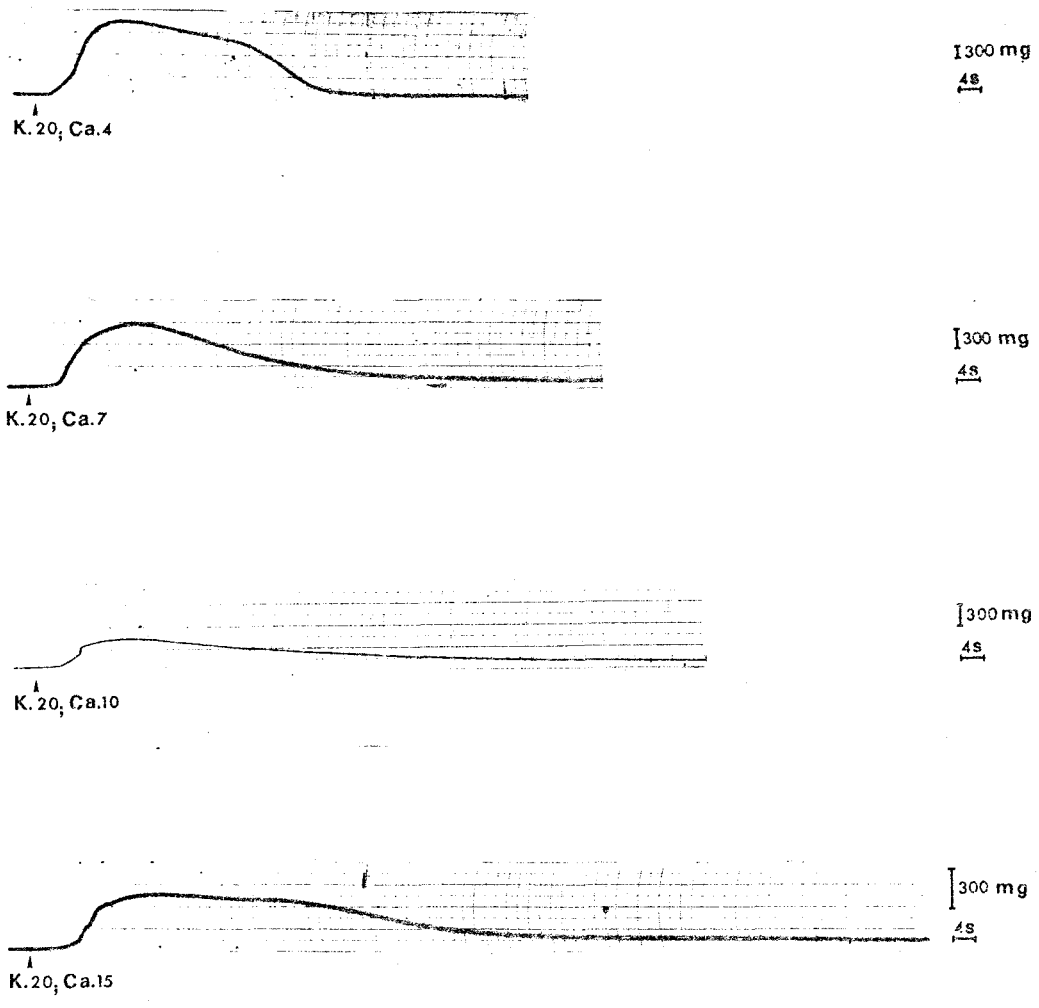


Figure 29 bis : Contractures de la fibre de crabe obtenues lors de l'application de divers milieux hypercalciques enrichis en K^+ (K.20) après 10 mn de prétraitement pour ces mêmes milieux hypercalciques de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

Milieux	Phase ascendante secondes	Phase de relaxation secondes
$Ca_{en.1}$	4	22
$Ca_{en.2}$	9	30
$Ca_{en.3}$	14	30
$Ca_{en.4}$	15	55
$Ca_{en.7}$	16	75
$Ca_{en.10}$	18	95
$Ca_{en.15}$	20	130

Tableau 22 : Durées moyennes de la phase ascendante, de la phase de relaxation de la réponse mécanique en fonction de la $[Ca^{++}]_e$.

Ca_{en} = concentration externe normale en calcium

= 23,6 mEq/l

BUS LILLE

Cet allongement de la réponse pourrait s'expliquer par un maintien plus durable d'une $[Ca^{++}]_i$ élevée au niveau des myofilaments.

2 - Action des milieux hypercalciques sur l'amplitude de la tension de contracture

Les résultats concernant l'action de ces milieux sur l'amplitude de la contracture montrent que la relation qui lie cette amplitude à la $[Ca^{++}]_e$ est relativement complexe.

En effet, le tableau 23 et la courbe de la figure 30 indiquent que la tension croît de 2,8 kg/cm^2 en moyenne jusqu'à 4,590 kg/cm^2 et ceci pour un accroissement de la concentration en Ca^{++} de 1 à 3, puis décroît de 4, 590 kg/cm^2 à 1,240 kg/cm^2 pour un accroissement de la teneur en Ca^{++} de 3 à 10 et enfin se maintient à une valeur sensiblement constante pour un accroissement en Ca^{++} supérieur à 10. L'examen de la courbe de la figure 31, traduisant la variation de la tension de contracture en fonction du log $[Ca^{++}]_e$ montre que cette tension varie linéairement et positivement avec log $[Ca^{++}]_e$ pour une $[Ca^{++}]_e$ comprise entre 1 et 3, puis varie toujours linéairement mais par contre négativement pour une $[Ca^{++}]_e$ comprise entre 3 et 10.

Milieux	Tension kg/cm²	Ecart-type kg/cm²
$Ca_{en.1}$	2,800	0,130
$Ca_{en.2}$	3,980	0,130
$Ca_{en.3}$	4,590	0,200
$Ca_{en.4}$	3,820	0,105
$Ca_{en.7}$	2,110	0,200
$Ca_{en.10}$	1,240	0,060
$Ca_{en.15}$	1,210	0,050

Tableau 23 : Valeurs moyennes des tensions maximales de contracture en fonction de la $[Ca^{++}]_e$.

Ca_{en} = concentration externe normale en calcium = 23,6 mEq/l

BUS LILLE

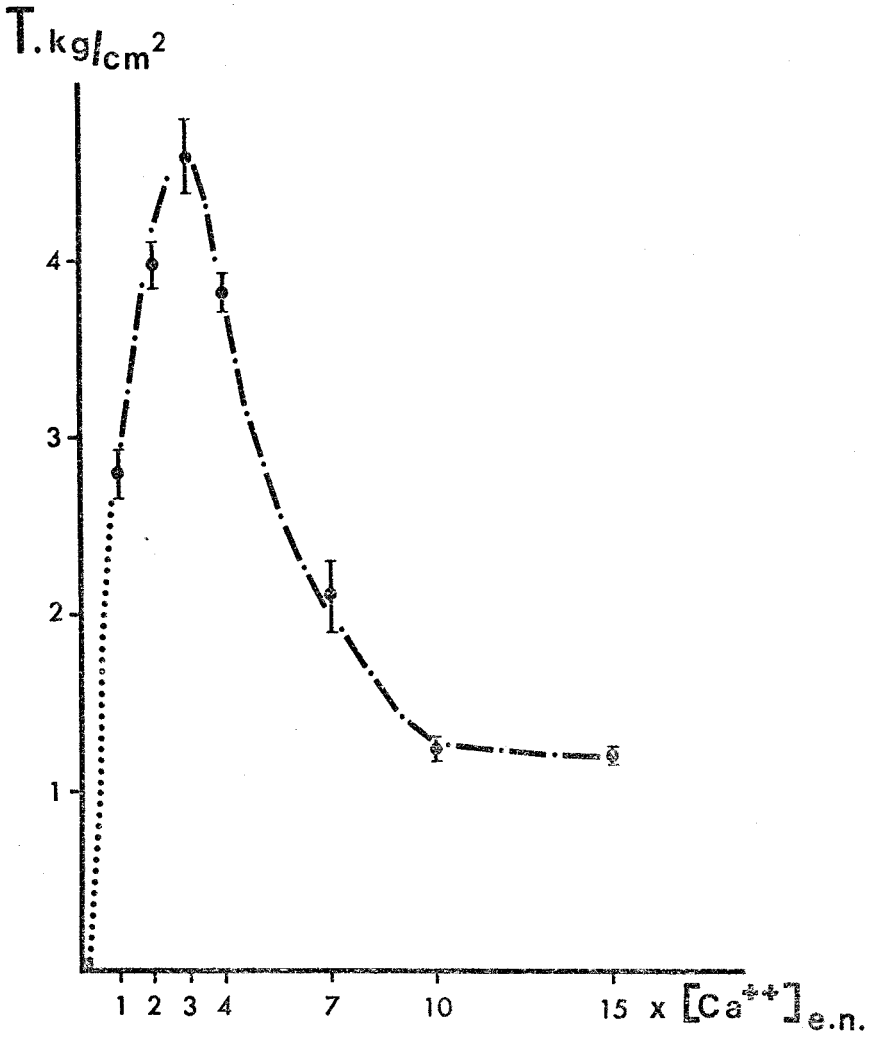


Figure 30 : Relation liant la tension maximale moyenne de la contracture à la $[Ca^{++}]_e$.

$[Ca^{++}]_{en}$ = 23,6 mEq/l.

BUS LILLE

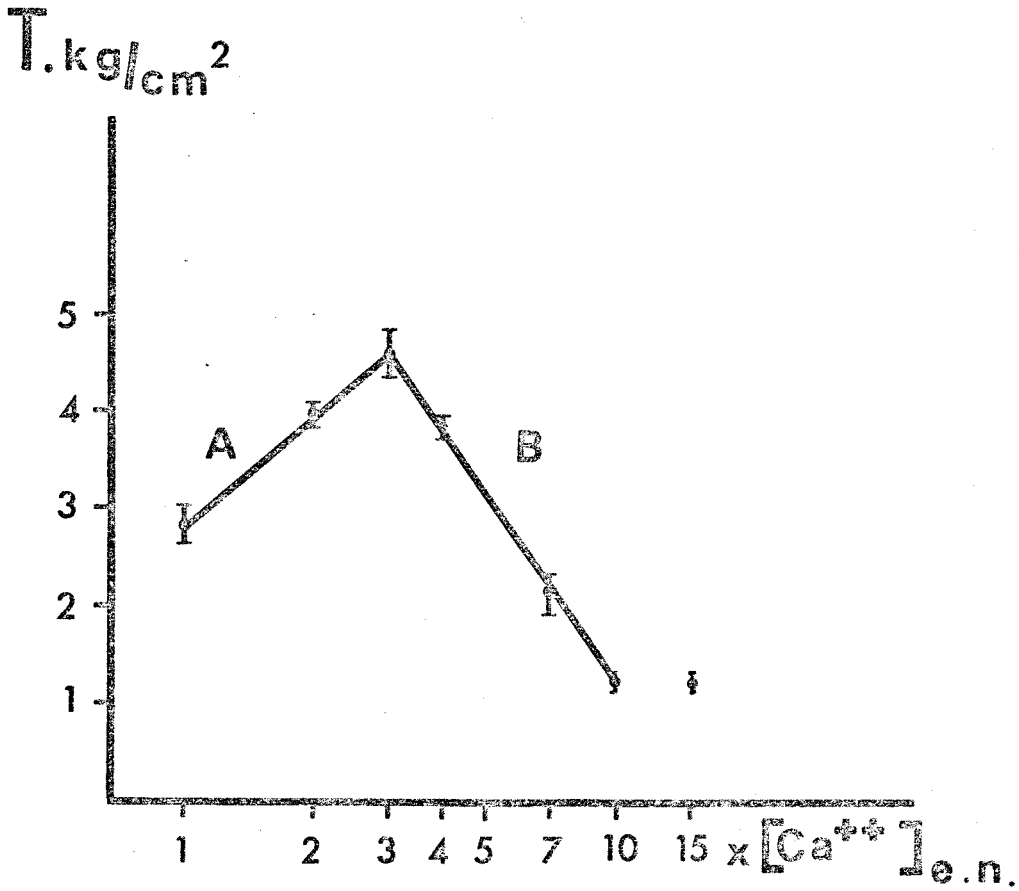


Figure 31 : Relation liant la tension moyenne maximale de la contracture au logarithme décimal de la $[Ca^{++}]_e$.

$[Ca^{++}]_{en}$ = 23,6 mEq/l

BUS LILLE

Ainsi, le maximum de tension obtenu pour la fibre de crabe (4,590 kg/cm^2 en moyenne) après son prétraitement par un milieu contenant 70,8 mEq/l de Ca^{++} est de valeur très supérieure à celui obtenu dans les conditions normales (2,8 kg/cm^2), ce qui correspond à une augmentation de 60 p.100. LUTTGAU (1963) sur la fibre de grenouille, GAINER (1968) sur celle de hormard et ZACHAROVÁ et ZACHAR (1968) sur la fibre d'écrevisse, observent aussi une augmentation de la tension de contracture mais seulement de 10 p.100 pour un accroissement également de 3 fois la $\left[Ca^{++}\right]_{en}$, cette augmentation de la $\left[Ca^{++}\right]_{e}$ permettant pour ces auteurs d'atteindre une amplitude de contracture maximale ne variant plus pour une teneur en Ca^{++} plus importante.

