

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE  
LILLE I

pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR ÈS SCIENCES

par

**GHISLAIN HAUDECŒUR**

Maitre-Assistant

50376  
1975  
194

**RÉPONSE DÉPOLARISANTE DE LA FIBRE MUSCULAIRE  
STRIÉE SQUELETTIQUE PHASIQUE DU CRABE**

**Carcinus maenas.**

**NATURE IONIQUE**

**LOCALISATION DES CONDUCTANCES IONIQUES**

**MEMBRANAIRES RESPONSABLES EN RAPPORT**

**AVEC L'ULTRASTRUCTURE**



soutenue le 13 septembre 1975  
devant la Commission d'examen

- MM. CAPURON : Professeur à l'Université de LILLE I.  
CORABŒUF : Professeur à l'Université de PARIS XI.  
GARGOUIL : Professeur à l'Université de POITIERS.  
GIRARDIER : Professeur à l'Université de GENEVE.  
GUILBAULT : Professeur à l'Université de LILLE I.  
PERTUZON : Professeur à l'Université de LILLE I.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Physiologie Cellulaire sous la direction de Monsieur le Professeur GUILBAULT à qui, en fait, je dois la formation m'ayant permis d'arriver à ce stade. Que Monsieur le Professeur GUILBAULT trouve ici l'expression de mon entière gratitude.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur CAPURON, Monsieur le Professeur GARGOUIL, Monsieur le Professeur CORDIER, Monsieur le Professeur PERTUZON pour avoir accepté de consacrer leur temps et leur compétence à l'examen de mon travail, ainsi que Monsieur le Professeur CORABOEUF qui a bien voulu, en outre, assurer la présidence de mon jury.

La réalisation d'une thèse ne peut se faire seul et je remercie tous ceux qui m'ont apporté leurs suggestions et aide amicale. Je pense particulièrement à Mademoiselle BOUTIER pour la partie technique, Mademoiselle BOISON pour la typographie et Messieurs BOUS et DESLANDES pour la partie électronique. L'aide de Monsieur le Professeur VANDORPE pour le dosage des ions  $K^+$  et  $Rb^+$  intracellulaires et celle de Monsieur le Professeur LOUAGE pour l'analyse mathématique de la réponse transmembranaire de la membrane à un créneau de courant m'ont été précieuses et je leur en suis reconnaissant.

Nombreux sont ceux que je dois remercier, mais je risquerais d'en oublier en les citant. Néanmoins je ne saurais terminer sans rendre hommage à Monsieur le Professeur BOUISSET qui m'a donné le goût de la Physiologie.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	p. 1
CHAPITRE I.....	p. 5
1 - Morphologie.....	p. 5
11 - Fibre en place.....	p. 5
12 - Fibre isolée.....	p. 6
2 - Structure et ultrastructure.....	p. 9
21 - Cloisonnement longitudinal.....	p. 9
22 - Systèmes tubulaires transverses (STT).....	p. 16
221 - $T_{AI}$ .....	p. 16
222 - $T_Z$ .....	p. 21
23 - Réticulum sarcoplasmique longitudinal.....	p. 24
3 - Rôle du STT.....	p. 24
31 - Selon PEACHEY (1967).....	p. 27
32 - Selon BRANDT et Coll. (1965).....	p. 28
33 - En rapport avec sa structure.....	p. 28
4 - Conclusion.....	p. 33
CHAPITRE II.....	p. 35
1 - Considérations générales.....	p. 35
2 - Schémas électriques équivalents.....	p. 46
21 - Schéma de EISENBERG (1967).....	p. 46
22 - Schéma de GIRARDIER et Coll. (1963).....	p. 50
3 - Elaboration du schéma de la fibre de crabe.....	p. 52
31 - Séparation des deux systèmes membranaires...	p. 52
311 - Montage.....	p. 52
312 - Analyse.....	p. 56
3121 - Formulation mathématique.....	p. 56
3122 - Discrimination des 2 circuits R.C.	p. 67

31221 - Importance du matériel amorphe ( $R_b$ et $R_t$ ).....	p. 68
31222 - Blocage du sarcolemme.....	p. 70
31223 - Blocage des tubules.....	p. 72
31224 - "Détubulation" de la fibre	p. 73
32 - Perméabilités ioniques membranaires au repos	p. 81
321 - Données générales.....	p. 81
3211 - Potentiel au repos ( $E_r$ ).....	p. 81
3212 - Perméabilités sélectives des systèmes membranaires.....	p. 84
322 - Perméabilité du sarcolemme au $K^+$ .....	p. 86
323 - Perméabilité des tubules au $Cl^-$ .....	p. 89
324 - Perméabilité de la membrane au $Na^+$ et ions divalents.....	p. 100
33 - Perméabilités ioniques membranaires lors de l'activité.....	p. 102
331 - Considérations générales.....	p. 102
332 - Réponse dans les conditions normales ( $R_d$ )	p. 109
3321 - Influence de l'intensité du cou- rant de stimulation.....	p. 112
3322 - Propagation.....	p. 115
3323 - Influence de la durée du courant de stimulation.....	p. 115
3324 - Relation $E_r - R_d$ .....	p. 119
3325 - Conclusion.....	p. 122
333 - Localisation du courant entrant.....	p. 123
34 - Schéma électrique équivalent de la fibre de crabe.....	p. 127

CHAPITRE III..... p. 129

1 - Courant entrant.....	p. 129
11 - Nature.....	p. 129
111 - Action d'un milieu privé de $Na^+$ .....	p. 129
112 - Action de la TTX.....	p. 130

113 - Action du $Mn^{++}$ .....	p. 132
114 - Action d'un milieu privé de $Ca^{++}$ .....	p. 134
115 - Relation $R_d - [Ca^{++}]_e$ .....	p. 137
116 - Action d'un milieu en $Ca^{++}$ et $Na^+$ .....	p. 139
117 - Conclusion.....	p. 142
12 - Recherche de $E_{Ca + Na}$ .....	p. 142
121 - Application de l'équation de NERNST...	p. 143
122 - D'après MOUNIER et VASSORT (1973).....	p. 145
123 - Détermination par potentiel imposé.....	p. 146
1231 - Montage.....	p. 146
1232 - Courant de membrane.....	p. 148
124 - Conclusion.....	p. 154
2 - Probabilité d'un shunt de la réponse.....	p. 155
3 - Courant sortant.....	p. 158
31 - Action du TEA.....	p. 160
311 - Données générales.....	p. 160
312 - Action sur la $R_d$ .....	p. 162
32 - Action du $Rb^+$ .....	p. 167
321 - Action du $Rb^+$ remplaçant le $K^+$ extra- et intracellulaire.....	p. 167
322 - Action simultanée du $Rb^+$ et du TEA....	p. 171
4 - Phénomènes de rectification membranaire.....	p. 173
41 - Etude en courant imposé.....	p. 174
411 - Dans les conditions normales.....	p. 174
412 - En milieu privé de $Ca^{++}$ .....	p. 177
413 - En milieux appauvris en $Cl^-$ ou sans $Cl^-$	p. 179
414 - En présence, uniquement, d'ions chlorure	p. 186
42 - Etude en potentiel imposé.....	p. 198
421 - Problème de la technique.....	p. 199
422 - Rectifications membranaires.....	p. 204
4221 - En présence de $Mn^{++}$ .....	p. 204
4222 - En absence de $Ca^{++}$ .....	p. 206

4223 - En absence de $Ca^{++}$ et en présence de TEA.....	p. 206
4224 - En absence de $Cl^{-}$ .....	p. 211
4225 - En présence de $Mn^{++}$ et de TEA...	p. 211
423 - Conclusion.....	p. 213

CHAPITRE IV..... p. 217

1 - Localisation des conductances de repos..... p. 217

11 -  $g_K$ ..... p. 218

12 -  $g_{Cl}$ ..... p. 220

13 - Conclusion..... p. 220

2 - Localisation des conductances d'activité..... p. 221

21 - Localisation des phénomènes de rectification p. 221

211 - Considérations générales..... p. 221

212 - Localisation..... p. 223

22 - Localisation de  $g_{Ca + Na}$ ..... p. 226

221 -  $R_d$  en profondeur..... p. 227

222 - Augmentation de  $R_{sarcolemme}$ ..... p. 229

223 - Augmentation de  $R_{sarcolemme}$  et  $R_{tubules}$  p. 236

224 - Importance de  $E_{Cl}$ ..... p. 243

2241 - Considérations générales..... p. 243

2242 - Action de  $\theta$ ..... p. 246

22421 - Sur  $E_r$ ..... p. 246

22422 - Sur la  $R_d$ ..... p. 249

2243 - Conclusion..... p. 256

CONCLUSION GENERALE..... p. 257

RESUME..... p. 271

BIBLIOGRAPHIE..... p. I

ANNEXE I..... p. XLI

ANNEXE II..... p. XLVII

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Anatomie d'une patte de crabe.....	p. 7
Figure 2 : Morphologie d'une fibre isolée.....	p. 8
Figure 3 : Coupes transversales d'une fibre.....	p. 10
Figure 4 : Coupe transversale d'un faisceau de fibres.	p. 13
Figure 5 : Images de VERATTI (1902).....	p. 14
Figure 6 : Reconstitution de la structure de la fibre.	p. 15
Figure 7 : Organisation des sarcomères.....	p. 17
Figure 8 : STT en zone périphérique.....	p. 19
Figure 9 : Image de contacts diadiques.....	p. 20
Figure 10 : STT en zone profonde.....	p. 22
Figure 11 : Image donnant le rapport entre le $T_Z$ et le $T_{AI}$ .....	p. 23
Figure 12 : Coupe longitudinale de la fibre de crabe...	p. 25
Figure 13 : Organisation schématique du STT.....	p. 30
Figure 14 : Schématisation de la fibre de crabe.....	p. 32
Figure 15 : Conductances membranaires lors du PA (HODGKIN et HUXLEY, 1952).....	p. 36
Figure 16 : Schéma électrique équivalent de la fibre excitable (HODGKIN et HUXLEY, 1952)..	p. 39
Figure 17 : Schéma électrique équivalent de la peau de grenouille (FINKELSTEIN, 1964).....	p. 40
Figure 18 : Schéma électrique équivalent de la fibre squelettique de grenouille (FREYGANG et Coll., 1967).....	p. 42
Figure 19 : Schéma électrique équivalent de la fibre de crabe (EISENBERG, 1967).....	p. 43
Figure 20 : Schéma électrique équivalent de la fibre d'écrevisse (GIRARDIER et Coll., 1963).....	p. 44

Figure 21 : Schéma électrique équivalent de la fibre d'écrevisse (REUBEN et Coll., 1967).....	p. 45
Figure 22 : Schéma électrique équivalent de la fibre de crabe (EISENBERG, 1967).....	p. 48
Figure 23 : Montage utilisé pour l'étude en courant imposé.....	p. 54
Figure 24 : Schémas électriques équivalents de la fibre de crabe placée sous différentes conditions.....	p. 57
Figure 25 : Modèle électrique de la fibre de crabe (EISENBERG, 1967).....	p. 61
Figure 26 : Relations $\text{Log}(V-v_t) = f(t)$ obtenues sur le modèle dans différentes conditions expérimentales.....	p. 62
Figure 27 : Importance de $R_b$ et $R_t$ .....	p. 65
Figure 28 : Réponse impulsionnelle de la fibre de crabe	p. 69
Figure 29 : $\text{Log}(V-v_t) = f(t)$ sur fibre où $R_s$ est bloquée.....	p. 71
Figure 30 : $\text{Log}(V-v_t) = f(t)$ sur fibre où $R_{ce}$ est bloquée.....	p. 74
Figure 31 : $\text{Log}(V-v_t) = f(t)$ sur fibre "détubulée"...	p. 78
Figure 32 : $E_r = f(t)$ en milieu $[K^+]_e = 0$ .....	p. 87
Figure 33 : $E_r = f(t)$ en milieu acide.....	p. 90
Figure 34 : $E_r = f(t)$ en milieu $[Cl^-]_e = 0$ (propionate)	p. 93
Figure 35 : $E_r = f(t)$ en milieu $[Cl^-]_e = 0$ ( $NO_3^-$ ).....	p. 96
Figure 36 : $E_r = f(t)$ en milieu appauvri en $Cl^-$ .....	p. 98
Figure 37 : $E_r = f(t)$ en milieu enrichi en $Cl^-$ .....	p. 99
Figure 38 : Exemple de $R_d$ dans les conditions normales.	p. 111
Figure 39 : Différents types de PA (OZEKI, 1969).....	p. 113

Figure 40 : Différents types de $R_d$ de la fibre de crabe	p. 114
Figure 41 : Propagation de la $R_d$ le long du sarcolemme	p. 116
Figure 42 : $R_d = f$ (durée de stimulation).....	p. 118
Figure 43 : $R_d = f$ ( $E_r$ ).....	p. 120
Figure 44 : $R_d$ obtenues par des courants dépolarisants durables.....	p. 121
Figure 45 : Schéma électrique équivalent de la fibre de crabe.....	p. 127
Figure 46 : $R_d$ en milieu $[Na^+]_e = 0$ .....	p. 131
Figure 47 : $R_d$ en présence de TTX.....	p. 133
Figure 48 : $R_d$ en présence de $Mn^{++}$ .....	p. 135
Figure 49 : $R_d$ en milieu $[Ca^{++}]_e = 0$ .....	p. 136
Figure 50 : $R_d = f$ ( $[Ca^{++}]_e$ ).....	p. 138
Figure 51 : $R_d$ en présence d'un excès de $Na^+$ .....	p. 140
Figure 52 : $R_d$ en présence d'un excès de $Na^+$ et $Ca^{++}$ ...	p. 141
Figure 53 : Montage utilisé pour l'étude en potentiel imposé.....	p. 147
Figure 54 : Courants de membrane dans les conditions normales.....	p. 149
Figure 55 : Caractéristiques $I_m - E_i$ dans les conditions normales.....	p. 151
Figure 56 : Détermination de la pile d'inversion aux ions entrants.....	p. 153
Figure 57 : Cloisonnement d'une fibre par ligature.....	p. 157
Figure 58 : $R_d$ en présence de TEA.....	p. 163
Figure 59 : $R_d = f$ ( $[TEA]_e$ ).....	p. 165
Figure 60 : Durée de la phase de repolarisation de la $R_d$ en fonction du temps en présence de TEA.	p. 166

Figure 61 : $R_d$ en présence de $Rb^+$ .....	p. 168
Figure 62 : $R_d$ obtenue lorsque $Rb^+$ remplace $K^+$ intracellulaire.....	p. 170
Figure 63 : $R_d$ en présence de TEA extracellulaire (20 mM) et de $Rb^+$ intracellulaire.....	p. 172
Figure 64 : Caractéristiques $I_i-E_m$ de différentes fibres de crabe (ATWOOD et COLL., 1965).....	p. 175
Figure 65 : Relation $I_i-E_m$ dans les conditions normales	p. 176
Figure 66 : Relation $I_i-E_m$ en absence de $Ca^{++}$ .....	p. 178
Figure 67 : $R_d$ en milieu appauvri en $Cl^-$ .....	p. 180
Figure 68 : Caractéristique $I_i-E_m$ en milieu $[Cl^-]_e = 0$	p. 181
Figure 69 : Caractéristique $I_i-E_m$ en présence, uniquement, de $K^+$ et $Ca^{++}$ .....	p. 183
Figure 70 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en milieu isotonique de $K^+$ .....	p. 185
Figure 71 : $R_d$ en présence d'un excès de $Cl^-$ .....	p. 187
Figure 72 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en présence, uniquement, de $Cl^-$ .....	p. 188
Figure 73 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en présence, uniquement, de $Cl^-$ et de $Rb^+$ .....	p. 190
Figure 74 : $E_m = f(I_i)$ en présence, uniquement, de $Cl^-$ et de TEA.....	p. 192
Figure 75 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en présence, unique- ment, de $Cl^-$ et de TEA.....	p. 193
Figure 76 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en présence, unique- ment, de $Cl^-$ (60 mM).....	p. 195
Figure 77 : Caractéristiques $I_i-E_m$ en présence, unique- ment, de $Cl^-$ (1188 mM).....	p. 197
Figure 78 : Montage utilisé pour la mesure de $E_r$ .....	p. 201
Figure 79 : $E_r = f(t)$ en technique de séparation de saccharose.....	p. 202

Figure 80 : $E_r = f(t)$ en milieu isotonique du milieu intracellulaire.....	p. 203
Figure 81 : Courants de membrane en présence de $Mn^{++}$ ...	p. 205
Figure 82 : Caractéristiques $I_m - E_i$ en présence de $Mn^{++}$ .	p. 207
Figure 83 : Caractéristiques $I_m - E_i$ en absence de $Ca^{++}$ ..	p. 208
Figure 84 : Courants de membrane en absence de $Ca^{++}$ et en présence de TEA.....	p. 209
Figure 85 : Caractéristiques $I_m - E_i$ en absence de $Ca^{++}$ et en présence de $TEA^i$ .....	p. 210
Figure 86 : Caractéristique $I_m - E_i$ en absence de $Ca^{++}$ et $Cl^-$ .....	p. 212
Figure 87 : Caractéristique $I_m - E_i$ en présence de $TEA^+$ et $Mn^{++}$ .....	p. 214
Figure 88 : $E_r = f([K^+]_e)$ sur fibre "détubulée".....	p. 219
Figure 89 : Caractéristiques $I_i - E_m$ sur fibre "détubulée"	p. 225
Figure 90 : $R_d$ d'une fibre "détubulée".....	p. 228
Figure 91 : Caractéristiques $I_i - E_m$ en présence, uniquement, de $Ca^{++}$ et $Rb^+_m$ .....	p. 230
Figure 92 : $R_d$ en présence de $Rb^+$ et de TEA (100 mM)...	p. 232
Figure 93 : $R_d$ en présence de $Rb^+$ et de TEA et en absence de $Na^+$ .....	p. 233
Figure 94 : $R_d$ en milieu TEA acide.....	p. 235
Figure 95 : $R_d$ en milieu acide appauvri en $Cl^-$ .....	p. 238
Figure 96 : $R_d$ , en milieu acide appauvri en $Cl^-$ , d'une fibre cloisonnée.....	p. 240
Figure 97 : $E_r = f(\theta)$ .....	p. 247
Figure 98 : $R_d = f(\theta)$ .....	p. 250
Figure 99 : $R_d = f(\text{durée de stimulation})$ à basse $\theta$ ....	p. 252

Figure 100 : Post-potentiel négatif de la $R_d$ à basse $\theta$ .	p. 253
Figure 101 : Activité spontanée à basse $\theta$ .....	p. 254
Figure 102 : Caractéristiques $I_i - E_m$ à basse $\theta$ .....	p. 255
Figure 103 : Schéma électrique équivalent de la fibre de crabe.....	p. 264
Figure 104 : Courbes d'étalonnage pour le dosage de $K^+$ et $Rb^+$ .....	p. II
Figure 105 : $[K]_i$ et $[Rb]_i = f(t)$ sur la fibre de grenouille (ADRIAN, 1964).....	p. LI.

TABLE DES ABREVIATIONS

$\alpha$	: Coefficient d'exponentielle
$[Ca^{++}]_e$	: Concentration extracellulaire en ions calcium
$[Ca^{++}]_i$	: Concentration intracellulaire en ions calcium
$[Cl^-]_e$	: Concentration extracellulaire en ions chlorure
$[Cl^-]_i$	: Concentration intracellulaire en ions chlorure
$C_m$	: Capacité de la membrane
$C_s$	: Capacité de la membrane sarcolemmique
$d$	: Distance interélectrode
DNP	: Dinitrophenol
$\Delta t$	: Durée du créneau de potentiel imposé
E	: Extérieur
$E_{Ca + Na}$	: Pile aux ions calcium et sodium
$E_{Cl}$	: Pile aux ions chlorure
$E_i$	: Potentiel imposé
$E_K$	: Pile aux ions potassium
$E_m$	: Potentiel de membrane
$E_{Na}$	: Pile aux ions sodium
$E_r$	: Potentiel de repos
$E_{ri}$	: Potentiel de repos imposé (= "Holding potential")
F	: Fibre
$g_{Ca + Na}$	: Conductance de la membrane aux ions calcium et sodium
$g_{Cl}$	: Conductance de la membrane aux ions chlorure
$g_K$	: Conductance de la membrane aux ions potassium

$g_{K + Na}$  : Conductance de la membrane aux ions potassium et sodium  
 $g_{Na}$  : Conductance de la membrane aux ions sodium  
 $I$  : Intérieur  
 $I_i$  : Courant imposé  
 $I_m$  : Courant de membrane  
 $[K^+]_e$  : Concentration extracellulaire en ions potassium  
 $[K^+]_i$  : Concentration intracellulaire en ions potassium  
 $mM$  : Millimole  
 $[Mn^{++}]$  : Concentration en ions manganèse  
 $[Na^+]_e$  : Concentration extracellulaire en ions sodium  
 $[Na^+]_i$  : Concentration intracellulaire en ions sodium  
 $[NO_3^-]_e$  : Concentration extracellulaire en ions nitrate  
 $PA$  : Potentiel d'action  
 $R_b$  : Résistance du matériel amorphe recouvrant la membrane sarcolemmique  
 $[Rb^+]_e$  : Concentration extracellulaire en ions rubidium  
 $[Rb^+]_i$  : Concentration intracellulaire en ions rubidium  
 $R_{ce}$  : Résistance de la membrane des tubules  
 $R_d$  : Réponse dépolarisante  
 $R_m$  : Résistance de la membrane  
 $R_s$  : Résistance de la membrane du sarcolemme  
 $RSL$  : Réticulum sarcoplasmique longitudinal  
 $R_t$  : Résistance longitudinale de la lumière des tubules  
 $STT$  : Système tubulaire transverse

- t : Temps
- $\theta$  : Température en °C
- $T_{AI}$  : Système tubulaire transverse en position jonction  
bande A - bande I
- $TEA^+$  : Ions tetraethylammonium
- $[TEA^+]_e$  : Concentration extracellulaire en ions  
tetraethylammonium
- TTX : Tetrodotoxine
- $T_Z$  : Système tubulaire transverse au niveau de la  
strie Z
- $Z_m$  : Impédance de la membrane

- INTRODUCTION -

Le travail présenté dans ce mémoire a consisté à essayer d'établir un rapport entre la structure complexe de la fibre musculaire striée squelettique de crabe *Carcinus maenas* et ses propriétés électrophysiologiques. En effet, les caractéristiques ultrastructurales d'une part, et électrophysiologiques d'autre part, des fibres de Crustacés sont connues. Néanmoins, les rapports possibles entre ces caractéristiques n'apparaissent pas aussi clairement que sur les fibres de Vertébrés, fibres qui révèlent d'ailleurs des différences importantes par rapport à celles de Crustacés.

La fibre de Crustacé, et plus particulièrement celle de crabe, possède de profondes invaginations longitudinales de la membrane sarcolemmique qui cloisonnent imparfaitement cette fibre selon des plans radiaux. De plus, le système tubulaire transverse, unique chez la fibre de Vertébré, est double chez celle de Crustacé. On distingue en effet pour cette dernière un système tubulaire transverse au niveau de la strie Z ( $T_z$ ) et un autre au niveau de la jonction bande A-bande I ( $T_{AI}$ ) (PEACHEY, 1967 ; SELVERSTON, 1967 ; MATHIEU, 1970). En outre, la fibre de crabe est poly-innervée (ATWOOD, 1963) à l'inverse de celle de Vertébré.

Si l'on considère la localisation des perméabilités ioniques membranaires de repos, il apparaît, à l'analyse de la littérature, que la membrane tubulaire de la fibre de Vertébré

2.

est préférentiellement perméable aux ions potassium alors que celle de Crustacé l'est aux ions chlorure. A l'inverse, la membrane sarcolemmique de la fibre striée squelettique de Vertébré est perméable préférentiellement aux ions chlorure, celle de la fibre de Crustacé aux ions potassium.

A ces différences de perméabilités membranaires de repos s'ajoutent également celles d'activité. En effet, les fibres de Vertébrés répondent toutes par un potentiel d'action de type tout-ou-rien, alors que celles de Crustacés possèdent différents types de réponse allant de la réponse tout-ou-rien à la réponse passive en passant par la réponse graduée (FATT et KATZ, 1953 ; ATWOOD et Coll., 1965). La nature ionique de ces réponses est différente de celle des Vertébrés. En effet, la phase de dépolarisation de la fibre de Vertébré est due à l'activation rapide d'une conductance sodique inhibée par la tétrodotoxine ; celle de la fibre de Crustacé est due à l'activation lente d'une conductance, généralement de nature calcique, inhibée par les ions  $Mn^{++}$  ou  $La^{+++}$ . En ce qui concerne la phase de repolarisation de la réponse, elle est liée à des phénomènes de rectification membranaire traduisant des variations de conductance de la membrane, variations, fonction du potentiel et du temps. Ces variations intéressent généralement la conductance aux ions potassium. Ainsi, les ions tétraéthylammonium inhibant les phénomènes de rectification responsable de la

phase de repolarisation augmentent la durée de la réponse électrique, tant sur la fibre de Vertébré (HAGIWARA et WATANABE, 1955) que sur celle de Crustacé (FATT et KATZ, 1953). Toutefois, sur cette dernière, les ions tétraéthylammonium accroissent également l'amplitude.

Enfin, chez les fibres musculaires de crabe, l'absence ou l'existence de phénomènes de rectification membranaire est en relation avec le type de réponse électrique, comme le montrent ATWOOD et Coll. en 1965. Ne présentent une rectification anormale bien développée que les fibres répondant par une activité tout-ou-rien. Cette rectification anormale traduit le fait que, pour une même variation absolue de la valeur du potentiel à partir de celle de repos, le courant de membrane est plus important pour l'hyperpolarisation que pour la dépolarisation.

Compte-tenu de toutes ces différences existant entre les fibres de Vertébrés et celles de Crustacés, notre étude a porté, pour une large part, sur les caractéristiques électrophysiologiques de la fibre de crabe (*Carcinus maenas*) au repos et en activité ; elle est placée dans différentes conditions expérimentales de façon à tenter d'établir une relation entre sa structure et sa réponse électrique. C'est pourquoi dans ce mémoire seront successivement présentés les résultats concernant :

- l'étude des caractéristiques morphologiques et ultrastructurales (en se fondant sur les travaux de MATHIEU,

1970) qui font ressortir que les systèmes tubulaires transverses  $T_Z$  et  $T_{AI}$  possèderaient la même fonction dans le couplage excitation - contraction, du fait de la présence du même type de rapport de contiguïté aux extrémités de chacun d'eux avec le réticulum sarcoplasmique longitudinal (diades ou même triades);

- la schématisation électrique de la membrane (à partir des travaux de EISENBERG, 1967) permettant d'expliquer ses propriétés électriques et de prévoir comment elles peuvent évoluer en fonction de modifications ioniques du milieu extracellulaire;

- la nature ionique du potentiel de repos et de la réponse électrique en relation avec les différentes conductances membranaires impliquées;

- finalement, la localisation de ces conductances membranaires de repos et d'activité. Cette recherche de localisation est fondée sur les modifications de la réponse liées au blocage de telle ou telle conductance déterminée par suppression du système membranaire où siège cette conductance.

## CHAPITRE I

### CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURALES DE LA PREPARATION.

- 1 - Morphologie
- 2 - Structure et ultrastructure
- 3 - Système tubulaire transverse - Caractéristiques - Rôle.
- 4 - Conclusion

Les photographies de microscopie électronique concernant l'ultrastructure de la fibre musculaire striée squelettique du crabe *Carcinus maenas* sont empruntées à MATHIEU (1970), sauf celles de la figure 5, empruntées à VERATTI (1902).

La fibre striée squelettique utilisée provient du méropodite de l'une des pattes locomotrices du crabe enragé (*Carcinus maenas*). Cet animal, en provenance des côtes de la région du Nord (Institut de Biologie Marine de WIMEREUX et Laboratoire Maritime de LUC sur MER) est gardé en survie dans de l'eau de mer renouvelée, aérée et maintenue à la température de 10 à 12°C.

## 1 - MORPHOLOGIE

La fibre étudiée présente la caractéristique d'être de grandes dimensions et de pouvoir être isolée aisément des autres fibres.

### 1.1. Fibre en place

Elle est choisie au niveau du méropodite d'un périopode indifféremment  $P_1$ ,  $P_2$  ou  $P_3$ . L'accès se fait par section selon les deux arêtes de la carapace du méropodite isolé au préalable par amputation du basi-ischiopodite et du carpopodite. Les deux préparations ainsi obtenues sont immergées dans le liquide physiologique normal (de référence) dont la composition est donnée par FATT et KATZ en 1953 (en mM : NaCl : 513 ; KCl : 12,9 ;  $CaCl_2$  : 11,8 ;  $MgCl_2$  : 23,6 ;  $CO_3HN_a$  : 2,6). Ce milieu, renouvelé constamment (débit moyen : 0,5 l/h) a un pH de 7,8 et une pression osmotique ( $\pi$ ) analogue à celle d'un

milieu contenant 1158 milliosmoles.

La figure 1 (p. 7 ) montre que les fibres en place dans le méropodite sont disposées parallèlement en quatre faisceaux insérés chacun au niveau de l'exosquelette (carapace) et d'un lame calcaire, l'endosquelette (apodème ou axostyle).

### 1.2. Fibre isolée

Selon les besoins, la fibre étudiée est laissée en place après dégagement des afférences connectives, ou isolée en maintenant ses points d'insertion au niveau d'un fragment de carapace et d'un fragment d'endosquelette comme le montre la figure 2 (p. 8 ).

1.2.1. - L'aspect de cette fibre révèle une forme peu cylindrique, comme le confirmeront des coupes transversales, et une striation longitudinale interrompue qui correspond à des invaginations radiales plus ou moins longues et plus ou moins profondes de la membrane sarcolemmique de surface.

1.2.2. - Les dimensions se révèlent variables selon le crabe, le périopode choisi et l'endroit où la fibre est prélevée (voir figure 1, p. 7 ). Le diamètre moyen varie entre 50 et 400  $\mu\text{m}$ . et la longueur de 300 à 1200  $\mu\text{m}$ .

1.2.3. - Des fragments de filets nerveux révèlent une poly-innervation de la fibre musculaire caractérisée par un

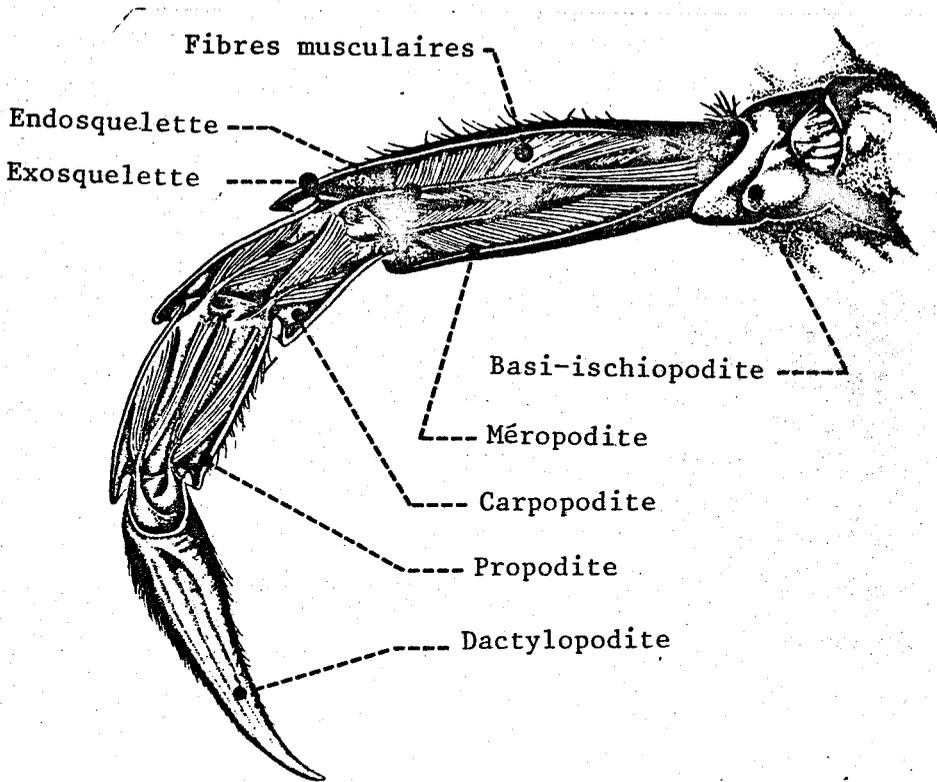


Figure 1 : Periopode  $P_0$  de *Carcinus maenas*.

Schéma montrant la musculature de l'une des pattes locomotrices du crabe après section d'une partie de la carapace. Le segment utilisé est le méropodite qui montre quatre faisceaux de fibres disposées parallèlement et insérés chacun sur la carapace d'une part (exosquelette) et sur une lame calcaire, l'apodème ou axostyle (endosquelette) d'autre part.

Echelle : x 3

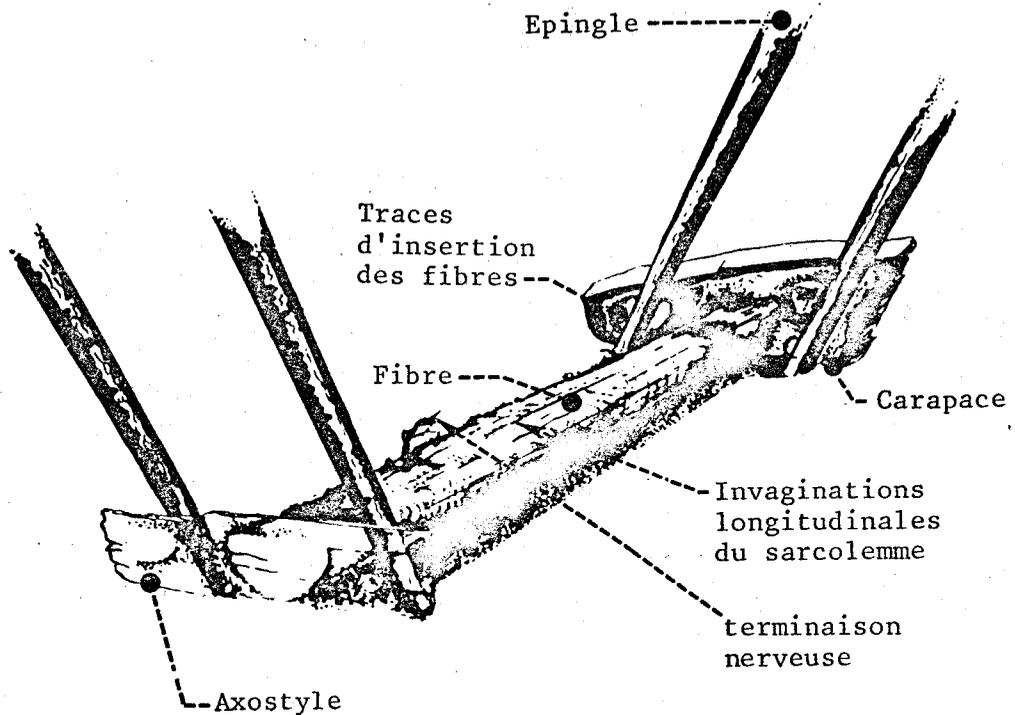


Figure 2 : Fibre musculaire striée squelettique de *Carcinus maenas*.

La fibre est isolée à partir du mēropodite de l'une des pattes locomotrices du crabe et maintenue dans du liquide physiologique. Il est à noter les stries longitudinales correspondant à des invaginations du sarcolemme et les fragments de filets nerveux.

Echelle : x 15 environ

grand nombre de terminaisons nerveuses se situant au niveau des stries longitudinales décrites ci-dessus (SELVERSTON, 1967). Cette poly-innervation est variable selon le Crustacé puisque DORAI RAJ (1964) et FAHRENBACH (1967) attribuent à chaque fibre musculaire du carpopodite de crabe (*Cancer magister*) un axone excitateur, deux selon HOYLE et WIERSMA (1958), ATWOOD et Coll. (1965) et un axone inhibiteur. Mais LANG et Coll. (1970) montrent que les fibres musculaires du propodite du crabe (*Paralithodes comtchatica*) possèdent deux axones excitateurs alors que SHERMANN et ATWOOD en 1972 n'observent qu'un seul nerf moteur pour la fibre musculaire du propodite de l'araignée de mer (*Hays areneus*), le nerf étant mixte dans ce cas. D'ailleurs ATWOOD (1963), LOCKWOOD (1968) et ATWOOD (1973) classent les fibres musculaires de Crustacés en différentes catégories selon les caractéristiques de leur innervation (axones "lents" ou "rapides") et selon la longueur de leurs sarcomères.

## 2 - STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE DE LA FIBRE

Les caractéristiques particulières de la fibre de crabe concernent l'existence d'un double système tubulaire transverse (STT) et d'invaginations du sarcolemme.

### 2.1. - Cloisonnement longitudinal

La coupe transversale d'une fibre de crabe (figure 3,

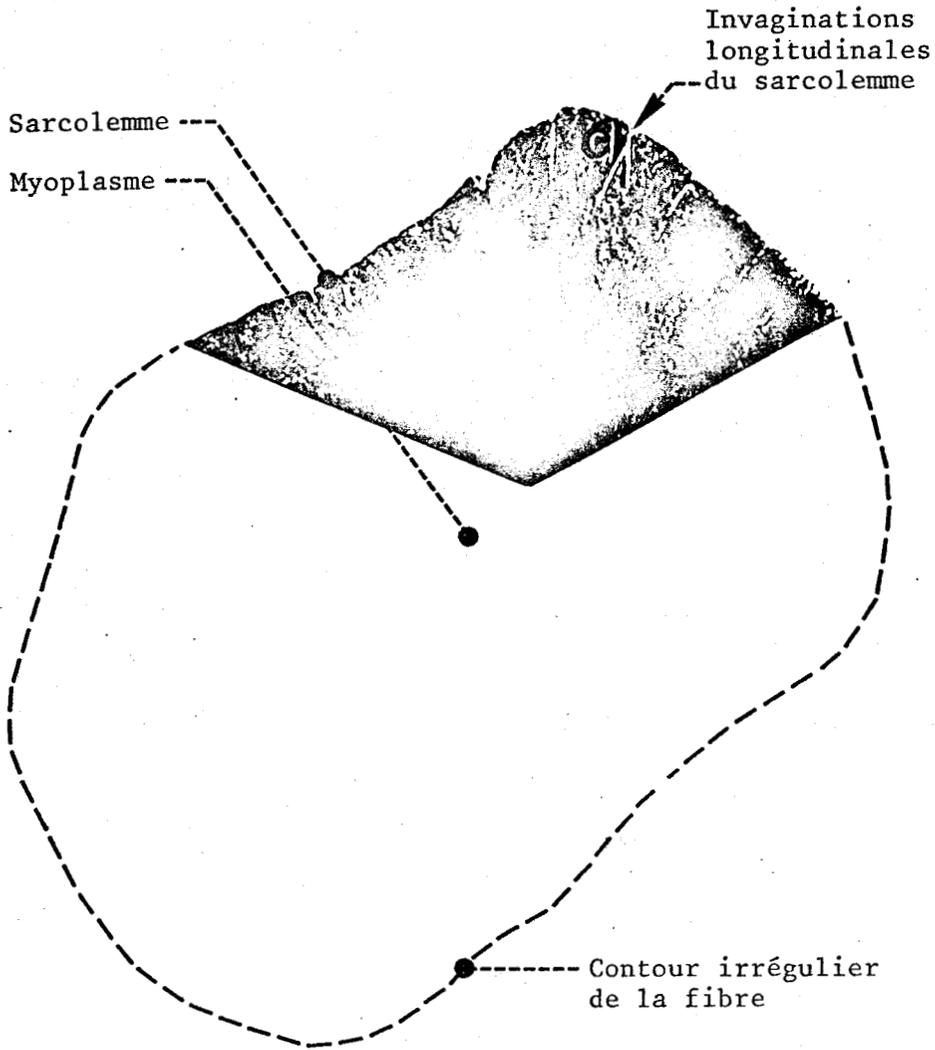


Figure 3a

Figure 3 : Coupes transversales d'une fibre musculaire striée squelettique de *Carcinus maenas*.

3 a : grossissement : x 250. Fixation osmique

A noter les invaginations longitudinales du sarcolemme vues en coupes s'enfonçant radialement à l'intérieur de la fibre dont le contour est relativement irrégulier.

3 b : grossissement : x 18000. Fixation au glutaraldéhyde. 1,5 p. 100

Détail d'une invagination (C) du sarcolemme montrant la présence de matériel dense à l'intérieur et la naissance des tubules transverses (T).

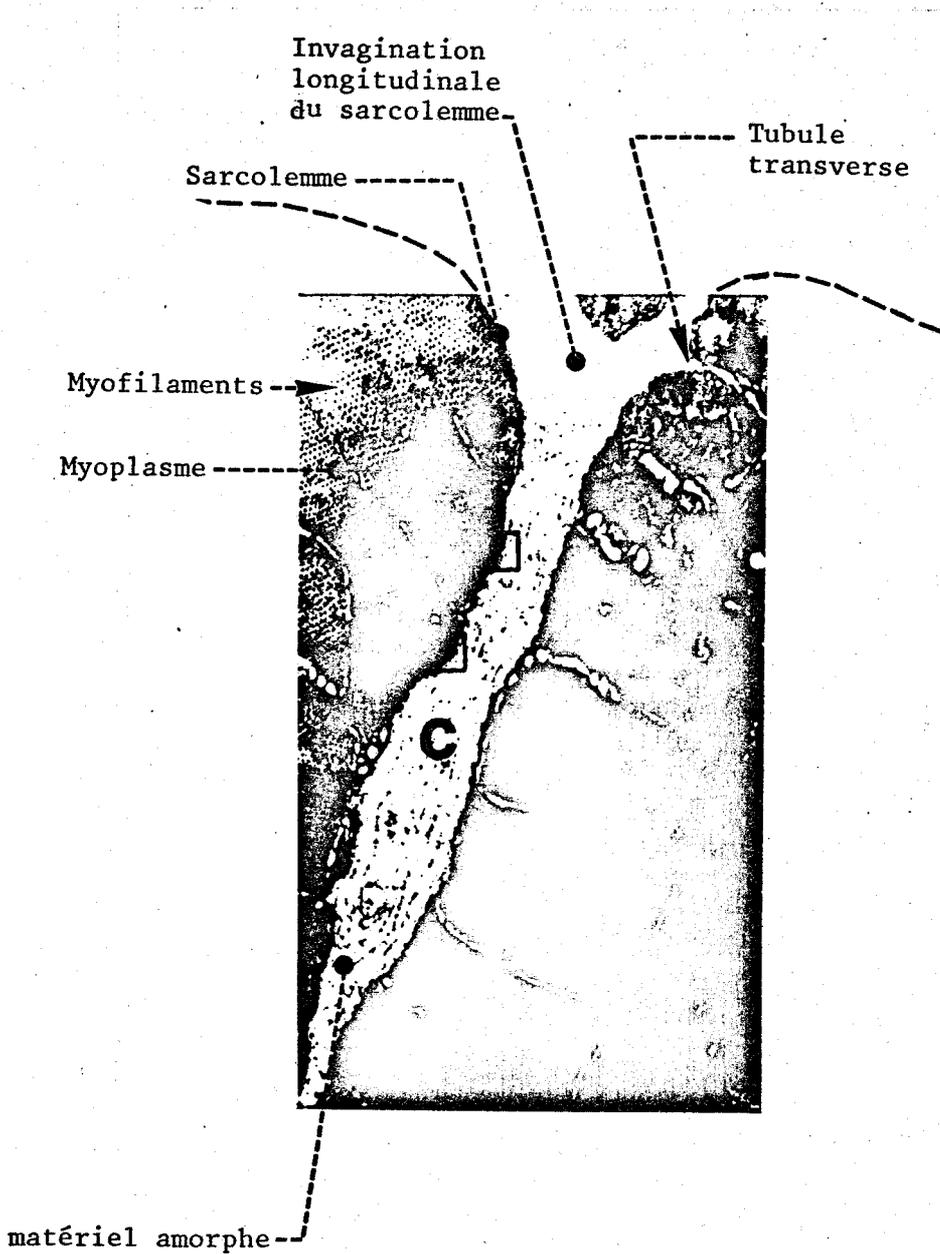


Figure 3 b

p.10 ) montre, outre la variabilité de la forme et des dimensions (figure 4, p. 13), l'existence d'invaginations longitudinales déjà observées dès 1902 par VERATTI (figure 5, p.14 ). Ces invaginations radiales et longitudinales du sarcolemme révèlent une structure constituée d'une membrane plasmique recouverte extérieurement d'une basale de matériel amorphe dont l'épaisseur (quelques dizaines de  $\mu\text{m}$ ) est variable. A l'intérieur des invaginations apparaît un matériel optiquement dense, en continuité avec la basale externe, associé à un matériel hétérogène constitué d'éléments conjonctifs, d'éléments figurés de la lymphe et de terminaisons nerveuses (D'ANCONA, 1925 ; MATHIEU, 1970). Ces invaginations longitudinales ("clefts"), observées depuis très longtemps (KÖLLIKER, 1866 ; RUTHERFORD, 1897 ; PEACHEY, 1966 , 1967, sur *Carcinus maenas* ; ROSENBLUTH, 1969, sur *Homarus americanus* ; HOYLE et SMYTH, 1963 ; BRIGDEN et Coll., 1971, sur *Balanus nubilus* ; ORENTLICHER et REUBEN, 1971, sur *Orconectes* et *Procambarus*), ont une disposition telle qu'aucune partie du myoplasme n'est à une distance supérieure à 50  $\mu\text{m}$  du milieu externe pour *Carcinus* et même à 2  $\mu\text{m}$  pour *Balanus* (BRIGDEN et Coll., 1971).

Ainsi, la fibre de crabe peut être considérée comme pseudo-cloisonnée longitudinalement (figure 6, p. 15).

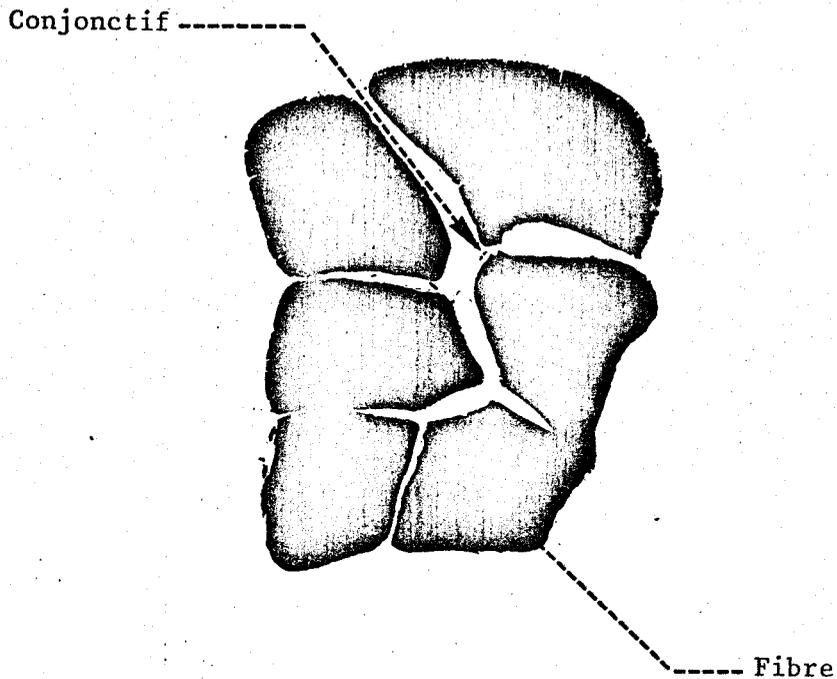


Figure 4 : Coupe transversale d'un faisceau de 6 fibres montrant l'irrégularité du contour de chacune des fibres.

grossissement : x 100 . CT de 0,5  $\mu\text{m}$ . coloration Bleu Azur II.  
 A noter la complémentarité de forme des différentes fibres du faisceau, d'ailleurs reliées entre elles par du conjonctif qui rend l'ensemble difficilement dissociable.



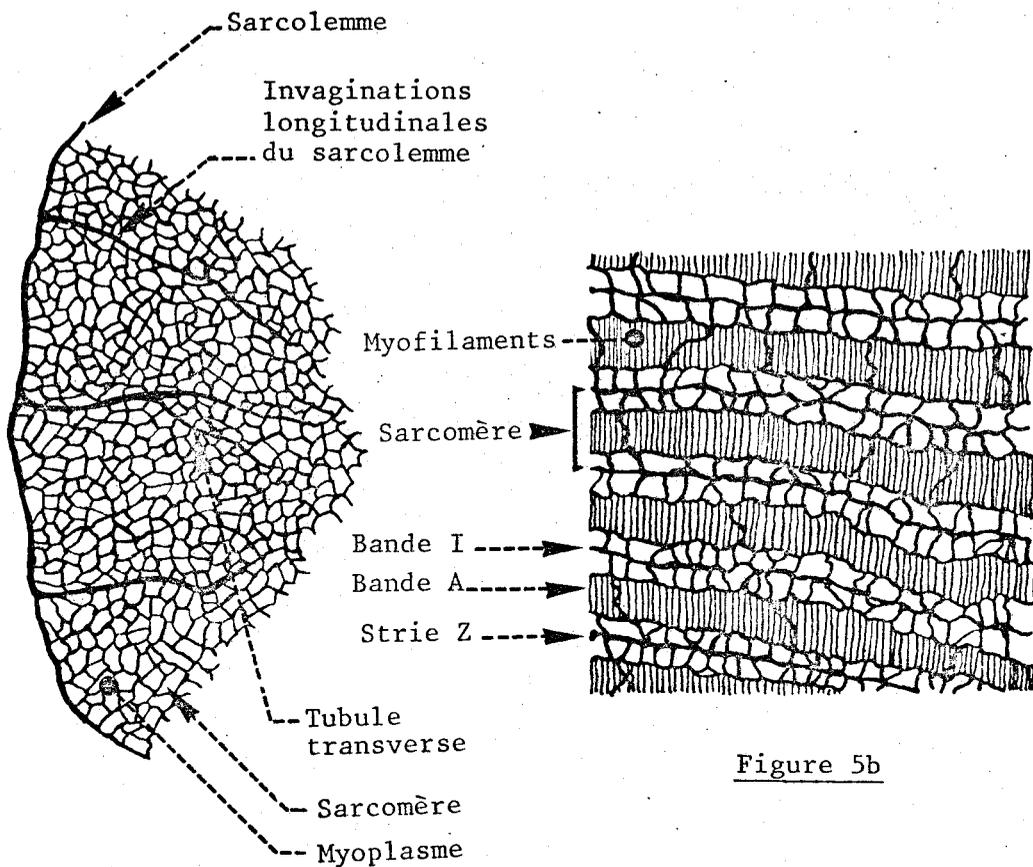


Figure 5a

Figure 5b

Figure 5 : Images de VERATTI (1902).

5 a : Coupe transversale d'une fibre musculaire de patte de *Carcinus maenas*.

5 b : Coupe longitudinale de la même préparation.

L'épaisseur des coupes relativement importante présente l'avantage de permettre la mise en évidence du système tubulaire transverse et les sarcomères ainsi que de la strie Z bien différenciée, de même que la jonction bande A - bande I.

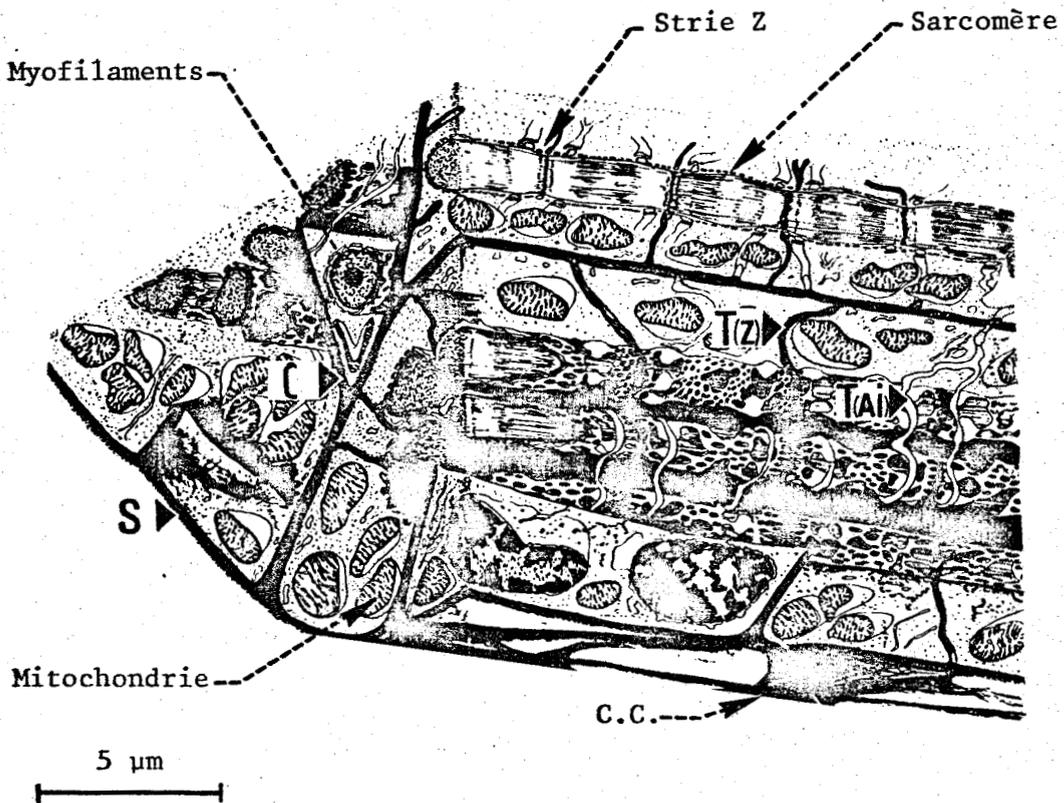


Figure 6 : Reconstitution schématique de la fibre musculaire striée squelettique de *Carcinus maenas*.  
Grossissement : x 6000.

Le sarcolemme (S) présente des invaginations longitudinales (C) plus ou moins profondes qui cloisonnent la fibre plus ou moins parfaitement et qui donnent naissance au système tubulaire transverse, T<sub>2</sub> au niveau de la strie Z délimitant les sarcomères et TA<sub>1</sub> au<sup>z</sup> niveau des jonctions bande A- bande I. Il est à noter les fibres conjonctives (C.C.) qui attachent les fibres musculaires.



## 2.2. - Systèmes tubulaires transverses

Outre les invaginations longitudinales du sarcolemme décrites ci-dessus, il faut noter la présence, pour les fibres de Crustacés, d'un STT particulier et complexe par rapport à celui observé chez les fibres squelettiques de Vertébrés. En effet, pour ces dernières, il existe un seul STT ~~au niveau de~~ la strie Z, (figure 7, P.17) alors que pour les fibres de Crustacés, outre un système analogue dénommé  $T_Z$ , il existe un autre système tubulaire transverse à la jonction bande A-bande I : le  $T_{AI}$ . Cette duplication du STT chez les Crustacés, associée à l'existence d'invaginations longitudinales du sarcolemme, permet une très forte pénétration du milieu extracellulaire dans la profondeur de la fibre.

### 2.2.1. - $T_{AI}$

Il se reconnaît sur les coupes microscopiques par sa lumière optiquement vide semblable à celle du STT de la fibre squelettique de Vertébré et surtout, par sa position au niveau des jonctions bande A - bande I des sarcomères. Son origine est variée car il correspond, si l'on considère ses caractéristiques ultrastructurales définies ci-dessus :

- soit à des invaginations de la membrane plasmique du sarcolemme ou des invaginations longitudinales de celles-ci.
- soit à des ramifications du deuxième système tubulaire loca-

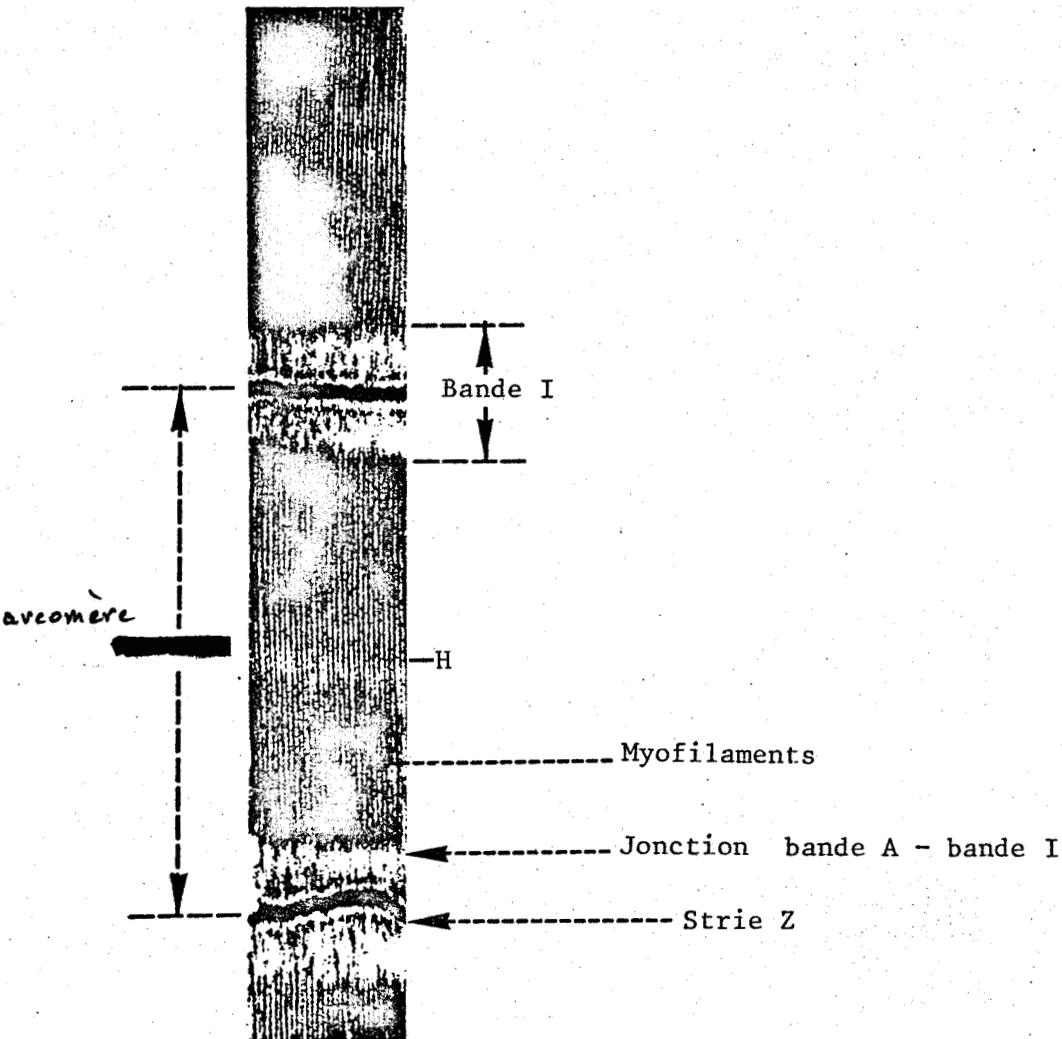


Figure 7 : Détail de l'organisation des myofilaments en sarcomères  
grossissement : x 2500. Fixation au glutaraldéhyde

Organisation classique des sarcomères reliés entre eux au niveau de la strie Z située au milieu de la bande claire isotrope (I). La bande sombre ou anisotrope (A) est séparée en deux par une zone claire (zone H). A noter la strie Z plus ou moins contournée et la jonction bande A - bande I où se situent les deux systèmes tubulaires transverses ( $T_Z$  et  $T_{AI}$ ).



lisé au niveau des stries Z, comme le montrent BRANDT et Coll. (1965) sur la fibre d'écrevisse et MATHIEU en 1970 sur la fibre de crabe.

Ce  $T_{AI}$  participe, pour une grande part, aux relations entre le STT et le système constituant le réticulum sarcoplasmique longitudinal (RSL). Le contact se fait généralement à l'extrémité du tubule avec un gonflement du RSL appelé citerne et situé au niveau de la jonction bande A - bande I (figure 8, p. 19 et figure 9, p.20 ). Ce contact dit diadique ou diade est caractéristique des Crustacés (PEACHEY et HUXLEY, 1964 ; PEACHEY, 1967 ; ATWOOD, 1971) et des Arthropodes en général (SMITH, 1965 , 1966 ; COCHRANE et Coll., 1972). Néanmoins, chez le crabe, le  $T_{AI}$  peut présenter avec le RSL des contacts triadiques ou triades (MATHIEU, 1970), c'est-à-dire qu'il est en relation bilatérale avec deux citernes voisines, ces triades étant caractéristiques des Vertébrés (PEACHEY, 1967). Ces rapports de contiguïté diades ou triades permettent à PEACHEY (1965) d'accorder au  $T_{AI}$  de crabe les mêmes propriétés fonctionnelles que le STT unique observé chez la fibre squelettique de Vertébré (BIRKS, 1965 ; PEACHEY, 1966 ; HOWELL, 1969).

Il faut enfin remarquer que le  $T_{AI}$  de la fibre de crabe est observé par PEACHEY (1967) à la périphérie de la fibre émanant du sarcolemme et de ses invaginations longitudinales alors que MATHIEU (1970) observe qu'en profondeur également,

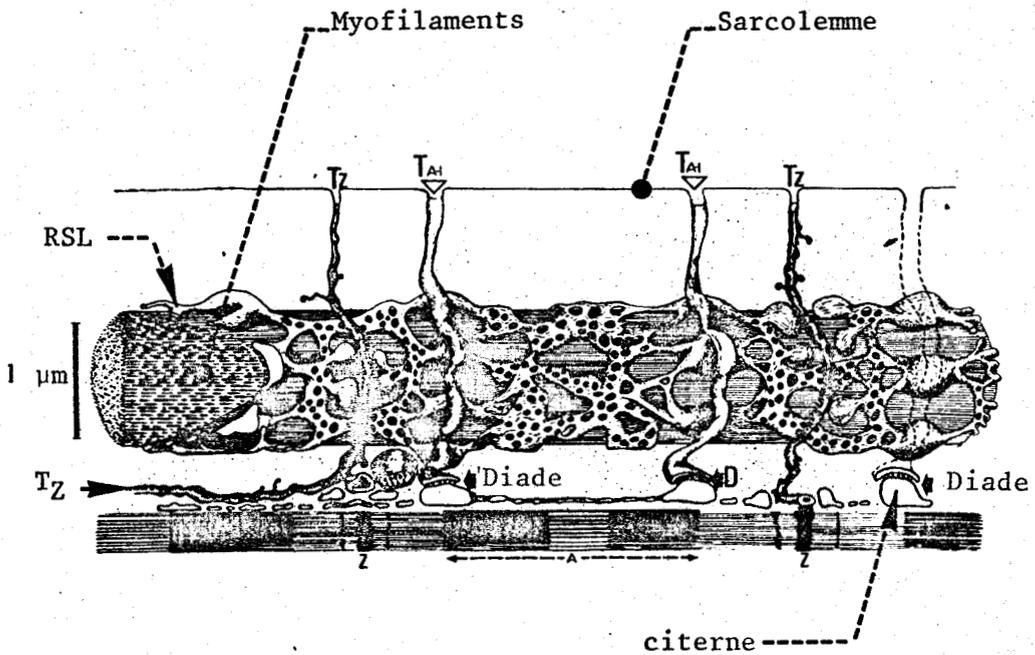


Figure 8 : Organisation des systèmes tubulaires transverses au niveau des sarcomères de surface.

