

50376 1972

5

50370

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES DE LILLE I

pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN PHYSIOLOGIE ANIMALE

 (3^{e} cycle)

par

Gérard BRULÉ

ÉTUDE DE LA SECOUSSE DE LA FIBRE MUSCULAIRE STRIÉE DE CRABE



Soutenue le 3 février 1972 devant la commission d'examen

MM. V. BLOCH, Président P. GUILBAULT, Rapporteur J.-P. ROUSSEAU, Examinateur G. LEDOUARIN, Invité

AVANT-PROPOS

Le présent travail m'a été confié par Monsieur le Professeur GUILBAULT, Directeur du Laboratoire de Physiologie Cellulaire de l'Université des Sciences et Techniques de Lille.

Je remercie Monsieur le Professeur GUILBAULT d'avoir bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire, de m'avoir fait confiance en me demandant de réaliser cette recherche. Je tiens à lui exprimer le témoignage de ma reconnaissance la plus profonde pour la constante attention qu'il a manifestée à mon égard et pour les conseils précieux qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur BLOCH d'avoir bien voulu accepter la présidence de mon jury. Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de mon profond respect et de ma sincère admiration.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur ROUSSEAU pour la compréhension qu'il a témoignée lors de la réalisation de ce travail, Monsieur le Professeur LEDOUARIN d'avoir bien voulu accepter de le juger. Qu'ils soient assurés de ma profonde admiration. Ce travail réalisé au Laboratoire, au sein d'une équipe sympathique, n'aurait pu être effectué sans l'aide de chacun de ses membres. Je les en remercie et tout particulièrement :

Messieurs Maurice FALEMPIN et Ghislain HAUDECOEUR pour le dévouement et leur collaboration efficace.

Mademoiselle Josiane BREBION et Madame Christine LECROART pour leur participation active à la préparation des figures.

Messieurs Georges ATTAGNANT et René COISNE pour leurs réalisations techniques.

Mademoiselle Brigitte COUSIN qui, en dehors de ses heures de travail, a assuré avec beaucoup de gentillesse la dactylographie de ce Mémoire.

SOMMATRE

Pages

1

29

II -	- HI	STORIQUE	6
	8000-800 ⁰⁰⁸		
	1.	Rôle du potentiel d'action dans le déclen-	
		chement de la contraction	7
	2.	Force contractile	13
		2-1. Rôle du Ca ⁺⁺	14
		2-2. Notion d'état actif	17
	3.	Différences entre la réponse des fibres	
		d'Invertébrés et celle des fibres de Vertébrés	19
		3-1. Rôle de l'état actif et de la	
		dépolarisation	20
		3-2. Rôle du système membranaire	21
	4.	Rôle des agents chimiques et physiques sur	0.0
		la contraction	22
		4-1. Rôle du Na ⁺	22
		4-2. Rôle du Ca ⁺⁺	23
		4-3. Rôle du Mg ⁺⁺	25
		4-4. Rôle de l'hypertonie	25
ΥTT	1	TECHNIQUES	28
م بن م <i>و</i>			

A - Animaux d'expérience 29

B - Préparation

1 - INTRODUCTION

	C - Techniques d'enregistrement	31
	D - Solutions	35
IV -	RESULTATS	51
	A - Conditions normales	52
	1. Caractéristiques des réponses de la fibre	
	soumise à des impulsions électriques de durée	
	constante et d'intensité variable	53
	2. Caractéristiques des réponses de la fibre	
	soumise à des impulsions électriques d'intensité	
	constante et de durée variable	56
	3. Phénomène d'escalier	60
	4. Résumé et conclusion	60
	B - Conditions anormales	64
	1. Rôle des ions chlore	66
	1-1. Milieu pauvre en Cl-	66
	1-2. Milieu enrichi en Cl-	68
	1-3. Résumé et conclusion	71
	2. Rôle des ions sodium	75
	2-1 . Absence de Na ⁺ dans le milieu externe	75
	2-2. Résumé et conclusion	77
	3. Rôle des ions calcium	79
	3-1. Rôle du Ca ⁺⁺ , les autres ions étant	
	présents à leur concentration normale	79

	3-2.	Rôle de milieux hypertoniques (isotoniques	
		des milieux hypercalciques	85
	3-3.	Résumé et conclusion : action du Ca++	
		seul (les autres ions étant à leur	
		concentration normale dans le milieu)	91
	3-4.	Rôle des ions Ca^{++} en milieu sans Na^+	95
	3-5.	Rôle des ions Ca ⁺⁺ en milieux pauvres	
		en Mg ⁺⁺	103
4.	Rôle de	es ions Mg^{++}	114
	4-1.	Effets des milieux hypo- et hyper-	
		magnésiens	114
	4-2.	Résumé et conclusion du rôle des ions	
		Mg ⁺⁺	116
5.	Rechero	che d'une interférence entre Mg ⁺⁺	
	et Ca ⁺⁺	pour le développement d'une tension	
	maximal	e	122
	5-1.	Influence du rapport Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺ sur	
		l'amplitude de la contraction	122
	5-2.	Résumé et conclusion de l'influence	
		du rapport Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺ sur l'amplitude	
		de la contraction	131

v	e r5	- DISCUSSION-CONCLUSION GENERALE					132	
		1.	Fibres	pla c ées	en	conditions	normales	133
		2.	Fibres	placées	en	conditions	anormales	135

VI - RESUME

141

VII - BIBLIOGRAPHIE

P	a	£.	e	S
	•••		~	***

Tableau	1 - Composition des milieux hypocalciques utilisés	38
Tableau	2 - Composition des milieux hypercalciques utilisés	39
Tableau	3 - Composition des milieux hypertoniques utilisés	40
Tableau	4 - Composition des milieux hypocalciques utilisés, en absence de Na ⁺	42
Tableau	5 - Composition des milieux hypercalciques utilisés, en absence de Na ⁺	43
Tableau	6 - Composition des milieux hypertoniques utilisés, en absence de Na ⁺	44
Tableau	7 - Composition des milieux hypocalciques et hypomagnésiens utilisés	46
Tableau	8 - Composition des milieux hypercalciques et hypomagnésiens utilisés	47
Tableau	9 - Composition des milieux hypomagnésiens utilisés	48
Tableau	10 - Composition des milieux hypermagnésiens utilisés	49
Tableau	11 - Composition de divers milieux, dont la concentration en Na ⁺ , K ⁺ et Cl ⁻ est	
	maintenue constante et normale et, ou varient simultanément les concentrations en Ca ⁺⁺ et en Mg ⁺⁺	50

90

Tableau 12 - Variations de tension sous l'action de milieux hypercalciques et de milieux rendus hypertoniques par apport de saccharose

Tableau 13 - Effets de l'hypertonie due aux milieux hypermagnésiens

Tableau 14 - Variations de la tension exprimée en p.100, en fonction de la valeur du rapport Ca^{++}/Mg^{++}

123

120

I - INTRODUCTION

On sait que la contraction des fibres musculaires striées résulte d'une dépolarisation membranaire de surface se propageant en profondeur grâce au système tubulaire transverse permettant ainsi l'activation du mécanisme contractile, c'est-à-dire le raccourcissement myofibrillaire consistant en un glissement des filaments d'actine et de myosine. L'amplitude de la contraction ainsi que son décours dépendent de l'ampleur, de la vitesse et de la durée de la dépolarisation membranaire transitoire que constitue le potentiel d'action (P.A.).

Les fibres de crustacés ont, en général, une structure membranaire très complexe. En effet, chez la fibre de crabe, il existe deux systèmes tubulaires transverses dénommés par PEACHEY (1967) : système T_Z et système T_{AI} du fait de leur position. Selon cet auteur, le système T_Z , correspondant à l'invagination de la membrane sarcolemmique au niveau de chaque strie Z, de structure très complexe, n'aurait qu'un rôle de soutien ; quant au système T_{AI} , correspondant également à l'invagination de la membrane sarcolemmique au niveau des jonctions bande A - bande I, il aurait du fait de son aspect, de sa disposition et de son rapport de contiguïté avec le reticulum sarcoplasmique, un rôle équivalent au système T_Z de la grenouille, soit un rôle dans le couplage excitation-contraction. Ainsi, la dépolarisation de surface à l'origine de la contraction se propagerait

en profondeur par la voie du système T_{AI} permettant ainsi l'excitation du reticulum endoplasmique et par là même, la libération du calcium interne des sacs latéraux de ce reticulum. L'augmentation très locale de la concentration du Ca⁺⁺ intracellulaire, serait à l'origine du couplage mécanochimique. En effet, l'augmentation de la concentration interne de calcium permettrait la libération du facteur de relâchement mis en évidence par MARSH (1951, 1952) et BENDALL (1952, 1953), et, de ce fait, favoriserait la libération d'énergie nécessaire à la contraction par hydrolyse de l'ATP. Quant à la phase de relâchement, elle serait due à la reprise active du Ca⁺⁺ interne par le reticulum endoplasmique favorisant ainsi, à nouveau, la liaison du facteur de relâchement avec le complexe actinemyosine-ATP.

Le présent mémoire concerne l'étude de la contraction de la fibre musculaire striée de la patte locomotrice de crabe (Carcinus maenas) soumise à l'action des ions. Cette étude a été effectuée dans le but d'approfondir le mécanisme du couplage excitation-contraction des fibres striées d'Invertébrés car l'on sait que le P.A. de ces fibres est de décours particulier (FATT et KATZ, 1953 ;

FATT et GINSBORG, 1958 ; HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970) et que les mécanismes ioniques, présidant à son déroulement, sont très différents de ceux des fibres de Vertébrés

(FATT et GINSBORG, 1958 ; HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970).

La première partie de ce travail porte sur les caractéristiques de la secousse musculaire de la fibre placée dans les conditions normales, c'est-à-dire immergée dans le liquide physiologique proposé par FATT et KATZ (1953), dans le but de définir la contraction de référence.

La deuxième partie concerne l'étude de l'influence des ions sur l'amplitude de la contraction de façon à montrer la dépendance étroite existant, d'une part, entre l'amplitude de la contraction et la concentration de chaque espèce ionique présente habituellement dans le liquide physiologique et, d'autre part, entre l'amplitude de cette contraction et les caractéristiques du P.A.; celles-ci ayant déjà fait l'objet d'une étude antérieure (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970 ; HAUDECOEUR, 1971 a). Cette deuxième partie concerne notamment la mise en évidence d'un antagonisme Ca⁺⁺ - Mg⁺⁺ se manifestant au niveau membranaire ainsi que le rôle de ces ions au niveau de l'activité ATP asique du complexe actine-myosine.

Enfin, la troisième partie concerne la discussion de nos résultats, en relation avec ceux obtenus antérieurement par différents auteurs sur des préparations sinon identiques, du moins d'ultrastructure très voisine, de façon à essayer de mieux définir les différents processus survenant à la

suite d'une stimulation électrique efficace conduisant à la contraction de la fibre striée d'Invertébrés et plus particulièrement à celle du crabe.

II - HISTORIQUE

- 1. Role du Potentiel d'Action dans le déclenchement de la contraction
- 2. Force contractile

2.1 - Rôle du Ca^{++}

2.2 - Notion d'état actif

 Différences entre la réponse des fibres d'Invertébrés et celles des fibres de Vertébrés.

3.1 - Rôle de l'état actif et de la dépolarisation3.2 - Rôle du système membranaire

4. Rôle des agents chimiques et physiques sur la contraction

4.1 - Rôle du Na⁺
4.2 - Rôle du Ca⁺⁺
4.3 - Rôle du Mg⁺⁺
4.4 - Rôle de l'hypertonie

De nombreux travaux effectués jusqu'à ce jour, concernant les propriétés électriques et mécaniques de la fibre musculaire, ont permis à certains auteurs dont SANDOW (1965, 1970), PEACHEY (1968) et WILKIE (1968) d'en faire la synthèse et ainsi de proposer les mécanismes du couplage excitation-contraction en s'appuyant également sur des études de biochimie et d'ultrastructure.

Le présent travail se rapportant à l'activité mécanique et plus particulièrement à la secousse de la fibre musculaire de crabe, il convient surtout d'exposer les résultats des travaux des auteurs ayant travaillé sur les fibres d'Invertébrés sans oublier, toutefois, de donner l'essentiel concernant les fibres striées de Vertébrés.

1 - ROLE DU POTENTIEL D'ACTION (P.A.) DANS LE DECLENCHEMENT DE LA CONTRACTION

Il convient tout d'abord de rappeler brièvement la théorie ionique qui permet d'expliquer la genèse et le déroulement des P.A.. Cette théorie, élaborée pour la fibre nerveuse par HODGKIN (1951), HODGKIN et HUXLEY (1952 a, b), généralisée aux autres tissus excitables par NOBLE (1962, 1966), rend compte de l'existence du potentiel de membrane (P.M.) au repos (P.R.) et lors de l'activité (P.A.).

La nature de ce P.M. réside dans des mouvements, à travers la membrane, des diverses espèces ioniques se trouvant dans les milieux intra et extracellulaires à différentes concentrations. Ces divers mouvements sont à l'origine d'un potentiel de diffusion dont la valeur dépend d'une part de l'activité des ions dans chaque milieu et d'autre part de la perméabilité de la membrane à chacune des espèces ioniques.

Pour la fibre nerveuse, HOGDKIN et HUXLEY (1952 a, b) montrent que le P.A. est dû à une augmentation initiale de la perméabilité membranaire au sodium (P_{Na}) dominant par sa valeur les autres perméabilités. C'est cette augmentation de P_{Na} qui est responsable de la phase de dépolarisation. La phase de repolarisation, quant à elle, est provoquée par une diminution de cette P_{Na} associée à une augmentation tardive de la perméabilité membranaire aux ions K^+ (P_K).

Pour les fibres striées de Vertébrés, les mêmes phénomènes interviennent, mis à part qu'il apparaît en plus une caractéristique membranaire qui leur est propre, à savoir, la rectification anormale qui traduit une diminution de P_K associée, dans le cas des fibres cardiaques, à un maintien de la conductance sodique (G_{Na}) et à l'apparition de la conductance de la membrane au Ca⁺⁺ (G_{Ca}). Cette rectification anormale explique la grande durée du P.A.

des fibres squelettiques (KATZ, 1949 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1959) et des fibres cardiaques (WEIDMANN, 1955 ; HUTTER et NOBLE, 1960 a, 1961 ; CARMELIET, 1961).

Pour les fibres musculaires striées d'Invertébrés, et plus particulièrement pour la fibre musculaire de crabe, il ressort des travaux de FATT et KATZ (1953), FATT et GINSBORG (1958), HAUDECOEUR et GUILBAULT (1970), HAUDECOEUR (1971 a), qu'il est possible, à l'inverse des fibres de Vertébrés, d'obtenir un P.A. en absence de Na⁺ dans le milieu externe mais que, par contre, en absence de NaCl (isotonie respectée), le P.A. ne peut être déclenché ; ceci traduit le fait que le Na⁺ n'est pas indispensable alors que le Cl⁻ est nécessaire (FATT et GINSBORG, 1958 ; HAUDECOEUR, 1971 a). En outre, ces derniers auteurs montrent que le Ca⁺⁺ est indispensable pour l'initiation du P.A.. HAUDECOEUR (1971 a) montre, de plus, sur la fibre musculaire striée de crabe. que la phase ascendante du P.A. serait due à la diminution de la conductance membranaire au Cl $^{-}$ (G_{Cl}) associée à l'apparition de celle au Ca⁺⁺.

Divers schémas électriques, à la suite des travaux exposés ci-dessus, ont pu être ainsi proposés, notamment par HODGKIN et HUXLEY (1952 c) pour la fibre nerveuse (Figure 1) et par EISENBERG (1967) pour la fibre musculaire de crabe (Figure 2).



Figure 1 : Schéma électrique de la membrane excitable.

(D'après HOGDKIN et HUXLEY, 1952 c)

$$\begin{split} & E_{Na} : \text{pile à l'ion Na}^+ \\ & E_K : \text{pile à l'ion K}^+ \\ & E_F : \text{pile aux autres ions} \\ & Cm : \text{capacité membranaire} \\ & RmNa : résistance membranaire variable aux ions Na}^+ \\ & R_mK : résistance membranaire variable aux ions K}^+ \\ & R_mF : résistance membranaire variable aux autres ions \\ & R_e : résistance du milieu externe \\ & R_i : résistance du milieu interne \end{split}$$



Figure 2 : Schéma électrique de la membrane de la fibre musculaire.

(D'après EISENBERG, 1967)

Deux éléments de la fibre sont considérés comme étant en parallèle : le sarcolemme et les sarcotubules.

Sarcolemme : R_b, résistance externe

 R_m , résistance sarcolemmique transversale C_m , capacité de la membrane sarcolemmique

Sarcotubules : R_e, résistance tubulaire axiale R_{ce}, résistance transversale de la membrane tubulaire

Ce, capacité de la membrane sarcotubulair



Le potentiel d'action déclenché par une dépolarisation suffisante de la surface membranaire est conduit le long de la fibre, non pas selon un processus régénératif comme dans le cas de la fibre musculaire de Vertébrés, mais selon un processus électrotonique (WIERSMA, 1941 ; KATZ et KÜFFLER, 1946 ; FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971 a).

La propagation du P.A. en profondeur va permettre l'excitation du mécanisme contractile car HUXLEY (1956) et HUXLEY et TAYLOR (1958) montrent que l'application d'un courant sous liminaire dépolarisant porté par une microélectrode au niveau de la strie Z, sur la fibre de grenouille, et au niveau de la jonction A-I, sur la fibre de crabe, déclenche une contraction très localisée. Ainsi, le système tubulaire transverse est nécessaire au couplage excitation-contraction, ce qu'ont confirmé, en 1967, GAGE et EISENBERG. C'est ce système T qui serait le siège des propriétés de rectification de la fibre musculaire squelettique (ILDEFONSE, PAGER et ROUGIER, 1969 a, b). Ainsi, la surface dépolarisée produit un signal qui est vraisemblablement conduit, dans les tubules du système transverse (S.T.) comme cela a été signalé par de nombreux auteurs (SANDOW, 1965, 1970), électrotoniquement en ce sens que l'amplitude du signal décroît exponentiellement de la surface vers la profondeur de la cellule. Il est couramment admis à l'heure actuelle que ce signal, au niveau des extrémités

des tubules du S.T., provoque l'excitation du reticulum endoplasmique, lequel libère son Ca⁺⁺. Cette libération, très localisée au niveau des sacs latéraux, est à l'origine de la réaction enzymatique qui provoque l'hydrolyse de l'ATP permettant ainsi le raccourcissement myofibrillaire.