Cependant, la chute de tension observée pour les milieux très riches en Ca^{++} (à partir d'une $\left[Ca^{++}\right]_{e} = \left[Ca^{++}\right]_{en.3}$) est comparable à celle observée par ETZENSPERGER (1970) sur la fibre de grenouille ; ce dernier auteur n'observe pas de plateau de tension correspondant aux milieux très riches en Ca^{++}. De même, BRULE (1972) , sur la fibre de crabe, observe un accroissement de l'amplitude de la secousse musculaire lors de l'augmentation modérée de la teneur en Ca^{++}, accroissement suivi d'une chute lors d'une augmentation plus importante en Ca^{++}. Ainsi, l'allure de la courbe traduisant la relation liant la tension développée

par la fibre de crabe, lors de la secousse, à la $[Ca^{++}]_e$ est de même allure que celle qui vient d'être présentée si ce n'est que les maxima de tension sont obtenus pour des $[Ca^{++}]_e$ différentes (70,8 mEq/l dans le cas de la contracture, 236 mEq/l dans le cas de la secousse.

Ainsi, nous venons de voir que les milieux hypercalciques entraînent une augmentation de la tension de contracture et ceci d'autant plus que ces milieux sont plus riches en Ca^{++} jusqu'à un maximum obtenu lorsque le milieu extracellulaire contient une $[Ca^{++}]_e$ égale à 3 fois la $[Ca^{++}]_{en}$. Au-delà, en effet, la tension décroît au fur et à mesure que la $[Ca^{++}]_e$ augmente, pour finalement se stabiliser à un niveau de tension inférieur à celui correspondant à la tension de référence.

Si l'augmentation de tension observée en milieu faiblement enrichi en Ca^{++} est facilement expliquable et conforme à ce que de nombreux auteurs observent sur des préparations très diverses, il n'en est pas de même par contre de la diminution de tension observée pour des milieux très enrichis en Ca^{++}.

L'augmentation de tension peut être expliquée en admettant avec de nombreux auteurs, qu'en milieu

hypercalcique, le Ca^{++} entre plus facilement dans la fibre du fait, d'une part de l'accroissement du gradient de concentration pour le Ca^{++} et d'autre part, de l'existence possible au niveau de la fibre de crabe d'un transporteur commun pour le Na^{+} et le Ca^{++}, les deux ions étant compétitifs pour ce transporteur (LÜTTGAU et NIEDERGERKE, 1958 ; LÜTTGAU, 1963).

Par contre, la diminution de tension que l'on observe en milieux très riches en Ca^{++}, identique à celle observée par ETZENSPERGER (1970) sur la fibre musculaire de grenouille est difficilement expliquable, à moins d'admettre une possible détérioration partielle du S.T.T. (système intermédiaire dans le couplage électromécanique) du fait d'un accroissement de la π (HODGKIN et HOROWICZ, 1967 ; SANDOW, 1965, 1970). Cette diminution de tension pourrait aussi s'interpréter en admettant une inhibition partielle de l'activité ATPasique de la myosine consécutive à une trop forte teneur en Ca^{++} du milieu intracellulaire.

De manière à refuter ou non ces dernières hypothèses, sont présentées maintenant les résultats concernant l'action de milieux hypertoniques, isotoniques des milieux hypercalciques utilisés.

III - MILIEUX HYPERTONIQUES ISOTONIQUES DES MILIEUX HYPERCALCIQUES DONT LES EFFETS VIENNENT D'ETRE ETUDIES

En 1968, APRIL et coll. montrent sur la fibre squelettique d'écrevisse, que la tension induite par l'injection d'une quantité d'ions Ca^{++} à l'intérieur de cette fibre, diminue d'amplitude avec l'augmentation de la π du milieu extracellulaire. Des travaux récents de GORDON et GODT (1970) ont permis à ces auteurs de proposer une hypothèse concernant le mode d'action des solutions hypertoniques : ces solutions agiraient sur les protéines contractiles et aussi sur le couplage excitation-contraction des fibres squelettiques.

L'étude de l'action des milieux hypertoniques est toujours réalisée suivant le même protocole expérimental. La fibre est soumise tout d'abord à l'action de milieux dont la $[Ca^{++}]_e$ est normale mais qui sont rendus hypertoniques par addition d'une quantité convenable de saccharose. La durée du prétraitement par ces milieux est toujours de 10 mn. La contracture est ensuite déclenchée par l'action de ces mêmes milieux enrichis en K^+ ($[K^+]_{en.20}$).

Les tracés de la figure 32 montrent que la tension développée par la fibre en état de contracture diminue d'autant plus que la π est de valeur plus importante. Pour

Figure 32 : Contractures des fibres de crabe obtenues lors de l'application de milieux hypertoniques (addition de saccharose) isotoniques des milieux hypercalciques étudiés (K.20) après action préalable pendant une durée de 10 mn de ces mêmes milieux hypertoniques de $[K^+]_e$ normale.

en A : milieu isoosmotique du milieu $Ca_{en.3}$
en B : milieu isoosmotique du milieu $Ca_{en.3}$
en C : milieu isoosmotique du milieu $Ca_{en.4}$
en D : milieu isoosmotique du milieu $Ca_{en.7}$
en E : milieu isoosmotique du milieu $Ca_{en.10}$

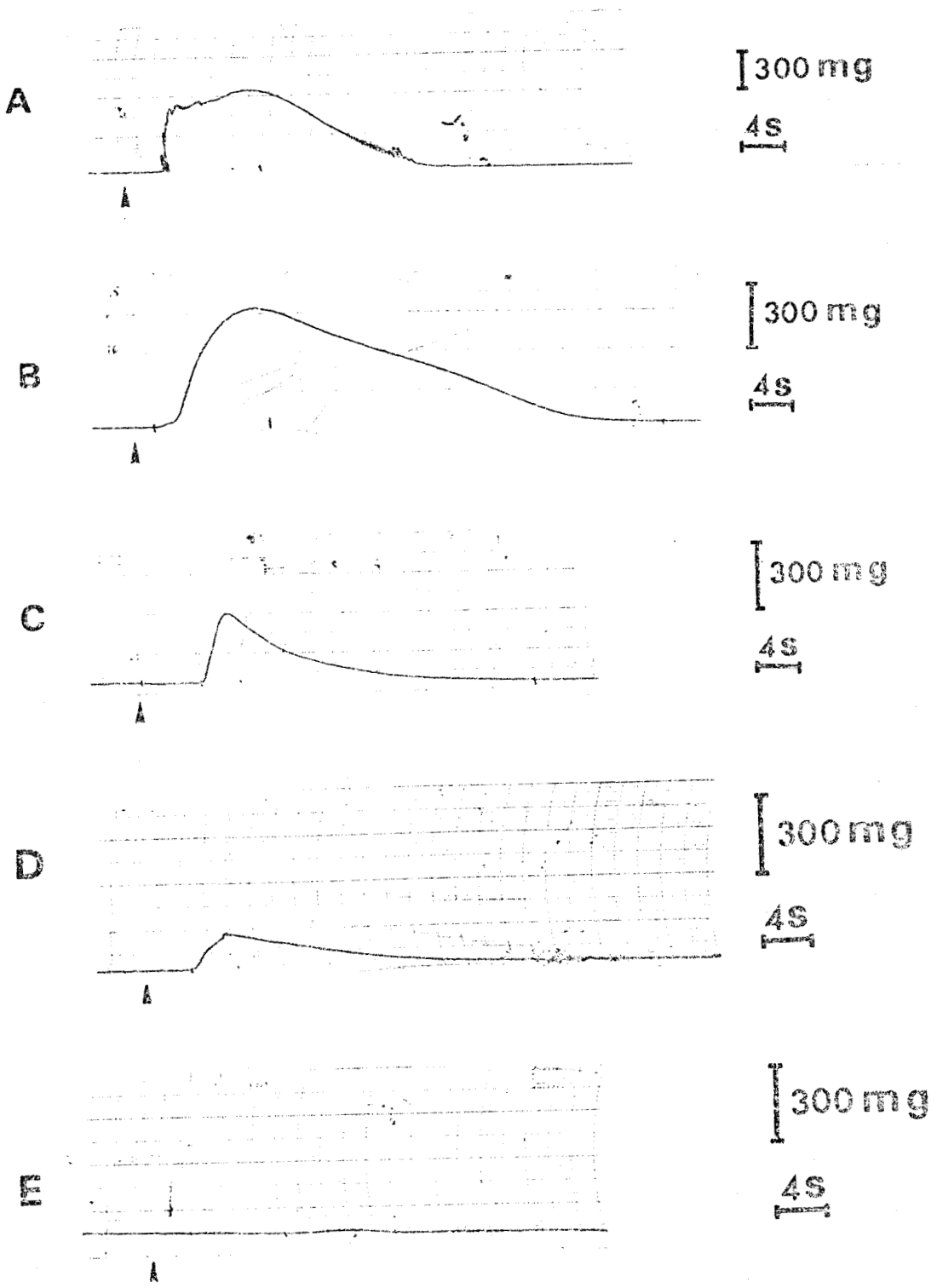


Figure 32

BUS LILLE

un milieu dont la π est équivalente à celle du milieu ($[Ca^{++}]_{en.10}$), la réponse n'apparaît plus alors que pour le milieu ($[Ca^{++}]_{en.10}$), la tension maximum de la réponse est de 1,2 kg/cm^2 en moyenne, ceci correspondant à 40 p.100 de la tension de référence.

Le tableau 24 et la courbe A de la figure 33 donnent l'évolution de la tension en fonction de la π . Cette tension diminue exponentiellement avec l'augmentation de la π comme le témoigne la droite de la figure 34 qui traduit les variations de la tension maximale en fonction du log (π).

* *

*

En conclusion, compte tenu de ces derniers résultats, il est logique d'admettre que l'accroissement de la π du milieu extracellulaire peut expliquer en partie la portion décroissante de la courbe B de la figure 33 et de la courbe de la figure 30, mais ne peut rendre compte à elle seule du maintien d'une tension de contracture pour des milieux dont la $[Ca^{++}]_e$ est égale à 10 fois et 15 fois la $[Ca^{++}]_{en}$.

En effet, la diminution de tension en fonction de l'augmentation de la π (courbe A de la figure 33), peut traduire l'élimination progressive de la stimulation du

Milieux dont la π est modifiée	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2
Milieu dont la π est identique au milieu $Ca_{en.2}$	2,125	± 0,150
Milieu dont la π est identique au milieu $Ca_{en.3}$	1,475	± 0,100
Milieu dont la π est identique au milieu $Ca_{en.4}$	1,080	± 0,075
Milieu dont la π est identique au milieu $Ca_{en.7}$	0,250	± 0,015
Milieu dont la π est identique au milieu $Ca_{en.10}$	0,000	± 0,000

Tableau 24 : Valeurs moyennes des tensions maximales de contracture obtenues après prétraitement des fibres pendant 10 mn par des milieux hypertoniques isotoniques des milieux hypercaloiques utilisés.

BUS LILLE

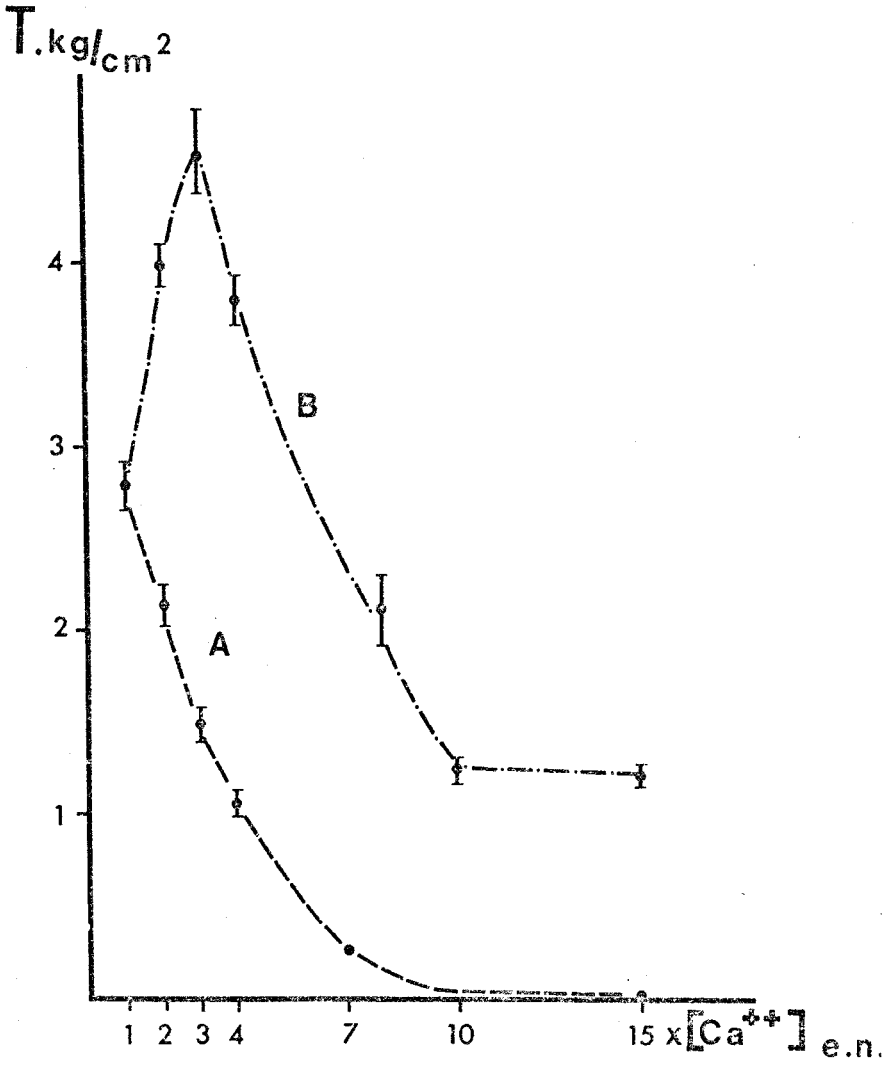


Figure 33 : Relation liant la tension maximale moyenne de contracture à l'augmentation de la π (courbe A). Les points de la courbe correspondent à des milieux hypertoniques isotoniques des milieux hypercalciques compris entre $Ca_{en.1}$ et $Ca_{en.10}$.