Grossissement : x 16000.

Le réticulum sarcoplasmique longitudinal forme un manchon autour des myofilaments. Le  $T_z$ , à lumière opaque, situé au niveau de la strie Z contourne les myofilaments de surface et se subdivise en longeant les sarcomères. Le  $T_{AI}$  localisé au niveau de la jonction bande A - bande I forme des diades au contact de renflements du RSL (citernes).

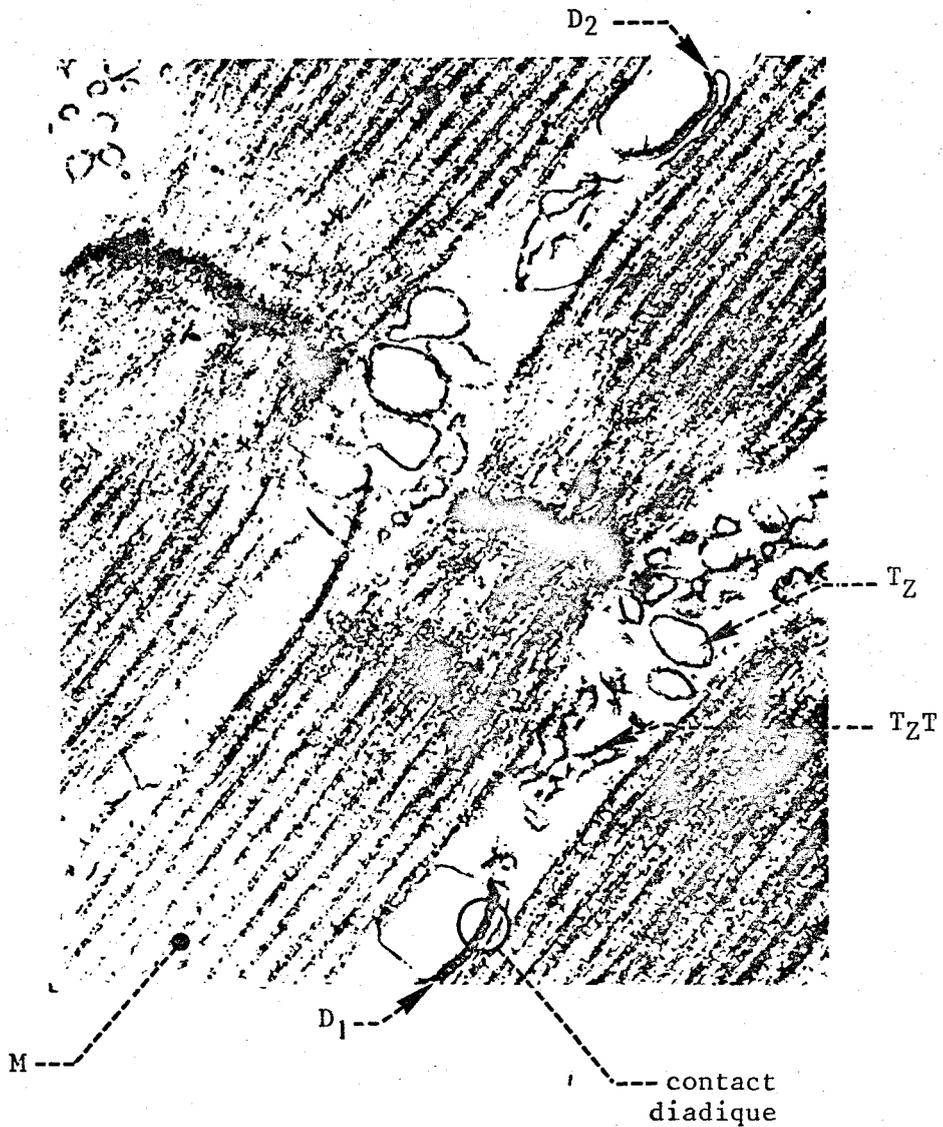


Figure 9 : Coupe longitudinale montrant en profondeur l'organisation du système tubulaire transverse, le  $T_2$  évoluant en  $T_{AI}$  donnant des contacts diadiques avec le RSL.

grossissement : x 22000 ; Fixation au glutaraldéhyde à 1 p. 100

On remarque le  $T_2$  de gros diamètre ( $T_2T$ ) à lumière opaque et les tubules à lumière vide qui longent les myofibrilles (M) et donnent au niveau des jonctions bande A - bande I des contacts diadiques ( $D_1$  et  $D_2$ ) avec le RSL.

le  $T_{AI}$  est issu du  $T_Z$ .

### 2.2.2. - $T_Z$

Il se distingue du  $T_{AI}$  par sa localisation en position Z et optiquement, par une lumière remplie de matériel dense et opaque (figure 10, p.22 ).

Le  $T_Z$  a une organisation et un décours très complexe. Comme pour le  $T_{AI}$ , il provient de digitations du sarcolemme ou de ses invaginations longitudinales. Dans la profondeur de la fibre, il se ramifie anarchiquement et chemine parallèlement aux myofibrilles sur plusieurs dizaines de sarcomères, ces observations sont à rapprocher de celles de COHEN et HESS (1967) sur la fibre de crabe. A l'extrémité de ce système  $T_Z$ , en profondeur, il apparaît des ramifications courtes à lumière vide de même aspect structural que le  $T_{AI}$  observé, par ailleurs, à la périphérie (figure 11, p. 23). Cette particularité est également observée par ATWOOD (1971) sur les fibres musculaires stomacales de langouste. Ceci conduit à considérer la probabilité de rapport de contiguïté de structure entre le sarcolemme et le RSL au niveau des citernes par l'intermédiaire des diades ou éventuellement des triades, ces dernières étant localisées à toutes les extrémités du STT.



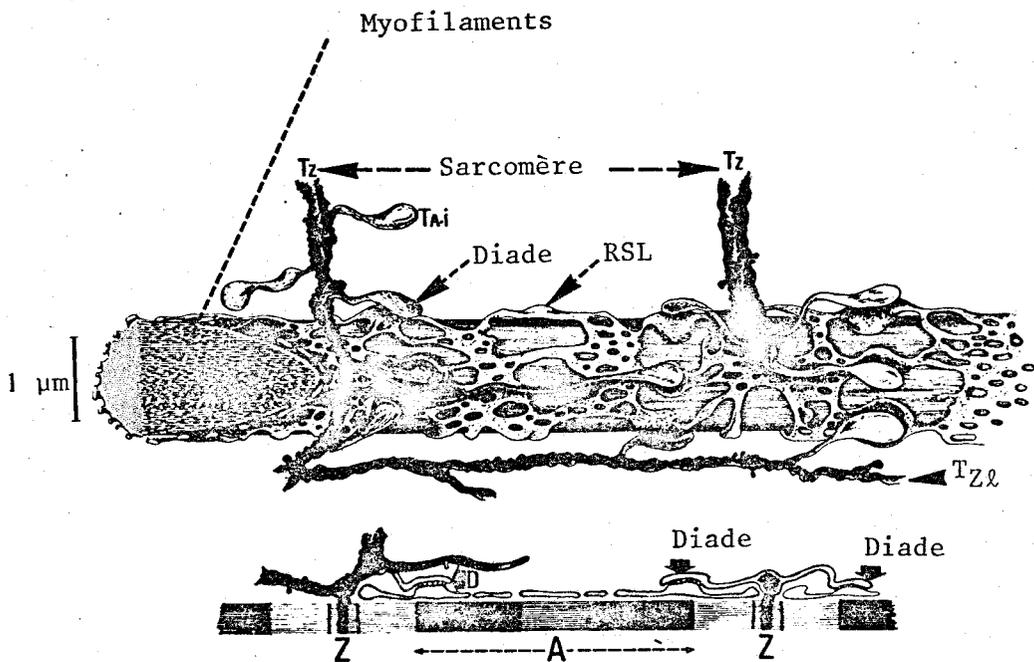


Figure 10 : Schéma de l'organisation du STT au niveau des myofilaments situés en profondeur.

Grossissement : x 30000.

Le STT en position Z ( $T_z$ ) à lumière opaque émet des digitations  $T_z$  qui longent les myofilaments ( $T_{z\ell}$ ) et des digitations à lumière vide ( $T_{AI}$ ) qui forment des diades au niveau de la jonction bande A - bande I avec les citernes du R.S.L. (D). Le STT en position AI ne parvient plus en profondeur.

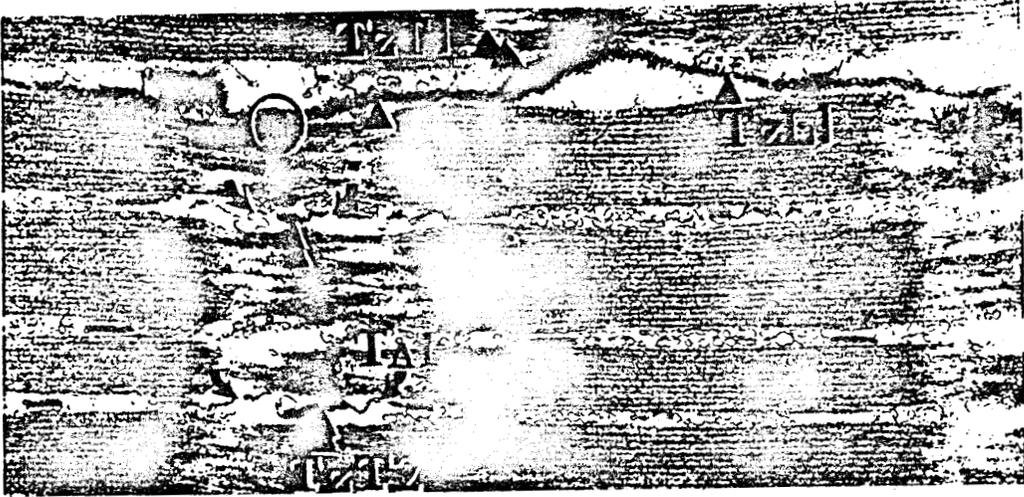


Figure 11 : Coupe longitudinale de la fibre musculaire de crabe à un niveau profond montrant la différenciation du  $T_z$  en  $T_{AI}$ .

Grossissement : x 20000. Fixation : glutaraldéhyde 1 p. 100



Le  $T_z$  de gros diamètre ( $T_zT_1$ ) en haut de l'image donne deux diverticules, un longitudinal, le  $T_z L1$  et un longitudinal puis radial ( $T_zT_2$ ) au niveau de la strie Z des sarcomères sous-jacents. Ce  $T_zT_2$  émet au niveau de chaque sarcomère des diverticules de faible diamètre ( $T_{AI}$ ) qui forment des diades au niveau des jonctions bande A - bande I).

### 2.3. -- Réticulum sarcoplasmique longitudinal

Sa structure est classique. Il se présente comme un manchon discontinu entourant les ~~myofilaments~~ <sup>myofilaments</sup> (figures 8, p. 19 et 10, p.22 ). Il se différencie en citernes surtout au niveau de la jonction bande A - bande I, là où se situent les extrémités des tubules dont la lumière est optiquement vide. En effet, PEACHEY (1967), tout comme MATHIEU (1970), n'observe pas de contacts diadiques au niveau des zones de contiguïté entre le RSL et les tubules à lumière opaque, bien qu'en profondeur les décalages entre sarcomères rendent assez difficile la localisation précise des diades (figure 12, p.25 ).

### 3 - INTERPRETATION POSSIBLE DU ROLE DES DIFFERENTS SYSTEMES TUBULAIRES.

Le RSL, de par ses rapports de contiguïté avec le STT, comme il est montré par de nombreux auteurs, est impliqué dans le couplage excitation-contraction (BENNETT, 1955 ; PORTER et PALADE, 1957 ; HUXLEY et TAYLOR, 1958 ; RUSKA et Coll. 1958 ; HUXLEY, 1959 ; BIRKS, 1965 ; SANDOW, 1965 ; PEACHEY, 1966 ; SANDOW, 1970 ; MOMMAERTS, 1971...). En effet, le RSL règle l'état des myofilaments par sa faculté d'accumuler ou de relâcher le  $Ca^{++}$  (SANDOW, 1965, 1970). La libération du  $Ca^{++}$  par le RSL est due à la dépolarisation électrique née en

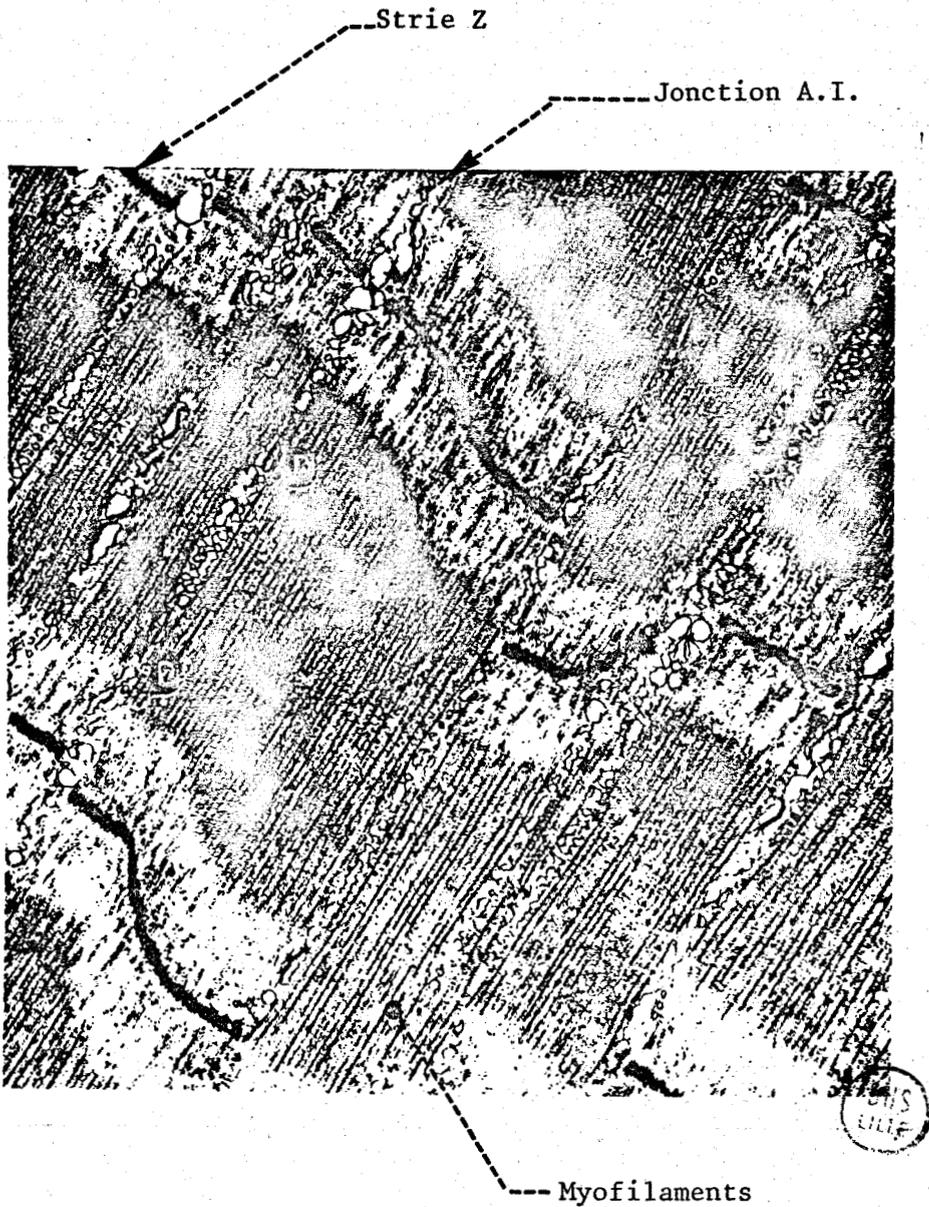


Figure 12 : Coupe longitudinale de la fibre musculaire de crabe montrant le décalage entre sarcomères voisins.

Grossissement : x 28000. Fixation : glutaraldéhyde à 1 p. 100.

Les stries Z ne sont pas alignées, ce qui rend difficile la localisation des terminaisons des deux systèmes tubulaires  $T_{AI}$  et  $T_Z$  formant des diades (D) avec le SRL (S.R.).

surface et transmise en profondeur au reticulum par l'intermédiaire du STT. (BASTIAN et NAKAJIMA, 1974). Ce rôle du STT dans la transmission de la dépolarisation est montré de différentes façons :

- soit en dépolarisant localement au niveau de la strie Z chez la fibre de Vertébré, là où est situé le STT. Cette dépolarisation entraîne une contraction locale des myofilaments sous-jacents (travaux de HUXLEY et TAYLOR en 1956 et 1958 sur la fibre de grenouille, de HUXLEY et STAUB en 1958 sur la fibre de lézard);
- soit en dépolarisant localement au niveau du  $T_{AI}$  chez la fibre de crabe (PEACHEY, 1965);
- soit en détruisant le STT par un choc osmotique. Ce procédé entraîne un découplage entre l'excitation et la contraction (OVERTON, 1902 ; STEGGARDA, 1927 ; HOWARTH, 1957 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1957 ; HOWELL et JENDEN, 1967 ; HOWELL, 1969 ; EISENBERT et GAGE, 1967 ; KROLENKO, 1969). Dans ce cas, le découplage, comme le montrent ces auteurs (entre autres), est dû à la rupture de la jonction sarcolemme-tubules, ce qui rend impossible le passage de la dépolarisation du sarcolemme au RSL;
- soit en augmentant la résistance longitudinale des tubules comme le font, sur la fibre de grenouille, CAPUTO et DIPOLO (1973) par addition de Dextran au milieu extracellulaire. Cela se traduit par un ralentissement des phénomènes élec-

triques et mécaniques, et prouve ainsi le rôle du STT dans la transmission de la dépolarisation du sarcolemme au RSL.

### 3.1. - Interprétation du couplage excitation-contraction sur la fibre de crabe par PEACHEY.

PEACHEY et HUXLEY (1964), PEACHEY (1965, 1967) élaborent sur la fibre de crabe le schéma du couplage excitation - contraction en considérant que le système  $T_{AI}$  est seul impliqué, le système  $T_Z$  n'ayant qu'un rôle de soutien. Ils se fondent sur le fait que seul le  $T_{AI}$  présente des rapports diadiques avec le RSL comme le STT unique des fibres de Vertébrés. En outre, PEACHEY est amené, en reprenant en 1965 les expériences de stimulation ponctuelle de HUXLEY et TAYLOR de 1958 sur la fibre de grenouille, à considérer le  $T_Z$  comme un tissu de soutien ; en effet, il montre qu'en dépolarisant le sarcolemme de la fibre de crabe au niveau de la strie Z, aucune contraction localisée des myofilaments sous-jacents n'apparaît ; mais, par contre, une même dépolarisation portée au niveau de la jonction bande A - bande I provoque alors une contraction localisée.

L'interprétation de PEACHEY est d'autant plus valable que jamais il n'observe de rapport de contiguïté entre le  $T_Z$  et le RSL sur la fibre de crabe.

3.2. - Interprétation du couplage excitation-contraction sur la fibre d'écrevisse par BRANDT, REUBEN, GIRARDIER et GRUNDFEST.

Sur la fibre squelettique d'écrevisse, ces auteurs en 1965 ainsi que REUBEN et Coll., en 1967, donnent des images d'un système tubulaire unique non différencié en deux systèmes comme le décrit PEACHEY sur la fibre squelettique de crabe.

D'autre part, en provoquant le gonflement des tubules par un efflux de  $Cl^-$ , GIRARDIER et Coll. en 1963, BRANDT et Coll. en 1968 montrent que seules les extrémités du STT de la fibre d'écrevisse subissent des modifications structurales ; en aucune façon, les invaginations du sarcolemme et le RSL ne sont modifiés. En outre, les structures gonflées dans ces conditions, d'ailleurs localisées au niveau de la jonction bande A-bande I, sont en général en rapport avec le sarcolemme ou avec ses invaginations longitudinales par l'intermédiaire des tubules, le plus souvent en position Z à la surface de la fibre.

3.3. - Structure du STT de la fibre de crabe et son rôle dans le couplage excitation-contraction.

On peut admettre que le  $T_Z$  est destiné à se différencier, par digitations en profondeur, en une structure analogue au  $T_{AI}$  qui va former des contacts diadiques avec le RSL. Il est ainsi possible de concilier les observations de PEACHEY et celles de BRANDT et Coll. en structurant la fibre de crabe

en une zone périphérique et en une zone centrale profonde. Il apparaît que le rapport entre le sarcolemme et le RSL, tant à la périphérie de la fibre qu'en profondeur, se fait par le STT au niveau des citernes, généralement par des contacts diadiques ou même triadiques. Ce STT peut révéler différents aspects, mais il apparaît toujours en continuité anatomique avec le sarcolemme. Ce dernier forme soit la membrane externe de la fibre, soit des invaginations longitudinales profondes, soit du système tubulaire de large diamètre, à lumière optiquement opaque, pénétrant à l'intérieur de la fibre de façon radiale au niveau de la strie Z puis se ramifiant en profondeur le long des sarcomères. Il est ainsi possible de considérer l'existence de structures de pénétration à l'intérieur de la fibre ; ces structures sont telles qu'aucun sarcomère ne se trouve à plus de 50  $\mu\text{m}$  de la membrane sarcolemmique. Finalement, le contact entre la citerne du RSL et la structure de pénétration définie précédemment se fait par l'intermédiaire d'une autre structure de faible diamètre à lumière optiquement vide et sensible aux efflux de  $\text{Cl}^-$ , structure qui correspond à celle du  $T_{\text{AI}}$  défini par PEACHEY. La figure 13 (p. 30) montre l'organisation des structures de pénétration chez la fibre de crabe et le rapport entre le  $T_{\text{AI}}$  et le  $T_{\text{Z}}$ . En effet, il peut être admis, qu'en surface, le  $T_{\text{AI}}$  prédomine puisqu'il ne pénètre pas en profondeur. Seul, le  $T_{\text{Z}}$  pénètre profondément à l'intérieur, se ramifie et se différencie

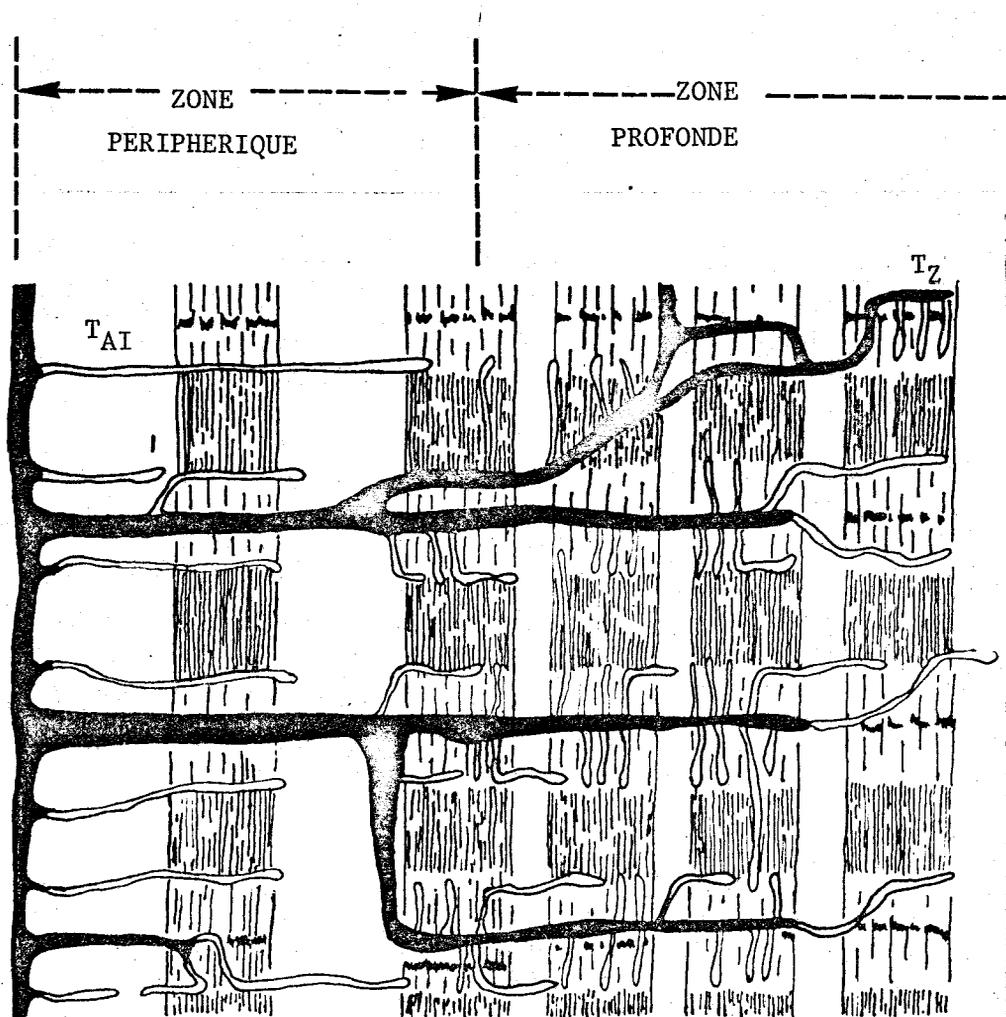


Figure 13 : Représentation schématique de l'organisation du STT selon un plan radial.

En zone périphérique, le système  $T_{AI}$  en position jonction bande A - bande I est caractérisé par sa lumière vide. Vers la zone profonde descend le système T en position Z à partir du sarcolemme. Sa lumière est opaque, il chemine le long des myofilaments et émet des digitations de structure analogue à celle du système  $T_{AI}$  de la zone périphérique.

en  $T_{AI}$ , celui-ci assurant les contacts diadiques avec le RSL. Il est ainsi possible de discerner dans la fibre de crabe, comme le montre la figure 14 (p.32) deux zones concentriques :

- la zone périphérique où les contacts diadiques s'établissent de façon prédominante avec le  $T_{AI}$  défini par PEACHEY à position essentiellement radiale;
- la zone profonde centrale où, en provenance de la surface, après un parcours radial en zone périphérique, le  $T_Z$  chemine longitudinalement et où, finalement, il se différencie en  $T_{AI}$ .

La différence fonctionnelle entre les deux systèmes selon PEACHEY repose sur leurs caractéristiques ultrastructurales (lumière optiquement vide ou opaque), sur la non-possibilité de déclencher une contraction en dépolarisant localement au niveau du  $T_Z$  et sur l'obtention d'une contraction en dépolarisant au niveau du  $T_{AI}$ . Cependant, si une contraction peut être déclenchée par une dépolarisation en surface au niveau du  $T_Z$ , elle ne peut être observée si elle se produit en profondeur. D'autre part, la stimulation ainsi portée en surface est sous-liminaire et peut décroître exponentiellement à partir du sarcolemme, et, de ce fait, être inefficace à l'extrémité du tubule  $T_Z$  différencié en  $T_{AI}$ .

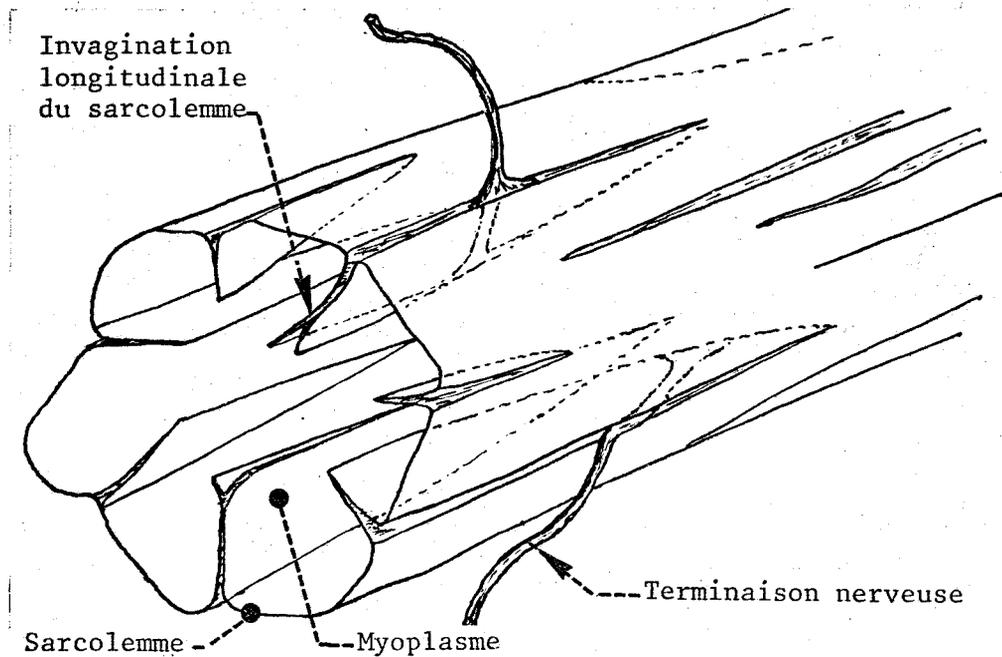


Figure 14 a

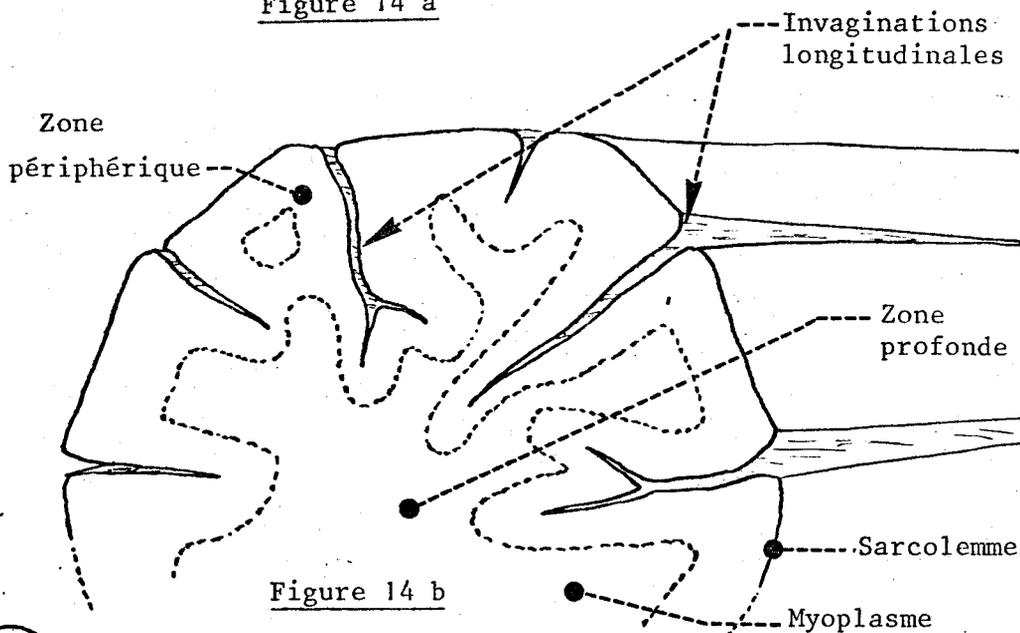


Figure 14 b

Figure 14 : Schématisation de la fibre montrant son pseudocloisonnement longitudinal (13 a) et la discrimination entre une zone périphérique et une zone profonde (13 b).

A noter les invaginations du sarcolemme à l'intérieur de la fibre et les deux zones concentriques.

4 - CONCLUSION

L'analyse de la structure de la fibre musculaire striée du crabe *Carcinus maenas* révèle une organisation complexe telle que le sarcolemme présente de nombreuses structures de pénétration sous la forme d'invaginations longitudinales plus ou moins profondes et de tubules transverses. Ces structures de pénétration permettent au milieu extracellulaire d'être proche des sarcomères. D'autre part, ~~les myofilaments sont~~ entourés d'un système clos constituant le réticulum sarcoplasmique longitudinal qui présente, après différenciation en citernes, des contacts diadiques avec les extrémités du système tubulaire transverse. La relation entre le milieu extracellulaire et les sarcomères est ainsi établie par le STT.

En se fondant sur les observations de BRANDT et Coll. en 1965 sur la fibre d'écrevisse, de PEACHEY en 1965 sur la fibre de crabe, de MATHIEU en 1970 également sur la fibre de crabe, on est amené à considérer deux zones concentriques : la zone périphérique qui présente, par le  $T_{AI}$ , des contacts diadiques avec le RSL et la zone profonde où les contacts s'établissent à l'extrémité des tubules  $T_Z$  dont la lumière devient optiquement vide. Finalement, la dépolarisation née au niveau du sarcolemme se propage jusqu'au RSL par l'intermédiaire des diades grâce aux structures de pénétration.

Compte-tenu de ce schéma de propagation de l'activité électrique vers les sarcomères, schéma élaboré à partir de données ultrastructurales, il convient d'établir, sachant que chaque système membranaire (le sarcolemme et le STT) peut présenter des caractéristiques de perméabilité ionique propre, le rapport entre cette activité électrique et ces différents systèmes membranaires.

## CHAPITRE II

### SCHEMATISATION DES CARACTERISTIQUES ELECTRO-PHYSIOLOGIQUES DE LA FIBRE MUSCULAIRE DE CRABE

- 1 - Introduction et considérations générales
- 2 - Schémas électriques applicables à la fibre de Crustacé
- 3 - Elaboration du schéma applicable à la fibre de crabe.
  - 31 - Séparation des deux systèmes membranaires
  - 32 - Perméabilités membranaires ioniques au repos
  - 33 - Perméabilités membranaires ioniques lors de l'activité
  - 34 - Schéma électrique équivalent de la membrane.

## 1 -- INTRODUCTION ET CONSIDERATIONS GENERALES

Les propriétés électriques des fibres excitables sont explicables par la théorie ionique, élaborée à partir des travaux réalisés sur la fibre nerveuse par HODGKIN (1951), HODGKIN et HUXLEY (1952 a ; 1952 b ; 1952 c et 1952 d), généralisée aux autres tissus excitables par différents auteurs dont NOBLE (1966), COLE (1968) et d'une façon plus précise aux fibres de *Purkinje* de Mammifère (NOBLE, 1960, 1962), aux fibres ventriculaires de grenouille (BRADY et WOODBURY, 1957, 1960) et aux fibres squelettiques de grenouille (JENERICK, 1963, 1964 ; INOUE, 1971). L'analyse théorique et biophysique des équations de HODGKIN et HUXLEY (BESSEAU, 1972 ; KOOTSEY et JOHNSON, 1972 ; OFFNER, 1973 ; ADRIAN et PEACHEY, 1973 ; GILLESPIE, 1973 a, 1973 b ; MOORE et RAMON, 1974 ; ARMSTRONG, 1975, ...) rend compte d'une bonne corrélation entre les caractéristiques électriques mesurées et celles calculées des structures excitables. Cette théorie est fondée sur l'existence, au niveau membranaire, de deux piles de concentration dont l'influence de chacune sur le potentiel de membrane est liée au rapport des conductances respectives (conductance au  $K^+$  :  $g_K$  et conductance au  $Na^+$  :  $g_{Na}$ ).

La figure 15 (p. 36) empruntée à HODGKIN et HUXLEY permet de comprendre les propriétés électriques de la membrane de l'axone géant de calmar. Le potentiel de repos ( $E_r$ ) est régi soit par un équilibre thermodynamique, c'est-à-dire que le

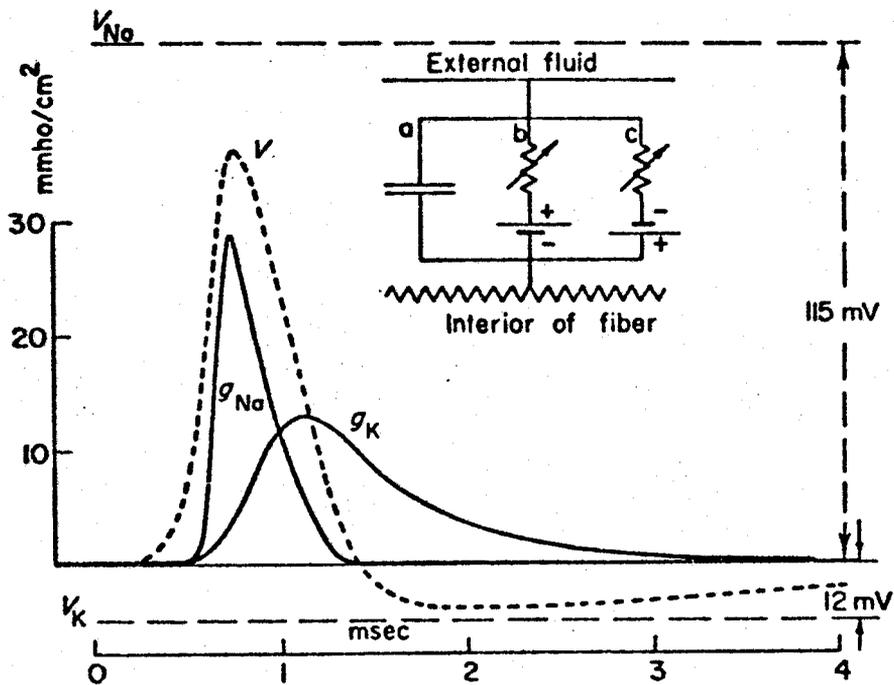


Figure 15 : d'après HODGKIN et HUXLEY (1952)

Analyse du potentiel d'action de l'axone géant de Calmar selon la théorie de HODGKIN-HUXLEY. La figure donne les variations de conductances au  $Na^+$  et  $K^+$  ( $g_{Na}$  et  $g_K$ ) en fonction du temps.  $V_K$  et  $V_{Na}$  représentent la valeur des piles de concentration respectives au  $K^+$  et  $Na^+$  par rapport au potentiel de repos.  $V$  donne l'évolution du potentiel lors de l'activité, évolution liée à la combinaison des activations successives de  $g_{Na}$  et  $g_K$ .

En encart, est schématisé le circuit électrique équivalent de la membrane de l'axone, la branche (a) représentant le condensateur membranaire, la branche (b) la pile d'équilibre aux ions  $K^+$  en série avec  $1/g_K$  et la branche (c) la pile d'équilibre aux ions  $Na^+$  en série avec  $1/g_{Na}$ .

potentiel de membrane a une valeur égale à celle d'une pile de concentration aux ions  $K^+$ , soit dans certains cas par l'existence d'un potentiel de diffusion aux ions  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  dont la valeur est donnée par l'équation de HODGKIN et KATZ (1949) dérivée de celle de GOLDMANN (1943). Par contre, le potentiel d'action est la résultante des phénomènes successifs d'activation et d'inactivation des deux conductances membranaires spécifiques  $g_{Na}$  et  $g_K$ . L'activation de  $g_{Na}$  entraîne, grâce au gradient électrochimique aux ions  $Na^+$  existant de part et d'autre de la membrane, la naissance d'un courant entrant de  $Na^+$  qui peut dépolariser la fibre jusqu'à la valeur de la pile d'équilibre aux ions  $Na^+$  ( $E_{Na}$ ). Puis, l'activation de la conductance au  $K^+$ , activation appelée encore rectification normale retardée, fait que, étant donnée la valeur de la pile d'équilibre aux ions  $K^+$  ( $E_K$ ), la membrane se repolarise alors que, simultanément,  $g_{Na}$  s'inactive (voir figure 15, p. 36). Il est à noter que pour les fibres musculaires, il est nécessaire d'admettre, faisant suite à l'activation de  $g_{Na}$  et précédant celle de  $g_K$ , le phénomène de rectification anormale qui consiste en une diminution de  $g_K$  associée, pour le tissu cardiaque uniquement, à un relatif maintien de  $g_{Na}$  et à l'apparition de  $g_{Ca}$ , conductance membranaire au  $Ca^{++}$ . La présence de la rectification anormale explique, dans ce cas, la durée de l'activité électrique des fibres musculaires squelettiques (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; NARASHI et

Coll., 1960 ; ADRIAN, 1969 ; TAKEDA et OOMURA, 1969 ; ILDEFONSE et Coll., 1969 a) celle des fibres striées myocardiques (CORABOEUF et Coll., 1958 ; BRADY et WOODBURY, 1960 ; HUTTER et NOBLE, 1960 a ; ROUGIER et Coll., 1969 ; DE HEMPTINNE, 1971 a ; TARR, 1971 ; GETTES et REUTER, (1974) et celle des fibres du tissu de *Purkinje* (WEIDMAN, 1955 ; CARMELIET, 1961 ; HALL et Coll., 1963 ; REUTER, 1967).

Finalement, les équations de HODGKIN et HUXLEY reposent sur une schématisation de la membrane excitable en un modèle électrique plus ou moins complexe qui fait intervenir, tant des forces électromotrices (piles de concentration à chaque ion présent de part et d'autre de la membrane) que des résistances internes réactives de ces piles (conductances membranaires spécifiques activables et inactivables), que des résistances pures ohmiques" (milieux intra- et extracellulaires) et que des capacités (condensateurs dûs à la présence des phospholipides membranaires constituant un isolant imparfait) (figure 16, p. 39).

Dans certains cas, il arrive que le schéma électrique de la membrane puisse être simplifié jusqu'à être réduit à une simple force électromotrice en série avec une résistance ne présentant pas de caractéristiques de résistance négative. C'est le cas de la peau de grenouille et de la vessie de crapaud (FINKELSTEIN, 1964) (figure 17, p.40 ). Mais ce schéma peut

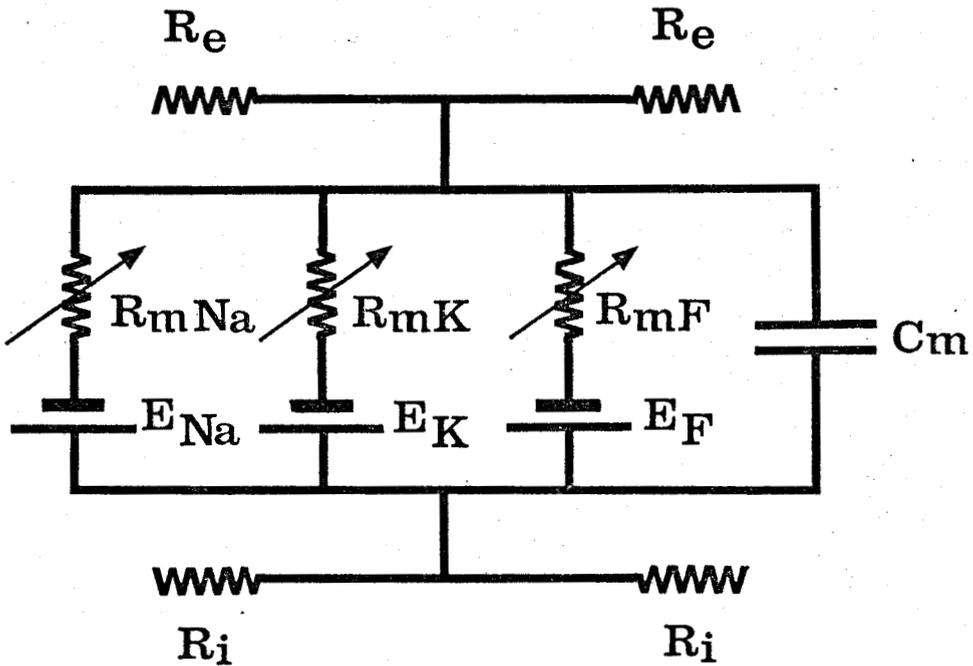


Figure 16 : d'après HODGKIN et HUXLEY (1952)

Schéma électrique équivalent de la membrane d'une fibre excitable.

$C_m$  : condensateur membranaire ;  $R_e$  et  $R_i$ , résistances des milieux extra- et intracellulaires ;  $E_{Na}$ ,  $E_K$  et  $E_F$  : piles de concentration aux ions  $Na^+$ ,  $K^+$  et autres placées en série avec les résistances variables membranaires respectives  $R_{mNa}$  ( $= 1/g_{Na}$ ),  $R_{mK}$  ( $= 1/g_K$ ) et  $R_{mF}$  ( $= 1/g_F$ ).

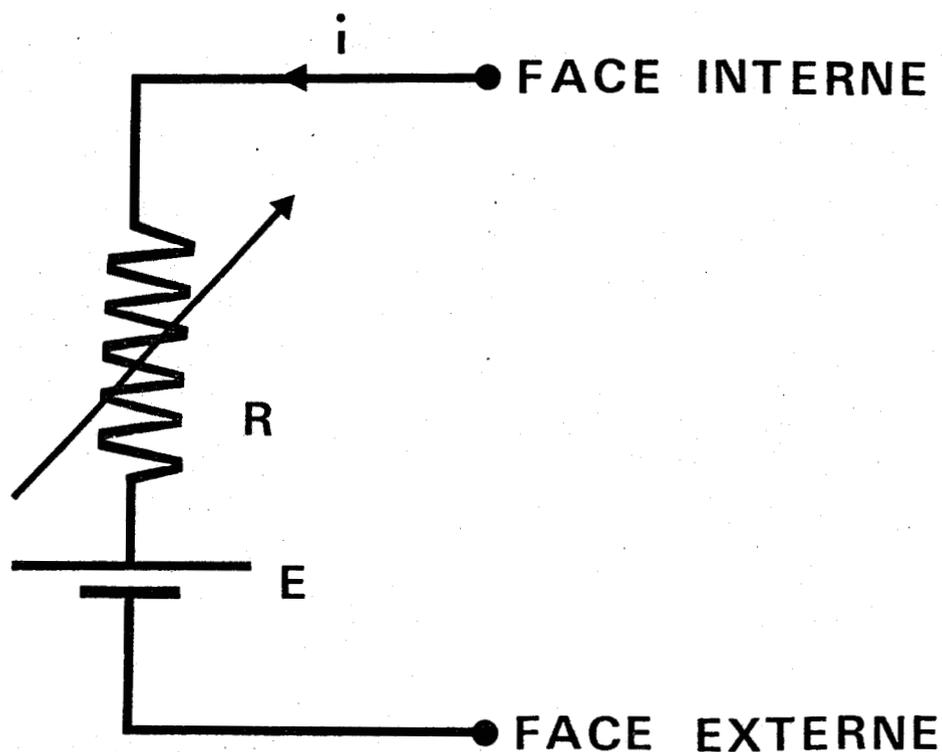


Figure 17 : d'après FINKELSTEIN (1964)

Schéma électrique équivalent de la peau de grenouille et de la vessie de crapaud.

La résistance de peau  $R$  (qui ne présente pas la caractéristique d'une résistance négative) varie en fonction du courant  $i$  qui est imposé.

également être amélioré pour rendre compte d'une façon plus adaptée des propriétés électrophysiologiques de la fibre excitable étudiée. Pour cette raison FALK et FATT (1964), FREYGANG et Coll. (1967), ADRIAN et PEACHEY (1973) font intervenir sur la fibre de grenouille un rapport entre la structure de la membrane et la valeur de sa capacité en localisant une partie de cette dernière au niveau de la paroi des tubules (figure 18, p.42). De même EISENBERG (1967) sur la fibre de crabe, rend compte des propriétés capacitives de cette fibre par la mise en parallèle de deux circuits intégrateurs résistance-capacité, l'un étant dû au sarcolemme, l'autre aux tubules (figure 19, p.43). Quant à la localisation des forces électromotrices responsables du potentiel de repos et du potentiel d'action, elle dépend du type de fibre musculaire interrogée. Sur la fibre squelettique de Crustacé, les conductances au  $K^+$  et  $Cl^-$  sont localisées spécifiquement,  $g_K$  au niveau de la membrane sarcolemmique et  $g_{Cl}$  au niveau de la membrane tubulaire (GIRARDIER et Coll., 1963 ; REUBEN et Coll., 1964 ; BRANDT et Coll., 1968 ; ORENTLICHER et REUBEN, 1971 sur l'écrevisse ; SELVERSTON, 1967 ; MOUNIER et Coll., 1970 sur le crabe). En considérant ces localisations spécifiques de  $g_K$  et  $g_{Cl}$ , un schéma électrique peut rendre compte des propriétés de la fibre musculaire, tel celui proposé par GIRARDIER et Coll. en 1963 (figure 20, p.44), REUBEN et Coll. en 1967 (figure 21, p.45) sur la fibre d'écrevisse.

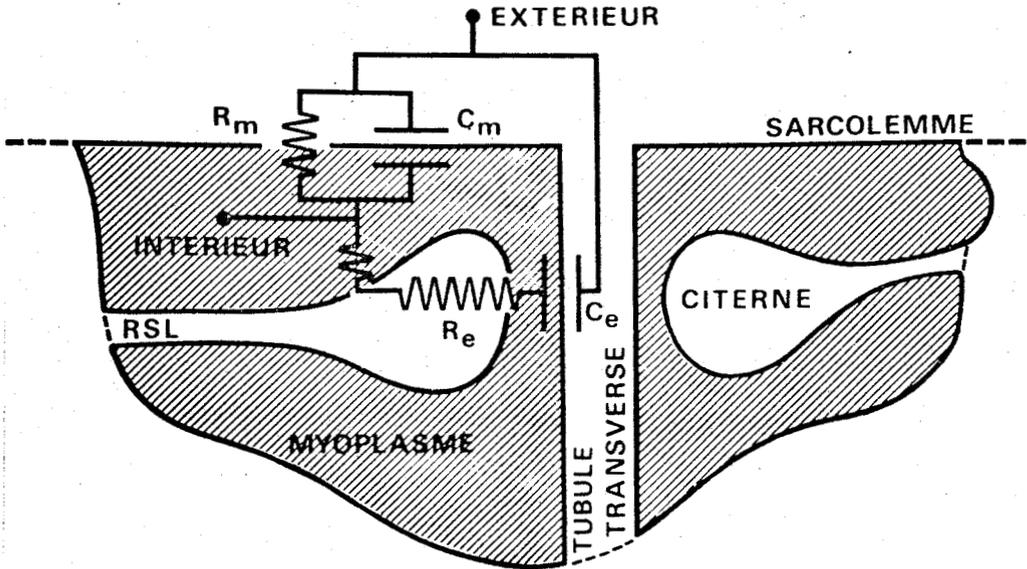


Figure 18 : d'après FREYGANG et Coll. (1967)

Schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre squelettique de grenouille superposé à un diagramme schématique représentant l'ultrastructure de la fibre.

La mesure du potentiel de membrane se fait entre l'extérieur et l'intérieur de la membrane. Le condensateur membranaire est la résultante du condensateur  $C_m$  au niveau de la membrane sarcolemmique et du condensateur  $C_e$  au niveau de la membrane tubulaire. La résistance sarcolemmique est  $R_m$  en parallèle sur  $C_m$  alors que la résistance tubulaire ( $R_e$ ) serait localisée au niveau des diades constituant le contact entre le système tubulaire transverse et les citernes qui sont des gonflements du réticulum sarcoplasmique longitudinal.

Condensateur membranaire  $\neq$  Capacité membranaire.

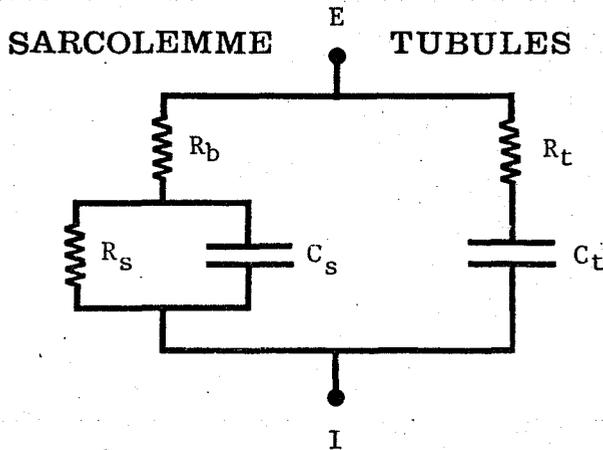


Figure 19 : d'après EISENBERG (1967)

Schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre squelettique de crabe montrant la discrimination entre la membrane sarcolemmique et la membrane tubulaire, le potentiel de membrane étant mesuré entre l'extérieur (E) et l'intérieur (I) de la fibre.

- sarcolemme : sont en parallèle la résistance sarcolemmique ( $R_s$ ) et le condensateur sarcolemmique ( $C_s$ ).  $R_b$  représente la résistance du matériel amorphe constitué par la basale qui recouvre le sarcolemme et qui est présente à l'intérieur des invaginations longitudinales de celui-ci.
- tubules : le condensateur de la membrane tubulaire ( $C_t$ ) est en série avec la résistance longitudinale des tubules ( $R_t$ ), la résistance de la membrane de ces tubules étant considérée comme  $\infty$ .

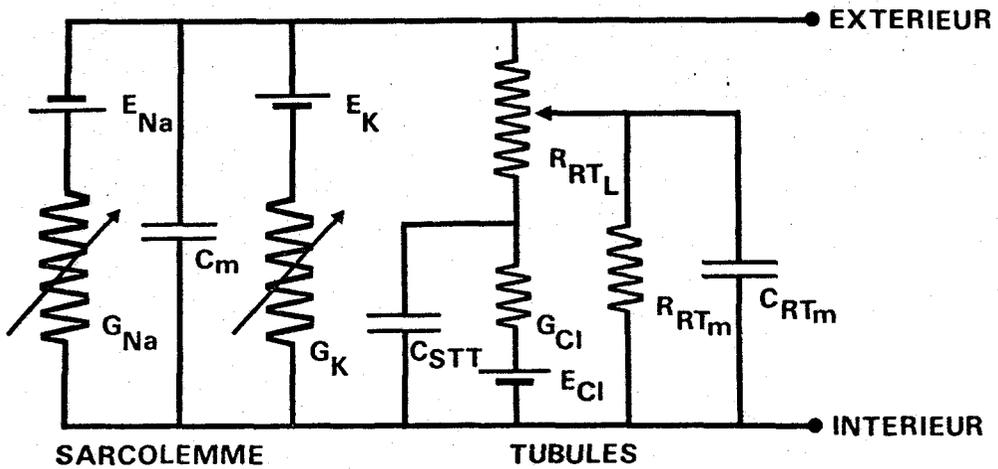


Figure 20 : D'après GIRARDIER et Coll. (1963)

Schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre squelettique d'écrevisse montrant la discrimination entre deux systèmes membranaires (sarcolemme et tubules) et la localisation des différentes conductances membranaires aux ions.

- sarcolemme : les piles de concentration au  $\text{Na}^+$  et au  $\text{K}^+$  ( $E_{\text{Na}}$  et  $E_{\text{K}}$ ) sont en série avec les résistances membranaires respectives ( $1/G_{\text{Na}}$  et  $1/G_{\text{K}}$ ), l'ensemble étant en parallèle sur le condensateur sarcolemmique ( $C_m$ ).
- tubules : la discrimination est faite entre les extrémités des tubules (STT) et les tubules radiaux proprement dits (RT). La pile de concentration aux ions chlorure est localisée au niveau du STT et est en série avec la résistance de la membrane du tubule ( $1/G_{\text{Cl}}$ ), résistance qui peut éventuellement être réactive.  $C_{\text{STT}}$  et  $C_{\text{RT}_m}$  sont les condensateurs respectifs de la membrane du STT et du RT,  $R_{\text{RT}_m}$  étant la résistance de ce dernier. Il importe également de considérer la résistance longitudinale des lumières tubulaires ( $R_{\text{RT}_L}$ ), résistance qui varie avec la longueur même du tubule radial.

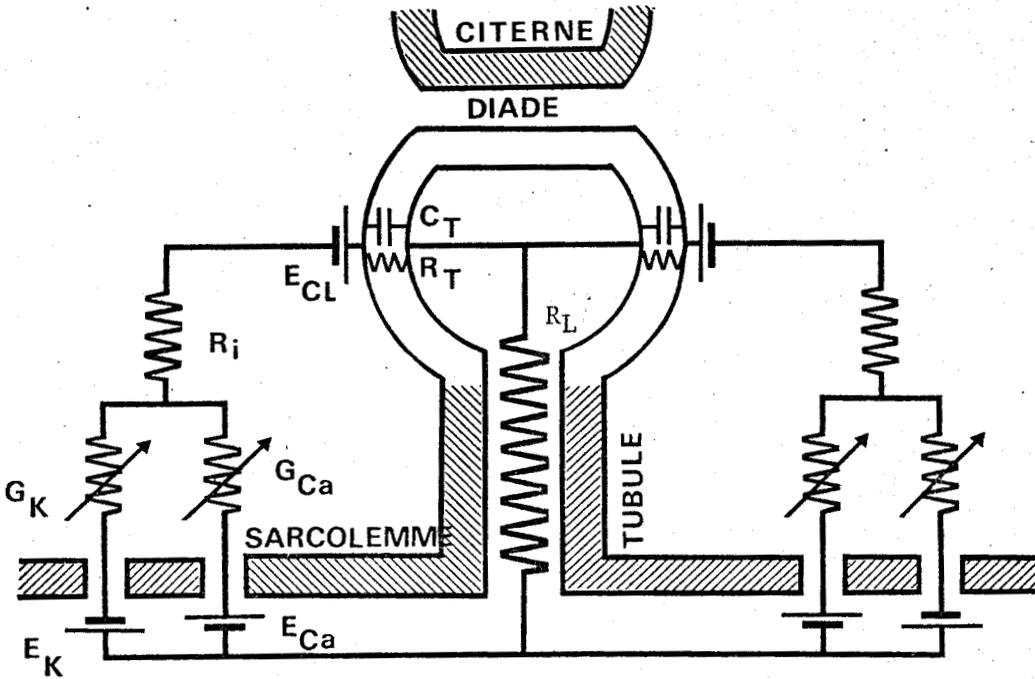


Figure 21 : D'après REUBEN et Coll. (1967).

Schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre squelettique d'écrevisse superposé au diagramme schématique de l'ultrastructure (sarcolemme - tubule - diade - citerne = gonflement du reticulum sarcoplasmique longitudinal<sup>+</sup>).  $E_K$  et  $E_{Ca}$  sont les piles de concentration aux ions  $K^+$  et  $Ca^{++}$  en série avec les résistances membranaires respectives ( $1/G_K$  et  $1/G_{Ca}$ ) localisées au niveau du sarcolemme.  $E_{Cl}$ , pile de concentration aux ions chlorure est située au niveau de la membrane tubulaire, de même que  $1/G_{Cl}$  et  $C_T$  respectivement résistance et capacité tubulaires.  $R_i$  est la résistance du milieu intracellulaire (myoplasme),  $R_L$  la résistance longitudinale de la lumière des tubules.

Par contre, chez la fibre squelettique de Vertébré, de nombreux auteurs, dont EISENBERG et GAGE (1969), GAGE et EISENBERG (1969), ALMERS (1972), ADRIAN et PEACHEY (1973) localisent  $g_K$  au niveau du STT et  $g_{Cl}$  au niveau du sarcolemme, ce qui conduit à une localisation différente des forces électromotrices sur les schémas électriques de cette fibre par rapport à ceux de la fibre de Crustacé.

Ainsi, en partant des équations de HODGKIN et HUXLEY et en admettant des conductances ioniques spécifiques en relation avec l'ultrastructure, les propriétés électrophysiologiques d'une fibre excitable peuvent être expliquées par un schéma électrique relativement simple.

## 2 - SCHEMAS ELECTRIQUES APPLICABLES A LA FIBRE DE CRUSTACE

### 2.1. Schéma de EISENBERG (1967) sur la fibre de crabe

La membrane des fibres musculaires de Crustacés possède une capacité ( $C_m$ ) de valeur relativement élevée par rapport à celle des fibres de Vertébrés : 24 à 83  $\mu F/cm^2$  (FATT et KATZ, 1953), 36 à 54  $\mu F/cm^2$  (ATWOOD, 1963),  $36,9 \pm 8,4 \mu F/cm^2$  (HAYS et Coll., 1968),  $35,5 \pm 18,5 \mu F/cm^2$  (MOUNIER, 1970) contre 5  $\mu F/cm^2$  (KATZ, 1948, 1949), 1 à 9  $\mu F/cm^2$  (FATT et KATZ, 1951), 3,24  $\mu F/cm^2$ , (STEFANI et STEINBACH, 1969) sur la fibre squelettique de grenouille et même 0,81  $\mu F/cm^2$  (WEIDMANN, 1968, 1970,

1974) sur les fibres cardiaques.

Cette valeur élevée de  $C_m$  pour la fibre de Crustacé est due à la surface importante de toutes les structures de pénétration (FATT et KATZ, 1953 ; PEACHEY, 1967 ; FALK et FATT, 1964) et peut être ramenée, en tenant compte des surfaces invaginées, à une valeur beaucoup plus faible :  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  selon PEACHEY (1965) et 5,7 ou  $1,5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  selon SELVERSTON (1967). Ces différences entre les résultats de PEACHEY et ceux de SELVERSTON proviennent essentiellement de la méthode de détermination de  $C_m$  : celle-ci est faite soit en estimant la surface tubulaire par analyse des coupes microscopiques (PEACHEY, 1965) soit par calcul à partir du résidu électrotonique d'un courant hyper- ou dépolarisant appliqué à la membrane (SELVERSTON, 1967). Ainsi, il importe pour EISENBERG (1967) de considérer que la capacité membranaire globale de la fibre musculaire de crabe est la résultante de la capacité de la membrane sarcolemmique ( $C_m$ ) et de celle des tubules ( $C_t$ ); les invaginations longitudinales étant considérées comme appartenant au sarcolemme. La capacité membranaire sarcolemmique se trouve donc ainsi reliée à l'extérieur par une résistance ( $R_b$ ) correspondant au matériel amorphe présent dans ces invaginations.

Les deux schémas proposés par EISENBERG en 1967 (Figure 19, p.43 et figure 22, p.48) se rapportant à la fibre du carpopodite de crabe (*Portunus depurator* et *Carcinus maenas*) diffé-

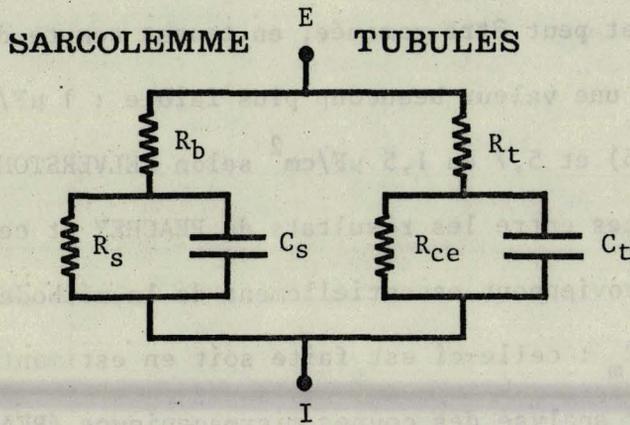


Figure 22 : D'après EISENBERG (1967)

Schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre squelettique de crabe montrant la discrimination entre les deux systèmes membranaires (sarcolemme et tubules), le potentiel de membrane étant mesuré entre l'extérieur (E) et l'intérieur (I) de la fibre.