Toutefois EDMAN et GRIEVE (1964) précisent qu'il est difficile d'étudier la relation liant l'amplitude de la réponse mécanique à l'amplitude du P.A. et par là d'entrevoir le rôle du niveau de dépolarisation membranaire dans les mécanismes du couplage excitation-contraction lors de la secousse musculaire. Cependant, il est, par contre, possible d'étudier cette relation, lors de l'étude des contractures potassiques, comme le précise SANDOW (1965). Cet auteur pense en effet que les relations électromécaniques décrites au sujet des contractures potassiques sont utilisables dans la détermination du rôle du P.A. dans l'activation de la réponse mécanique.

2 - FORCE CONTRACTILE

L'on sait qu'au niveau des fibres striées d'Invertébrés une relation en S lie la tension développée à l'amplitude de la dépolarisation membranaire provoquée par un excès de K⁺ ou par un courant dépolarisant durable

comme le montrent ORKAND (1962), ZACHAR et ZACHAROVÁ (1966) sur la fibre musculaire d'écrevisse, HOYLE et SMYTH (1963) sur celle de barnacle, FALEMPIN, BRULE et GUILBAULT (1971) sur celle de crabe.

A l'inverse des fibres de Vertébrés répondant selon la loi du "tout ou rien" à la stimulation, EDWARDS, CHICHIBU et HAGIWARA (1964) montrent, sur la fibre de barnacle, que la force contractile est fonction de l'amplitude et de la durée du courant de stimulation.

2.1 - Rôle du Ca⁺⁺

Le fait que la force contractile soit fonction de l'amplitude et de la durée du courant de stimulation chez de nombreux Invertébrés, est lié à l'existence de réponses électriques dépendantes directement de l'intensité et de la durée de ce courant de stimulation (LOCKWOOD, 1968) ce qui provoque des réponses graduées et non de type "tout ou rien" modulant ainsi la libération du Ca⁺⁺ du reticulum et réglant, de ce fait, l'amplitude de la contraction. De plus, chez les Invertébrés, l'augmentation de la concentration en Ca⁺⁺ interne ($[Ca^{++}]_i$) peut également être produite par une entrée de Ca⁺⁺ dans la fibre dont l'importance est

directement liée à l'amplitude du P.A. (FATT et GINSBORG, 1958 ; HAUDECOEUR, 1971 a). Dans de telles conditions, deux possibilités peuvent ainsi être envisagées pour l'activation du mécanisme contractile des fibres d'Invertébrés : d'une part, la libération du Ca⁺⁺ des sacs latéraux du reticulum sarcoplasmique et, d'autre part, celui du Ca⁺⁺ extracellulaire entrant dans la fibre. A l'appui de cette hypothèse, il a été montré que, chez les fibres musculaires de Vertébrés, l'activité électrique cause également un influx de Ca⁺⁺ mis en évidence par BIANCHI et SHANES (1959) sur le couturier de grenouille. Cette entrée de Ca⁺⁺ correspondant à la secousse est 20 fois supérieure à celle d'une période de repos de même durée, elle est cependant trop faible pour activer le mécanisme contractile. En effet, WINEGRAD (1961), FRANK (1961) et SANDOW (1965) indiquent que cette quantité de Ca⁺⁺ entrant est trop faible pour provoquer la plus petite réponse mécanique, 10 fois trop faible selon SANDOW (1965) et que, de plus, elle serait, selon ce dernier auteur, 100 fois trop faible pour permettre une activation maximale du mécanisme. Cependant, si pour les fibres de Vertébrés, cette entrée de Ca⁺⁺, non négligeable lors de l'activité, n'entraîne pas de modifications importantes du P.A., il n'en est pas de même pour les fibres de crustacés, où comme nous l'avons signalé antérieurement, la concentration de Ca⁺⁺ externe ($[Ca^{++}]_{\alpha}$) règle, dans une certaine mesure, l'amplitude du P.A. et surtout la vitesse de la phase de dépolarisation et par là, la libération du

Ca⁺⁺ puisque, sur le diaphragme de rat, LULLMAN et REIS (1967) signalent que l'enrichissement très progressif du milieu extracellulaire en K⁺ permet d'obtenir une dépolarisation importante (la valeur du P.M. passant de - 90 à - 15 mV) sans pour autant déclencher la mise sous tension du muscle. Ainsi, la vitesse de dépolarisation semble donc être un facteur aussi important que le niveau de dépolarisation atteint.

En ce qui concerne le Ca⁺⁺ libéré, diverses hypothèses sont émises quant à son rôle dans le couplage mécano chimique. Selon GERGELY (1959), l'activation du mécanisme contractile par le Ca⁺⁺ résulte d'une inhibition d'un facteur relaxant. MARSH (1951, 1952) postule l'existence d'un tel facteur dans le reticulum et, PARKER et GERGELY (1960, 1961) puis FUCHS et BRIGGS (1963) émettent l'hypothèse de l'inhibition de ce facteur par le Ca⁺⁺. Un tel facteur relaxant dit "facteur de MARSH" est isolé de la fraction microsomale du muscle, dérivant de la membrane du reticulum (PORTZEHL, 1957 ; NAGAI et coll., 1960 ; EBASHI et LIPMAN, 1962 ; MUSCATELLO et coll., 1962). Il est, de plus, montré que le facteur relaxant peut accumuler l'ion Ca++ en présence d'ATP (EBASHI, 1960, 1961 a, b ; HASSELBACH et MAKIMOSE, 1961 ; EBASHI et LIPMANN, 1962). Par contre, selon WEBER, HERZ et REISS (1964), le Ca⁺⁺ activerait la contraction par action directe sur les myofilaments.

De l'ensemble de ces travaux et en accord avec SANDOW (1965, 1970) et récemment avec VASSORT, ROUGIER et FAVELIER (1971), il peut être déduit que la tension, développée par les fibres musculaires, est déterminée par le taux de Ca^{++} intracellulaire et que, dans de telles conditions, le niveau de tension peut être considéré comme une mesure indirecte de la concentration du Ca^{++} activateur.

2.2 - Notion d'état actif

On ne peut cependant oublier que dans le cas d'une stimulation du mécanisme contractile par le P.A., un autre phénomène, défini par HILL (1949), peut intervenir, expliquant dans une certaine mesure l'absence de relation apparente entre l'activité électrique et l'activité mécanique. Ce phénomène correspond à la notion d'état actif. En effet, selon HILL, le muscle, voir la fibre musculaire, est constitué d'éléments élastiques et d'éléments coutractiles. L'état actif définit donc la mise sous tension et la durée de la tension des seuls éléments actifs, à savoir les éléments contractiles. Par contre, les éléments élastiques en série peuvent être considérés comme des éléments perturbateurs, des éléments freinateurs. De ce fait, la présence d'éléments élastiques retarde l'apparition de la tension lors de la secousse et même diminue

son amplitude dans la mesure où l'état actif est peu durable, sa durée et son intensité dépendant par contre étroitement de la durée et de l'amplitude du P.A.. Ainsi, dès 1962, MASHIMA et coll., signalent, sur la fibre de grenouille, que l'ensemble spike-activation est en relation directe avec la durée de l'état actif. De plus, SANDOW (1964) indique que les changements mécaniques dans la secousse du muscle squelettique peuvent trouver leur origine dans les changements de l'état actif, ce qui, de ce fait, montre le rôle indirect du P.A. dans la régulation de l'activité mécanique puisque de l'activité électrique dépend l'amplitude et la durée de l'état actif. L'abaissement du seuil mécanique (SANDOW, 1965) ou l'augmentation de la durée du P.A. prolonge l'état actif et par là, accroît l'amplitude de la contraction.

Le fait d'obtenir, lors de la secousse, une valeur de tension inférieure à la tension tétanique produite par exemple au niveau de la fibre striée squelettique par une stimulation itérative revient, pour le cas du tétanos, à une élimination des éléments élastiques étirés une fois pour toutes au début de la stimulation. De plus, l'obtention d'une valeur de la tension, lors de la secousse, différente d'un muscle à l'autre, peut dépendre également de la nature des muscles, c'est-à-dire, de leur richesse en composants élastiques, en éléments élastiques.

Dans de telles conditions, une relation étroite liant la durée de l'état actif et son amplitude à celles du P.A., établie par HILL (1949, 1951, 1953) et MACPHERSON et WILKIE (1954), laisse entrevoir la possibilité d'un changement de cet état actif, soit par les ions, soit par les facteurs qui modifient l'amplitude ou bien la durée du P.A., ou bien les deux à la fois (RITCHIE, 1954 ; RITCHIE et WILKIE, 1955 ; EDWARDS et coll., 1956 ; LUBIN, 1957 ; HUTTER et NOBLE, 1960 b).

3 - DIFFERENCES ENTRE LA REPONSE DES FIBRES D'INVERTEBRES ET CELLE DES FIBRES DE VERTEBRES

Les fibres musculaires d'Invertébrés ne répondent pas à une stimulation externe par une réponse d'emblée maximale et ne suivent pas, ainsi, la loi du "tout ou rien". En effet, sur la fibre musculaire d écrevisse, NAGAÏ (1953), SUGI et KOSAKA (1964) obtiennent des réponses graduées. Ces derniers auteurs montrent de plus que, ni les nerfs excitateurs, ni les nerfs inhibiteurs ne peuvent être impliqués dans la tension obtenue consécutivement à des stimulations électriques appliquées directement au muscle : en effet, utilisant la tétrodotoxine qui, selon OGURA et MORI (1963) inhibe la contraction évoquée par stimulation du nerf moteur excitateur et la

picrotoxine ou la guanidine qui, selon GRUNDFEST, REUBEN et RICKLES (1959) inactive spécifiquement les synapses inhibitrices, SUGI et KOSAKA (1964) montrent que l'application de ces substances ne provoque aucun changement dans la forme, l'amplitude et la latence des réponses mécaniques.

DUDEL, MORAD et RÜDEL (1968) observent une autre différence importante entre les muscles de crustacés et les muscles squelettiques de Vertébrés, elle consiste en une lente activation du mécanisme contractile des premiers par rapport aux seconds.

3.1 - Rôle de l'état actif et de la dépolarisation

Cette différence importante précédemment signalée pourrait s'expliquer par une mise sous tension des éléments contractiles, progressive chez les fibres de Crustacés, et rapide chez les fibres de Vertébrés. La vitesse lente d'établissement de l'état actif des fibres d'Invertébrés pourrait, compte tenu de ce qui a été dit précédemment, être liée à la vitesse lente de dépolarisation de leur P.A.. Une autre cause pourrait également résider dans le fait que le P.A. de ces fibres est de faible amplitude comparé à celui des fibres de Vertébrés. Cependant, cette dernière cause ne semble pas pouvoir être retenue dans la mesure où le seuil d'activité mécanique maximale de ces fibres,

correspondant à l'activation maximale du mécanisme contractile, est de - 20 mV (ZACHAR et ZACHAROVÁ, 1966 ; FALEMPIN, BRULE, GUILBAULT, 1971) et, qu'à la pointe du P.A., la valeur du P.M. est de - 10 à - 15 mV (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970). De plus, la cause ne peut être attribuée à une différence du seuil mécanique puisque chez l'écrevisse ce seuil est de - 55 mV (ZACHAR et ZACHAROVA, 1966), chez la grenouille ce seuil est de - 50 mV pour les fibres toniques (KUFFLER et VAUGHAN WILLIAMS, 1953) et de - 55 mV pour les fibres phasiques (HODGKIN et HOROWICZ, 1960) alors que chez le crabe ce seuil pour la fibre striée de la patte locomotrice n'est que de - 28 mV (FALEMPIN, BRULE et GUILBAULT, 1971). Dans de telles conditions, lors du P.A., la variation du potentiel étant de l'ordre de 55 mV (-65 mV à - 10 mV) se trouve être de valeur et de niveau suffisants pour activer le mécanisme contractile.

3.2 - Rôle du système membranaire

La différence importante concernant l'activation du mécanisme contractile pourrait enfin, peut-être, trouver son origine dans des différences de structure des systèmes membranaires et plus particulièrement du système tubulaire transverse. Les fibres musculaires d'Invertébrés possèdent en effet deux systèmes tubulaires transverses distincts comme l'ont montré PEACHEY (1967) sur 1e crabe et BRANDT et

coll. (1965) sur l'écrevisse. Si le système T_Z ne joue qu'un rôle de soutien selon PEACHEY (1967) et un rôle également dans la conduction du P.A. selon HAUDECOEUR (1971 a), il semble qu'il pourrait intervenir du fait de son abondance dans la vitesse d'établissement de la phase de contraction, dans l'activation "apparemment lente" du système contractile. Le système T_Z très ramifié, allant jusqu'à cheminer parallèlement aux myofibrilles pourrait alors constituer un système élastique très complexe, très important et retarder ainsi l'apparition de la tension développée par la fibre. Cette hypothèse s'accorde avec les observations de DUDEL et coll. (1968) qui montrent, chez la fibre d'écrevisse, que les processus internes activant la contraction, déclenchée par une dépolarisation membranaire très courte, ont une durée minimale de 50 ms.

4 - ROLE DES AGENTS CHIMIQUES ET PHYSIQUES SUR LA CONTRACTION

4.1 - Rôle du Na⁺

Comme cela a déjà été signalé, les variations du P.A. entraînent des modifications d'allure de la secousse. Ainsi, FATT et KATZ (1953), HAUDECOEUR (1971 a) montrent qu'une suppression du Na⁺ du milieu externe entraîne une augmentation de l'amplitude du P.A. et par là-même, une

augmentation de l'amplitude de la secousse liée à un accroissement de sa durée, alors que chez la fibre squelettique de grenouille, cette même absence de Na⁺ entraîne, par contre, l'annulation de la réponse mécanique par suppression du P.A.. Dès 1921, DALY et CLARK, sur le coeur de grenouille, observent que la suppression partielle du NaCl de la solution physiologique, l'isotonie étant respectée, entraîne un accroissement de la force contractile identique à celui qu'entraîne un excès de Ca⁺⁺. Ces observations confirmées par NIEDERGERKE et LÜTTGAU (1957) ont conduit ces auteurs à émettre l'hypothèse de l'existence d'un antagonisme Ca⁺⁺ - Na⁺.

4.2 - Rôle du Ca⁺⁺

Le Ca⁺⁺, quant à lui, est responsable et activateur de la contraction. En effet, cet ion s'il modifie la contraction sans toutefois modifier notablement le P.A. des fibres musculaires de Vertébrés, produit, par contre, des modifications d'amplitude des réponses électriques et mécaniques des fibres musculaires d'Invertébrés. La réponse mécanique d'un muscle squelettique est abolie par son immersion prolongée dans une solution sans Ca⁺⁺ (ISHIKO et SATO, 1956 ; FRANK, 1958) ;il en est de même de la réponse électrique de la fibre musculaire d'Invertébré (FATT et GINSBORG, 1958 ; HAUDECOEUR et GUILEAULT 1970). De plus, le manque de Ca⁺⁺ dans le milieu externe

entraîne une chute du P.R. (BULBRING et coll., 1956 ; ISHIKO et SATO, 1957 ; EDMAN et GRIEVE, 1961). Cette chute de P.R. serait, pour JENDEN et REGER (1963), un des facteurs déterminant l'abolition de la réponse mécanique, tandis que, pour d'autres auteurs dont SANDOW (1965), FRANK (1958 et 1960) cette abolition serait due à l'absence d'entrée de Ca⁺⁺ et ainsi, la quantité interne de Ca⁺⁺ serait alors insuffisante pour déclencher le raccourcissement myofibrillaire. Cette hypothèse, la plus couramment admise, se trouve de plus étayée par de nombreuses expériences dont celles de NIEDERGERKE (1956) qui montre, sur la fibre cardiaque de grenouille, que la dépolarisation induite par un excès de K^{\dagger} ne provoque aucune contracture en milieu sans Ca⁺⁺, et celles de HAGIWARA et NAKA (1964) effectuées sur la fibre musculaire de barnacle, qui mentionnent que l'injection d'agents chélateurs, tels l'E.G.T.A., annule le développement de la tension. De même, NIEDERGERKE (1955) indique que l'injection de Ca⁺⁺ au niveau d'une fibre squelettique induit la contraction ; les mêmes résultats sont obtenus par CALDWELL et WALSTER (1963) sur la fibre musculaire de crabe. Dans de telles conditions, le Ca⁺⁺, compte tenu de ce qui précède, semble bien être l'agent activant le mécanisme contractile. Si le Ca⁺⁺ est donc bien l'activateur, il faut qu'il soit

inactivé lors du relâchement ou repris par le reticulum. PODOLSKY et COSTANTIN (1964) montrent l'existence d'un tel mécanisme et admettent avec HASSELBACH (1964) l'existence d'une pompe à calcium située dans le reticulum.

4.3 - Rôle du Mg^{++}

Quant au Mg^{++} , considéré par la plupart des auteurs comme un Ca^{++} faible, il semble que l'on puisse le considérer, tout au moins dans certaines conditions comme compétitif du Ca^{++} . Si FATT et KATZ (1953) signalent qu'il n'a aucun rôle sur l'activité électrique de la fibre musculaire de crabe, par contre JENKINSON (1957), sur la fibre de grenouille, l'envisage comme compétitif du Ca^{++} . De plus, BURGEN (1968) précise que ces deux ions (Ca^{++} et Mg^{++}) peuvent soit se remplacer l'un l'autre, dans ce cas le Mg^{++} agirait comme un Ca^{++} faible, soit être compétitifs et dans ce dernier cas, il y aurait un antagonisme. De plus, WEBER et HERZ (1963) ; WEBER, HERZ et REISS (1969) signalent, en effet, que le Mg^{++} déplace le Ca^{++} des myofibrilles.

4.4 - Rôle de l'hypertonie

Un autre facteur, non plus chimique mais physique, intervient de façon considérable dans le déroulement de l'activité mécanique : il s'agit de la pression osmotique. De nombreux auteurs montrent son rôle important. C'est ainsi que, dès 1902, OVERTON montre qu'une solution hypertonique peut diminuer la tension contractile des fibres musculaires squelettiques. Sur la fibre d'écrevisse, APRIL et coll. (1968) signalent que la tension, induite par l'injection d'une quantité de Ca⁺⁺ à l'intérieur de la fibre, diminue d'amplitude avec l'augmentation de la pression osmotique (π) du milieu extracellulaire. Dans le même sens, ASHLEY et RIGWAY (1970), sur le muscle de barnacle, constatent la suppression de la tension du muscle en doublant la m du milieu (addition de saccharose au liquide physiologique). Ces solutions hypertoniques entraîneraient une dissociation électro-mécanique (HODGKIN et HOROWICZ, 1957) et exerceraient, selon GORDON et GODT (1970), leurs effets sur les protéines contractiles et sur le couplage excitation-contraction. En effet, DYDYNSKA et WILKIE (1963), sur la fibre musculaire de grenouille, GIRARDIER, DREIFUSS, HAENNI et PETROVICI (1964) sur le tissu myocardique de Mammifère et plus récemment MATHIEU (1971) sur la fibre musculaire de crabe, indiquent que l'hypertonie entraîne un gonflement du système tubulaire transverse consécutif à une sortie d'eau. Quant à l'effet de la 🛪 sur les protéines contractiles, il serait imputable à l'augmentation de la force ionique du milieu intracellulaire puisque, sur systèmes isolés de protéines contractiles, HASSELBACH
(1952), WEBER et HERZ (1963), montrent qu'une augmentation de la force ionique diminue l'activité ATP asique de la myosine. Enfin, pour HOMSHER et BRIGGS (1968) l'augmentation de la π du milieu extracellulaire réduirait le taux de Ca⁺⁺ utilisable, libéré par le reticulum sarcoplasmique.