La courbe B représente la relation liant la tension maximale moyenne de contracture à la $[Ca^{++}]_{en}$.

$[Ca^{++}]_{en}$ = 23,6 mEq/l.

BUS LILLE

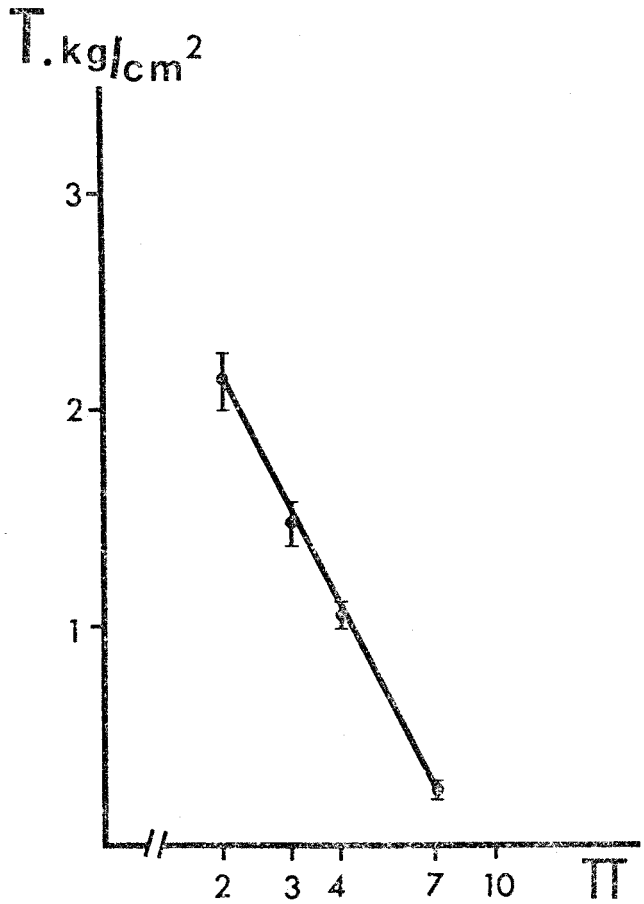


Figure 34 : Relation liant la tension maximale moyenne de contracture au logarithme décimal de l'augmentation de la π exprimée en unités arbitraires.

1 correspond à une augmentation de 11,8 mosmoles.

BIUS LYON

réticulum longitudinal libérateur de Ca^{++} du fait d'une rupture électro-mécanique provoquée par la lésion du S.T.T. Cette lésion partielle et progressive du S.T.T. associée à l'augmentation de la force ionique du milieu intracellulaire peut rendre compte de la baisse de la tension maximale de contracture.

Cependant, cette hypothèse à elle seule, ne peut expliquer l'ensemble de nos résultats. Elle n'explique pas en effet, le maintien de la tension pour les milieux compris entre $[Ca^{++}]_{en.10}$ et $[Ca^{++}]_{en.15}$, à moins de formuler une hypothèse supplémentaire selon laquelle l'augmentation du gradient de concentration pour le Ca^{++} permettrait un influx accru de Ca^{++} suffisant pour accroître de façon significative la $[Ca^{++}]_i$ au niveau des myofilaments, augmentation nécessaire au couplage mécano-chimique.

L'ensemble de ces hypothèses s'accorde avec nos résultats dans la mesure où GERGELY (1965), GORDON et GODT (1970) montrent que l'augmentation de la force ionique diminue la tension développée par les myofilaments. Ainsi, la forte augmentation de la teneur en Ca^{++} du milieu extracellulaire provoquerait une rupture physiologique du STT et par là ne pourrait provoquer la stimulation du reticulum sarcoplasmique responsable de l'augmentation de la $[Ca^{++}]_i$, cette augmentation de la $[Ca^{++}]_i$ pourrait cependant

apparaître du fait d'un influx plus important de Ca^{++} et ainsi provoquerait le raccourcissement myofibrillaire en dépit de l'augmentation de la force ionique du milieu intracellulaire. Cette explication s'accorde avec le maintien de la tension de contracture pour des $[Ca^{++}]_e$ comprises entre 10 fois et 15 fois la $[Ca^{++}]_{en}$ et aussi avec l'augmentation importante de la durée de la réponse de la fibre provoquée par le milieu contracturant hypercalcique. Dans ce dernier cas, la diffusion du Ca^{++} du milieu externe vers la jonction bande A - bande I est bien plus lente que dans les conditions normales où le Ca^{++} grâce à l'excitation du réticulum est "largué" sur place.

D - ETUDE DE LA CONTRACTURE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EXTRACELLULAIRE DE MAGNESIUM

On sait depuis les travaux de FATT et KATZ, en 1953, que le Mg^{++} ne paraît pas intervenir lors de l'activité électrique puisque ces auteurs montrent que l'amplitude du potentiel d'action (P.A.) de la fibre de crabe est indépendante de la $\left[Mg^{++}\right]_e$. Cependant, si HAUDECOEUR et coll. (1971) retrouvent l'absence d'effets des ions Mg^{++} sur l'amplitude du P.A., ils montrent en plus que l'application de milieux pauvres en Mg^{++} augmente notablement la vitesse de la phase de dépolarisation du P.A. de la fibre du même animal alors qu'à l'inverse, l'application de milieux très riches en Mg^{++} entraîne une diminution de la vitesse de la phase de dépolarisation du P.A. conduisant à l'annulation de ce P.A..

Quant au rôle du Mg^{++} sur l'activité mécanique, CALDWELL et WALSTER (1961, 1963) signalent, grâce à la technique de micro-injection intracellulaire de Mg^{++} dans la fibre de crabe que cet ion ne participe pas à

l'initiation de la contraction. De plus, BURGEN (1968) envisage l'hypothèse que le Mg^{++} peut remplacer le Ca^{++}, et ainsi ce Mg^{++} agirait comme un Ca^{++} faible bien que, par contre, WEBER et HERZ (1963) considèrent que le Mg^{++} puisse être un ion antagoniste du Ca^{++}.

L'ensemble de ces travaux nous a conduits à étudier le rôle possible de l'ion Mg^{++} sur la tension de la contracture potassique de la fibre de crabe. A cet effet, la fibre est tout d'abord soumise à l'action d'un milieu hypo- ou hypermagnésien , de $[K^+]_e$ normale pendant une durée de 10 mn. Puis, après ce délai, elle est stimulée par ce même milieu enrichi en K^+ ($[K^+]_{en.20}$) de façon à déclencher la contracture.

I - ACTION DES MILIEUX HYPOMAGNESIENS SUR LA TENSION DE CONTRACTURE

A l'examen des tracés présentés à la figure 35 et des valeurs de tensions consignées au tableau 25, il ressort que la diminution de la $[Mg^{++}]_e$ entraîne une diminution de l'amplitude de la contracture. Pour un milieu ne contenant pas de Mg^{++}, la tension atteint 70 p.100 de la valeur de la tension de référence.

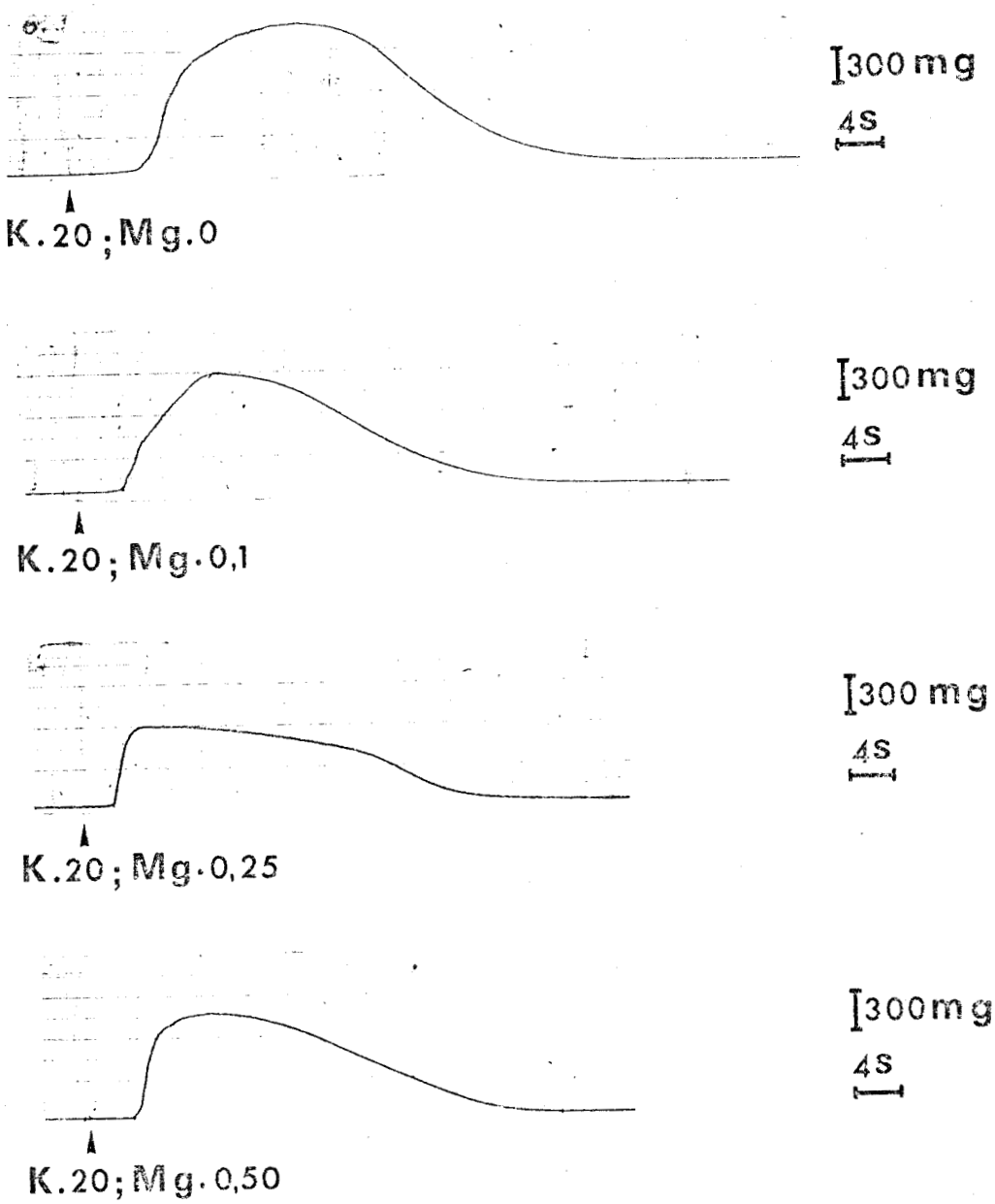


Figure 35 : Contractures des fibres musculaires de crabe obtenues par application de milieux hypomagnésiens enrichis en K^+ (K.20) après 10 mn de prétraitement par ces mêmes milieux hypomagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