- Sarcolemme : sont en parallèle la résistance membranaire du sarcolemme ( $R_s$ ) et le condensateur membranaire ( $C_s$ ).  $R_b$  représente la résistance du matériel amorphe constitué par la basale recouvrant le sarcolemme et empiétant les invaginations longitudinales de celui-ci.

- Tubules : condensateur ( $C_t$ ) et résistance ( $R_{ce}$ ) de la membrane tubulaire sont en parallèle.  $R_t$  est la résistance longitudinale de la lumière tubulaire.

rencient de façon appropriée les deux systèmes membranaires définis précédemment. En appliquant la théorie du câble long (COLE et CURTIS, 1936, 1938), un circuit linéaire simple ( $C_m$  et  $R_m$  en parallèle) ne peut pas rendre compte de la réponse de l'impédance globale membranaire ( $Z_m$ ) à un courant sinusoïdal de fréquence variable qui lui est appliqué. Pour cette raison, en mesurant l'amplitude et le déphasage de la réponse électrique membranaire de la fibre à des courants sinusoïdaux qui lui sont appliqués par microélectrodes, et après analyse, EISENBERG propose les deux schémas ci-inclus mettant en évidence un rapport structure-fonction et donnant des valeurs de  $C_m$  et  $R_m$  analogues à celles mesurées.

Le schéma de la figure 19 (p. 43) est celui qui présente le nombre minimum d'éléments pouvant rendre compte efficacement des propriétés de la membrane. Les systèmes membranaires sarcolemmique et tubulaire sont distincts ;  $R_s . C_s$  correspond au circuit  $R . C$  de la membrane sarcolemmique,  $R_t$  à la résistance longitudinale des lumières tubulaires et  $C_t$  à la capacité de la membrane tubulaire. Ce schéma admet que la résistance de la membrane du tubule est égale à  $\infty$ . Or, il semble que ce ne soit pas le cas, puisqu'il existe une perméabilité aux ions chlorure à ce niveau. Pour cette raison, le schéma de la figure 22 (p. 48) paraît plus approprié étant donné qu'il fait intervenir  $R_{ce}$ , la résistance des membranes tubulaires. Il est à noter que les valeurs calculées de  $C_t$  et  $C_s$  par

EISENBERG (1967) d'après les équations de FALK et FATT (1964) sont de  $1,6 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  pour  $C_t$  et  $4,5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  pour  $C_s$ . Ces valeurs calculées sont compatibles, compte-tenu de l'importance du système tubulaire et compte-tenu des résultats cités précédemment de PEACHEY (1965) et de SELVERSTON (1967).

## 2.2. Schéma de GIRARDIER et Coll. (1963) applicable à la fibre d'écrevisse.

Sachant qu'au niveau de la fibre musculaire d'écrevisse, le sarcolemme est préférentiellement perméable aux ions  $\text{K}^+$  et les tubules aux ions chlorure, GIRARDIER et Coll. (1963) sont amenés à proposer un circuit équivalent de la membrane de la fibre d'écrevisse qui satisfait aux résultats qu'ils obtiennent quant aux propriétés électriques de cette fibre (figure 20, p. 44).

La membrane plasmique (sarcolemme) est représentée conventionnellement avec sa capacité  $C_m$  et ses deux conductances cationiques ( $g_K$  et  $g_{\text{Na}}$ ), chacune étant en série avec les forces électromotrices correspondantes ( $E_K$  et  $E_{\text{Na}}$ ).

La distinction est faite également pour les différentes parties du STT : celle sujette aux gonflements produits par un efflux de  $\text{Cl}^-$  (qui peut être considérée comme du  $T_{\text{AI}}$  selon nos observations) et celle des tubules radiaux (RT) assimilable à notre  $T_Z$ . Le STT présente, du fait de sa conductance spécifique au  $\text{Cl}^-$ , une pile au  $\text{Cl}^-$ , puis une pile au  $\text{Cl}^-$  dont

la résistance interne ( $R_{STT}$ ) pouvant être pure ou réactive (dans ce cas  $R_{STT} = 1/g_{Cl}$ ) est en parallèle sur le condensateur de la membrane du STT ( $C_{STT}$ ). Du fait de leur position à l'extrémité des tubules RT, les éléments qui composent le STT sont en rapport avec l'extérieur par la résistance longitudinale  $R_{TL}$  de la lumière même de ces tubules. Il importe de considérer que ces tubules RT possèdent une membrane, donc une résistance membranaire ( $R_{RT}$ ) et une capacité membranaire ( $C_{RT}$ ). Les différents éléments du STT sont en parallèle sur ceux du sarcolemme.

Ainsi le schéma proposé sur la fibre d'écrevisse rejoint celui d'EISENBERG sur la fibre de crabe, ces deux schémas tenant compte de l'existence de deux systèmes membranaires par des moyens d'approche différents. Néanmoins, le schéma proposé par GIRARDIER et Coll. (1963) est plus élaboré dans le sens où il localise les différentes conductances ioniques membranaires en particulier  $g_K$  et  $g_{Cl}$ .

L'analyse des résultats obtenus sur la fibre de crabe par l'étude de la réponse membranaire à des créneaux de courant et à des modifications du contenu ionique du milieu extérieur permet d'élaborer un schéma électrique équivalent dérivé de ceux donnés ci-dessus.

### 3 - ELABORATION DU SCHEMA APPLICABLE A LA FIBRE DE CRABE

#### 3.1. Séparation des deux systèmes membranaires en parallèle

##### 3.1.1. Montage

Grâce à l'emploi de microélectrodes, l'analyse sur la fibre de crabe des variations du potentiel de membrane ( $E_m$ ) en fonction du temps permet de donner, de la membrane, un schéma électrique constitué de deux circuits intégrateurs R.C. en parallèle (sarcolemme et tubules). Une microélectrode mesure  $E_m$  et ses variations ; celles-ci sont consécutives à l'application d'un courant constant rectangulaire porté par une deuxième microélectrode.

##### 3.1.1.1. La microélectrode

Mise au point et utilisée dès 1946 par GRAHAM et GERARD, la technique de mesure de  $E_m$  par une microélectrode est très utilisée. Néanmoins, il convient de connaître les limites de cette technique. En effet, le potentiel enregistré, outre le fait qu'il est ponctuel, peut subir certaines altérations provenant de la présence d'une capacité parasite et du potentiel de pointe variable selon l'empalement dans la cellule (FERRIS et STEWART, 1974). Cependant, les causes d'erreurs peuvent être maîtrisées car elles dépendent en fait de la conformation de la microélectrode, et surtout de la pointe (le diamètre en déterminant l'impédance). Nos microélectrodes, réa-

lisées selon les données de ALEXANDER et NASTUK (1953) et de GESTELAND et Coll. (1959) sont en verre PYREX et remplies de KCl, 3M. Elles ont une impédance comprise entre 5 et 10 M $\Omega$ , ce qui correspond à un diamètre à la pointe de 1 à 0,5  $\mu\text{m}$ . Ne sont conservées que celles dont le potentiel de pointe est inférieur à 4 mV. En effet, ce potentiel de pointe, fonction du diamètre à la pointe, de la nature du verre, de la composition, de la concentration et du pH de l'électrolyte (SCHANNE et Coll., 1968) est différent pour chaque microélectrode et doit donc être mesuré avant son utilisation, tout comme d'ailleurs le potentiel de l'électrode au contact du milieu extracellulaire lorsque ce dernier est appelé à être modifié ultérieurement. Il est à noter que l'impédance de la microélectrode augmente avec la longueur de pointe implantée (CAILLÉ et GAGNÉ, 1971) mais, de toute façon, dans des proportions compatibles avec l'impédance d'entrée de l'appareil de mesure (montage électrométrique).

#### 3.1.1.2. - Enregistrement de $E_m$

La figure 23 (p. 54) donne le schéma du montage. La forte impédance de la microélectrode, liée à la faible impédance d'entrée de l'oscilloscope (1 M $\Omega$ ) rend nécessaire l'utilisation d'un abaisseur d'impédance construit d'après CHEVAL (1966) et CLOTTE (1969) dont les caractéristiques sont : impédance d'entrée > 1000 M $\Omega$ , impédance de sortie faible  $\neq$  10 k $\Omega$ ,

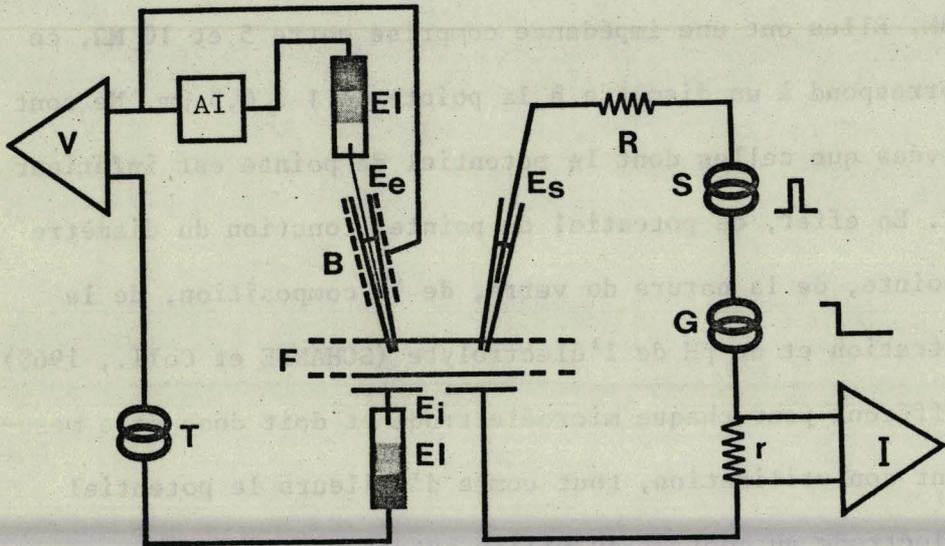


Figure 23 : Schéma du montage utilisé pour l'étude des propriétés électriques de la fibre musculaire squelettique de crabe baignant dans le liquide physiologique constamment renouvelé.

- A gauche : Circuit d'enregistrement du potentiel de membrane ( $E_m$ ). Celui-ci est mesuré grâce à la microélectrode ( $E_e$ ) fichée dans la fibre (F), par rapport à une électrode indifférente ( $E_i$ ).  $E_m$  est visualisé sur l'écran de l'oscilloscope (V) par l'intermédiaire d'un abaisseur d'impédance (AI) nécessaire du fait de la valeur de l'impédance de la microélectrode (5 à 10 M $\Omega$ ). Les électrodes sont rendues impolarisables par l'utilisation de piles au calomel (EI : Ag/AgCl/KCl, 3M). Une boîte de tarage (T) permet l'étalonnage. B est le blindage.

- A droite : Circuit permettant de modifier la valeur de  $E_m$ , soit de façon temporaire (S) ou continue (G). La perturbation est apportée par rapport à une électrode externe grâce à une microélectrode ( $E_s$ ). Le courant (I), mesuré grâce à la résistance (r) de faible valeur (5 k $\Omega$ ) est délivré par un générateur permettant de débiter dans la membrane un courant rendu constant du fait de l'interposition avec la microélectrode d'une résistance (R) de valeur élevée.

bande passante de 20 k Hz avec  $10 \text{ M } \Omega$  à l'entrée et après compensation de la capacité parasite, gain ramené à 1. Les électrodes (de mesure et de référence) sont rendues impolarisables par l'emploi de piles au calomel (Hg / HgCl / KCl, 3M). La faible résistivité du milieu extracellulaire ( $20 \text{ } \Omega \cdot \text{cm}$ , SHAW, 1955 a) permet de considérer l'électrode de référence au contact de la face externe de la membrane.

### 3.1.1.3. - Polarisation de la membrane

Elle peut être modifiée par application selon les besoins, soit d'un courant constant hyper- ou dépolarisant, transitoire ou permanent, soit d'un courant alternatif de fréquence déterminée. L'application est faite, grâce à un générateur adapté, par l'intermédiaire d'une microélectrode remplie de KCl, 3 M. Celle-ci doit d'ailleurs être de faible impédance ( $1 \text{ à } 5 \text{ M } \Omega$ ) et sélectionnée pour son aptitude à ne pas rectifier (FRANK et BECKER, 1964 ; KOPPENHÖFER et SCHRAMM, 1974). La figure 23 (p.54) donne le schéma synoptique du montage utilisé pour modifier  $E_m$ .

$E_m$  et le courant appliqué à la membrane sont visualisés et mémorisés sur oscilloscope TEKTRONIX 5031 puis photographiés grâce à une caméra TEKTRONIX C70.

### 3.1.2. - Analyse des deux systèmes membranaires en parallèle (sarcolemme et tubules)

#### 3.1.2.1. - Formulation mathématique

##### 3.1.2.1.1. - Schéma électrique équivalent

Le schéma électrique équivalent de la membrane de la fibre de crabe donné par EISENBERG (1967) fait état de deux circuits R.C. en parallèle. En considérant ce schéma comme un élément, la membrane de la fibre excitable doit être formée d'un ensemble d'éléments identiques en parallèle réunis par l'intermédiaire des résistances intra- et extracellulaires (figure 24 a, p.57).

Le problème qui se pose est de savoir comment répond cet ensemble d'éléments à la modification de la polarité de l'élément de rang  $n$ , l'enregistrement de la réponse se faisant au niveau de l'élément de rang  $n + x$ .

L'analyse mathématique d'un tel réseau étudié par LOUAGE (1975) montre que :

- les résistances  $R_b$  et  $R_t$  dues à la présence du matériel amorphe au niveau du sarcolemme et dans la lumière des tubules ne modifient pas l'allure de la réponse mais introduisent néanmoins un éloignement constant du potentiel des circuits R.C. de celui du milieu externe;

- à la condition que  $x$ , le nombre d'éléments séparant l'élément perturbé de l'élément interrogé soit supérieur

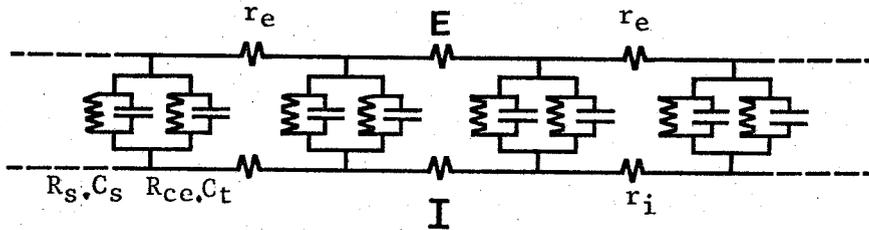


Figure 24 a

Figure 24 : Schémas électriques équivalents de la membrane de la fibre de crabe placée sous différentes conditions expérimentales.

- 24 a : Schématisation de la membrane : celle-ci est formée de  $n$  éléments placés en parallèle et réunis les uns aux autres par l'intermédiaire des résistances du milieu interne ( $r_i$ ) et du milieu externe ( $r_e$ ). Chaque élément est constitué de deux circuits R.C. ( $R_s \cdot C_s$  correspond à la membrane sarcolemmique,  $R_{ce} \cdot C_t$  à la membrane tubulaire) placés en parallèle. Les schémas b, c et d correspondent au schéma de EISENBERG (1967) (voir figure 22, p. 48) où certains éléments sont modifiés :
- 24 b : la résistance de la membrane sarcolemmique ( $R_s$ ) est supprimée.
- 24 c : la résistance de la membrane tubulaire ( $R_{ce}$ ) est supprimée.
- 24 d : tout le circuit R.C. correspondant à la membrane tubulaire ( $R_{ce} \cdot C_t$ ) est supprimé.

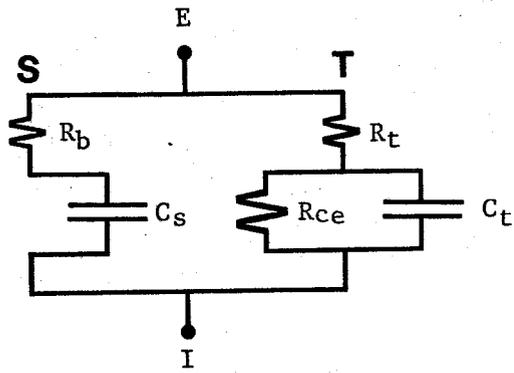


Figure 24 b

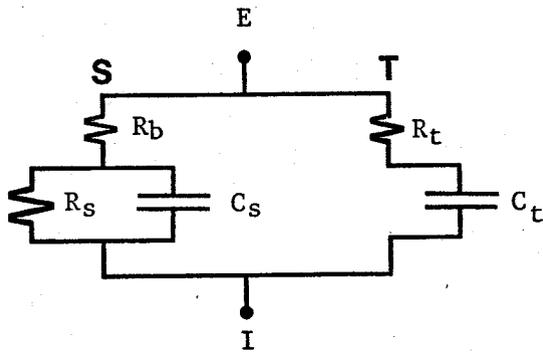


Figure 24 c

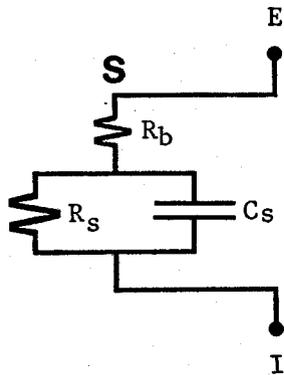


Figure 24 d

à 10, la membrane de la fibre excitable répond comme un seul élément.

Tout donne lieu à penser qu'expérimentalement cette condition est réalisée puisque la distance interélectrode est de l'ordre de 100  $\mu\text{m}$  et que la distance séparant deux stries Z est voisine de 4-5  $\mu\text{m}$  (PEACHEY, 1966 ; MATHIEU, 1970).

Le développement de l'analyse mathématique permettant de dire que la membrane de la fibre excitable se comporte comme un simple circuit R.C. est donné en annexe I.

#### 3.1.2.1.2. - Réponse du modèle à un échelon de courant.

La réponse est telle que, outre une polarisation immédiate due à la présence de  $R_b$  et  $R_t$ , le potentiel ( $v_t$ ) tend, en fonction du temps, vers une valeur  $V$  maximum selon l'équation :  $v_t = V (1 - e^{-\alpha t})$  où  $\alpha$ , coefficient de l'exponentielle est égal à  $\frac{1}{R.C.}$ , R.C. dépendant bien évidemment des caractéristiques électriques de chacun des deux circuits R.C. en parallèle (correspondant respectivement à la membrane du sarcolemme et à celle des tubules).

Avant d'étudier la réponse de la membrane biologique, en fonction de la schématisation équivalente qui en a été faite, une simulation physique concrète est réalisée à l'aide de composants électroniques.

- Le modèle utilisé dérive du schéma de EISENBERG

(1967) (figure 22, p. 48). Les valeurs des résistances et capacités sont telles que l'hypothèse de EISENBERG est vérifiée. En effet, les deux circuits R.C. correspondant au sarcolemme ( $R_s$  et  $C_s$ ) et aux tubules ( $R_{ce}$  et  $C_t$ ), sont équivalents. Afin de respecter approximativement les rapports entre les valeurs proposées pour chacune des caractéristiques électriques de la fibre de crabe et celles de notre modèle de simulation ont été choisis :  $R_b = 10 \Omega$  ;  $R_t = 22 \Omega$  ;  $R_s = 1200 \Omega$  ;  $C_s = 10 \mu F$  ;  $R_{ce} = 220 \Omega$  et  $C_t = 50 \mu F$ .

- Un créneau de courant constant est appliqué entre E et I de façon à modifier le potentiel entre ces points. L'évolution de ce potentiel est étudiée en fonction du temps après modification ou non du circuit.

- Lorsque tous les composants du modèle sont présents (figure 25 a, p. 61), la réponse  $v_t$  (figure 25 b, p.61) évolue en fonction du temps selon l'équation  $v_t = V (1 - e^{-\alpha t})$  comme l'atteste la courbe M 1 de la figure 26 (p.62). L'équation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  est traduite par une droite avec un coefficient de corrélation de .999 ( $n = 27$ ). Dans ces conditions, l'équation de  $v_t = f(t)$  peut s'écrire :

$$v_t = 1,824 (1 - e^{-78t}) \quad (t \text{ en s}).$$

De cette équation, il est déduit la valeur du circuit R.C. dans ces conditions : R.C. =  $12,8 \cdot 10^{-3} \Omega.F$  correspondant bien évidemment à ce que donne le calcul.

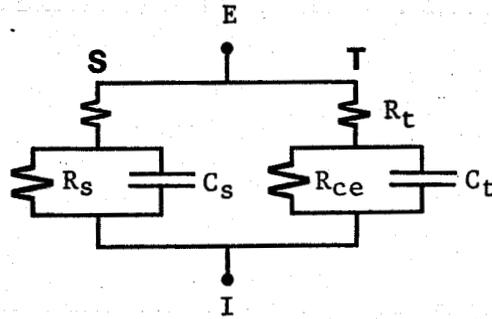


Figure 25 a

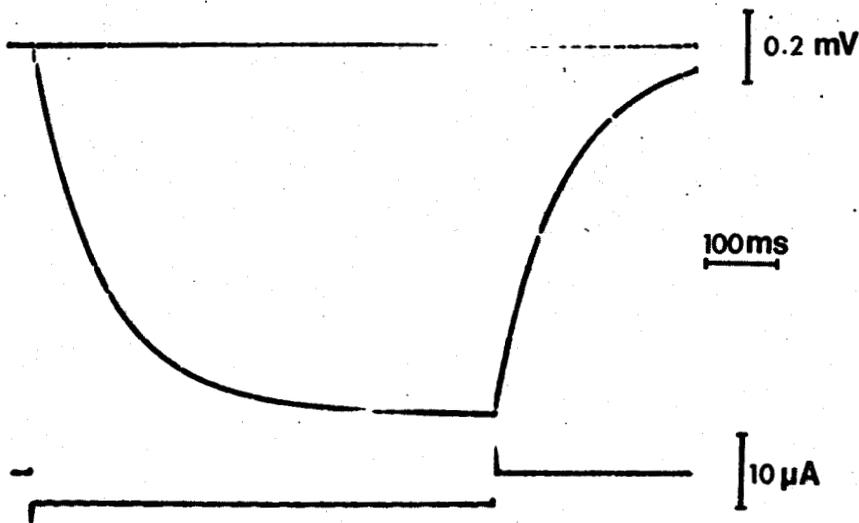


Figure 25 b

Figure 25 : Modèle établi à partir du schéma proposé par EISENBERG (1967).

- 25 a : Schéma du modèle électrique utilisé. E représente l'extérieur de la membrane, I l'intérieur. Pour la signification de chaque élément, se reporter au schéma de EISENBERG (1967, figure 22, p. 48).

$R_b = 10 \Omega$  ;  $R_t = 22 \Omega$  ;  $R_s = 1200 \Omega$  ;  $C_s = 10 \mu F$  ;  $R_{ce} = 220 \Omega$  et  $C_t = 50 \Omega F$ .

- 25 b : Enregistrement de la réponse (tracé du haut) du modèle à un créneau de courant (tracé du bas). L'évolution de cette réponse ( $v_t$ ) en fonction du temps est exponentielle comme le montre la mise en équation (voir texte).

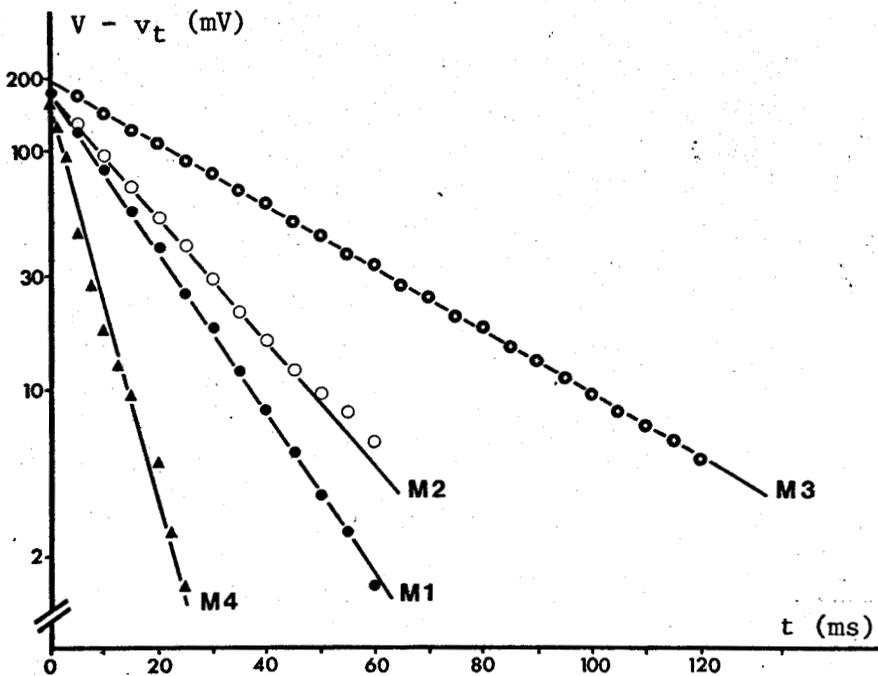


Figure 26a

Figure 26 : Réponses ( $v_t$ ) du circuit de simulation plus ou moins modifié à des crêteaux de courant qui lui sont appliqués. Les courbes M1, M2, M3 et M4 correspondent à la représentation graphique (figure 26 a) de l'équation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$ . Les enregistrements permettant de tracer ces courbes (figure 26 b) correspondent à la réponse du modèle au crêteau de courant qui lui est appliqué (tracé du bas).

- M1 : réponse du modèle non modifié (schéma figure 25 a, p. 61) ( $v_t = 1,824 (1 - e^{-78t})$  ( $t$  en s).

- M2 : réponse du modèle dont la résistance  $R_s$  est supprimée (schéma figure 24 b, p. 58) ( $v_t = 1,668 (1 - e^{-57t})$  ( $t$  en s).

- M3 : réponse du modèle dont la résistance  $R_{ce}$  est supprimée (schéma figure 24 c, p. 58) ( $v_t = 1,987 (1 - e^{-30t})$  ( $t$  en s).

- M4 : réponse du modèle dont le circuit  $R_{ce} \cdot C_t$  est supprimé (schéma figure 24 d, p. 58) ( $v_t = 1,248 (1 - e^{-175t})$  ( $t$  en s).

L'intensité du courant appliqué au modèle est telle que la valeur de  $V$  est sensiblement la même pour comparer plus aisément les différentes pentes.

En effet, un même courant se traduit par une valeur de  $V$  qui dépend de la composition du circuit comme le montrent les enregistrements 26 A, 26 B, 26 C correspondant respectivement au montage complet, à la suppression de  $R_s$  et à celle de  $R_{ce}$ .

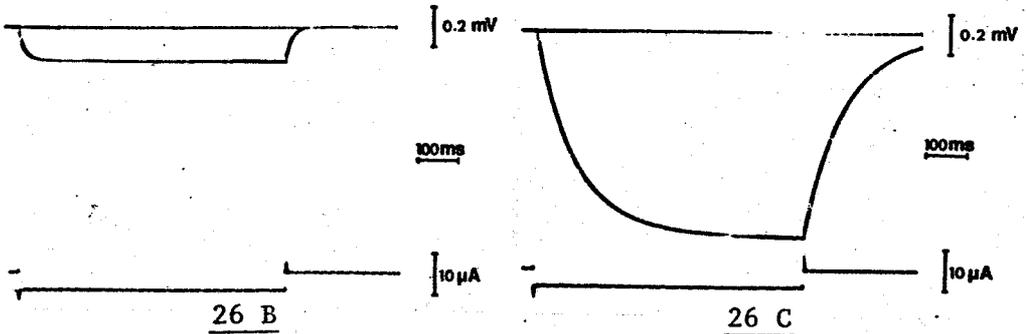
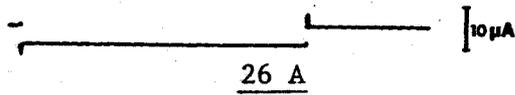
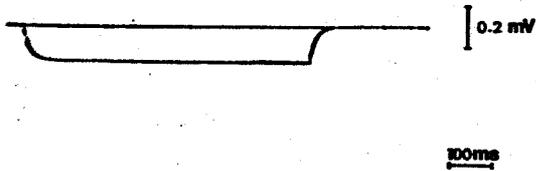
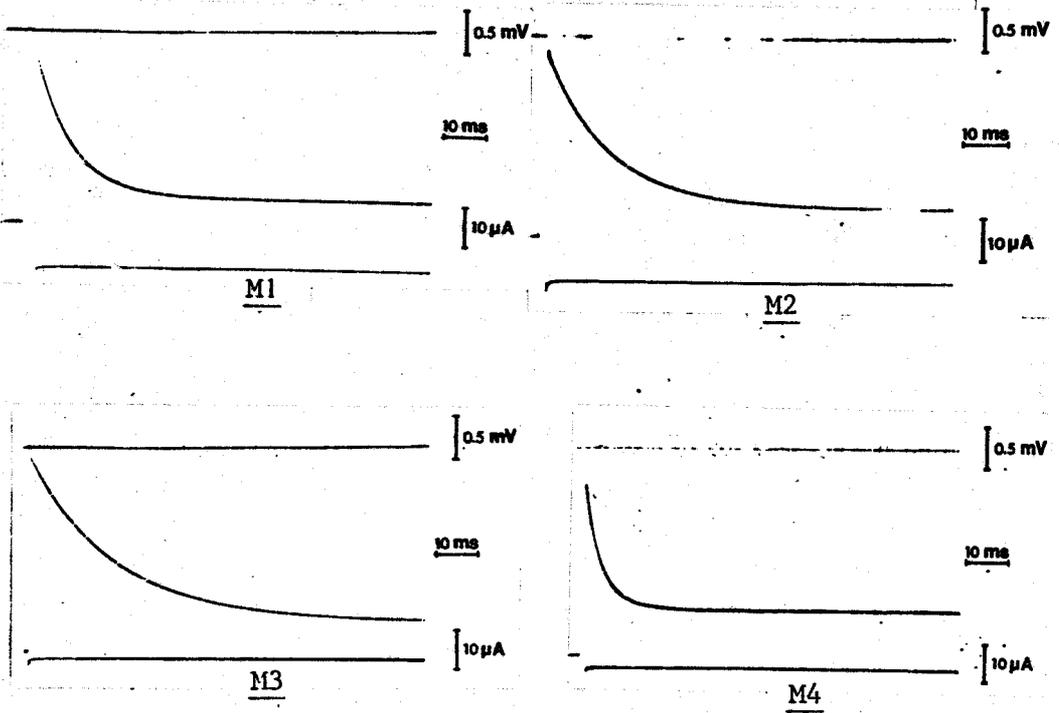


Figure 26 b

- La suppression de  $R_b$  et  $R_t$  (figure 27 a, p. 65) fait que le point E est ramené directement aux bornes des circuits R.C. ; la variation de potentiel instantanée observable à l'établissement et à l'annulation du courant appliqué (figure 25 b, p. 61) disparaît (figure 27 b, p. 65). Ainsi, la présence ou l'absence de  $R_b$  et  $R_t$  ne modifie pas l'allure de la réponse  $v_t = f(t)$ .

- Sur une fibre, inhiber une conductance ionique localisée, par exemple au niveau de la membrane sarcolemmique, revient à rendre la résistance de cette membrane pratiquement  $\infty$  sans modification de sa capacité. Ainsi, en enlevant la résistance  $R_s$  au modèle (figure 24 b, p. 58), la réponse  $V_t = f(t)$  est modifiée comme le montre l'enregistrement M2 de la figure 26 (p. 62). La droite expérimentale M2 traduisant  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  présente un coefficient de corrélation de .999 ( $n = 27$ ). Ainsi, l'équation de  $v_t = f(t)$  s'écrit :

$$v_t = 1,668 (1 - e^{-57t}) \quad (t \text{ en s}).$$

La valeur de R.C. calculée dans ces conditions est de  $17,5 \cdot 10^{-3} \Omega.F.$  En faisant abstraction de  $R_b$  le calcul donne  $13,2 \cdot 10^{-3} \Omega.F.$

- De la même façon la suppression de la résistance  $R_{ce}$  du circuit R.C. correspondant au système tubulaire (figure 24 c, p. 58) se traduit par une relation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  linéai-

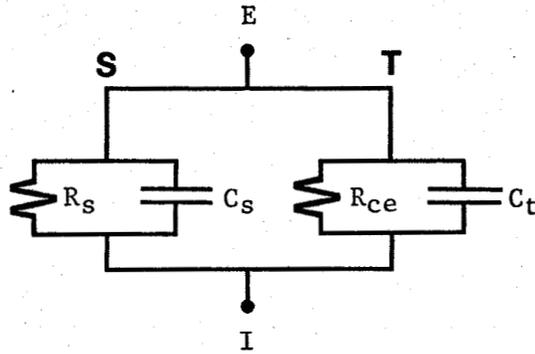


Figure 27 a

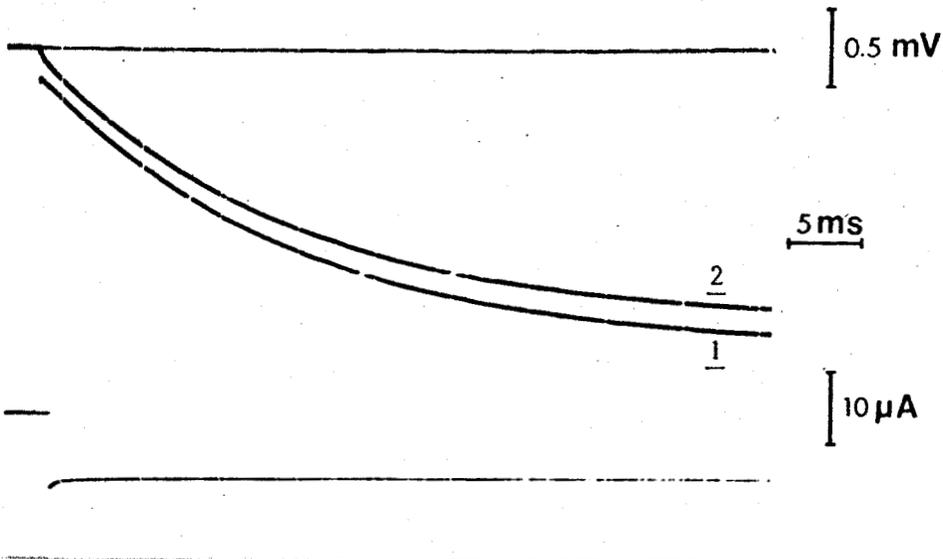


Figure 27 b

Figure 27 : Réponses du modèle lorsque les résistances  $R_b$  et  $R_t$  (voir schéma de EISENBERG, figure 22, p. 48.) sont présentes (figure 22) ou non (figure 27 a).

La figure 27 b montre le rôle de ces résistances. En effet, la suppression de  $R_b$  et  $R_t$  (tracé 2) se traduit par la disparition de la variation instantanée de  $v_t$  à l'établissement du courant observable dans les conditions normales (tracé 1).



re comme le montre la droite M3 de la figure 26 (p. 62)

(coefficient de corrélation : . 999, n = 27).

L'équation  $v_t = f(t)$  s'écrit :

$$v_t = 1,987 (1 - e^{-30 t}) \quad (t \text{ en s})$$

d'où il apparaît que le circuit R.C. possède une valeur de  $33,33 \cdot 10^{-3} \Omega.F.$

- La suppression pure et simple du circuit R.C. correspondant à la membrane tubulaire ( $R_{ce} \cdot C_t$  et  $R_t$ ) (figure 24. d p. 58) modifie de façon importante la pente de la droite traduisant la relation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  comme le montre la courbe M4 de la figure 26 (p. 62) (coefficient de corrélation : . 994, n = 13). Dans ces conditions, l'équation  $V_t = f(t)$  devient :

$$v_t = 1,248 (1 - e^{-175 t}) \quad (t \text{ en s}).$$

Le coefficient d'exponentielle permet de donner la valeur du circuit R.C. dans ces conditions :  $5,71 \cdot 10^{-3} \Omega.F.$ , circuit qui ne correspond plus qu'au circuit R.C. du système sarcolemmique.

3.1.3.1.3. - En conclusion, l'analyse de la réponse d'un modèle simulant la membrane biologique à partir des données de EISENBERG (1967) permet d'affirmer que la membrane bien que constituée de deux circuits R.C. en parallèle, répond comme un seul circuit R.C. Toutefois, si, dans le dé-

veloppement mathématique,  $R_b$  et  $R_r$  peuvent être négligées pour montrer que  $v_t = V (1 - e^{-\alpha t})$ , elles interviennent dans le calcul de la pente de la relation linéaire  $\text{Log} (V - v_t) = f(t)$ . En effet, la mise en équation de cette réponse conduit à donner une valeur de R.C. qui ne correspond pas exactement à celle que le calcul permet de donner en ne considérant que  $R_s$ ,  $R_{ce}$ ,  $C_s$  et  $C_t$ . Ainsi, à partir des valeurs données par EISENBERG (1967) il est possible d'établir le rapport dans lequel la valeur de R.C. varie lorsque :

- $R_s$  est  $\infty$  : R.C. x 1,368
- $R_{ce}$  est  $\infty$  : R.C. x 2,600
- $R_{ce}$ ,  $C_t$  et  $R_t$  sont supprimées : R.C. x 0,446.

### 3.1.2.2. - Discrimination entre les deux systèmes membranaires de la fibre musculaire de crabe.

Connaissant la réponse d'un modèle simulant la membrane et sachant comment évolue cette réponse en fonction des modifications que l'on peut apporter aux différents éléments constituant le circuit, il est aisé de savoir si l'hypothèse de EISENBERG (1967) se vérifie et si elle apporte, en outre, des éléments importants d'information sur la localisation et d'éventuelles modifications des perméabilités membranaires sous certaines conditions expérimentales. En effet, une étude similaire à celle conduite sur le modèle (§ précédent), peut être entreprise

sur la fibre musculaire squelettique de crabe. La perturbation est apportée à la membrane par un créneau de courant de faible intensité (hyperpolarisant pour éviter d'éventuels phénomènes de rectification). La réponse enregistrée permet d'établir si la relation  $(V - v_t) = f(t)$  correspond à une exponentielle et ainsi de connaître la valeur du circuit R.C. équivalent de la membrane.

En utilisant certains milieux anormaux et certains inhibiteurs, on peut bloquer, ou du moins fortement diminuer, une conductance membranaire précise. Sachant que chaque système membranaire de la fibre de crabe est préférentiellement perméable à une espèce ionique, l'inhibition de la conductance de l'un des ions considérés revient à rendre  $\infty R_s$  ou  $R_{ce}$  du modèle. Il convient d'établir, dans ces conditions, le rapport dans lequel se modifie la valeur du circuit R.C. en référence au milieu normal pour savoir si, sous certaines conditions, l'élimination de la membrane tubulaire ou externe est effective.

#### 3.1.2.2.1. - Existence de $R_b$ et $R_t$

L'analyse de la réponse  $E_m = f(t)$  de la membrane à des créneaux de courant constant permet de mettre en évidence, à l'établissement et à la rupture du courant, une variation instantanée de  $E_m$  (figure 28, p. 69). Cette variation témoigne de l'existence de la résistance  $R_b$  due au matériel amorphe existant à la surface du sarcolemme et de celle de  $R_t$  correspondant à la

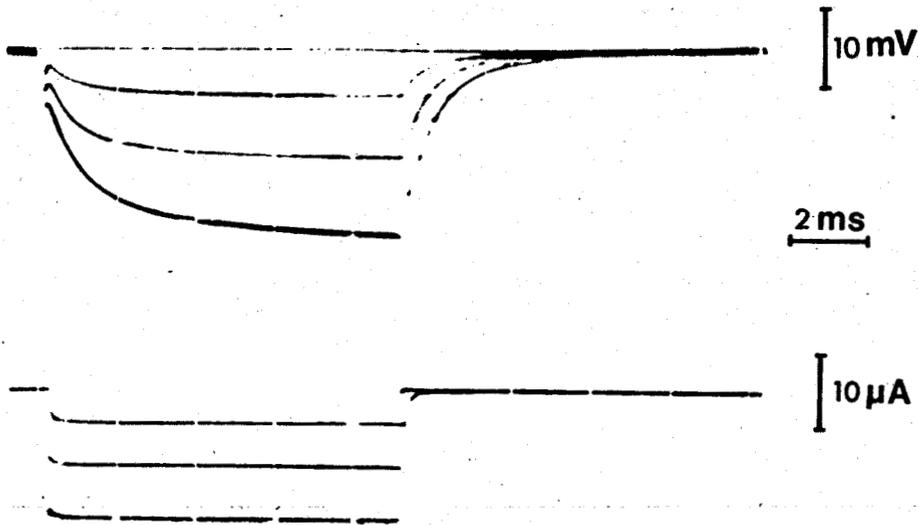


Figure 28 : Enregistrements des variations de  $E_m$  (tracés du haut) de la fibre musculaire squelettique de crabe, en fonction du temps lors de l'application de crêneaux de courants hyperpolarisants (tracés du bas).

La variation instantanée de  $E_m$  à l'établissement et à l'annulation du courant, rend compte de l'existence des résistances  $R_b$  (résistance du matériel amorphe présent à la surface du sarcolemme et des invaginations longitudinales de celui-ci) et  $R_t$  (résistance longitudinale des tubules).

L'évolution de  $E_m$  en fonction du temps répond à l'équation

$$E_m = V (1 - e^{-400 t}) \quad (t \text{ en } s),$$

ce qui donne une valeur du circuit R.C. équivalent de la membrane de l'ordre de  $2,5 \cdot 10^{-3} \Omega.F.$

résistance longitudinale des lumières tubulaires. Toutefois, compte-tenu de la variabilité de ce potentiel instantané selon les fibres et la possibilité d'un passage direct par capacité d'une partie du courant de polarisation à l'électrode d'enregistrement, il ne peut être donné d'estimation quant à la valeur absolue ou relative de  $R_b$  et de  $R_t$ .

#### 3.1.2.2.2. - Blocage du sarcolemme

Comme nous le verrons ultérieurement (§ 322), les ions  $H^+$  bloquent, sur certaines préparations, la conductance de surface (BROOKS et HUTTER, 1962 ; SPURWAY, 1965 ; HUTTER et WARNER, 1967 a ; 1967 b) qui s'avère être sur la fibre de crabe une conductance aux ions  $K^+$  (MOUNIER et Coll., 1970).

Ainsi, un milieu dépourvu d'ions  $K^+$  (12,9 mM de chlorure de choline remplaçant le KCl) et rendu acide par un tampon biphtalate de  $K^+$  (5 mM) - Na OH (0,25 mM) (pH : 4,25) doit diminuer  $g_K$ , donc rendre  $R_s$  très élevée.

La figure 29 (p. 71) donne l'enregistrement de la réponse à un créneau de courant hyperpolarisant d'une fibre placée dans les conditions normales (enregistrement  de gauche) et de la même fibre après action pendant 20 mn du milieu anormal acide dépourvu de  $K^+$  (enregistrement  de droite).

L'équation donnant  $v_t = f(t)$  est :

$$v_t = 19,787 (1 - e^{-355 t}) \quad (t \text{ en s}) \text{ dans les conditions}$$

normales, et

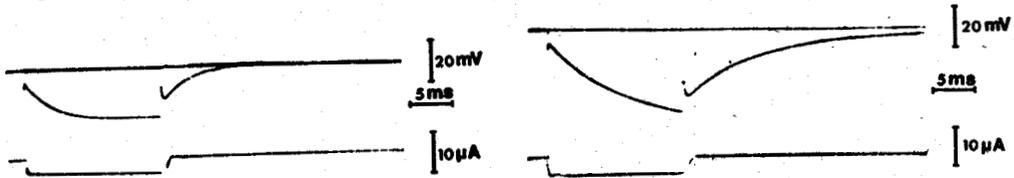


Figure 29 a

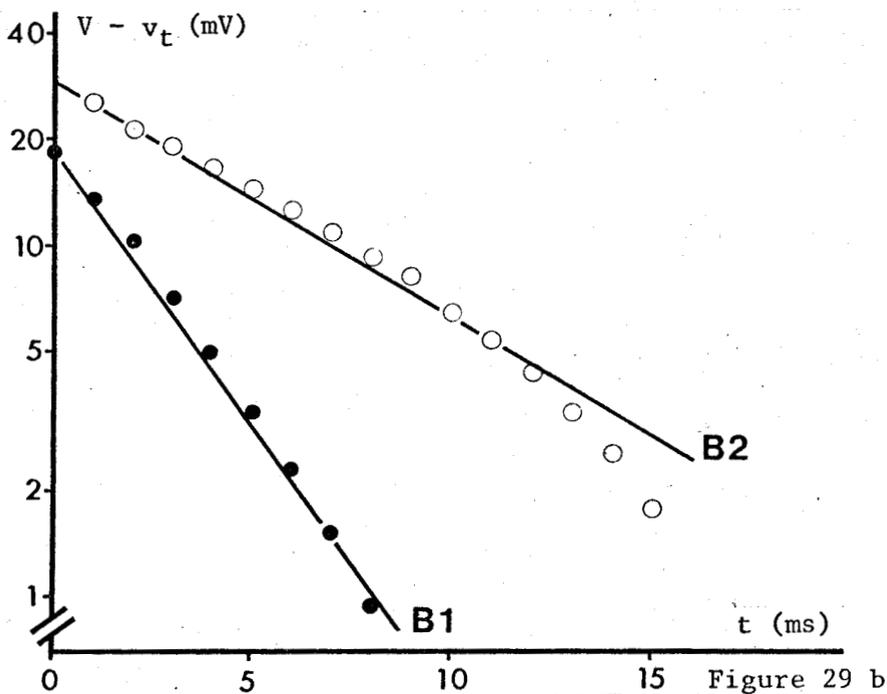


Figure 29 b

Figure 29 : Evolution de  $E_m$  en fonction du temps consécutivement à l'application d'un créneau de courant hyperpolarisant dans les conditions normales et dans les conditions où la conductance sarcolemmique ( $1/R_s$ ) est bloquée par les ions  $H^+$  et l'absence de  $K^+$  extracellulaire.

- 29 a : Variations de  $E_m$  consécutives à l'application du même créneau de courant (tracés de bas) dans les conditions normales (figure de gauche) et après action du milieu acide (pH = 4,25) dépourvu d'ions  $K^+$  (figure de droite).
- 29 b : Courbes traduisant la relation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  dans les conditions normales (courbe B 1) et après blocage de la conductance du sarcolemme (courbe B 2). La valeur du circuit R.C. augmente dans un rapport de 1,994.

$v_t = 32,624 (1 - e^{-178 t})$  (t en s) après inhibition de  $g_K$ . En effet, les courbes B 1 et B 2 de la figure 29 b (p. 71) correspondant respectivement au milieu de référence et au milieu anormal traduisant  $\text{Log}(V-v_t) = f(t)$  comme une relation linéaire, compte-tenu des coefficients de corrélation respectifs : .999 (n = 17) et .987 (n = 25).

Le calcul de la valeur du circuit R.C. équivalent de la membrane dans les conditions normales ( $= 2,81.10^{-3} \Omega.F$ ), et anormales ( $= 5,61.10^{-3} \Omega.F$ ) permet d'établir le rapport dans lequel cette valeur s'est modifiée. Ce rapport de 1,994 est légèrement supérieur à celui dans lequel se fait l'augmentation de la résistance membranaire de repos (1,649) et à celui prévu par le modèle (1,368). Ces discordances conduisent à considérer, compte-tenu des valeurs données par EISNEBERG, qu'effectivement, dans de telles conditions, la conductance de surface est relativement faible.

### 3.1.2.2.3. - Blocage des tubules

La suppression des ions chlorure du milieu extracellulaire entraîne une très forte diminution de la conductance à ces ions (MOORE, 1969) qui se trouve être localisée chez la fibre de crabe au niveau du STT (SELVERSTON, 1967) comme cela sera vu ultérieurement (§ 323).

Un milieu où les ions chlorure sont remplacés par des ions propionate ou méthylsulfate, les autres ions restant à

leur concentration de référence, augmente considérablement  $R_{ce}$ .

La figure 30 (p. 74) montre l'évolution de la relation  $v_t = f(t)$  obtenue en milieu de référence (figure 30 **b** courbe B1) et après 30 mn d'action du milieu dépourvu d'ions chlorure (figure 30 **b** courbe B3).

La relation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  obtenue dans les deux cas (courbes B 1 et B 3 respectivement) se révèle être linéaire. En effet, les coefficients de corrélation sont .992 (n = 18) pour la courbe B 1 et .999 (n = 27) pour B 3.

L'équation  $v = f(t)$  peut s'écrire :

$v_t = 33,082 (1 - e^{-378t})$  (t en s) pour le milieu de référence et

$v_t = 44,080 (1 - e^{-134t})$  (t en s) après blocage des tubules.

Le coefficient d'exponentielle permet de donner au circuit R.C. équivalent la valeur de  $2,64 \cdot 10^{-3} \Omega.F$  dans les conditions normales et  $7,46 \cdot 10^{-3} \Omega.F$  dans les conditions anormales. Le rapport de ces deux valeurs (2,820) est pratiquement analogue à celui prévu par le modèle (2,600).

#### 3.1.2.2.4. - "Détubulation" de la fibre

La lésion sélective du STT des fibres musculaires striées peut être faite grâce à un choc osmotique.

Depuis OVERTON (1902) et STEGGARDA (1927) on sait que l'hypertonie provoque une perte des phénomènes mécaniques.

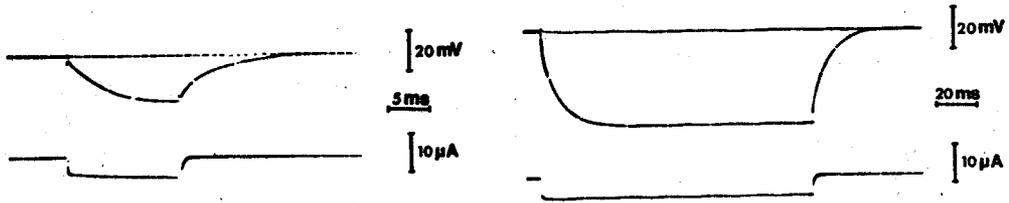


Figure 30 a

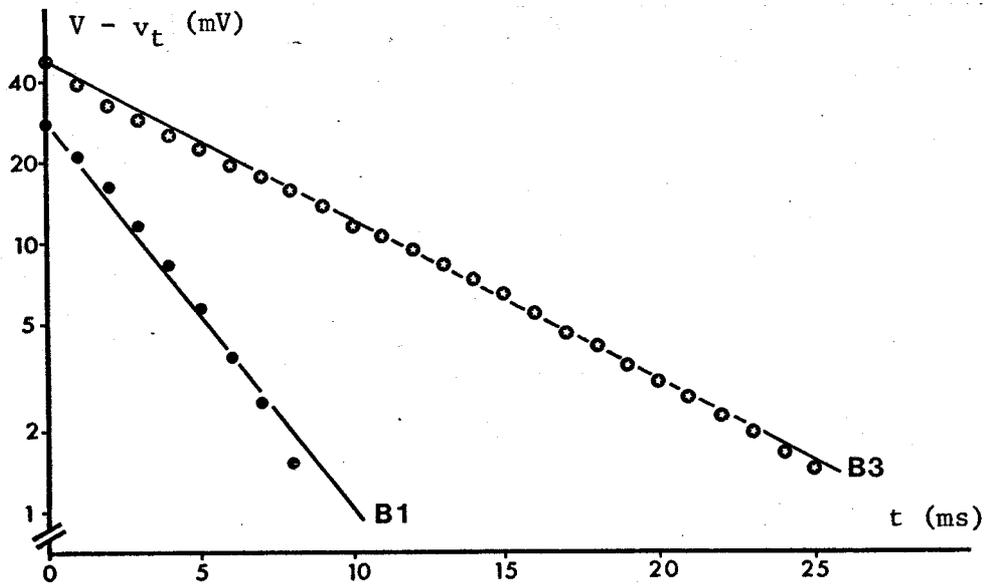


Figure 30 b

Figure 30 : Evolution de  $E_m$  en fonction du temps lors de l'application d'un crêneau de courant hyperpolarisant dans les conditions où la conductance des tubules est considérablement réduite par absence d'ions chlorure du milieu extracellulaire.

- 30 a : Variations de  $E_m$  lors de l'application du même crêneau de courant (tracés du bas) dans les conditions normales (figure de gauche) et après action du milieu dépourvu d'ions chlorure (ions de remplacement : ions propionate ou méthylsulfate) (figure de droite).

- 30 b : Courbes  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  dans les conditions normales (courbe B 1) et après blocage de la conductance de la membrane des tubules (courbe B 3).

La résistance membranaire de repos s'accroît, ainsi que la valeur du circuit R.C. équivalent (selon un facteur de 2,820).

BHS  
LILLE

"L'effet glycérol" est obtenu lors du retour aux conditions initiales de la fibre traitée au préalable par un milieu rendu hypertonique par addition de glycérol (HOWELL et JENDEN, 1967 ; HOWELL, 1969 ; KROLENKO, 1969). Le choc osmotique se traduit par un découplage entre l'excitation et la contraction (YAMAGUCHI et Coll. 1962 ; BIRKS et DAVEY, 1969 ; ILDEFONSE et Coll., 1969 b ; ADRIAN et Coll., 1970 a ; MIYAMOTO et HUBBARD, 1972). Cet effet semble, pour la fibre de grenouille, être spécifique de l'emploi du glycérol comme substance rendant le liquide physiologique hypertonique car l'emploi, par exemple, de saccharose n'entraîne pas le même phénomène (FUJINO et Coll., 1961 ; YAMAGUCHI et Coll., 1962 ; HOWELL, 1969). Toutefois, l'urée se révèle pouvoir, sur la fibre de grenouille, remplacer le glycérol (FUJINO et Coll., 1972) de même que l'éthylène glycol (ŠEVČIK et NARAHASHI, 1972). Le choc osmotique se traduit par un maintien de la valeur de  $E_r$  à la condition d'ajouter des ions divalents au milieu externe (HOWELL et Coll., 1970 ; EISENBERG et Coll., 1971) car sans cette condition, HOWELL, (1969), EISENBERG et GAGE, (1969) ; HENDERSON (1970) observent de grandes variations. Le potentiel d'action est maintenu (HOWELL, 1969 ; GAGE et EISENBERG, 1967, 1969 ; SEVČIK et NARAHASHI, 1972 ; PARDO et Coll., 1974 ...). Il apparaît également que le post-potentiel négatif du PA est aboli (EISENBERG et GAGE, 1967) ainsi que les propriétés de rectification de la membrane (ILDEFONSE et ROUGIER, 1968 ; KAO et

STANFIELD, 1968 ; ILDEFONSE et Coll., 1969 b) bien qu'une partie de la rectification anormale se manifeste en surface (TAKEDA et OOMURA, 1969 ; GAGE et EISENBERG, 1969). D'autre part, la rupture des tubules de la fibre de grenouille est attestée par la diminution de la valeur spécifique du condensateur membranaire (EISENBERG et GAGE, 1967 ; EISENBERG et Coll., 1972 ; PAPIR, 1973) qui, dans ces conditions, n'est plus fonction de la valeur de la pression osmotique (VAUGHAN et Coll., 1972).

Ainsi, un processus expérimental équivalent appliqué à notre préparation est important pour l'établissement du modèle électrique qui doit être fait en fonction de l'effet de la rupture des tubules sur la réponse électrique. Quant au mode d'action du glycérol sur la structure de la fibre, il n'est pas parfaitement connu (HOWELL, 1969 ; SEVCIK et NARAHASHI, 1972). Cependant, il est bien établi que l'augmentation de pression osmotique provoque une diminution du volume de la fibre par sortie d'eau (BLINKS, 1965) laquelle provoque un gonflement des tubules (BOZLER, 1961 ; KROLENKO et ADAMJAN, 1967 ; RAPOPORT et Coll., 1968). Lors du retour aux conditions initiales, des vésiculations du STT apparaissent dénotant une destruction sélective de cette structure (EISENBERG et EISENBERG, 1968 ; KROLENKO, 1969 ; NAKAJIMA et Coll., 1969) probablement en rapport avec des mouvements de glycérol (KROLENKO et Coll., 1973). En définitive, 98 p. 100 des tubules sont désolidarisés de la membrane sarcolemmique (EISENBERG et EISENBERG, 1968),

ce qui revient à dire que le comportement électrique de la membrane de la fibre correspond exclusivement à celui de la membrane sarcolemmique.

Sur la fibre de crabe, la destruction des tubules est produite grâce à un choc osmotique provoqué par un milieu hypertonique (milieu normal additionné de 2376 mM de glycérol) de pression osmotique égale à 3 fois la pression osmotique de référence. Il apparaît nécessaire de soumettre la fibre à une pression osmotique plus élevée que sur la fibre de grenouille pour obtenir le même résultat, une pression osmotique double de celle de référence étant suffisante pour cette dernière (HOWELL et JENDEN, 1967 ; KROLENKO, 1969 ; HOWELL, 1969). Pour cette fibre, le temps optimum d'imbibition dans le milieu hypertonique s'avère être de 20 mn. Certaines fibres, soumises à l'action du glycérol, se lèsent lors du retour aux conditions initiales comme l'atteste la chute importante de la valeur de  $E_r$  et celle de  $R_m$ . Seules sont conservées les fibres qui présentent, après traitement, une valeur de  $E_r$  proche de la valeur normale se maintenant au cours du temps et une  $R_m$  supérieure à celle de référence.

La figure 31 (p.78) donne un exemple d'enregistrement de la relation  $v_t = f(t)$  avant (enregistrement 1) et après choc osmotique (enregistrement 2). La mise en équations des relations  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  permet de dire qu'il s'agit de

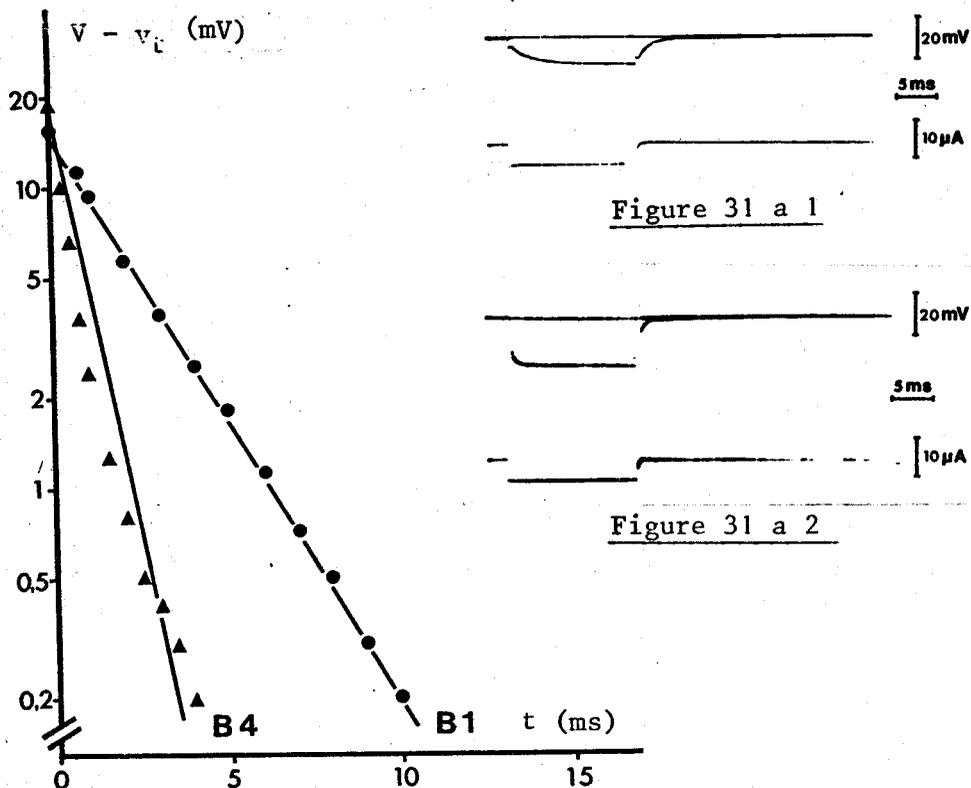


Figure 31 b

Figure 31 : Evolution de  $E_m$  en fonction du temps après application d'un crêneau de courant hyperpolarisant dans les conditions où tout le système tubulaire est désolidarisé du sarcolemme.

La rupture des tubules est provoquée lorsque la fibre, après avoir été soumise à un milieu hypertonique (3 fois la pression osmotique normale par addition de glycérol), est replacée dans le milieu de référence.

- 31 a : Variations de  $E_m$  consécutives à l'application d'un même crêneau de courant hyperpolarisant (tracés du bas) dans les conditions normales (figure 31 a1) et après rupture, sur la même fibre, des tubules (figure 31 a2).

3115  
LILLE

31 b : Evolution de la relation  $\text{Log}(V - v_t) = f(t)$  dans les conditions normales (courbe B 1) et après rupture des tubules (courbe B 4). La valeur du circuit R.C. équivalent chute selon un rapport de 0,244.

droites (coefficients de corrélation respectifs : .998, n = 16 pour B 1 et .989, n = 13 pour B 4).

Donc l'équation  $v_t = f(t)$  peut s'écrire :

-  $v_t = 13,491 (1 - e^{-420t})$  (t en s) pour le milieu normal,

et -  $v_t = 15,394 (1 - e^{-1725t})$  (t en s) après choc osmotique.

La résistance de membrane s'est accrue de 14 p. 100 pendant que, corrélativement, la valeur du circuit R.C. équivalent de  $2,38.10^{-3} \Omega F$  passe à  $0,58.10^{-3} \Omega F$  après rupture des tubules, soit une modification selon un rapport de 0,244, inférieur à celui trouvé à partir du modèle dérivé de EISENBERG (0,446). La baisse de la valeur du circuit R.C. équivalent, bien que la résistance de membrane globale augmente, montre que, effectivement, le choc osmotique supprime le circuit R.C. dû aux tubules. Toutefois, l'augmentation de  $R_m$  globale moindre que par blocage de  $g_{Cl}$  par absence d'ions chlorure et la baisse corrélatrice de la valeur de R.C., plus importante que celle qui peut être calculée à partir du modèle, laissent supposer que la valeur de  $C_t$  est plus importante que celle prévue par EISENBERG ou que, selon toute vraisemblance, des microlésions, à l'endroit des connexions entre le sarcolemme et les tubules, shuntent légèrement la résistance sarcolemmique.

3.1.2.3. - En conclusion, il s'avère que, dans les conditions expérimentales formulées plus haut, la réponse de la fibre musculaire squelettique de crabe à un créneau de courant faible appliqué très localement montre qu'au niveau de l'enregistrement, la membrane se comporte comme un simple circuit R.C. séparé toutefois du milieu externe par deux résistances ohmiques ( $R_b$  et  $R_r$ ). La valeur du circuit R.C. dépend de chacun des deux circuits que constituent les systèmes membranaires sarcolemmique et tubulaire. C'est ce que montrent les études portant sur un modèle de simulation établi à partir des travaux de EISENBERG (1967) et sur notre préparation soumise à différents milieux ayant pour but de modifier la valeur de l'un ou l'autre des systèmes membranaires.