III - TECHNIQUES

A	6.M	ANIMAUX D'EXPERIENCE
В	107 0 1	PREPARATION
С	215-87	TECHNIQUES D'ENREGISTREMENT
D		SOLUTIONS UTILISEES

A - ANIMAUX D'EXPERIENCE

Les expériences sont réalisées sur des fibres musculaires isolées de pattes locomotrices (péréiopode) du crabe enragé : Carcinus maenas. Ces animaux proviennent des côtes de la Mer du Nord et nous sont fournis régulièrement, chaque semaine, par l'Institut de Biologie Marine de Wimereux.

Ces crabes sont conservés en vie, au Laboratoire, dans de l'eau de mer à 12°C constamment renouvelée et filtrée par passage sur une couche de laine de verre, une couche de charbon de bois activé, une couche de sable fin et de graviers.

B - **PREPARATION**

Les fibres servant à l'expérience sont prélevées dans le segment de la patte correspondant au méropodite. Ce dernier, obtenu par section de la patte au niveau du basilischiopodite d'une part et du carpopodite d'autre part, est sectionné selon ses deux arêtes A et B (Figure 3). Les deux parties obtenues sont immédiatement placées dans une cuve à dissection contenant le liquide physiologique dont la composition est voisine de celle du milieu extracellulaire.



Figure 3 : Péréiopode P₂ de Carcinus maenas

Schéma indiquant la musculature du Périopode. La section de la carapace est effectuée selon les arêtes A et B. Les fibres musculaires se présentent alors disposées paralèllement et insérées à leurs extrémités sur la carapace d'une part et l'axostyle d'autre part.





La préparation, fibre isolée (Figure 4), dont le diamètre varie de 50 à 350 μ et la longueur de 3 à 12 mm, est obtenue par section, sous contrôle binoculaire, des fibres voisines. L'obtention de la préparation est souvent délicate car les fibres sont étroitement accolées entre elles et, dans ce cas, il est assez difficile de ne pas provoquer de petites lésions membranaires. Ces dernières apparaissent très vite sous l'aspect de zones blanches, sous contrôle optique, permettant d'éliminer sans difficultés les préparations rendues, de ce fait, non utilisables pour l'expérimentation.

La dissection ainsi que l'expérience sont effectuées à une température de 20°C ; celle-ci étant maintenue constante, par immersion de la préparation dans le liquide physiologique constamment renouvelé grâce à un écoulement permanent dont le débit de 5 ml/mn assure simultanément un maintien rigoureux des concentrations ioniques extracellulaires.

C - TECHNIQUES D'ENREGISTREMENT

L'extrémité de la fibre isolée, correspondant à la partie carapace, est fixée à l'intérieur de la petite cuve d'expérimentation (d'une contenance de 2 cm³ environ) à l'aide de petites mâchoires en plexiglas (Figure 5). L'autre extr**é**mité de la fibre (partie axostyle) est reliée, par



Figure 4 : Aspect morphologique de la fibre isolée.

- F : fibre musculaire
- a : axostyle
- c : carapace
- e : épingles de fixation





Figure 5 : Montage utilisé pour l'enregistrement des secousses musculaires.

F : fibre en place Ar : arrivée des divers milieux utilisés S : sortie du liquide d'imbibition (reliée à une trompe à vide) ST : stimulation E : électrode d'Argent T : transducteur isométrique (cellule UI5P) AI : alimentation du transducteur A : amplificateur (Unitron` En : enregistreur (Sefram)

33.

81

l'intermédiaire d'un crochet, à la tige d'un transducteur isométrique constitué par une cellule UI 5P. Ce dernier, solidaire du bras d'un micromanipulateur mécanique à embase magnétique (PRIOR) est ainsi amené aisément au niveau de la préparation.

De façon à éliminer une possible cause d'erreur, le transducteur est étalonné avant et après chaque expérience à l'aide de poids de valeur connue. Il faut signaler que ce transducteur est très fiable puisque les droites d'étalonnage sont confondues même après six mois d'utilisation journalière.

De manière à opérer dans des conditions aussi identiques que possible, chaque fibre avant l'expérience est amenée à une longueur l_0 correspondant à la longueur pour laquelle elle exerce la plus faible tension décelable au niveau du transducteur (1 mg).

La préparation est stimulée par l'intermédiaire d'électrodes constituées de plaques d'argent permettant ainsi la stimulation d'ensemble de la fibre. Les impulsions rectangulaires délivrées par un stimulateur dont l'impédance de sortie est de 10 sont réglables en durée et en intensité. L'amplitude ainsi que la durée de la tension de stimulation portée sur la fibre sont mesurées par l'intermédiaire d'un oscillographe cathodique "Téléquipement" branché en dérivation sur les électrodes. Les mécanogrammes (secousses musculaires), déclenchés par la stimulation itérative, sont enregistrés sur papier grâce à un oscillographe à plume "Sefram".

D - SOLUTIONS

1 - MILIEU NORMAL

La solution physiologique permettant la survie satisfaisante des fibres musculaires (12 h) et considérée comme normale, est celle proposée par FATT et KATZ en 1953.

Sa composition est la suivante :

NaCl : 513 mM/l KCl : 12,9 mM/l CaCl₂ : 11,8 mM/l MgCl₂ : 23,6 mM/l CO₃HNa : 2,6 mM/l

Eau désionisée (ρ = 8 à 10 M**A**. cm⁻¹) : q.s.p. 1. litre.

Son pH, de 7.8; sa pression osmotique (π) correspond à celle d'une solution contenant 1163 milliosmoles par litre.

2 - MILIEUX ANORMAUX UTILISES

La concentration considérée comme normale pour chaque espèce ionique présente, dans le milieu physiologique, est arbitrairement choisie égale à 1 pour la simplification des calculs et la présentation ultérieure des résultats.

2.1 - Milieux de concentration anormale en ions Cl-

Deux milieux sont seulement utilisés pour l'étude de l'influence du Cl⁻ sur la contraction. L'un est appauvri en ions Cl⁻ : le chlorure de sodium étant remplacé par du proprionate de Na⁺ (milieu Cl.0,13) ; l'autre est enrichi par addition de chlorhydrate de choline au milieu de référence et la concentration de Cl⁻ est égale à 2 (milieu Cl.2).

Les ions choline et propionate sont choisis car ils sont considérés comme non pénétrants (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; REUBEN, GIRARDIER et GRUNDFEST, 1964 ; GAINER et GRUNDFEST, 1968 ; MOUNIER, 1970 ; HAUDECOEUR, 1971 a).

2.2 - Milieu de concentration anormale en ions Na

Seule l'influence de l'absence de cet ion a été étudiée (milieu Na.0).

2.3 - Milieu de concentration anormale en ions Ca⁺⁺

Pour ces milieux la concentration du Cl⁻ est maintenue rigoureusement constante du fait de l'importance du gradient de concentration sur l'évolution de l'activité électrique (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971 a).

2.3.1 - Milieux hypocalciques (Tableau 1)

Les milieux hypocalciques sont rendus presque isotoniques de la solution de référence par le remplacement mM à mM du chlorure de Ca⁺⁺ manquant par du chlorhydrate de choline. La concentration de chlore externe est donc maintenue constante.

2.3.2 - Milieux hypercalciques (Tableau 2)

L'apport de Ca⁺⁺ est réalisé sous forme de propionate.

2.4 - Milieux de force ionique identique à celle du milieu normal mais hyperosmotique (Tableau 3)

Les solutions sont rendues hypertoniques par addition de saccharose au milieu de référence de façon à les rendre isotoniques des différentes solutions hypercalciques utilisées (Tableau 2).

mosm.	1163	10 17 17	27172	1169	1166
Chlorhydrate choline mM/1		23,6	17,7	11,8	5,9
CO3IINa mM/1	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
MgC12 mM/1	23,6	23,6	23,6	23,6	23,6
CaCl2 mM/1	11,8		2,95	5,9	8,85
KC1 mM/1	12,9	12,9	12,9	12,9	12,9
NaCl mM/1	513	513	513	513	513
Milieux	Ca 1	Ca O	Ca 0,25	Ca 0,5	Ca 0,75

Tableau 1 : Composition des milieux hypocalciques utilisés. 38.

888 995

ilieux	NaCl mM/l	KC1 mM/1	CaCl2 mM/1	MgCl2 mM/l	CO ₃ HNa mM/1	Propionate de Ca++ mM/1	. moom
7-1	513	12,9	11,8	23,6	2,6	0	1163
61	513	12,9	11,8	23,6	2,6	11,8	1198
4	513	12,9	11,8	23,6	2,6	35,4	1269
10	513	12,9	11,8	23,6	2,6	106,2	1431
12	513	12,9	11,8	23,6	2,6	129,8	1552
ю т	513	12,9	11,8	23,6	2,6	165,2	1658
20	513	12,9	11,8	23,6	2,0	224,2	1835

Tableau 2 : Composition des milieux hypercalciques utilisés.

39.

BUS

référence 1 Saccharose mM/1 0 35,4 mosm 1163 1198	Milieu de	Mįlieux	hyperto	niques	
Saccharose mM/1 0 35,4 mosm 1153 1198	référence 1	2	د ۲	Ţ	5
mosm 1153 1198	0 35,4	106,2	318,6	495,6	672,6
	1163 1198	1265	1481	1658	1835

Tableau 3 : Composition des milieux hypertoniques utilisés.

8115

2.5 - Milieux de concentration anormale en Ca^{++} en absence de Na⁺

2.5.1 - Milieux hypocalciques sans Na⁺ (Tableau 4)

Pour la même raison que celle indiquée précédemment, la concentration externe en chlore est maintenue constante par apport de chlorhydrate de choline.

2.5.2 - Milieux hypercalciques sans Na⁺ (Tableau 5)

L'absence de sodium est compensé par l'apport de chlorhydrate de choline et l'excès de Ca^{++} est amené sous forme de propionate.

2.6 - <u>Milieux hypertoniques dépourvus de Na⁺ et de</u> pression osmotique la plus proche possible des milieux hypercalciques sans Na⁺ utilisés (Tableau 6)

L'absence de Na⁺ dans le milieu externe est compensé par la choline et l'hypertonie est réalisée par apport de saccharose (S).

drate ne 1	1163	7 1172	9 1166
a Chlorhy choli mM/	0	530,	518,
co ₃ IIN: mM/1	2,6	2,6	2,6
MgCl2 mM/1	23,6	23,6	23,6
CaCl2 mM/1	11,8	2,95	8, 85
KC1 mM/1	12,9	12,9	12,9
NaC1 mM/1	513	0	0
Milieux	Na 1 Ca 1	Na 0 Ca 0,25	Na 0 Ca 0,75

Tableau 4 : Composition des milieux hypocalciques utilisés en absence de Na⁺. 42.

BUS

	LOC N	LUA				Chlorhydrate	Propionate	
Milieux	1/Wm	I/Wm	mM/1	mgC12 mM/1	cognia mM/1	choline mM/l	de Ca++ mM/1	mosm.
Ca 1 Na 1	213	12,9	11,8	23,6	2,6	0	0	1163
Ca 2 Na 0	0	12,9	11,8	23,6	2,6	513	11,8	1198
Ca 4 Na 0	0	12,9	11,8	23,6	2,6	0 71 0	,35,4	1269
Ca 10 Na 0	0	12,9	11,8	23,6	2,6	513	106,2	1481
			والمتعالية و					

Tableau 5 : Composition des milieux hypercalciques utilisés, en absence de Na⁺.



. mosm	1163	1269	1482
Saccharose mM/1	0	106,2	318,6
Chlorhydrate choline mM/1	0	513	513
CO ₃ HNa mM/1	2,6	2,6	2,6
MgCl2 mM/7	23,6	23,6	23,6
CaCl2 mM/1	11,8	11,8	11,8
KC1 mM/1	12, 9	12,9	12,9
NaCl mM/l	513	0	0
Milieux	Na.1 Ca.1	Ne.0 Ca.1 S.1	Na.0 Ca.1 S.2

Tableau $\underline{6}$: Composition des milieux hypertoniques utilisés, en absence de Na⁺.

BUS

2.7 - Milieux de concentration anormale en Ca^{++} et appauvris en Mg^{++}

2.7.1 - <u>Milieux hypocalciques appauvris en Mg</u>⁺⁺ (Tableau 7)

2.7.2 - <u>Milieux hypercalciques appauvris en Mg</u>⁺⁺ (Tableau 8)

Le Ca⁺⁺ est amené soit sous forme de chlorure, soit sous forme de propionate.

2.8 - Milieux de concentration anormale en Mg⁺⁺

2.8.1 - Milieux hypomagnésiens (Tableau 9)

2.8.2 - Milieux hypermagnésiens (Tableau 10)

L'apport de magnésium est réalisé sous forme de sulfate. Le SO_4^{--} est là encore généralement considéré comme non pénétrant.

2.9 - Milieux de concentration anormale en Ca⁺⁺ et en Mg⁺⁺ (Tableau 11)

. msom	1163	1195	1193	1190	1187
Propionate de Ca ⁺⁺ mM/1	0	0	0	0	0
Chlorhydrate choline mM/1	0	63,72	60,18	54,28	48,38
CO3HNa mM/1	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
MgCl ₂ mM/I	23,6	2,36	2,36	2,36	2,36
CaCl2 mM/1	11,8	1,18	2,95	5,9	8,85
KC1 mM/1	12,9	12,9	12,9	12,9	12,9
NaC1 mM/1	513	513	513	513	513
Milieux	8 1 Ca 1	g 0,1 Ca 0,1	g 0,1 Ca 0,25	g 0,1 Ca 0,5	g 0,1 Ca 0,75

Tableau 7 : Composition de milieux hypocalciques et hypomagnésiens utilisés.

BUS

Milieux	NaCl mM/1	KC1 mM/1	$c_{aCl_2} m_{M/1}$	MgC12 mM/1	$co_{3HNa} mM/1$	Chlorhydrate choline mM/1	Propionate de Ca ⁺⁺ mM/1	. mosm
Mg 1 Ca 1	513	12,9	11,8	23,6	2,6	0	0	1163
Mg 0,1 Ca 1	513	12,9	11,8	2,36	2,6	42,48	0	1184
Mg 0,1 Ca 2	513	12,9	23,6	2,36	2,6	18,88	0	1172
Mg 0,1 Ca 5	513	12,9	11,8	2,36	2,6	42,48	47,2	1326
							<u> </u>	

Tableau 8: Composition des milieux hypercalciques ethypomagnésiens utilisés.

						·
1175	23,6	2,6	11,8	11,8	12,9	513
1180	35,4	2,6	5,9	11,8	12,9	513
1182	38,7	2,6	4,25	11,8	12,9	513
1184	42,48	2,6	2,36	11,8	12,9	513
1186	47,2	2,6	0	11,8	12,9	513
1163	Q	2,6	23,6	11,8	12,9	513
mosm	Chlorhydrate choline mM/l	CO ₃ HN a mM∕1	MgCl2 mM/l	caCl2 mM/12	KC1 mM/1	NaCl mM/1

Tableau 9: Composition des milieux hypomagnésiensutilisés.

888 auc

Milieux	NaCl mM/1	KC1 mm/1	CaCl2 mm/12	MgC12	co ₃ IINa	MgSOA	
	* /2011	T /WT	7 /721711		★ /5410	T / MiTH	
Mg 1	513	12,9	11,8	23,6	2,6	0	1163
Mg 2	513	12,9	11,8	23,6	2,6	23,6	1210
Mg ⁵	513	12,9	11,8	23,6	2,6	94,4	1257

Tableau 10 : Composition des milieux hypermagnésiens

utilisés.

BUS

: Composition de divers milieux, dont la concentration en Na^+ , K+ et Cl⁻ est maintenue constante et normale et, où varient simultanément les concentrations en Ca^{++} et en $\text{Mg}^{++}.$ Tableau 11

> dUS LILLE

IV - RESULTATS

A - CONDITIONS NORMALES

- Caractéristiques des réponses de la fibre soumise à des impulsions électriques de durée constante et d'intensité variable.
- 2. Caractéristiques des réponses de la fibre soumise à des impulsions électriques d'intensité constante et de durée variable.
- 3. Phénomène d'escalier.
- 4. Résumé et conclusion.

Dans les conditions normales, la fibre, placée dans la cuve, baigne dans le liquide physiologique de référence qui, comme nous l'avons déjà signalé, grâce à son débit de 50 ml/mn, assure un maintien des concentrations ioniques extracellulaires.

De façon à ne pas provoquer un phénomène de fatigue de la fibre dû à sa stimulation itérative et de façon à pouvoir ainsi étudier son comportement sous l'action des ions, elle n'est stimulée qu'à une fréquence de 0,1 cycle/s pendant des périodes de 2 à3 mn séparées par des intervalles de temps de 5 mn.

1 - <u>CARACTERISTIQUES DES REPONSES DE LA FIBRE SOUMISE A DES</u> <u>IMPULSIONS ELECTRIQUES DE DUREE CONSTANTE ET D'INTENSITE</u> VARIABLE

Les réponses sont obtenues à partir d'impulsions d'une durée de 10 ms. Le choix de cette valeur réside dans le fait qu'elle est suffisante pour obtenir une réponse maximale et, que de plus, comme nous allons le préciser ultérieurement, elle n'entraîne pas de lésions irréversibles de la membrane excitable.

Les graphiques représentés à la figure 6 montrent que la réponse varie en fonction de la tension de stimulation et qu'ainsi, la fibre ne semble pas répondre à la loi du "tout ou rien" car cette augmentation n'est pas assimilable au "phénomène d'escalier" comme cela va être précisé.