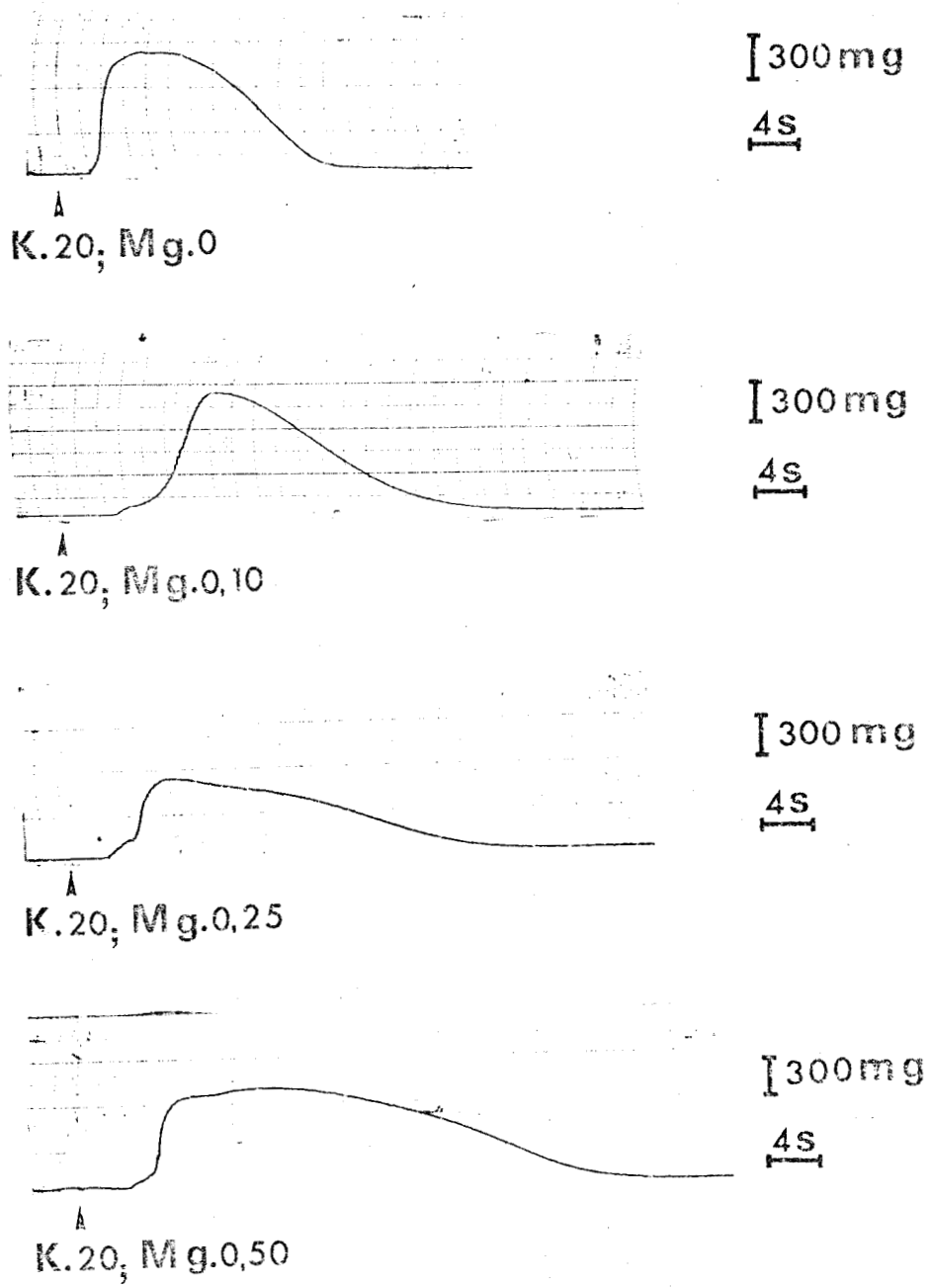


Figure 30 : Contractures des fibres de crabe obtenues par application de milieux hypomagnésiens enrichis en K^+ (K.20) après 20 mn de prétraitement par ces mêmes milieux hypomagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

BUS

Milieux	Prétraitement de 10 mn		Prétraitement de 20 mn	
	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2	Tension kg/cm2	Ecart-type kg/cm^2
$Mg_{en.0}$	1,845	0,060	1,840	0,065
$Mg_{en.0,1}$	2,100	0,060	1,950	0,065
$Mg_{en.0,25}$	2,305	0,080	2,120	0,070
$Mg_{en.0,50}$	2,480	0,090	1,400	0,100
$Mg_{en.1}$	2,740	0,130	2,740	0;130

Tableau 25 : Valeurs moyennes des tensions maximales de contracture des fibres, obtenues en milieux hypomagnésiens enrichis en K^+ ($K_{en.20}$) après un prétraitement d'une durée de 10 mn ou 20 mn par ces mêmes milieux hypomagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

Mg_{en} = concentration externe normale en magnésium

= 47,2 mEq/l

BUS Lyon

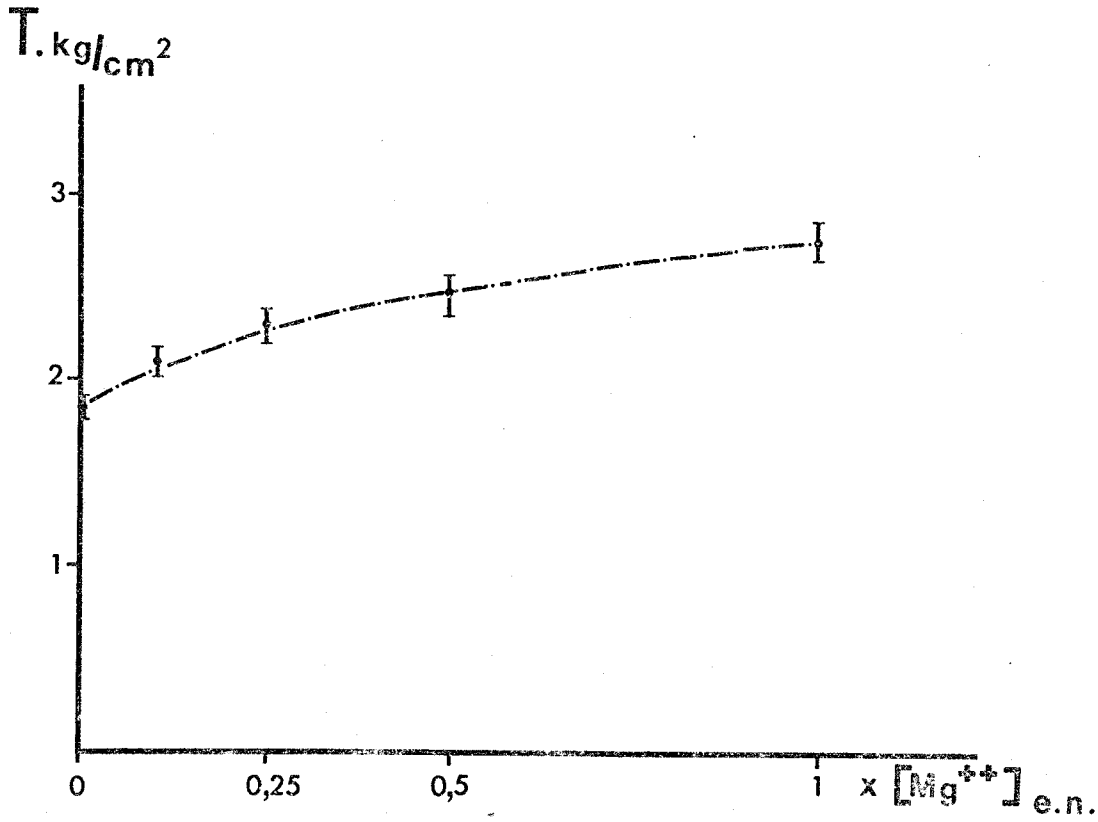


Figure 37 : Relation liant la tension moyenne maximale de contracture à la $[Mg^{++}]_{en}$.

$[Mg^{++}]_{en}$ = 47,2 mEq/l.

BUS LILLE

Signalons de plus, comme pour les milieux de $[Ca^{++}]_e$ variées, qu'un prétraitement de 10 mn en milieu hypomagnésien est suffisant pour permettre l'équilibre des fibres dans le milieu anormal car, après un prétraitement de 20 mn, les résultats sont quasiment identiques à ceux obtenus après un prétraitement de 10 mn (tracés de la figure 36 ; valeurs du tableau 25).

La courbe de la figure 37 résume les effets de ces milieux hypomagnésiens sur l'amplitude de la contracture.

* *

*

La chute de tension observée en milieu hypomagnésien est d'autant plus importante que la $[Mg^{++}]_e$ est faible. Cette baisse pourrait être en rapport avec une baisse possible du taux d'hydrolyse de l'ATP. En effet, il semble que l'on ne puisse faire intervenir une variation de l'amplitude de la dépolarisation membranaire provoquée par un excès de K^+, puisque comme cela a déjà été précisé (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR et coll., 1971) l'ion Mg^{++} ne joue aucun rôle dans le maintien du potentiel de repos, que son rôle sur la vitesse de la phase de dépolarisation du P.A. (HAUDECOEUR et coll., 1971) ne peut intervenir dans le cas de la dépolarisation potassique et que, de plus, il agirait en bloquant le courant entrant de calcium (HAUDECOEUR et coll., 1971).

II - ACTION DES MILIEUX HYPERMAGNESIENS SUR LA TENSION DE CONTRACTURE

Comme précédemment, pour l'étude de ces milieux, le protocole expérimental est le même. Là encore, un prétraitement de 10 mn est suffisant pour permettre l'équilibre de la fibre dans les milieux hypermagnésiens (Figures 38 et 39).

La figure 38 donnant des exemples de l'action de ces milieux révèle l'influence très importante de l'augmentation de la $[Mg^{++}]_e$ sur la tension de contracture. Ces tracés, et les chiffres consignés au tableau 26 montrent qu'un accroissement relativement faible en Mg^{++} suffit à annuler la réponse de la fibre musculaire. L'annulation est obtenue pour une augmentation de l'ordre de 4 fois la $[Mg^{++}]_{en}$. La relation liant l'amplitude de la contracture en fonction de la $[Mg^{++}]_e$ représentée par la courbe de la figure 40 montre le rôle extrêmement important du Mg^{++} au niveau du mécanisme myofibrillaire.

* * *

La chute de tension observée au delà de la valeur maximale atteinte lorsque le milieu externe présente une $[Mg^{++}]$ normale, pourrait s'expliquer en tenant compte d'une

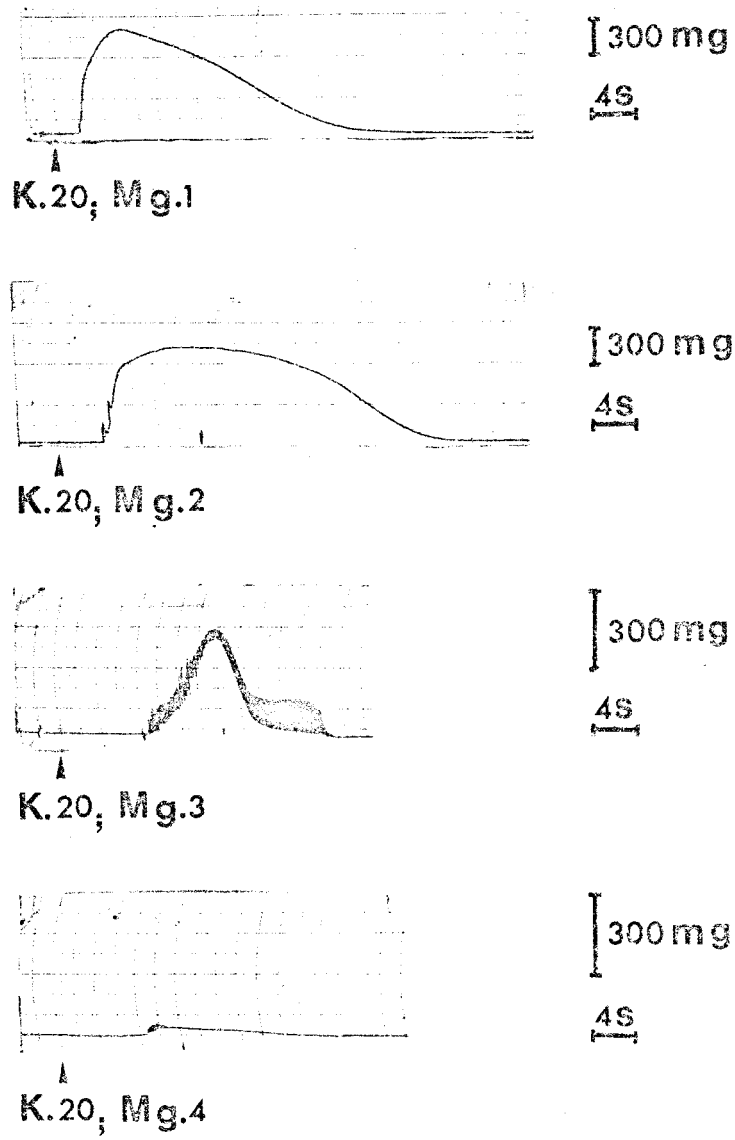


Figure 38 : Contractures des fibres musculaires de crabe obtenues en milieux hypermagnésiens enrichis en K^+ (K.20) après 10 mn de prétraitement par ces mêmes milieux hypermagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