En effet, compte-tenu des calculs précédents, on dispose de données permettant d'évaluer la variation relative de la valeur du circuit R.C. dans des conditions anormales en comparaison avec celle obtenue dans les conditions normales. Ainsi, la valeur du circuit R.C. varie dans les rapports suivants :

- R.C. x 1,994 lorsque  $R_s$  passe de sa valeur normale à  $1^\infty$

- R.C. x 2,820 lorsque  $R_{ce}$  passe de sa valeur normale à  $1^\infty$

- R.C. x 0,244 en passant des conditions normales à la suppression de  $R_{ce}$ ,  $C_t$  et  $R_t$ .

De plus, ceci nous permet de disposer d'un moyen pour apprécier l'importance et la localisation des perturbations apportées à la fibre par certaines conditions expérimentales.

### 3.2. - Perméabilités membranaires ioniques au repos - Potentiel de repos

#### 3.2.1. - Données générales

##### 3.2.1.1. - Potentiel de repos ( $E_r$ )

La valeur de  $E_r$  dépend des concentrations ioniques intra- et extracellulaires et des perméabilités respectives de la membrane à ces ions. Selon la théorie de BOYLE et CONWAY (1941) qui prévoit que les ions sont distribués passivement selon un équilibre de DONNAN (1924), la valeur de  $E_r$  peut être déterminée par l'équation de NERNST comme sur la fibre squelettique de grenouille (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; HARRIS, 1963) où la conductance de la membrane au  $Cl^-$  ( $g_{Cl}$ ) est supérieure à celle au  $K^+$  ( $g_K$ ) (HUTTER et NOBLE, 1960 b ; ADRIAN, 1961 ; ADRIAN et FREYGANG, 1962 a ; STEFANI et STEINBACH, 1969).

Néanmoins, l'équation de NERNST n'explique pas entièrement la valeur de  $E_r$  de cette fibre squelettique de grenouille, particulièrement pour les concentrations de  $K^+$  extracellulaire faibles (ADRIAN, 1956 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1959). D'autre part, l'équation de GOLDMAN (1943) modifiée par HODGKIN et KATZ (1949) dérivant de la théorie du champ constant, appliquée par JENERICK (1953), ADRIAN (1956), HODGKIN et HOROWICZ

(1959), AKELIENE (1973) donne une valeur satisfaisante.

Dans certains cas,  $E_r$  ne peut être expliqué par l'une ou l'autre des équations de NERNST ou GOLDMAN car il faut tenir compte de l'existence, à travers la membrane, de transports actifs dont la somme algébrique est différente de 0. En effet, pour la fibre lisse de Vertébré, par exemple celle du taenia-coli de cobaye, la fibre n'étant pas en équilibre thermodynamique avec le milieu extracellulaire (KURIYAMA, 1963), la valeur mesurée de  $E_r$  (- 51 mV : BÜLBRING, 1954, HOLMAN, 1958) ne correspond pas à la valeur calculée par l'équation de GOLDMAN (- 37 mV : CASTEELS, 1969). Dans ce cas, CASTEELS (1965, 1966) montre que le  $Cl^-$  est transporté à l'intérieur de la fibre contre son gradient électrochimique en relation avec l'échange  $Na^+ - K^+$ .

En ce qui concerne les fibres musculaires de Crustacés, il ressort que, selon les fibres interrogées et selon les auteurs,  $E_r$  peut être expliqué soit par l'équation de NERNST, soit par l'équation de GOLDMANN, soit finalement par l'équation de GOLDMAN affectée d'un facteur révélant l'existence d'un transport actif électrogène.

La distribution passive des ions  $K^+$  et  $Cl^-$  selon un équilibre de DONNAN explique la valeur de  $E_r$  :

- de la fibre musculaire de balane (HINKE et GAYTON, 1971 ; GAYTON et HINKE, 1971 ; DIPOLO, 1972 ; DIPOLO et LATORRE, 1972 ; LAKSHMINARAYANAI AH et ROJAS, 1973) en tenant compte

du fait que le  $K^+$  intracellulaire est pratiquement uniquement sous forme libre (90 p. 100 : ALLEN et HINKE, 1971 ; CAILLE et HINKE, 1973),

- de la fibre musculaire de homard où seule une partie du  $Cl^-$  intracellulaire est libre, à la fois dans le myoplasme et dans les tubules (DUNHAM et GAINER, 1968),

- de la fibre musculaire de crabe bleu *Callinectes sapidus* (HAYS et Coll., 1968), uniquement pour des valeurs de concentrations extracellulaires de  $K^+$  supérieures à celle du milieu de référence, si l'on ne tient compte que des ions  $K^+$  et  $Cl^-$  libres,

- de la fibre musculaire d'écrevisse *Astacus fluviatilis* (HENČEK et Coll., 1962 ; ZACHAR et Coll., 1964),

- et même de la fibre de crabe *Carcinus maenas* maintenue en survie dans du plasma sanguin (SHAW, 1955 a ; 1955 b).

Cependant, sur d'autres préparations, ou selon d'autres auteurs, la fibre de Crustacé ne se trouve pas en équilibre thermodynamique avec le milieu extracellulaire. En effet, FATT et KATZ (1953) sur le crabe *Portunus depurator*, FATT et GINSBORG (1958) sur l'écrevisse *Astacus fluviatilis*, MOUNIER et Coll. (1969 a, 1969 b), MOUNIER et GUILBAULT (1970) sur le crabe *Carcinus maenas*, GIRARDIER et Coll. (1963), HINKLE et Coll. (1971) sur l'écrevisse *Procambarus clarkii*, KATZ et Coll. (1972) sur l'écrevisse *Orconectes*, PARNAS et

DAGAN (1969) sur la crevette *Palaemon elegans* montrent qu'en modifiant la concentration extracellulaire du  $K^+$  par un facteur de 10 ( $[Cl^-]_e$  et pression osmotique maintenues constantes),  $E_r$  varie linéairement certes, mais pas selon la pente de la droite prévue par l'équation de NERNST. Dans ces conditions, il apparaît que l'équation du champ constant puisse être applicable bien que, pour SHAW (1955 a, 1955 b), GAINER et GRUNDFEST (1968), HAYS et Coll. (1968), HINKE et Coll. (1973), la conductance membranaire aux ions  $Na^+$  ( $g_{Na}$ ) n'intervienne pas.

D'autre part, sur la fibre de crabe *Carcinus maenas*, GOUBEL et GUILBAULT (1972 a, 1972 b), GOUBEL (1973) émettent l'hypothèse de l'existence d'une pompe ionique électrogène comme dans le cas, par exemple, du muscle lisse taenia-coli de cobaye (BÜLBRING, 1962 ; CASTEELS et Coll., 1971 a, 1971 b ; TOMITA et YAMAMOTO, 1971), du tissu auriculaire de cobaye (GLITSCH, 1973) et du myocarde de cloporte *Porcellio dilatatus* (Crustacé isopode) (DELALEU, 1974).

### 3.2.1.2. - Sélectivité des perméabilités ioniques des systèmes membranaires (sarcolemme et tubule).

En ce qui concerne les fibres de Crustacés, quelle que soit la loi régissant la détermination de la valeur de  $E_r$ , il convient de considérer les rapports de perméabilités d'une part et leur localisation respective d'autre part.

Le rapport de conductance au  $K^+$  et  $Cl^-$  de la membrane dépend de la fibre considérée et des auteurs. Pour MOUNIER

et Coll. (1970) chez *Carcinus maenas*,  $g_{Cl}$  est prédominante : 55,7 p. 100 de la conductance membranaire globale ( $g_m$ ) pour 44,3 p. 100 en ce qui concerne la conductance membranaire aux cations ( $g_K + g_{Na}$ ). Par contre, sur la fibre d'écrevisse *Procambarus clarkii*,  $g_K$  domine,  $g_K = 70$  p. 100,  $g_{Cl} = 30$  p. 100 (HINKLE et Coll., 1971) alors que pour l'écrevisse *Astacus fluviatilis*, les conductances  $g_K$  et  $g_{Cl}$  sont égales (ZACHAR et Coll., 1964), il en est de même pour la fibre musculaire de crabe bleu *Callinectes sapidus* où le calcul des conductances d'après les travaux de HAYS et Coll. (1968) permettent de donner en p. 100 de  $g_m$ ,  $g_K = 63$  et  $g_{Cl} = 37$ .

Pour ce qui est de la localisation de ces deux perméabilités essentielles au repos, il est montré qu'elle diffère selon que l'on interroge la fibre de Vertébré ou celle de Crustacé. En effet, pour la fibre de sartorius de grenouille,  $g_K$  est localisée au niveau du STT (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; ADRIAN et FREYGANG, 1962 a ; 1962 b ; GAGE et EISENBERG, 1969) alors que pour la fibre de Crustacé, dans les conditions normales, le STT est préférentiellement perméable au  $Cl^-$ ,  $g_K$  siégeant spécifiquement au niveau du sarcolemme (GIRARDIER et Coll., 1963 ; REUBEN et Coll., 1964 ; BRANDT et Coll., 1968 ; ORENTLICHER et REUBEN, 1971 pour la fibre musculaire d'écrevisse ; SELVERSTON, 1967 pour celle de crabe). Toutefois, il convient de signaler les travaux de HAGIWARA et Coll. (1968),

HAGIWARA et Coll., (1971 c) sur la fibre musculaire de balane qui conduisent à la conclusion que le sarcolemme, perméable sélectivement aux cations à pH normal, devient perméable préférentiellement aux anions à pH acide.

Ainsi, la fibre musculaire de Crustacé est caractérisée par un potentiel de membrane qui dépend des concentrations ioniques intra- et extracellulaires. Elle est caractérisée également par des conductances membranaires au  $\text{Cl}^-$  et au  $\text{K}^+$  variables, mais ces conductances étant localisées préférentiellement à un niveau sarcolemmique pour  $g_{\text{K}}$  et à un niveau tubulaire pour  $g_{\text{Cl}}$ .

### 3.2.2. - Perméabilité de la membrane sarcolemmique

Les arguments qui nous conduisent à considérer que la perméabilité membranaire au  $\text{K}^+$  est située à un niveau sarcolemmique sont de deux ordres : l'analyse des effets de milieux réputés pour modifier  $g_{\text{K}}$  d'une part, et le temps d'action nécessaire à ces milieux pour obtenir l'effet optimal, d'autre part.

#### 3.2.2.1. - Milieu dépourvu de $\text{K}^+$

Ce milieu est obtenu en remplaçant mM à mM le KCl de la solution de référence par du chlorure de choline, les ions choline étant réputés non perméants au niveau de la membrane de la fibre de Crustacé (GAINER et GRUNDFEST, 1968). La courbe de la figure 32 (p.87) montre l'action relativement rapide (10 mn)

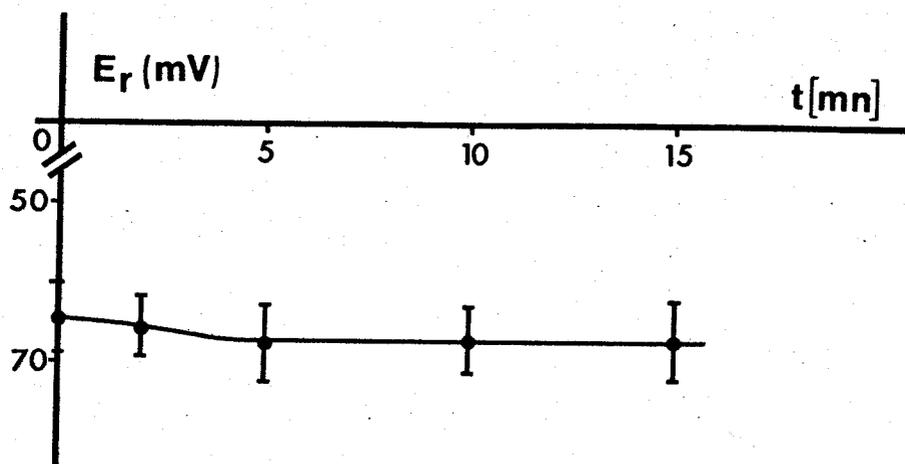


Figure 32 : Evolution de la valeur moyenne de  $E_r$  ( $\pm$  son écart-type,  $n = 10$ ) en fonction du temps d'action d'un milieu dépourvu d'ions  $K^+$  (les 12,9 mM de KCl du milieu de référence sont remplacées par du chlorure de choline).

$E_r$  passe de la valeur de  $64,8 \pm 4,8$  mV à celle de  $67,1 \pm 4,8$  mV en un temps inférieur à 10 mn.



et réversible du milieu sans  $K^+$ , qui se traduit par une légère hyperpolarisation,  $E_r$  passant de  $64,8 \pm 4,8$  mV à  $67,1 \pm 8,8$  mV.

#### 3.2.2.2. - Milieu riche en $K^+$

Ce milieu agit dans un délai allant selon les fibres de 5 à 10 mn. C'est le cas, par exemple, du milieu où  $[K^+]_e$  est multipliée par 10 : il est constaté que la variation de  $E_r$  n'est pas compatible avec celle prévue par l'équation de NERNST puisque à la température de  $20^\circ C$ , la variation est en moyenne de 37mV ce qui confirme les résultats obtenus par MOUNIER (1970) et GOUBEL (1973).

#### 3.2.2.3. - Milieu acide

Il est admis que les ions  $H^+$  bloquent généralement la perméabilité ionique de surface (BROOKS et HUTTER, 1962, 1964 ; SPURWAY, 1965 ; HUTTER et WARNER, 1967 a, 1967 b) en jouant sur les charges fixées sur la membrane, charges qui permettraient le passage spécifique des ions (HUTTER et WARNER, 1967 c sur la fibre squelettique de grenouille ; HAGIWARA et Coll., 1968 sur la fibre musculaire squelettique de balane ; SHRAGER, 1974 sur l'axone d'écrevisse ; HILLE, 1968 sur l'axone de grenouille).

Sur notre préparation, les travaux de MOUNIER et Coll. (1970) montrent que l'action des milieux acides se traduit, pour la fibre au repos, par une dépolarisation et par une augmentation de la résistance membranaire. En étudiant l'évolution de  $E_r$  selon  $[Cl^-]_e$  et selon le pH, ces auteurs montrent que les

ions  $H^+$  inhibent la conductance membranaire aux ions  $K^+$ . Celle-ci, compte-tenu de l'action rapide des ions  $K^+$  et des ions  $H^+$ , se trouverait localisée au niveau sarcolemmique.

La nécessité d'utiliser le milieu acide (pH = 4,25) pour déterminer la nature ionique de l'activité électrique conduit à des résultats qui nous montrent qu'effectivement, en accord avec les auteurs cités ci-dessus, les ions  $H^+$  produisent un accroissement de la résistance membranaire associé à une dépolarisation comme le montre la figure 33 (p.90). De façon à obtenir des effets réversibles, la valeur minimale du pH du milieu utilisé est de 4,25 ; l'excès de protons est produit par remplacement du tampon bicarbonate-acide carbonique du milieu de référence par le tampon biphtalate de  $K^+$  (5 mM) - NaOH (0,25 mM). Cette acidité est suffisante puisque, pour une  $[K^+]_e$  normale, la variation de  $E_r$  pour une modification de 10 fois  $[Cl^-]_e$  à la température de 20°C est de 60 mV, ce qui implique que la conductance membranaire, en particulier au  $K^+$ , est devenue très négligeable devant celle au  $Cl^-$  (MOUNIER et Coll., 1970 ).

### 3.2.3. - Perméabilité de la membrane tubulaire

L'analyse de la littérature montre que le siège des perméabilités de repos aux  $Cl^-$  et  $K^+$  des fibres musculaires de Crustacés est inverse de celles de Vertébrés, ce qui peut expliquer pourquoi les ions  $H^+$  en excès (agissant en surface)

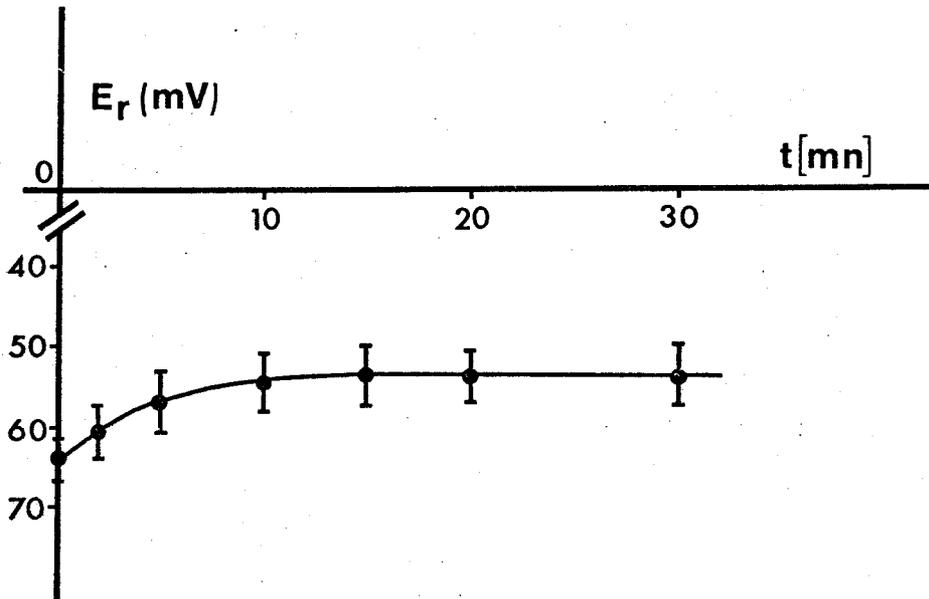


Figure 33 : Evolution de la valeur moyenne de  $E_r$  ( $\pm$  son écart-type,  $n = 19$ ) en fonction du temps d'action d'un milieu enrichi en protons ( $\text{pH} = 4,25$ ) à l'aide d'un tampon biphtalate de  $\text{K}^+ - \text{NaOH}$ .

Ces fibres placées dans ces conditions se dépolarisent ( $E_r = -53,4 \pm 3,3$  mV) rapidement (dans un temps de l'ordre de 10 mn).

influent sur les mouvements de  $\text{Cl}^-$  au niveau de la fibre squelettique de grenouille (MASHIMA et WASHIO, 1964 ; HUTTER et WARNER, 1967 b, 1967 c ; MAINWOOD et LEE, 1968 ; MOORE, 1969) et sur ceux de  $\text{K}^+$  au niveau de celle de Crustacés (DE MELLO et HUTTER, 1966 ; REUBEN et Coll., 1962 chez l'écrevisse *Astacus fluviatilis* ; MOUNIER et Coll., 1970 chez le crabe *Carcinus maenas*). Il convient toutefois de préciser que HAGIWARA et Coll., (1968) considèrent que la membrane de la fibre de balane (*Balanus nubilus*) se comporte, en fait, comme une membrane amphotère qui libère, selon le pH, des sites anioniques (pH acide) ou des sites cationiques (pH normal ou alcalin); cette hypothèse conduit à considérer que les effets des ions  $\text{H}^+$  sur la perméabilité ionique de surface ne suffisent pas à eux seuls pour permettre de conclure au sujet de la sélectivité de la perméabilité du sarcolemme. Néanmoins, d'autres investigations étayent l'idée de perméabilités à localisation préférentielle puisque, sur la fibre musculaire squelettique d'écrevisse, GIRARDIER et Coll. (1963), REUBEN et Coll. (1964), REUBEN et Coll. (1967), BRANDT et Coll. (1965), ORENTLICHER et REUBEN (1971) et sur celle de crabe, SELVERSTON (1967) montrent que le STT est préférentiellement perméable aux ions chlorure.

De plus, le temps d'action nécessaire aux milieux de  $[\text{Cl}^-]_e$  variée pour obtenir l'effet optimal sur les caractéristiques électriques est beaucoup plus long qu'avec les milieux

où  $[K^+]_e$  est modifiée comme cela va être montré ; ce temps plus long plaide en faveur d'une conductance membranaire aux ions chlorure au niveau des tubules.

Etant amenés à étudier l'influence de milieux de  $[Cl^-]_e$  variée sur l'activité électrique, le  $Cl^-$  étant remplacé par différents anions, nous pouvons relater l'évolution de  $E_r$  et de  $R_m$  dans ces conditions.

Tout comme pour l'étude des milieux où  $[K^+]_e$  est modifiée, il est possible de considérer trois types de milieux où  $[Cl^-]_e$  est modifiée : milieux sans  $Cl^-$ , appauvri en  $Cl^-$  et enrichi en  $Cl^-$ .

### 3.2.3.1. - Milieux dépourvus d'ions chlorure

Le remplacement du  $Cl^-$  du milieu de référence par des ions propionate, cet anion étant supposé non perméant (REUBEN et Coll., 1964 ; CHIARANDINI et Coll., 1970), provoque dans les cinq premières mn d'action, des phénomènes de contractures de la fibre, phénomènes observés par ailleurs sur la fibre squelettique de grenouille (FOULKES et Coll., 1965 ; SANDOW, 1965), sur celle d'écrevisse (DUDEL et RÜDEL, 1969) et même sur notre préparation (MOUNIER, 1970 ; GOUBEL, 1973). Après stabilisation, comme le montre la figure 34 (p. 93),  $R_m$  croît lentement jusque 160 p. 100 en moyenne de sa valeur de référence, attestant une diminution importante de  $g_{Cl}$ . Pendant ce temps,  $E_r$  diminue et se stabilise, après un délai de 30 mn environ, à la valeur de

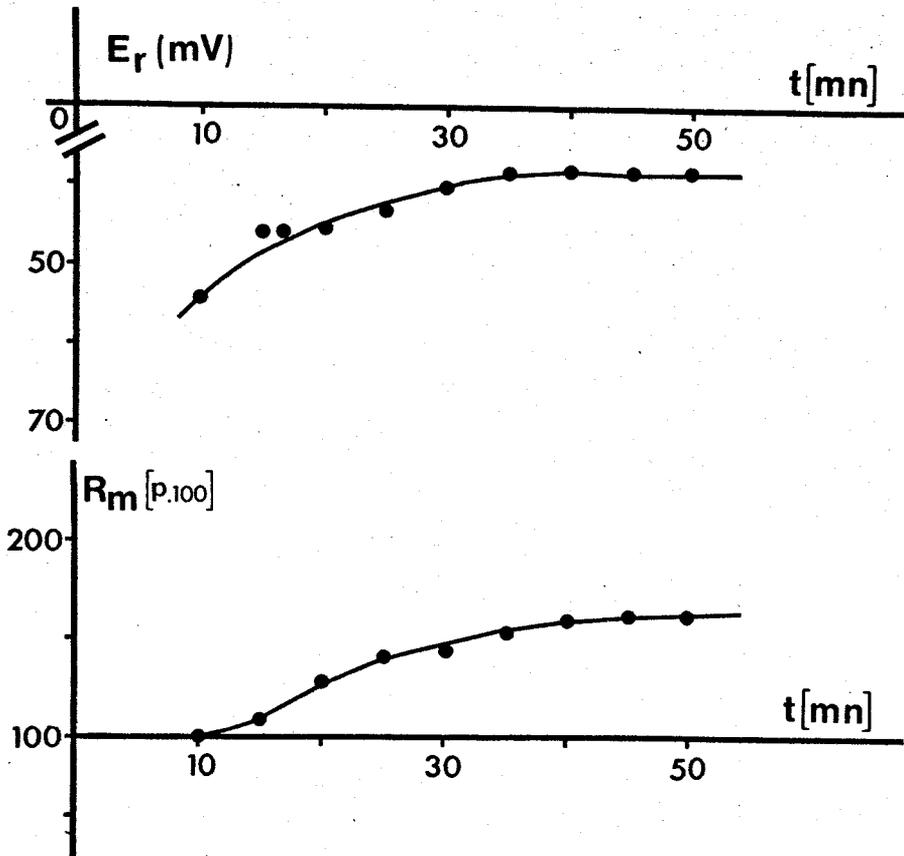


Figure 34 : Evolution de  $E_r$  et de  $R_m$  de repos d'une fibre en fonction du temps d'action d'un milieu où tous les ions chlorure sont remplacés par des ions propionate.

Les variations de  $E_r$  et  $R_m$  sont mesurées après un délai de 10 mn car, dès les premières minutes, des contractures se manifestent, rendant aléatoires ces mesures. Après 30 mn d'action de ce milieu anormal,  $E_r$  se stabilise à une valeur moyenne de - 40 mV,  $R_m$  augmentant de 60 p. 100.

- 38 mV, sans que l'on note de phénomène de repolarisation, alors que le retour aux conditions normales montre la réversibilité du phénomène.

Par contre, le remplacement des ions chlorure du milieu de référence par des ions  $\text{NO}_3^-$  conduit à des résultats différents quant aux variations de  $E_r$  et de  $R_m$ , ce qui n'est pas pour surprendre si l'on s'en réfère aux travaux réalisés par différents auteurs. En effet, la membrane de la fibre squelettique de grenouille est moins perméable à l'ion  $\text{NO}_3^-$  qu'à l'ion  $\text{Cl}^-$  (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; HUTTER et PADSHA, 1959 ; ADRIAN, 1961 ; HUTTER et WARNER, 1967 c). Par contre, en ce qui concerne la fibre squelettique de Crustacé, les résultats concernant les perméabilités membranaires à ces deux anions sont fonction de l'espèce, du pH du milieu externe et du temps d'action. En effet, GIRARDIER et Coll. (1963), GRUNDFEST (1967) trouvent que la membrane de la fibre squelettique de l'écrevisse *Orconectes* est moins perméable au  $\text{NO}_3^-$  qu'au  $\text{Cl}^-$ , alors que pour DE MELLO et HUTTER (1966) sur la membrane de la fibre squelettique d'une autre écrevisse, *Astacus*, les perméabilités au  $\text{Cl}^-$  et  $\text{NO}_3^-$  sont identiques à pH 8,5 et en faveur de celle pour le  $\text{NO}_3^-$  à pH 4,5. Les travaux de DUDEL et RÜDEL (1969) sur la fibre squelettique de l'écrevisse *Orconectes* montrent que le remplacement du  $\text{Cl}^-$  du milieu extracellulaire par du  $\text{NO}_3^-$  produit initialement une diminution de  $R_m$  puis, secondairement, une augmentation de

cette  $R_m$  ainsi qu'une hyperpolarisation de repos. Finalement, toujours sur la fibre squelettique d'écrevisse (*Cambarus robustus*) LAW et ATWOOD (1971) montrent qu'en fait, la perméabilité membranaire aux ions  $\text{NO}_3^-$  est généralement plus faible que celle aux ions chlorure, mais dans des proportions variables selon les fibres, en rapport avec leur ultrastructure. La figure 35 (p. 26) montre que le remplacement du  $\text{Cl}^-$  du milieu de référence par du  $\text{NO}_3^-$  se traduit, sur notre préparation, par une hyperpolarisation moyenne de 8,5 mV après 12 mn d'action et par une légère augmentation de  $R_m$  (+ 30 p. 100) ; ceci laisse à penser que les ions  $\text{NO}_3^-$  remplacent effectivement les ions chlorure.

Les résultats différents obtenus en absence de  $\text{Cl}^-$  dans le milieu externe tendent à montrer, qu'effectivement, sur notre préparation, les ions propionate sont bien des anions imperméants, alors que les ions  $\text{NO}_3^-$  seraient perméants.

### 3.2.3.2. - Milieu appauvri en ions chlorure.

Un milieu où  $[\text{Cl}^-]_e$  est égale à 60 mM, (l'anion de remplacement étant le propionate) annule le gradient de concentration pour le  $\text{Cl}^-$  existant de part et d'autre de la membrane, si l'on s'en réfère aux valeurs de  $[\text{Cl}^-]_i$  déterminées sur le crabe par SHAW, 1958 a, 1958 b ( $[\text{Cl}^-]_i = 54$  mM), PROSSER et BROWN, 1962 ( $[\text{Cl}^-]_i = 53$  mM), HAYS et Coll., 1968 ( $[\text{Cl}^-]_i = 68$  mM), GOUBEL et GUILBAULT, 1972 a, 1972 b ( $[\text{Cl}^-]_i = 62,5$  mM). En outre, la présence d'un autre anion que le  $\text{Cl}^-$  dans le milieu

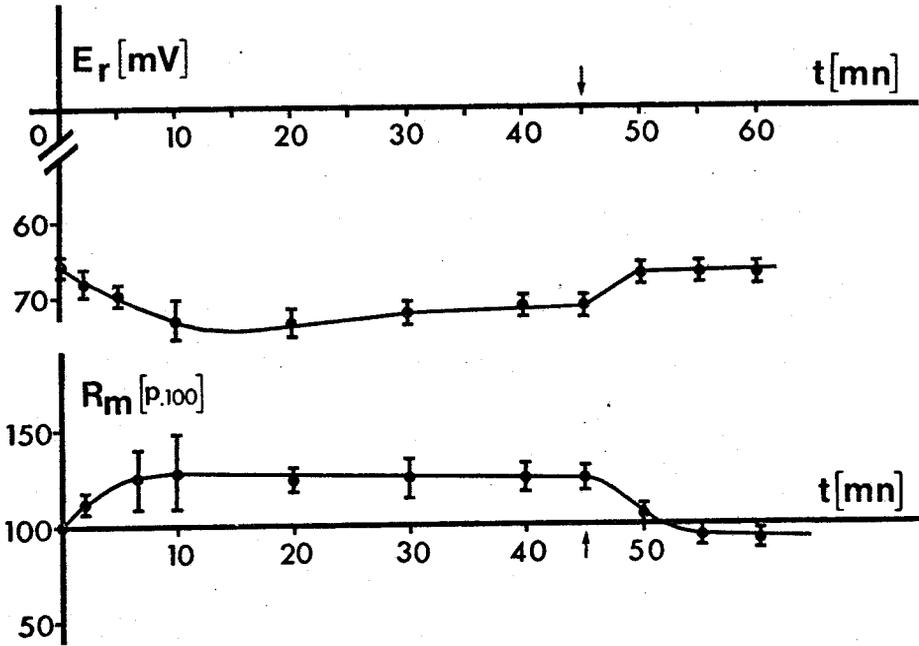


Figure 35 : Evolution de la valeur moyenne de  $E_r$  ( $\pm$  son écart-type,  $n = 4$ ) et de la  $R_m$  de repos en fonction du temps d'action d'un milieu dont les ions chlorure sont remplacés par des ions  $\text{NO}_3^-$ .

Une hyperpolarisation moyenne maximale de 8,5 mV est observable ainsi qu'une augmentation de 30 p. 100 de la valeur de la  $R_m$  de repos.

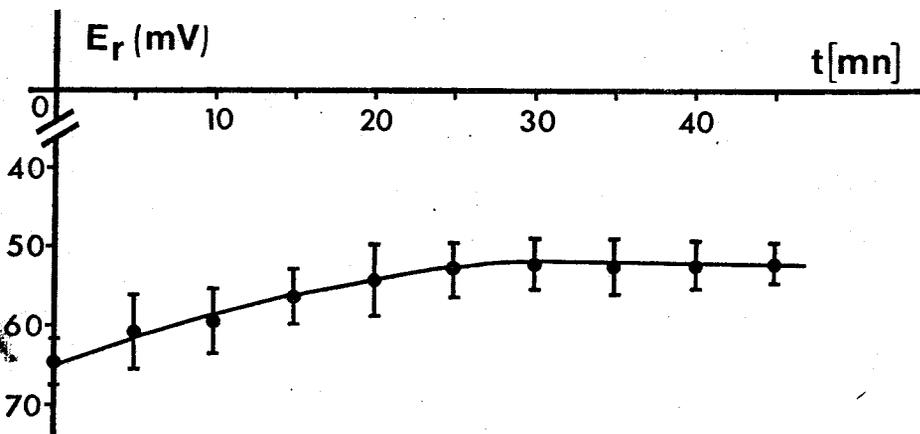
extracellulaire diminue la perméabilité membranaire au  $\text{Cl}^-$  (HOROWICZ, 1964 ; MOORE, 1969 sur la fibre squelettique de grenouille ; HAGIWARA et TAKAHASHI, 1974 sur la fibre musculaire striée de raie).

Les modifications qu'entraîne ce milieu appauvri en  $\text{Cl}^-$  sur  $E_r$  et  $R_m$  de notre préparation s'opèrent après un délai long (supérieur à 20 mn), comme le montre la courbe de la figure 36 (p.98 ).  $E_r$  prend une valeur moyenne de  $- 51,6 \pm 3,1$  mV après 30 mn d'action et  $R_m$  augmente (+ 100 p. 100) ce qui dénote une forte diminution de  $g_{\text{Cl}}$ , sinon un blocage. Ce temps d'action relativement long est fonction de l'anion de remplacement. MOUNIER et Coll. (1970) obtiennent des résultats similaires.

#### 3.2.3.3. - Milieu enrichi en ions chlorure

L'addition au milieu de référence de 594 mM de chlorure de choline double  $[\text{Cl}^-]_e$ . La courbe de la figure 37 (p. 99) montre une hyperpolarisation de repos faible (moyenne 5 mV) obtenue après un délai supérieur à 10 mn.

Le temps d'action relativement long nécessaire aux milieux de  $[\text{Cl}^-]_e$  variable pour obtenir l'effet optimal, pourrait s'expliquer dans la mesure où la conductance membranaire au  $\text{Cl}^-$  serait très nettement inférieure à celle au  $\text{K}^+$ . Or, il n'en est rien, puisque toute variation de  $[\text{Cl}^-]_e$  entraîne des variations importantes de  $E_r$  et que le calcul des conductances membranaires



BHS  
LILLE

Figure 36 : Evolution de la valeur moyenne de  $E_r$  ( $\pm$  son écart-type,  $n = 9$ ) en fonction du temps d'action d'un milieu appauvri en ions chlorure ( $[Cl^-]_e$  passe de 594 mM à 60 mM, les ions de remplacement étant des ions propionate).

La valeur de  $E_r$  décroît lentement pour se stabiliser après 25 à 30 mn d'action à la valeur de  $-51,6 \pm 3,1$  mV.

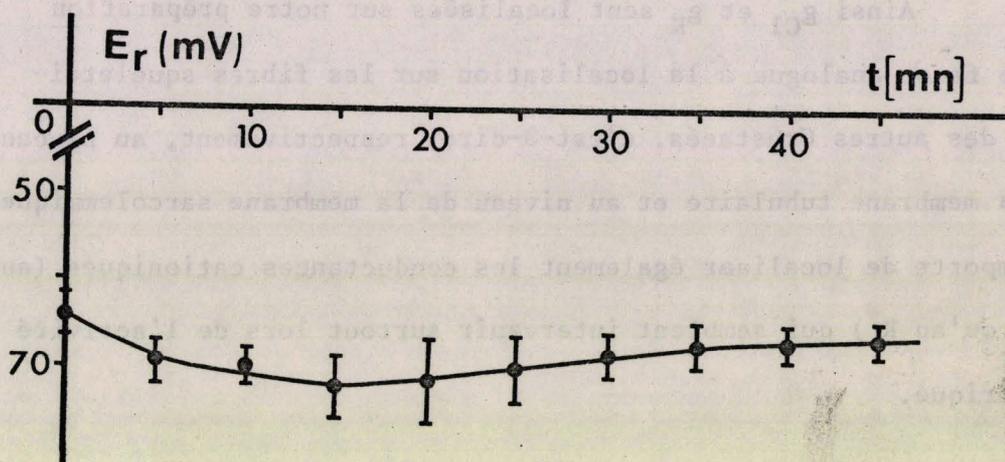


Figure 37 : Evolution de la valeur moyenne de  $E_r$  ( $\pm$  son écart-type,  $n = 9$ ), en fonction du temps d'action d'un milieu enrichi de 594 mM d'ions chlorure (sous forme de chlorure de choline).

Les fibres s'hyperpolarisent ( $E_r$  prend la valeur moyenne maximale de  $-72,2 \pm 3,5$  mV après un délai de 15 mn).

donne, pour  $g_{Cl}$ , une valeur de 56 p. 100 de la conductance globale  $g_m$  alors que  $g_K + Na$  n'est que de 44 p. 100 (MOUNIER et GUILBAULT, 1970).

L'ensemble de ces résultats conduit, en accord avec de nombreux auteurs, à considérer la  $g_{Cl}$  à un niveau profond, c'est-à-dire au niveau du STT.

Ainsi  $g_{Cl}$  et  $g_K$  sont localisées sur notre préparation d'une façon analogue à la localisation sur les fibres squelettiques des autres Crustacés, c'est-à-dire, respectivement, au niveau de la membrane tubulaire et au niveau de la membrane sarcolemmique. Il importe de localiser également les conductances cationiques (autres qu'au  $K^+$ ) qui semblent intervenir surtout lors de l'activité électrique.

#### 3.2.4. - Perméabilités de la membrane aux ions $Na^+$ et aux ions divalents

Il est à noter que la perméabilité membranaire aux ions  $Na^+$  de la fibre de Crustacé n'intervient pas dans le maintien du potentiel de repos (SHAW, 1955 a, 1955 b sur la fibre musculaire de crabe *Carcinus maenas* ; HAYS et Coll., 1968 sur la fibre musculaire de crabe *Callinectes sapidus*) ou très peu (FATT et KATZ, 1953 sur la fibre musculaire de crabe *Portunus* ; REUBEN et Coll., 1964 sur celle d'écrevisse *Procambarus*). MOUNIER et Coll. (1969 b), sur la fibre musculaire de crabe *Carcinus maenas*, montrent que l'absence de  $Na^+$  extracellulaire hyperpolarise très légèrement la membrane et MOUNIER (1970),

sur la même fibre, montre que  $E_r$  est fonction de  $[Na^+]_e$ , la variation étant de 10 mV à 20°C lorsque  $[Na^+]_e$  est égale au 1/10e de sa valeur de référence.

A l'inverse des fibres musculaires de Vertébrés où l'absence de  $Ca^{++}$  extracellulaire dépolarise la membrane (BÜLBRING et Coll., 1956 ; EDMAN et GRIEVE, 1963 ; FRANK et INOUE, 1973), le  $Ca^{++}$  ne paraît pas intervenir dans le maintien de  $E_r$  des fibres de Crustacés. En effet, ZACHAROVÁ et ZACHAR montrent en 1967 que  $E_r$  de la fibre musculaire squelettique d'écrevisse *Astacus fluviatilis* n'est pas affecté par les variations de  $[Ca^{++}]_e$  ; pas plus d'ailleurs que celui de la fibre musculaire striée de homard *Homarus americanus* (GAINER, 1968) et de crabe *Carcinus maenas* (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1972 a). De la même façon, le  $Mg^{++}$  extracellulaire ne semble pas intervenir lors du repos comme l'ont montré HAFEMANN (1969) sur l'axone géant de langouste *Palinurus interruptus*, O'DONNELL et KOVÁCS (1974) sur la fibre squelettique de grenouille, FATT et GINSBORG (1958) sur la fibre musculaire squelettique d'écrevisse *Astacus fluviatilis*, HAGIWARA et NAKA (1964) sur la fibre musculaire de balane *Balanus nubilis*, HAUDECOEUR et GUILBAULT, (1972 b) sur la fibre musculaire squelettique de crabe *Carcinus maenas*.

### 3.3. - Perméabilités membranaires ioniques lors de l'activité. Réponse dépolarisante ( $R_d$ ).

#### 3.3.1. - Considérations générales

Si les perméabilités membranaires aux cations n'interviennent pas, ou peu, dans le maintien de  $E_r$  (hormis celle au  $K^+$ ), elles sont responsables des phénomènes d'activité, leur participation étant toutefois variable selon le tissu excitable considéré. En effet, selon les travaux de HODGKIN et HUXLEY, (1952 a, 1952 b, 1952 c, 1952 d), la phase de dépolarisation est due à l'activation de la conductance membranaire au  $Na^+$ , ce qui conduit à une entrée d'ions  $Na^+$ . Néanmoins, si cette activation du courant entrant concerne totalement la conductance sodique pour la plupart des fibres nerveuses et pour les fibres squelettiques de Vertébrés, il n'en est pas de même pour les fibres musculaires du tissu lisse et du tissu cardiaque, ainsi que pour les fibres musculaires squelettiques d'Invertébrés, où le courant entrant responsable de la dépolarisation membranaire est provoqué soit, à la fois, par l'activation de  $g_{Na}$  et de  $g_{Ca + Na}$ , soit à une seule activation de  $g_{Ca + Na}$  ou encore exclusivement à une activation de  $g_{Ca}$ .

#### 3.3.1.1. - Activation de $g_{Na}$ seule

La phase de dépolarisation du PA de la fibre nerveuse est provoquée par un courant porté exclusivement par les ions

$\text{Na}^+$ , quoique TASAKI et TAKENAKA (1963), TASAKI et Coll. (1965) obtiennent sur l'axone géant de calmar des PA dans des conditions où  $[\text{Na}^+]_i$  est supérieure à  $[\text{Na}^+]_e$ , ce qui, du fait de l'inversion du gradient de concentration pour le  $\text{Na}^+$ , conduit à supposer un flux entrant d'ions  $\text{Ca}^{++}$ .

Depuis les travaux de NASTUK et HODGKIN (1950) sur la fibre squelettique de grenouille, on sait que le PA des fibres de Vertébrés est de nature exclusivement sodique, confirmation apportée entre autres par ROUGIER et Coll. (1968 a), ADRIAN et Coll. (1970 a), MILDEDI et Coll. (1971), ILDEFONSE et ROY (1972), ILDEFONSE et ROUGIER (1972), VENOSA (1974).

Cette nature exclusivement sodique du PA chez les fibres musculaires squelettiques de Vertébrés est parfois retrouvée chez les fibres d'Invertébrés comme c'est le cas, par exemple, pour la fibre de mouche *Philosamia cynthia* (PIEK, 1974) où l'entrée du  $\text{Na}^+$ , lors de l'activation, se produit à deux niveaux, au niveau sarcolemmique et au niveau tubulaire.

### 3.3.1.2. - Activation de $g_{\text{Na}}$ et de $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$

Depuis 1956 (CORABOEUF et OTSUKA) et 1958 (LÜTTGAU et NIEDERGERKE), il est connu (ROUGIER et Coll. 1969 ; GOTO et Coll., 1972) que le PA des fibres du tissu myocardique est dû à un courant de cinétique rapide (porté par des ions  $\text{Na}^+$ ) et à un courant de cinétique lente (porté par des ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$ ) empruntant un "canal" non spécifique (TARR, 1971 ; KOHLHARDT et

Coll., 1973). La phase initiale du PA inhibée par la tétrodo-  
toxine (CORABOEUF et VASSORT, 1968 sur le coeur de rat et cobaye ;  
ROUGIER et Coll., 1969 sur les fibres atriales de grenouille ;  
BESSEAU et GARGOUÏL, 1969 ; sur les fibres ventriculaires de  
rat, entre autres) est de nature sodique alors que la phase tar-  
dive, inhibée par le  $Mn^{++}$  est de nature calcico-sodique (GARNIER  
et Coll., 1969 sur le tissu auriculaire de grenouille ; ROUGIER  
et Coll., 1969 sur les fibres atriales de grenouille ; MASCHER  
et PEPER, 1969 sur les fibres des trabecules du ventricule de  
mouton ; BEELER et REUTER, 1970 sur le muscle papillaire du  
coeur du chien ; OCHI, 1970 sur le myocarde de cobaye). Des ré-  
sultats analogues sont montrés sur le tissu conducteur de  
*Purkinje* par PEPER et TRAUTWEIN (1968), VITEK et TRAUTWEIN  
(1971). En effet, les ions  $Mn^{++}$  provoquent une diminution de la  
durée du PA en bloquant le courant entrant de cinétique lente  
(dépendant de  $[Ca^{++}]_e$ ) bien que DECK et TRAUTWEIN (1964),  
REUTER (1968) attribuent le courant entrant responsable du pla-  
teau du PA à une inactivation incomplète de la conductance mem-  
branaire aux ions  $Na^+$ . L'existence de ces deux canaux distincts  
présents chez le tissu cardiaque de Vertébré (TRAUTWEIN, 1973)  
peut trouver analogie avec le tissu cardiaque de certains  
Insectes (RÓZSA et SZÓKE, 1972 chez le criquet *Locusta* et la  
mante religieuse *Manta*) et même de Crustacés (HOLLEY, 1968 chez  
le cloporte *Porcellio dilatatus* ; LASALLE et GUILBAULT, 1972

sur le coeur entier de crabe *Carcinus maenas*).

L'activation de deux conductances distinctes est une propriété que l'on retrouve essentiellement au niveau du tissu cardiaque des Vertébrés. Néanmoins, il existe chez certaines fibres musculaires striées des propriétés analogues. C'est le cas par exemple d'un Cephalocordé, l'Amphioxus (*Branchiostoma californiense*) où deux mécanismes d'activation des conductances de la membrane au  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$  existent indépendamment l'une de l'autre (HAGIWARA et KIDOKORO, 1971 ; HAGIWARA et Coll., 1971 a, 1971 b).

### 3.3.1.3. - Activation de $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$

De nombreux tissus excitables ont leur PA dû à un courant mixte composé d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$ , suite à une activation lente de la conductance membranaire aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$ . Le "canal" n'est pas spécifique pour l'une ou l'autre de ces espèces ioniques, mais un antagonisme peut exister entre le  $\text{Na}^+$  et le  $\text{Ca}^{++}$  pour leur passage. Cet antagonisme, découvert par LÜTTGAU et NIEDERGERKE (1958) sur le tissu cardiaque existe sur la fibre musculaire striée lisse de Vertébré (BRADING et Coll., 1969 ; KATASE et TOMITA, 1972 ; PROSSER, 1974). Ainsi, le PA de ces fibres est sous la dépendance du rapport  $\frac{[\text{Na}^+]_e}{[\text{Ca}^{++}]_e}$ . C'est le cas, par exemple, des fibres musculaires intestinales de chat (CONNOR et PROSSER, 1974) des fibres utérines de ratte (MARSHALL, 1965 ; MIRONNEAU et LENFANT, 1971, 1972 ; MIRONNEAU,

1974) des fibres vésicales de crapaud (SAKAI et ITSUKA, 1972). Il convient toutefois de signaler que le courant entrant peut être chez certains tissus musculaires lisses exclusivement porté par des ions  $\text{Ca}^{++}$  comme pour les fibres musculaires du canal déférent de cobaye (BENNETT, 1967) et les fibres du myomètre de cobaye (VASSORT, 1973 b). Le courant entrant mixte responsable du PA de la plupart des fibres musculaires lisses se retrouve sur certaines fibres squelettiques d'Invertébrés. C'est le cas, par exemple, de la fibre musculaire squelettique de crabe *Portunus depurator* (FATT et KATZ, 1953) et *Carcinus maenas* (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1974 a). En effet, ces derniers auteurs montrent que lorsque  $[\text{Ca}^{++}]_e$  est multipliée par 10, l'accroissement de l'amplitude de la réponse n'est que de 12 mV, valeur qui laisse à penser que  $E_m$  ne tend pas dans ces conditions vers la valeur d'une pile de concentration aux ions  $\text{Ca}^{++}$ , bien que MOUNIER et VASSORT (1973, 1974) observent, en modifiant  $[\text{Ca}^{++}]_e$ , une variation du potentiel d'inversion de la pile (due au courant entrant de  $\text{Ca}^{++}$ ) compatible avec la valeur déterminée grâce à l'équation de NERNST. Toutefois, l'absence de  $\text{Na}^+$  extracellulaire se traduit toujours, pour cette même préparation, par une réponse d'amplitude plus ample (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1972 b).

### 3.3.1.4. - Activation de $g_{Ca}$

Dans certains cas, le courant entrant responsable du PA peut être porté essentiellement par des ions  $Ca^{++}$ . Rappelons les travaux de BENNETT (1967), sur la musculature du canal déférent de cobaye et de VASSORT (1973 b), sur les fibres utérines de cobaye. En ce qui concerne le myocarde, les travaux de LASALLE et GUILBAULT (1972), LASALLE (1971), sur le lambeau myocardique de crabe *Carcinus maenas* dépourvu d'éléments nerveux montrent la nature exclusivement calcique du courant entrant responsable du PA. Des résultats analogues sont trouvés sur le tissu cardiaque de certains Insectes (Mc CANN, 1971 sur le Lépidoptère *Hyalophora cecropia* ; FOURCROY, 1967 sur la mouche *Musca domestica*). Dans ce cas, le PA n'est affecté ni par les modifications de  $[Na^+]_e$ , ni par la tétrodotoxine, mais est fonction de  $[Ca^{++}]_e$ .

Pour les fibres musculaires d'Invertébrés, il existerait un PA de nature essentiellement calcique. En effet, HIDAKA et Coll. (1969 a, 1969 b, 1969 c), en étudiant les propriétés électrophysiologiques des fibres musculaires somatiques longitudinales d'un Annelide, le lombric, montrent que le  $Ca^{++}$  extracellulaire est seul nécessaire à l'activité. Chez le ver de terre *Pheretima communissima*, l'absence de  $Na^+$  extracellulaire est sans effet sur la fibre longitudinale puisque le PA obéit à l'équation de NERNST : l'amplitude du PA augmente de 26 mV

lorsque  $[Ca^{++}]_e$  est multipliée par 10 (ITTO et Coll., 1970). De même, chez certains Insectes, le PA n'est modifié ni par la tétrodotoxine, ni par des variations de  $[Na^+]_e$ , mais est fonction de  $[Ca^{++}]_e$  et est aboli par les ions  $Mn^{++}$ , comme par exemple chez la fibre squelettique de criquet migrateur *Shistoceras gregaria* (WASHIO, 1971, 1972). Sur les fibres musculaires de Mollusques, KIDOKORO et Coll. (1974) montrent que le PA de la fibre musculaire striée oblique de larve glochidium d'Anodonte *Anodonta implicata* est consécutif à une augmentation de  $g_{Ca}$ . LEENDERS (1967) conclut au même résultat sur les fibres du muscle rétracteur du byssus de la moule *Mytilus edulis*, l'absence de  $Ca^{++}$  extracellulaire entraînant la disparition du P.A.

Enfin, chez les Crustacés, le PA est, là encore, essentiellement dû à un courant entrant porté par les ions  $Ca^{++}$  : sur la fibre musculaire de balane, l'absence de  $Na^+$  extracellulaire est sans effet sur le PA (HOYLE et SMYTH, 1963 sur *Balanus nubilus* ; KEYNES et Coll., 1973 sur *Megabalanus psittacus*). L'analyse sur cette fibre des courants membranaires selon la technique du potentiel imposé (HAGIWARA et Coll., 1969 ; KEYNES et Coll., 1973 ; HAGIWARA et Coll., 1974) permet de confirmer que la nature du courant entrant lors de l'activité est uniquement calcique (HAGIWARA et NAKA, 1964 ; HAGIWARA et Coll., 1974) et est fonction de  $[Ca^{++}]_e$  (HAGIWARA et TAKAHASHI, 1967).

La fibre musculaire de homard peut développer des PA amples en présence d'ions autres que le  $\text{Na}^+$  (REUBEN et Coll., 1961 ; GRUNDFEST, 1961 ; WERMAN et GRUNDFEST, 1961). De la même façon, un courant entrant, presque exclusivement transporté par les ions  $\text{Ca}^{++}$  (CHIARANDINI et Coll., 1970), est impliqué dans la génèse du PA de la fibre musculaire d' crevisse (FATT et GINSBORG, 1958 sur *Astacus fluviatilis* ; TAKEDA, 1967, CHIARANDINI et Coll., 1970 ; VAN DER KLOOT, 1973 sur *Orconectes virilis*). Des résultats analogues portant sur la fibre musculaire squelettique du crabe *Callinectes danae* (SUAREZ-KURTZ et Coll. 1972 ; SUAREZ-KURTZ, 1974) montrent que le PA est produit par une entrée de  $\text{Ca}^{++}$  consécutive à l'augmentation de  $g_{\text{Ca}}$ .

Ainsi, l'analyse de la nature du courant entrant, responsable de la phase de dépolarisation du PA des fibres excitables, révèle essentiellement trois types d'activités en relation avec deux types de "canaux" : un "canal rapide" inhibé par la tétrodotoxine spécifique au courant de  $\text{Na}^+$  et un "canal lent" inhibé par le  $\text{Mn}^{++}$  d'une spécificité moindre à l'égard des ions portant le courant entrant.

### 3.3.2. - La réponse dépolarisante ( $R_d$ ) dans les conditions normales - Allure et caractéristiques

Le courant modifiant la polarité de la membrane est porté par une microélectrode, conformément au schéma donné

antérieurement (figure 23, p. 54). Le potentiel de membrane est mesuré par une deuxième microélectrode.

L'enregistrement de la figure 38 (p.111) donne un exemple de l'évolution de  $E_m$ , en fonction du temps, à la suite de l'application de part et d'autre de la membrane d'un courant rectangulaire soit hyper- soit dépolarisant d'une durée de 15 ms et d'une intensité de 3  $\mu$ A. Le courant dépolarisant produit une réponse dépolarisante ( $R_d$ ) caractérisée par l'absence d'inversion de potentiel pour une distance inter-électrode d'environ 100  $\mu$ m, cette distance, comme cela sera vu ultérieurement, présente une certaine importance. L'amplitude moyenne de la  $R_d$  obtenue à la température ambiante (18 à 20°C) dans les conditions ioniques de référence et à une distance de 100  $\mu$ m de la stimulation est de  $56,6 \pm 5,9$  mV ( $n > 100$ ), alors que la valeur moyenne de  $E_r$ , mesurée dans les mêmes conditions, est de  $68,2 \pm 4,8$  mV.

L'allure de la  $R_d$  varie quelque peu d'une fibre à l'autre. Néanmoins, il s'avère que le seuil de déclenchement de la réponse se situe toujours, dans les conditions normales, à un même niveau de potentiel dont la valeur moyenne est - 42 mV et que les phases de dépolarisation et de repolarisation de  $R_d$  sont relativement lentes (respectivement en moyenne 10 V/s et 5 V/s).

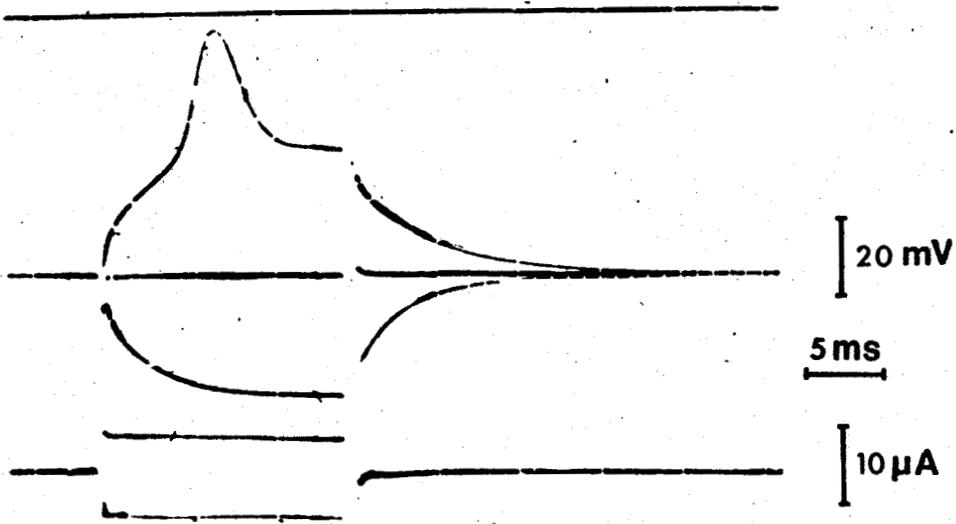


Figure 38 : Exemple d'enregistrement dans les conditions normales des variations de  $E_m$  de la fibre squelettique de crabe soumise à un créneau de courant hyperpolarisant (vers le bas) et dépolarisant (vers le haut).

La distance entre l'électrode de stimulation et celle d'enregistrement est de  $100 \mu\text{m}$ .

Le trait horizontal du haut de la figure correspond au potentiel 0 de référence. Les valeurs négatives sont vers le bas.



3.3.2.1. - Influence de l'intensité du courant de stimulation sur la  $R_d$

HOYLE (1967), OZEKI (1969) déterminent, chez les Crustacés, différents types de réponses électriques, selon les fibres. Il est admis chez ces fibres, que la réponse électrique est, soit du type gradué, soit du type tout-ou-rien, c'est-à-dire que son amplitude est ou n'est pas fonction de l'intensité supraliminaire du courant de stimulation (FATT et KATZ, 1953, sur la fibre musculaire squelettique du crabe *Portunus* ; FATT et GINSBORG, 1958, sur celle de l'écrevisse *Astacus fluviatilis* ; WERMAN et GRUNDFEST, 1961 sur le homard *Homarus* ; ATWOOD et Coll., 1965 sur le crabe *Cancer magister* ; OZEKI, 1969 sur l'écrevisse *Procambarus clarkii*) figure 39 (p.113). L'enregistrement de la figure 40 a (p.114) donne un exemple de l'allure de la  $R_d$  en fonction de l'intensité du courant dépolarisant appliqué à la membrane. L'amplitude de la  $R_d$  est sensiblement la même, quelle que soit la valeur de celui-ci, c'est-à-dire qu'elle est du type tout-ou-rien. Par contre, la figure 40 b (p.114) montre, sur une autre préparation, que la  $R_d$  peut être du type gradué puisque cet exemple montre que l'amplitude de cette  $R_d$  est d'autant plus grande que le courant dépolarisant est plus intense.

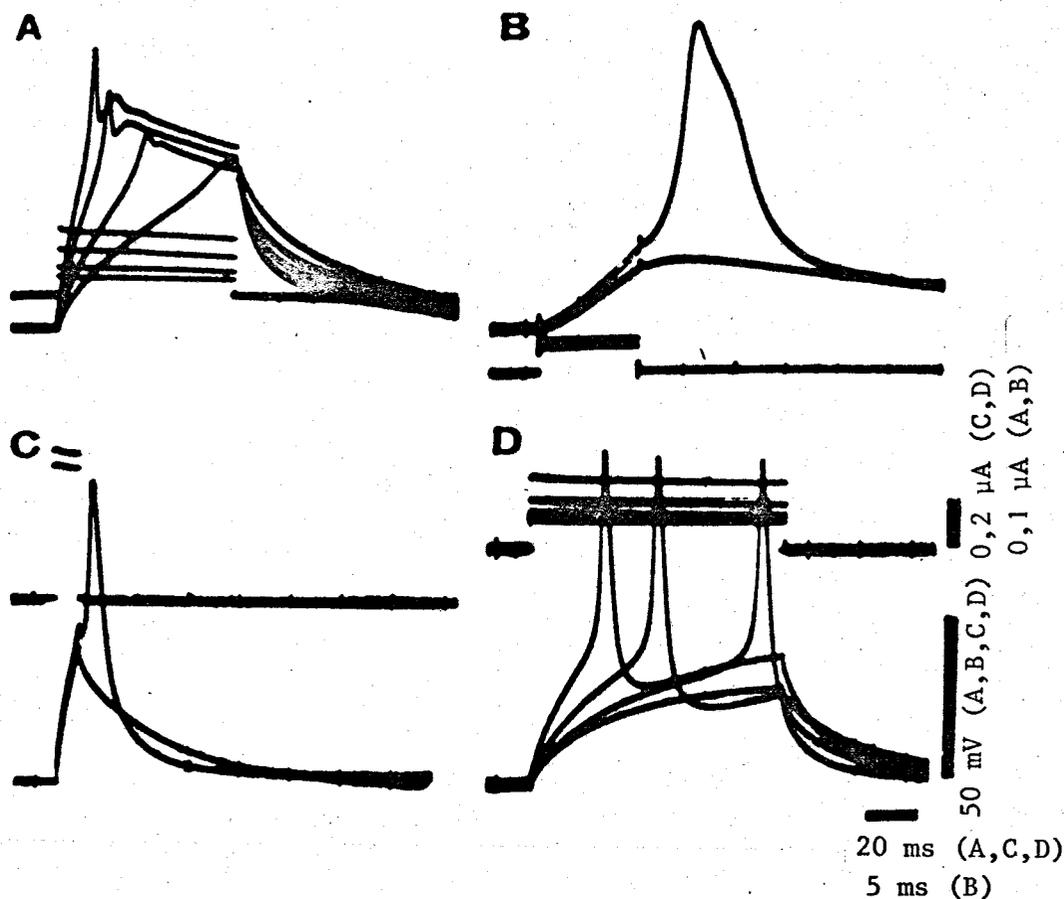


Figure 39 : d'après OZEKI (1969).

Différents types de réponses de fibres musculaires squelettiques striées d'écrevisse : réponse graduée (enregistrement A) tout-ou-rien (enregistrements B, C et D).

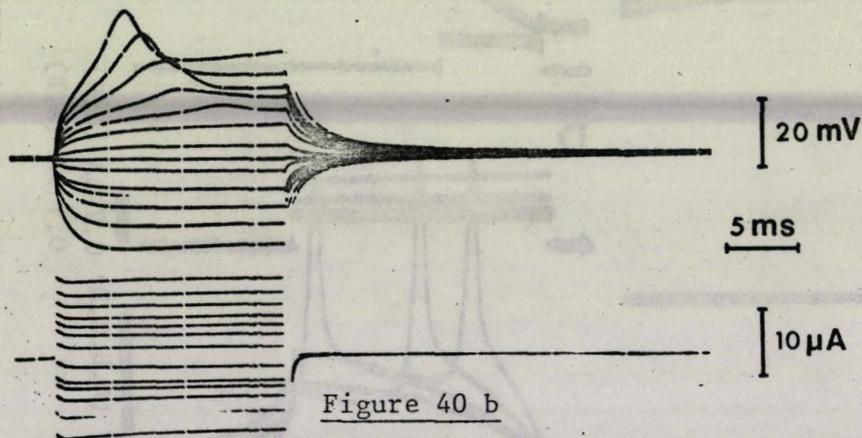
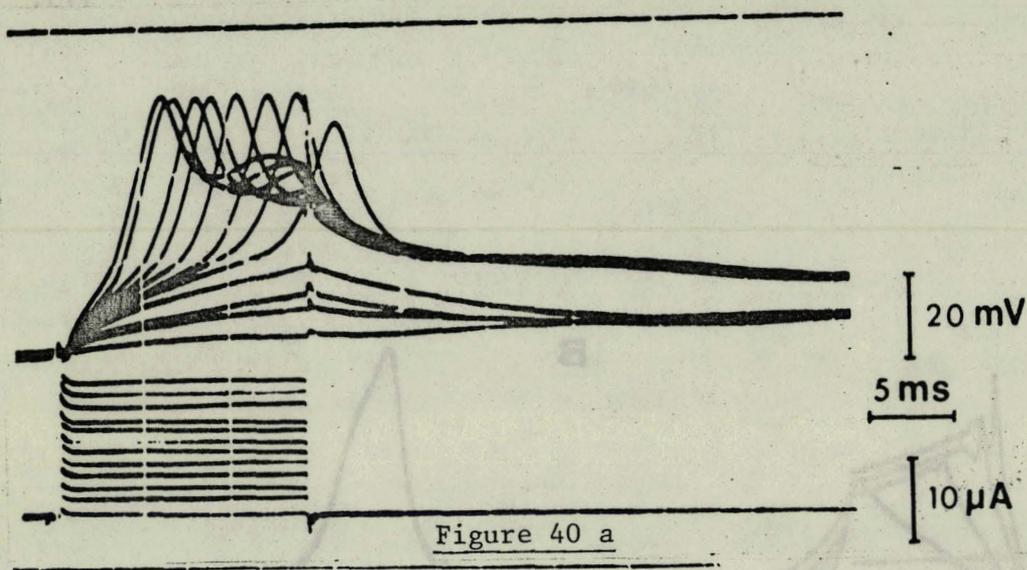


Figure 40 : Types de  $R_d$  de fibres squelettiques striées de crabe.