L'allure générale de la courbe, reliant la tension développée par la fibre à la tension de stimulation, présente des différences suivant les fibres interrogées comme l'attestent entre autres les deux exemples présentés à la figure 6, Les courbes possédent néanmoins un maximum correspondant à un plateau atteint pour une tension de stimulation plus ou moins importante. Il faut, d'ailleurs, à ce propos faire remarquer que des stimulations de valeurs supérieures à celle nécessaire pour atteindre l'amplitude maximale de la contraction permettent de classer les fibres en trois catégories. En effet, pour une augmentation de tension d'une dizaine de volts le premier groupe de fibres répond par une amplitude de mécanogramme identique, le deuxième par une diminution réversible de l'amplitude à condition toutefois que l'augmentation soit modérée et, enfin, le troisième par une augmentation très importante conduisant à une lésion membranaire irréversible. D'ailleurs, dans ce dernier groupe, l'amplitude de la secousse double en général pour un accroissement de quelques volts de la tension de stimulation. Les fibres répondant selon les modalités correspondantes à ce dernier groupe sont cependant





<u>Figure 6</u> : Tension développée par les fibres en fonction de la tension de stimulation, la durée des impulsions étant maintenue constante (10 ms).

> Chaque tracé schématise la variation pour une fibre. Chaque trait vertical traduit l'amplitude de la secousse musculaire.

55,

en nombre très restreint par rapport à celles répondant aux modalités correspondantes aux deux premiers groupes.

Il faut également souligner que le seuil d'excitabilité varie beaucoup d'une fibre à l'autre, mais, plus précisément des fibres d'un crabe à celles d'un autre.

Enfin, il faut signaler que la fibre présente une section généralement circulaire, parfois elliptique et même quelquefois subrectangulaire, si bien que la traduction de la variation d'amplitude, exprimée en g/cm^2 , de la contraction en fonction de la tension de stimulation entraîne des erreurs. De ce fait, lors de l'étude de l'influence des ions sur l'amplitude de la contraction, nous avons préféré exprimer la tension non pas en valeur absolue c'est-à-dire en g ou kg/cm² mais en p.100 (100 p.100 correspondant à la tension de référence).

2 - <u>CARACTERISTIQUES DES REPONSES DE LA FIBRE SOUMISE</u> <u>A DES IMPULSIONS ELECTRIQUES D'INTENSITE CONSTANTE</u> ET DE DUREE VARIABLE

Dans ce cas, la valeur de l'intensité constante choisie est celle permettant d'atteindre le maximum d'amplitude de la contraction pour une durée de 10 ms.

Là encore, des réponses graduées s'observent, d'autant plus amples que la durée est plus grande. Les courbes traduisant cette variation de tension mécanique en fonction de la durée de la stimulation, dont la figure 7 donne des exemples, présentent un maximum rapidement atteint. Faisant suite à ce maximum, peut survenir une chute de la tension, d'autant plus importante que la durée de stimulation est plus grande et qui, de reversible devient irréversible au delà d'une certaine durée.

La durée du mécanogramme dépend de la durée de l'impulsion électrique. En effet, la figure 8-1 et 2 montre que les réponses maximales, obtenues dans les conditions précédentes, sont effectivement d'autant plus prolongées que la durée de la stimulation est plus longue. Il faut également faire remarquer que, dans ces conditions, l'augmentation de la durée de l'impulsion, au-delà d'un certain niveau, ne conduit plus à une augmentation de l'amplitude de la contraction.

Le temps minimal permettant d'obtenir l'amplitude maximale de la contraction, comme le montrent les tracés de la figure 8-1 et 2, est de 60 ms car, avec des impulsions plus durables, la tension s'établit de manière identique, mais elle est seulement maintenue plus longtemps.



Figure 7 :

Tension développée par la fibre en fonction de la durée de l'impulsion électrique de stimulation.

La tension de stimulation correspond à celle permettant le développement d'une tension en g/cm^2 maximale pour une durée de 10 ms.

Chaque tracé correspond à la réponse d'une fibre.



<u>Figure 8-1</u> : Mécanogrammes obtenus sur une fibre, pour une tension de stimulation constante et pour une durée croissante de 10 à 100 ms.

Les échelles verticales correspondent dans tous les cas à 500 g/cm².





<u>Figure 8-2</u> : Mécanogrammes obtenus sur une autre fibre, pour une tension de stimulation constante et pour une durée croissante de 10 à 100 ms.

> Les échelles verticales correspondent respectivement pour le premier mécanogramme à 100 g/cm² et pour tous les autres à 200 g/cm².

Enfin, il faut préciser, comme l'atteste cette figure 8, que la durée de la phase de relâchement est fonction de la durée de l'impulsion dans la mesure toutefois où celleci est grande.

3 - PHENOMENE "D'ESCALIER "

Ce phénomène traduit au niveau des fibres musculaires une certaine perte de l'aptitude de ces fibres à se contracter c'est-à-dire qu'après une stimulation itérative, un arrêt entraîne lors de la reprise de cette stimulation, les paramètres étant inchangés, une amplitude de contraction plus faible et qui croît progressivement pour atteindre l'amplitude initiale.

La courbe de la figure 9 donne un exemple de ce phénomène. Il faut remarquer qu'il est relativement faible comparé à celui mis en évidence au niveau des fibres musculaires de Vertébrés et que, d'ailleurs, certaines fibres ne le présentent pas.

4 - RESUME ET CONCLUSION

Les résultats présentés ci-dessus indiquent que la réponse mécanique, induite par l'impulsion électrique, présente certains aspects : la réponse est graduée et, en cela





ne d'escalier observé sur une fibre.

La tension de départ exprimée en g/cm^2 correspond à la tension maximale développée pour une durée de l'impulsion électrique égale à 10 ms.


ressemble à celle observée par NAGAI (1953), SUGI et KOSAKA (1964) sur la fibre musculaire d'écrevisse ; de plus, elle varie d'un animal à l'autre et, même d'une fibre à l'autre d'un même animal.

L'absence de réponse par "tout ou rien" peut, semble-t-il, être expliquée en tenant compte de la propagation du P.A. de cette fibre. En effet, FATT et KATZ (1953), HAUDECOEUR et GUILBAULT (1970) et HAUDECOEUR (1971 a) observent que le P.A., déclenché par une stimulation très localisée (microélectrode intracellulaire), décroît exponentiellement d'amplitude au fur et à mesure que l'électrode d'enregistrement s'éloigne de celle de stimulation. Cependant, le fait de stimuler la fibre dans son ensemble, comme celà a été précisé au chapitre des techniques, aboutissant à une dépolarisation uniforme de la membrane sarcolemmique, comme l'ont vérifiée SUGI et KOSAKA (1964) sur l'écrevisse, devrait conduire à une réponse non graduée. L'existence de cette réponse pourrait trouver son origine dans le processus de dépolarisation de la membrane du système tubulaire transverse à l'origine du raccourcissement myofibrillaire. En effet, une intensité relativement faible pourrait ne dépolariser que la membrane sarcolemmique et ainsi n'activerait pas le système tubulaire transverse responsable selon MOUNIER (1970) et HAUDECOEUR (1971 a), de la genèse du P.A. Dans de telles conditions, du fait de l'abondance

et de la longueur importante du système tubulaire transverse, la dépolarisation à l'extrêmité de ce système, propagée électrotoniquement à partir de la surface, pourrait engendrer une contraction dont l'amplitude serait réglée par l'amplitude de cette dépolarisation électrique. Une fois par contre le système tubulaire activé, la réponse pourrait être maximale ce que semblent montrer les courbes présentées.

¥

Les conclusions et hypothèses, suggérées ci-dessus, nous inclinent, compte tenu de la nature de la réponse mécanique provoquée par la stimulation de l'ensemble de la fibre, à considérer comme mécanogramme de référence celui provoqué par une impulsion électrique d'une durée de 10 ms et d'une intensité permettant d'atteindre l'amplitude maximale.

B - CONDITIONS ANORMALES

1. Rôle des ions chlore

2. Rôle des ions sodium

3. Rôle des ions calcium

3.1 - Rôle des ions Ca⁺⁺, les autres ions étant
à la concentration normale

3.2 - Rôle des milieux hypertoniques (isotoniques des milieux hypercalciques utilisés)

3.3 - Résumé et conclusion : action du Ca⁺⁺

3.4 - Rôle des ions Ca^{++} en milieu sans Na^{+}

3.5 - Rôle des ions Ca^{++} en milieux pauvres en Mg^{++}

4. Rôle des ions Mg^{++}

5. Recherche d'une interférence entre Ca++ et Mg++

Comme cela a été précisé antérieurement, nous nous limiterons pour l'étude de l'action de ces milieux anormaux, sur la fibre musculaire de Carcinus maenas, aux variations de tension de celle-ci, provoquées par des modifications de la tension de stimulation, sa durée étant constante : 10 ms ; la fréquence de stimulation étant toujours la même : 0,1 cycle/s.

L'étude des effets de chaque milieu anormal sur l'amplitude de la contraction sera exprimée en p.100 de la tension mécanique correspondant à celle enregistrée dans les conditions normales, c'est-à-dire de la tension de référence définie ci-dessus, car il a déjà été précisé que les tensions enregistrées sont très différentes d'une fibre à l'autre.

De plus, l'action de chaque milieu anormal s'exerce pendant 5 mn après l'enregistrement dans les conditions normales de la dernière secousse correspondant à l'amplitude maximale.

Enfin, de façon à bien mettre en évidence les effets de chaque milieu sur l'amplitude de la contraction, celui-ci est testé sur 8 fibres au minimum de manière à pouvoir calculer la moyenne et la limite de confiance à .05.

L'étude de l'action des ions porte tout d'abord sur celle des ions monovalents chlore (Cl-) et sodium (Na⁺) et ensuite sur celle des ions divalents calcium (Ca⁺⁺) et magnésium (Mg⁺⁺).

1 - ROLE DES IONS CHLORE

1.1 - Milieu pauvre en Cl-

Le remplacement du chlorure de sodium par le propionate de sodium de la solution physiologique de référence, aboutissant à une diminution de 87 p.100 de la concentration en chlore externe ([C1]], provoque, aprés 5 mn, la disparition quasi totale de la contraction comme le montre la courbe de variations de la tension maximale en fonction du temps (Figure 10). Cette disparition presque totale de la réponse se situe généralement 5 mn après le début de l'action du milieu très appauvri en ions Cl- ; ce temps, nécessaire pour provoquer l'absence de réponse de la fibre, correspond au temps nécessaire pour obtenir, comme l'a montré HAUDECOEUR (1971 a), la disparition du P.A. Cependant, sur 10 fibres testées, une seule présentait encore, après 5 mn d'action du milieu, 50 p.100 de l'amplitude maximale de référence ; pour cette fibre, il a fallu attendre environ 30 mn pour observer la chute quasi totale. Les effets de ce



Figure 10 : Effet du milieu appauvri en Cl⁻ (Cl.0,13) sur l'évolution de la tension en fonction du temps.

> La courbe A traduit la chute de tension, en fonction du temps. La tension de départ 100 p.100 est celle correspondant au maximum obtenu en milieu normal.

La courbe B traduit la réversibilité du phénomène lors du retour aux conditions initiales.

milieu ne sont pas, de plus, réversibles car la tendance au retour à l'amplitude de référence se fait très progressivement. La traduction de cette réversibilité, par la courbe B de la figure 10, correspond d'ailleurs au meilleur cas observé ; généralement, la récupération est de l'ordre de 50 p.100.

1.2 - Milieu enrichi en Cl

Tout comme le milieu appauvri en Cl⁻, le milieu enrichi en ces ions conduit à la disparition de la secousse ; l'arrêt de l'activité mécanique survient rapidement comme le montre la courbe A de la figure 11. Le retour aux conditions initiales (courbe B) conduit à une reprise également plus rapide de l'activité mécanique, mais, là encore, la récupération de la fibre est incomplète ; l'exemple de la figure correspond, comme précédemment, au meilleur cas.

L'action du milieu enrichi en ions Cl⁻, produisant les effets décrits ci-dessus, correspond en fait à l'action de ces ions mais aussi à celle de la pression osmotique puisque l'osmolarité passe d'une valeur de 1163 mosm à 2189 mosm. Ainsi, une partie des effets imputables à l'excès de Cl⁻ du milieu revient en fait à la π . Les courbes de la figure 12 montrent d'ailleurs, qu'effectivement la majeure partie des effets du milieu enrichi en ions Cl⁻



Figure 11 : Effet du milieu enrichi en Cl- (Cl.2) sur l'évolution de la tension en fonction du temps.

> La courbe A traduit la chute de tension, en fonction du temps. La tension initiale 100 p.100 correspond à celle obtenue en milieu normál.

La courbe B traduit la réversibilité du phénomène lors du retour aux conditions initiales.





Figure 12 : Effet du milieu rendu hypertonique par apport de saccharose et isotonique du milieu Cl.2.

> La courbe A montre la chute de la tension développée par la fibre en fonction du temps.

La courbe B traduit la réversibilité du phénomène en fonction du temps.

70.



est en fait imputable à celui produit par l'hypertonie qui en résulte. Les courbes de la figure 12 correspondent en effet aux variations d'amplitude de la contraction obtenues lors du remplacement mosm à mosm du C1⁻ en excès par du saccharose.

1.3 - Résumé et conclusion

Si, au niveau de nombreuses fibres musculaires excitables, en particulier au niveau des fibres squelettiques, la présence du chlore dans le milieu extracellulaire n'est pas indispensable, à l'inverse, nos résultats, concernant l'action de cet ion, montrent qu'il est nécessaire au déclenchement de la secousse musculaire de la fibre de crabe. Cette différence peut s'expliquer dans la mesure où ces ions exercent leur influence au niveau des processus nécessaires au déclenchement du P.A. de la fibre musculaire de crabe et non du P.A. de la fibre squelettique, dans la mesure où l'hypertonie provoque un découplage entre l'excitation et la contraction (HAUDECOEUR et coll., 1970) par gonflement des tubules transverses (GIRARDIER et coll., 1964) et enfin dans la mesure où la fibre musculaire de crabe présente, en plus de la fibre squelettique, un deuxième système tubulaire transverse. En effet, PEACHEY (1967), MATHIEU (1971) décrivent au niveau de la fibre musculaire de crabe deux systèmes tubulaires transverses (Figure 13) :

- l'un que PEACHEY appelle "T_{AI}", système situé au niveau de la jonction bande A-bande I, en relation étroite avec le reticulum longitudinal et ayant une structure, vue au microscope électronique, identique au système T_Z de la fibre squelettique ; pour ces deux raisons PEACHEY (1968) lui attribue le rôle dans le processus du couplage excitationcontraction.

- l'autre système que PEACHEY dénomme $\mathbf{T}_{\mathbf{Z}}$ n'aurait qu'un rôle de soutien du fait de son absence de relation avec le reticulum longitudinal et de son importante dispersion dans la fibre (ce système très long va jusqu'à cheminer parallèlement aux myofibrilles). Cependant, MATHIEU (1971) en observant des coupes au microscope électronique décrit, à une certaine profondeur de la fibre, des contacts diadiques entre l'extrémité de ce système Tz et le reticulum longitudinal, identiques à ceux observés au niveau des jonctions A-I ; ainsi il émet l'hypothèse que l'extrémité du système T_Z serait en fait un tubule de nature T_{AI} et que, dans ce cas, la présence du système T_{AT} en surface serait nécessaire au couplage entre l'excitation et la contraction des myofibrilles proches de la membrane sarcolemmique et que le système ${\rm T}_{\rm Z}$ conduirait la dépolarisation nécessaire à l'excitation de son extrêmité, de nature TAI, dépolarisation nécessaire au couplage entre l'excitation et la contraction des myofibrilles plus éloignées de la membrane sarcolemmique.



SYSTEMES MEMBRANAIRES

Figure 13 : Structure et ultrastructure de la fibre musculaire de Carcinus maenas.

(D'après MATHIEU, 1971)

Le schéma du haut montre un pseudo cloisonnement de la fibre par invagination de la membrane sarcolemmique.

Le schéma du bas concernant l'organisation du sarcomère montre la disposition des myofibrilles et l'existence d'un double système tubulaire transverse.



A l'appui du rôle du système T_Z dans les processus d'excitation, il faut signaler d'une part les travaux de MOUNIER et GUILEAULT (1970) qui montrent parl'action de milieux sans Cl⁻ ou de milieux acides que le système tubulaire transverse serait préférentiellement perméable à l'ion Cl⁻ et serait responsable des phénomènes de rectification (hypothèse confirmée récemment par ORENTLICHER et REUBEN (1971) sur la fibre musculaire d'écrevisse) et il faut signaler d'autre part, les travaux de HAUDECOEUR (1971 a) qui montrent que l'absence de Cl⁻ annule le processus d'excitation et qu'à l'inverse, l'excès de Cl⁻ favorise le déclenchement d'une activité électrique ample et durable.

En prenant en considération l'hypothèse ci-dessus, l'ensemble de nos résultats concernant les effets du Cl⁻ peut être expliqué. En effet, en milieu sans Cl⁻, la stimulation ne pourrait déclencher le P.A. au niveau du système T_Z et, par là, ne pourrait provoquer le raccourcissement des myofilaments profonds ; par contre, les myofilaments proches de la surface membranaire pourraient se raccourcir du fait de la possibilité de dépolarisation des tubules T_{AI} proches de la surface. A l'appui de cette hypothèse, nos résultats montrent qu'en absence de Cl⁻, l'activité mécanique n'est pas totalement annulée et qu'à l'inverse, en milieu riche en Cl⁻, cette activité mécanique est totalement supprimée bien que l'activité électrique soit

plus ample et plus durable (HAUDECOEUR, 1971 a). Ainsi, le gonflement du système T_{AI} y compris les extrémités des tubules T_Z entraînerait, en milieu riche en Cl⁻, un découplage total entre l'excitation et la contraction.

2 - ROLE DES IONS SODIUM

2.1 - Absence de Na⁺ dans le milieu externe

Le remplacement du chlorure de sodium du milieu normal par le chlorhydrate de choline entraîne une augmentation de la tension maximale de référence développée par la fibre. Cet accroissement de tension est plus ou moins important selon les fibres interrogées comme l'illustre la figure 14, donnant deux exemples qui, de plus, montrent également une baisse du seuil d'excitabilité. La valeur moyenne de tension développée est le double de celle de référence. Bien qu'il ne soit pas présenté de tracés, on peut préciser qu'à l'augmentation de tension est associée une prolongation de la durée de la phase de contraction. Ces effets sont totalement et rapidement réversibles.

Ce type de réponse observé en milieu sans Na⁺ fait souvent place à un phénomène de contracture associé à une variation de transparence de la fibre se manifestant sous l'aspect d'une zone blanche qui, après un délai, se



Figure 14 : Exemples d'effets du milieu sans Na⁺.

Le NaCl est remplacé par le chlorhydrate de choline.

1° exemple

courbe	а	:	tension e	en	g/cm^2	en	fonction	de	1a	tension
			de stimul	.at	ion en	ı mi	lieu norm.	nal	(R))
courbe	b	:	tension e	en	g/cm^2	en	fonction	de	la	tension

de stimulation en milieu sans Na^+ (C)

2° exemple

Les courbes c et d correspondent de même aux tensions développées par une autre fibre.