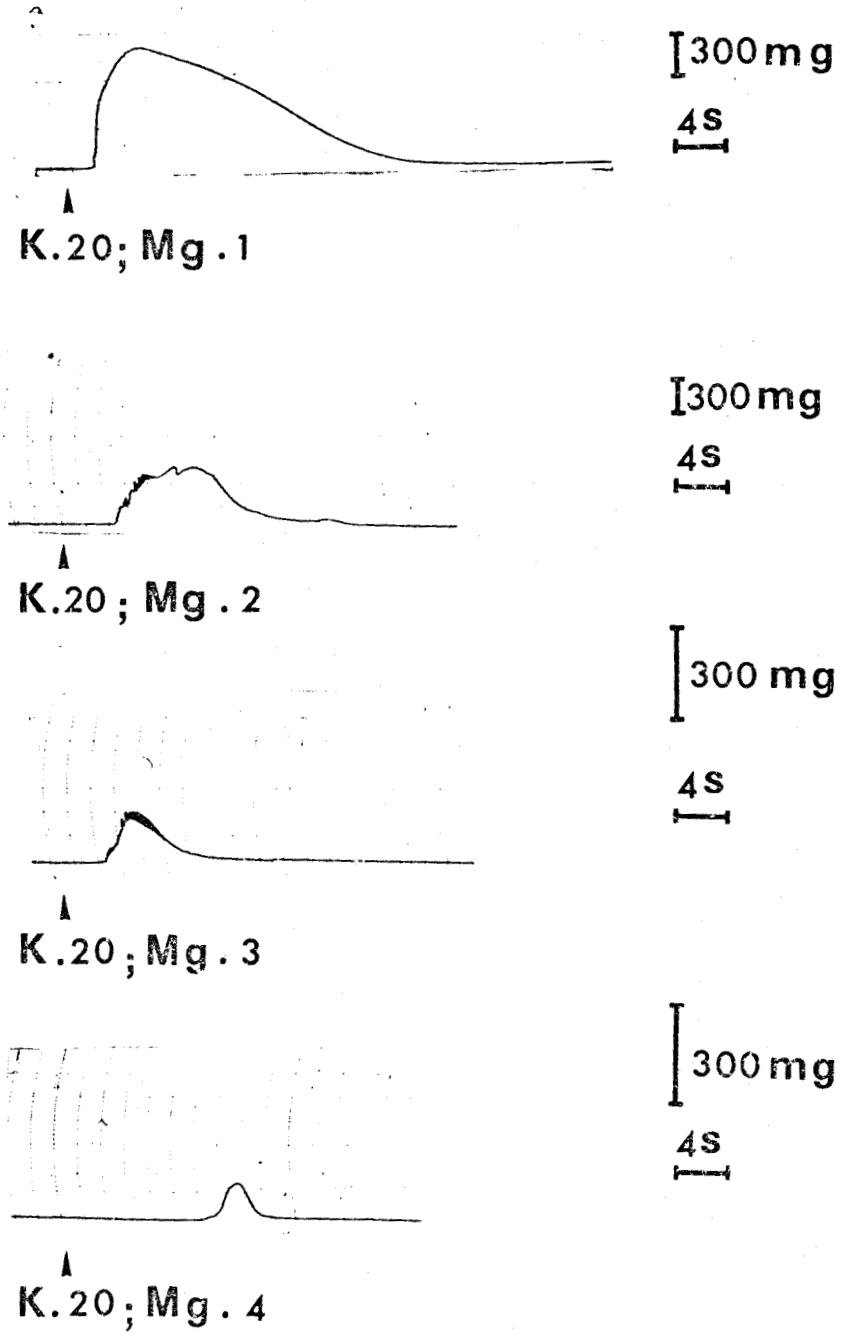


Figure 39 : Contractures des fibres de crabe obtenues en milieux hypermagnésiens enrichis en K^+ (K.20) après 20 mn de prétraitement par ces mêmes milieux hypermagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

Milieux	Prétraitement de 10 mn		Prétraitement de 20 mn	
	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2
$Mg_{en.1}$	2,750	0,130	2,750	0,130
$Mg_{en.2}$	2,410	0,080	1,980	0,090
$Mg_{en.3}$	1,110	0,040	0,750	0,060
$Mg_{en.4}$	0,130	0,020	0,045	0,010
$Mg_{en.5}$	0,000	0,000	0,000	0,000

Tableau 26 : Valeurs moyennes des tensions maximales de contractures des fibres, obtenues en milieux hypermagnésiens enrichis en K^+ ($K_{en.20}$) après un prétraitement pendant 10 ou 20 mn par ces mêmes milieux hypermagnésiens de $[K^+]_e$ normale.

Mg_{en} : concentration externe normale de magnésium = 47,2 mEq/l.

BUS LILLE

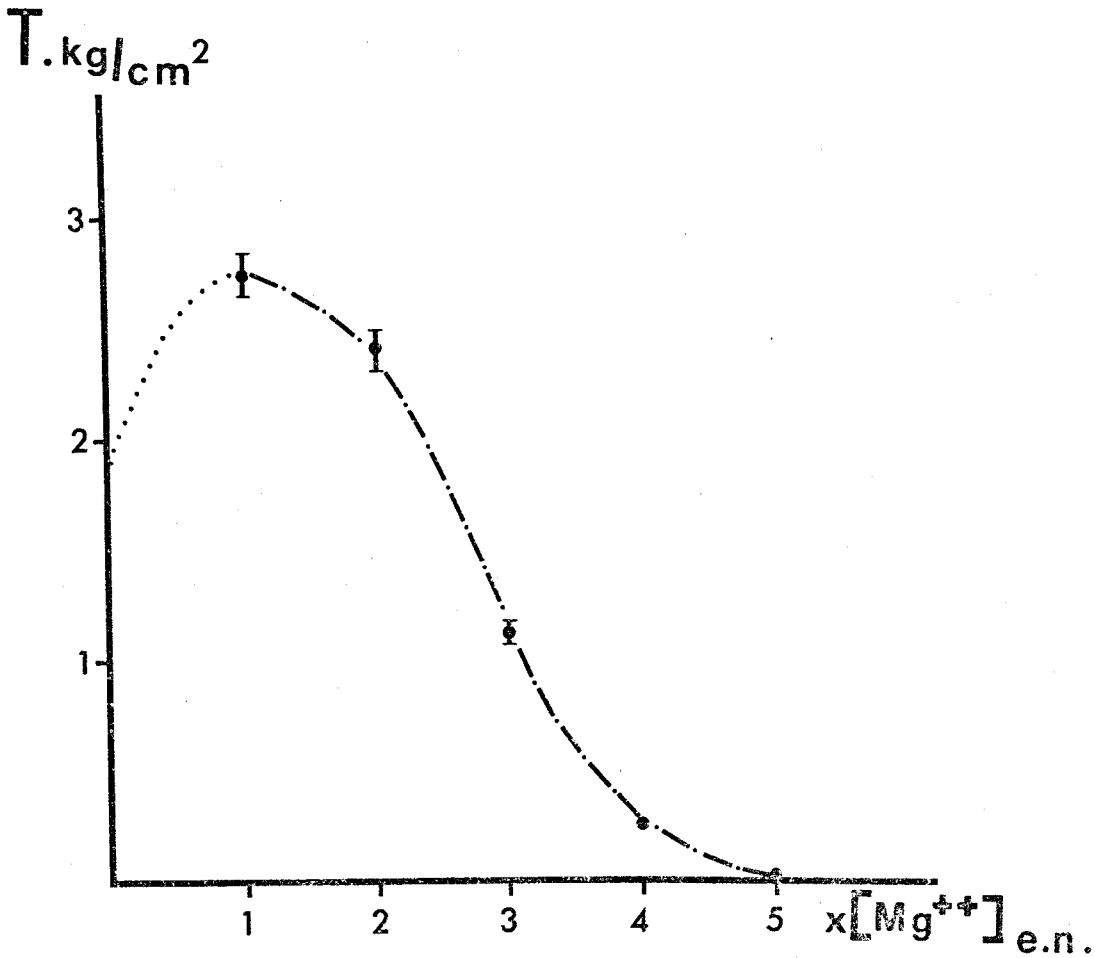


Figure 40 : Relation liant la tension moyenne maximale de contracture à la $[Mg^{++}]_{en}$.

$[Mg^{++}]_{en}$ = 47,2 mEq/l.

BUS LILLE

compétition entre les ions Mg^{++} et Ca^{++}, compétition mise en évidence par BRULE (1972) lors de l'étude de la secousse musculaire de la fibre striée de crabe. Signalons que l'hypothèse de l'existence d'un tel antagonisme a déjà été envisagée par JENKINSON (1957) sur la fibre de grenouille et que WEBER, HERZ et REISS (1969) supposent également que le Mg^{++} pourrait déplacer le Ca^{++} des myofibrilles.

Ainsi, dans nos conditions expérimentales, le Mg^{++} serait compétitif du Ca^{++}. D'ailleurs, cette hypothèse tend à se vérifier puisque, sur notre préparation l'action d'un milieu dont la $[Mg^{++}]_e$ est augmentée ($[Mg^{++}]_{en.2}$; $[Mg^{++}]_{en.3}$) et dont la $[Ca^{++}]_e$ est simultanément augmentée ($[Ca^{++}]_{en.2}$; $[Ca^{++}]_{en.3}$) se traduit par le développement d'une tension dont l'amplitude est de valeur tout à fait comparable à celle obtenue dans les conditions normales, ce que montrent d'ailleurs les valeurs du tableau 27 et les tracés de la figure 41. Comme l'illustrent les courbes A et B de la figure 42, le fait d'augmenter la Ca^{++} du milieu externe tend à annuler l'effet des milieux hypermagnésiens.

Signalons aussi que le maintien d'un niveau constant de la tension de contracture en fonction de l'augmentation simultanée de la $[Ca^{++}]_e$ et de la $[Mg^{++}]_e$ plaide en faveur, là encore, d'un effet non exclusif, de la π (comparaison des courbes A et B de la figure 42).

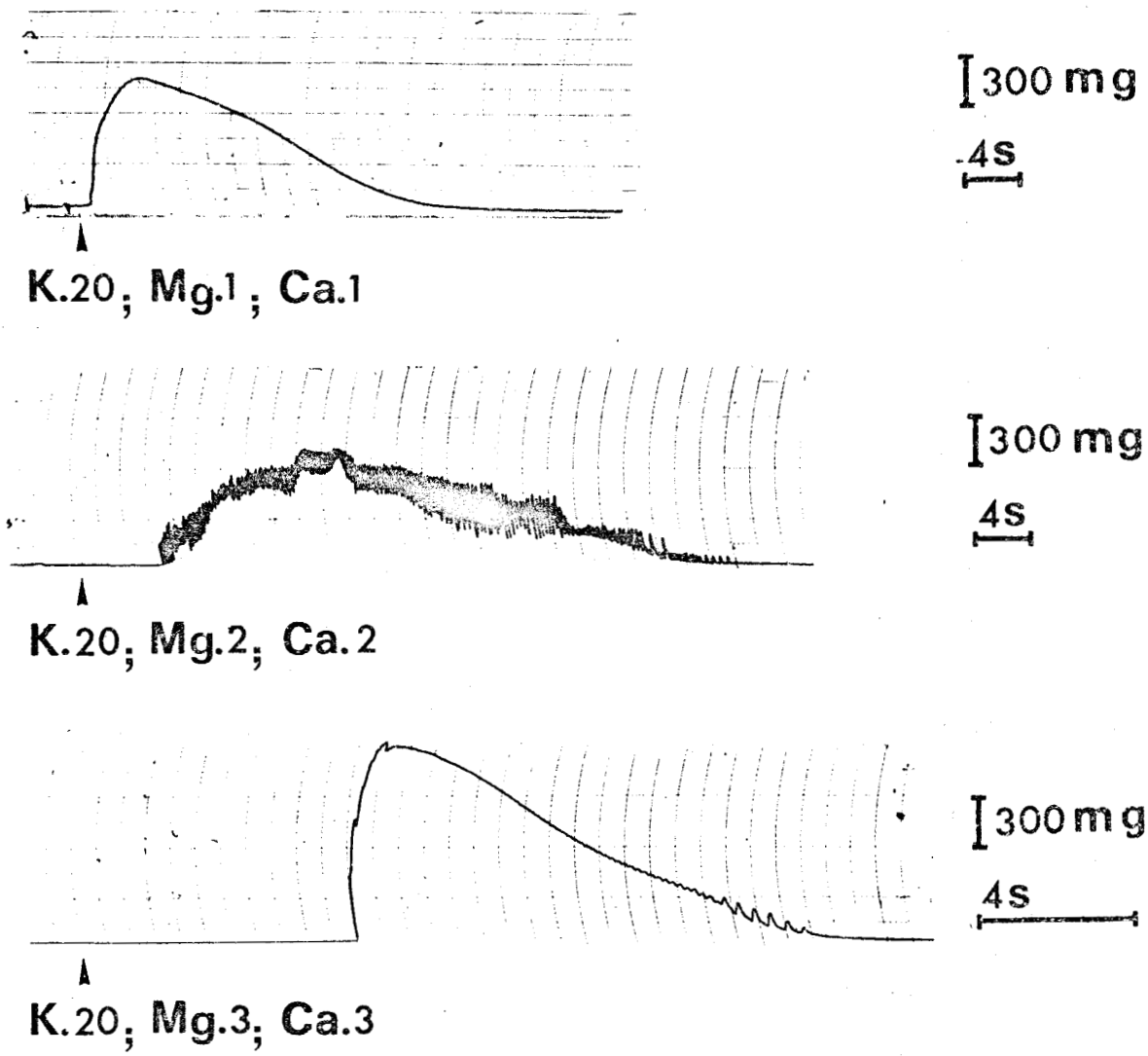


Figure 41 : Contractures des fibres de crabe obtenues en milieux hypermagnésiens, hypercalciques et enrichis en K^+ (K.20) après un prétraitement de 10 mn par ces mêmes milieux hypermagnésiens, hypercalciques de $[K^+]_e$ normale.

BUS LILLE

Milieux	Tension kg/cm^2	Ecart-type kg/cm^2
$Mg_{en.1}$ $Ca_{en.1}$	2,750	± 0,130
$Mg_{en.2}$ $Ca_{en.2}$	2,710	± 0,140
$Mg_{en.3}$ $Ca_{en.3}$	2,760	± 0,110

Tableau 27 : Valeurs moyennes des tensions de contracture des fibres, obtenues en milieux hypermagnésiens, hypercalciques et enrichis en K^+ ($K_{en.20}$) après leur prétraitement pendant 10 mn par ces mêmes milieux hypermagnésiens, hypercalciques de $[K^+]_e$ normale.