- 40 a : Exemple de  $R_d$  de type tout-ou-rien.

L'amplitude de la  $R_d$  (tracés du haut) n'est pas fonction de l'intensité du courant dépolarisant appliqué de part et d'autre de la membrane (tracé du bas).

- 40 b : Exemple de  $R_d$  de type graduë .

Lorsque le seuil de déclenchement de la  $R_d$  est atteint, l'amplitude de cette  $R_d$  (tracés du haut) est fonction de l'intensité du courant appliqué de part et d'autre de la membrane (tracés du bas).

BHS  
LILLE

Par la suite, ne seront étudiées que les fibres présentant une  $R_d$  du type tout-ou-rien, le courant de stimulation étant d'intensité telle, que le seuil de potentiel pour lequel la réponse se déclenche, soit juste dépassé.

### 3.3.2.2. - Propagation de la $R_d$ le long de la fibre

Les enregistrements de la figure 41 a (p.116) montrent l'allure de la  $R_d$  d'une fibre en fonction de la distance existant entre l'électrode portant le courant de stimulation et l'électrode d'enregistrement. En accord avec FATT et KATZ, (1953) on constate que l'amplitude de la  $R_d$  diminue lorsque la distance (d) interélectrode augmente, le décrétement de la réponse étant exponentiel comme le révèle la figure 41 b (p.117). Il est à noter que, pour certaines fibres, la  $R_d$  présente une inversion de potentiel pour  $d < 50 \mu\text{m}$ .

### 3.3.2.3. - Influence de la durée du courant de stimulation sur la $R_d$

Du fait de la valeur élevée du condensateur membranaire et de l'impédance de la microélectrode de stimulation, il s'avère impossible de déclencher une réponse dépolarisante par un créneau de courant très bref, car, dans ces conditions, l'intensité du courant doit être très élevée (20  $\mu\text{A}$  pour une durée de 2 ms : HAUDECOEUR, 1971). Comme le montre la figure 42 (p. 118), l'amplitude de la  $R_d$  est fonction, entre certaines limites tout au moins, de la durée du courant. De plus, cette figure révèle, pour des chocs de stimulation brefs, dans la mesure où un seuil de potentiel est atteint, l'existence d'une

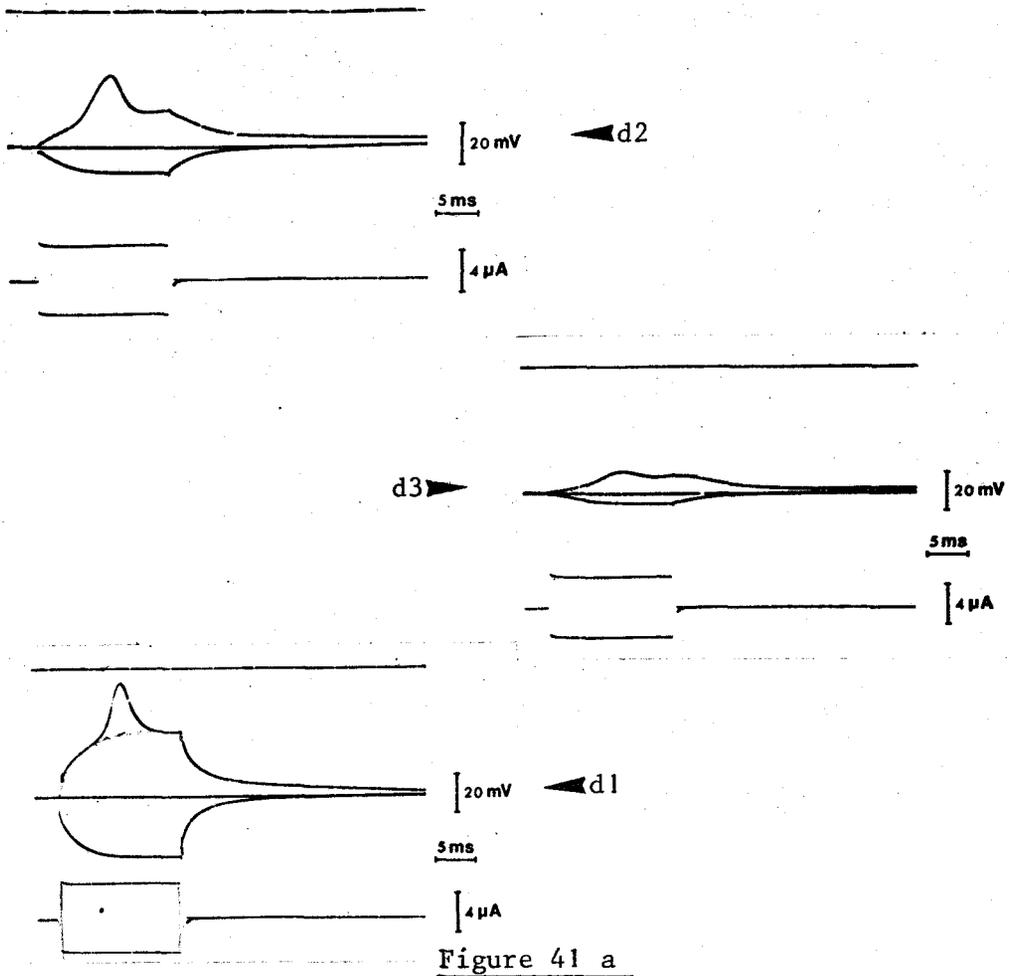


Figure 41 : Propagation de la  $R_d$  le long de la fibre.

- 41 a : Exemple d'enregistrements sur la même fibre à différentes distances interélectrodes ( $d$ ), l'électrode de stimulation restant implantée au même endroit et le courant appliqué de même valeur.

- $d_1 = 160 \mu\text{m}$
- $d_2 = 560 \mu\text{m}$
- $d_3 = 1333 \mu\text{m}$ .

- 41 b : Courbe traduisant la valeur moyenne ( $\pm$  son écart-type,  $n = 12$ ), de  $E_m$  au maximum de la  $R_d$  en fonction de la distance interélectrode ( $d$ )

- 41 c : Courbe traduisant le Log de l'amplitude de la  $R_d$  en fonction de la distance ( $d$ ) interélectrode.

Ces résultats montrent que la propagation de la  $R_d$  le long de la fibre est de type électrotonique avec une constante d'espace de  $1200 \mu\text{m}$  environ.

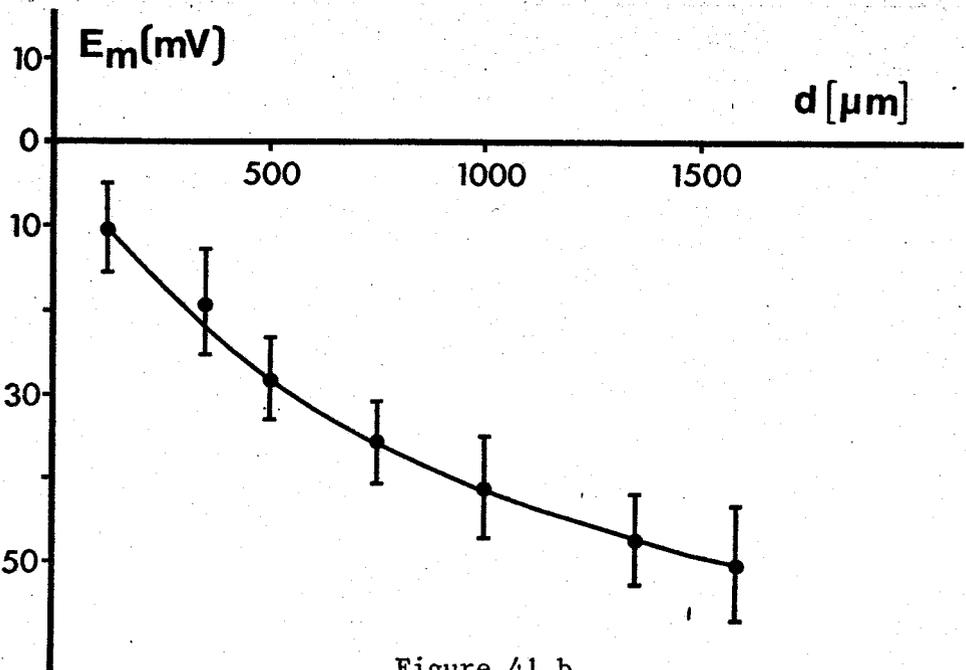


Figure 41 b

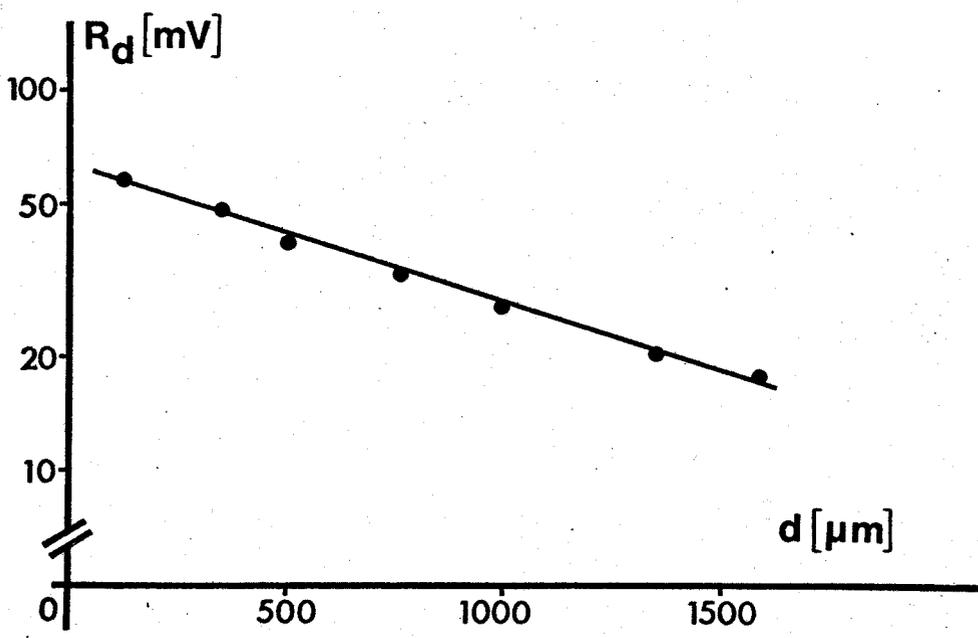


Figure 41 c



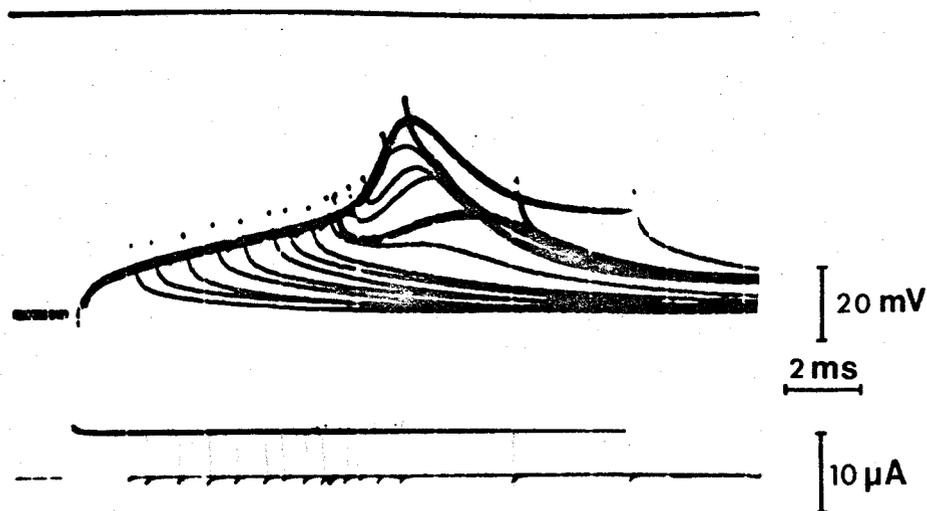


Figure 42 : Influence de la durée du courant de stimulation sur l'allure de la  $R_d$ .

Cette figure donne un exemple d'enregistrements (tracés du haut) obtenus dans les conditions normales de référence, l'intensité du courant de stimulation étant juste suffisante pour dépasser le seuil de potentiel permettant le déclenchement de la  $R_d$ .

Il est nécessaire, pour obtenir le déroulement de toute la  $R_d$ , de maintenir le courant dépolarisant. Toutefois, lorsque le seuil de déclenchement est atteint, il apparaît une réponse dont l'amplitude croît avec la durée du courant.

réponse de type tout-ou-rien.

#### 3.3.2.4. - Relation entre $E_r$ et la $R_d$

On sait que, sur les fibres excitables de Vertébrés, tant nerveuses que musculaires, l'amplitude du PA dépend en définitive de l'ampleur de l'activation du courant entrant responsable de ce PA, laquelle est fonction de la valeur de  $E_r$ . Dans la mesure où  $E_r$  de la fibre musculaire de crabe est de valeur relativement faible et varie selon les fibres interrogées et, sur une même fibre, selon l'endroit interrogé, il est logique de penser que la valeur de  $E_r$  peut expliquer l'amplitude de la  $R_d$  variable d'une fibre à l'autre ( $56,6 \pm 5,9$  mV - Ecart type élevé) et son absence d'inversion de potentiel. Cependant, les enregistrements de  $R_d$  obtenus consécutivement à l'application d'un courant rectangulaire de même amplitude, soit après dépolarisations (figure 43 a, p.120) soit après hyperpolarisations successives (figure 43 b, p.120) produites par des courants constants, montrent que l'amplitude de la  $R_d$  n'est pas liée à la valeur de  $E_r$ . En effet, la figure 43 a (p.120) montre que, paradoxalement, la dépolarisation de repos peut conduire, sous l'influence du courant de stimulation à une inversion de potentiel. Elle montre également qu'il existe toujours un seuil de potentiel, pour le déclenchement de la réponse, qui varie selon la valeur de  $E_m$ . D'ailleurs, comme le montrent les enregistrements de la figure 44 (p.121) une dépolarisation ample et durable

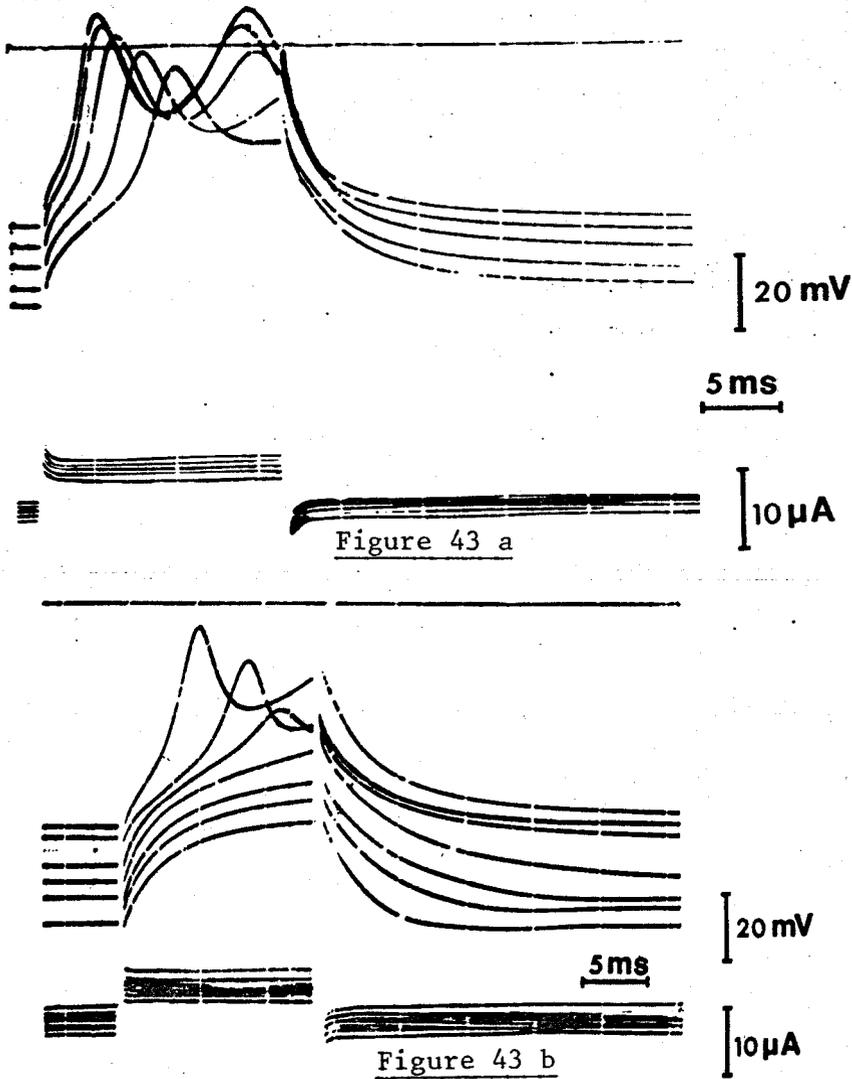


Figure 43 : Influence de la valeur de  $E_n$  sur la  $R_d$ .

La valeur de  $E_n$  est modifiée en appliquant à la fibre un courant constant dé- (figure 43 a) ou hyperpolarisant (figure 43 b).

- 43 a : diminution de la valeur de  $E_n$ . L'intensité du courant de stimulation (tracés du bas) n'est pas modifiée. Les enregistrements des  $R_d$  obtenues à différentes valeurs de  $E_n$  (tracés du haut) montrent que, paradoxalement, pour une valeur basse de  $E_n$ , la  $R_d$  présente une inversion de potentiel.

- 43 b : mêmes processus expérimentaux. Mais  $E_n$  est déplacé vers des valeurs plus négatives.

Il est nécessaire d'atteindre le seuil de potentiel de - 42 mV pour que la  $R_d$  se déclenche.

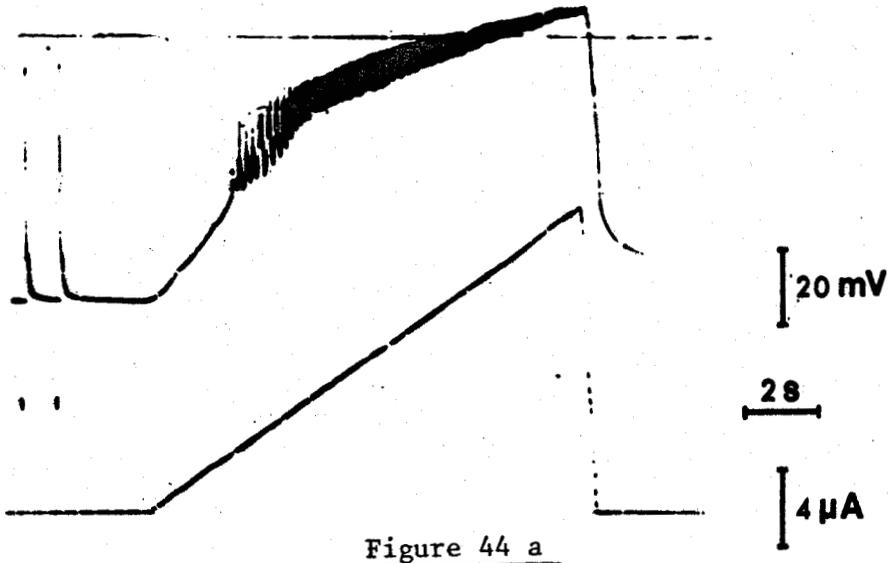


Figure 44 a

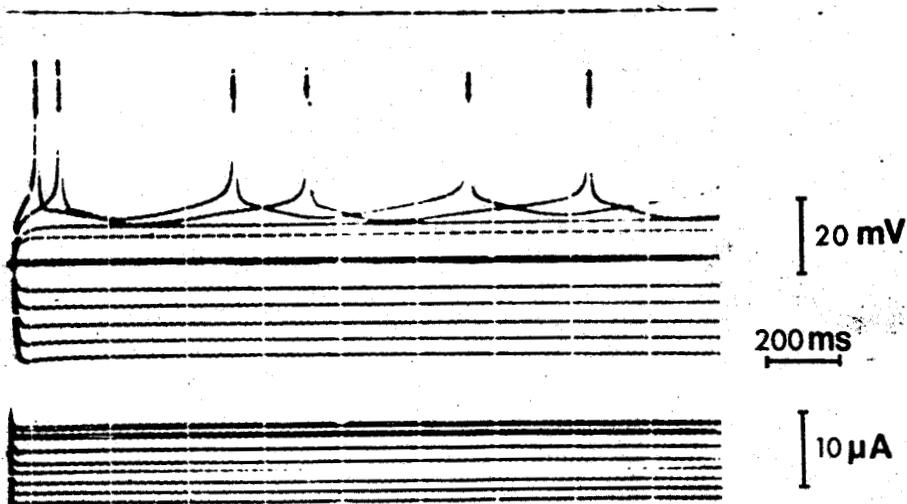


Figure 44 b

Figure 44 : Réponse électrique de la fibre à des courants dépolarisants de grande durée, d'intensité croissante régulièrement (figure 44 a) ou constante (figure 44 b).

- 44 a : la fibre est soumise à un courant dépolarisant dont l'intensité croît linéairement avec le temps (tracé du bas). La réponse de la membrane est telle que, lorsqu'un seuil de potentiel est atteint, la fibre présente une activité spontanée dont l'amplitude est de plus en plus faible au fur et à mesure que le courant est d'intensité plus grande.

- 44 b : mise en évidence du seuil de potentiel permettant l'apparition de l'activité répétitive lorsque la durée des crêneaux de courant dépolarisant est importante (> 1 seconde).



conduit à une activité répétitive.

### 3.3.2.5. - Conclusion sur les caractéristiques de la $R_d$ dans les conditions normales.

L'ensemble des résultats obtenus montre qu'il est nécessaire de tenir compte des facteurs qui modifient l'allure de la  $R_d$ . En effet, les enregistrements ultérieurs de contrôle doivent être réalisés dans les mêmes conditions afin de pouvoir comparer les divers résultats entre eux. Il est donc tenu compte :

- de la distance interélectrode qui est fixée à une valeur de 100  $\mu\text{m}$ , du fait de la propagation électrotonique de la  $R_d$  en surface.;

- du courant de stimulation dont la valeur est celle qui amène  $E_m$  juste au delà du seuil de potentiel pour lequel une réponse est déclenchée.;

- du type de réponse. Les réponses étant de type gradué, ou tout-ou-rien, les expériences ultérieures correspondent à des  $R_d$  où l'amplitude n'est pas fonction de la valeur du courant de stimulation, le seuil de déclenchement étant atteint.

- de la durée du courant de stimulation. Elle est fixée à la valeur de 15 ms, durée suffisamment brève pour éviter l'activité répétitive et suffisamment longue pour permettre le déroulement de l'ensemble de la  $R_d$ .

D'autre part, l'examen des enregistrements de  $R_d$

obtenus dans les conditions normales montrent que le seuil de déclenchement de la réponse varie en fonction de la polarisation de la membrane (modifiée par un courant constant : cf figure 43, p. 120). Toutefois, si l'on tient compte du fait que l'amplitude de la  $R_d$  dépend également de la durée de la stimulation, lorsque celle-ci est très brève (figure 42, p. 118), il est possible d'admettre que la réponse tout-ou-rien serait déclenchée, en profondeur, à un seuil de potentiel bien déterminé et qu'en outre, cette réponse pourrait dépendre de l'ampleur du phénomène de rectification anormale de la membrane, mis en évidence par ATWOOD et Coll. (1965) sur le crabe *Cancer magister*. Ces auteurs montrent, en effet, en courant imposé, que la relation courant-potentiel n'est pas une fonction linéaire et que les courants dépolarisants de faible intensité entraînent une augmentation de la  $R_m$  alors que les courants de forte intensité entraînent par contre une diminution de  $R_m$ .

Ainsi, il est possible de supposer que la  $R_d$  enregistrée sur notre préparation est, en fait, une réponse tout-ou-rien née en profondeur, mais affectée par les phénomènes de rectification de la membrane.

### 3.3.3. - Localisation du lieu de passage du courant entrant.

Comme cela a déjà été précisé, le courant entrant responsable, sur les fibres squelettiques de Crustacés, de la

phase de dépolarisation de la  $R_d$  semble porté essentiellement par les ions  $Ca^{++}$  et, selon le cas, aussi par les ions  $Na^+$ . Sur la fibre squelettique de balane, HAGIWARA et TAKAHASHI (1967) montrent que l'amplitude du PA (essentiellement de nature calcique) est déterminée par la densité de sites membranaires occupés par les ions  $Ca^{++}$ , le seuil d'activation du déclenchement du PA dépendant de la densité de tous les ions divalents présents au niveau de la membrane. Ces sites, pour les ions divalents, sont localisés sur la membrane sarcolemmique (selon ORENTLICHER et ORNSTEIN, 1971 sur la fibre squelettique d'écrevisse *Orconectes* et *Procambarus*). Ces résultats suggèrent donc une voie de passage du courant de  $Ca^{++}$  à un niveau sarcolemmique. Or, certains arguments laissent à penser que cette voie de passage aux ions  $Ca^{++}$  et, éventuellement, aux ions  $Na^+$  n'est pas exclusive : d'une part, il existe une propagation de l'activité le long des tubules, d'autre part, il a été mis en évidence l'existence de sites au  $Ca^{++}$  à l'extrémité des tubules. En effet, KEYNES et Coll. (1973) suggèrent, sur la fibre musculaire de balane (*Balanus psittacus*), que le sarcolemme serait le siège à la fois des sites pour le  $Ca^{++}$  et pour le  $K^+$  (sites indépendants : HOYT, 1971) alors que les tubules ne posséderaient que des sites au  $Ca^{++}$ . De plus, il est montré que l'activité électrique se propage le long des tubules, tant sur la fibre squelettique de grenouille (BEZANILLA et Coll., 1972 ; PEACHEY et ADRIAN, 1973 ;

CAPUTO et DIPOLO, 1973 ; BASTIAN et NAKAJIMA, 1974) que sur la fibre d'Insecte (PIEK, 1974 sur la mouche *Philosamia cynthia*). Toutefois, cette propagation serait soit électrotonique (FALK et FATT, 1964 ; FALK, 1968 ; ADRIAN et Coll., 1969 a) soit régénérative (TAKEDA et OOMURA, 1970 ; COSTANTIN, 1970 ; GONZALES-SERRATOS, 1971 ; COSTANTIN et TAYLOR, 1971 ; BEZANILLA et Coll., 1972).

D'autre part, KIDOKORO et Coll. en 1974 montrent, en microscopie électronique, sur la fibre musculaire striée oblique de la larve du bivalve *Anodonta*, après action d'un milieu dépourvu de  $Ca^{++}$  (celui-ci étant remplacé par du  $La^{+++}$ ), qu'il existe une voie de passage des ions  $Ca^{++}$  à l'extrémité des tubules. En effet, le  $La^{+++}$  abolit le PA et s'accumule à ce niveau, là où seraient, selon toute vraisemblance, les sites au  $Ca^{++}$  permettant, dans les conditions normales, le passage du courant entrant responsable du PA.

L'ensemble de ces données suggère, qu'au niveau de notre préparation, les sites impliqués pour le passage du courant entrant pourraient également se trouver à l'extrémité des tubules, du fait des caractéristiques de la réponse. En effet, la propagation de la  $R_d$  n'est pas du type régénératif, ce qui laisse supposer une localisation en profondeur de la conductance membranaire responsable, lors de son activation, du courant entrant. Cette hypothèse peut être étayée par le fait :

- qu'il existe une réponse locale de faible amplitude, de type tout-ou-rien, démasquée lorsque la durée du courant dépolarisant est réduite (§ 3323, p.115 )

- que la réponse dépend d'un seuil critique de potentiel qui est rendu variable par changement de  $E_r$  produit par un courant constant.

Ainsi, l'analyse de nos résultats, en relation avec celle de la littérature, conduit à penser que l'activation des conductances membranaires aux ions portant le courant entrant, lors de la  $R_d$  de la fibre musculaire striée squelettique de crabe, ne serait pas localisée uniquement en surface, mais existerait également en profondeur. Ces conductances seraient localisées à la fois, en surface et en profondeur, probablement au niveau des structures  $T_{AI}$  (zone périphérique et zone centrale, cf § structure), si l'on s'en réfère aux résultats de KIDOKORO et Coll., (1974) qui localisent justement  $g_{Ca}$  à l'extrémité des tubules, tubules dont le rôle dans le couplage excitation - contraction est bien connu (SANDOW, 1965, 1970 ; MOMMAERTS, 1971 ; FUCHS, 1974).

#### 3.4. - Schéma électrique équivalent de la membrane

La figure 45 (p.127 ) donne de notre préparation un schéma électrique équivalent qui tient compte des données tant de la littérature que de nos résultats décrits et faisant suite.

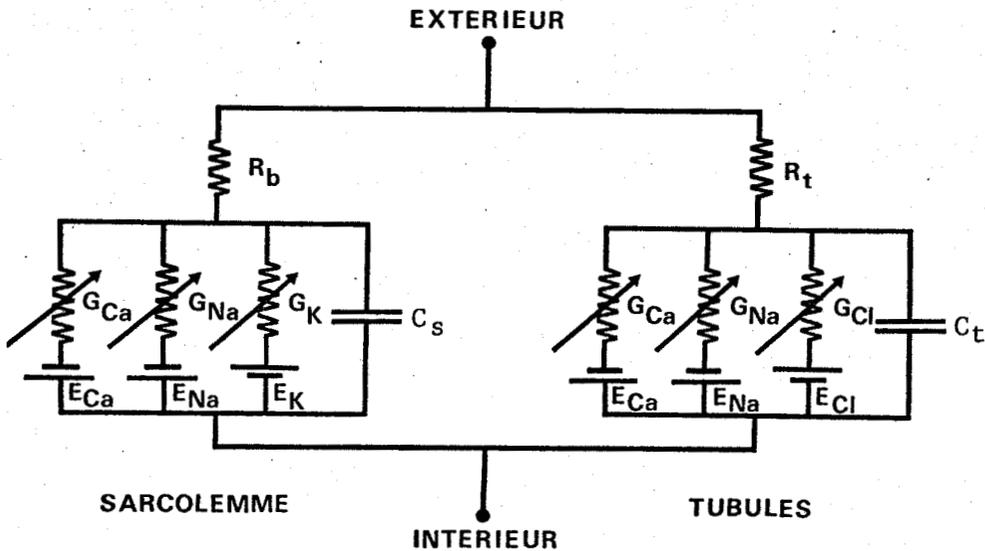


Figure 45 : Schéma électrique équivalent de la fibre musculaire squelettique de crabe établi à l'aide des données acquises.

- Sarcolemme :  $E_{Ca}$ ,  $E_{Na}$  et  $E_K$  sont les piles de concentration respectives aux ions  $Ca^{++}$ ,  $Na^+$  et  $K^+$  et  $G_{Ca}$ ,  $G_{Na}$  et  $G_K$  les conductances membranaires à ces ions.  $R_b$  est la résistance ohmique due à la présence de matériel amorphe à la surface du sarcolemme et à l'intérieur des invaginations longitudinales de celui-ci.  $C_s$  est le condensateur du sarcolemme.

- Tubules : L'organisation est identique à celle du sarcolemme hormis le fait que  $E_{Cl}$  et  $G_{Cl}$  remplacent  $E_K$  et  $G_K$  à ce niveau.  $C_t$  est le condensateur des tubules,  $R_t$  la résistance longitudinale de ces tubules.

Deux systèmes membranaires caractérisés par la spécificité de leur conductance aux ions peuvent être discernés. Les conductances essentielles impliquées dans le maintien de  $E_r$  sont localisées au niveau du sarcolemme pour  $g_K$  et des tubules pour  $g_{Cl}$ , chacune de ces conductances étant en série avec la pile de concentration aux ions correspondante.

Compte-tenu de la nature ionique du courant entrant responsable de la phase de dépolarisation, les conductances impliquées (au  $Na^+$  et au  $Ca^{++}$ ) sont placées en parallèle sur  $g_{Cl}$  et sur  $g_K$ .

L'existence de  $R_b$  et de  $R_t$ , en série respectivement avec  $g_K$  et  $g_{Cl}$  selon le schéma de EISENBERG (§ 21, p. 46) est corroborée par l'étude de la variation de  $E_m$  en fonction du temps lors de l'application, à la membrane, d'un courant constant rectangulaire (§ 31221, p. 68). En effet, au temps  $t = 0 + \epsilon$  ms, la variation de potentiel n'est pas nulle (figure 28, p. 69).

Ce schéma est donc considéré comme une hypothèse de travail qu'il convient maintenant de vérifier par une analyse plus poussée des propriétés électrophysiologiques d'activité de la fibre musculaire.

## CHAPITRE III

### NATURE IONIQUE DE LA REPONSE

- 1 - Le courant entrant
- 2 - Probabilité d'un shunt de la réponse
- 3 - Le courant sortant.
- 4 - Phénomènes de rectification membranaire

L'évocation, lors du chapitre précédent, du courant entrant a été faite uniquement dans le but de localiser, sur le schéma électrique équivalent de la membrane, les conductances ioniques impliquées. Il importe de connaître non seulement la nature des ions qui portent le courant entrant, mais aussi d'expliquer la phase de repolarisation de la réponse dépolarisante. En conséquence, trois parties sont successivement envisagées pour expliquer la nature ionique de la  $R_d$  :

- celle concernant la nature du courant entrant, mise en évidence par analyse des effets de milieux anormaux de concentrations variées en ions susceptibles de le porter et des effets d'inhibiteurs réputés spécifiques des conductances concernées;

- celle concernant le courant sortant, responsable de la phase de repolarisation ; il est étudié d'une façon analogue au courant entrant;

- celle concernant les conductances ioniques membranaires responsables tant, du courant entrant que du courant sortant, étudiées par analyse de la relation courant-potentiel.

## 1 - COURANT ENTRANT LORS DE LA $R_d$

### 11 - Nature du courant entrant

#### 111 - Action d'un milieu sans $Na^+$

Le milieu sans  $Na^+$  obtenu par remplacement du NaCl de la solution de référence par du chlorure de choline (513 mM) entraîne, en accord avec FATT et KATZ, après 20 mn d'action,

une légère hyperpolarisation (4 mV en moyenne, MOUNIER et Coll., 1969 b), une augmentation de  $R_m$  de repos (20 p. 100 en moyenne) et surtout une réponse dépolarisante plus ample (figure 46, p. 131) ; l'augmentation de l'amplitude de la réponse atteint en moyenne 42 p. 100, ce qui se traduit par une inversion de potentiel.

Ainsi, le  $Na^+$  n'est pas indispensable à l'initiation de la  $R_d$ , ce qui permet de supposer que les ions  $Na^+$  ne portent qu'en partie le courant entrant responsable de la phase de dépolarisation, ou d'admettre avec FATT et KATZ (1953) que dans ces conditions expérimentales précises, l'ion choline<sup>+</sup> participerait au courant entrant. Toutefois, NASTUK et HODGKIN (1950), HODGKIN et HOROWICZ (1959), NAKAJIMA et Coll. (1962) montrent, sur la fibre squelettique de grenouille, que l'ion choline<sup>+</sup> n'est pas perméant, bien que sur la même préparation, RENKIN (1961) observe une accumulation intracellulaire de l'ion choline<sup>+</sup> marquée au  $^{14}C$ .

#### 112 - Action de la tétrodotoxine (TTX)

Cette drogue est maintenant bien connue comme substance inhibitrice d'une conductance s'activant très rapidement (NARAHASHI et Coll., 1960 - voir également la revue de question publiée en 1974 par NARAHASHI). La TTX bloque en effet sélectivement le courant entrant "rapide" responsable du PA porté par les ions  $Na^+$  ou leurs substituts que sont les ions  $Li^+$

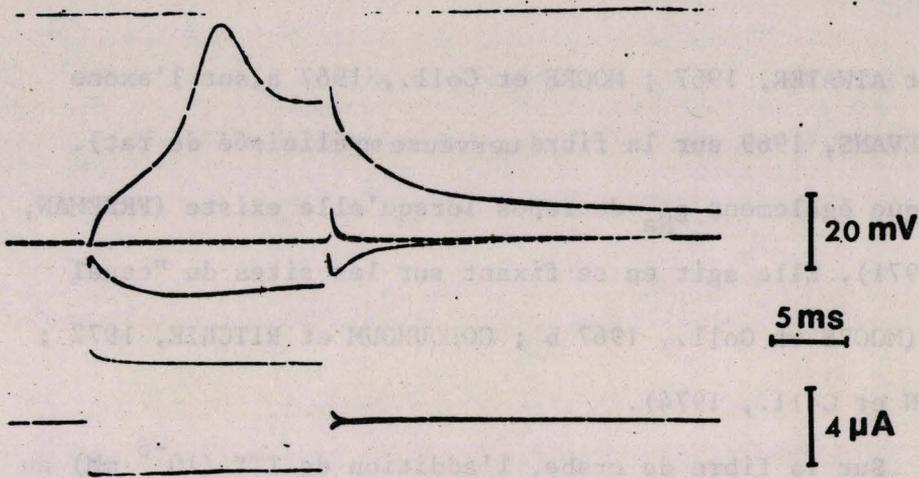


Figure 46 a

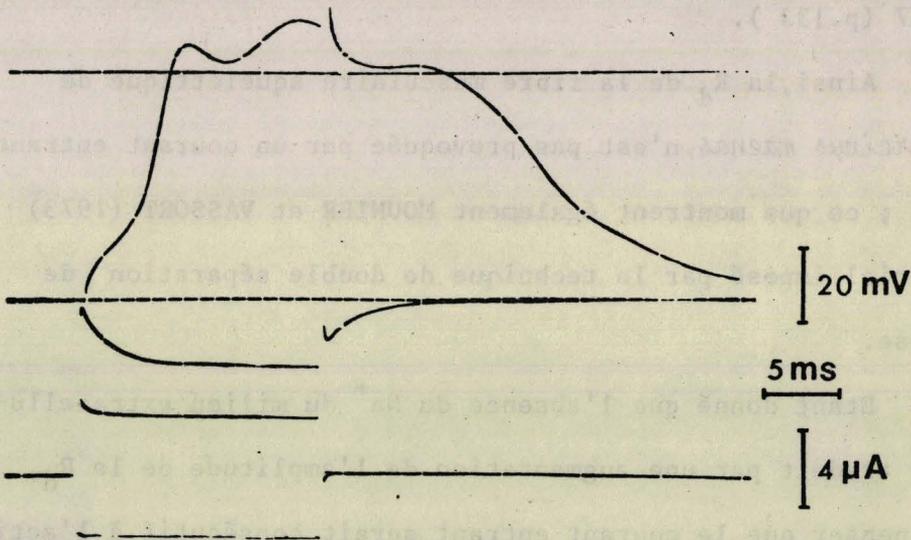


Figure 46 b

Figure 46 : Action d'un milieu dépourvu d'ions  $\text{Na}^+$  sur la  $R_d$  (ion de remplacement : choline $^+$ ).

$R_d$  d'une fibre dans les conditions normales (figure 46 a) et après 20 mn d'action du milieu dépourvu d'ions  $\text{Na}^+$  (figure 46 b), le courant de stimulation (tracés du bas) étant de même intensité.

La  $R_d$  présente une augmentation moyenne de son amplitude de 42 p. 100 ( $n = 8$ ).

(ROJAS et ATWATER, 1967 ; MOORE et Coll., 1967 a, sur l'axone géant ; EVANS, 1969 sur la fibre nerveuse myélinisée de rat). Elle bloque également  $g_{Na}$  de repos lorsqu'elle existe (FREEMAN, 1969 ; 1971). Elle agit en se fixant sur les sites du "canal rapide" (MOORE et Coll., 1967 b ; COLQUHOUM et RITCHIE, 1972 ; HENDERSON et Coll., 1974).

Sur la fibre de crabe, l'addition de TTX ( $10^{-6}$  mM) au milieu de référence n'entraîne pas de modifications significatives de l'activité électrique comme le montre l'exemple de la figure 47 (p.133 ).

Ainsi, la  $R_d$  de la fibre musculaire squelettique de crabe *Carcinus maenas* n'est pas provoquée par un courant entrant "rapide" ; ce que montrent également MOUNIER et VASSORT (1973) en potentiel imposé par la technique de double séparation de saccharose.

Etant donné que l'absence du  $Na^+$  du milieu extracellulaire se traduit par une augmentation de l'amplitude de la  $R_d$ , on peut penser que le courant entrant serait consécutif à l'activation d'une conductance calcico-sodique de cinétique lente qui serait inhibée par les ions  $Mn^{++}$ .

#### 113 - Action des ions $Mn^{++}$

Les ions  $Mn^{++}$  sont réputés pour inhiber le "canal lent" calcico-sodique, tant sur le tissu cardiaque (VITEK et TRAUTWEIN, 1971, sur le tissu de Purkinje ; ROUGIER et Coll.,

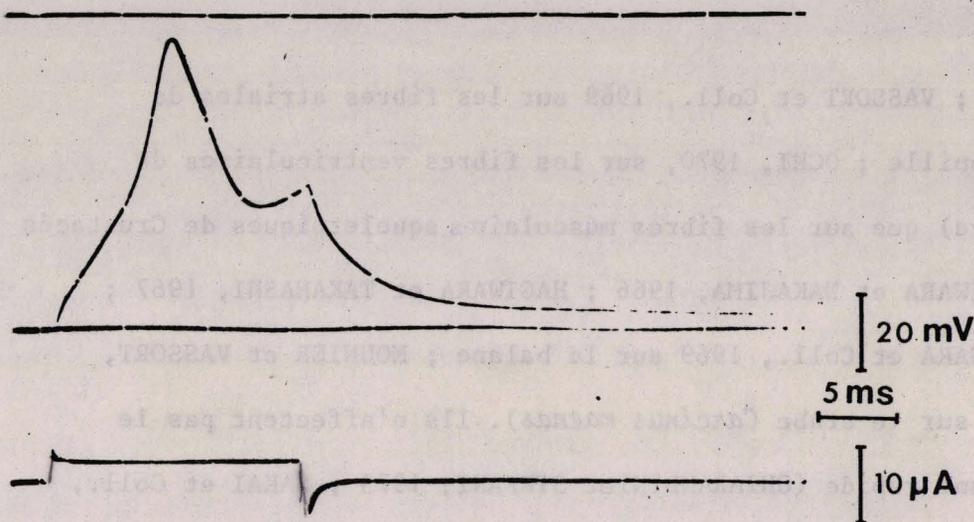


Figure 47 a

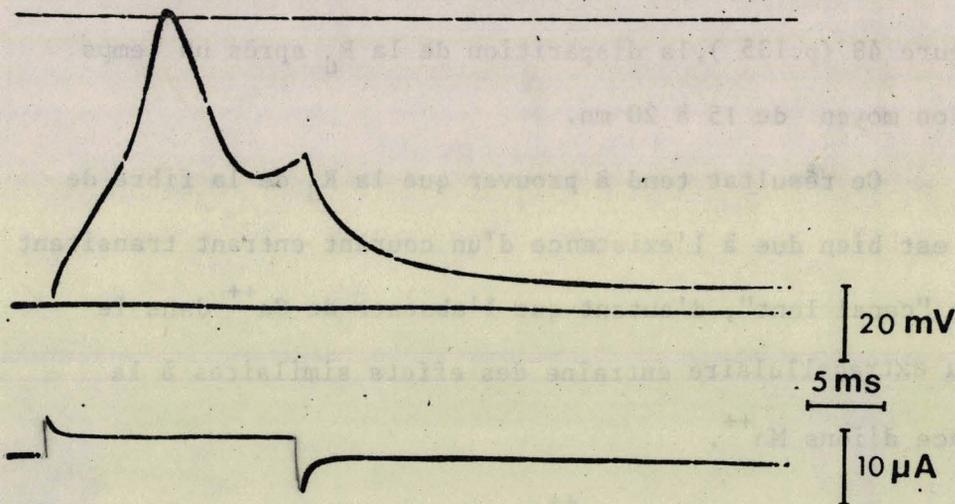


Figure 47 b

Figure 47 : Action de la tétrodotoxine (TTX à la concentration de  $10^{-6}$  mM) sur la  $R_d$ .

$R_d$  d'une fibre dans les conditions normales (figure 47 a) et après 20 mn d'action de la TTX (figure 47 b).

La  $R_d$  n'est pas modifiée.

1969 ; VASSORT et Coll., 1969 sur les fibres atriales de grenouille ; OCHI, 1970, sur les fibres ventriculaires de cobaye) que sur les fibres musculaires squelettiques de Crustacés (HAGIWARA et NAKAJIMA, 1966 ; HAGIWARA et TAKAHASHI, 1967 ; HAGIWARA et Coll., 1969 sur la balane ; MOUNIER et VASSORT, 1973 sur le crabe *Carcinus maenas*). Ils n'affectent pas le courant rapide (CHIARANDINI et STEFANI, 1973 ; SAKAI et Coll., 1974) sur la fibre squelettique de grenouille).

L'addition de 10 mM de  $MnCl_2$  au milieu de référence entraîne, sur notre préparation, comme le montre l'exemple de la figure 48 (p.135), la disparition de la  $R_d$  après un temps d'action moyen de 15 à 20 mn.

Ce résultat tend à prouver que la  $R_d$  de la fibre de crabe est bien due à l'existence d'un courant entrant transitant par un "canal lent", d'autant que l'absence de  $Ca^{++}$  dans le milieu extracellulaire entraîne des effets similaires à la présence d'ions  $Mn^{++}$ .

#### 114 - Absence de $Ca^{++}$ extracellulaire

Le remplacement du  $CaCl_2$  du milieu de référence par 23,6 mM de chlorure de choline se traduit par une abolition de la  $R_d$  après environ 10 mn d'action. Cette disparition réversible de la  $R_d$  n'est pas imputable à une augmentation éventuelle du seuil de déclenchement de cette réponse. La figure 49 (p. 136) donne un exemple de l'action d'un milieu dépourvu de  $Ca^{++}$  sur

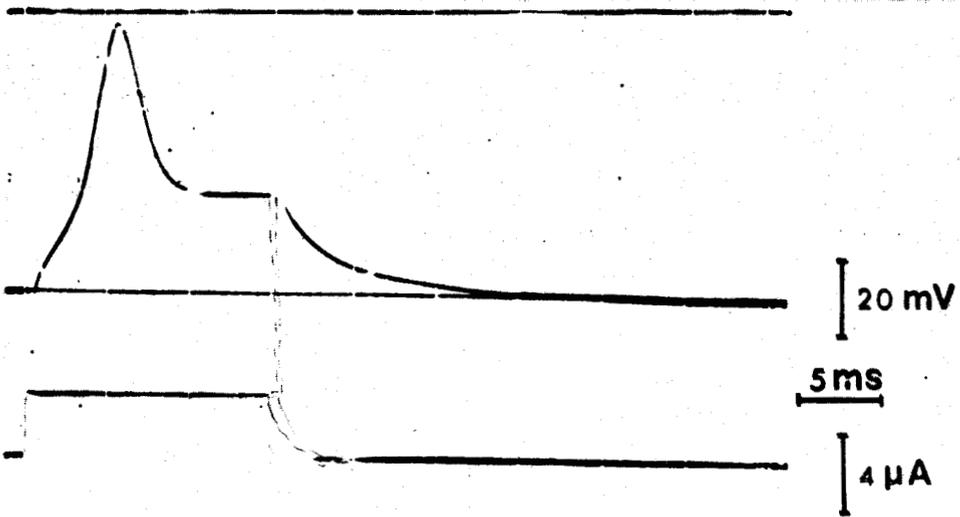


Figure 48 a

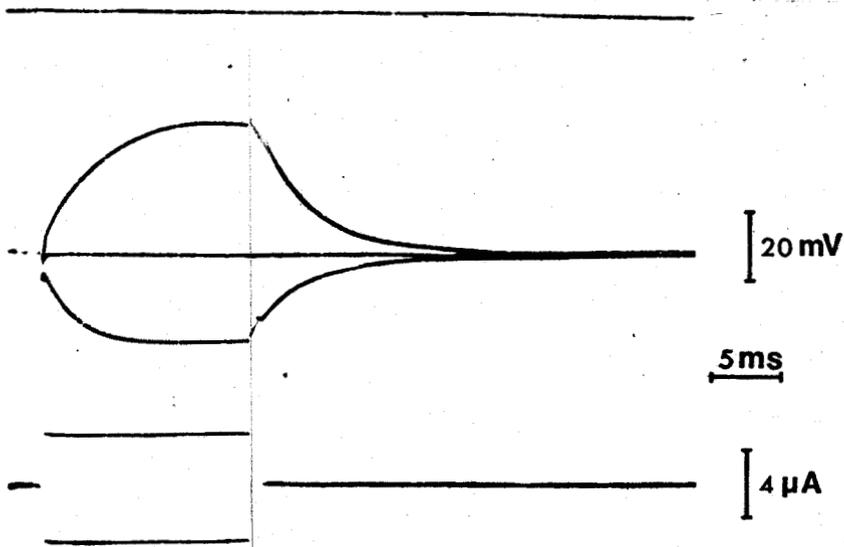


Figure 48 b

Figure 48 : Action des ions  $Mn^{++}$  (à la concentration de 10 mM) sur la  $R_d$ .

$R_d$  d'une fibre dans les conditions normales (figure 48 a) et après 25 mn d'action des ions  $Mn^{++}$  (figure 48 b).

La  $R_d$  est abolie par les ions  $Mn^{++}$ .

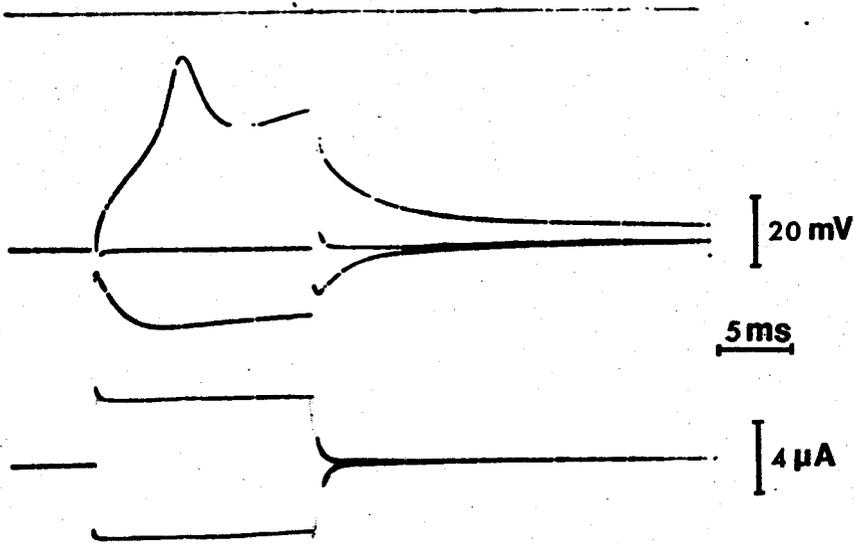


Figure 49 a

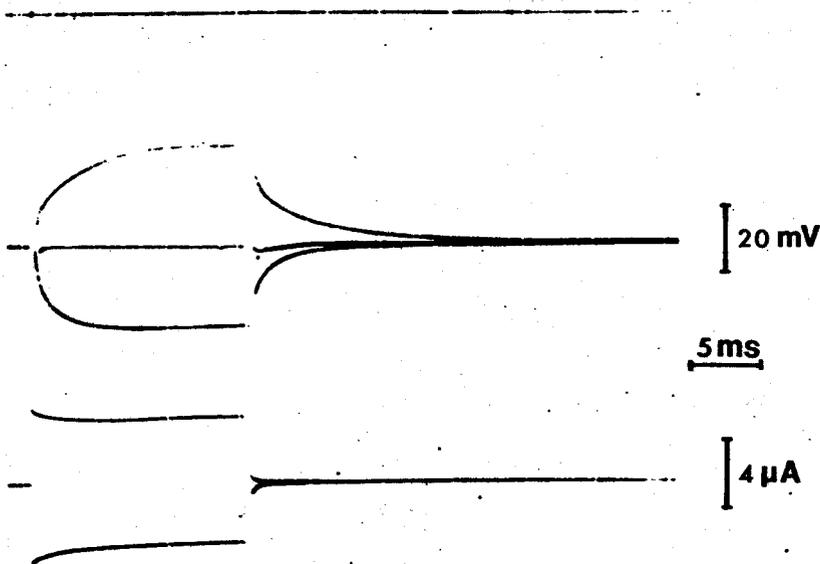


Figure 49 b

Figure 49 : Action d'un milieu dépourvu d'ions  $\text{Ca}^{++}$  sur la  $R_d$  ( $23,6 \text{ mM}$  de chlorure de choline remplacent les  $11,8 \text{ mM}$  de  $\text{CaCl}_2$ ).

$R_d$  d'une fibre dans les conditions normales

(figure 49 a) et après 15 mn (figure 49 b) d'action du milieu dépourvu d'ions  $\text{Ca}^{++}$ .

L'absence de  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire abolit la réponse.

l'activité électrique,  $E_r$  n'étant pas significativement modifié.

Ce résultat confirme l'importance du  $Ca^{++}$  extracellulaire dans l'initiation de la  $R_d$  et permet de supposer que le courant entrant, empruntant le "canal lent" (inhibé par les ions  $Mn^{++}$ ) est porté essentiellement par les ions  $Ca^{++}$ . ~~■~~ Toutefois ~~■~~ l'absence de  $Na^+$  extracellulaire entraîne une augmentation de l'amplitude de la réponse. Ce dernier point laisse supposer que le courant entrant, transitant par le "canal lent", serait porté, à la fois, par les ions  $Ca^{++}$  et les ions  $Na^+$ . ~~■~~ L'absence de réponse en milieu dépourvu de  $Ca^{++}$  laisse à penser que la composante calcique dominerait celle au  $Na^+$ , ou que la réponse née en profondeur serait atténuée en surface, atténuation qui ne permettrait pas de démasquer la pile aux ions  $Na^+$  ( $E_{Na}$ ) faible devant celle au  $Ca^{++}$  ( $E_{Ca}$ ).

#### 115 - Relation entre l'amplitude de la $R_d$ et $[Ca^{++}]_e$

La courbe de la figure 50 (p.138) donne la valeur moyenne du potentiel atteint lors de la  $R_d$  lorsque la concentration en ions  $Ca^{++}$  du milieu normal est modifiée. En effet, la valeur du potentiel, au maximum de la réponse, varie linéairement avec le Log de  $[Ca^{++}]_e$  tout au moins pour des valeurs de  $[Ca^{++}]_e$  supérieures à 2,36 mM. Cependant, la variation de ce potentiel, lorsque  $[Ca^{++}]_e$  est augmentée dans un rapport de 10, n'est que de 12 mV.



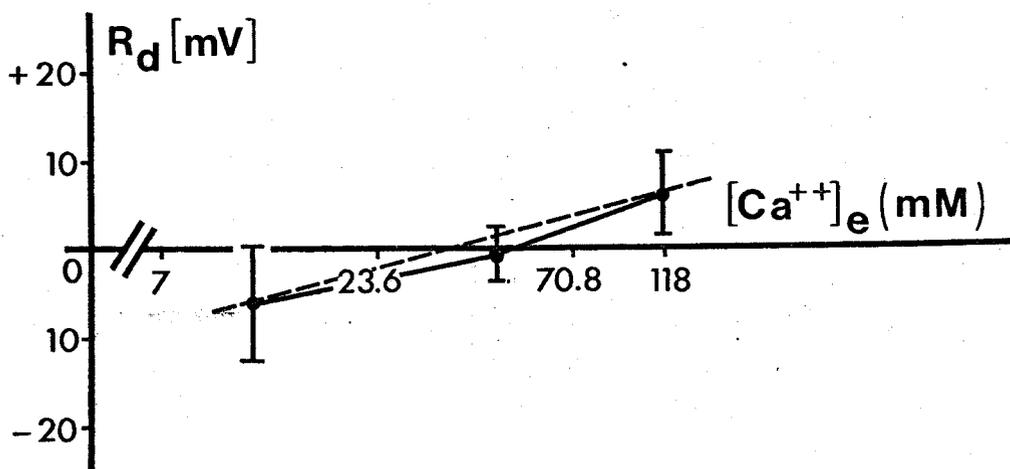


Figure 50 : Variation de  $E_m$  au maximum de la réponse en fonction du log de  $[Ca^{++}]_e$  (l'apport en ions  $Ca^{++}$  est fait par du propionate de  $Ca^{++}$ ).

Le potentiel au maximum de la  $R_d$  (moyenne  $\pm$  son écart-type,  $n = 8$ ) croît de 12 mV lorsque  $[Ca^{++}]_e$  passe de 11,8 mM à 118 mM.

L'accroissement de la pression osmotique simultanée à l'apport de  $Ca^{++}$  est sans influence sur la  $R_d$ .

Ainsi, ce résultat laisse supposer que, lors de la réponse, la valeur de  $E_m$  ne tend pas vers celle d'une pile de concentration aux ions  $Ca^{++}$ . La faible amplitude de la réponse pourrait être due, comme cela sera expliqué au chapitre IV :

- soit à un faible courant entrant consécutif à une activation peu importante de la conductance calcico-sodique, les conductances de repos restant relativement importantes devant  $E_{Ca} + Na$ ;

- soit à la présence d'une activation précoce de la conductance responsable du courant sortant masquant ainsi le courant entrant.

#### 116 - Influence de l'accroissement de $[Ca^{++}]_e$ et de $[Na^+]_e$ sur $R_d$

Si la  $[Na^+]_e$  est multipliée par 2 par addition de 513 mM de propionate de  $Na^+$  au milieu de référence, la  $R_d$  est abolie comme le montre l'exemple de la figure 51 (p. 140).

Par contre, si parallèlement à l'augmentation de  $[Na^+]_e$ ,  $[Ca^{++}]_e$  est aussi augmentée, la  $R_d$  réapparaît. En effet, dans un milieu où  $[Ca^{++}]_e$  est multipliée par 6 et  $[Na^+]_e$  par 2 (par addition de 59 mM de propionate de  $Ca^{++}$  et 513 mM de propionate de  $Na^+$ , il se produit, après 20 mn d'action, une augmentation de l'amplitude de la  $R_d$  de 32 p. 100 en moyenne, sans modification de sa durée, et une baisse corrélative de  $E_r$  de quelques mV (figure 52, p. 141).

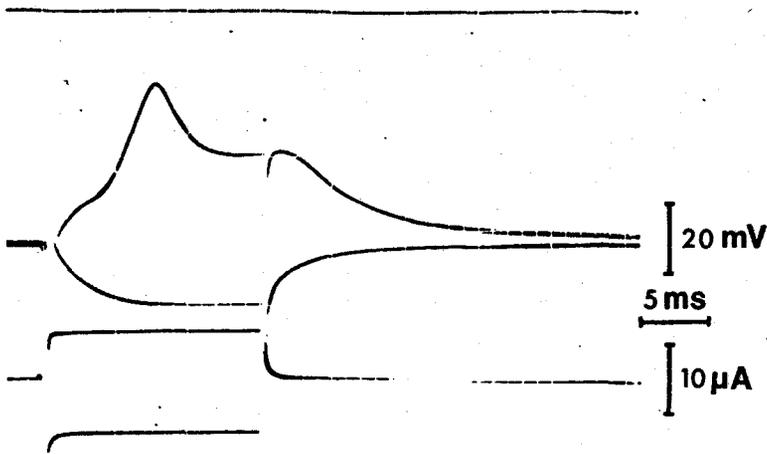


Figure 51 a

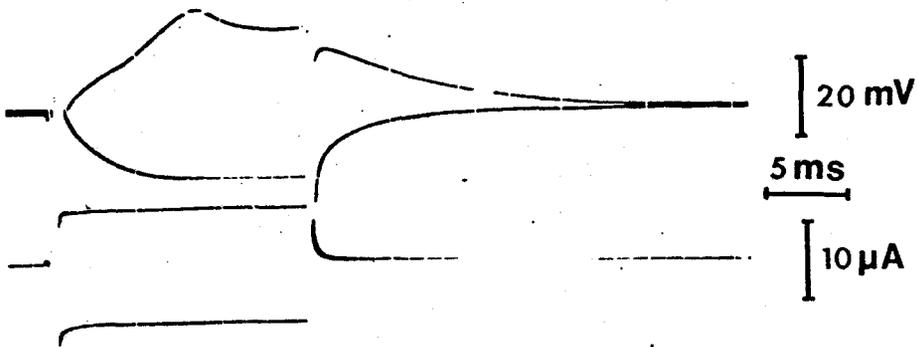


Figure 51 b

Figure 51 : Action du milieu enrichi en ions  $\text{Na}^+$  sur la  $R_d$  (573 mM de propionate de  $\text{Na}^+$  sont additionnées au milieu de référence).

$R_d$  d'une fibre obtenue dans les conditions normales (figure 51 a) et après 15 mn d'action du milieu enrichi en ions  $\text{Na}^+$  (figure 51 b).

L'excès de  $\text{Na}^+$  extracellulaire entraîne la disparition de la  $R_d$ . L'accroissement de la pression osmotique simultanément à l'apport de  $\text{Na}^+$  n'est pas responsable de l'abolition de la  $R_d$  puisqu'en milieu, de même pression osmotique, enrichi en ions chlorure, la  $R_d$  devient plus ample et plus durable que celle obtenue dans les conditions de référence (figure 71, p. 187).