76.

se propage d'une extrêmité à l'autre de la fibre, et disparaît ou reste à ce niveau. La contracture, associée à ce changement d'aspect morphologique de la fibre, est plus ou moins ample, plus ou moins durable selon les fibres (Figure 15). Après le développement de cette contracture, la fibre, répondant à la stimulation, perd partiellement son aptitude à la contraction, les secousses obtenues sont alors inférieures à la normale. Ce deuxième type de réponse de la fibre peut survenir à différents moments de l'action du milieu sans Na^+ ; il peut, en effet, se déclencher sans stimulations préalables dès l'application du milieu, ou à la suite de la première stimulation, ou encore à la suite d'une impulsion de forte intensité.

2.2 - Résumé et conclusion

Le fait d'obtenir une tension plus importante en absence de Na⁺ n'est pas pour surprendre dans la mesure où cette absence de Na⁺ extracellulaire permet le déclenchement d'un P.A. plus ample et plus durable (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971 a). Ainsi, l'accroissement de la tension correspondrait à une prolongation de l'état actif (HILL, 1949) et peut être également à une meilleure synchronisation de la mise sous tension des éléments contractiles.

Il est maintenant bien connu que l'absence de Na⁺ permet une meilleure entrée de Ca⁺⁺ dans la fibre myocardique du fait de l'existence d'un transport commun pour le Na⁺ et



Figure 15 : Types de contracture développée par les fibres à la suite de l'application du milieu où la choline remplace le Na⁺.

78.



et le Ca^{++} (LUTTGAU et NIEDERGERKE, 1958). Ainsi, en absence de Na⁺, le transporteur permet une entrée accrue de Ca^{++} et par là, entraîne un accroissement de l'amplitude de la contraction (SANDOW, 1965).

Quant à la variation de transparence que l'on observe souvent sur la fibre soumise à l'action du milieu sans Na⁺ (celui-ci étant remplacé par la choline), aucune explication, semble-t-il, ne peut être apportée.

3 - ROLE DES IONS CALCIUM

Nous allons successivement examiner l'influence de la variation de la $[Ca^{++}]_e$, les autres ions présents habituellement dans le liquide physiologique étant à une concentration normale, puis l'influence de cette variation de la $[Ca^{++}]_e$ associée à une variation simultanée soit de Na⁺ soit de Mg⁺⁺.

3.1 - Rôle du Ca⁺⁺, les autres ions étant présents à leur concentration normale

3.1.1 - Rôle des milieux sans Ca⁺⁺ ou appauvris en Ca⁺⁺

L'action d'un milieu dépourvu de Ca⁺⁺ entraîne, après 5 mn, la disparition de la contraction ; ce phénomène est lié,

comme dans le cas des autres fibres excitables à l'absence d'entrée du Ca⁺⁺ dans la fibre.

Un appauvrissement en Ca^{++} du milieu extérieur provoque, comme le montrent les courbes de la figure 16, une réduction de l'amplitude de la tension maximale développée par la fibre. Cette diminution est bien sûr d'autant plus importante que la concentration du Ca^{++} extracellulaire est plus faible ; elle est de plus parfaitement reversible dans la mesure où le taux de Ca^{++} n'est pas trop réduit (Figure 16). Les courbes montrent également que cet appauvrissement du Ca^{++} du milieu n'entraîne pas de variations sensibles du seuil d'excitabilité, si ce n'est une très faible augmentation.

3.1.2 - Rôle des milieux enrichis en Ca⁺⁺

L'action des milieux hypercalciques se traduit par des variations positives ou négatives d'amplitude de contraction suivant la teneur en Ca⁺⁺ du milieu. Ainsi, la variation de tension est positive et maximale pour un milieu enrichi 10 fois en Ca⁺⁺ et négative pour un milieu contenant 15 fois la $[Ca^{++}]_e$ normale. La figure 17 donne des exemples de ces variations d'amplitude de la tension pour des milieux: Ca.4, Ca.10, et Ca.15.

Il faut signaler que des augmentations modérées du taux de Ca⁺⁺ entraînent des effets rapidement réversibles





Figure 16-1 : Effets du milieu Ca.0,25

La courbe A traduit l'évolution de la tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Ca.0,25. La courbe C traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).



Figure 16-2 : Effets du milieu Ca.0,75

La courbe A' traduit l'évolution de la tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Ca.0,75. La courbe C' traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales)





Figure 17-1 : Effets du milieu Ca.4

La courbe A traduit la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Ca.4.

La courbe C traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).





Figure 17.2 : Effets du milieu Ca.10

La courbe A' montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Ca.10.

La courbe C' traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).



 $h_{\rm e} \gtrsim h_{\rm e}^{-1}$

Ca.15

Figure 17-3 : Effets du milieu Ca.15

La courbe A" montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Ca.15. (Ca.4) alors que des augmentations plus fortes (Ca.10, par exemple) entraînent des effets qui se maintiennent même 5 mn après le retour aux conditions initiales.

A ces variations d'amplitude de la tension est associé un accroissement du seuil d'excitabilité de la fibre (le seuil double pratiquement pour le milieu Ca.20). Parallèlement la durée de la phase de contraction augmente avec le taux de Ca⁺⁺ externe.

3.1.3 - Résumé des effets de la variation de la teneur en calcium du milieu

L'ensemble des effets de ces milieux hypo- et hypercalciques sur l'amplitude de la contraction est traduit par la courbe de la figure 18 qui montre l'évolution de la tension en p.100 (100 p.100 correspondant à la tension de référence) en fonction de la concentration extracellulaire du Ca⁺⁺. Chaque point représente le pourcentage moyen (8 fibres au minimum) et sa dispersion pour la limite de confiance égale à .05.

Ainsi, la tension croît de Ca.O à Ca.10 pour ensuite diminuer de Ca.10 à Ca.20. Il faut faire remarquer la valeur importante de la limite de confiance correspondant à Ca.12 ; cette valeur importante pourrait être liée à l'existence d'un rapport optimum Ca^{++}/Mg^{++} pour une concentration de Ca^{++} correspondant à Ca.12 comme cela sera précisé ultérieurement.



Figure 18 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium.

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.



La courbe de la figure 19 traduisant la variation de tension en fonction du logarithme décimal de la $[Ca^{++}]_e$ montre que cette tension croît exponentiellement avec cette $[Ca^{++}]_e$ pour des valeurs allant de 0,25 à 10 fois la $[Ca^{++}]_e$ normale.

Quant à la variation négative de tension pour une $[Ca^{++}]$ supérieure à Ca.10, elle peut être en partie imputable à l'augmentation concommittante de la pression osmotique. Dans de telles conditions, de manière à bien faire la part des effets qui reviennent à la variation de la $[Ca^{++}]_e$ et celle de ceux qui reviennent à la variation de m, il convenait d'étudier l'influence de cette pression osmotique sur l'amplitude de la contraction.

3.2 - <u>Rôle de milieux hypertoniques</u> (isotoniques des milieux hypercalciques précédents)

La figure 20 montre, qu'effectivement, des milieux isoosmotiques des milieux hypercalciques utilisés (l'hypertonie étant réalisée par apport convenable de saccharose dans le milieu), exercent des effets très importants sur l'amplitude de la contraction. Cette contraction est d'autant plus déprimée que l'augmentation de la π est plus importante, mis à part le fait que les milieux très faiblement hyperosmotiques (de même π que les milieux Ca.2 et Ca.4) entraînent en moyenne un renforcement de la secousse



Figure 19 : Variations de la tension moyenne maximale exprimée en p.100 de la tension de référence en fonction du logarithme de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium.

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.







Figure 20-1 : Exemples d'effets du milieu rendu hypertonique par addition de saccharose, isoosmotique du milieu Ca.4.

1° exemple :

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu hypertonique (S).

2° exemple :

Les courbes A' et B' correspondent respectivement à une autre fibre placée dans les mêmes conditions.

87.



Figure 20-2 : Exemples d'effets de milieux rendus hypertoniques par addition de saccharose, isoosmotiques des milieux Ca.10 et Ca.15.

1° exemple :

La courbe A" montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu hypertonique (S) isoosmotique de Ca.10.

2° exemple :

La courbe A'" montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B"", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu hypertonique (S) isoosmotique de Ca.15.

car, en effet, si certaines fibres répondent à cette faible hypertonie par une augmentation de la tension, d'autres par contre, comme le montre la figure 20, répondent par une diminution.

Comme l'illustre la figure 21, la variation de tension croît exponentiellement avec l'augmentation de la π jusqu'à une valeur d'osmolarité de l'ordre de 1300 mosm, ce qui correspond à la π d'un milieu Ca.4, puis au-delà de cette valeur, la tension diminue exponentiellement.

Ainsi, la courbe traduisant la variation de tension développée par la fibre sous l'influence de milieux de $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ variées doit tenir compte des effets de la pression osmotique de ces milieux.

Le tableau ci-après (tableau 12) donne donc pour chaque milieu de $[Ca^{++}]$ modifiée, la variation de tension non corrigée, celle correspondant à l'accroissement de Π et enfin la variation corrigée.

.../





Figure 21 : Variations de la tension moyenne maximale exprimée en p.100 de la tension de référence en fonction de la pression osmotique (π) .

Courbe A : tension en fonction de $oldsymbol{\pi}$

Courbe B : tension en fonction du logarithme de π

L'origine des abscisses correspond, pour cette courbe B, à la concentration osmolaire normale (1163 mosm/1).

ca ⁺⁺ e	TT mosm.	Variations de tension résultant de l'action du milieu hypercalcique	Variations de tension résultant de l'action du milieu hypertonique	Variations de tension propre au Ca ⁺⁺ , corrigée de l'effet de π
Ca 1	1163	0 p.100	0 p.100	0 p.100
Ca 2	1198	+ 28 p.100	+ 6 p.100	+ 22 p.100
Ca. 4	1269	+ 81 p.100	+ 9 p.100	+ 72 p.100
Ca 10	1483	+ 114 p.100	- 28 p.100	+ 142 p.100
Ca 15	1658	- 45 p.100	- 51 p.100	+ 6 p.100
Ca 20	1835	- 66 p.100	- 62 p.100	- 4 p.100

hypercalciques et de milieux rendus hypertoniques Tableau 12 : Variations de tension sous l'action de milieux par apport de saccharose.

BUS

Les courbes de la figure 22, montrant l'évolution de la tension développée par la fibre en fonction de la $[Ca^{++}]_e$, indiquent que cette tension ne croît pas linéairement avec le logarithme de la $[Ca^{++}]_e$.

De plus, la figure 22 révèle que la tension ne décroît plus au-delà de Ca.15, puisque celle-ci reste de valeur identique pour les milieux Ca.15 et Ca.20.

> 3.3 - <u>Résumé et conclusion</u> : action du Ca⁺⁺ seul (les autres ions étant à leur concentration normale dans le milieu)

Le calcium se présente bien sûr comme l'ion indispensable au développement de la contraction et de plus, sa concentration dans le milieu extracellulaire règle en partie l'amplitude de la contraction (SANDOW, 1965) tout au moins pour des $[Ca^{++}]_e$ modérées puisque, pour une concentration correspondant au milieu Ca.10, un maximum se manifeste. La diminution de l'amplitude de la contraction observée pour des milieux dont la $[Ca^{++}]_e$ est supérieure à 10 fois la normale et le maintien de cette tension diminuée de Ca.15 à Ca.20 pourrait correspondre à une limite du courant entrant de Ca⁺⁺ ou bien à l'accroissement de la teneur en Ca⁺⁺



Figure 22 : Variations de la tension maximale moyenne exprimée en p.100 de la tension de référence, corrigée de l'hypertonie, en fonction :

> Courbe A, de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium ;

Courbe B : du logarithme de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium.

du milieu intracellulaire qui provoquerait une inhibition partielle de la réaction enzymatique responsable du raccourcissement myofibrillaire.

Quant à l'augmentation du seuil d'excitabilité en fonction de la $[Ca^{++}]_g$, observée également par COSTANTIN (1968) sur la fibre de grenouille, elle pourrait être reliée aux observations de LÜTTGAU (1963) qui montre, sur le même matériel, qu'une plus ample dépolarisation est requise pour déclencher le processus de la contracture potassique quand la $[Ca^{++}]_e$ est accrue.

Enfin, il faut relever l'effet très important de la pression osmotique sur la fibre musculaire striée de crabe : une faible variation de π provoque un effet notable sur la réponse mécanique. Les diminutions de tension, survenant à la suite de l'augmentation importante de π sont conformes à celles observées par GORDON et GODT (1970), sur la fibre musculaire de grenouille, et qui, selon ces auteurs, s'expliqueraient par une rupture physiologique, entre le système T et le reticulum longitudinal, provoquée par le gonflement du système tubulaire transverse.
Cependant, la fibre musculaire de crabe paraît, à notre connaissance, être la seule à répondre à une faible augmentation de π par un net accroissement de la secousse. Si aucune explication de ce phénomène ne paraît pouvoir être donnée, par contre cela pourrait expliquer le fait que les fibres, placées dans les conditions normales, répondent à la stimulation par des contractions d'amplitude très variable.

L'observation mentionnée ci-dessus montrant qu'au delà d'une certaine teneur en Ca⁺⁺ (Ca.10), l'amplitude de la contraction diminue, puis se maintient de Ca.15 à Ca.20, pourrait également correspondre à l'existence de l'antagonisme Ca⁺⁺. Na⁺ mis en évidence pour la première fois en 1957 par NIEDERGERKE et LÜTTGAU sur la fibre myocardique de grenouille et retrouvé quelques années plus tard sur la fibre musculaire squelettique. Dans le but d'essayer de montrer l'existence de cet antagonisme qui s'exerce déjà au niveau de l'activité électrique (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR et GUILEAULT, 1970 ; HAUDECOEUR, 1971 a) est maintenant abordée l'étude des effets de la variation de la teneur en Ca⁺⁺, en absence de Na⁺.

3.4 - Rôle des ions Ca⁺⁺ en milieu sans Na⁺

Nous avons vu antérieurement que l'absence de Na⁺ dans le milieu normal provoque une augmentation moyenne de la tension de 100 p.100 de la réponse normale.

L'action des milieux hypocalciques dépourvus de Na⁺ se traduit (Figure 23) par un accroissement d'amplitude de la secousse à condition toutefois que cette $[Ca^{++}]_e$ ne soit pas trop réduite car, en effet, pour une diminution des 3/4 du Ca⁺⁺ (Ca.0,25), la tension est plus faible, allant jusqu'à l'annulation pour un milieu dépourvu de Ca⁺⁺ et de Na⁺. Ainsi, contrairement à la chute de tension qui se manifeste pour le milieu Ca.0,75 Na.1, une augmentation apparaît en dépit du fait que l'amplitude du P.A. est plus faible (HAUDECOEUR, 1971 a). Quant à la reversibilité des phénomènes mécaniques, elle est plus ou moins rapide, mais toujours incomplète.

L'action des milieux dépourvus de Na⁺ et enrichis en Ca⁺⁺ conduit à une augmentation de l'amplitude de la contraction ; l'augmentation la plus importante correspond au milieu Na.0 Ca.2. Les courbes de la figure 24 correspondent à la tension développée par les fibres soumises aux deux milieux suivants : Na.0 Ca.4 ; Na.0 Ca.10. En ce qui concerne le milieu Na.0 Ca.4, la courbe (A) de la figure 24 montre qu'au seuil d'excitabilité la fibre répond la première



Figure 23-1 : Effets du milieu Na.0 Ca.0,25.

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Na.0 Ca.0,25.

96.





- 5.

Figure 23-2 : Effets du milieu Na.0 Ca.0,75

La courbe A' montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Na.0 Ca.0,75. La courbe C' traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).





1° exemple :

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Na.O Ca.4.

2° exemple :

Les courbes A' et B' correspondent respectivement aux tensions développées par une autre fibre placée dans les mêmes conditions.

97.

1000

BUS



Figure 24-2 : Effets du milieu Na.0 Ca.10.

La courbe A" montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R) et la courbe B", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Na.O Ca.10,

fois par une secousse très ample puis la seconde fois par une réponse beaucoup plus faible ; les courbes A" et B" montrent des réponses correspondant à un autre milieu, celles-ci augmentent avec l'intensité de stimulation.

L'action des milieux dépourvus de sodium et de $[Ca^{++}]_e$ modifiée, sur l'amplitude de la tension, se traduit par une relation linéaire de pente positive pour les milieux hypocalciques et très légèrement hypercalciques et, par contre, par une relation toujours linéaire mais de pente négative pour les milieux plus hypercalciques comme l'indique la courbe de la figure 25.

Là encore, l'accroissement de la $[Ca^{++}]_e$ entraîne une augmentation de la π ; dans de telles conditions, connaissant les effets de cette augmentation de π sur la tension développée par les fibres (B § 3.2), il convenait d'étudier de nouveau ces effets dans le cas des milieux privés de Na⁺.

L'action de ces milieux hypertoniques se traduit par des réponses très variables des différentes fibres interrogées. En effet, la figure 26 révèle que, pour des milieux isoosmotiques de Na.O Ca.4 et de Na.O Ca.10, la dispersion des résultats est très grande, ce qui conduit à ne pouvoir calculer la moyenne et la limite de confiance



Figure 25 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium en absence d'ions sodium.

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.



Figure 26 : Valeurs de la tension développée par une fibre soumise à l'action de deux milieux hyperosmotiques en absence de Na⁺ et isoosmotiques des milieux Na.0 Ca.4 et Na.0 Ca.10.

> Chaque point représente la tension développée par une fibre. Les deux moyennes représentées avec leur limite de confiance à .05 correspondent aux valeurs obtenues respectivement avec les milieux Na.0 Ca.4 et Na.0 Ca.10.

à .05. Là encore, sous contrôle binoculaire, le phénomène de variation de transparence est souvent observé, il conduit à l'apparition d'une zone blanche, à l'origine semble-t-il d'une contracture irréversible. Il faut signaler que les points très dispersés portés sur la figure correspondent chacun à une fibre qui ne présentait pas ce phénomène de variation de transparence et qui semblait donc, a priori, se comporter normalement. Dans de telles conditions une correction de l'amplitude de la tension (exprimée en p.100 de la tension de référence) en fonction de la $[Ca^{++}]$ (figure 25) s'est avérée illusoire.