Mg_{en} = concentration externe normale en magnésium = 47,2 mEq/l

Ca_{en} = concentration externe normale en calcium = 22,6 mEq/l

BUS LILLE

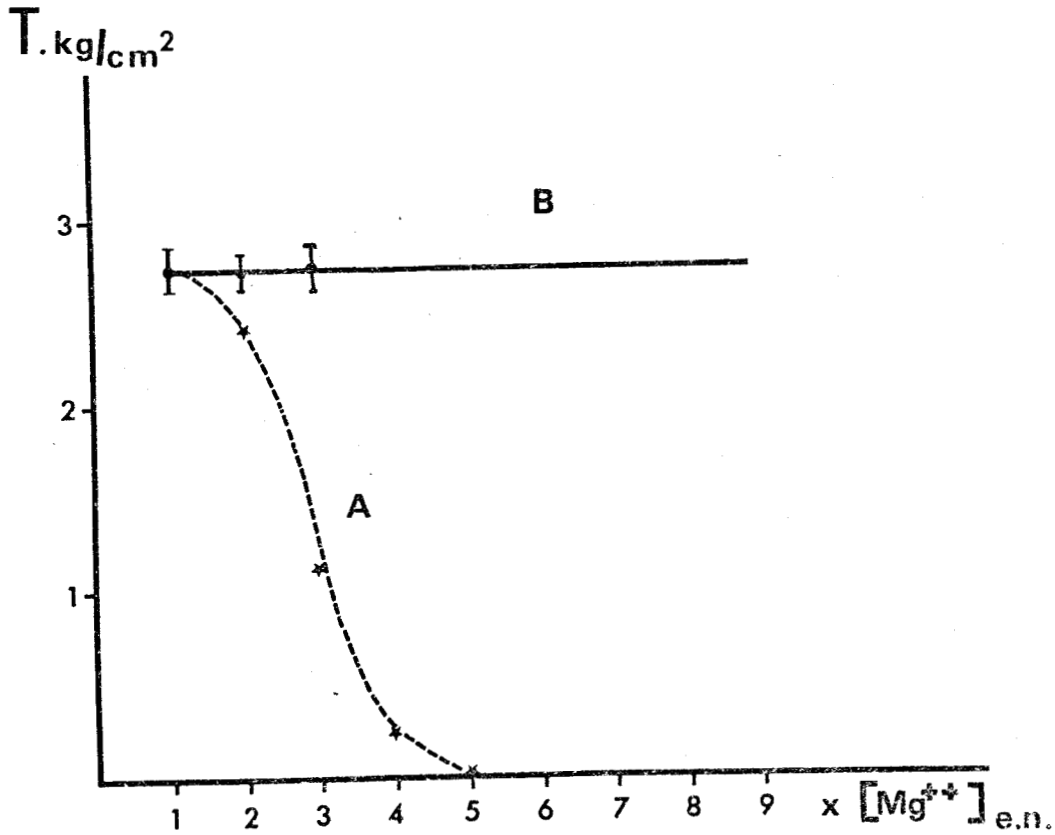


Figure 42 : Relation liant la tension moyenne maximale de contracture à la $[Mg^{++}]_e$:

- en milieu de $[Ca^{++}]_e$ normale = 23,6 mEq/l (courbe A)
- en milieu enrichi simultanément en Ca^{++} de façon à maintenir constant le rapport Ca^{++} / Mg^{++} à sa valeur normale (courbe B).

$[Mg^{++}]_{en}$ = 47,2 mEq/l.

BUS LILLE

DISCUSSION - CONCLUSION

Les résultats présentés amènent à formuler des hypothèses ayant pour but de tenter d'envisager les processus responsables du couplage excitation-contraction de la fibre squelettique de crabe. Il convient maintenant de les discuter

I - LA CONTRACTURE POTASSIQUE DE LA FIBRE PLACEE EN CONDITIONS NORMALES

Sous le vocable "en conditions normales", on entend que la fibre est baignée par le liquide physiologique de concentration ionique normale mis à part celle du K^+.

Les fibres musculaires striées ayant servi à l'expérimentation développent transitoirement une tension de contracture lorsqu'elles sont soumises à l'action de milieux hyperpotassiques. Ce type de réponse caractérise donc ces fibres comme étant de type phasique.

La relation T (kg/cm^2 = f $(P.M.)_{mV}$ est comparable à celle décrite pour les fibres phasiques par HODGKIN et HOROWICZ (1960) et pour les fibres toniques de Vertébrés par LUTTGAU (1963), NASSELDOV et coll. (1966) et pour les

fibres d'Invertébrés par HUDDART (1969), ZACHAR et ZACHAROVÀ (1966). Pour les fibres squelettiques de grenouille et d'écrevisse, le seuil de potentiel correspondant au seuil d'activation mécanique est sensiblement identique et égal en moyenne à 50 mV, bien que le potentiel de repos de ces fibres soit de valeur très différente. Ceci semble donc montre qu'il est plus essentiel d'abaisser le P.M. en deçà d'une certaine valeur seuil plutôt que d'obtenir une certaine amplitude de dépolarisation.

La relation T = f (P.M.), présentée dans le mémoire pour la fibre de crabe, diffère cependant quelque peu de celle obtenues pour les fibres de grenouille et d'écrevisse. En effe la valeur du seuil de potentiel correspondant au seuil mécanique est de l'ordre de - 26 mV et la valeur du potentiel correspondant à l'activation maximale du système contractile est de - 18 mV. Ainsi, l'activité mécanique totale se déroule dans un intervalle de potentiel très réduit : 10 mV en moyenne. La valeur élevée du seuil mécanique peut semble-t-il s'expliquer en tenant compte du fait que la conductance au K^+ de la fibre de crabe est assez faible comparée à celle des fibres d'écrevisse. En effet, MOUNIER (1970) montre que la conductance de la membrane de la fibre squelettique de crabe à l'ion K^+ ne rend compte que de 35 à 40 p.100 de la conductance membranaire totale alors que celle de l'écrevisse rend compte de 50 p.100 (ZACHAR et ZACHAROVA, 1966

Ces différences peuvent se comprendre dans la mesure où, d'une part, LULLMAN et REIS, sur le diaphragme de rat, obtiennent, en augmentant progressivement la $[K^+]_e$, une ample dépolarisation (P.R. passant de - 80 mV à - 15 mV) sans pour autant déclencher une contracture, et dans la mesure où, d'autre part, l'on tient compte de l'ultrastructure de la fibre squelettique de crabe. Ainsi, chez la fibre de crabe, la vitesse relativement faible de la dépolarisation, du fait de l'abondance du S.T.T. et la faible perméabilité potassique, préférentiellement localisée au niveau de la surface (MOUNIER, 1971), s'accordent avec l'existence d'un seuil mécanique de valeur élevée.

Cependant, pour REUBEN et coll. (1967), il n'y a pas de P.M. critique nécessaire au déclenchement de l'activation du mécanisme contractile : pour ces auteurs en effet, le courant transmembranaire, le déplacement des charges électriques seraient les principaux paramètres du couplage excitation-contraction.

Il semble qu'aucune conclusion définitive ne puisse être avancée quant à savoir si le développement de la tension est spécifiquement couplé au P.M. ou au courant transmembranaire. Il semble de plus que l'activation du système contractile fait appel à plusieurs mécanismes :

. puisqu'il est possible d'inhiber les contractures potassiques chez la grenouille tout en conservant la secousse (FUJIMO et FUJIMO, 1964) ;

. puisque les évènements électriques et mécaniques d'un même muscle peuvent être expérimentalement dissociés (AXELSON et THESLEFF, 1958) ;

. puisque les contractures obtenues par application de caféine et les contractures déclenchées par l'absence de Cl^- sont plus résistantes à un manque de Ca^{++} que les contractures potassiques (FRANK, 1960 ; FOULK et coll., 1965).

Enfin, nous avons vu que la tension maximale développée par la fibre de crabe en état de contracture est de l'ordre de 2,8 kg/cm^2. Celle de grenouille, placée dans les mêmes conditions, est de l'ordre de 3,3 kg/cm^2 (HODGKIN et HOROWICZ, 1960) et enfin, celle de l'écrevisse est de l'ordre de 8,2 kg/cm^2 (ZACHAR et ZACHAROVA, 1966). Ces différences peuvent s'expliquer en tenant compte de la géométrie de ces fibres, plus spécialement de la longueur de leur sarcomère ainsi que du rapport : longueur de la bande A / longueur du sarcomère.

En effet, selon le modèle des filaments glissants (HUXLEY, 1957), la tension développée en kg/cm^2 (P), proportionnelle à la longueur du sarcomère (s), est donnée par l'équation :

$$P = \frac{m.s.k}{2\ l} \int_{-\infty}^{+\infty} nx\ dx$$

où m est le nombre de sites M sur le filament de myosine par cm^3 de muscle ; k, la rigidité des éléments élastiques, s'exprime donc en dyne/cm : l, la séparation des sites A le long des filaments d'actine ; n, la proportion de sites M combinés avec les sites A ; et x la distance entre le site A du filament d'actine et la position d'équilibre de l'élément glissant sur le filament de myosine (bande H de l'élément de myosine).

La longueur du sarcomère de crabe est de 4,75 µ (MATHIEU, 1971), celle du sarcomère de grenouille 2,1 µ (GORDON, HUXLEY et JULIAN, 1964). Si les réponses d'amplitude différentes ne sont dues qu'à une différence de longueur du sarcomère, la fibre de crabe devrait exercer une tension 2,25 fois plus élevée que celle développée par la fibre de grenouille. Or, ce n'est pas le cas puisque la tension développée par la fibre de grenouille est 1,17 fois plus que celle développée par la fibre de crabe. Par contre, en tenant également compte du rapport longueur de la bande A / longueur du sarcomère, ces différences s'expliquent. En effet, la longueur de la bande A de la fibre de crabe est de 3,4 µ (MATHIEU, 1971), celle de la fibre de grenouille 1,6 µ. Le rapport longueur bande A / longueur du sarcomère, est égal à 0.70 pour la fibre de crabe et 0.76 pour la fibre de grenouille. Ceci semble donc

indiquer qu'il y a 1,1 fois plus de site M/cm^3 pour la fibre de grenouille que pour celle du crabe. Dans ce cas, la tension développée par la fibre de grenouille doit être 1,10 fois plus grande que celle développée par la fibre de crabe. Or, le rapport des tensions est de 1,17. On peut donc remarquer que la valeur du rapport obtenu en mesurant la tension ou en la calculant en tenant compte de l'ultrastructure est sensiblement identique. Un calcul analogu permet de montrer que le rapport de tension développée par la fibre de grenouille (3,3 kg/cm^2) sur celle de la fibre d'écrevisse (8,2 kg/cm^2 ; ZACHAR et ZACHAROVA, 1966) de valeur égale à 0,40 correspond à un rapport de 0,37 en tenant compte de la longueur de la bande A et de celle du sarcomère.

II - LA CONTRACTURE POTASSIQUE DE LA FIBRE PLACEE EN CONDITIONS ANORMALES

Nous avons vu que l'absence de Na^+ du milieu extracellulaire ne modifie pas la valeur de tension développée par la fibre dans les conditions normales mais que par contre cette absence de Na^+ entraîne une baisse très importante du seuil contractile ainsi que de la valeur du P.M. correspondan à l'activation maximale du mécanisme contractile. En effet,

dans les conditions normales, le seuil mécanique est obtenu pour une $[K^+]_e$ = 154,8 mEq/l, alors qu'en absence de Na^+, le seuil est atteint pour une $[K^+]_e$ = 38,7 mEq/l. L'abaissement du seuil est d'autant plus important que la fibre a subi plus longtemps l'action du milieu sans Na^+. Cette différence peut s'expliquer en tenant compte de l'antagonisme Ca^{++} - Na^+ décrit par NIEDERGERKE et LÜTTGAU (1957). En effet, l'absence de Na^+ entraîne une entrée plus importante de Ca^{++} pour un même niveau de dépolarisation.

La relation T = f ($[Ca^{++}]_e$) en présence de Na^+ montre que le Ca^{++} extracellulaire est indispensable au déclenchement de la réponse mécanique de la fibre puisque la dépolarisation membranaire à l'origine de la réponse n'est pas suffisante comme cela a été montré tant sur les fibres de Vertébrés que celles d'Invertébrés (NIEDERGERKE, 1955 ; LUTTGAU, 1963 ; LUTTGAU et NIEDERGERKE, 1958 ; SANDOW, 1965, 1970). Le maximum de tension (4,5 kg/cm^2) est obtenu sur la fibre de crabe lorsque le milieu extracellulaire contient 3 fois la $[Ca^{++}]_{en}$. Cette augmentation de tension s'explique par une entrée plus importante de Ca^{++} extracellulaire rendue possible par une augmentation du gradient de concentration pour les ions Ca^{++} : la compétition Na^+ - Ca^{++} pour le même transporteur membranaire devenant favorable pour le Ca^{++}.