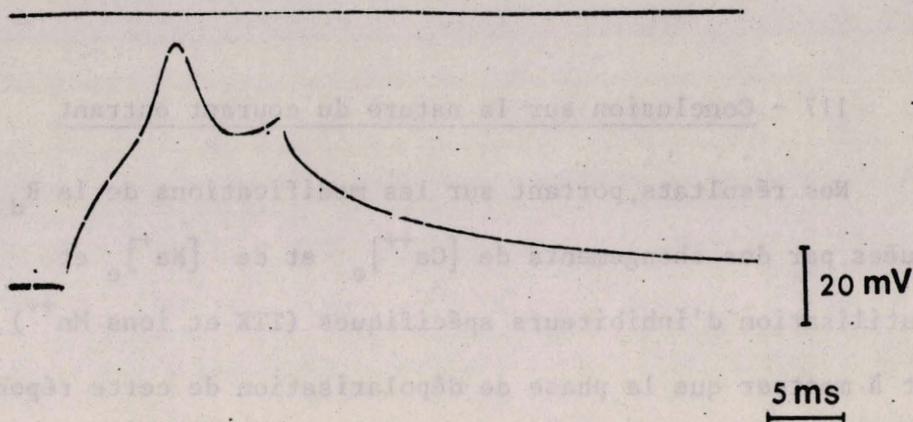


Figure 52 a

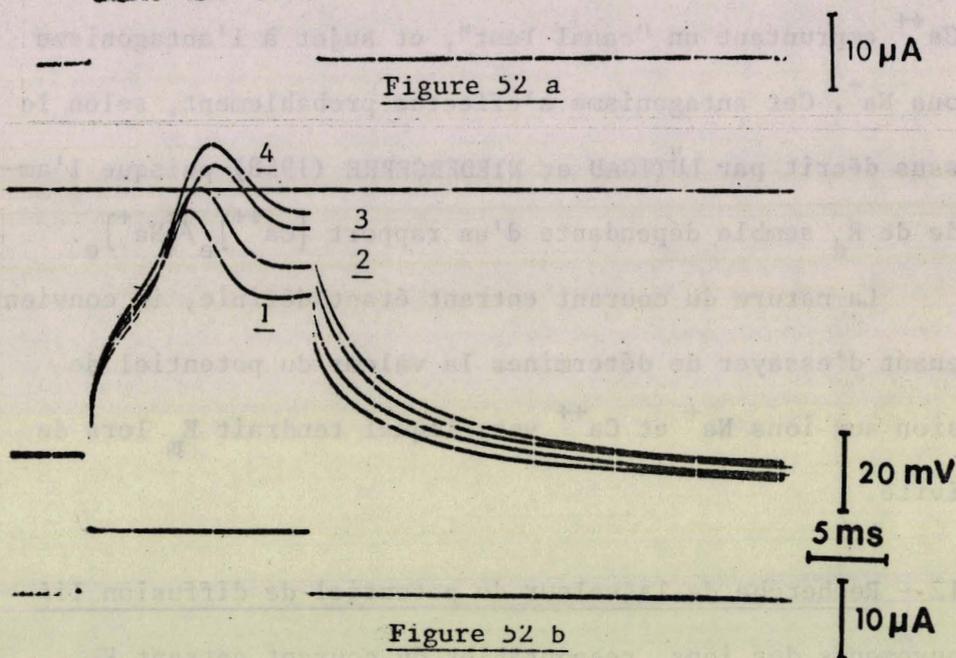


Figure 52 b

Figure 52 : Action d'un milieu enrichi simultanément en ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$  sur la  $R_d$  (59 mM de propionate de  $\text{Ca}^{++}$  et 513 mM de propionate de  $\text{Na}^+$  sont additionnées au milieu de référence).

$R_d$  obtenue dans les conditions normales (figure 52 a) et après action du milieu enrichi en ions  $\text{Na}^+$  et en ions  $\text{Ca}^{++}$  (figure 52 b) ; après 5 mn (tracé 1) ; après 10 mn (tracé 2) ; après 15 mn (tracé 3) ; après 20 mn (tracé 4).

L'excès simultané d'ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$  dans le milieu extracellulaire permet le maintien de la  $R_d$  et même l'augmentation de son amplitude (32 p. 100 en moyenne,  $n = 5$ ).

### 117 - Conclusion sur la nature du courant entrant

Nos résultats, portant sur les modifications de la  $R_d$  provoquées par des changements de  $[Ca^{++}]_e$  et de  $[Na^+]_e$  et par l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques (TTX et ions  $Mn^{++}$ ), tendent à montrer que la phase de dépolarisation de cette réponse est due à un courant entrant, principalement porté par les ions  $Ca^{++}$  empruntant un "canal lent", et sujet à l'antagonisme des ions  $Na^+$ . Cet antagonisme s'effectue probablement, selon le processus décrit par LÜTTGAU et NIEDERGERKE (1958) puisque l'amplitude de  $R_d$  semble dépendante d'un rapport  $[Ca^{++}]_e/[Na^+]_e$ .

La nature du courant entrant étant définie, il convient maintenant d'essayer de déterminer la valeur du potentiel de diffusion aux ions  $Na^+$  et  $Ca^{++}$  vers lequel tendrait  $E_m$  lors de l'activité.

### 12 - Recherche de la valeur du potentiel de diffusion lié aux mouvements des ions responsables du courant entrant $E_{Ca + Na}$ .

Au vu des résultats acquis concernant l'amplitude de la  $R_d$  dans les conditions normales, il semble assez difficile de déterminer la valeur du potentiel d'inversion de la pile de diffusion  $E_{Ca + Na}$  vers laquelle tend  $E_m$  lors de la réponse, car, de toute évidence, cette valeur n'est pas - 10 mV. De plus, dans certaines conditions une valeur de + 80 mV peut être obtenue sans modifier ni  $[Ca^{++}]_e$ , ni  $[Na^+]_e$ . Toutefois, il est pos-

sible de proposer certaines valeurs de  $E_{Ca + Na}$ , soit par analyse de la littérature, soit par exploitation des courbes courant-potentiel obtenues par la technique du potentiel imposé.

### 121 - Application de l'équation de NERNST

A 20°C, si l'on admet comme valeur de  $[Na^+]_i$  celle proposée par PROSSER et BROWN (1962) soit 54 mM, on peut donner à  $E_{Na}$  une valeur de + 57 mV.

En supposant que  $E_{Na}$  n'intervienne pas, et que seule  $E_{Ca}$  joue, il convient, afin de déterminer cette dernière, de proposer une valeur à la concentration du  $Ca^{++}$  libre intracellulaire. La détermination de cette concentration est d'un point de vue dosage, relativement complexe, du fait de l'importance du  $Ca^{++}$  intracellulaire lié. Toutefois, il est possible de fixer une limite supérieure à  $[Ca^{++}]_i$  libre en connaissant la concentration de  $Ca^{++}$  pour laquelle il y a activation de la contraction des myofilaments de la fibre considérée.

REUBEN et Coll. (1970), REUBEN et Coll. (1971) sur les myofilaments de la fibre squelettique d'écrevisse déterminent à  $10^{-7}$  M la concentration de  $Ca^{++}$  du milieu pour laquelle il se produit une activation du phénomène mécanique. HASSELBACH (1966) détermine la  $[Ca^{++}]$  critique à  $10^{-8}$  M pour le muscle squelettique de grenouille et  $5 \cdot 10^{-7}$  M pour celui de balane. PORTZEHL et Coll. (1964) déterminent la concentration critique permettant l'activation minimale des myofilaments de fibre squelettique de crabe

*Maia squinado* à  $1,5 - 3 \cdot 10^{-6}$  M.

Sur notre préparation, l'analyse des résultats de BRULE et GUILBAULT (1975) révèle que, pour un milieu dit sans  $\text{Ca}^{++}$ , les myofilaments isolés développent déjà une tension moyenne de l'ordre de 18 p. 100 de la tension maximale, ce qui indique que la concentration des ions  $\text{Ca}^{++}$  libres doit être très basse au repos, de l'ordre de  $10^{-7}$  M comme le proposent de nombreux auteurs (WEBER, 1966 ; HAGIWARA et Coll., 1964 ; HAGIWARA, 1966 ; CHIARANDINI et Coll., 1970) ou  $5 \cdot 10^{-7}$  M, notamment pour la fibre de balane (KEYNES et Coll., 1973).

Le calcul de  $E_{\text{Ca}}$  selon l'équation de NERNST, pour une  $[\text{Ca}^{++}]_e$  normale de 11,8 mM et en prenant pour  $[\text{Ca}^{++}]_i$  la valeur critique de  $10^{-7}$  M, donne à 20°C la valeur de + 147 mV.

Ainsi, si le courant entrant n'est porté que par les ions  $\text{Ca}^{++}$ ,  $E_m$  pourrait, au maximum, atteindre cette valeur de + 147 mV. En admettant qu'intervienne, non pas une pile de concentration, mais une pile de diffusion pour les ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$  liée à la variation de  $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$ ,  $E_m$  devrait prendre une valeur comprise entre + 57 mV ( $E_{\text{Na}}$  déterminée précédemment) et + 147 mV ( $E_{\text{Ca}}$ ).

La valeur du potentiel atteinte lors de la  $R_d$  est sans commune mesure avec ces valeurs hypothétiques, ce qui laisse à penser que le courant entrant est, soit masqué par un courant sortant, soit capté incomplètement du fait de la localisation de la  $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$  par rapport à celle de la conductance de

surface.

122 - Valeur du potentiel d'inversion du courant entrant déterminée par MOUNIER et VASSORT, 1973

En potentiel imposé, selon la technique de la double séparation par saccharose, ces auteurs déterminent à + 30 mV la valeur du potentiel pour laquelle le courant entrant (de nature calcique ; absence de courant dynamique de  $\text{Na}^+$ ) s'annule et s'inverse, soustraction faite du courant de fuite.

Cette valeur est relativement basse, et n'est pas compatible avec la concentration de  $\text{Ca}^{++}$  intracellulaire libre, généralement admise. Pour + 30 mV, le calcul donne une valeur de 1,6 mM à  $[\text{Ca}^{++}]_i$  ( $[\text{Ca}^{++}]_e = 11,8 \text{ mM}$ ) ; cette concentration permet une importante contraction des myofilaments (cf § précédent). Cette valeur faible du potentiel d'inversion du courant entrant de  $\text{Ca}^{++}$  (+ 30 mV) est expliquée par ces derniers auteurs : ils proposent l'hypothèse selon laquelle le courant sortant, responsable de la phase de repolarisation, serait activé très précocement et masquerait partiellement le courant entrant, en dépit du fait que la variation du potentiel d'inversion du courant de  $\text{Ca}^{++}$  pour une variation de 3 fois  $[\text{Ca}^{++}]_e$  suit celle prévue par l'équation de NERNST.

123 -- Valeur déterminée par potentiel imposé selon la technique des microélectrodes

1231 - Montage

La technique du potentiel imposé par microélectrodes, mise au point par ADRIAN et Coll., (1966, 1968, 1970 a, 1970 b) et utilisée sur la fibre squelettique de grenouille, consiste à insérer dans la même fibre à l'une de ses extrémités trois microélectrodes, l'une mesurant le potentiel, l'autre permettant de déterminer le courant de membrane, la troisième délivrant le courant nécessaire au maintien de  $E_m$ . La figure 53 (p.147) montre la position des microélectrodes et le montage de l'amplificateur contrôlant le potentiel imposé ( $E_i$ ). Le courant injecté au niveau de l'électrode  $V_s$  est contrôlé par rétroaction pour donner au niveau de  $V_1$  un potentiel imposé, soit continu soit sous forme de créneaux de tension. La quantité de courant traversant la membrane de l'extrémité de la fibre au niveau de  $V_1$ , pour une longueur  $l$ , est estimée à partir de la différence de potentiel entre  $V_2$  et  $V_1$ . Il est admis que la même densité de courant traverse la membrane entre  $V_1$  et  $V_2$ , à la condition que  $V_1$  soit située à égale distance de  $V_2$  et de l'extrémité de la fibre. La valeur du courant de membrane  $i_m$  est donnée par

$$2 (E_{m1} - E_{m2}) / 3 l^2 \cdot r_i ; E_{m1} \text{ et } E_{m2} \text{ sont respectivement les valeurs de } E_m \text{ en } V_1 \text{ et en } V_2 ; l \text{ est la distance entre l'extrémité de la fibre et } V_1, \text{ ainsi qu'entre } V_1 \text{ et } V_2 ; r_i \text{ est la}$$

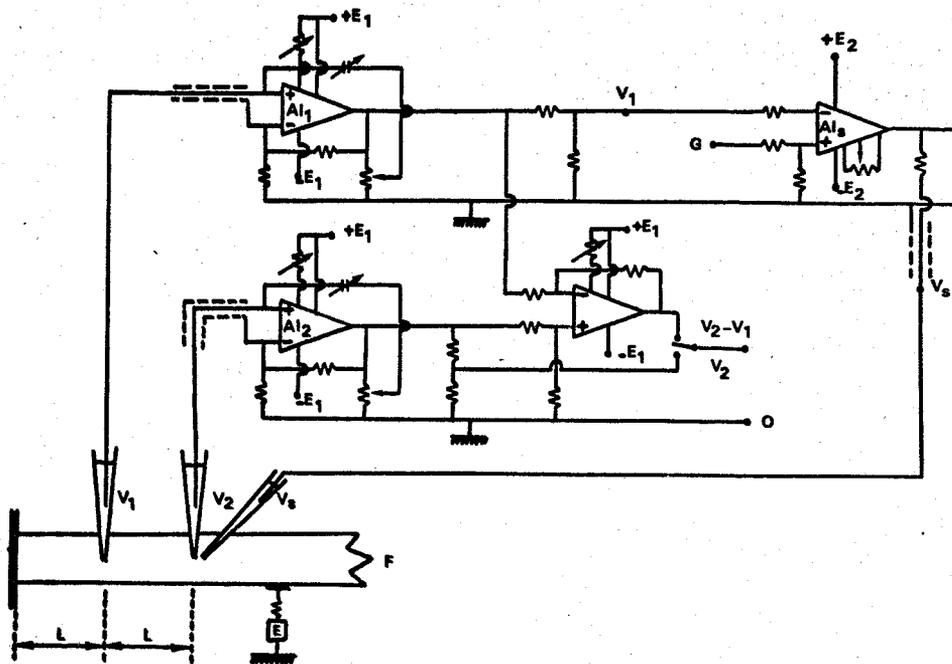


Figure 53 : Schéma du montage utilisé pour l'étude des courants de membrane par la technique du potentiel imposé à l'aide de microélectrodes.

Les trois microélectrodes ( $V_1$ ,  $V_2$  et  $V_s$ ) sont implantées à l'une des extrémités de la fibre (F) baignant dans le liquide physiologique.  $\lambda$  est  $\leq \lambda/2$ .

E est une contre-batterie permettant d'annuler le potentiel à l'entrée électrométrique de l'amplificateur  $AI_1$ . Dans ces conditions et en absence d'impulsion de tension produite par G à l'une des entrées de l'amplificateur  $AI_3$ , ce dernier ne peut débiter aucun courant dans la préparation.  $E_m$  est ainsi fixé à la valeur de  $E_n$  ( $E_{ri}$ ).

$V_2 - V_1$  donne l'image du courant traversant la membrane entre l'extrémité de la fibre et  $V_1$ . La valeur de ce courant, à condition que  $V_1$  soit à égale distance de  $V_2$  et de l'extrémité de la fibre, est donnée par l'équation :

$$I_m = 2 (E_{m2} - E_{m1}) / 3 \lambda^2 r_i \text{ si } \lambda \leq \lambda/2$$

$E_{m1}$  et  $E_{m2}$  étant respectivement la valeur de  $E_m$  en  $V_1$  et  $V_2$ .



résistance interne longitudinale par unité de longueur de fibre. Cette estimation de  $i_m$  à partir des caractéristiques d'un cable long homogène peut être entachée d'une erreur de moins de 5 p. 100 si  $1 \leq \frac{\lambda}{2}$ ,  $\lambda$  étant la constante d'espace ( $\lambda \neq \frac{r_m}{r_i}$ ,  $r_m$  étant la résistance de la membrane de l'unité de longueur).

$\lambda$  de la fibre de crabe étant comprise entre 0,7 et 1,4 mm (FATT et KATZ, 1953 ; MOUNIER et Coll., 1969 a), 1 est prise égale à 400  $\mu\text{m}$ . Le maintien du potentiel se fait par un amplificateur dont les caractéristiques sont : produit gain x bande passante > 10 Mz ; tension de sortie  $\pm$  120 V. Le courant injecté, pour "verrouiller"  $E_m$ , est transporté par l'intermédiaire de la troisième électrode  $V_s$ , d'impédance faible (1 M  $\Omega$ ) implantée à 25  $\mu\text{m}$  environ de  $V_2$ .

#### 1232 - Le courant de membrane

La figure 54 (p.149) donne un exemple de l'image du courant de membrane ( $I_m$ ) pour différentes valeurs de  $E_m$  imposé ( $E_i$ ), le potentiel imposé de référence ( $E_{ri}$  = "Holding potential") étant fixé à la valeur de  $E_r$ .

L'analyse de cette figure révèle l'existence d'un courant entrant qui s'active pour une valeur de  $E_i$  de - 40 mV, et dans un temps relativement long (de l'ordre de 2 à 3 ms au maximum de courant). Il est toutefois difficile de déterminer directement la valeur du potentiel pour laquelle le courant entrant s'annule et s'inverse, du fait de l'existence du courant

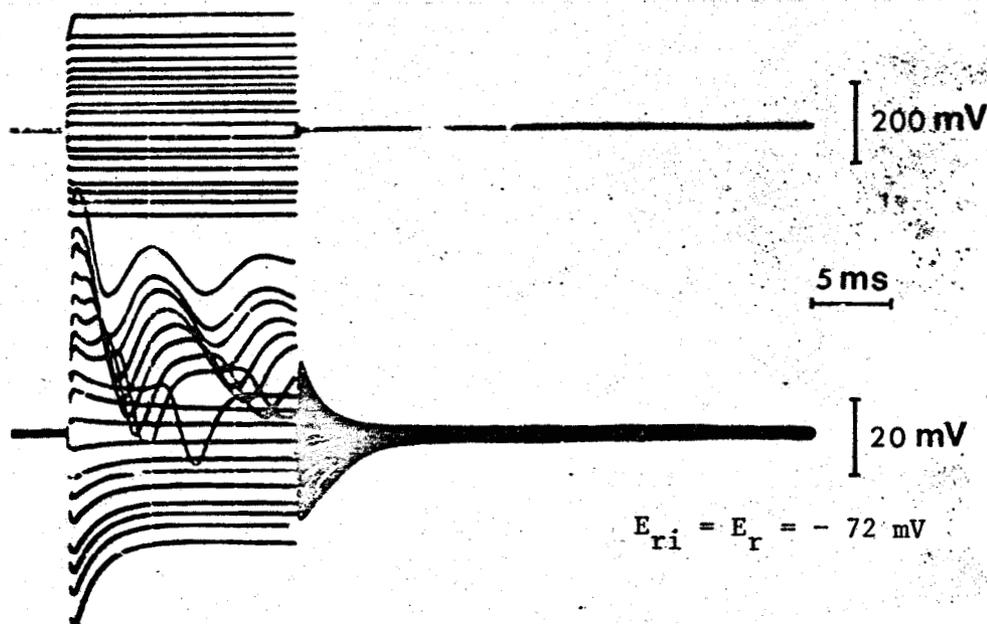


Figure 54 : Enregistrement, dans les conditions normales, du courant de membrane ( $I_m$ ) (tracés du bas) pour différentes valeurs de  $E_m$  imposé ( $E_j$ ) (tracés du haut).

Existence d'un courant entrant pour une valeur seuil de  $E_j$  ; ce courant s'active d'autant plus vite que l'amplitude des dépolarisations imposées est plus grande.

Le potentiel imposé de référence  $E_{ri}$  est égal à  $E_r$ . Les dépolarisations imposées (vers le haut) traduisent des variations positives du potentiel, les hyperpolarisations imposées (vers le bas), des variations négatives. Le courant est sortant et positif quand il s'inscrit au dessus de la ligne de référence ; il est entrant et négatif dans le cas inverse.

capacitif (constante de temps de 1,5 à 2 ms), d'une rectification anormale et d'une activation précoce (pour de fortes dépolarisations) de la rectification retardée comme cela sera vu ultérieurement.

De plus, des oscillations de  $I_m$  apparaissent, oscillations attribuables à des artéfacts de contraction (ADRIAN et Coll., 1968) ce que confirment nos observations, étant donné que ces oscillations disparaissent lorsque le phénomène contractile est supprimé ( $[Ca^{++}]_e = 0$ ). De plus, elles sont atténuées lorsque, sur certaines préparations, la contraction est de faible valeur. Néanmoins, compte-tenu de l'activation lente du phénomène contractile, il ne semble pas que le courant initial soit perturbé.

La courbe de la figure 55 (p.151) donnant  $I_m$  (global initial) en fonction de  $E_i$  montre que ce courant global ( $I_g$ ) s'active pour  $E_i = -40$  mV, présente son maximum entrant pour  $E_i = 0$  et s'inverse vers  $E_i = +40$  mV. Cette dernière valeur correspond à celle déterminée par MOUNIER et VASSORT (1973) après soustraction du courant de fuite.

Toutefois, il est certain que +40 mV ne correspondent pas au potentiel d'équilibre de la pile de diffusion ( $E_{Ca + Na}$ ) vers lequel tendrait  $E_m$  lors de la  $R_d$ . En effet, il est nécessaire de tenir compte du courant de fuite  $I_f$ , que l'on peut déterminer après extrapolation de celui-ci à partir des valeurs négati-



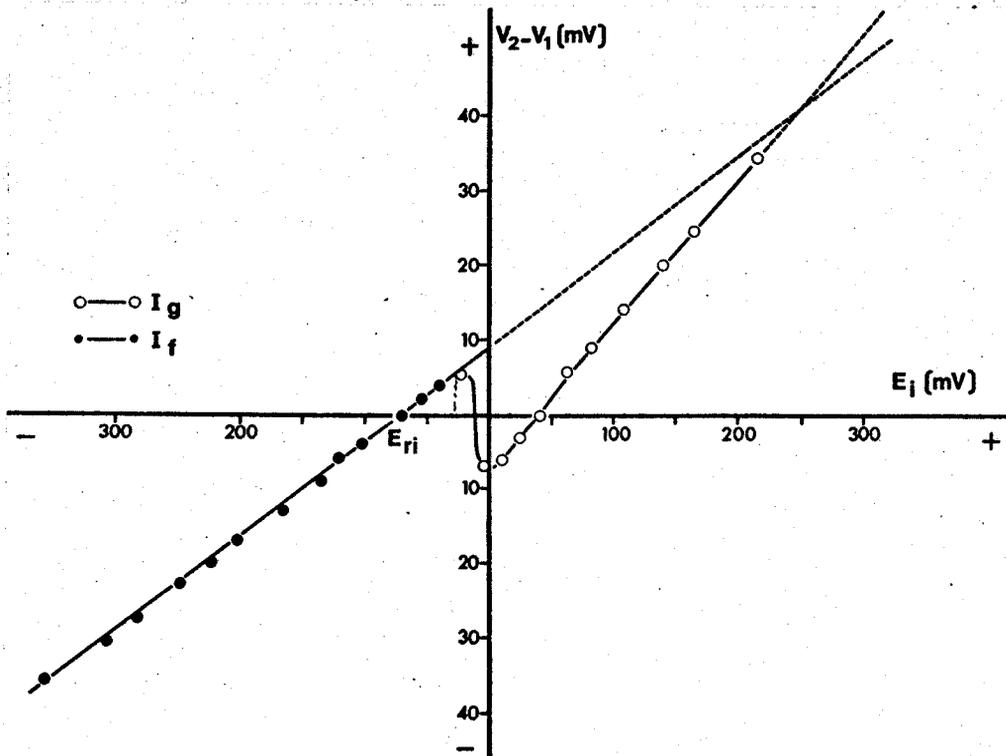


Figure 55 : Caractéristiques courant initial ( $I_g$ ) - potentiel ( $E_i$ ) (en potentiel imposé) dans les conditions normales.

$V_2 - V_1$  donne l'image du courant puisque

$$I_m = \frac{2 (V_2 - V_1)}{3 R_i^2 \cdot r_i} \quad (\text{ADRIAN, 1970})$$

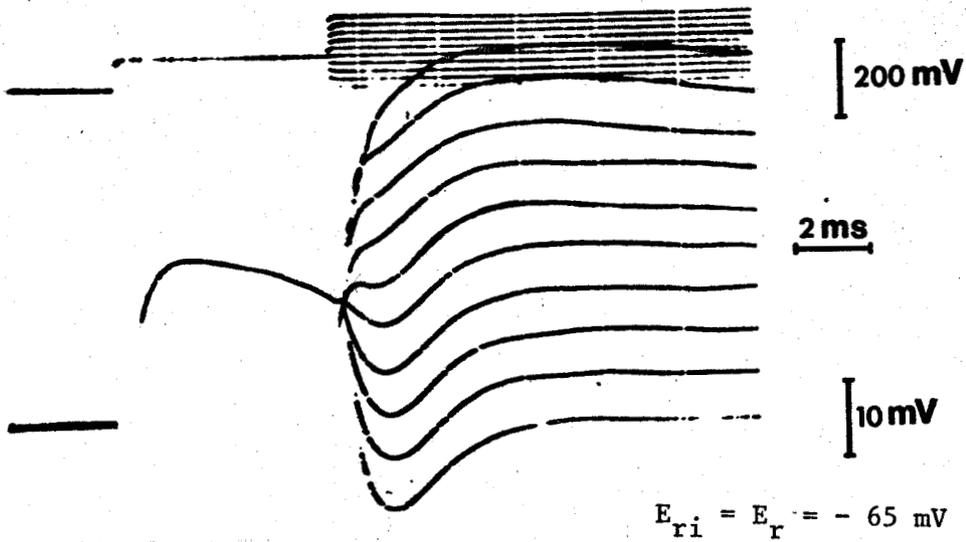
$I_f$  est le courant de fuite mesuré en fin d'impulsion ( $\Delta t = 15$  ms). Il est extrapolé pour les valeurs de  $E_i$  plus positives que  $E_{ri}$ . Il est supposé, dans le cas de la figure, varier linéairement avec le potentiel.

$I_g$  s'active pour  $E_i = -40$  mV, s'annule et s'inverse pour  $E_i = +40$  mV.

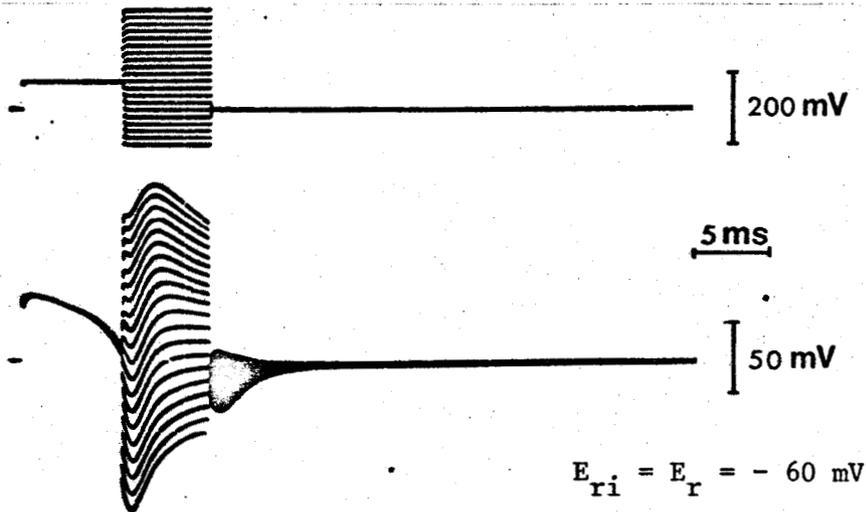
L'abscisse correspondant à l'intersection de  $I_g$  et de  $I_f$  donne, théoriquement, la valeur de la pile aux ions transportant le courant entrant. Cette valeur est, dans le cas de la figure, très positive. Ceci laisse à penser que  $I_f$  ne varierait pas linéairement avec le potentiel ou, plus vraisemblablement, que, simultanément en courant entrant, il existerait un courant dû aux phénomènes de rectification.

ves de  $E_i$  ( $< E_{ri}$ ). Cependant, on ne sait pas si ce courant varie linéairement avec le potentiel et de plus, il faut tenir compte des phénomènes de rectification de la membrane (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1974 b). En supposant que le courant de fuite varie linéairement avec le potentiel, en négligeant les phénomènes de rectification et en retranchant au courant global ( $I_g$ ) le courant de fuite extrapolé, la valeur de  $E_i$ , pour laquelle le courant entrant s'inverse, se situe dans les conditions normales, selon les fibres interrogées, entre + 140 et + 250 mV. Ces complications pour déterminer la valeur du potentiel d'inversion du courant entrant nous ont amenés à utiliser une autre méthode.

En effet, la détermination du potentiel pour lequel le courant entrant s'annule et s'inverse, peut se faire selon la méthode qui consiste à appliquer à la fibre une préimpulsion brève dépolarisante d'amplitude suffisante pour activer la conductance responsable du courant entrant, et, en fin de préimpulsion, d'amener  $E_i$  à différentes valeurs jusqu'à obtention de l'inversion du courant entrant. La figure 56 (p.153) montre que le courant initial est entrant pour des valeurs de  $E_i$  inférieures ou égales à + 120 mV et qu'au delà, il tend à s'annuler. D'autres résultats donnent des valeurs analogues.



Fibre a



Fibre b

Figure 56 : Détermination, dans les conditions normales (en potentiel imposé), de la valeur de  $E_i$  pour laquelle le courant entrant s'annule et s'inverse.

Une préimpulsion dépolarisante d'amplitude suffisante et de courte durée est appliquée à la membrane de façon à activer la conductance responsable du courant entrant ; à la fin de l'impulsion, le potentiel est amené à différentes valeurs.

L'examen des tracés obtenus sur deux fibres différentes (a et b) permet de trouver la valeur de + 100 et + 120 mV au potentiel pour lequel le courant entrant s'annule.

124 -- Conclusion

Quelque soit son mode de détermination, il apparaît que le potentiel d'inversion, correspondant au courant entrant, se situe vers une valeur nettement plus positive que celle donnée par MOUNIER et VASSORT (1973).

Ainsi, il semble probable que le potentiel de diffusion, pour les ions portant le courant entrant lors de la  $R_d$ , ait une valeur élevée. Ceci sera d'ailleurs confirmé au chapitre IV. En effet, dans des conditions de concentrations ioniques extracellulaires anormales, avec pourtant, maintien de la  $[Ca^{++}]_e$  et de la  $[Na^+]_e$  à leurs valeurs respectives de référence, l'inversion de potentiel de la  $R_d$  peut atteindre une valeur de + 80 mV. Or, dans les conditions physiologiques normales, la  $R_d$  ne présente pas d'inversion de potentiel ;  $E_m$  est loin de tendre vers une valeur de potentiel très positive.

Deux hypothèses, entre autres, peuvent expliquer cette discordance :

- soit que la stimulation, portée dans nos conditions expérimentales par microélectrode dans les conditions de courant imposé, trop ponctuelle, conduirait à une activation localisée du courant entrant. De ce fait, la réponse se trouverait shuntée par le reste de la fibre qui ne serait pas activé.;

- soit que l'activation du courant entrant serait concomitante d'une activation précoce du courant sortant, comme

le suggèrent MOUNIER et VASSORT (1973).

## 2 - PROBABILITE D'UN SHUNT DE LA REPONSE

### 21 - Stimulation homogène

Etant donné que la stimulation de notre préparation est faite par microélectrode, il convient de s'assurer que cette stimulation ponctuelle ne se traduit pas par une activation incomplète des conductances responsables du courant entrant.

- MOUNIER et VASSORT (1973), interrogeant un faible élément de fibre isolé par un double pont de saccharose, n'obtiennent pas, en courant imposé, une réponse électrique d'amplitude supérieure à celle obtenue dans nos conditions de courant imposé par microélectrode. Or, compte-tenu de leur technique et de la faible résistivité des milieux baignant la fibre, il est possible d'admettre que l'excitation de la fibre et la dépolarisation de la membrane par le courant soient homogènes.

- Néanmoins, avec la technique des microélectrodes, la recherche d'une condition de stimulation homogène est entreprise. Celle-ci consiste à n'utiliser qu'une partie de fibre isolée électriquement de son ensemble. La longueur de cette partie de fibre est choisie inférieure à la valeur de la constante d'espace ( $\lambda = 0,8$  mm au repos) et la stimulation est portée par la microélectrode placée au milieu du cylindre de fibre. Ce dernier est délimité, d'une part par l'extrémité de la fibre (carapace

ou axostyle) et d'autre part, par une ligature réalisée à l'aide de fil de nylon de 20  $\mu\text{m}$  de diamètre. La ligature est placée à une distance de 200 à 400  $\mu\text{m}$  de l'extrémité et elle apparaît non traumatisante puisque  $E_r$ , le long de la fibre, ne chute que de quelques mV aux abords immédiats de la ligature et que sa valeur, pour l'élément isolé, n'est pas différente de ce qu'elle est sur la fibre entière. La figure 57 (p.157) montre, en outre, que l'élément est bien isolé et que la ligature forme bien un bloc de conduction total, la  $R_d$  n'étant pas captée au delà de la ligature lorsque la stimulation est portée au centre de l'élément de fibre isolé. L'amplitude de la  $R_d$  apparaît identique, pour une même valeur du courant de stimulation, quel que soit l'endroit de l'élément de fibre interrogé. De plus, l'amplitude moyenne de la  $R_d$  enregistrée dans ces conditions ( $52,2 \pm 6,4$  mV) n'est pas significativement différente de celle enregistrée sur une fibre entière ( $56,6 \pm 4,8$  mV).

## 22 - Conclusion

Il apparaît, au vu de ces résultats, que la technique de stimulation et de recueil de l'activité par microélectrodes ne soit pas la cause de l'enregistrement d'une  $R_d$  de faible amplitude. En effet, en rendant la stimulation homogène à l'ensemble de la membrane interrogée, l'amplitude de la  $R_d$  n'est pas modifiée.

Il apparaît donc qu'il faille envisager (compte-tenu



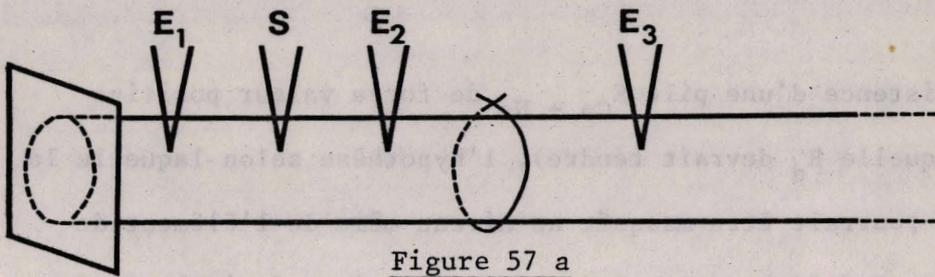


Figure 57 a

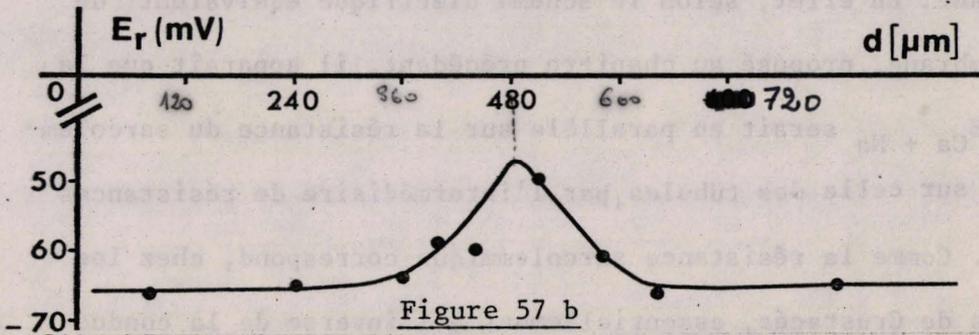


Figure 57 b

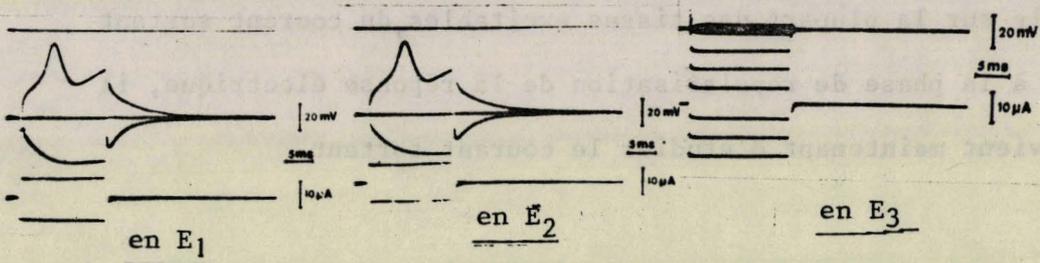


Figure 57 c

Figure 57 : Valeur des potentiels de repos et d'activité d'une fibre cloisonnée par ligature et baignant dans du liquide physiologique.

- 57 a : schéma montrant les implantations successives des microélectrodes : S, électrode de stimulation est placée au milieu de l'élément cloisonné.

- 57 b : valeurs de  $E_r$  en fonction de la distance ( $d$ ) séparant la microélectrode recueillant le potentiel de l'extrémité de la fibre.

- 57 c :  $R_d$  obtenue en  $E_1$ ,  $E_2$  et  $E_3$ , la stimulation étant toujours portée au même endroit (S).

$E_r$  n'est pratiquement pas modifié, sauf aux abords immédiats de la ligature. La  $R_d$  de l'élément cloisonné est analogue à celle obtenue sur la fibre intacte et la ligature constitue bien un isolant.

de l'existence d'une pile  $E_{Ca + Na}$  de forte valeur positive vers laquelle  $R_d$  devrait tendre), l'hypothèse selon laquelle la réponse pourrait être masquée au niveau même de l'élément de membrane. En effet, selon le schéma électrique équivalent de la membrane, proposé au chapitre précédent, il apparaît que la pile  $E_{Ca + Na}$  serait en parallèle sur la résistance du sarcolemme et sur celle des tubules, par l'intermédiaire de résistances série. Comme la résistance sarcolemmique correspond, chez les fibres de Crustacés, essentiellement à l'inverse de la conductance aux ions  $K^+$ , conductance qui, en s'activant, serait responsable, sur la plupart des tissus excitables, du courant sortant lié à la phase de repolarisation de la réponse électrique, il convient maintenant d'étudier le courant sortant.

### 3 - COURANT SORTANT

Il est généralement admis que le courant sortant, lors de l'activité des fibres excitables, est porté par les ions  $K^+$ ; tant sur la fibre nerveuse que sur la fibre musculaire squelettique de Vertébré, et que les phénomènes d'activation et d'inactivation obéissent, après modifications des coefficients, aux équations de HODGKIN et HUXLEY (1952). Toutefois, une différence marquante existe entre la fibre nerveuse et la fibre musculaire. En effet, en plus d'un courant dû à la rectification anormale, propre à la fibre musculaire, qui dépend seulement du potentiel,

le courant sortant retardé, chez la fibre musculaire squelettique, s'inactive complètement durant une dépolarisation prolongée alors que ce processus d'inactivation n'existe pas sur la fibre nerveuse (NAKAJIMA et Coll., 1962 ; HEISTRACHER et HUNT, 1969 ; HUTTER, 1970 ; STANFIELD, 1970 ; ADRIAN et Coll., 1970 a ; ARGIBAY et HUTTER, 1973, sur la fibre de grenouille). De plus, les résultats de ADRIAN et Coll., (1970 b) montrent que l'inactivation du courant retardé est masquée par le développement d'une autre composante lente du courant sortant. De même, sur le tissu cardiaque, il est montré, en plus de la rectification anormale, l'existence d'une rectification normale retardée (ROUGIER et Coll., 1968 b). Le courant sortant retardé présente deux composantes (BROWN et NOBLE, 1969 a, 1969 b ; DE HEMPTINE, 1971 a, 1971 b ; OJEDA et ROUGIER, 1974) qui peuvent être assimilées aux courants  $i_{x1}$  et  $i_{x2}$  décrits par NOBLE et TSIEN (1969 a) sur le tissu de Purkinje. Il est à noter que la valeur du potentiel d'inversion pour la deuxième composante du courant retardé (la plus tardive) tend à montrer que ce courant n'est pas uniquement porté par les ions  $K^+$  ; ce courant serait moins spécifique que celui de la première composante (OJEDA et ROUGIER, 1974). A l'appui d'une participation au courant sortant d'ions autres que les ions  $K^+$  exclusivement, il importe de signaler le cas des fibres du tissu de Purkinje. Un courant sortant s'activant pour une valeur de  $E_i$  de  $-20$  mV contribue à la repolarisation de la fibre lors du PA selon DUDEL et Coll. (1967).

Ces derniers auteurs trouvent que ce courant dépend de  $[Cl^-]_e$  et pensent qu'il serait porté par les ions chlorure. Les travaux de HIRAOKA et FOZZARD (1972), FOZZARD et HIRAOKA (1973) montrent que le courant initial sortant (selon REUTER, 1968), encore appelé courant dynamique, car dû à une rectification membranaire (PEPER et TRAUTWEIN, 1968), est porté essentiellement par les ions chlorure. Ce courant, masqué dans les conditions normales par le courant de  $Na^+$ , possède une vitesse d'inactivation ou de réactivation qui est fonction de la valeur du potentiel et du temps.

L'existence possible sur certaines fibres excitables d'une participation des ions chlorure au courant sortant s'avère être d'une extrême importance, comme nous le verrons ultérieurement quant à l'interprétation de nos résultats, d'autant plus que, sur la fibre musculaire d'écrevisse, GIRARDIER et Coll. (1963) émettent la possibilité de l'existence d'un courant dynamique de  $Cl^-$ .

### 31 - Action du chlorure de tétraéthylammonium (TEA)

#### 311 - Données sur ses propriétés

Le TEA est bien connu depuis 1957 (TASAKI et HAGIWARA) pour bloquer (en agissant sur les sites situés à l'intérieur de la membrane) la conductance potassique d'activité de l'axone géant de calmar, sans que la  $g_K$  de repos soit affectée (ARMSTRONG et BINSTOCK, 1965 ; ARMSTRONG, C.M., 1969, 1971).

Il en est de même sur la fibre nerveuse myélinisée de batraciens anoures, au niveau du noeud de *Ranvier* (ARMSTRONG et HILLE, 1972 ; MOZHAYEVA et NAUMOV, 1972 ; HILLE, 1967 ; VIERHAUS et ULBRICHT, 1971 ; KOPPENHÖFER, 1967 ; KOPPENHÖFER et VOGEL, 1969) où il est montré que le courant sortant retardé de  $K^+$  est totalement aboli sans que le courant rapide sodique et le courant de fuite ne soient en aucun cas affectés. Toutefois, NEHER et LUX (1972) montrent, sur le neurone d'escargot, où il existe deux composantes distinctes pour le courant sortant, que l'action du TEA dépend de sa concentration. A faible concentration, seule, la composante lente retardée est abolie, alors que la composante rapide ne l'est pas, sauf si le TEA agit sur la face interne de la membrane ou à très forte concentration à l'extérieur. L'action du TEA sur les fibres musculaires donne des résultats semblables. En effet, en 1953, sur la fibre de crabe *Portunus* et *Carcinus* (FATT et KATZ), en 1955 sur la fibre squelettique de grenouille (HAGIWARA et WATANABE), en 1958 sur celle d'écrevisse (FATT et GINSBORG), en 1967 sur la fibre myocardique de rat et cobaye (CORABOEUF et VASSORT), en 1974 sur la fibre cardiaque de cobaye (OCHI et NISHIYE), il est montré que le TEA prolonge la durée du PA. Ce retard, dans la repolarisation, est attribué à un blocage des sites responsables du courant sortant porté par les ions  $K^+$ , comme l'ont montré entre autres STANFIELD en 1970 ; VOLLE et Coll., en 1972 sur la fibre squelettique de grenouille.

Toutefois, il est montré, sur certaines préparations, que le TEA ne bloque pas tout le courant sortant, comme par exemple, sur la fibre squelettique de balane où il n'est diminué que de 65 à 70 p. 100 (KEYNES et Coll., 1973). Il convient aussi de faire référence aux travaux de BAULIEU et FRANK (1967), qui montrent que le TEA, sur la fibre musculaire squelettique de grenouille, facilite les mouvements des ions  $Ca^{++}$  en libérant des ions des sites calciques, et également à ceux de SUAREZ-KURTZ (1974) qui attribuent l'augmentation de l'activité électrique sur la fibre de crabe, en présence de TEA, à un accroissement de la conductance aux ions  $Ca^{++}$ .

### 312 - Action du TEA sur la $R_d$

L'addition de 20 mM de TEA Cl au milieu de référence se traduit rapidement (5 mn) et réversiblement, par une augmentation de l'amplitude de la  $R_d$  ( $E_m$  au sommet de la réponse passe à une valeur moyenne de  $+ 12,5 \text{ mV} \pm 2,5$ , soit un accroissement de son amplitude (de 22 mV en moyenne) et de sa durée (4 à 5 fois la durée normale). La figure 58 (p. 163) donne un exemple de l'action du TEA sur la  $R_d$ . Ni  $E_r$  ni  $R_m$  de repos ne sont affectés.

Ainsi, il apparaît que le TEA agit sur la  $R_d$  en bloquant le courant sortant responsable de la phase de repolarisation, courant qui s'activerait dans les conditions normales très précocement puisque son inhibition entraîne une réponse

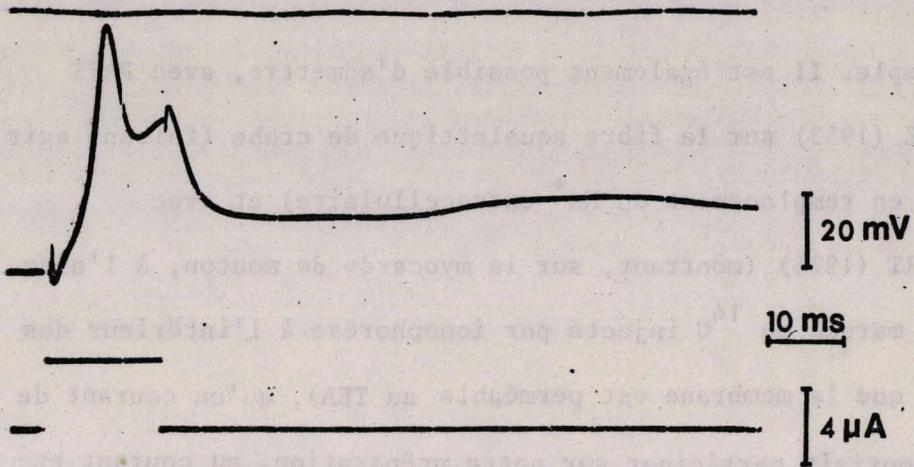


Figure 58 a

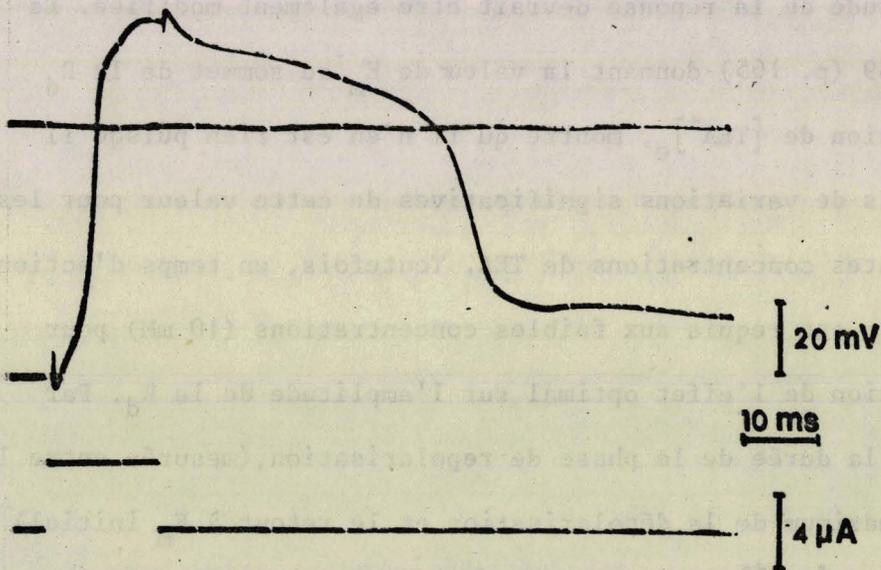


Figure 58 b

Figure 58 : Action des ions  $\text{TEA}^+$  sur la  $R_d$  (20 mM de TEA Cl sont additionnés au milieu de référence).

$R_d$  obtenue dans les conditions normales (figure 58 a) et après 5 mn d'action du TEA (figure 58 b).

L'amplitude de la réponse s'accroît de 22 mV en moyenne ainsi que la durée (4 à 5 fois,  $n = 11$ ).

plus ample. Il est également possible d'admettre, avec FATT et KATZ (1953) sur la fibre squelettique de crabe (faisant agir le TEA en remplacement du  $\text{Na}^+$  extracellulaire) et avec WEINGART (1974) (montrant, sur le myocarde de mouton, à l'aide de TEA marqué au  $^{14}\text{C}$  injecté par ionophorèse à l'intérieur des fibres que la membrane est perméable au TEA), qu'un courant de  $\text{TEA}^+$  pourrait participer sur notre préparation, au courant entrant responsable de la  $R_d$ .

Selon cette dernière hypothèse, en modifiant  $[\text{TEA}^+]_e$ , l'amplitude de la réponse devrait être également modifiée. La figure 59 (p. 165) donnant la valeur de  $E_m$  au sommet de la  $R_d$  en fonction de  $[\text{TEA}^+]_e$ , montre qu'il n'en est rien puisqu'il n'y a pas de variations significatives de cette valeur pour les différentes concentrations de TEA. Toutefois, un temps d'action supérieur est requis aux faibles concentrations (10 mM) pour l'obtention de l'effet optimal sur l'amplitude de la  $R_d$ . Par contre, la durée de la phase de repolarisation, (mesurée entre le niveau maximum de la dépolarisation et le retour à  $E_m$  initial) croît avec  $[\text{TEA}^+]_e$ . En effet, la figure 60 (p.166) donnant la durée de la phase de repolarisation en fonction du temps d'action de deux milieux enrichis en TEA (20 et 100 mM) montre l'existence d'un rapport de 1 à 6.

Ainsi, même en changeant le gradient de concentration pour les ions  $\text{TEA}^+$ , la réponse ne varie pas en amplitude ; ceci permet de supposer que ces ions  $\text{TEA}^+$  ne participent pas au



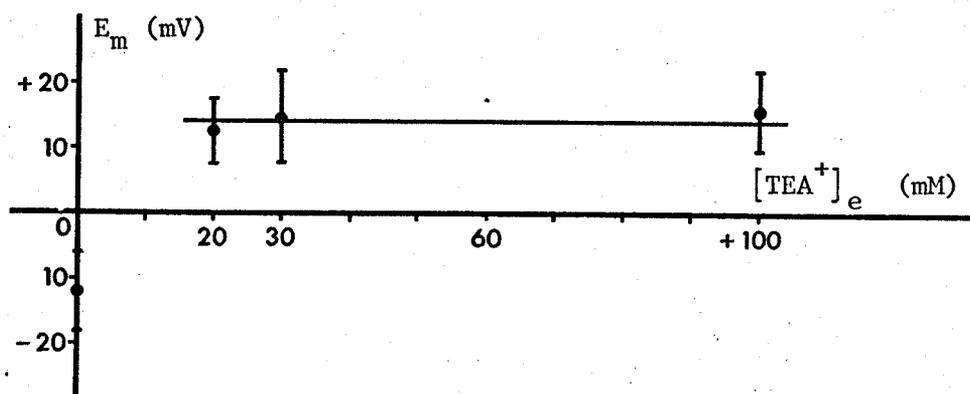
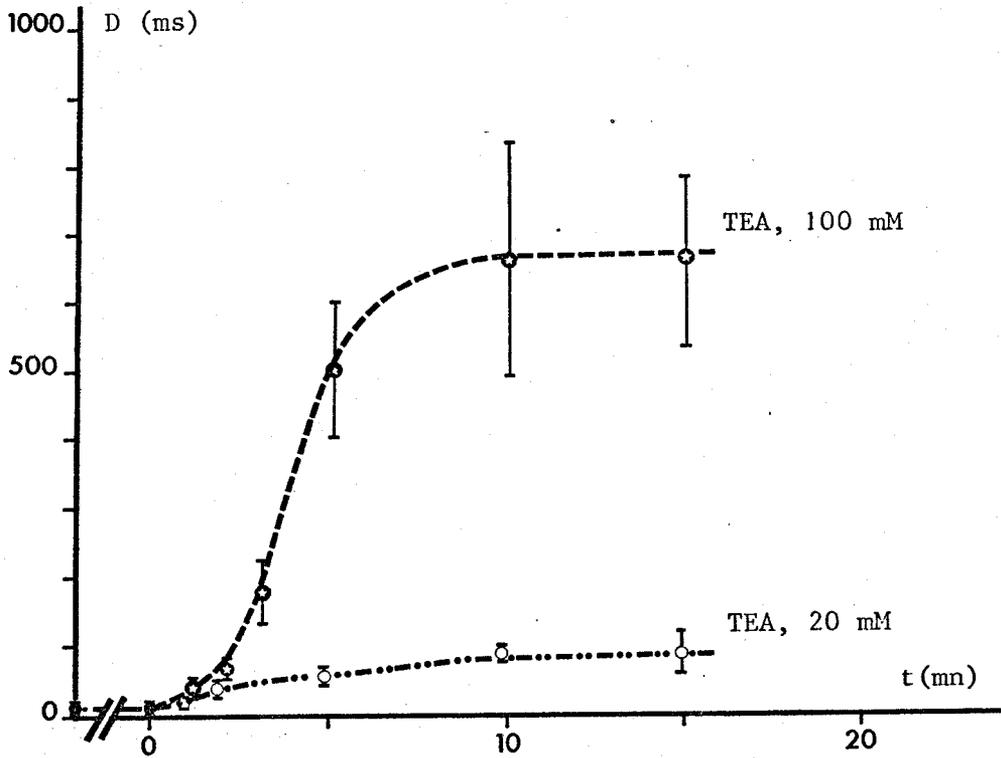


Figure 59 : Valeur moyenne de  $E_m$  au maximum de la  $R_d$ , en fonction de la concentration extracellulaire de TEA. (moyennes  $\pm$  écart-type,  $n = 24, 6$  et  $16$  respectivement pour  $[\text{TEA}^+]_e = 20, 30$  et  $100$  mM). Le TEA est apporté sous forme de TEACL, les concentrations des autres ions étant maintenues à leur valeur de référence.

$E_m$  au maximum de la  $R_d$  n'est pas fonction de  $[\text{TEA}^+]_e$ , du moins au-delà de 20 mM.



BHS  
LILLE

Figure 60 : Durée moyenne de la phase de repolarisation de la  $R_d$  en fonction du temps d'action des ions TEA aux concentrations de 20 et 100 mM (moyenne  $\pm$  écart-type,  $n = 12$  et 8 respectivement pour  $[TEA^+]_e = 20$  et 100 mM)

La figure montre que la durée se stabilise après 5 à 10 mn d'action et est fonction de  $[TEA^+]_e$ .

courant entrant. Par contre, comme l'amplitude de la  $R_d$  est accrue, celà corroborerait l'hypothèse de MOUNIER et VASSORT (1973) selon laquelle le courant entrant de  $Ca^{++}$  serait masqué par un courant sortant de  $K^+$  s'activant précocement. Toutefois, les travaux de NOBLE et TSIEN (1969 a, 1969 b) ; FOZZARD et HIRAOKA (1973) ; OJEDA et ROUGIER (1974) obligent à ne pas affirmer d'emblée que ce courant sortant serait uniquement porté par les seuls ions  $K^+$ . En ce qui concerne l'influence de  $[TEA^+]_e$  sur la durée de la  $R_d$ , il est possible d'émettre une hypothèse semblable à celle proposée par NEHER et LUX (1972) sur le neurone d'escargot, à savoir que le courant sortant serait à plusieurs composantes et que chacune d'elles posséderait un niveau d'inhibition dépendant d'une  $[TEA^+]_e$  déterminée.

### 32 - Action du $Rb^+$

Rappelons pour mémoire qu'il est admis que les ions  $Rb^+$  sont réputés abolir la rectification anormale ("inward going rectification") sur la fibre squelettique de grenouille (ADRIAN, 1964) et la conductance retardée aux ions  $K^+$  (HUTTER et WARNER, 1972 ; VOLLE et Coll., 1972 ; HARRIS et OCHS, 1966).

321 - Un milieu où le KCl de la solution de référence est remplacé par du RbCl (12,9 mM) ne modifie, comme le montrent les enregistrements de la figure 61 (p. 168), ni la valeur de  $E_r$ , ni celle de  $R_m$  de repos, ni l'allure de la  $R_d$ .

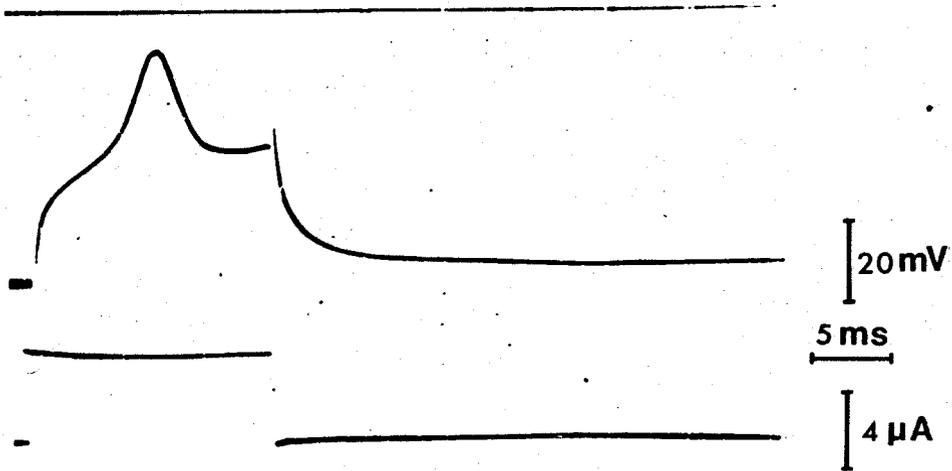


Figure 61 a

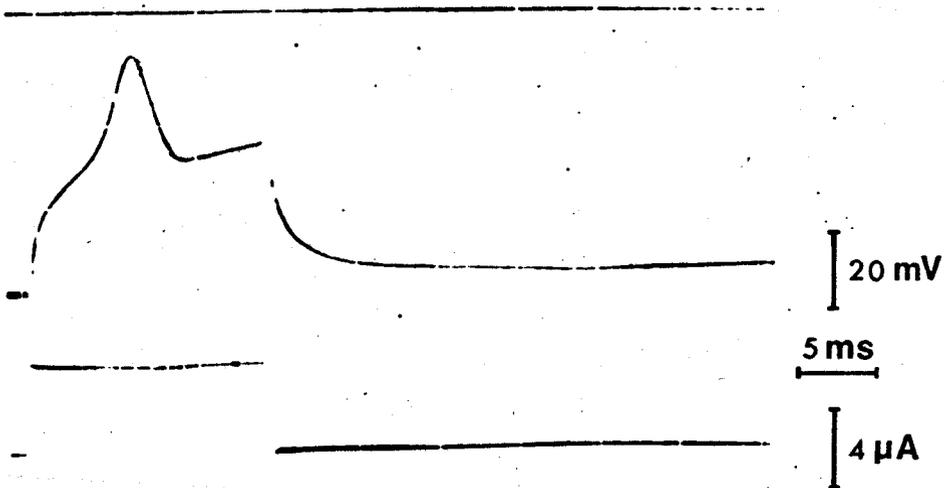


Figure 61 b

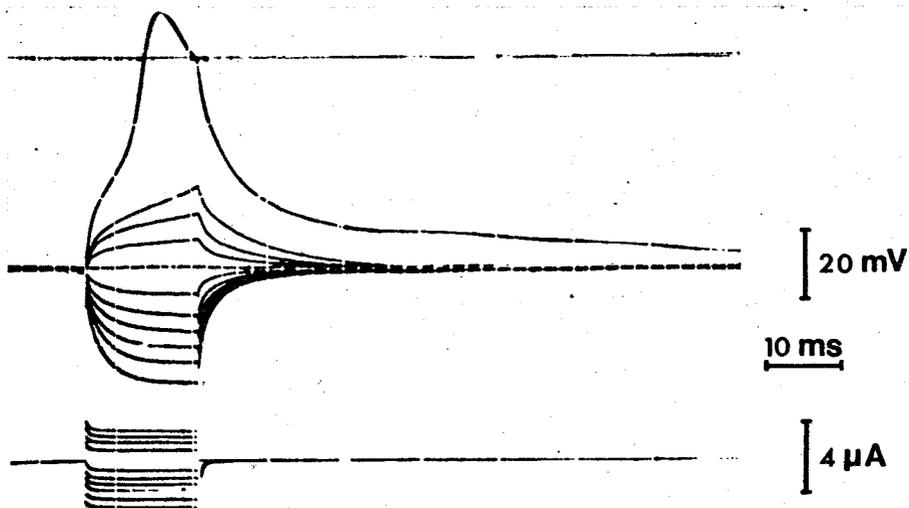
Figure 61 : Action des ions  $Rb^+$  sur la  $R_d$  (Les 12,9 mM de KCl du milieu de référence sont remplacées par du RbCl).

$R_d$  d'une fibre obtenue dans les conditions normales (figure 61 a) et après 40 mn d'action des ions  $Rb^+$  (figure 61 b).

La  $R_d$  n'est pratiquement pas modifiée.

L'absence d'effets résulte probablement de l'impossibilité de remplacer le  $K^+$  intracellulaire par le  $Rb^+$  (expérimentation d'une durée de l'ordre de 30 mm) surtout que la fibre musculaire de crabe présente, comme cela a déjà été mentionné, un important système tubulaire et des invaginations nombreuses du sarcolemme.

C'est la raison pour laquelle, en référence au protocole proposé par ADRIAN en 1964, l'expérimentation est reprise sur des fibres de crabes qui sont maintenues pendant plus de 8 jours dans de l'eau de mer artificielle régulièrement renouvelée où le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$ . Le dosage réalisé au spectrophotomètre de flamme (voir détails en Annexe II) montre que, dans ces conditions, 55,7 p. 100 ( $\pm 1,3$ ) du  $K^+$  intracellulaire ( $98,02 \pm 4,76$  mM/kg de fibre) sont remplacés par du  $Rb^+$ . Dans ces nouvelles conditions, l'activité électrique des fibres musculaires de ces crabes se trouve être modifiée (figure 62, p.170). En effet, la réponse voit son amplitude moyenne accrue de 20 mV par rapport à celle obtenue dans les conditions normales, le potentiel atteint au maximum de dépolarisation étant de  $+ 16,3 \pm 5,2$  mV ( $n = 29$ ), sans variations significatives de  $E_r$  ( $E_r = - 66,3 \pm 6,1$  mV,  $n = 37$ ). Il apparaît, en plus, que la  $R_m$  de repos augmente sans qu'il soit possible de donner la valeur de l'accroissement (en p. 100), étant donné la non possibilité d'avoir la référence. Toutefois, la valeur du courant dépolarisant nécessaire pour obtenir le déclenchement de la  $R_d$  est, en



BIS  
LILLE

Figure 62 :  $R_d$  d'une fibre dont le  $K^+$  intracellulaire est remplacé en partie par du  $Rb^+$  (à 55,7 p. 100 en moyenne) (voir ANNEXE II).

La  $R_d$  présente une inversion de potentiel,  $E_m$  au maximum de dépolarisation prenant la valeur moyenne de  $+16,3 \pm 5,2$  mV ( $n = 29$ ).  $E_r$  n'est pratiquement pas modifié ( $E_r = -66,3 \pm 6,1$  mV,  $n = 37$ ).

moyenne, réduite de moitié par rapport à celle nécessaire dans les conditions normales (le seuil de potentiel étant inchangé). Il est donc ainsi possible d'affirmer que la  $R_m$  de repos est bien accrue. L'augmentation de l'amplitude de la  $R_d$  en présence de  $Rb^+$  suggère l'activation précoce, dans les conditions normales, d'un courant sortant qui masquerait le courant entrant et qui serait porté par les ions  $K^+$ . Ces résultats seraient conformes à ceux obtenus en présence de TEA. Les ions  $Rb^+$  et  $TEA^+$  inhiberaient le courant retardé responsable en partie de la phase de repolarisation de la réponse électrique dans les conditions normales.