Résumé et conclusion (action du Ca⁺⁺ couplée au Na⁺)

La différence essentielle concernant l'action des milieux de $[Ca^{++}]_e$ variée, privés ou non de Na⁺, sur la fibre de crabe concerne la valeur de l'augmentation de tension. Elle est de l'ordre de 100 p.100 pour la fibre placée en milieu sans Na⁺ très faiblement hypercalcique (Ca.2 Na.0) d'ailleurs de valeur très voisine de celle du milieu Ca.1 Na.0 (§2) et de l'ordre de 140 p.100 en milieu très hypercalcique (Ca.10 Na.1). Cependant, il faut signaler que, dans le cas du milieu Ca.2 Na.0, il n'a pas été tenu compte des effets de l'augmentation de la Tr et qu'ainsi la tension pourrait être du même ordre de grandeur que celle observée en milieu Ca.10 Na.1. Ces effets très variables de

l'augmentation de la π en milieu sans Na⁺ (les ions Na⁺ sont remplacés par des ions choline) sont peut être partiellement dus à la présence de choline dans le milieu extracellulaire car les milieux sans Na⁺ entraînent des augmentations de valeur très différente.

A la lumière de l'ensemble de ces résultats, l'hypothèse de NIEDERGERKE et LÜTTGAU (1957) selon laquelle le Na⁺ et le Ca⁺⁺ entreraient en compétition lors de leur passage à travers la membrane à l'aide d'un transporteur commun semble devoir se confirmer. Ainsi, comme dans le cas de nombreuses fibres musculaires striées, en milieu pauvre en Na⁺, plus le Ca⁺⁺ entre dans la fibre et plus la contraction est augmentée ; en milieu de $[Ca^{++}]_e$ normale, la compétition Na⁺. Ca⁺⁺ est plus forte, il faut donc plus de Ca⁺⁺ externe pour lever l'antagonisme.

Nos résultats, concernant l'action des milieux sans Na⁺ et de $[Ca^{++}]_e$ variée, montrent que la pente négative de la tension en fonction de la $[Ca^{++}]_e$ ne varie pas, et semblent, là encore, plaider plutôt en faveur d'une inhibition de la réaction enzymatique, responsable du raccourcissement myofibrillaire, par augmentation de la teneur en Ca⁺⁺ intracellulaire.

Pour l'étude de ces milieux, le protocole expérimental a été le suivant :

- Obtention du maximum de tension développée par la fibre dans les conditions normales ;
- Passage du milieu appauvri en magnésium (soit Mg.0,1) et calcium normal (Ca.1 Mg.0,1) pendant 5 mn, puis recherche du maximum de tension ;
- 3. Passage du milieu Mg.0,1 et de concentration anormale en calcium (Mg.0,1 Ca.X) pendant 5 mn, puis recherche du maximum.
- 4. Retour en milieu normal.

3.5.1 - Action des milieux appauvris en Mg⁺⁺ (Mg 0,1) et Ca⁺⁺ normal (Ca.1)

L'effet d'un milieu, appauvri en Mg^{++} (Mg.0,1) et Ca⁺⁺ normal, traduit par les courbes de la figure 27, fait apparaître un accroissement réversible de la tension développée par les fibres et montre que cet effet est déjà maximal après 5 mn d'action puisque l'amplitude de la contraction ne varie pas entre 5 et 10 mn comme l'attestent les courbes B et C

104.



Figure 27-1 : Exemple d'effets d'un milieu pauvre en Mg⁺⁺ (Mg.0,1)

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 et la courbe C, celle obtenue après 10 mn d'action de ce même milieu anormal.

La courbe D traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).



Figure 27-2 : Autre exemple d'effets d'un milieu pauvre en Mg⁺⁺ (Mg.0,1).

> La courbe A' montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 et la courbe C' celle obtenue après 10 mn d'action de ce même milieu anormal.

La suppression de Ca⁺⁺ extracellulaire entraîne tout naturellement une disparition très difficilement réversible de l'activité mécanique.

Si l'action d'un milieu contenant seulement le quart de la $[Ca^{++}]_e$ normale entraîne une disparition presque complète de l'activité mécanique (chute de 70 p.100 ; B § 3.1.3), on constate, comme le montre la courbe C de la figure 28, qu'en milieu Ca.0,1 l'appauvrissement simultané en Mg⁺⁺ permet le maintien de l'activité mécanique, l'amplitude de la réponse moyenne atteignant 60 à 70 p.100 de l'amplitude normale pour 50 p.100 des fibres interrogées, les autres ne répondant pas. En milieu ne contenant que le quart de la $[Ca^{++}]_e$ normale (courbe C', figure 28), l'appauvrissement important en Mg⁺⁺ conduit à un maintien d'une activité mécanique normale alors que la réduction seule de la teneur en Ca⁺⁺ (Ca.0,25) conduit à une diminution de 70 p.100 de la réponse (B § 3.1.3). La courbe C" de la figure 28, correspondant au milieu Ca.0,75 diffère quelque peu des courbes C et C' de la même figure 28, en ce sens qu'un accroissement de tension apparaît en milieu Ca.0,75 Mg.0,1 par rapport au milieu Mg.01 Ca.1 indiquant, semble-t-il, qu'en milieu pauvre en Mg⁺⁺, la [Ca⁺⁺]e normale est trop importante.





Mg.O.1 Ca.O.1

Figure 28-1 : Effets du milieu Mg.0,1 Ca.0,1

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.1 et la courbe C, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.0,1 agissant immédiatement après le milieu Mg.0,1 Ca.1.





Figure 28-2 : Effets du milieu Mg.0,1 Ca.0,25.

La courbe A' montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.1 et la courbe C', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.0,25, agissant immédiatement après le milieu Mg.0,1 Ca.1.





Mg.O,1 Ca.O,75

Figure 28-3 : Effets du milieu Mg.0,1 Ca.0,75.

La courbe A" montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.1 et la courbe C", celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.0,75, agissant immédiatement après le milieu Mg.0,1 Ca.1. Les courbes de la figure montrent également que le seuil d'excitabilité varie très peu.

3.5.3 - Action des milieux hypercalciques, le Mg⁺⁺ étant à très faible concentration (Mg 0.1)

L'augmentation de la $[Ca^{++}]_e$ associée à l'appauvrisment de la teneur en Mg⁺⁺ (Mg.0,1) conduit à un accroissement de la tension développée par la fibre. La figure 29, donnant deux exemples d'effets de ces milieux (Mg.0,1 Ca.2; Mg.0,1 Ca.5), révèle qu'une augmentation de 5 fois la $[Ca^{++}]_e$ normale en milieu pauvre en Mg⁺⁺ suffit à permettre le développement de la tension maximale correspondant à celle provoquée par le milieu hypercalcique Ca.10 Mg.1, et qu'une augmentation de 2 fois la $[Ca^{++}]_e$ normale en milieu pauvre en Mg⁺⁺ conduit à une contraction dont l'amplitude est en moyenne identique à celle obtenue en milieu Ca.5 Mg.0,1.

Quant au seuil d'excitabilité, il varie dans le même sens que l'amplitude de la contraction.

Les courbes des figures 30 et 31, traduisant les variations d'amplitude moyenne de la tension maximale développée par les fibres en fonction de la $\left[\operatorname{Ca}^{++}\right]_{e}$ résument donc les effets de ces différents milieux étudiés. La figure 30 montre

108.



Mg.O,1 Ca. 2

Figure 29-1 : Effets du milieu Mg.0,1 Ca.2.

La courbe A montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.1 et la courbe C celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.2 agissant immédiatement après le milieu Mg.0,1 Ca.1.





Figure 29.2 : Effets du milieu Mg.0,1 Ca.5.

La courbe A' montre la variation de tension en fonction de la tension de stimulation en milieu normal (R), la courbe B', celle obtenue 5 mn après l'action du milieu Mg.0,1 Ca.1 et la courbe C', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,1 Ca.5 agissant immédiatement après le milieu Mg.0,1 Ca.1.



Figure 30 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium en milieu pauvre en magnésium (Mg.0,1).

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.

en outre que le maximum de tension développée par la fibre correspond au milieu Mg.0,1 Ca.5 et que la valeur de ce maximum est voisine de celle correspondant au milieu Ca.10 Mg.1 (B § 3.1.3 - figure 18). Elle indique en plus, que la tension doit demeurer sensiblement constante de Ca.2 à Ca.5.

La courbe de la figure 31 tend à démontrer l'influence faible de la $[Ca^{++}]_e$ sur l'amplitude de la contraction en milieu Mg.0,1 ; dans ce cas, bien sûr, la tension de référence (100 p.100) correspond à celle obtenue en milieu Mg.0,1 Ca,1. Il faut noter que les limites de confiance données à .05 pour chaque $[Ca^{++}]_e$ étudiée sont bien plus faibles que celles présentées à la figure 30.

Enfin, la courbe de la figure 32 montre que la tension développée par les fibres en milieu pauvre en Mg^{++} croît linéairement, semble-t-il, avec le logarithme de la $[Ca^{++}]_e$, d'est-à-dire de Ca.0,1 à Ca.5 dans la mesure cependant où ne sont pas comprises dans la moyenne les valeurs correspondantes aux fibres n'ayant pas répondu dans le milieu Mg.0,1 Ca.0,1.

110.



Figure 31 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension développée en milieu Mg.0,1 Ca.1, en fonction de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium en milieu pauvre en magnésium (Mg.0,1). Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.

111.





Figure 32 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension développée en milieu Mg.0,1 Ca.1, en fonction du logarithme de la concentration du milieu extra--cellulaire en ions calcium en milieu pauvre en magnésium (Mg.0,1).

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.

112.



3.5.4 - <u>Résumé et conclusion</u> (Action du Ca⁺⁺ en milieu pauvre en Mg⁺⁺)

L'ensemble de ces résultats montrerait, en accord avec les travaux de JENKINSON (1957) que le Mg⁺⁺ peut être considéré comme un antagoniste compétitif du Ca⁺⁺ puisque la diminution de sa concentration dans le milieu extracellulaire conduit à un renforcement de la secousse et qu'il ne peut, à l'inverse, être considéré comme un Ca⁺⁺ faible à moins d'envisager une possible intervention de l'ion Mg⁺⁺ au niveau de l'activité électrique. A ce sujet, il faut préciser que selon FATT et GINSBORG (1958), le Mg⁺⁺ ne paraît pas intervenir lors de cette activité de la fibre de crabe puisque l'amplitude du P.A. est indépendante de la $\lceil Mg^{++} \rceil_e$. Cependant HAUDECOEUR (1971 b) mentionne le rôle du Mg⁺⁺ dans le déroulement du P.A. de la fibre de crabe puisque, travaillant dans des conditions voisines des nôtres, c'est-à-dire en soumettant la fibre à un milieu pauvre en Mg⁺⁺, il observe en accord avec FATT et coll. (1958) un maintien de l'amplitude du P.A. mais signale en plus une augmentation importante de la vitesse de la phase ascendante du P.A., ce qui peut conduire selon HILL (1949) à une augmentation de l'état actif qui entraînerait alors un renforcement de la secousse. Cependant, l'influence de la $\lceil Mg^{++} \rceil_e$ au niveau du mécanisme contractile ne peut, semble-t-il, être écarté puisque, comme nous l'avons indiqué,

JENKINSON (1957) signale le possible antagonisme $Ca^{++} - Mg^{++}$ sur la fibre de grenouille et que, de plus, FALEMPIN (1971) constate que la tension maximale de la contracture potassique se manifeste chez la fibre de crabe lorsqu'elle est immergée dans le milieu de référence de FATT et KATZ puisque des $[Mg^{++}]_e$ inférieures ou supérieures à la normale dépriment cette contracture. A l'inverse, pour CALDWELL et WALSTER (1961) les ions Mg^{++} ne participeraient pas à l'initiation de la contraction.

Le fait, semble-t-il, de l'influence importante de l'ion Mg⁺⁺ au niveau de notre préparation nous a conduit à étudier l'action de plusieurs milieux hypo. et hypermagnésiens sur l'amplitude de la contraction.

4 - ROLE DES IONS Mg⁺⁺

4.1 - Effets des milieux hypo et hypermagnésiens

Les milieux privés ou appauvris en Mg⁺⁺ conduisent à un renforcement parfaitement réversible de la tension développée par la fibre et qui n'influencent pas sensiblement le seuil d'excitabilité. Les tracés de la figure 33 sont choisis de façon à montrer qu'en absence de Mg⁺⁺ une contraction d'amplitude supérieure à la normale apparaît et qu'en présence



Figure 33-1 : Effets du milieu Mg.0 Ca.1.

La courbe A traduit la tension développée par la fibre en fonction de la tension de stimulation et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.O Ca.1.





Figure 33-2 : Effets du milieu Mg.0,25 Ca.1.

La courbe A' traduit la tension développée par la fibre en fonction de la tension de stimulation et la courbe B', celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.0,25 Ca.1. du quart de la $[Mg^{++}]_e$ normale, cette amplitude est supérieure à la normale et égale à celle observée en présence de 1/10 de la $[Mg^{++}]_e$ normale (B § 3.5.1).

Les milieux hypermagnésiens dépriment à l'inverse la contraction tout en augmentant le seuil d'excitabilité et ceci d'autant plus que la concentration est plus forte. En effet, la figure 34 montre les effets réversibles obtenus lors de l'action des milieux Mg.2, Mg.5.

4.2 - Résumé et conclusion du rôle des ions Mg⁺⁺

La courbe de la figure 35 résume les effets des milieux hypo- et hypermagnésiens sur l'amplitude moyenne de la tension maximale, développée par les fibres, en fonction de la $[Mg^{++}]_e$. Pour une $[Mg^{++}]_e$ allant de 0 à 0,1 la tension augmente, puis se stabilise de 0,1 à 0,25 et enfin diminue de 0,25 à 5. Cette diminution de la tension décroît exponentiellement avec l'augmentation de la $[Mg^{++}]_e$ comme l'atteste la droite de la figure 36 exprimant l'amplitude de la contraction en fonction du logarithme décimal de la $[Mg^{++}]_e$. Pour ces courbes, il n'a cependant pas été tenu compte des effets de l'augmentation de la π , on peut toutefois les considérer comme négligeables comme l'atteste le tableau ci-après (tableau 13).





Figure 34-1 : Effets du milieu Mg.2 Ca.1.

La courbe A traduit la tension développée par la fibre en fonction de la tension de stimulation et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.2 Ca.1.

La courbe C traduit la réversibilité du phénomène (5 mn après le retour aux conditions initiales).



R

Figure 34-2 : Effets du milieu Mg.5 Ca.1.

La courbe A' traduit la tension développée par la fibre en fonction de la tension de stimulation et la courbe B, celle obtenue après 5 mn d'action du milieu Mg.5 Ca.1. La courbe C' traduit la réversibilité du phénomène

(5 mn après le retour aux conditions initiales).

BUS



Figure 35 : Variations de la tension moyenne maximale développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction de la concentration du milieu extracellulaire en ions magnésium.

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.





Figure 36 : Variations de la tension moyenne maximale, développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction du logarithme de la concentration du milieu extracellulaire en ions magnésium.

> Chaque point représenté sur la courbe correspond à la moyenne de valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.

119.



Effet résultant du Mg ⁺⁺ seul	100 p.100	- 36 p.100	- 58 p.100
Effet de l'hypertonie seule	0 p.100	+ 6 p.100	- 4 p.100
Effet du Mg ⁺⁺ et de l'hypertonie	100 p.100	- 30 p.100	- 62 p.100
π mosm.	1163	1210	1352
Milieu	Mg.1	Mg.2	Mg. 5

Tableau 13: Effets de l'hypertonie due auxmilieux hypermagnésiens.

BUS LILLE En effet, les milieux hypermagnésiens sont réalisés par addition de SO_4Mg au milieu de référence, ce qui conduit, au maximum, à une augmentation de 15 p.100 de la pression osmotique et entraîne, comme cela a été indiqué précédemment (figure 20), une diminution de 4 p.100 de la tension.

Nous avions précédemment émis l'hypothèse selon laquelle le Mg⁺⁺ pourrait à la fois intervenir au niveau des mécanismes électriques et mécaniques de la fibre de crabe. Les résultats concernant les effets du Mg⁺⁺ l'étayent dans la mesure où en milieu de $\left\lceil Ca^{++} \right\rceil_e$ normale, le maximum de tension développée par la fibre en état de contracture, correspond à une concentration normale de Mg^{++} (FALEMPIN, 1971). De plus, l'appauvrissement en Mg⁺⁺ conduirait à une augmentation de la durée de l'état actif puisque HAUDECOEUR (1971 b) observe une augmentation très importante de la vitesse de la phase de dépolarisation. Cette augmentation de la durée de l'état actif amènerait une augmentation de l'amplitude de la contraction en dépit du fait que la contracture potassique est d'amplitude plus faible. Par contre, en milieu riche en Mg⁺⁺, la contraction déprimée pourrait être due à la diminution de la vitesse de la phase de dépolarisation (HAUDECOEUR, 1971 b) et être due aussi à une diminution de l'activité mécanique puisque FALEMPIN (1971) observe qu'en milieu riche en Mg⁺⁺, la contracture potassique est considérablement déprimée. Cette diminution de tension pourrait correspondre
à un antagonisme Ca⁺⁺- Mg⁺⁺ siégeant au niveau myofibrillaire : la réaction enzymatique qui provoque l'hydrolyse de l'ATP et qui se trouve être à l'origine du raccourcissement myofibrillaire (SANDOW, 1965, 1970) pourrait être de moins forte intensité.

Dans ces conditions, l'existence de cet hypothétique antagonisme pourrait, par exemple, être mis en évidence en étudiant l'évolution de la tension développée par la fibre soumise à l'action de milieux de concentration modifiée, simultanément, en Ca^{++} et en Mg^{++} de façon à rechercher s'il existe un rapport optimum entre la $[Ca^{++}]_e$ et celle de Mg^{++} . Dans le but de vérifier ou de réfuter cette dernière hypothèse sont présentés maintenant les résultats concernant l'interférence possible du Ca^{++} et du Mg^{++} .

5 - RECHERCHE D'UNE INTERFERENCE ENTRE Mg⁺⁺ ET Ca⁺⁺ POUR LE DEVELOPPEMENT D'UNE TENSION MAXIMALE

5.1 - Influence du rapport Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ sur l'amplitude de la contraction

En regroupant les résultats précédents, complétés par l'étude de l'action de nouveaux milieux, il semble ressortir, comme l'indique le tableau 14, qu'il pourrait exister un rapport optimum Ca^{++}/Mg^{++} réglant, en fonction de la $[Mg^{++}]_{e}$, le niveau de tension développée.