En outre, nos résultats montrent que la tension de contracture chute ou augmente très rapidement en fonction du prétraitement de la fibre respectivement par un milieu pauvre en Ca^{++} ou enrichi en Ca^{++}. La variation de tension importante s'observe même après 1 mn de prétraitement. Cette constatation suppose du fait de la rapidité des effets du Ca^{++}, que les sites de passage des ions Ca^{++} sont situés à un niveau superficiel, au niveau de la membrane sarcolemmique. En accord avec cette hypothèse, ZACHAR et ZACHAROVÀ (1968) chez l'écrevisse, mentionnent que les ions Ca^{++} doivent être localisés dans un compartiment superficiel spécial, se distribuant tout le long de la fibre et que ce compartiment serait en rapport d'échanges rapides avec l'espace extracellulaire.

Enfin, la chute de tension observée en milieu très hypercalcique pourrait s'expliquer en supposant que l'augmentation du courant calcique entrant pour des $[Ca^{++}]_e$ élevées, serait à l'origine d'une $[Ca^{++}]_i$ trop importante qui pourrait elle-même être à l'origine d'une inhibition partielle de la réaction enzymatique libératrice d'énergie nécessaire au raccourcissement myofibrillaire.

En ce qui concerne les effets des ions Mg^{++}, les résultats présentés montrent que l'on ne peut considérer ces ions comme des substituts des ions Ca^{++} comme cela est

couramment admis, et que le Mg^{++} ne peut être considéré comme un Ca^{++} faible. En effet, les milieux hypomagnésiens provoquent sur la fibre squelettique de crabe une chute relativement importante de la tension maximale de contracture (40 p.100 pour une $[Mg^{++}]_e$ nulle). Cette chute de tension n'est pas due à une éventuelle variation d'amplitude de la dépolarisation que provoque le milieu hyperpotassique puisque le Mg^{++} ne joue aucun rôle dans le maintien et l'existence du P.R. (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971). Dans ces conditions, il est logique de supposer que la chute de tension pourrait plutôt être en rapport avec une baisse possible du taux d'hydrolyse de l'A.T.P. puisqu'en effet, le Mg^{++} est indispensable à l'hydrolyse de l'ATP lors de l'activation du mécanisme contractile et puisque HAUDECOEUR et coll.(1971) montrent que l'absence de Mg^{++} extracellulaire favorise l'entrée du Ca^{++}. Or puisqu'en 1957, HASSELBACH montre qu'une très grande partie du Mg^{++} interne est libre, il peut être supposé que la diminution de la $[Mg^{++}]_e$ pourrait entraîner une sortie de Mg^{++} et ainsi provoquer une diminution du taux d'hydrolyse de l'ATP. A l'inverse, les effets des milieux hypermagnésiens déprimant considérablement la tension de contracture, pouvant conduire à la disparition de la réponse par un accroissement possible de la teneur en Mg^{++} intracellulaire, tension rétablie par un apport simultané de Ca^{++}, laissent supposer qu'au niveau myofibrillaire existerait un antagonisme Ca^{++} - Mg^{++}.

RESUME

Les résultats exposés dans le présent mémoire portant :

1 - Sur les caractéristiques de la tension de contracture des fibres phasiques de crabe dans les conditions normales ont permis de montrer :

. une relation sigmoïde entre la tension développée et la $[K^+]_e$, le minimum de tension étant obtenu pour une $[K^+]_e$ = 154,8 mEq/l et le maximum de tension (2,8 kg/cm^2) pour une $[K^+]_e$ = 258 mEq/l.

. une relation sigmoïde entre la tension développée et le P.M.. Le seuil d'activation mécanique est de l'ordre de - 26 mV et l'activation maximale du mécanisme contractile est obtenue pour un P.M. de - 18 mV.

2 - Sur la variation de la tension de contracture en fonction de la $[Na^+]_e$, de la $[Ca^{++}]_e$, de la $[Mg^{++}]_e$ ont permis de montrer que :

. l'absence de Na^+ du milieu externe entraîne une baisse du seuil mécanique, seuil obtenu pour une $[K^+]_e$ = 38,7 mEq/l, sans toutefois changer l'amplitude de la tension correspondant à l'activation maximale du mécanisme contractile obtenue dans les conditions normales.

. l'ion Ca^{++} est indispensable au développement de la contracture et qu'il est activateur du mécanisme contractile ; la tension maximale croît avec l'augmentation de la $[Ca^{++}]_e$ jusqu'à une limite correspondant à une valeur de concentration égale à 3 fois la valeur normale, au-delà de cette valeur, la tension mécanique décroît.

. la $[Mg^{++}]_e$ joue un rôle important sur le développement de la contracture puisque la diminution ou l'augmentation de cette $[Mg^{++}]_e$ se traduit par une baisse de l'amplitude de la tension. Les résultats présentés laissent entrevoir que la $[Mg^{++}]_i$ pourrait être influencée par le gradient de concentration pour les ions Mg^{++}, gradient pouvant ainsi régler indirectement le taux d'hydrolyse de l'ATP et par là, l'amplitude de la contracture. De plus, le fait que, d'une part, l'augmentation de la $[Ca^{++}]_e$ puisse annuler les effets d'un enrichissement extracellulaire en Mg^{++} et que, d'autre part, l'augmentation trop importante de la teneur en Ca^{++} extracellulaire diminue l'amplitude de la contracture amènent à postuler l'existence d'un antagonisme Ca^{++}-Mg^{++}.

BIBLIOGRAPHIE

ADRIAN, R.H. (1956)

The effect of internal and external potassium, concentratio on the membrane potential of frog muscle.
J. Physiol., London, 133, 631-658.

AIDLEY, D.J. (1963)

Influence of calcium ions on potassium contracture in an insect leg muscle.
Nature, London, 198, 591-592.

AIDLEY, D.J. (1965)

The effect of calcium ions on potassium contracture in a locust leg muscle.
J. Physiol., London, 177, 94-102.

ASHLEY, C.C. et RIGDWAY, E.B. (1970)

On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres.
J. Physiol., London, 209, 105-130.

ATWOOD, H.L. (1963)

Differences in muscle fiber properties as a factor in "fast" and "slow" contraction in Carcinus.
Comp. Biochem. and Physiol., 10, 17-32.

ATWOOD, H.L. et DORAI RAJ, B.S. (1965)

Tension development and membrane responses in phasic and tonic muscle fibers of a crab.
J. Cell. and Comp. Physiol., 64, 55-72.

AUBERT, X. (1963)

Les ions alcalino-terreux et le muscle strié.
In Bacq, Ions Alcalino-terreux, Heidelberg, chapitre 8 D, SPRINGER edit., 337-397.

AXELSSON, J. et THESLEFF, S. (1958)

Activation of the contractile mechanism in striated muscle.
Acta Physiol. Scand., 44, 55-66.

BIANCHI, C.P. and SHANES, A.M. (1959)

Calcium influx in skeletal muscle at rest, during activity, and during potassium contracture.
J. Gen. Physiol., 42, 4, 803-815.

BOHR, D.F. (1964)

Electrolytes and smooth muscle contraction.
Pharmacol. Rev., 16, 85-111.

BOTTS, J. (1967)

Triggering of contraction in skeletal muscle.
In : Physiological Triggers, ed. by BULLOCK, T.H., 85-102
American Physiological Society, Washington, D.C.

BRADY, J. (1964)

Excitation and excitation-contraction coupling in cardiac muscle.
Ann. Rev. Physiol., 26, 341-356.

BRULE, G., FALEMPIN, M. et GUILBAULT, P. (1969)

Effets de milieux riches en potassium (K^+) et privés de sodium (Na^+) sur les propriétés mécaniques de la fibre musculaire isolée de crabe.
J. Physiol., Paris, 62, suppl.1, 136.

BRULE, G. (1972)

Etude de la secousse de la fibre musculaire striée de crabe.
Thèse de 3e Cycle, Lille, 1 vol., 163 p. dactyl.

BULBRING, E., HOLMAN, M. et LULLMAN, H.J. (1956)

Effects of calcium deficiency on striated muscle of the frog.
J. Physiol., London, 133, 101-117.

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

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

BURGEN, A.S. (1968)

Calcium and excitable cells.
Proc. R. Soc. Med., 61, 1, 67-68.

BURKE, W. et GINSBORG, G.L. (1956)

The electrical properties of the slow muscle fiber membrane.
J. Physiol., London, 132, 586-598.

CALDWELL, P.C. et WALSTER, G.E. (1961)

A cannulated crab muscle fiber.
J. Physiol., London, 157, 36-37 P.

CALDWELL, P.C. et WALSTER, G. (1963)

Studies on the micro-injection of various substances into crab muscle fibres.
J. Physiol., London, 169, 353-372.

CAPUTO, C. (1966)

Caffeine and potassium induced contractures of frog striated muscle fibers in hypertonic solutions.
J. Gen. Physiol., 59, 129.

CHIARANDINI, D.J., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W. et GRUNDFEST, H. (1970 a)

Effects of caffeine on crayfish muscle fibers.
I - Activation of contraction and induction of Ca spike electrogenesis.
J. Gen. Physiol., 55, 640.

CHIARANDINI, D.J., REUBEN, J.P., GIRARDIER, L., KATZ, G.M. et GRUNDFEST, H. (1970 b)

Effects of caffeine on crayfish muscle fibers.
II - Refractoriness and factors influencing recovery (repriming) of contractile responses.
J. Gen. Physiol., 55, 665.

COSTANTIN, L.L., FRANZINI-ARMSTRONG, C. et POPOLSKY, R.J. (1965)

Localization of calcium-accumulating structures in striated muscle fibers.
Science, 147, 158-160.

CSAPO, A. et WILKIE, D.R. (1956)

The dynamics of the effect of potassium on frog's muscle.
J. Physiol., London, 134, 497-514.

CURTISS, J. et COLE, H. (1942)

Membrane resting and action potentials from the squid giant axon.
J. Cell. Physiol., 19, 135.

DALY, I. de B. et CLARK, A.J. (1921)

The action of ions upon the frog's heart.
J. Physiol., London, 54, 367-383.

DENOIT, F. (1967)

Etude ultrastructurale du myocarde de Mammifère. Coeur isolé et perfusé. Tissu ventriculaire non perfusé.
Thèse de 3e Cycle, Orsay, 1 vol., 80 p. dactyl.

DORAI RAJ, B.S. (1964)

Diversity of crab muscle fibers innervated by a single motor axon.
J. Cell. and Comp. Physiol., 64, 41-54.

EBASHI, S. (1961)

Calcium binding activity of vesicular relaxing factor.
J. Biochem., 50, 236-244.

EBASHI, S. et LIPMANN, F. (1962)

Adenosine triphosphate-linked concentration of calcium ion in a particule fraction of rabbit muscle.
J. Cell. Biol., 14, 389-400.

EDMAN, K.A.P. et GRIEVE, D.W. (1961)

On the rôle of Ca^{++} and Zn^{++} in the electrical and mechanical responses of frog sartorius muscle.
Experientia, 17, 557-558.

EDMAN, K.A.P. et SCHILD, H.O. (1962)

The need for calcium in the contractile responses induced by acetylcholine and potassium in the rat uterus.
J. Physiol., London, 161, 424-441.

EDMAN, K.A.P. et GRIEVE, D.W. (1964)

On the rôle of calcium in the excitation-contraction process of frog sartorius muscle.
J. Physiol., London, 170, 138-152.

EDWARDS, C., CHICHIBU, S. et HAGIWARA, S. (1964)

Relation between membrane potential changes and tension in barnacle muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 48, 225-234.

EDWARDS, C. et LORKOVIC, H. (1967)

The rôle of calcium in excitation-contraction coupling in various muscles of the frog, mouse and barnacle.
Am. Zoologist., 7, 615.

ETZENSPERGER, J. (1970)

Effets d'un changement progressif de la concentration en calcium du milieu physiologique sur le potentiel d'action et la secousse de la fibre musculaire squelettique de grenouille.
J. Physiol., Paris, 62, 4, 299-313.

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

The electrical properties of crustacean fibres.
J. Physiol., London, 120, 171-204.

FATT, P. et GINSBORG, B.L. (1958)

The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres.
J. Physiol., London, 142, 516-543.

FOULKS, J.G., PACEY, J.A. et PERRY, F.A. (1965)

Contractures and swelling of the transverse tubules during chloride withdrawal in frog skeletal muscle.
J. Physiol., London, 180, 96.

FRANK, G.B. (1960)

Effects of changes in extracellular calcium concentration on the potassium-induced contracture of frog's skeletal muscle.
J. Physiol., London, 151, 518-538.

FRANK, G.B. (1962)

Utilization of bound calcium in the action of caffeine and certain multivalent cations on skeletal muscle.
J. Physiol., London, 163, 254-268.

FRANK, G.B. (1964)

Evidence for an essential rôle for calcium in excitation-contraction coupling in skeletal muscle.
Proc. Roy. Soc., B, 160, 504-512.

FRANKENHAEUSER, B. et HODGKIN, A.L. (1957)

The action of calcium on the electrical properties of squid axons.
J. Physiol., London, 137, 218-244.

FUJIMO, M. et FUJIMO, S. (1964)

Selective inhibition of potassium contracture in presence of intact twitch.
J. Gen. Physiol., 47, 1079.

GAINER, H. (1968)

The rôle of calcium in excitation-contraction coupling of lobster muscle.
J. Gen. Physiol., 52, 1, Part I, 88-110.

GERGELY, J. (1959)

The relaxing factor of muscle.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 81, 490-504.

GORDON, A.M., HUXLEY, A.F. et JULIAN, F.J. (1964)

The length tension diagram of single vertebrate striated muscle fibres.
J. Physiol., London, 171, 28-30 P.