322 - 20 mM de chlorure de TEA additionnées au Ringer-Rb augmentent l'amplitude de la  $R_d$  des fibres placées dans les conditions relatées ci-dessus (remplacement d'une partie du  $K^+$  intracellulaire par du  $Rb^+$ ). L'augmentation de l'amplitude de la  $R_d$  est en moyenne de 30 mV, comme l'attestent les enregistrements de la figure 63 (p.172). Le TEA se montre encore actif sur la  $R_d$  bien que le Rb intracellulaire ne puisse plus permettre la naissance d'un éventuel courant sortant retardé de  $K^+$ . Cependant, la  $R_d$  des fibres dont le  $K^+$  intracellulaire est en partie remplacé par du  $Rb^+$ , n'est pas modifiée en durée, mais seulement en amplitude, alors que le TEA modifie la  $R_d$  des fibres normales, à la fois en durée et en amplitude. Ainsi, le courant sortant lors de l'activité pourrait être constitué de

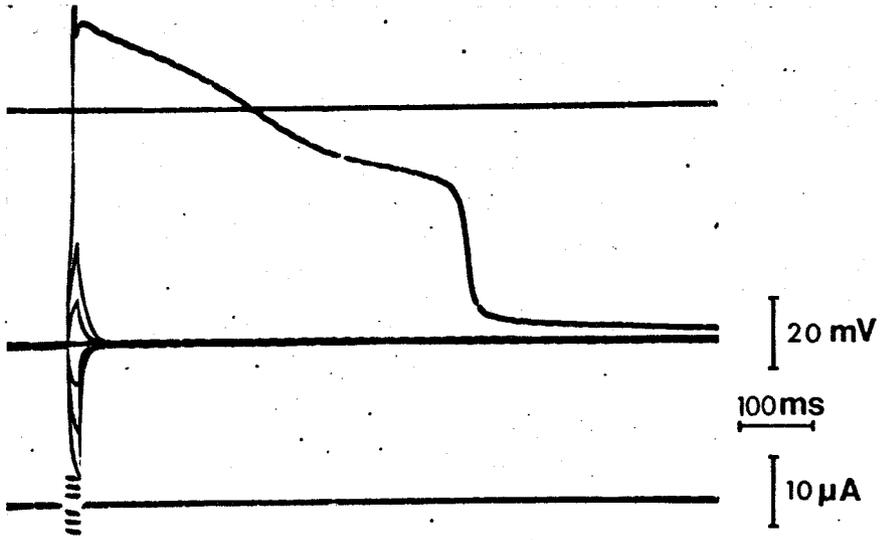


Figure 63 : Action du TEA (20 mM) depuis 10 mn sur une fibre dont le  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$  (le KCl extracellulaire est, lui aussi, remplacé par du  $RbCl$ ).

La  $R_d$  est accrue en amplitude ( $29,6 \pm 8,9$  mV, en moyenne,  $n = 6$ ) et en durée.

deux composantes, la première portée par les ions  $K^+$ , supprimée en présence de  $Rb^+$  et la seconde, liée à la rectification retardée, pouvant être de nature autre que potassique.

Pour étayer cette dernière hypothèse, il devenait nécessaire d'étudier les phénomènes de rectification membranaire en milieu extracellulaire modifié de façon à discerner la nature ionique du courant global sortant lors de l'activité.

#### 4 - PHENOMENES DE RECTIFICATION MEMBRANAIRE

L'analyse de la relation courant-potentiel, sur les fibres musculaires striées de Vertébrés, révèle des phénomènes de rectification de la membrane, c'est-à-dire de variations de conductance. Il est distingué deux types de rectification : la rectification normale ou retardée ("Outward going rectification") et la rectification anormale ("Inward going rectification"). Ce phénomène de double rectification mis en évidence, entre autres, par KATZ et LOU (1947), KATZ (1949), BURKE et GINSBORG (1956), NOBLE (1965) ; STEFANI et STEINBACH (1969), ADRIAN (1969) sur la fibre squelettique de grenouille, HALL et Coll., (1963) sur la fibre de *Purkinje*, est dû essentiellement à des mouvements d'ions  $K^+$ .

En ce qui concerne la fibre squelettique de crabe, ATWOOD et Coll. (1965) mettent en évidence ce phénomène de rectification membranaire sur les fibres de crabe *Cancer magister*.

La figure 64 (p.175 ) montre que la réponse de la membrane ( $E_m$ ) au courant qui lui est imposé ( $I_i$ ) est variable selon le type de fibre. En effet, le type de réponse électrique (tout-ou-rien, graduée ou absente : réponse passive) est lié étroitement à la relation courant-potentiel.

41 - Etude des phénomènes de rectification membranaire en courant imposé.

411 - Dans les conditions normales

Le montage utilisé (figure 23 p. 54 ) permet d'imposer des créneaux de courant à la membrane ( $I_i$ ). La réponse ( $E_m$ ) à ces courants, mesurée à son état stable, permet, comme le montre la figure 65 (p. 176), de tracer la courbe traduisant la relation  $I_i - E_m$ .

La variation de potentiel dans les conditions normales, pour les courants hyperpolarisants, est une fonction linéaire de  $I_i$  et la pente de la droite représente la résistance  $R_m$  de repos. Pour les valeurs dépolarisantes de  $I_i$ , la courbe traduit une augmentation de la  $R_m$  jusqu'à la valeur de  $E_m$  pour laquelle la  $R_d$  se déclenche.

Cette relation  $I_i - E_m$  correspond, sur la fibre squelettique de crabe *Carcinus maenas*, à celle obtenue par ATWOOD et Coll. (1965) sur les fibres de crabe *Cancer magister* présentant des réponses de type tout-ou-rien (cf. figure 64, p.175 ).

Il importe de savoir sur notre préparation, pour

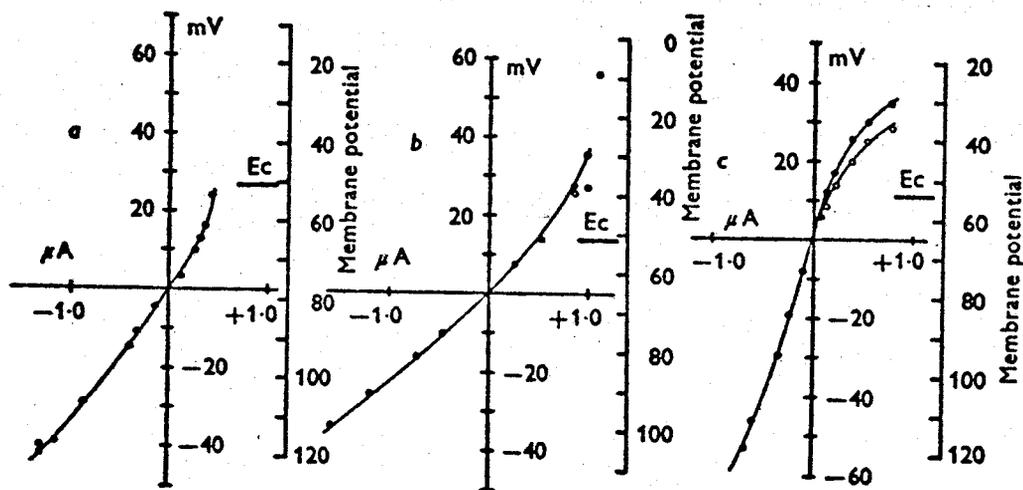


Figure 64 : d'après ATWOOD et Coll. (1965)

Courbes potentiel-courant établies sur des fibres dont la réponse est :

- tout-ou-rien
- graduée
- passive.

Les abscisses positives représentent la valeur des courants dépolarisants, les ordonnées positives, celle des dépolarisations membranaires. L'échelle placée à droite de chaque courbe correspond à  $E_m$ , la valeur du potentiel de repos  $E_r$  correspondant au 0 des abscisses et ordonnées.  $E_c$  est la valeur du potentiel pour laquelle l'activité mécanique commence à se manifester.

Seules, les fibres répondant par une  $R_d$  tout-ou-rien, ou graduée, présentent le phénomène de rectification anormale, très marqué dans le cas de la fibre répondant par une  $R_d$  tout-ou-rien.

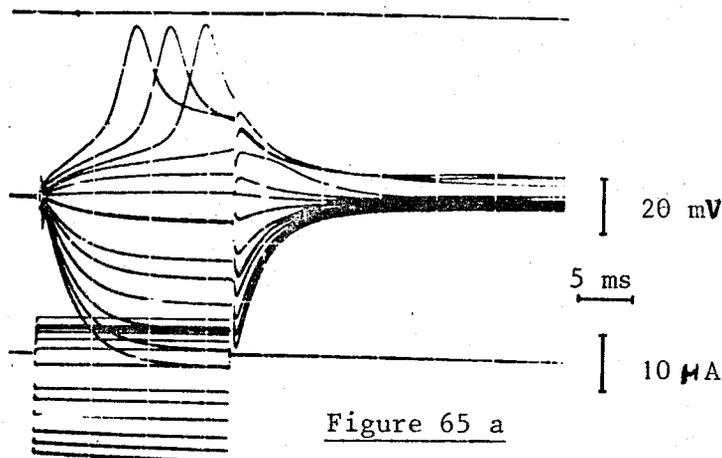


Figure 65 a

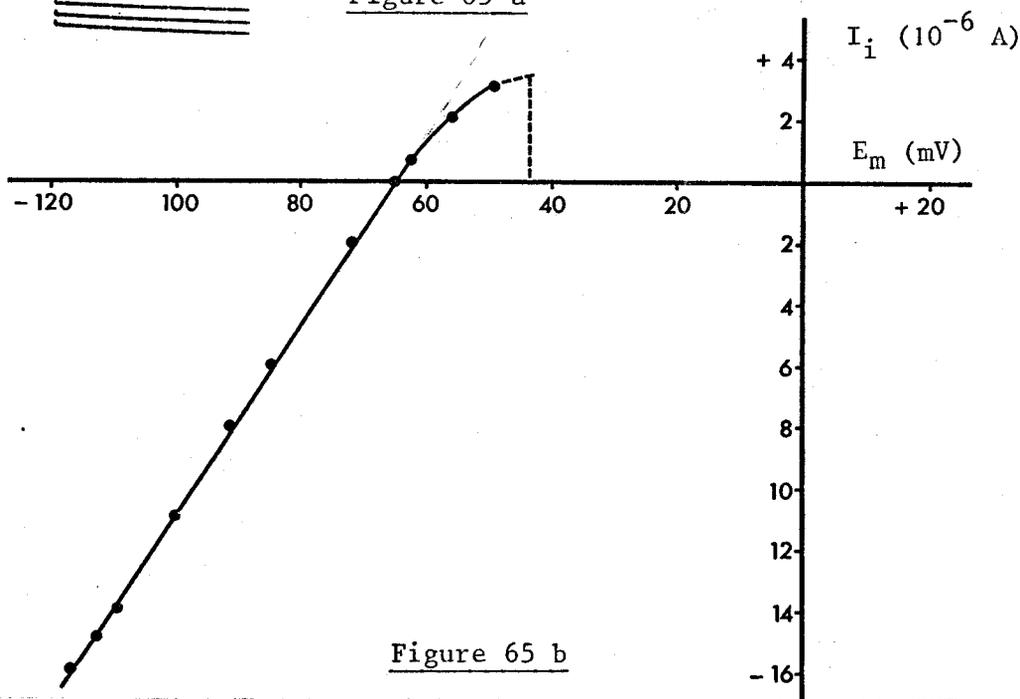


Figure 65 b

Figure 65 : Relation courant ( $I_i$ ) - potentiel ( $E_m$ ) (en ~~imposé~~ <sup>courant</sup>) de la fibre de crabe dans les conditions normales.

- 65 a : Réponse de la membrane (tracés du haut) à des crêneaux de courant hyper- et dépolarisants (tracés du bas).

- 65 b : Courbe  $I_i = f(E_m)$  établie à l'état stable en fin d'impulsion ( $\Delta t = 15$  ms). Le trait interrompu correspond à la valeur de  $E_m$  pour laquelle la  $R_d$  se déclenche.

La membrane présente un phénomène de rectification anormale pour les valeurs de  $E_m$  plus positives que  $E_h$ .

connaître la nature des phénomènes de rectification de la membrane, comment évolue la relation  $I_i - E_m$  lors de la modification du contenu ionique extracellulaire et lors de l'emploi d'inhibiteurs spécifiques de perméabilités.

412 - Relation  $I_i - E_m$  en milieu sans  $Ca^{++}$

L'absence de  $Ca^{++}$  extracellulaire entraîne la disparition de la  $R_d$ , donc du courant entrant (porté essentiellement par les ions  $Ca^{++}$ , cf § 1, p.129 ). Ainsi, le milieu dont le  $Ca^{++}$  est remplacé par du chlorure de choline (23,6 mM) permet d'obtenir la relation  $I_i - E_m$  en absence de courant entrant.

La figure 66 (p.178 ) donne un exemple de relation obtenue sur une fibre placée en milieu dépourvu de  $Ca^{++}$  depuis 30 mn : aucune modification sensible de  $E_r$  n'est observable. Par contre, une augmentation de la  $R_m$  de repos est observée (de l'ordre de 30 p. 100 en moyenne). La courbe traduisant la relation  $I_i - E_m$  fait apparaître le phénomène de double rectification, rectifications anormale et normale retardée. Ce phénomène observé sur la fibre de crabe est d'un type analogue à celui donné par ADRIAN et FREYGANG (1962 b), STEFANI et STEINBACH (1969), ADRIAN (1964), (1969) entre autres, sur la fibre squelettique de grenouille. Ces auteurs montrent que les propriétés de rectification de la membrane sont en relation avec les mouvements des ions  $K^+$  puisqu'ils subsistent en milieu  $K_2SO_4$  isotonique, et sont abolis en présence de  $Rb^+$ .

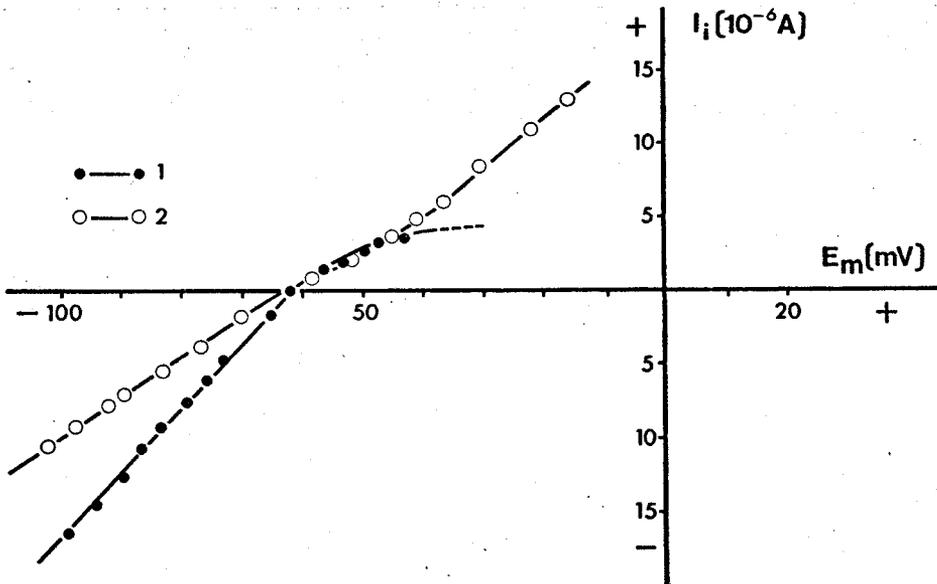
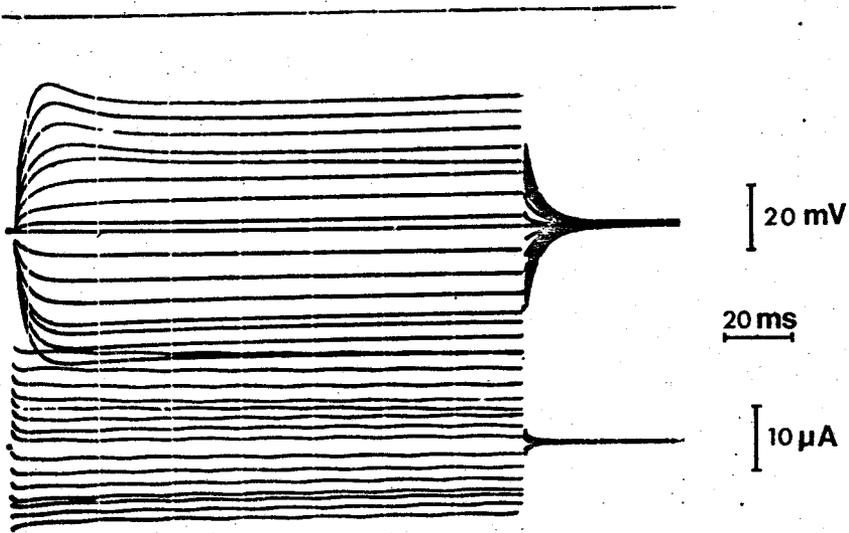


Figure 66 : Caractéristique courant-potentiel (en ~~enregistré~~ <sup>courant</sup> imposé) établie en absence de  $Ca^{++}$  extracellulaire (23,6 mM de chlorure de choline remplacent les 11,8 mM de  $CaCl_2$ )

BUS LILLE Relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après 30 mn d'action du milieu dépourvu d'ions  $Ca^{++}$  (établie en fin d'impulsion  $\Delta t = 125$  ms) (courbe 2 et enregistrement du haut).

La courbe 2 montre le phénomène de double rectification membranaire (anormale et normale) ainsi qu'une augmentation de la  $R_m$  de repos. La  $R_d$  est abolie.

Ainsi, sur notre préparation, si les phénomènes de rectification membranaire sont dûs à des mouvements d'ions  $K^+$  comme sur la fibre squelettique de grenouille, en milieu isotonique de  $K^+$ , ces phénomènes doivent persister. Cependant, en absence de  $Cl^-$  extracellulaire, la  $R_d$  est abolie (HAUDECOEUR et GUILBAULT, 1972 a) et, comme cela va être montré, les phénomènes de rectification sont également supprimés.

413 - Action de milieux appauvris ou dépourvus d'ions chlorure

4131 - En remplaçant le NaCl du milieu de référence par du propionate de  $Na^+$  ou du méthylsulfate de  $Na^+$  (513 mM), une chute de  $E_r$  est observable, ainsi qu'une augmentation de la  $R_m$  de repos (ch. II, § 332, figure 34, p.93 ). En outre, ce milieu appauvri en ions chlorure ( $[Cl^-]_e = 60$  ~~mM~~ mM) entraîne, réversiblement, une disparition de la  $R_d$  (figure 67, p.180 ) après un temps d'action supérieur à 10 mn, disparition non liée à une éventuelle élévation du seuil de déclenchement de la réponse ou à la baisse corrélative de  $E_r$ .

4132 - Le remplacement de tous les ions chlorure par des ions propionate ou méthylsulfate se traduit, sur la  $R_d$  et  $E_r$ , par des résultats analogues.

La traduction de la relation  $I_i - E_m$  révèle (figure 68, p. 181) la perte de tout phénomène de rectification. En effet, la fonction qui traduit cette relation est une droite,

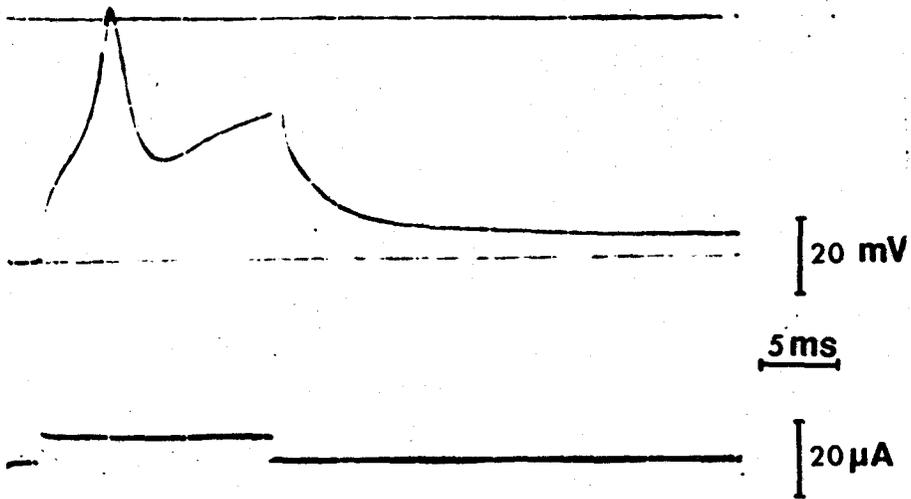


Figure 67 a

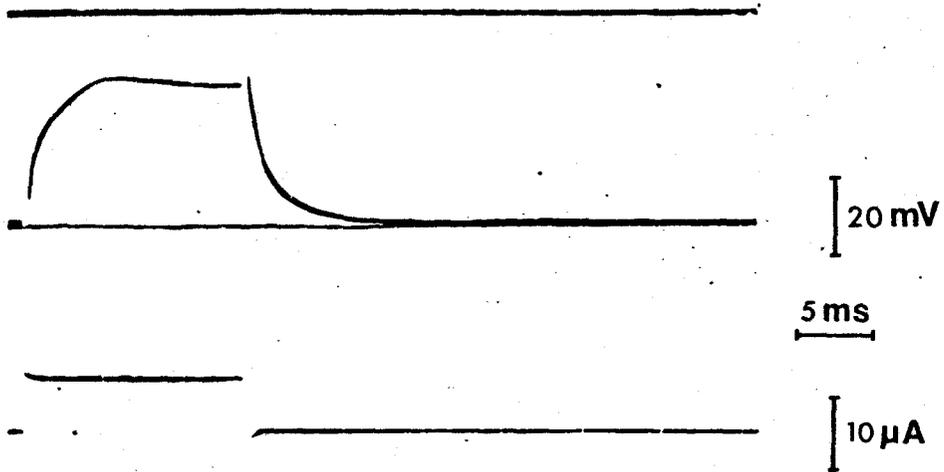


Figure 67 b

Figure 67 : Action d'un milieu appauvri en ions chlorure sur la  $R_d$  (534 mM des 594 mM d'ions chlorure du milieu de référence sont remplacés par des ions propionate).

La  $R_d$  obtenue dans les conditions normales (figure 67 a) disparaît après 30 mn d'action du milieu appauvri en ions chlorure (figure 67 b).

La suppression presque totale des ions chlorure abolit la  $R_d$ .

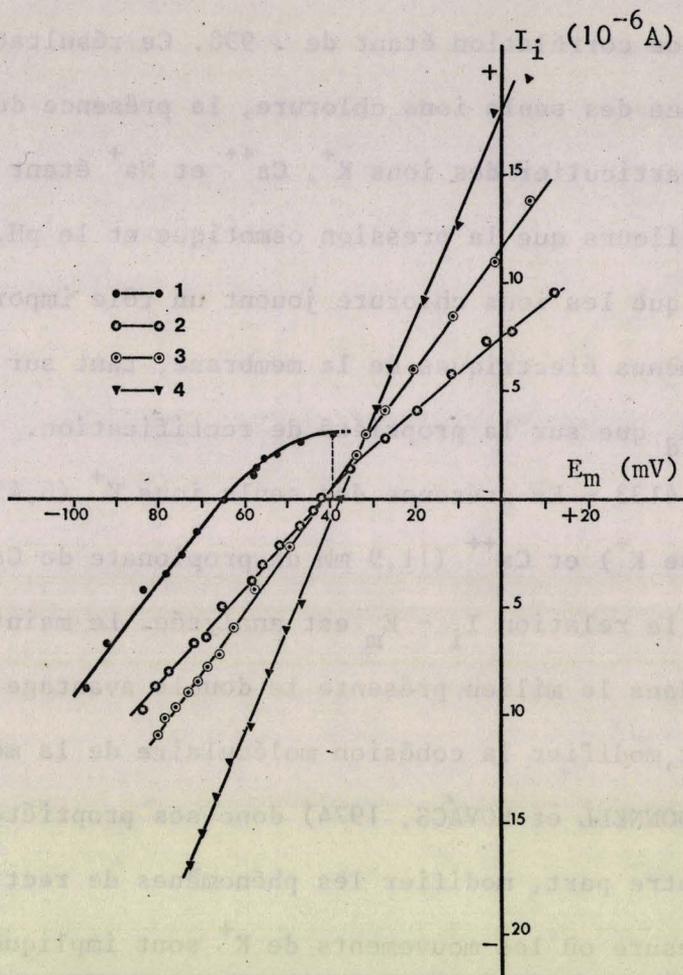


Figure 68 : Caractéristique courant-potentiel établie (en courant imposé) en absence d'ions chlorure, dans le milieu externe (tous les ions chlorure sont remplacés par des ions propionate).

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après action du milieu dépourvu d'ions chlorure (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) pendant 10 mn (courbe 2), pendant 20 mn (courbe 3) et pendant 45 mn (courbe 4).

Les phénomènes de rectification sont abolis. Le résultat est identique quand les ions chlorure du milieu sont remplacés par des ions méthylsulfate.

BUS  
LILLE

le coefficient de corrélation étant de . 998. Ce résultat est obtenu en absence des seuls ions chlorure, la présence des autres ions, en particulier des ions  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  et  $Na^+$  étant respectée, ainsi d'ailleurs que la pression osmotique et le pH. Il apparaît ainsi que les ions chlorure jouent un rôle important dans les phénomènes électriques de la membrane, tant sur l'initiation de la  $R_d$  que sur la propriété de rectification.

4133 - En présence des seuls ions  $K^+$  (6,45 mM de méthylsulfate de  $K^+$ ) et  $Ca^{++}$  (11,9 mM de propionate de  $Ca^{++}$ ), l'évolution de la relation  $I_i - E_m$  est analysée. Le maintien des ions  $Ca^{++}$  dans le milieu présente le double avantage de ne pas d'une part, modifier la cohésion moléculaire de la membrane cellulaire (O'DONNELL et KOVÁCS, 1974) donc ses propriétés, et de ne pas, d'autre part, modifier les phénomènes de rectification, dans la mesure où les mouvements de  $K^+$  sont impliqués. La figure 69 (p.183) montre, qu'après 20 mn d'action, la relation  $I_i - E_m$  est linéaire, l'équation de la droite de régression présentant un coefficient de corrélation de .999,  $n = 24$ ). La perte de la rectification pouvant résulter de la dépolarisation membranaire de repos ( $E_r = -48 \pm 4,5$  mV), la fibre est repolarisée à sa valeur initiale. Cette repolarisation, comme le montre la figure, ne fait pas réapparaître les phénomènes de rectification membranaire. Cependant, dans ce cas, la perte des rectifications membranaires pouvant être due à la très faible

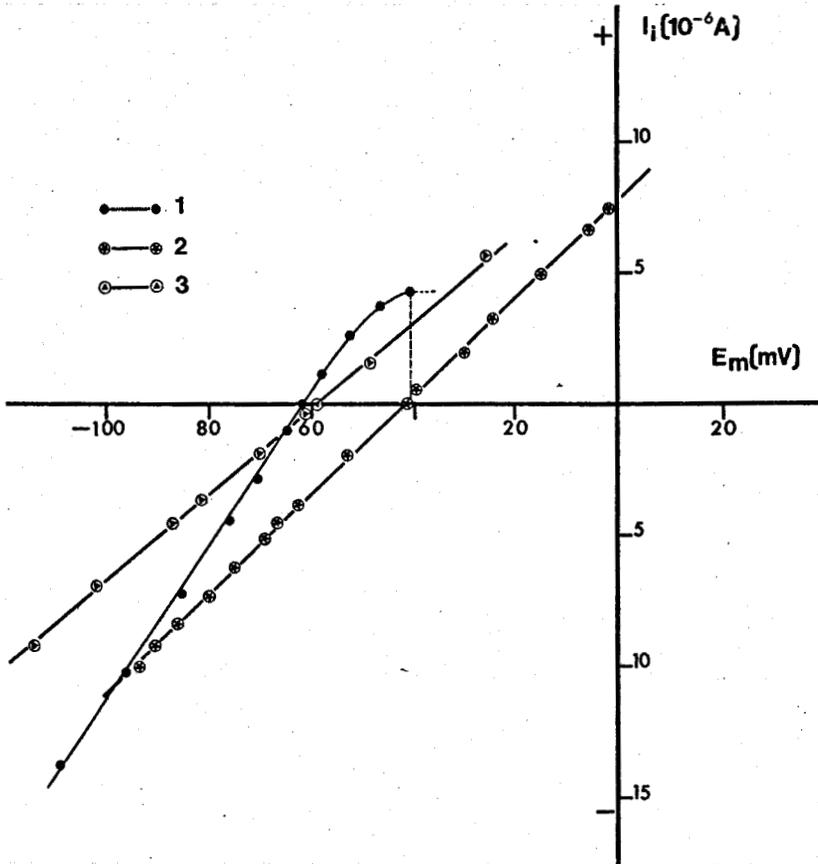


Figure 69 : Caractéristique courant-potentiel établie (en courant imposé) après action d'un milieu ne contenant que des ions  $K^+$  (6,45 mM de  $K_2SO_4$ ) et  $Ca^{++}$  (11,8 mM de propionate de  $Ca^{++}$ ), la pression osmotique étant compensée par apport de saccharose et le pH stabilisé à 7,8.

La relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) traduit le phénomène de rectification. Après 15 mn d'action du milieu anormal, la relation  $I_i - E_m$  (non dépendante du temps) évolue et montre la disparition de ce phénomène de rectification que la fibre ne soit pas (courbe 2) ou soit repolarisée (courbe 3).

Les phénomènes de rectification sont abolis bien que les ions  $K^+$  soient présents dans le milieu extracellulaire.

force ionique du milieu anormal concerné, c'est la raison pour laquelle un milieu riche en ions  $K^+$ , dépourvu d'ions chlorure a été testé.

4134 - Ce milieu anormal est constitué de 387 mM de méthylsulfate de  $K^+$  (correspondant à 30 fois la  $[K^+]_e$  normale) et de 11,8 mM de propionate de  $Ca^{++}$ . La pression osmotique est ramenée à une valeur identique à celle du milieu de référence par apport convenable de saccharose. Les effets de ce milieu se traduisent (figure 70, p. 185) :

- par une dépolarisation de repos,  $E_r$  prenant la valeur moyenne de  $- 2,6 \text{ mV} \pm 2,6$  ( $n = 5$ );

- par l'absence des phénomènes de rectification. La courbe représentant la relation  $I_i - E_m$  est une droite (coefficient de corrélation : . 987) même si  $E_r$  est maintenu à sa valeur de référence grâce à un courant repolarisant.

Aussi, en présence seulement, dans le milieu extracellulaire, d'ions  $K^+$  à forte concentration et d'ions  $Ca^{++}$ , la membrane perd ses propriétés de rectification. Ceci semble pouvoir être imputé à l'absence des ions chlorure dans le milieu extracellulaire, en dépit de l'existence d'un doute puisque la  $R_m$  diminue (les variations de  $R_m$  en fonction de  $E_m$  pouvant être masquées par la faible valeur initiale de celle-ci). Ainsi, sur la fibre de crabe, les propriétés rectificatrices de la membrane pourraient ne pas être liées à des mouvements d'ions  $K^+$ , mais

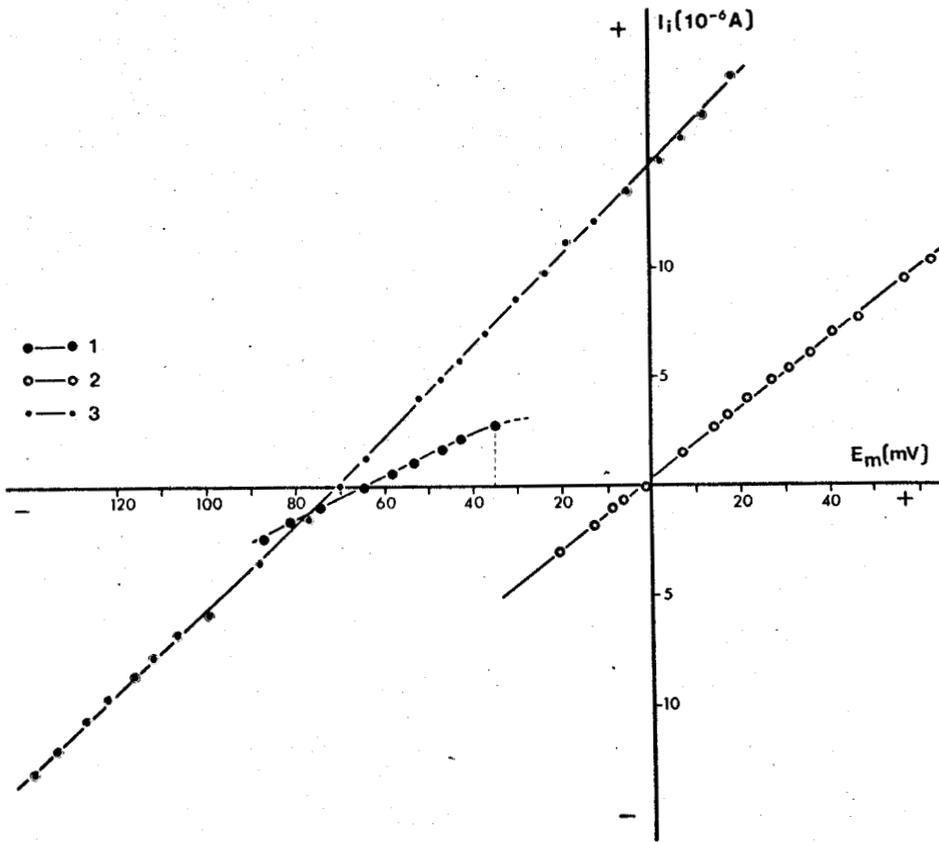


Figure 70 : Caractéristiques courant-potential établies (en courant imposé) en milieu de référence et en milieu ne contenant que des ions  $K^+$  (193,5 mM de  $K_2SO_4$ ) et  $Ca^{++}$  (11,8 mM de propionate de  $Ca^{++}$ ), la pression osmotique étant compensée par apport de saccharose, le pH étant fixé à 7,8.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après 20 mn d'action du milieu anormal (non dépendante du temps), la fibre n'étant pas (courbe 2) ou étant repolarisée (courbe 3).

L'excès d'ions  $K^+$  ( $[K^+]_e = 30$  fois ( $[K^+]_e$  normale) en absence des autres ions ne permet pas le maintien des phénomènes de rectification de la membrane.

plutôt à des mouvements d'ions chlorure (effet direct), à moins que ces derniers n'influencent les mouvements des ions  $K^+$  et ceux des ions  $Ca^{++}$  (effet indirect). En effet, l'absence de  $Cl^-$  extracellulaire entraîne une disparition de la  $R_d$  (figure 67, p. 180) et au contraire, l'accroissement de  $[Cl^-]_e$  (milieu de référence additionné de 513 mM de chlorure de choline) l'augmente (figure 71, p. 187) en amplitude (55 p. 100 en moyenne) et en durée (30 à 100 ms).

414 - Effets de milieux où seuls les ions chlorure sont présents.

4141 - La figure 72 (p. 188) donne un exemple de la réponse  $E_m$  de la membrane à des courants constants dé- et hyperpolarisants de 150 ms de durée après 30 mn d'action d'un milieu ne contenant que des ions chlorure (chlorure de choline : 594 mM - pression osmotique compensée par apport de saccharose - pH normal par tampon bicarbonate). Les courbes de la figure 74 a montrent que la membrane de la fibre de crabe, placée dans de telles conditions, présente les phénomènes de double rectification anormale et normale analogues à ceux observés en absence de courant entrant (§ 411, p. 174) et à ceux obtenus par ADRIAN (1969) sur la fibre squelettique de grenouille. La richesse du système tubulaire transverse et les nombreuses invaginations longitudinales du sarcolemme de la fibre laissent à penser malgré tout, qu'une rétention de  $K^+$  au contact de la membrane est toujours

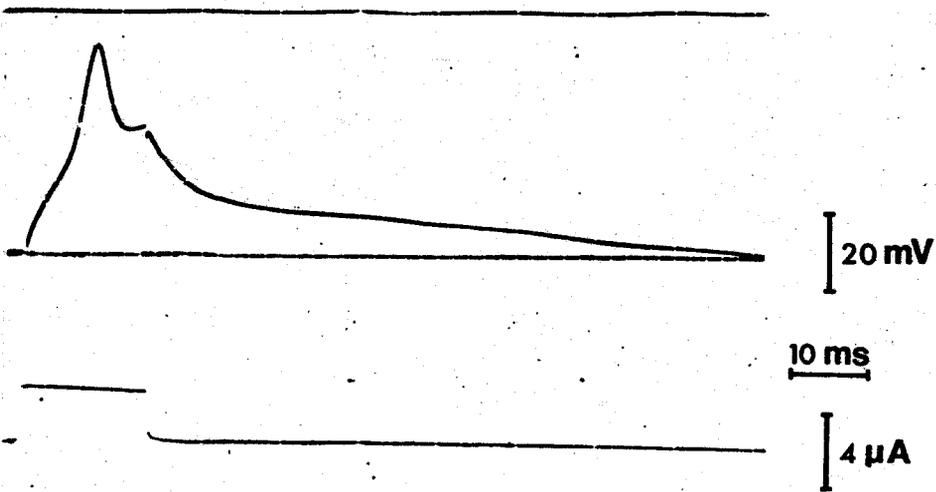


Figure 71 a

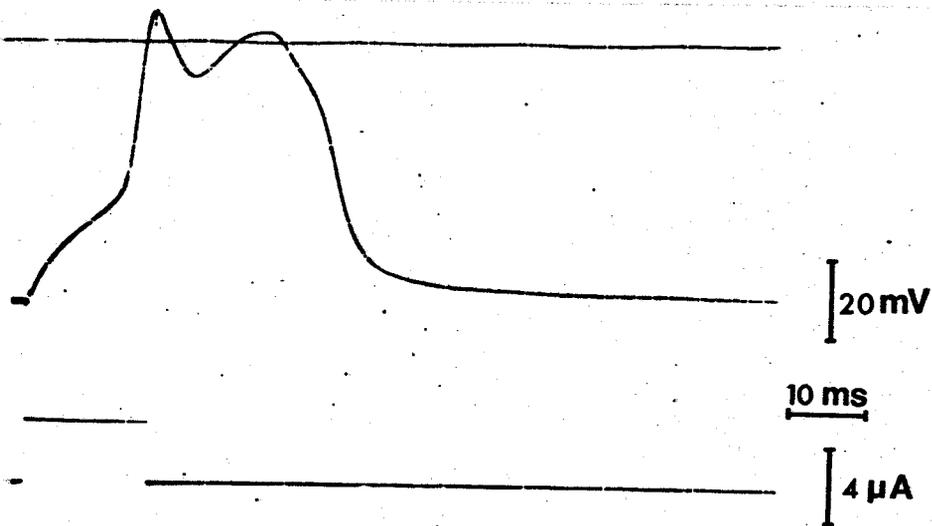


Figure 71 b

Figure 71 : Effets d'un excès d'ions chlorure (addition de 594 mM de chlorure de choline au milieu de référence) sur la  $R_d$ .

$R_d$  d'une fibre dans les conditions normales (figure 71 a) et après 20 mn du milieu enrichi en ions chlorure (figure 71 b).

La  $R_d$  devient plus ample et plus durable.



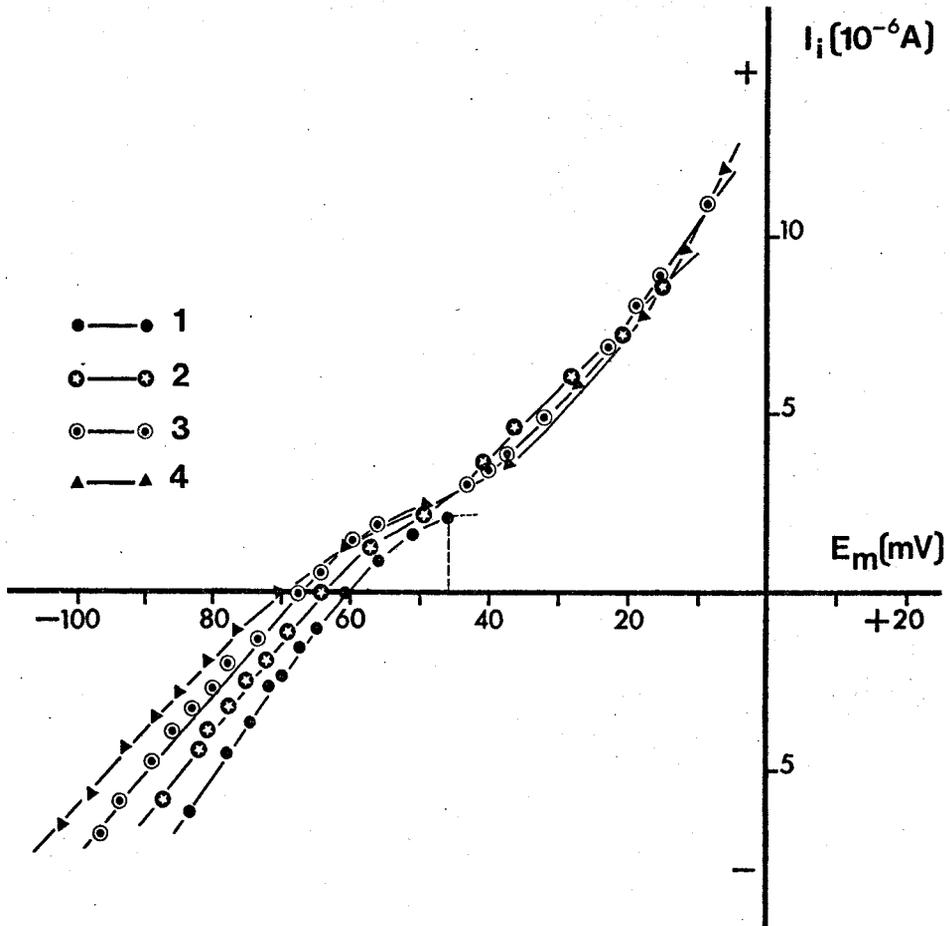


Figure 72 : Caractéristiques courant-potentiel établies (en courant imposé) en présence, uniquement, d'ions chlorure dans le milieu externe (594 mM de chlorure de choline) ; les autres ions étant absents, la pression osmotique ~~est~~ compensée par apport de saccharose.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après action du milieu anormal (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) pendant 10 mn (courbe 2), pendant 20 mn (courbe 3) et pendant 30 mn (courbe 4).

Les phénomènes de double rectification membranaire subsistent en présence des seuls ions chlorure ; ils sont semblables à ceux observés en absence d'ions  $Ca^{++}$  extracellulaires (figure 66, p.178).

possible. C'est la raison pour laquelle l'établissement de la relation  $I_i - E_m$  a été faite dans les mêmes conditions, sur des fibres de crabe ayant séjourné, au préalable, huit jours dans de l'eau de mer artificielle dont le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$ .

4142 - Les fibres prélevées sur ces crabes présentent une réponse dont l'amplitude est accrue par rapport à celle des fibres placées dans des conditions normales (§ 32, p.167), la  $R_m$  de repos étant très supérieure à la valeur normale.

La figure 73 (p.190) montre que le milieu ne contenant que des ions chlorure (594 mM de chlorure de choline), après 20 mn d'action, permet le maintien des phénomènes de rectification.

Ainsi, lorsque le  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$ , les résultats obtenus amènent à penser que les phénomènes de rectification ne sont pas liés, dans les conditions normales, à des mouvements de  $K^+$  puisque, sur la fibre de grenouille, le  $Rb^+$  remplaçant en partie le  $K^+$  intracellulaire abolit ces phénomènes (ADRIAN, 1964). Cependant, il est possible de considérer que, sur la fibre de crabe, la sélectivité du "canal" de rectification aux ions  $K^+$  serait plus faible que sur la fibre de grenouille et que, dans ce cas, le  $Rb^+$  peut remplacer le  $K^+$ . Il convient toutefois de remarquer que si cela est, la Rd obtenue sur les fibres ayant séjourné 8 jours dans l'eau de mer artificielle (où le  $Rb^+$  remplace le  $K^+$ ), ne devrait pas être plus ample que celle obtenue dans les conditions normales. Or, il

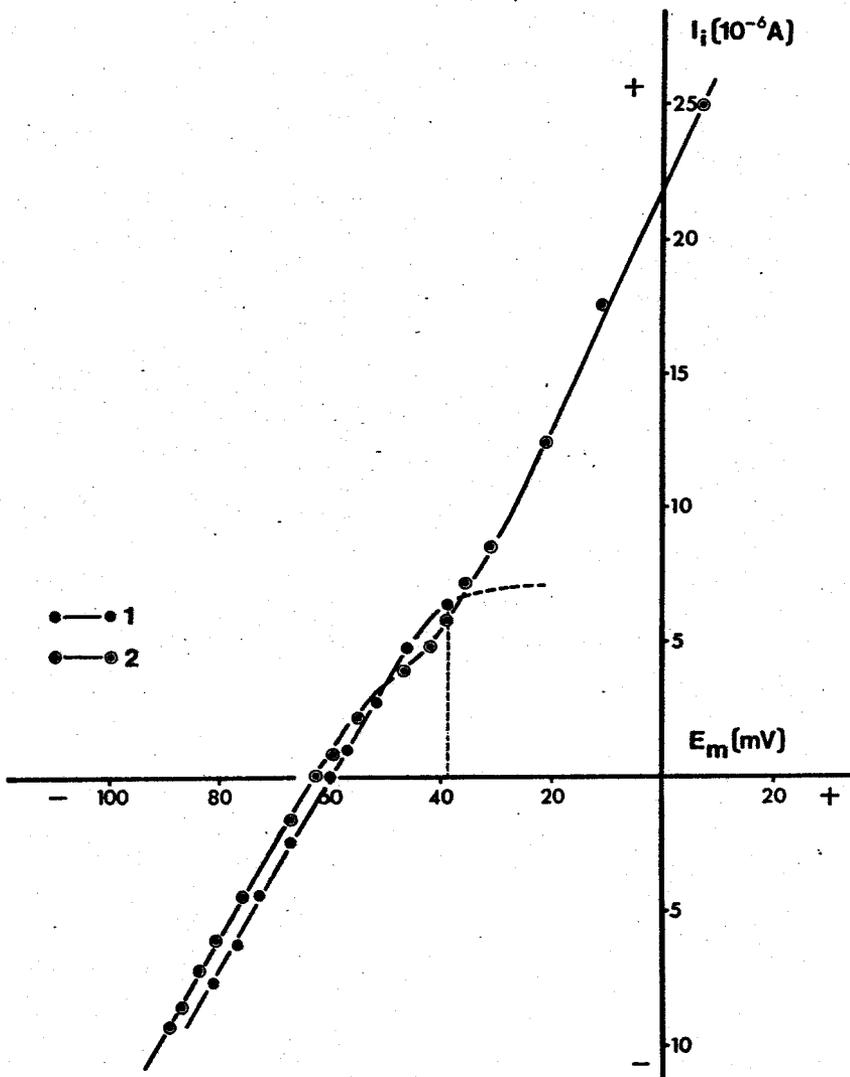


Figure 73 : Caractéristiques courant-potentiel établies (en courant imposé) en présence d'ions chlorure (581 mM de chlorure de choline) et  $Rb^+$  (12,9 mM de  $RbCl$ ), les autres ions étant absents, sur des fibres dont le  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$  (voir ANNEXE II).

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans le milieu de référence dont le  $KCl$  est remplacé par du  $RbCl$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après 20 mn d'action du milieu ne contenant que des ions chlorure et  $Rb^+$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) (courbe 2).

Les phénomènes de rectification de la membrane existent.

n'en est rien (§ 322, p.171 ). En outre, le TEA, inhibiteur du courant sortant, agit, comme cela a été montré précédemment, (§ 312, p.162 ) en augmentant la  $R_d$  en amplitude et en durée, alors que le  $Rb^+$  ne l'augmente qu'en amplitude. Ainsi, maintenant se pose le problème de savoir si le TEA supprimé, comme sur la fibre squelettique de grenouille (KAO et STANFIELD, 1970), la rectification retardée qui serait due, au niveau de la fibre de crabe, à un mouvement d'ions chlorure.

4143 - A la concentration de 100 mM, le TEA abolit presque totalement - à plus de 90 p. 100 - la rectification normale retardée chez la fibre de grenouille (STANFIELD, 1970). Pour cette raison, les effets d'un milieu anormal ne contenant que des ions chlorure (494 mM de chlorure de choline), additionné de 100 mM de chlorure de TEA, a été testé sur notre préparation.

La comparaison des enregistrements de la figure 74 (p.192 ) montre que le TEA accroît, très légèrement, la  $R_m$  de repos et supprime, pour une large part, la rectification retardée. La figure 75 (p.133 ) traduit l'évolution sous l'effet du TEA, en fonction du temps, de la relation  $I_i - E_m$  obtenue en milieu ne contenant que des ions chlorure. Cette relation montre que le maximum d'effets est obtenu après 20 à 30 mn d'action.

Ainsi, l'augmentation en amplitude et en durée de la  $R_d$  par le TEA s'explique par la diminution du courant sortant responsable, en partie, de la repolarisation. Ce résultat

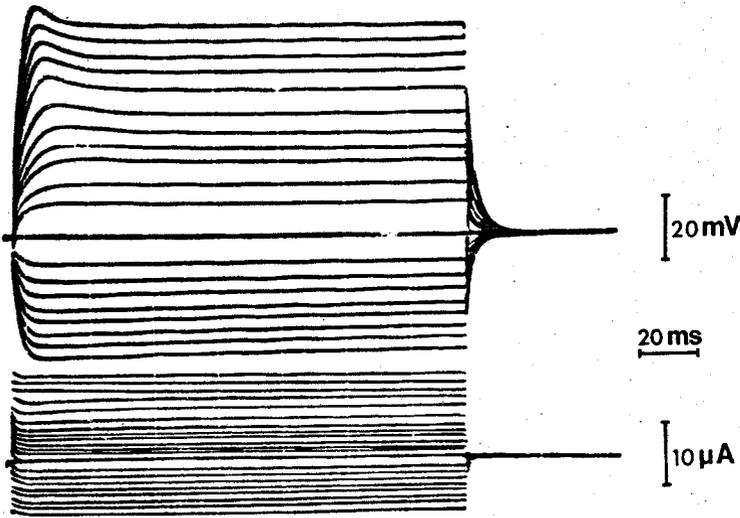


Figure 74 a

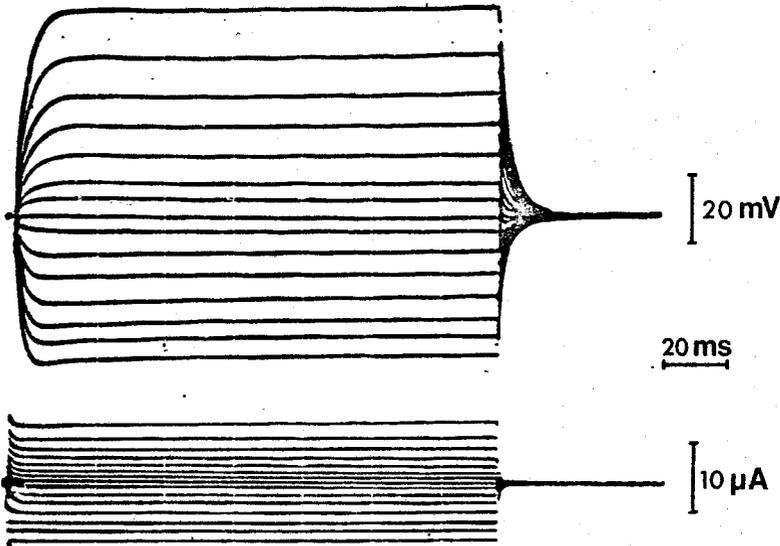


Figure 74 b

Figure 74 : Réponse électrique de la membrane à des courants constants sous l'effet d'un milieu contenant uniquement des ions chlorure (594 mM de chlorure de choline) (figure 74 a) puis sous l'effet du même milieu contenant des ions TEA<sup>+</sup> (494 mM de chlorure de choline et 100 mM de chlorure de TEA<sup>+</sup>) (figure 74 b). La pression osmotique de ces milieux est compensée par apport de saccharose et leur pH maintenu à 7,8.

Les réponses sont enregistrées lorsque les effets des milieux respectifs sont optimaux (après 25 mn d'action pour le premier milieu anormal puis après 30 mn pour le second).

La figure 74 a laisse apparaître les phénomènes de rectification membranaire anormale et normale, cette dernière tendant à disparaître sous l'action du TEA (figure 74 b).

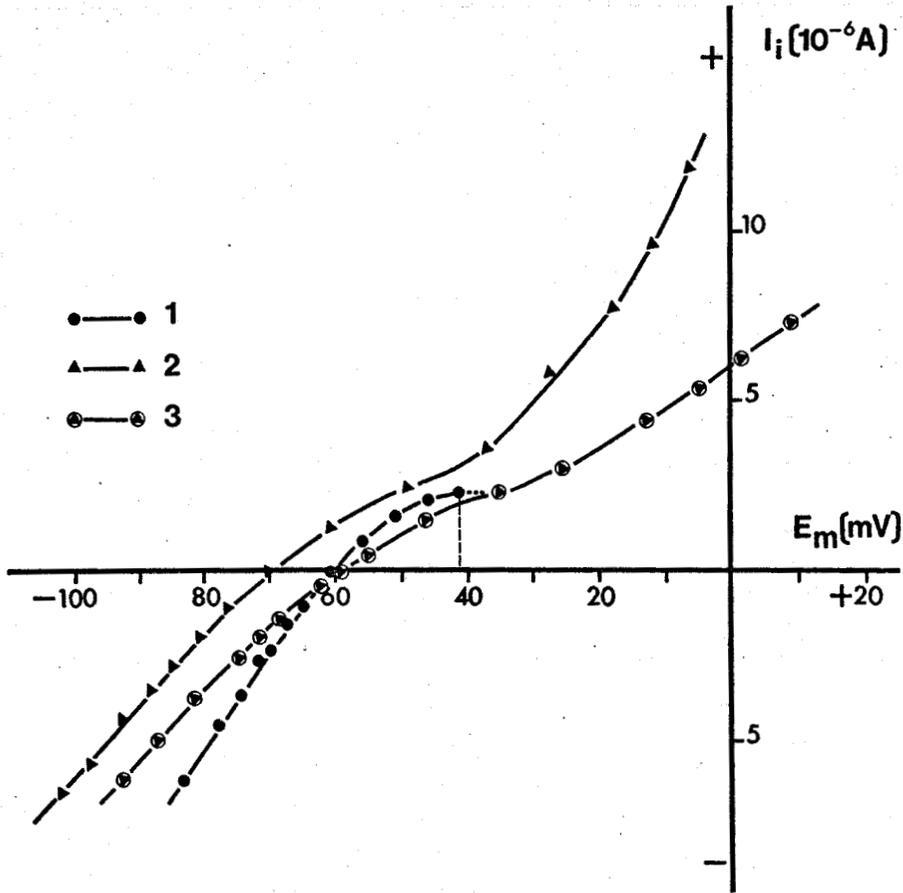


Figure 75 : Caractéristiques courant-potentiel établies (en courant imposé) à partir des tracés de la figure précédente.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue en milieu de référence (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) après action successive des milieux anormaux (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) : pendant 25 mn pour le milieu ne contenant que des ions chlorure (courbe 2) puis pendant 30 mn pour le même milieu additionné de TEA (courbe 3).

Le TEA réduit notablement la rectification normale retardée de la membrane sans affecter sensiblement ni la rectification anormale, ni la  $R_m$  de repos.



concernant l'action du TEA tend à montrer, qu'effectivement, le TEA inhibe le courant sortant lié à la rectification normale retardée de la membrane. Le mécanisme par lequel le  $\text{Rb}^+$  accroît l'amplitude de la  $R_d$  serait différent de celui du TEA permettant un même accroissement, puisqu'en présence d'ions  $\text{Rb}^+$  intracellulaires, la rectification retardée subsiste et qu'en absence d'ions chlorure la rectification est abolie. De plus, à l'appui de cette dernière hypothèse, il a été montré que le  $\text{Rb}^+$  accroît l'amplitude de la réponse sans modifier sa durée alors que le TEA agit, à la fois, sur la durée et l'amplitude.

Puisque des mouvements d'ions chlorure pourraient être impliqués dans les phénomènes de rectification, les effets de différents milieux contenant uniquement du chlorure de choline sont étudiés sur la relation courant-potentiel, pour essayer de rendre compte des modifications de la  $R_d$  sous l'influence des variations de  $[\text{Cl}^-]_e$ .

4144 - Un milieu dont la  $[\text{Cl}^-]$  est de 60 ~~mm~~ mM (pression osmotique identique à celle du milieu de référence par apport de saccharose) entraîne la disparition de la  $R_d$  comme cela a déjà été montré (§ 413, p.179 ).

La figure 76 (p. 195) donne un exemple de la courbe traduisant la relation  $I_i - E_m$  de la membrane de la fibre de crabe sous l'action de ce milieu anormal. Après 20 mn, temps nécessaire à l'établissement d'un état stable en ce qui

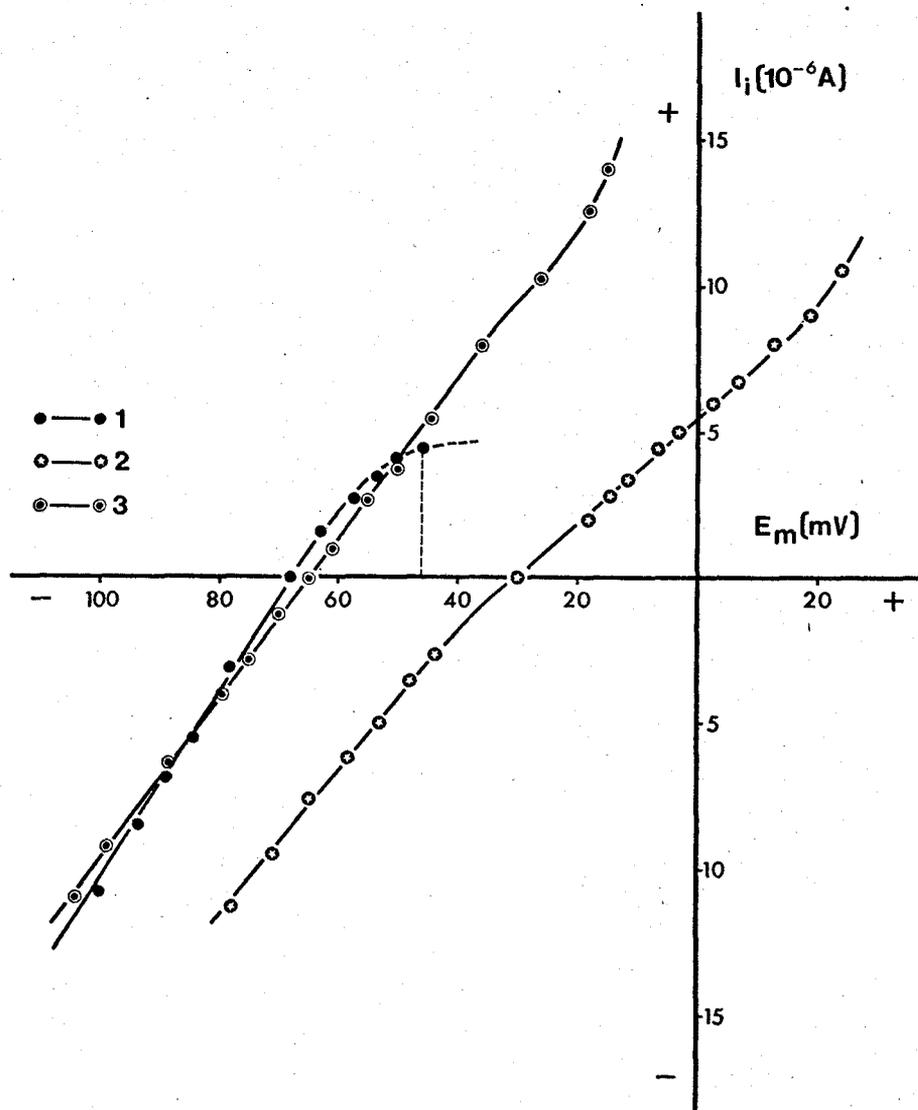


Figure 76 : Caractéristiques courant-potentiel établies (en courant imposé) en solution de chlorure de choline (60 mM), la pression osmotique étant compensée par apport de saccharose et le pH maintenu à sa valeur de référence (7,8).

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions de référence (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) après 30 mn d'action du milieu anormal (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms), la fibre n'étant pas (courbe 2) ou étant repolarisée (courbe 3).

En milieu pauvre en ions chlorure, de faible force ionique, les phénomènes de rectification membranaire subsistent bien que très atténués.



concerne  $E_r$ , la relation montre, outre une dépolarisation de repos importante ( $E_r = -30$  mV en moyenne), l'existence du phénomène de double rectification observé par ailleurs, lorsque le milieu extérieur est d'une force ionique très voisine de celle du milieu de référence ( $[Cl^-]_e = 594$  mEq). En repolarisant la membrane, la courbe présente une allure identique avec, cependant, un maintien de la  $R_m$  à sa valeur de repos jusqu'à la valeur de  $E_m$  de  $-35$  mV alors que, dans les conditions normales, celle-ci augmente à partir de la valeur de  $E_r$  ( $-65$  mV). Ceci peut rendre compte de la difficulté, et même de l'impossibilité de déclencher une réponse en milieu pauvre en ions chlorure, en dépit de la repolarisation provoquée par l'application d'un courant constant repolarisant.

4145 - En revanche, l'addition de 594 mEq d'ions chlorure sous forme de chlorure de choline se traduit par une réponse ample et durable (figure 71, p. 187). En ce qui concerne les phénomènes de rectification de la membrane, l'augmentation de la  $[Cl^-]_e$  par le facteur 2 (1188 mM de chlorure de choline), les autres ions étant absents, se traduit (figure 77, p. 197) par, outre un maintien de ces phénomènes de rectification, un déplacement vers les valeurs positives de  $E_m$  du seuil de déclenchement de la rectification normale. Ce ~~seuil~~<sup>déplacement</sup> peut ainsi rendre compte de l'augmentation en amplitude et en durée de la  $R_d$ .