Milieux	Rapport Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺	T.p.100 corrigée deπ, avec la limite de confiance à .05
Mg O Ca 1	∞	130 <u>+</u> 18
Mg 0,1 Ca 0,1	0,5	69 + 27
Mg 0,1 Ca 0,25	1,25	119 ± 09
Mg 0,1 Ca 0,5	2,5	141 + 14
Mg 0,1 Ca 0,75	3,75	167 <u>+</u> 29
Mg 0,1 Ca 1	5	178 + 38 (10 mn) 164 + 10 (5 mn)
Mg 0,1 Ca 2	10	212 <u>+</u> 56
Mg 0,1 Ca 5	25	218 <u>+</u> 34
Mg 0,1 8 Ca 1	2,7	159 <u>+</u> 37
Mg 0, 25 Ca 0,25	0,5	95 <u>+</u> 8
Mg 0,25 Ca 1	2	163 <u>+</u> 25
Mg 0,25 Ca 2,5	5	192 ± 20
Mg 0,25 Ca 5	10	242 + 58
Mg 0,25 Ca 7,5	15	218 <u>+</u> 43
Mg 0,5 Ca 1	1	131 <u>+</u> 13
Mg 1 Ca 0	0	0 + 0
Mg 1 Ca 0,25	0,125	33 + 9
Mg 1 Ca 0,5	0,25	57 <u>+</u> 13
Mg 1 Ca 0,75	0,375	89 <u>+</u> 10
Mg 1 Ca 1	0,5	100 + 0
Mg 1 Ca 2	1	122 + 16
Mg 1 Ca 4	2	172 + 25
Mg 1 Ca 10	5	242 + 27
Mg 1 Ca 12	6	159 + 9
Mg 1 Ca 15	7,5	107 <u>+</u> 15
Mg 1 Ca 20	10	96 <u>+</u> 25
Mg 1,25 Ca 12	5	136 <u>+</u> 30
Mg 2 Ca 0,25	0,06	13 + 13
Mg 2 Ca 1	0,25	64 + 15
Mg 2 Ca 2	0,5	96 + 11
Mg 5 Ca 1	0,1	42 + 5

Tableau 14 : Variations de la tension exprimée en p.100, en fonction de la valeur du rapport $Ca^{++}/{\rm Mg}^{++}$

En effet, pour des milieux pauvres en Mg^{++} (Mg.0,1), la tension augmente avec la valeur du rapport Ca⁺⁺/Mg⁺⁺. Le maximum de tension s'obtient pour un rapport de 10 ; au delà de cette valeur, la tension reste sensiblement constante. Ce résultat semble indiquer qu'il peut exister un antagonisme $Ca^{++}-Mg^{++}$ se situant au niveau membranaire, au niveau donc du phénomène électrique, car, à l'appui de cette hypothèse, HAUDECOEUR (1971 b) montre que la diminution de la $[Mg^{++}]_e$ entraîne un accroissement de la vitesse de la phase de dépolarisation et qu'un accroissement progressif de la $\left[Ca^{++}\right]_{e}$ provoque un allongement du P.A. ; ces deux derniers phénomènes peuvent ainsi concourir à l'obtention d'un état actif plus ample et plus durable permettant ainsi le développement d'une contraction plus forte. Au delà de la valeur 10 du rapport, l'effet positif produit par l'augmentation de la durée du P.A. ne pourrait plus croître du fait d'une part, d'une possible existence d'une activité ATPasique maximale du complexe actine-myosine dépendant étroitement de la $[Mg^{++}]_{\rho}$ et, d'autre part, d'une possible limite du courant entrant de Ca $^{++}$.

Pour des milieux moins appauvris en Mg^{++} (Mg.0,25) la tension augmente également avec la valeur du rapport Ca^{++}/Mg^{++} . Pour un même rapport optimum de 10 (déterminé précédemment avec une $[Mg^{++}]_e$ égale à 0,1) la tension est sensiblement supérieure (242 p.100 contre 212 p.100). Là encore, l'accroissement de tension pourrait dépendre d'une part de l'augmentation de la durée du P.A. et d'autre part d'une augmentation de l'activité ATPasique du complexe actinemyosine.

Par contre, pour une $[Mg^{++}]_e$ normale, le rapport optimum est plus faible et égal à 5. Cette $[Mg^{++}]_e$ normale correspond à la concentration permettant le développement d'une contracture potassique maximale (FALEMPIN, 1971). En effet, cet auteur mentionne que toute variation de la $[Mg^{++}]_e$ entraîne une chute de tension. Ainsi, la diminution de la tension de contraction observée au delà du rapport optimum (sa valeur étant égale à 5) correspondrait, en dépit de l'augmentation de la durée du P.A., à une possible inhibition partielle de l'activité ATPasique du complexe actine-myosine due dans ce cas à l'excès de Ca⁺⁺.

De l'examen du tableau, il ressort que le rapport optimum dépend étroitement de la $[Mg^{++}]_e$. De plus, il faut remarquer que, pour un rapport correspondant au milieu normal soit 0,5, la tension ne varie pas quelles que soient la $[Mg^{++}]_e$ et celle de Ca⁺⁺ pourvu que ce rapport soit maintenu constant comme le montre la courbe de la figure 37, à condition toutefois que la $[Ca^{++}]_e$ soit suffisante pour permettre le déroulement d'une activité électrique ample, la valeur minimale étant de l'ordre de 0,25.



Figure 37 : Variations de la tension moyenne maximale, développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence, en fonction :

- . courbe A, de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium, magnésium ; le rapport Ca^{++}/Mg^{++} reste constant et égal à 0,5 ;
- . courbe B, du logarithme de ces mêmes concentrations en ions calcium et magnésium.

Chaque point représenté sur les courbes correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05. La figure 38 illustre le cas cù le rapport, de valeur égale à 5, est maintenu constant. Dans de telles conditions, l'évolution de la courbe de la figure semble indiquer, comme l'on pouvait s'y attendre au vu des chiffres présentés au tableau ci-dessus,que l'accroissement de tension dépendant de l'augmentation de la $[Mg^{++}]_e$ est possible dans la mesure où le rapport en milieu pauvre en Mg^{++} est supérieur à 5 (ce rapport optimum est de 25 pour Mg 0,1). La chute de tension observée pour la même valeur du rapport 5 mais pour des concentrations de Mg^{++} supérieures à 1 semblerait résulter d'une inhibition partielle de l'activité ATPasique du complexe actine-myosine, d'autant plus forte que la $[Mg^{++}]_e$ est elle-même plus forte comme le témoigne, d'ailleurs la courbe de la figure 39.

Enfin, la figure 40 montre, en milieu pauvre en Mg^{++} (Mg.0,25), que d'une part, l'augmentation de la tension en fonction de celle de la $[Ca^{++}]_e$ résulterait de l'augmentation de l'amplitude et de la durée de l'état actif et que d'autre part, le maintien de la tension à une valeur sensiblement constante en dépit de l'augmentation de $[Ca^{++}]_e$ résulterait d'une activité ATPasique maximale de la myosine pour la valeur de la $[Mg^{++}]_e$ considérée.



Figure 38 : Variations de la tension moyenne maximale, développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence en fonction :

> . courbe A, de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium et magnésium ; le rapport Ca^{++}/Mg^{++} reste constant et égal à 5 ;

> . courbe B, du logarithme de ces mêmes concentrations en ions calcium et magnésium.

Chaque point représenté sur les courbes correspond à la moyenne de valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.



- Figure 39 : Variations de la tension moyenne maximale, développée par les fibres, exprimée en p.100 de la tension de référence en fonction :
 - . courbe A, de la concentration du milieu extracellulaire en ions magnésium, sa concentration en ions calcium étant constante et égale à 0,25 ;
 - . courbe B, du logarithme de ces mêmes concentrations en ions magnésium.

Chaque point représenté sur les courbes correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.





- <u>Figure 40</u> : Variations de la tension moyenne maximale, développée par les fibres, exprimée en p.100 de la temsion de référence en fonction :
 - . Courbe A, de la concentration du milieu extracellulaire en ions calcium, sa concentration en ions magnésium étant constante et égale à 0,25 ;
 - . Courbe B, du logarithme de ces mêmes concentrations en ions calcium.

Chaque point représenté sur les courbes correspond à la moyenne des valeurs obtenues sur 8 fibres au minimum, à cette moyenne est associée sa limite de confiance calculée à .05.

311S

5.2 - <u>Résumé et conclusion de l'influence</u> <u>du rapport Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ sur l'amplitude de la</u> <u>contraction</u>

Au vu des résultats présentés, il semble bien qu'il puisse exister un rapport optimum Ca^{++}/Mg^{++} permettant le développement d'une tension maximale. La valeur de ce rapport est étroitement dépendante de la $[Mg^{++}]_e$. Il faut d'ailleurs remarquer qu'en deça de la valeur 5 du rapport, les tensions développées par les fibres sont équivalentes pour des valeurs identiques de ce rapport alors que pour la valeur 5 et au delà la tension est dispersée et dépend davantage de la $[Mg^{++}]_e$. Les phénomènes seraient susceptibles d'être interprétés par l'existence probable d'une part d'un antagonisme Ca^{++} -Mg^{++} se situant au niveau membranaire, et, d'autre part par une activité ATPasique maximale liée à la fois à la teneur en Mg^{++} et en Ca^{++} du milieu.

V - DISCUSSION - CONCLUSION GENERALE

Les résultats que nous venons de présenter nous ont amenés à formuler les hypothèses ayant pour but de tenter d'entrevoir les processus ioniques responsables du couplage excitation-contraction et du couplage mécanochimique. Il convient maintenant de les discuter en les confrontant avec l'ensemble des résultats acquis concernant les fibres musculaires striées et en particulier celles d'Invertébrés.

1 - FIBRE PLACEE EN CONDITIONS NORMALES

La fibre musculaire de crabe (Carcinus maenas) ne répond pas selon la loi du "tout ou rien", cela est d'ailleums généralement le cas pour de nombreuses fibres d'Invertébrés (LOCKWOOD, 1968). En effet, la réponse obtenue, en fonction de l'intensité de la stimulation, est graduée, et en cela le résultat est conforme à celui obtenu, plus particulièrement sur la fibre d'écrevisse, par SUGI et KOSAKA (1964). Quant au fa que cette réponse soit graduée, cela pourrait résulter d'une extension progressive de la contraction des myofilaments proches de la surface à ceux de la profondeur de la fibre ; cette extension dépendrait de l'intensité de la stimulation. En effet, du fait de l'existence d'un système tubulaire transverse très abondant (PEACHEY, 1967 ; MATHIEU, 1971) et de la propagation électrotonique du P.A. (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970), de faibles dépolarisations, induites par de faibles courants de stimulation, n'activeraient pas le système tubulaire transverse responsable de la genèse du P.A. (HAUDECOEUR, 1971 a ; ORENTLICHER et REUBEN, 1971). Par contre, des courants de stimulation de valeurs plus importantes permettraient l'activation de ce système tubulaire transverse dont on sait qu'il longe les myofibrilles (MELVIN et HESS, 1967 ; PEACHEY, 1967 ; MATHIEU, 1971) ; cette activation favoriserait ainsi le développement d'une tension plus importante du fait d'une excitation de l'ensemble du reticulum sarcoplasmique responsable de la libération du Ca^{++} à l'origine de la contraction.

Cependant, il faut préciser que la tension maximale développée est de valeur très variable d'une fibre à l'autre. Les tensions calculées en g/cm² présentent en effet une grande dispersion comme cela a été signalé (A § 1) ; cette dispersion pourrait malgré tout, du moins partiellement, s'expliquer en tenant compte des erreurs commises lors du calcul de la surface de la section de la fibre puisque cette section n'est pas toujours circulaire mais bien souvent elliptique et même quelquefois sub-rectangulaire. De plus, il y a lieu de prendre en considération le fait que dans le méropodite de la patte locomotrice de crabe, plusieurs types de fibres existent puisque DORAÏ RAJ (1965) décrit des fibres proximales caractérisées par un petit diamètre et de longs sarcomères, des fibres distales présentant un grand diamètre et renfermant

de courts sarcomères, et enfin des fibres intermédiaires présentant un diamètre moyen et renfermant des sarcomères moins longs que ceux des fibres proximales. Ainsi, pour les fibres interrogées, bien qu'étant toujours isolées dans la région proximale du méropodite de la patte, il peut se faire que certaines possèdent un nombre différent de sarcomères de longueur plus ou moins identique. Cette différence pourrait être une des causes possibles de la variation de tension maximale développée par les fibres.

2 - FIBRES PLACEES EN CONDITIONS ANORMALES

Comme cela a déjà été précisé, la fibre musculaire striée du crabe (Carcinus maenas) présente un double système tubulaire transverse complexe et très développé (PEACHEY, 1967 ; MATHIEU, 1971). En effet, l'un appelé T_{AI} se situe au niveau de la jonction Bande A-Bande I et présente des relations étroites avec le reticulum longitudinal d'où le rôle attribué dans le couplage excitation-contraction par PEACHEY (1967) ; l'autre appelé T_Z très développé, allant jusqu'à cheminer parallèlement aux myofibrilles, dont le point de départ se situe au niveau de la bande Z, n'ayant pas de relation avec le reticulum longitudinal n'aurait, selon PEACHEY, qu'un rôle de soutien. Cependant, MATHIEU (1971) décrit des contacts diadiques entre l'extrémité de ce système T_Z et le reticulum longitudinal et de ce fait émet l'hypothèse

de son rôle possible dans la propagation de l'activation et dans le couplage excitation-contraction des myofibrilles situées profondément. Cette dernière hypothèse peut être étayée par des travaux récents concernant les effets de l'ion Cl-.

En effet, l'absence de Cl⁻ dans le milieu extracellulaire provoque chez la fibre une disparition de son P.A. (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1970 ; HAUDECOEUR, 1971 a) et une diminution importante de l'amplitude de la réponse mécanique. Le fait, qu'il subsiste, comme nous venons de le décrire dans le présent mémoire (B § 1), une réponse mécanique sans activité électrique pourrait, compte tenu de ce qui a été dit précédemment, résulter d'une dépolarisation homogène de la membrane sarcolemmique (électrodes larges de stimulation placées de part et d'autre de la fibre), insuffisante pour déclencher un P.A. naissant normalement au niveau du système tubulaire transverse, mais malgré tout suffisante pour provoquer le raccourcissement des myofibrilles proches de la surface et controlées par le système tubulaire T_{AT} décrit par PEACHEY.

Quant aux effets d'un excès de Cl⁻ dans le milieu extracellulaire, ils se traduisent par l'apparition d'un P.A. plus ample et plus durable (HAUDECOEUR, 1971 a) qui s'avère incapable d'assurer le déclenchement de la réponse mécanique, ce découplage est généralement expliqué par le

gonflement du système tubulaire transverse des fibres squelettiques. Pour la fibre de crabe, l'existence d'une structure membranaire complexe pourrait permettre d'interpréter les effets de l'action du milieu hypertonique contenant du Cl- en excès. En effet, le TZ étant responsable de la conduction du P.A., la structure de type T_{AT} à l'extrêmité du T_Z (MATHIEU, 1971) pourrait être beaucoup plus sensible à l'hypertonie que ce dernier. Dans de telles conditions, l'hypertonie provoquée par l'excès de Cl⁻ conduirait à un gonflement des structures de type TAT (GIRARDIER, DREIFFUS, HAENNI et PETROVICI, 1964) et serait normalement à l'origine du découplage entre l'excitation et la contraction , découplage dû à la rupture des contacts diadiques entre le TAI et le reticulum longitudinal. L'hypertonie par le Cl, n'influençant que très peu le système TZ, pourrait de ce fait permettre le développement d'un P.A. plus ample et plus durable.

Quant à l'explication concernant le rôle du Na⁺, il faut préciser que sa présence n'est pas indispensable dans le milieu extracellulaire et même que cet ion jouerait un rôle inhibiteur au niveau du processus électrique. En effet, en absence de Na⁺, le P.A. de la fibre musculaire de crabe se trouve être plus ample et plus durable (FATT et KATZ, 1953 ; HAUDECOEUR, 1971 a). Dans de telles conditions, l'accroissement de l'amplitude de la contraction résulterait d'une augmentation de l'état actif (HILL, 1949). Ainsi, le

mouvement entrant du Ca⁺⁺ dans la fibre, à l'origine du couplage excitation-contraction, pourrait être influencé par la teneur en Na⁺ du milieu extracellulaire. Il est de ce fait possible de postuler l'existence de l'antagonisme Ca⁺⁺-Na⁺ décrit pour la première fois sur le tissu cardiaque par NIEDERGERKE et LUTTGAU (1957) puis LUTTGAU et NIEDERGERKE (1958) ; l'absence de Na⁺ permettrait une entrée accrue de Ca⁺⁺ et renforcerait ainsi la contraction. Cette entrée plus importante de Ca⁺⁺, induite soit par l'absence de Na⁺, soit par l'augmentation de la concentration du milieu externe en ion Ca⁺⁺, entraînerait le développement d'une contraction plus importante. Toutefois, nos résultats semblent montrer qu'un excès trop important de Ca⁺⁺ serait susceptible de créer une inhibition partielle au niveau du couplage mécanochimique responsable directement de l'ampleur du raccourcissement myofibrillaire. Sous l'influence d'un excès de Ca⁺⁺, l'amplitude de la contraction, après être passée par un maximum pour une concentration adéquate en cet ion, pourrait diminuer du fait d'une trop forte concentration de Ca⁺⁺ interne. Cependant, il faut signaler que l'augmentation du gradient de concentration, pour les ions Ca⁺⁺, entraîne simultanément celle de la pression osmotique et que la prise en considération des effets de l'hypertonie aboutit à une amplitude de contraction qui ne varie pas pour des accroissements de concentration extracellulaire de Ca⁺⁺ allant de 15 fois à 20 fois la concentration normale. Ce maintien de l'amplitude

de la contraction pour des milieux compris entre Ca.15 et Ca.20, n'allant pas dans le sens de l'hypothèse de l'inhibition de la réaction enzymatique, peut cependant s'accorder avec celle-ci dans la mesure où l'on admet que l'entrée de Ca⁺⁺ peut présenter une limite.