GRAY, E.A. (1958)

The structure of fast and slow muscles in the frog.
J. Anat., London, 92, 559-562.

GUTMANN, E. et SANDOW, A. (1955)

Caffeine-induced contracture and potentiation of contractio
in normal and denervated rat muscle.
Life Sci., 4, 1149-1156.

HAJDU, S. (1953)

Mechanism of staircase and contracture in ventricular muscle.
Ann. J. Physiol., 174, 371-380.

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

The initiation of spike potential in barnacle muscle fibers under low intracellular Ca^{++}.
J. Gen. Physiol., 48, 141-162.

HAGIWARA, E. et NAGAI, T. (1970)

Ca^{++} movements at rest and during potassium contracture in mytilus AERM
Jap. J. Physiol., 20, 1, 72-83.

HASSELBACH, W. (1957)

Die Bindung von Adenosindiphosphat, von anorganischem Phosphat und von Erdalkalien an die Strukturproteine des Muskels.
Biochim. Biophys. Acta, 25, 562-574.

HASSELBACH, W. et MAKINOSE, M. (1961)

Die Calcium pumpe der "Erschlaffungsgrana" des Muskels und ihre Abhängigkeit von der ATP-spaltung.
Biochem. Z., 333, 518-528.

HASSELBACH, W. (1964)

Relaxation and the sarcotubular calcium pump.
Fed. Proc., 23, 909-912.

HASSELBACH, W. (1966)

Structural and enzymatic properties of the calcium transporting membran of the sarcoplasmic reticulum.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 137, 2.

HAUDECOEUR, G. et GUILBAULT, P. (1970)

Perméabilités ioniques membranaires pendant le potentiel d'action de la fibre musculaire striée de crabe.
C. R. Soc. Biol., 164, 12, 2559-2565.

HAUDECOEUR, G. et GUILBAULT, P. (1971)

Communication personnelle.

HAUDECOEUR, G. (1971)

Etude des perméabilités ioniques menbranaires de la ffibre musculaire striée de crabe.
TThèse 3e Cycle, Lille, 1 vol., 179p.dactyl.

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

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

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (1957)

The differential action of hypertonic solutions on the twitch and action potential of a muscle fibre.
J. Physiol., London, 136, 17 P.

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

The influence of potassium and chloride ions on the membrane of single muscle fibres.
J. Physiol., London, 148, 127-138.

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (1960)

Potassium contractures in single muscle fibres.
J. Physiol., London, 153, 386-403.

HOYLE, G. (1953)

Potassium ions and insect nerve muscle.
J. exp. Biol., 30, 121-135.

HOYLE, G. (1961)

Fonctionnal contracture in a spiraculae muscle.
J. Insect. Physiol., 7, 305-314.

HOMSHER, E. et BRIGGS, N. (1968)

Effects of hypertonicity on calcium fluxes in frog sartorius muscles.
Fed. Proc., 27, 375.

HUDDART, H. (1969)

Caffeine activation of crab skeletal muscle.
Comp. Biochem. Physiol., 29, 1031-1038.

HUXLEY, A.F. et STAMPFLI, R. (1951)

Effect of potassium and sodium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres.
J. Physiol., London, 112, 476.

HUXLEY, A.F. (1956)

Local activation of striated muscle from the frog and the crab.
Proceed. Physiol., 17-18 P.

HUXLEY, A.F. (1957)

Muscle structure and theories of contraction.
Progress in Biophysics, 7, 255-318.

ISHIKO, N. et SATO, M. (1957)

The effect of Ca^{++} on the electrical properties of striated muscle.
Jap. J. Physiol., 7, 51-63.

JENKINSON, D.H. (1957)

J. Physiol., 138, 434-444.

In DODGE, F.A. et RAHAMIMOFF, R. (1967)
On the relationship between calcium concentration and the amplitude of the end plate potential.
Proceed. Physiol. Soc., 90-92 P.

KRÜGER, P. (1949)

Die innervation der tetanischen und tonischen Fasern der quergestreiften Skeletmuskulatur des Wirbeltiere.
Anat. Anz., 97, 169-197.

KÜFFLER, S.W. et VAUGHAN-WILLIAMS, E.M. (1953)

Small-nerve junctionnal potentials. The distribution of small motor nerves to frog skeletal muscle, and the membrane characteristics of the fibers they innervate.
J. Physiol., London, 121, 289-317.

LEE, K.S., LADINSKY, H., CHOI, S.J. et KASUYA, Y. (1966)

Studies on the in vitro interaction of electrical stimulation and Ca^{++} movement in sarcoplasmic reticulum.
J. Gen. Physiol., 49, 689-715.

LING, G. et GERARD, R.W. (1950)

External potassium and the membrane potential of single muscle fibres.
Nature, London, 165, 113.

LULLMAN, M. et REIS, E. (1967)

Über den Zusammenhang zwischen Membranpotential und Kalium-bzw. Acetylcholin-Kontraktur am chronisch denervierten Rattenzwerchfell.
Pflüg. Arch., 294, 113-118.

LUTTGAU, H.C. et NIEDERGERKE, R. (1958)

The antagonism between Ca^{++} and Na^{+} ions on the frog's heart.
J. Physiol., London, 143, 486-505.

LUTTGAU, H.C. (1963)

The action of calcium ions on potassium contractures of single muscle fibers.
J. Physiol., London, 168, 679.

LUTTGAU, H.C. et HOETLIKER, M. (1965)

The action of caffeine on the activation of the contractile mechanism in striated muscle fibres.
J. Physiol., London, 194, 51.

MARSH, B.B. (1951)

A factor modifying muscle fibre synaeresis.
Nature, London, 167, 1065-1067.

MARSH, B.B. (1952)

The effects of ATP on the fibre volume of a muscle homogenate.
Biochim. Biophys. Acta, 9, 247-260.

MASHIMA, H. (1963)

Excitation-contraction coupling of muscle.
Life Sci., 14, 266-294.

MATHIEU, J. (1971)

Participation de la microscopie électronique dans la compréhension du couplage excitation-contraction.
D.E.A., Lille, 1 vol., 71 p. dactyl.

MATSUMURA, M. (1968)

Contracture of a single crayfish muscle fibre.
J. Physiol. Soc. Japan., 30, 485-486.

MOORE, D.H. et RUSKA, H. (1957)

Electron microscope study of Mammalian cardiac muscle cells.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 261-275.

MOUNIER, Y., HAUDECOEUR, G. et GUILBAULT, P. (1969 a)

Perméabilité membranaire aux ions monovalents de la fibre musculaire de crabe (Carcinus maenas).
C. R. Soc. Biol., Paris, 163, 7, 1546-1550.

MOUNIER, Y., HAUDECOEUR, G. et GUILBAULT, P. (1969 b)

Données électrophysiologiques sur la fibre musculaire de crabe (Carcinus maenas)
J. Physiol., Paris, 61, suppl.2, 359-360.

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., Paris, 271, 415-418.

MOUNIER, Y. (1970)

Conductances ioniques membranaires de repos de la fibre musculaire de crabe.
Thèse 3e Cycle, Lille, 1 vol., 136 p. dactyl.

NAGAI, T. (1953)

Physiological studies on crustacean muscle fibres.
I - Electrical stimulations and types of contraction.
Annat. Zool. Japan, 26, 57-63.

NASLEDOV, G.A., ZACHAR, J. et ZACHAROVA, D. (1966)

The ionic requirements for the development of contracture in isolated muscle fibres of the frog.
Physiologia bohemoslov.

NATORI, R. and ISOJIMA, C. (1962)

Excitability of isolated myofibrils.
Jikeikai med. J., 9, 1-8.

NIEDERGERKE, R. (1955)

Local muscular shortening by intrecellulary applied calcium.
J. Physiol., London, 128, 12-13 P.

NIEDERGERKE, R. (1956)

The potassium chloride contracture of the heart and its modification by calcium.
J. Physiol., London, 167, 551-580.

NIEDERGERKE, R. et LUTTGAU, H.C. (1957)

Calcium and the contraction of the heart-antagonism between calcium and sodium ions.
Nature, London, 179, 1066-1067.

ORENTLICHER, M. et REUBEN, J.P. (1971)

Localization of ionic conductances in crayfish muscle fibers.
J. Membrane Biol., 4, 209-226.

ORKAND, R.K. (1962)

The relation between membrane potential and contraction in single crayfish muscle fibres.
J. Physiol., London, 161, 143-159.

OVERTON, E. (1902)

Beiträge zur allgemeinen Muskel-und Nervenphysiologie. II - Ueber die Unentbehrlichkeit von Natrium (oder Lithium). Ionen für den Contractionsact des Muskels.
Arch. Ges. Physiol. Menschen Tiere, 92, 346.

PEACHEY, L.D. et HUXLEY, A.F. (1962)

Structural identification of twitch and slow muscle fibers of the frog.
J. Cell. Biol., 13, 177-180.

PEACHEY, L.D. (1967)

Membrane systems of crab fibers.
Amer. Zoologist., 7, 505-513.

PORTER, K.R. et PALADE, G.E. (1957)

Studies on the endoplasmic reticulum.
III - Its form and distribution in striated muscle cells.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 269-300.

REUBEN, J.P., GIRARDIER, L. et GRUNDFEST, H. (1964)

Water transfer and cell structure in isolated crayfish muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 47, 1141-1174.

REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GARCIA, H. et GRUNDFEST,H. (1967)

Excitation-contraction coupling in crayfish.
Am. Zoologist., 7, 623.

SANDOW, A. (1955)

Contracture responses of skeletal muscle.
Amer. J. Phys. Med., 34, 145-160.

SANDOW, A. (1965)

Excitation-contraction coupling in skeletal muscle.
Pharmacol. Rev., 17, 265-320.

SANDOW, A. (1970)

Skeletal muscle.
Ann. Rev. Physiol., 32, 87-138.

SHANES, A.M. (1961)

Correlation of calcium uptake and contractility in frog rectus abdominis muscle.
In : Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions, ed. by SHANES, A.M., 309-316, Amer. Ass. Advanc. Sci., Washington, D.C.

SHAW, J. (1955 a)

Ionic regulation in the muscle fibres of Carcinus maenas.
I - The electrolyte composition of single fibres.
J. Exp. Biol., 32, 383-396.

SHAW, J. (1955 b)

Ionic regulation in the muscle fibres of Carcinus maenas.
II - The effect of reduced blood concentrations.
J. Exp. Biol., 32, 664-680.

SPERELAKIS, M. (1962)

Ca^{45} and Sr^{89} movement with contraction of depolarized smooth muscle.
Amer. J. Physiol., 203, 860-866.

SZENT-GYORGYI, A. (1952)

Contraction in the heart muscle fiber.
Bull. N.Y. Acad. Med., 28, 1-10.

TIMMS, A.R. (1964)

The coupling of electrical and mechanical activities in intestinal smooth muscle in relation to metabolism.
Trans. N.Y. Acad. Sci., ser.II, 26, 902-912.

VASSORT, G., ROUGIER, O. et FAVELIER, I. (1971)

Influence du potentiel de membrane et de courants transmembranaires sur l'activité contractile des faisceaux sino-auriculaires de la grenouille.
Arch. Int. Physiol. Biochem., 79, 401-406.

WEBER, A. et HERZ, R. (1963)

The binding of calcium to actomyosin systems in relation to their biological activity.
J. Biol. Chem., 238, 599-605.

WEBER, A., HERZ, R. et REISS, I. (1964)

The regulation of myofibrillar activity by calcium.
Proc. Roy. Soc. B., 160, 489-501.

WEBER, A. (1966)

Energized calcium transport and relaxing factors.
In : Current Topics in Bioergetics, ed. SANADI, D.R., Academic Press, New York and London, 203-254.

WEBER, A. et HERZ, R. (1968)

The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum.
J. Gen. Physiol., 52, 750-759.

WILBRANDT, W. et KOLLER, H. (1948)

Die Calcium Wirkung am Froschherzen als Funktion des Ionengleichgewichts zwischen Zellmembran und Umgebung.
Hel. Physiol. Acta, 6, 208-221.

WINEGRAD, S. (1961)

The possible role of calcium in excitation-contraction coupling of heart muscle.
Circulation, 24, 2, part.2, 523-529.

WINEGRAD, S. et SHANES, A.M. (1962)

Calcium flux and contractility in guinea pig atria.
J. Gen. Physiol., 45, 371-394.

WINEGRAD, S. (1965 a)

Audocardiographic studies of intracellular calcium in frog skeletal muscle.
J. Gen. Physiol., 48, 455-479.

WINEGRAD, S. (1965 b)

The location of muscle calcium with respect to the myofibrils.
J. Gen. Physiol., 48, 997-1002.

ZACHAR, J., ZACHAROVA, D. et HENCEK, M. (1964)

The relative potassium and chloride conductances in the muscle membrane of the crayfish (Astacus fluviatilis).
Physiol. Bohemoslovenica, 13, 129-136.

ZACHAR, J. et ZACHAROVA, D. (1966)

Potassium contractures in single muscle fibers of the crayfish.
J. Physiol., London, 186, 596.

ZACHAROVA, D. and ZACHAR, J. (1968)

The effect of external calcium ions on the excitation-contraction coupling in single muscle fibers of the crayfish.
Physiol. Bohemoslovenica, 16, 191.