En ce qui concerne le Mg⁺⁺, nos résultats semblent également montrer que cet ion, provoquant des effets inverses de ceux du Ca⁺⁺, puisse donc être considéré comme antagoniste du Ca⁺⁺. En effet, si pour certains auteurs, l'ion Mg⁺⁺ est susceptible d'agir comme un Ca^{++} faible, en particulier au niveau des fibres striées de Vertébrés, il n'en est pas de même au niveau de la fibre musculaire de crabe puisque le simple fait de supprimer cet ion du milieu externe provoque un renforcement de la secousse alors que, dans ces conditions, la contracture potassique se trouve comme le montre FALEMPIN (1971), notablement diminuée (diminution de l'ordre de 40 p.100). Toutefois, le renforcement dans le cas de la secousse n'est pas pour surprendre dans la mesure où, en milieu pauvre en Mg⁺⁺, HAUDECOEUR (1971 b) signale une augmentation importante de la vitesse de la phase de dépolarisation du P.A.. Cette augmentation pourrait entraîner une prolongation de l'état actif qui suffirait donc à expliquer le renforcement de la secousse. A l'inverse, un accroissement de la concentration externe en Mg⁺⁺ entraîne, comme cela a été signalé

antérieurement (B § 4) une diminution de l'amplitude de la contraction. Cette diminution peut là encore, être expliquée en tenant compte des effets de l'ion Mg⁺⁺ sur le P.A. et sur le développement de la contracture potassique. En effet, HAUDECOEUR (1971 b) signale qu'en milieu riche en Mg⁺⁺, l'amplitude et la vitesse de la phase de dépolarisation du P.A. diminuent. De même, en milieu riche en Mg⁺⁺, la contracture potassique diminue d'amplitude, elle diminue en effet de 40 p.100 quand le milieu contient 3 fois la concentration normale de Mg⁺⁺ (FALEMPIN, 1971). Ces derniers effets observés par HAUDECOEUR sur le P.A. et par FALEMPIN sur la contracture potassique peuvent être supprimés par un accroissement simultané de la concentration du milieu extracellulaire en Ca⁺⁺. De même, sur la secousse, il a été montré (IV.B § 5) que les effets de l'excès de Mg⁺⁺ peuvent être annulés par un excès simultané de Ca⁺⁺. Dans de telles conditions, il paraît ráisonnable de postuler l'existence d'un antagonisme Ca⁺⁺-Mg⁺⁺, siégeant d'une part au niveau membranaire et d'autre part au niveau myofibrillaire, et enfin de postuler l'existence d'une entrée optimale de Ca++.

VI - RESUME

Les résultats relatifs à la contraction de la fibre musculaire de crabe, étudiée dans les conditions normales et anormales ont permis de montrer :

- que la réponse mécanique est de type gradué et non de type " tout ou rien ", réponse conforme à celle observée par de nombreux auteurs sur les fibres musculaires d'Invertébrés ;

- que l'activation du mécanisme contractile est lente et que la tension développée est très variable d'une préparation à l'autre ;

- que l'ion Na⁺ joue un rôle inhibiteur ; son absence du milieu externe favorise le développement d'une tension plus ample ;

- que la présence de Ca⁺⁺ est indispensable et qu'il est activateur du mécanisme contractile ; en effet, la tension maximale, définie dans nos conditions expérimentales, croît régulièrement avec l'augmentation de la concentration externe de Ca⁺⁺ ($[Ca^{++}]_e$) tout au moins jusqu'à une concentration égale à 10 fois la concentration normale et décroît au delà de cette valeur ;

- que l'ion Mg^{++} est antagoniste de l'ion Ca^{++} .

Nos résultats ont également permis d'émettre les hypothèses suivantes :

- par l'étude des effets de l'absence de Cl⁻ ou de son excès dans le milieu extracellulaire, il est postulé l'existence de contacts diadiques d'une part entre le système T_Z et le reticulum longitudinal nécessaires à l'activation des myofibrilles profondes et d'autre part entre le système T_{AI} et le reticulum longitudinal nécessaires à l'activation des myofibrilles profondes de la surface ;

- par l'étude des effets de l'augmentation de la $[Ca^{++}]_e$, il est avancé que l'entrée accrue de Ca^{++} pourrait provoquer directement ou indirectement une augmentation trop importante de la teneur en Ca^{++} intracellulaire qui pourrait inhiber partiellement la réaction enzymatique libératrice d'énergie et responsable du raccourcissement myofibrillaire ;

- par l'étude simultanée des effets de variations de concentration externe de Ca⁺⁺ et Mg⁺⁺, l'existence d'un antagonisme Ca⁺⁺- Mg⁺⁺ se situant au niveau myofibrillaire peut être avancé. L'existence d'un tel antagonisme se situant au niveau membranaire (HAUDECOEUR,1971b) laisse à penser que l'importance de la contraction pourrait dépendre étroitement de la valeur du rapport des concentrations du Ca⁺⁺ et du Mg⁺⁺ extracellulaires.

VII - BIBLIOGRAPHIE

APRIL, E., BRANDT, P., REUBEN, J. et GRUNDFEST, H. (1968) Muscle contraction : the effect of ionic strength. Nature, London, 220, 182-184.

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

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

BENDALL, J.R. (1952)

Effect of the "Marsh factor" on the shortening of muscle fibre models in the presence of adenosine triphosphate.

Nature, London, 170, 1058-1060.

BENDALL, J.R. (1953)

Further observations on a factor (the "Marsh factor") affecting relaxation of ATP shortened muscle-fibre models, and the effect of Ca^{++} and Mg^{++} ions upon it. J. Physiol., London, 121, 232-254.

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

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

BRANDT, P.W., REUBEN, J.P., GIRARDIER, L. and GRUNDFEST, H. (1965) Correlated morphological and physiological studies on isolated single muscle fibers. I - Fine structure of the crayfish muscle fiber. J. Cell. Biol., 25, 233-261. BULBRING, E., HOLMAN, M. et LULLMAN, H.J. (1956)

Effects of calcium deficiency on striated muscle of the frog.

J. Physiol., London, <u>133</u>, 101-117.

BURGEN, A.S.V. (1968)

Calcium and excitable cells. Proc. R. Soc. Med., <u>61</u>, 1, 67-68.

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 fibers.

J. Physiol., London, 169, 353-372.

CARMELIET, E. (1961)

Chloride ions and the membrane potential of Purkinje fibres.

J. Physiol., London, 156, 375-388.

COSTANTIN, L.L. (1968)

The effect of calcium on contraction and conductance thresholds in frog skeletal muscle.

J. Physiol., London, <u>195</u>, 119-132.

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

The action of ions upon the frog's heart. J. Physiol., London, <u>54</u>, 367-383. . Ale

DORAI RAJ, B.S. (1964)

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

DUDEL, J., MORAD, M. et RÜDEL, R. (1968)

Contractions of single crayfish muscle fibers induced by controlled changes of membrane potential. Pflugers Arch., 299, 38-51.

DYDYNSKA, M. et WILKIE, D.R. (1963)

The osmotic properties of striated muscle fibres in hypertonic solutions.

J. Physiol., London, <u>169</u>, 312-329.

EBASHI, S. (1960)

Calcium binding and relaxation in the actomyosin system. J. Biochem., 48, 150-151.

EBASHI, S. (1961 a)

The relaxing factor and the contraction-relaxation cycle of skeletal muscle.

Tokyo J. Med. Sci., <u>69</u>, 65-78.

EBASHI, S. (1961 b)

Calcium binding activity of vesicular relaxing factor. J. Biochem., <u>50</u>, 236-244.

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

Adenosine triphosphate-linked concentration of calcium ions in a particule fraction of rabbit muscle. J. Cell. Biol., 14, 389-400. EDMAN, K.A.P. et GRIEVE, D.W. (1961)

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

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

On the role 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., <u>48</u>, 225-234.

EDWARDS, C., RITCHIE, J.M. et WILKIE, D.R. (1956)

The effect of some cations on the active state of muscle.

J. Physiol., 133, 412-419.

EISENBERG, R.S. (1967)

The equivalent circuit of single crab muscle fibers as determined by impedance measurements with intracellular electrodes.

J. Gen. Physiol., 50, 1785-1806.

FALEMPIN, M. (1971)

Communication personnelle.

FALEMPIN, M., BRULE, G. et GUILBAULT, P. (1971)

Action de milieux appauvris et enrichis en calcium sur la contracture de la fibre striée de crabe (Carcinus maenas).

C. R. Soc. Biol., (à paraître).

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.

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

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

FRANK, G.B. (1958)

Inward movement of calcium as a link between electrical and mechanical events in contraction. Nature, London, 182, 1800-1801.

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. (1961)

Rôle of extracellular calcium ions in excitation contraction coupling in skeletal muscle. In : Biophysics of physiological and pharmacological Actions, ed. by A. SHANES, pp. 293-307. Publ. N°69, Amer. Ass. Advanc. Sci., Washington, D.C. The nature of the muscle-relaxing factor. J. Gen. Physiol., <u>46</u>, 893-904.

GAGE, P.W. et EISENBERG, R.S. (1967)

Action potentials without contraction in frog skeletal muscle fibers with disrupted transverse tubules. Sciences, 158, 1702-1703.

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

Permeability of alkali metal cations in Lobster muscle. A comparison of electrophysiological and osmometric analyses.

J. Gen. Physiol., <u>51</u>, 3, 399-425.

GERGELY, J. (1959)

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

GIRARDIER, L., DREIFUSS, J.J., HAENNI, B. et PETROVICI, A. (1964)

Réponse du tissu myocardique de rat in vitro à une augmentation de la pression osmotique du milieu externe.

Path. et Microbiol., Basel, 27, 16-30.

GORDON, A.M. et GODT, R.E. (1970)

Some effects of hypertonic solutions on contraction and excitation-contraction coupling in frog skeletal muscles.

J. Gen. Physiol., 55, 254-275.

GRUNDFEST, H., REUBEN, J.P. et RICKLES, W.H.J. (1959)

The electrophysiology of lobster neuromuscular synapses.

J. Gen. Physiol., <u>42</u>, 1301-1323.

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

The initiation of spike potential in barnacle muscle fibers under low intracellular Ca^{++} .

J. Gen. Physiol., <u>48</u>, 141-162.

HASSELBACH, W. (1952)

Die Umwandlung von Aktomyosin - ATP-ase in L. Myosin -ATP-ase durch Aktivatoren und die resultierenden Aktivierungseffekte.

Z. Naturforsch, B, 7, 163-174.

HASSELBACH, W. (1964)

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

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

Die Calciumpumpe der "Erschloffungsgrana" des Muskels und ihre Abhängigkeit von der ATP-spaltung. Biochem. Z., 333, 518-528.

HAUDECOEUR, G. (1971 a)

Etude des perméabilités ioniques membranaires de la fibre musculaire striée de crabe. Thèse 3e Cycle, Lille, 1 vol., 179 p. dactyl.

HAUDECOEUR, G. (1971 b)

Communication personnelle.

HAUDECOEUR, G., FALEMPIN, M., BRULE, G. et GUILBAULT, P. (1970)

Rôle des ions Cl⁻, Na⁺ et de l'hypertonie dans les processus d'excitation et de contraction de la fibre musculaire striée de crabe (Carcinus maenas). (A paraître).

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

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

HILL, A.V. (1949)

The abrupt transition from rest to activity in muscle. Proc. Roy. Soc. B., 136, 399-420.

HILL, A.V. (1951)

The influence of temperature on the tension developed in an isometric twitch.

Proc. Roy. Soc. B., <u>138</u>, 349-354.

HILL, A.V. (1953)

The "plateau" of full activity during a muscle twitch. Proc. Roy. Soc. B., <u>141</u>, 498-503.

HODGKIN, A.L. (1951)

The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle.

Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc., 26, 339-409.

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (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 potential of single muscle fibres. J. Physiol., London, 148, 127-160.

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

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

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

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

J. Physiol., London, <u>116</u>, 449-472.

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

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

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

Cold spring harbor. Sigm. Quant. Biol., 17, 43-52.

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

Effects of hypertonicity on calcium fluxes in frog sartorius muscles. Fed. Proc., <u>27</u>, 375. HOYLE, G. et SMYTH, T. (1963)

Neuromuscular physiology of giant muscle fibers of a barnacle.

Comp. Biochem. and Physiol., 10, 291.

HUTTER, O.F. et NOBLE, D. (1960 a)

Rectifying properties of cardiac muscle. Nature, London, <u>188</u>, 495.

HUTTER, O.F. et NOBLE, D. (1960 b)

The chloride conductance of frog skeletal muscle. J. Physiol., London, <u>151</u>, 89-102.

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

Anion conductance of cardiac muscle. J. Physiol., London, <u>157</u>, 335-350.

HUXLEY, A.F. (1956)

Local activation of striated muscle from the frog and the crab.

Proceed. Physiol., 17P-18P.

HUXLEY, A.F. et TAYLOR, R.C. (1958)

Local activation of striated muscle fibres. J. Physiol., London, 144, 426-441.

ILDEFONSE, M., PAGER, J. et ROUGIER, O. (1969 a)

Analyse des propriétés de rectification de la fibre musculaire squelettique rapide après traitement au glycérol.

C. R. Acad. Sci., Paris, 268, 2783-2786.

test R

ILDEFONSE, M., PAGER, J. et ROUGIER, O. (1969 b)

Relations entre les propriétés de rectification et le système tubulaire transverse des fibres musculaires squelettiques rapides.

J. Physiol., Paris, <u>61</u>, suppl.1, 137.

ISHIKO, N. et SATO, M. (1956)

Kumamoto Med. J., 9, 190.

dans FRANK, G.B. (1958)
Inward movement of calcium as a link between electrical
and mechanical events in contraction.
Nature, London, 182, 1800-1801.

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

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

JENDEN, D.J. et REGER, J.F. (1963)

The role of resting potential changes in the contractile failure of frog sartorius muscles during calcium deprivation.

J. Physiol., London, 169, 889-901.

JENKINSON, D.H. (1957)

J. Physiol., 138, 434-444.

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

KATZ, B. (1949)

Les constantes électriques de la membrane du muscle. Arch. Sci. Physiol., 3, 285-300.

KATZ, B. et KÜFFLER, S.W. (1946)

Excitation of the nerve-muscle system in crustacea. Proc. Roy. Soc. B., 133, 374-389.

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

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

LOCKWOOD, A.P.M. (1968)

The neuromuscular system.

In "Aspects of the Physiology of Crustacea". OLIVIER et BOYD Ed., Edimburg et London, 1 vol., 160-205.

LUBIN, M. (1957)

The effect of iodide and thiocyonate ions on the mechanical and electrical properties of frog muscle. J. Cell. and Comp. Physiol., <u>49</u>, 335-350.

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

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

LÜTTGAU, H.C. (1963)

The action of calcium ions on potassium contractures of single muscle fibres. J. Physiol., London, 168, 679-697.

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.

MACPHERSON, L. et WILKIE, D.R. (1954)

The duration of the active state in a muscle twitch. J. Physiol., London, 124, 292-299.

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, <u>9</u>, 247-260.

MASHIMA, H., MATSUMURA, M. et NAKAYAMA, Y. (1962)

On the coupling relation between action potential and mechanical response during repetitive stimulation in frog sartorius muscle.

Jap. J. Physiol., <u>12</u>, 324-336.

MATHIEU, J. (1971)

Ultrastructure de la fibre musculaire de crabe (Carcinus maenas).

(A paraître).
Fine structural differences in "fast" and "slow" muscle fibers of the crab.

Amer. J. Anat., <u>121</u>, 2, 285-304.

MOUNIER, Y. (1970)

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

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.

MUSCATELLO, U., ANDERSON-CEDERGREN, E. et AZZONE, G.F. (1962)

The mechanism of muscle-fiber relaxation adenosine triphosphatase and relaxing activity of the sarcotubular system.

Biochim. Biophys. Acta, 63, 55-74.

NAGAI, T. (1953)

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

NAGAI, T., MAKINOSE, M. et HASSELBACH, W. (1960)

Der physiologische Erschlaffungsfaktor und die Muskelgrana. Biochim. Biophys. Acta, 43, 223-238.

NIEDERGERKE, R. (1955)

Local muscular shortening by intracellulary applied calcium.

J. Physiol., London, 128, 12-13P.

NIEDERGERKE, R. (1956)

The potassium chloride contracture of the heart and its modification by calcium.

J. Physiol., London, <u>134</u>, 584-599.

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.

NOBLE, D. (1962)

A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. J. Physiol., London, <u>160</u>, 317-352.

NOBLE, D. (1966)

Applications of Hodgkin-Huxley equations to excitable tissues.

Physiol. Rev., <u>46</u>, 1, 1-50.

OGURA, Y. et MORI, Y. (1963)

Effect of crystalline tetrodotoxin on the crayfish nerve-muscle preparation. Ann. Rept.Inst. Food.Microbiol. (Chiba Univ.), <u>16</u>, 64-71.

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. Gesamte Physiol. Menschen Tiere (Pflug.) <u>92</u>, 346.

PARKER, C.J.J. et GERGELY, J. (1960)

Soluble relaxing factor from muscle. J. Biol. Chem., 235, 3440-3453.

PARKER, C.J.J. et GERGELY, J. (1961)

The role of calcium in the adenosine triphosphatase activity of myofibrils and in the mechanism of the relaxing factor system of muscle. J. Biol. Chem., 236, 411-415.

PEACHEY, L.D. (1967)

Membrane systems of crab fibers. Amer. Zoologist, <u>7</u>, 505-513.

PEACHEY, L.D. (1968)

Muscle.

Ann. Rev. Physiol., 30, 201-440.

PODOLSKY, R.J. et COSTANTIN, L.L. (1964)

Regulation by calcium of the contraction and relaxation of muscle fibers.

Fed. Proc., 23, 933-939.

1. 26.

PORTZEHL, H. (1957)

Die Bindung des Erschlaffungsfaktors von Marsh an die Muskelgrana. Biochim. Biophys. Acta, 26, 373-377.

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.

RITCHIE, J.M. (1954)

The effects of nitrate on the active state of muscle. J. Physiol., London, 126, 155-168.

RITCHIE, J.M. et WILKIE, D.R. (1955)

The effect of previous stimulation on the active state of muscle. J. Physiol., London, <u>130</u>, 488-496.

SANDOW, A. (1964)

Potentiation of muscular contraction. Arch. Phys. Med. Rehabil., 45, 62-81.

SANDOW, A. (1965)

Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Pharmacol. Rev., 17, 3, 265-320.

SANDOW, A. (1970)

Skeletal muscle. Ann. Rev. Physiol., 32, 87-138. SUGI, H. et KOSAKA, K. (1964)

Summation of contraction in single crayfish muscle fibres.

Jap. J. Physiol., <u>14</u>, 450-467.

VASSORT, G., ROUGIER, O. et FAVELIER, J. (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., <u>238</u>, 599-605.

WEBER, A., HERZ, R. et REISS, I. (1964) The regulation of myofibrillar activity by calcium. Proc. Roy. Soc. B., <u>160</u>, 489-501.

WEBER, A., HERZ, R. et REISS, I. (1969) The rôle of magnesium in the relaxation of myofibrills. Biochemistry, <u>8</u>, 6, 2266-2270.

WEIDMANN, S. (1955)

Rectifier properties of Purkinje fibres. Amer. J. Physiol., <u>183</u>, 671.

WIERSMA, C.A.G. (1941)

The efferent innervation of muscle. Biol. Symp., $\underline{3}$, 259-289.

WILKIE, D.R. (1968)

Muscle. St MARTIN'S PRESS Ed., New-York.

WINEGRAD, S. (1961)

The possible rôle of calcium in excitation-contraction coupling of heart muscle. Circulation, $\underline{24}$, 2, 523-529.

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

Potassium contractures in single muscle fibres of the crayfish.

J. Physiol., London, 186, 596-618.