#### 4146 - Conclusion

Les résultats obtenus en courant imposé

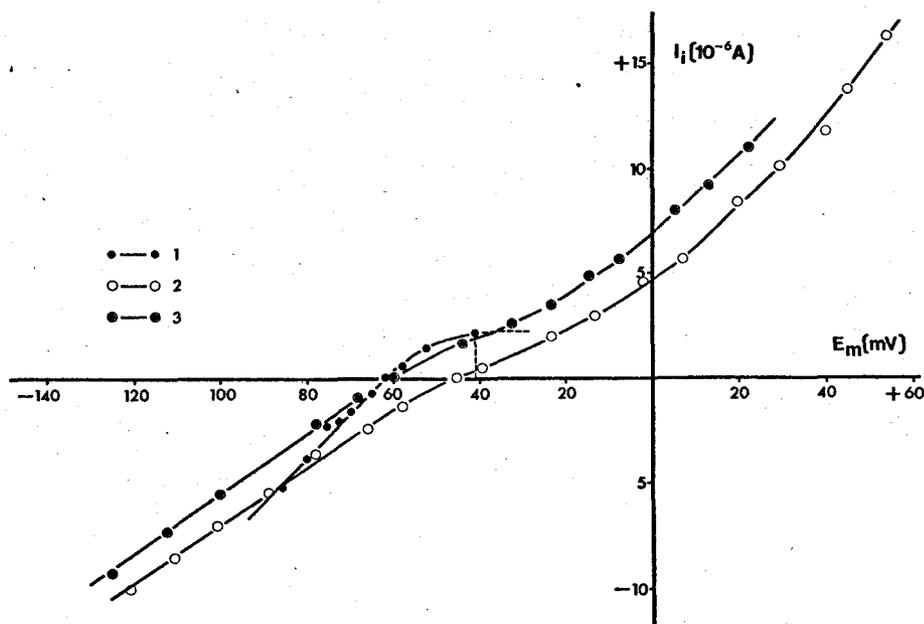


Figure 77 : Caractéristiques courant-potential établies (en courant imposé) en solution de chlorure de choline (1188 mM) tamponnée à pH 7,8, les autres ions étant absents.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion  $\Delta t = 15$  ms) après 45 mn d'action du milieu anormal (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) la fibre n'étant pas (courbe 2) ou étant repolarisée (courbe 3).

Les phénomènes de rectification sont maintenus.



montrent, par l'analyse de la relation  $I_i - E_m$ , que la rectification retardée de la membrane de la fibre de crabe, inhibée par le TEA, serait liée à des mouvements d'ions chlorure plutôt qu'à ceux des ions  $K^+$ . D'autre part, le déplacement des seuils de rectification provoqué par la modification de  $[Cl^-]_e$  peut expliquer la modification de la  $R_d$  dans de telles conditions. La persistance des phénomènes de rectification, quand le  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$ , et l'augmentation de l'amplitude de la  $R_d$ , sous ces conditions, semblent démontrer que les ions  $Rb^+$ , en remplacement des ions  $K^+$ , entraîneraient une diminution du courant de fuite ce qui provoquerait un plus grand effet du courant entrant responsable de la phase de dépolarisation de la  $R_d$ .

#### 42 - Etude des phénomènes de rectification en potentiel imposé.

L'étude des phénomènes de rectification, lors du précédent §, a été faite à partir de résultats établis en courant imposé par microélectrodes.

Il est certain que cette technique est sujette à caution, du fait de l'application très localisée du courant, la densité de celui-ci n'étant pas homogène. Toutefois, il semble, au vu des résultats obtenus, que l'élément interrogé soit représentatif de l'ensemble de la membrane puisque les phénomènes de rectification ne dépendent pas de la zone interrogée. De plus, la théorie (chapitre II, § 312, p. 56) assimile la membrane à un réseau de circuits R.C. élémentaires disposés en

parallèle et fait que la zone interrogée répond comme un seul circuit.

Néanmoins, dans le seul but de vérifier les résultats obtenus concernant les phénomènes de rectification en courant imposé, l'étude de la relation courant de membrane ( $I_m$ ) - potentiel imposé ( $E_i$ ), a été entreprise.

421 - Choix de la technique pour l'étude du courant de membrane en potentiel imposé.

L'étude des courants de membrane, grâce à la technique du potentiel imposé par double séparation de saccharose (mise au point par STÄMPFLI en 1954, JULIAN et GOLDMAN en 1960 et JULIAN et Coll. en 1962) peut être faite sur les fibres musculaires excitables tant cardiaques que squelettiques et que lisses (ROUGIER et Coll., 1966 ; ROUGIER et Coll., 1968 b ; TARR, 1971 ; KLEBER, 1973 ; Mc GUIGAN, 1974 ; LEOTY, 1974 ; ANDERSON, 1969 ; MIRONNEAU, 1974 ; ROUGIER, 1963, 1964 ; ILDEFONSE et ROUGIER, 1969, 1972 ; MANDRINO, 1973 ; BASTIAN et NAKAJIMA, 1974 ; NAKAJIMA et BASTIAN, 1974).

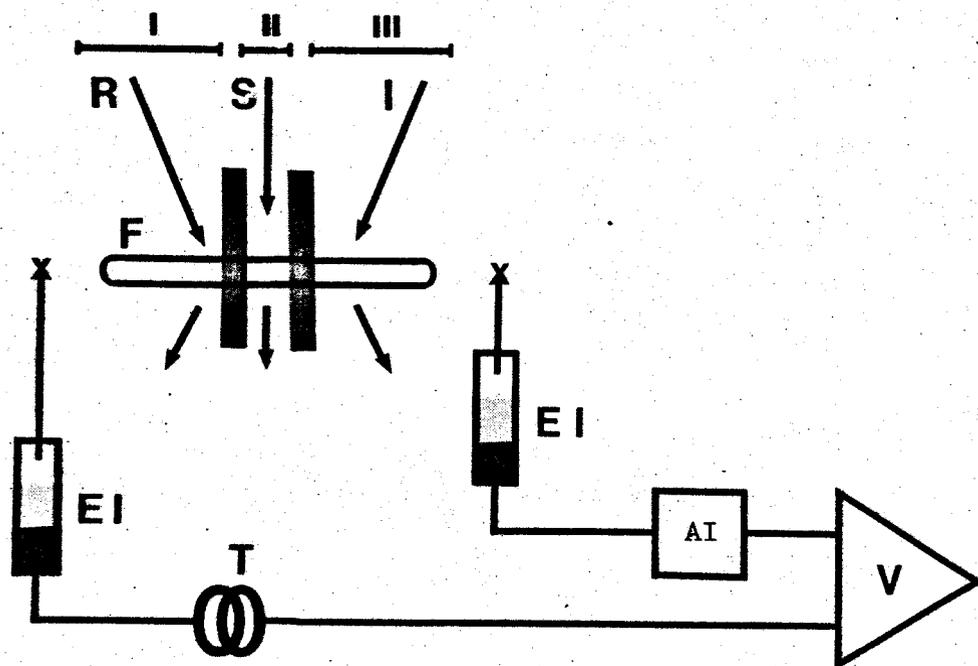
Il convient de signaler les réserves apportées à la technique du potentiel imposé en général (KATZ et SCHWARTZ, 1967), technique qui admet une distribution homogène du courant ce que ne semble pas confirmer l'étude biophysique (PLONSEY, 1974). De plus, KEYNES et Coll. (1973) sur la fibre musculaire de balane, estiment aléatoire, à cause de la structure particulière de cette fibre, la mesure des courants de membrane par



la technique du potentiel imposé par double séparation de saccharose. Mc GUIGAN (1974), sur la fibre ventriculaire de Mammifère, montre l'importance, lors de l'utilisation de cette technique, de la dimension de la zone de membrane interrogée sur les courants de fuite et sur la distribution homogène du potentiel.

Compte-tenu de la structure très complexe de notre préparation, en particulier de l'existence d'invaginations longitudinales du sarcolemme et, en profondeur, des ramifications du système  $T_z$  (chapitre I), il convenait de connaître, par avance, le comportement au cours du temps d'une petite surface de membrane de la fibre au repos compartimentée artificiellement par un pont de saccharose (figure 78, p. 201), l'indice du comportement choisi étant  $E_r$ ;  $E_r$  est mesuré entre l'élément de membrane de la fibre baigné par le milieu de référence et celui, opposé, amené au potentiel 0 par son lavage avec un milieu dont les concentrations ioniques sont proches de celles du milieu intracellulaire (en mM selon PROSSER et BROWN, 1962 :  $[Na^+] = 54$ ,  $[Cl^-] = 53$ ,  $[K^+] = 122$ ,  $[Ca^{++}] = 5,2$ ,  $[Mg^{++}] = 16,9$ ).

La figure 79 (p. 202) donne l'évolution de la valeur moyenne de  $E_r$  mesuré avec cette technique en fonction du temps. La valeur maximum de  $E_r$  est atteinte, en moyenne, après 10 mn ( $75,1 \pm 9,9$  mV) pour chuter ensuite. Ce délai correspond, en fait comme le montre la figure 80 (p. 203), au temps nécessaire au milieu de PROSSER et BROWN (1962) pour annuler le potentiel



*Figure 78 : Montage utilisé pour l'étude du potentiel de repos de la fibre musculaire de crabe par la technique du pont de saccharose.*

*La fibre musculaire (F) est isolée et cloisonnée en trois compartiments : I, II, III :*

*I : compartiment témoin contenant la solution physiologique normale (R).*

*II : compartiment contenant la solution de saccharose (S) isoosmotique de la solution (R).*

*III : compartiment contenant la solution dont la concentration ionique isoosmotique de (R) est proche de celle du milieu interne de la fibre (I)*

*La différence de potentiel est mesurée sur l'oscilloscope (V) par l'intermédiaire d'électrodes impolarisables (piles au calomel) (EI) et d'un abaisseur d'impédance (AI). T : calibrateur.*

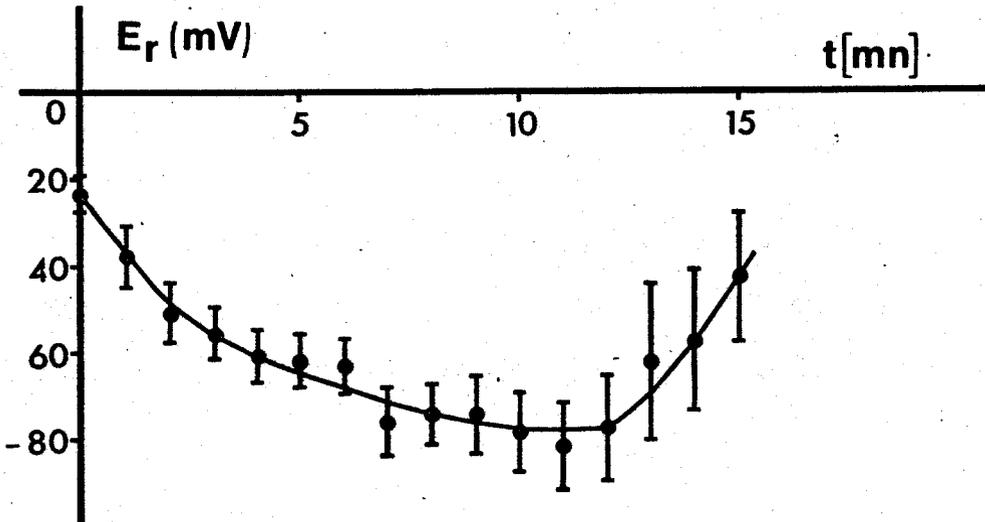


Figure 79 : Evolution de  $E_r$  (moyenne + écart-type ;  $n = 27$ ) mesuré par la technique du pont de saccharose en fonction du temps.

$E_r$  s'établit lentement à la valeur moyenne maximale de 80 mV. Le temps nécessaire pour obtenir cette valeur maximale correspond à celui requis pour annuler  $E_r$  d'une fibre placée dans le milieu déterminé par PROSSER et BROWN (dont les concentrations ioniques sont analogues à celles du milieu intracellulaire) (figure 80).

$E_r$  décroît après avoir atteint son maximum.

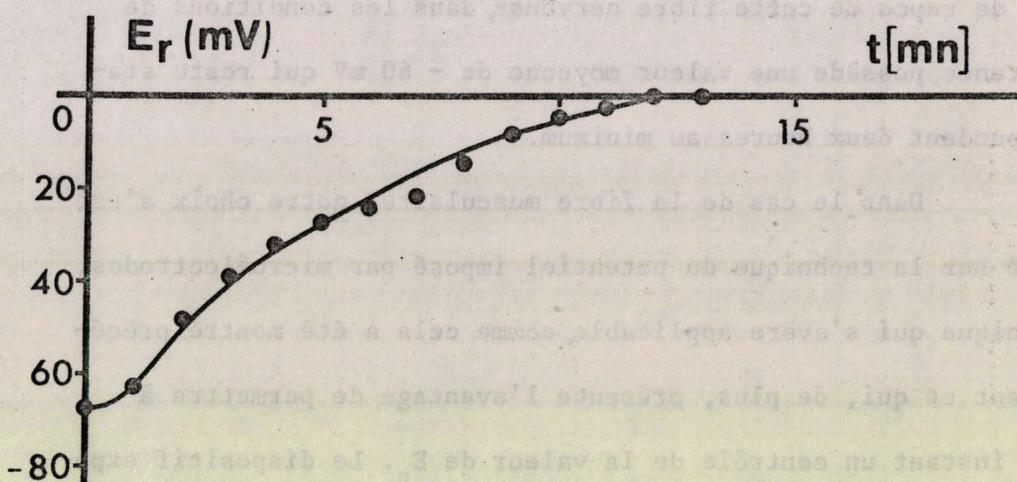


Figure 80 : Evolution, en fonction du temps, de  $E_r$  mesuré par microélectrode sur une fibre baignant dans un milieu dont les concentrations ioniques sont analogues à celles du milieu intracellulaire (selon PROSSER et BROWN, 1962).

$E_r$  s'annule lentement (en 10 mn).



de repos de la fibre dans le compartiment concerné.

Ainsi, ces résultats préliminaires expliquent l'abandon de cette technique pour l'étude de la fibre musculaire striée de crabe. Par contre, sur la fibre nerveuse du même animal, BOUKOULOU (1975) montre que la technique de double séparation de saccharose est parfaitement applicable. En effet, le potentiel de repos de cette fibre nerveuse, dans les conditions de référence, possède une valeur moyenne de  $-60$  mV qui reste stable pendant deux heures au minimum.

Dans le cas de la fibre musculaire, notre choix s'est porté sur la technique du potentiel imposé par microélectrodes, technique qui s'avère applicable, comme cela a été montré précédemment et qui, de plus, présente l'avantage de permettre à tout instant un contrôle de la valeur de  $E_r$ . Le dispositif expérimental est donné au § 1231, figure 53 (p. 147).

#### 422 - Etude des phénomènes de rectification membranaire

En potentiel imposé, le courant entrant induit une contraction qui, de ce fait, empêche une bonne analyse du courant sortant.

4221 - L'addition de 10 mM de  $MnCl_2$  au milieu de référence abolit la  $R_d$  (figure 48, § 113, p. 135) obtenue en courant imposé, et, comme le confirme l'exemple de la figure 81 (p. 205) fait disparaître le courant entrant.

L'analyse de la relation  $I_m - E_i$  obtenue dans de telles

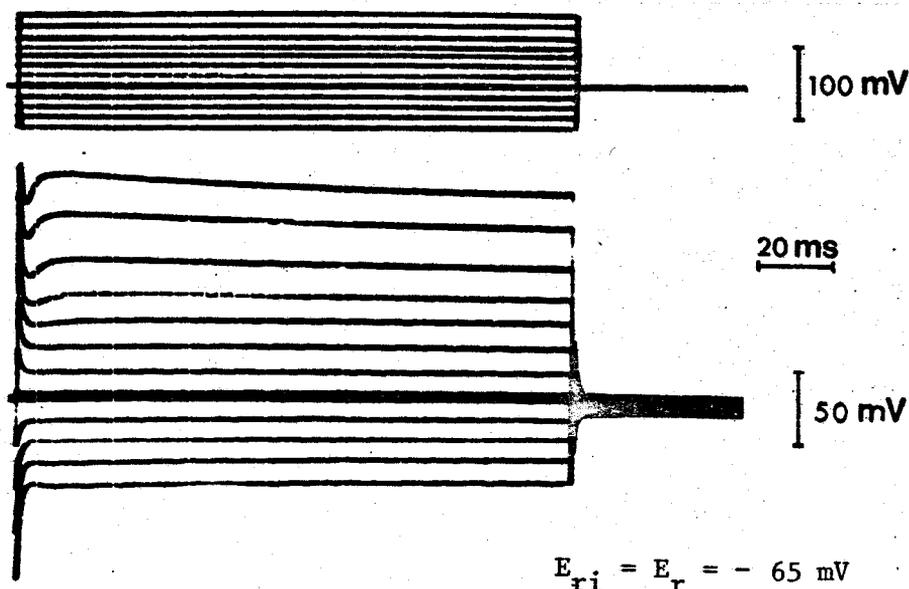


Figure 81 : Enregistrement des courants de membrane, (en potentiel imposé) en présence d'ions  $\text{Mn}^{++}$  (10 mM de  $\text{MnCl}_2$  sont additionnées au milieu de référence).

L'enregistrement des courants de membrane  $I_m$  donnés par  $V_2 - V_1$  (tracés du bas) selon la valeur du potentiel imposé  $E_i$ , (tracés du haut) montre la disparition du courant initial entrant sous l'action (pendant 30 mn) des ions  $\text{Mn}^{++}$  et une diminution progressive du courant sortant pour des fortes dépolarisations imposées.



conditions montre la présence d'une double rectification membranaire, cette relation étant similaire à celle obtenue en courant imposé (figure 82, p. 207).

4222 - La suppression du  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire ( $\text{CaCl}_2$  remplacé par 23,6 mM de chlorure de choline) conduit à des résultats analogues (figures 83 a et b, p. 208). Cependant, il subsiste, dans ce cas, un courant entrant (figure 83 a) qui, compte-tenu des effets du  $\text{Mn}^{++}$  (figure 81, p. 205), doit être porté par les ions  $\text{Na}^+$ . Ce résultat confirme l'hypothèse selon laquelle il existerait un canal calcico-sodique. D'ailleurs, comme cela va être maintenant montré, l'abolition de la rectification normale par le TEA permet de bien mettre en évidence ce courant entrant, en absence de  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire.

4223 - Un milieu dépourvu de  $\text{Ca}^{++}$  et contenant 100 mM de TEA (la concentration des autres ions étant maintenue à la valeur de référence) entraîne, après 30 mn d'action, le développement d'un courant entrant (figure 84, p.209). De plus, les courbes de la figure 85 (p.210) traduisent la relation  $I_m - E_i$  au maximum de courant et après 320 ms. Ces courbes  $I_m - E_i$  révèlent, soit une inactivation relativement lente du courant entrant, soit l'existence d'un processus d'accumulation à l'intérieur de la fibre, soit le développement concomitant du courant sortant (non inhibé totalement par le TEA) ou soit la combinaison de plusieurs de ces différentes possibilités. A ce

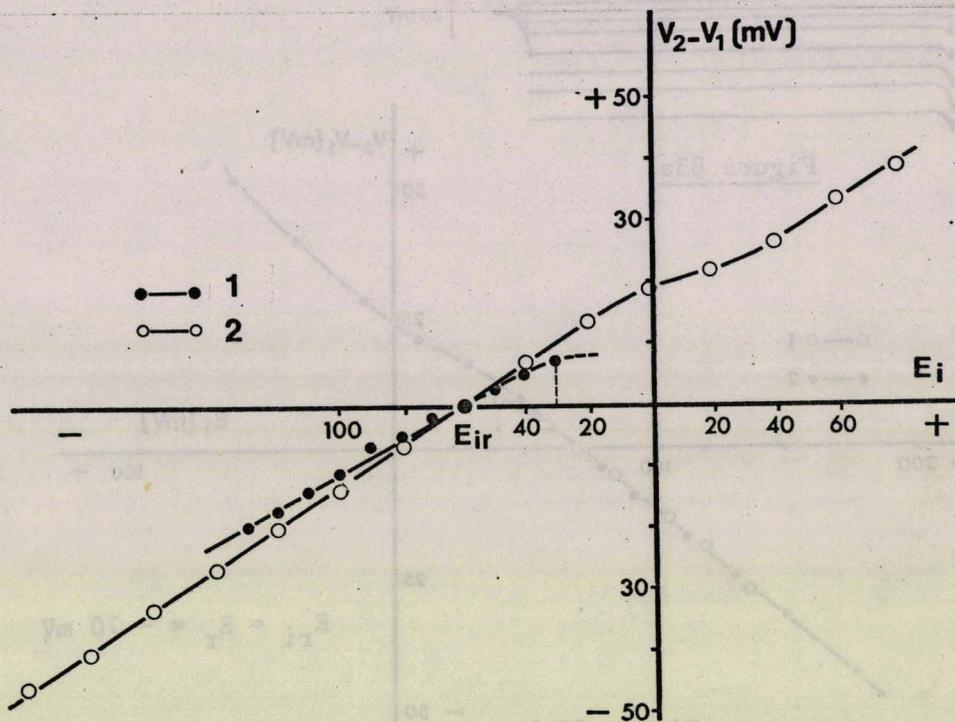


Figure 82 : Caractéristiques courant-potential établies (en potentiel imposé), en présence d'ions  $Mn^{++}$  (10 mM de  $MnCl_2$  sont additionnées au milieu de référence) à partir des tracés de la figure 81.

Evolution de la relation  $I_m - E_i$  obtenue dans les conditions normales (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) après 30 mn d'action des ions  $Mn^{++}$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 140$  ms) (courbe 2).



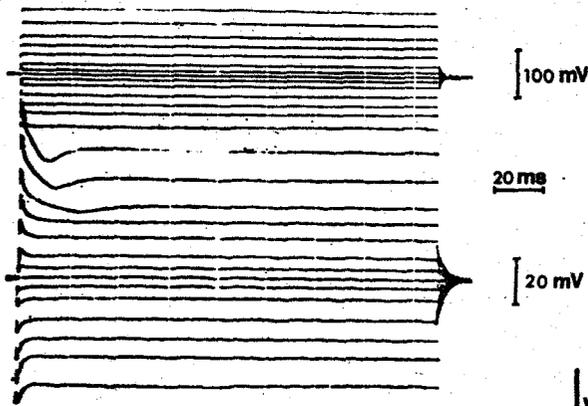


Figure 83a

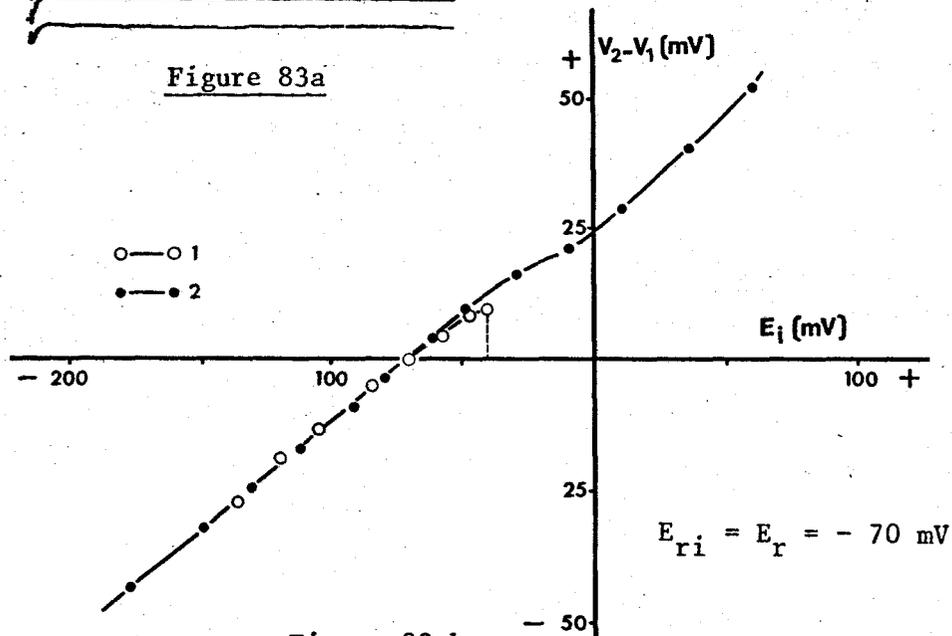


Figure 83 b

Figure 83 : Relation courant-potentiel établie (en potentiel imposé) en absence d'ions  $\text{Ca}^{++}$  (23,6 mM de chlorure de choline remplacent les 11,8 mM de  $\text{CaCl}_2$  du milieu de référence).

83 a : Courants de membrane (tracés du bas) en fonction du potentiel imposé (tracés du haut) après 22 mn d'action du milieu dépourvu d'ions  $\text{Ca}^{++}$ .

83 b : Caractéristiques  $I_m - E_i$  obtenues dans les conditions normales (établie en fin d'impulsions :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) et après action du milieu dépourvu d'ions  $\text{Ca}^{++}$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 150$  ms) (courbe 2).

La figure 83 a révèle, pour les valeurs de  $E_i$  plus positives que  $E_{ri}$ , la présence, malgré l'absence de  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire, d'un courant entrant qui semble disparaître au cours du temps comme le montre la caractéristique courant-potentiel de la figure 83 b.

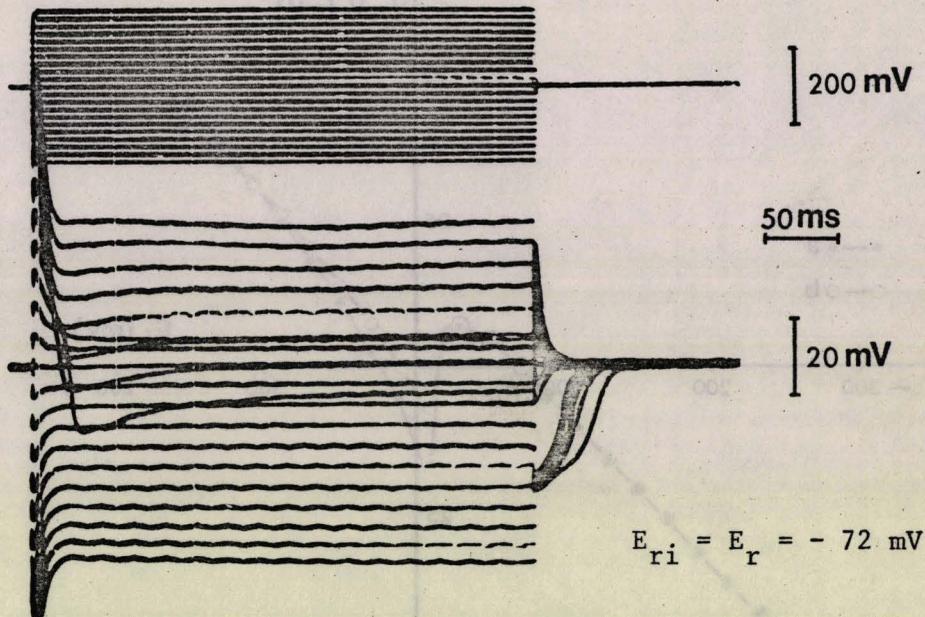
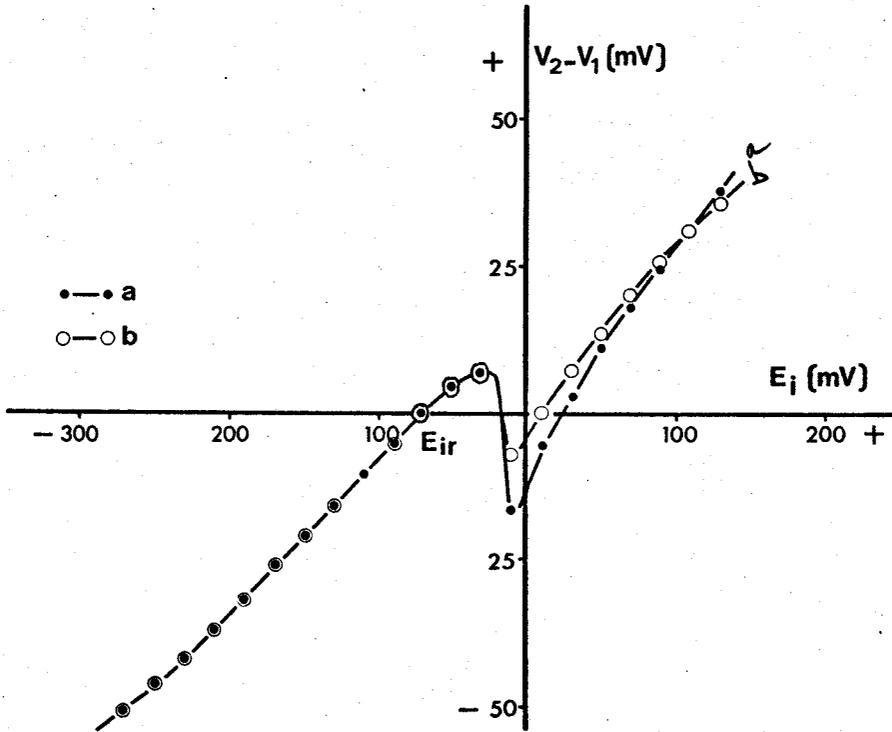


Figure 84 : Courants de membrane obtenus (en potentiel imposé) après 55 mn d'action du milieu de référence privé d'ions  $\text{Ca}^{++}$  et additionné de 100 mM de chlorure de TEA, les autres ions étant maintenus à leur concentration de référence.

Le courant entrant porté par des ions autres que les ions  $\text{Ca}^{++}$  apparaît très nettement lors de l'inhibition par le TEA de la rectification retardée.

BUS  
LILLE



815  
LILLE

Figure 85 : Caractéristiques courant-potential établies (en potentiel imposé) à partir des tracés de la figure précédente, au maximum de courant entrant (ou sortant minimal) (courbe a) et en fin d'impulsion ( $\Delta t = 320$  ms) (courbe b).

Après un délai relativement important ( $\Delta t > 300$  ms), le courant est encore entrant.

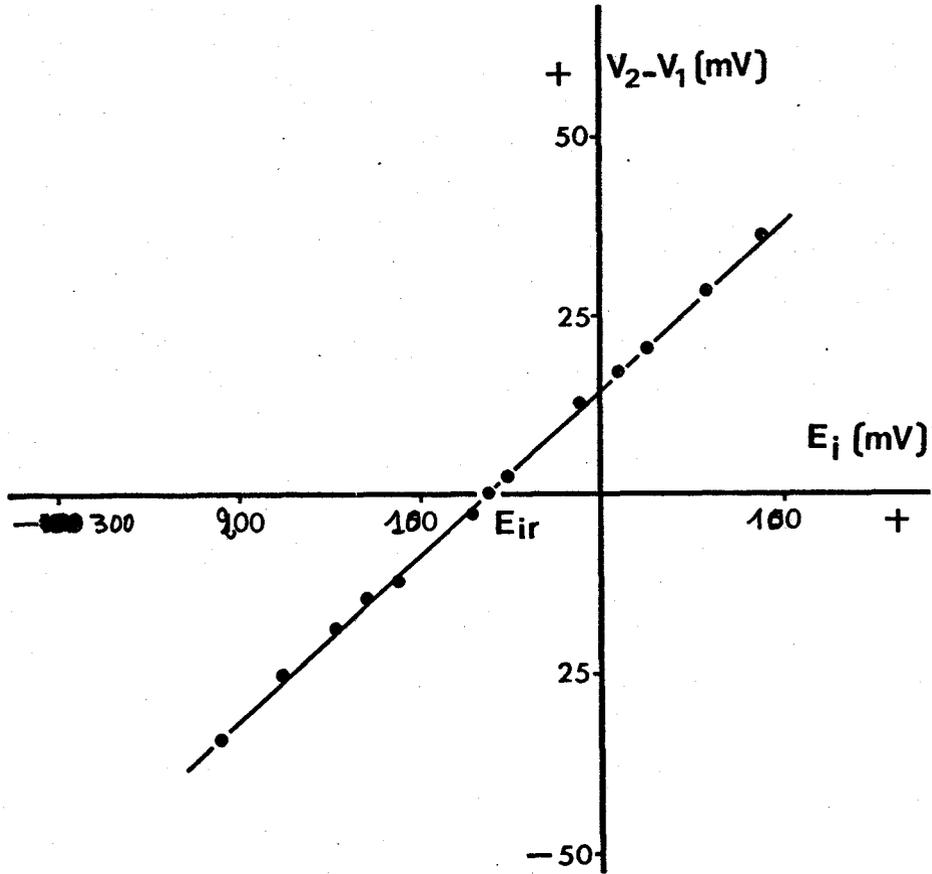
propos, il est à noter que KEYNES et Coll. (1973) montrent, sur la fibre musculaire de balane, l'absence d'une inactivation du courant entrant de  $\text{Ca}^{++}$ .

Ces résultats confirment l'existence d'un canal lent calcico-sodique emprunté préférentiellement par les ions  $\text{Ca}^{++}$ . Mais, en absence d'ions  $\text{Ca}^{++}$ , un courant porté par les ions  $\text{Na}^+$  (démasqué par l'inhibition du courant sortant par le TEA) peut ainsi être mis en évidence.

Une preuve concernant la possibilité de mouvements d'ions chlorure responsables de la rectification normale, inhibée par le TEA, peut être apportée par l'étude des relations  $I_m - E_i$  obtenues d'une part, en absence de  $\text{Cl}^-$  extracellulaire ou, d'autre part, en présence de  $\text{Mn}^{++}$  et de TEA.

4224 - Il est observé, en courant imposé, que les phénomènes de rectification disparaissent, lorsque les ions chlorure du milieu extracellulaire sont absents. (§ 4132, figure 68, p. 181). En potentiel imposé, l'analyse du courant de membrane est faite en milieu sans  $\text{Ca}^{++}$  et sans  $\text{Cl}^-$  (les ions chlorure étant remplacés par des ions méthylsulfate). Un tel milieu, comme le montre la figure 86 (p. 212) supprime les phénomènes de rectification de la membrane puisque la relation  $I_m - E_i$  est linéaire (avec un coefficient de corrélation de . 990).

4225 - L'action d'un milieu contenant 100 mM de TEA et 10 mM du  $\text{Mn}^{++}$  (les autres ions étant maintenus à leur



BUS  
LIGLE

Figure 86 : Caractéristique courant-potential établie (en potentiel imposé) en milieu dépourvu d'ions  $Ca^{++}$  et d'ions chlorure (les ions chlorure sont remplacés par des ions  méthylsulfate , les ions  $Ca^{++}$  par du saccharose).

Cette caractéristique  $I_m - E_i$  établie après 37 mn d'action de ce milieu anormal, se traduit par une droite et est indépendante du temps.

concentration de référence) produit, comme le montre l'exemple de la figure 87, (p. 214) la disparition du courant entrant (figure 87 a) et une inhibition incomplète de la rectification retardée (figure 87 b). Il se trouve confirmé par ces résultats que le TEA inhibe, en partie, la rectification retardée et que le  $Mn^{++}$  bloque le canal lent calcico-sodique responsable du courant entrant lors de la  $R_d$ .

#### 423 - Conclusion

Ainsi, la technique de mesure du courant de membrane par potentiel imposé permet de confirmer les résultats obtenus en courant imposé, à savoir qu'il existe, au niveau de la membrane de la fibre musculaire striée de crabe, des phénomènes de double rectification anormale et normale. Il apparaît, en outre, que les mouvements des ions chlorure pourraient être à l'origine de ces phénomènes de rectification membranaire témoignant de l'existence d'un courant dynamique de  $Cl^-$  comme l'ont déjà suggéré entre autres, NOBLE (1972), sur les fibres atriales de grenouille, PEPPER et TRAUTWEIN (1968), HIRAOKA et HIRAOKA (1973), FOZZARD et HIRAOKA (1973) sur les fibres de Purkinje, GIRARDIER et Coll. (1963) sur la fibre musculaire d'écrevisse.

De plus, il se trouve confirmé que le courant entrant, responsable de la phase de dépolarisation de la  $R_d$ , emprunterait un canal lent calcico-sodique inhibé par le  $Mn^{++}$ . Par ce canal, transiteraient préférentiellement les ions  $Ca^{++}$ , mais aussi

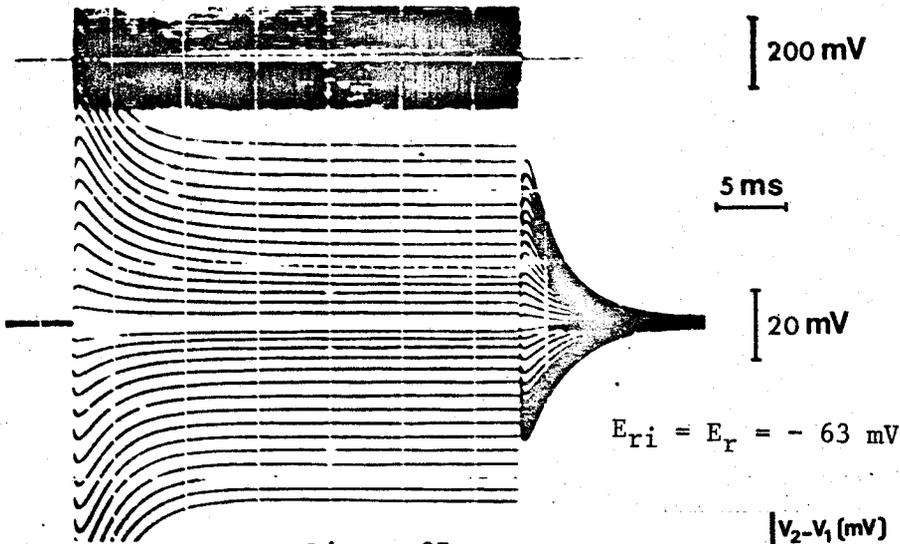


Figure 87 a

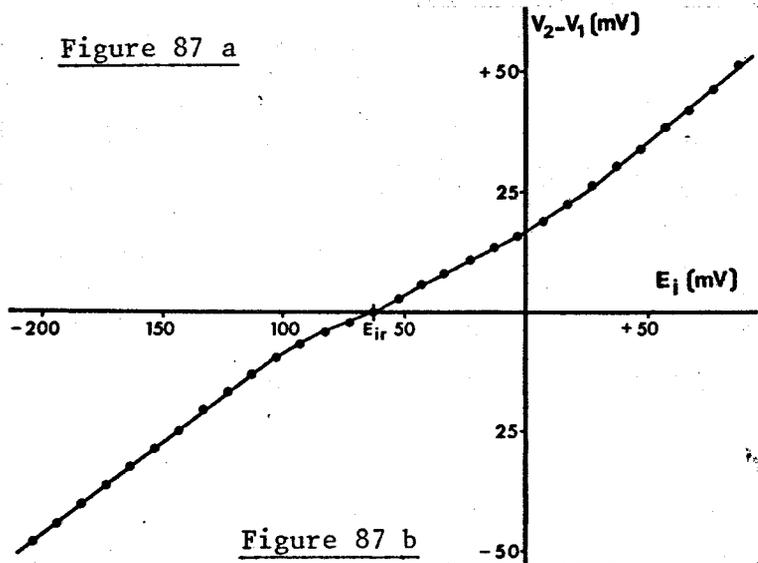


Figure 87 b

Figure 87 : Relation courant-potentiel établie (en potentiel imposé) en présence d'ions  $\text{TEA}^+$  et  $\text{Mn}^{++}$  (100 mM de chlorure de  $\text{TEA}^+$  et 10 mM de  $\text{MnCl}_2$  sont additionnées au milieu de référence). La concentration des autres ions est maintenue constante, ce qui entraîne une légère hypertonie du milieu du fait de l'apport de 100 mM de propionate de  $\text{Na}^+$ .

87 a : Courants de membrane (tracés du bas) en fonction du potentiel imposé (tracés du haut) après 25 mn d'action des ions  $\text{Mn}^{++}$  et  $\text{TEA}^+$ .

87 b : Caractéristique courant-potentiel établie à partir des tracés de la figure 87 a (en fin d'impulsion :  $\Delta t = 30 \text{ ms}$ ).

En absence de courant entrant bloqué par les ions  $\text{Mn}^{++}$ , la rectification normale retardée, bien qu'atténuée, persiste cependant en partie.

les ions  $\text{Na}^+$ . La repolarisation serait due à l'activation retardée du courant sortant, inhibé par le TEA et où seraient impliqués les ions chlorure.

## CHAPITRE IV

### LOCALISATION DES CONDUCTANCES

#### MEMBRANAIRES

- 1 - Localisation des conductances de repos
- 2 - Localisation des conductances d'activité
  - 21 - Localisation des phénomènes de rectification
  - 22 - Localisation de la conductance calcico-sodique
    - 221 - Existence de la réponse en profondeur
    - 222 - Blocage de la conductance sarcolemmique
    - 223 - Blocage des conductances sarcolemmique et tubulaire
    - 224 - Importance de la pile aux ions chlorure.

Les conductances ioniques de la fibre musculaire squelettique de crabe, celles de repos et celles d'activité, seront considérées successivement afin d'en faciliter la localisation.

## 1 - LOCALISATION DES CONDUCTANCES DE REPOS

Il semble que le maintien de  $E_r$  soit lié essentiellement à des mouvements d'ions chlorure et d'ions  $K^+$ . Néanmoins, les mouvements de  $Na^+$  participent, pour une moindre part certes, au potentiel de repos. En effet, la suppression du  $Na^+$  extracellulaire entraîne une légère hyperpolarisation de la membrane (chapitre II, § 324, p. 100). De plus, MOUNIER (1970) montre qu'en bloquant  $g_{Cl}$  (en présence de  $Na^+$  extracellulaire à la concentration de référence), la pente de la droite donnant la valeur de  $E_r$  en fonction du log de  $[K^+]_e$  n'est que de 47 mV lorsque  $[K^+]_e$  varie selon un facteur de 10. Ce résultat indique que, dans les conditions normales, les mouvements d'ions  $Na^+$  interviennent dans le maintien de  $E_r$ .

Toutefois, en ce qui concerne le repos, la localisation de  $g_{Na}$  ne sera pas précisément considérée, compte-tenu de sa participation relativement faible au maintien de  $E_r$ . Il est toutefois possible d'envisager une localisation de  $g_{Na}$  de repos analogue à celle d'activité qui sera étudiée ultérieurement.

11 -  $\underline{g_K}$ 

Rappelons que l'analyse des données bibliographiques et de nos résultats permet de localiser  $g_K$  de repos au niveau de la membrane du sarcolemme.

Les arguments expérimentaux, permettant d'étayer cette hypothèse, sont de plusieurs ordres :

- les milieux réputés agir sur la  $g_K$  voient leurs effets optimaux se produire très rapidement, ce qui laisse supposer une localisation en surface.

- les protons réputés agir sur les sites de surface (BROOKS et HUTTER, 1962, 1964 ; SPURWAY, 1965 ; HUTTER et WARNER, 1967 ; HAGIWARA et Coll., 1968 ; SHRAGER, 1974) bloquent, sur la fibre musculaire de crabe, les mouvements d'ions  $K^+$  (MOUNIER et Coll., 1970, chapitre II, § 322, p.86 ).

- un choc osmotique provoqué par le glycérol (ch. II, § 312, p.56 ) isole le STT du sarcolemme (EISENBERG et EISENBERG, 1968 ; HOWELL, 1969 ; EISENBERG et GAGE, 1969 ; KROLENKO, 1969). Dans de telles conditions, sur notre préparation, la  $R_m$  augmente de 38 p. 100 en moyenne et l'analyse du décours électrotonique montre, qu'effectivement, le système R.C. des membranes tubulaires n'intervient plus (ch. II, § 312, p.56 ). De plus, comme le montre la figure 88, p.219 ), en multipliant, dans de telles conditions  $[K^+]_e$  par 10 (par apport de 55,05 mM de  $K_2SO_4$  au milieu de référence), la valeur de  $E_r$

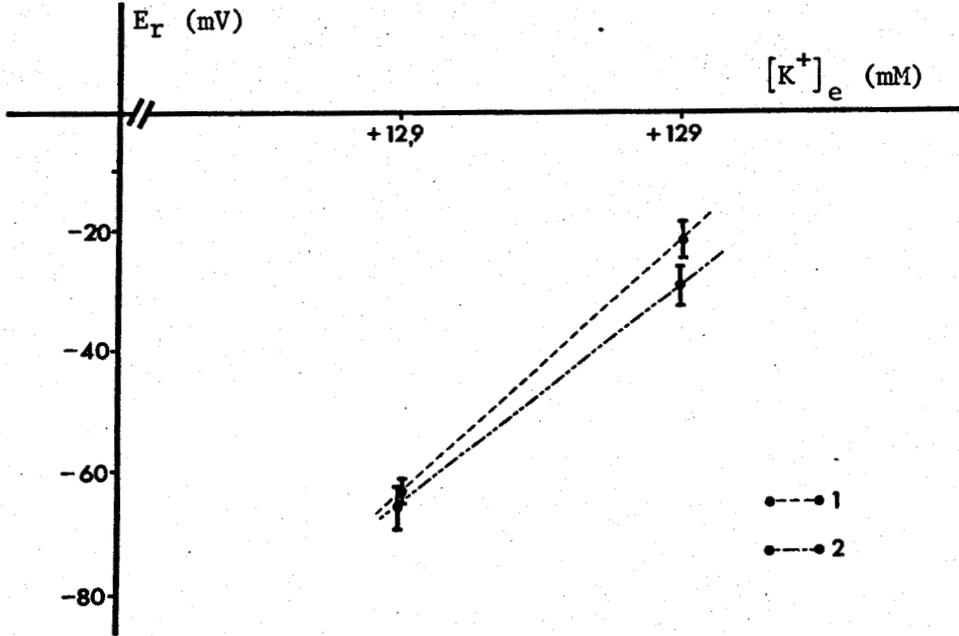


Figure 88 : Variations de  $E_r$  (moyenne + écart-type ;  $n = 5$ ) en fonction du log de  $[K^+]_e$ , sur la fibre "détubulée" par choc osmotique (courbe 1) et sur la fibre normale (courbe 2).

Lorsque  $[K^+]_e$  passe de la valeur normale (12,9 mM) à 129 mM (addition de 55,05 mM de  $K_2SO_4$ ), la membrane de la fibre intacte se dépolarise de 37 mV alors que celle de la fibre "détubulée" se dépolarise de 42,1 mV.

à 20°C, passe de  $63,5 \pm 1,9$  à  $21,4 \pm 2,8$  ( $n = 5$ ), soit une dépolarisation de 42,1 mV. Cette valeur est supérieure à celle obtenue dans des conditions analogues sur une fibre n'ayant pas subi de choc osmotique (37 mV). Ce résultat indique donc que la valeur de  $E_r$  se rapproche davantage, dans ces conditions, de la valeur définie par l'équation de NERNST en ce qui concerne le potentiel d'équilibre de la pile aux ions  $K^+$ . Ce résultat est en accord avec une participation de la membrane de surface à la  $g_K$  et avec une participation de la membrane tubulaire à la  $g_{Cl}$ .

## 12 - $g_{Cl}$

Cette perméabilité siège préférentiellement au niveau de la membrane du STT si l'on s'en réfère :

- au temps nécessaire aux milieux dépourvus ou enrichis en ions chlorure pour agir. Ce temps d'action, long par rapport à celui nécessaire aux milieux anormaux modifiant  $g_K$ , suppose une localisation en profondeur de  $g_{Cl}$ .
- aux travaux de GIRARDIER et Coll. (1963) qui montrent, sur la fibre d'écrevisse, un gonflement des tubules se produisant en absence de  $Cl^-$  extracellulaire ou après injection d'ions chlorure à l'intérieur de la fibre.

13 - Ainsi,  $g_K$  et  $g_{Cl}$  semblent être localisées, tout au moins au repos, respectivement au niveau de la membrane sarcolemmique et au niveau de la membrane tubulaire, localisation

inverse, comme cela a déjà été mentionné, de celle des fibres musculaires squelettiques de Vertébrés (HODGKIN et HOROWICZ, 1959 ; ADRIAN et FREYGANG, 1962 a, 1962 b entre autres). Les mouvements d'ions chlorure et d'ions  $K^+$  responsables de la valeur de  $E_r$  (en négligeant ceux des ions  $Na^+$ ) se feraient donc, pour chaque espèce ionique, préférentiellement au niveau d'un système membranaire. Toutefois, il convient de signaler que RICHARDS (1969) sur la fibre de crabe *Maia squinado*, met en évidence deux voies de passage pour les ions chlorure (influx et efflux), sans leur préciser de localisation spécifique.

## 2 - LOCALISATION DES CONDUCTANCES D'ACTIVITE

Il a été montré que la phase de dépolarisation de la  $R_d$  est liée à un courant entrant porté par les ions  $Ca^{++}$  et  $Na^+$  (chapitre III, § 1, p.129) et que les phénomènes de rectification membranaire seraient liés à des mouvements d'ions chlorure (chapitre III, § 1, p.123). Il convient maintenant d'essayer de les localiser.

### 21 - Localisation des phénomènes de rectification

#### 211. Considérations générales

Il est admis, chez la fibre musculaire striée de grenouille, que les phénomènes de rectification, dûs à des mouvements d'ions  $K^+$ , sont localisés au niveau de la membrane du STT. En effet, ce STT, nécessaire au couplage excitation-contraction

(SANDOW, 1965 ; GAGE et EISENBERG, 1967) transmet l'activation de la surface à la profondeur, soit de façon électrotonique (FALK et FATT, 1964 ; FALK, 1968 ; ADRIAN et Coll., 1969 a ; ADRIAN et Coll., 1969 b) soit de façon régénérative (GONZALEZ-SERRATOS, 1966, 1971 ; TAKEDA et OOMURA, 1970 ; BEZANILLA et Coll., 1972 ; BASTIAN et NAKAJIMA, 1974 ; CAPUTO et DIPOLO, 1973 ; ADRIAN et PEACHEY, 1973 ; SUGI, 1973, 1974). Les travaux de ILDEFONSE et ROUGIER (1968) montrent que l'application de préimpulsions hyperpolarisantes à la fibre de grenouille permettent une activation plus importante du courant sortant retardé. Ce processus peut être expliqué par des variations de la concentration en ions  $K^+$  de la lumière des tubules, les mouvements des ions  $K^+$  se situant à ce niveau. L'interprétation de ce résultat va dans le même sens que les hypothèses attribuant à la membrane du STT les propriétés rectificatrices responsables du courant sortant retardé (ADRIAN et FREYGANG, 1962 a ; FREYGANG et Coll., 1964 a ; FREYGANG et Coll., 1964 b ; KAO et STANFIELD, 1968).

La destruction sélective du STT produite par un choc osmotique, en passant d'un milieu rendu hypertonique par addition de glycérol au milieu normal, entraîne la disparition du post-potentiel négatif du PA (EISENBERG et GAGE, 1967 ; GAGE et EISENBERG, 1967) et, de ce fait, des propriétés de rectification anormale et normale (ILDEFONSE et Coll., 1969 a, 1969 b ; KAO et STANFIELD, 1968). Toutefois, les résultats de TAKEDA et

OOMURA (1969) obtenus sur la fibre musculaire de grenouille traitée au glycérol, indiquent que deux composantes, au moins, de la conductance membranaire, sont responsables de la rectification anormale, l'une située au niveau du système membranaire interne, l'autre en surface.

En résumé, sur la fibre squelettique de Vertébré, il est admis, en général, que les phénomènes de rectification membranaire dûs à des mouvements d'ions  $K^+$  siègent, au moins pour une large part, au niveau de la membrane du STT.

212 - Localisation des phénomènes de rectification sur la fibre squelettique de crabe *Carcinus maenas*.

Les phénomènes de rectification membranaire semblent être liés à des mouvements d'ions chlorure. Or, au repos, il apparaît que  $g_{Cl}$  siège sélectivement au niveau de la membrane du STT. Dans ces conditions, il est nécessaire de vérifier si, par analogie avec le comportement de la fibre de Vertébré, les phénomènes de rectification de la membrane de la fibre de crabe se situent au niveau du STT.

Il a été montré (§ 11, p. 218) qu'en soumettant la fibre successivement à une forte pression osmotique (équivalente à trois fois celle du milieu normal) puis à la pression osmotique du milieu de référence, le STT semble être désolidarisé du sarcolemme. En effet, la  $R_m$  augmente légèrement (de 38 p. 100 de la valeur de référence, § 11), ce qui est conforme au schéma

équivalent et aux valeurs proposées par EISENBERG (1967), celui-ci donnant une prédominance à la résistance du sarcolemme par rapport à celle de STT. D'autre part,  $C_m$  chute (chapitre II, § 312, p. 56), ce qui s'explique par la perte, dans ces conditions, du condensateur membranaire du STT de valeur très élevée (cf le schéma équivalent proposé par EISENBERG). Il apparaît également que la membrane de la fibre, traitée par le glycérol, répond aux variations de  $K^+$  d'une façon analogue à la membrane de la fibre intacte en absence de  $Cl^-$  extracellulaire (§ 11, p. 218). Ainsi, si les phénomènes de rectification siègent au niveau du STT, dans ces conditions, ils doivent être abolis. C'est ce que confirme la figure 89 (p. 225). Cette dernière montre, en effet, que la relation  $I_i - E_m$  obtenue en courant imposé sur une fibre ayant subi un choc osmotique (milieu de référence + 2376 mM deglycérol pendant 20 mn, puis milieu de référence), est traduite par une droite ( $I_i = 0,461 E_m - 53,47$  avec un coefficient de corrélation de . 999 pour  $n = 18$ ).

Ce résultat montre, qu'effectivement, sur la fibre musculaire squelettique de crabe, les phénomènes de rectification anormale et normale siègeraient au niveau de la membrane du STT.

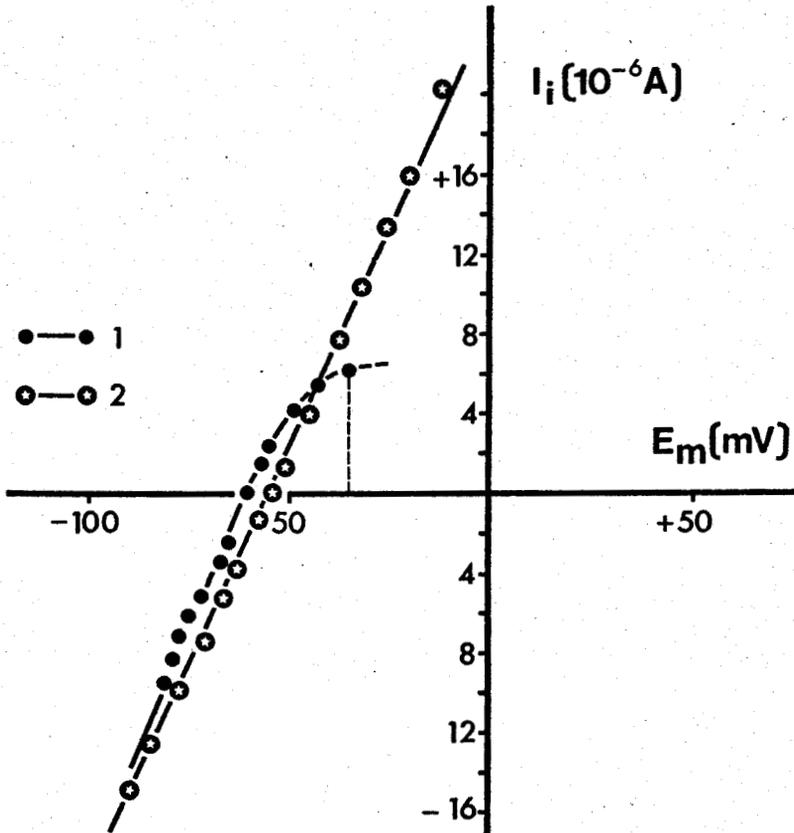


Figure 89 : Caractéristiques courant-potential (en courant imposé) dans les conditions normales et après rupture des tubules par choc osmotique.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions de référence (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1), après choc osmotique (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) (courbe 2).

Les phénomènes de rectification membranaires sont abolis.



22 - Localisation de la conductance calcico-sodique responsable, lors de son activation, du courant entrant

Les résultats antérieurs, tant en courant imposé qu'en potentiel imposé, tendent à montrer que le courant entrant responsable de la phase de dépolarisation de la  $R_d$  est porté, à la fois, par les ions  $Ca^{++}$  et les ions  $Na^+$  empruntant un même "canal calcico-sodique".

Rappelons les travaux de KIDOKORO et Coll. (1974) qui montrent, sur la fibre musculaire de larve d'Anodonte en utilisant le  $La^{+++}$ , que la localisation du lieu de passage des ions  $Ca^{++}$  serait au niveau de l'extrémité des tubules, en accord avec l'hypothèse de KEYNES et Coll., (1973) sur la fibre de balane. Ces résultats nous conduisent à supposer que la conductance d'activité  $g_{Ca + Na}$  serait localisée à l'extrémité des tubules de structure  $T_{AI}$ , donc à la fois en zone périphérique et en zone profonde (chapitre I, § 33, p. 28 ). Des résultats complémentaires étayent cette hypothèse qui, en fait, revient à dire que la conductance calcico-sodique ( $g_{Ca + Na}$ ) est en parallèle sur l'ensemble constitué par  $g_K$  en série avec l'inverse des résistances du matériel amorphe des invaginations longitudinales du sarcolemme et tout ou partie de la lumière des tubules.

## 221 - Existence de la $R_d$ en profondeur

2211 - Le traitement de la fibre par le glycérol (pression osmotique de référence multipliée par 3) se traduit, parfois, par une chute de  $E_r$  dénotant les lésions de la fibre (une pression osmotique moindre donnant des résultats aléatoires). Toutefois, lorsque  $E_r$  se maintient à une valeur normale, il est encore possible de déclencher une  $R_d$ , mais de très faible amplitude (figure 90, p. 228). En effet, l'amplitude moyenne n'est que de 20 p. 100 de l'amplitude initiale ( $n = 11$ ).

Il semble donc que la majeure partie de la  $R_d$  provienne d'une activation de  $g_{Ca + Na}$  en profondeur, une partie subsistant toutefois en surface.

2212 - La confirmation de ces résultats peut être apportée par les travaux de BRULÉ (1972) concernant les phénomènes mécaniques de la fibre isolée de crabe. En effet, par stimulation externe de la fibre dans son ensemble, grâce à des chocs de 10 ms en milieu appauvri en ions chlorure ( $[Cl^-]_e = 81 \text{ mM}$ ), la tension mécanique développée est, en moyenne, d'une valeur égale à 7 p. 100 de la tension maximale obtenue en milieu de référence, dans les mêmes conditions de stimulation. Compte-tenu de la forte diminution de la conductance de la membrane tubulaire par diminution de  $[Cl^-]_e$ , seraient stimulés des myofilaments de surface, c'est-à-dire ceux correspondant à la zone périphérique définie antérieurement (chapitre I, § 33, p. 28).

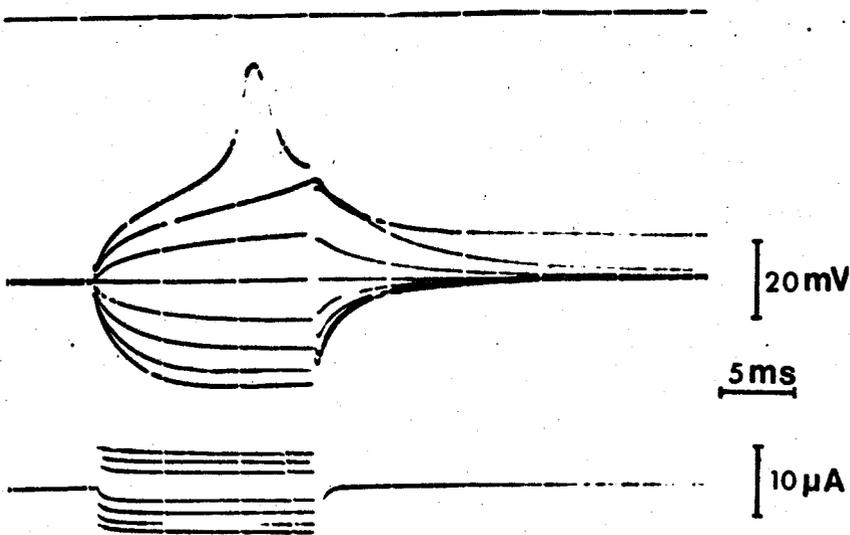


Figure 90 a

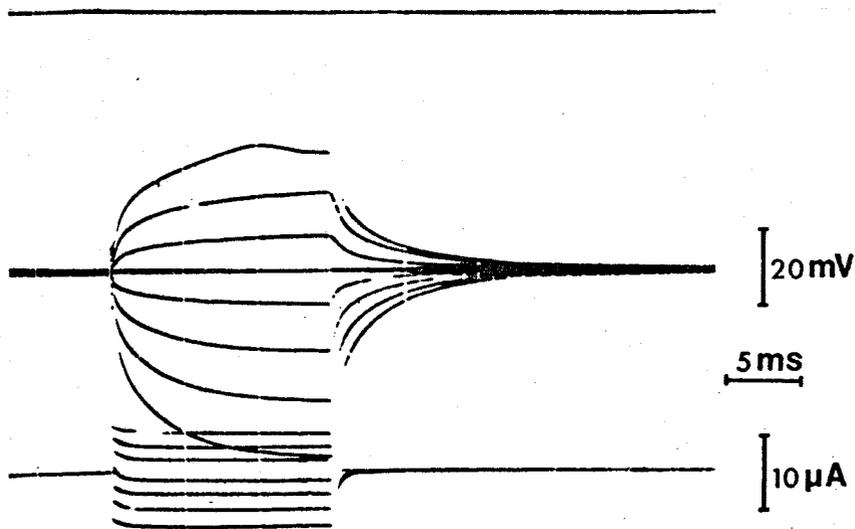


Figure 90 b



Figure 90 :  $R_d$  d'une fibre "détubulée" par choc osmotique.

Evolution de la  $R_d$  obtenue dans les conditions normales (figure 90 a) et après choc osmotique (figure 90 b).

La  $R_d$  est considérablement diminuée. Il ne subsiste, en moyenne, que 20 p. 100 de l'amplitude initiale ( $n = 11$ ).

2213 - En conclusion, il semblerait que l'activation de  $g_{Ca + Na}$  se fasse, pour une large part, en profondeur. De ce fait,  $g_{Ca + Na}$  siègerait effectivement au niveau des structures  $T_{AI}$  terminant les tubules de surface et les tubules de la zone profonde. Ainsi, la réponse de faible amplitude, enregistrée dans les conditions normales, pourrait s'expliquer par le fait qu'elle prendrait naissance à l'extrémité des tubules, son recueil, de part et d'autre de la membrane sarcolemmique, ne traduisant ainsi que son reflet. Une tentative de vérification de cette hypothèse peut être apportée en augmentant la résistance, soit du sarcolemme, soit des tubules et du sarcolemme.

#### 222 - Augmentation de la résistance du sarcolemme

2221 - Le  $Rb^+$ , remplaçant le  $K^+$  intracellulaire de la fibre squelettique de grenouille, accroît la  $R_m$  de repos et bloque les phénomènes de rectification (ADRIAN, 1964). Sur la fibre de crabe, dans des conditions analogues, il augmente seulement la résistance de repos (chapitre III, § 32, p. 167). Les fibres dont le  $K^+$  intracellulaire est en partie remplacé par du  $Rb^+$  (voir ANNEXE II), sont soumises au milieu de référence dont le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$ . Une  $R_d$  ample est obtenue, sans que soit modifiée la durée (figure 62, chapitre III, § 321, p. 167). Cet accroissement de l'amplitude de la  $R_d$  (20 mV en moyenne) peut être expliqué par une diminution du courant de fuite, comme le montre la figure 91 (p. 230) donnant l'évolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue en courant

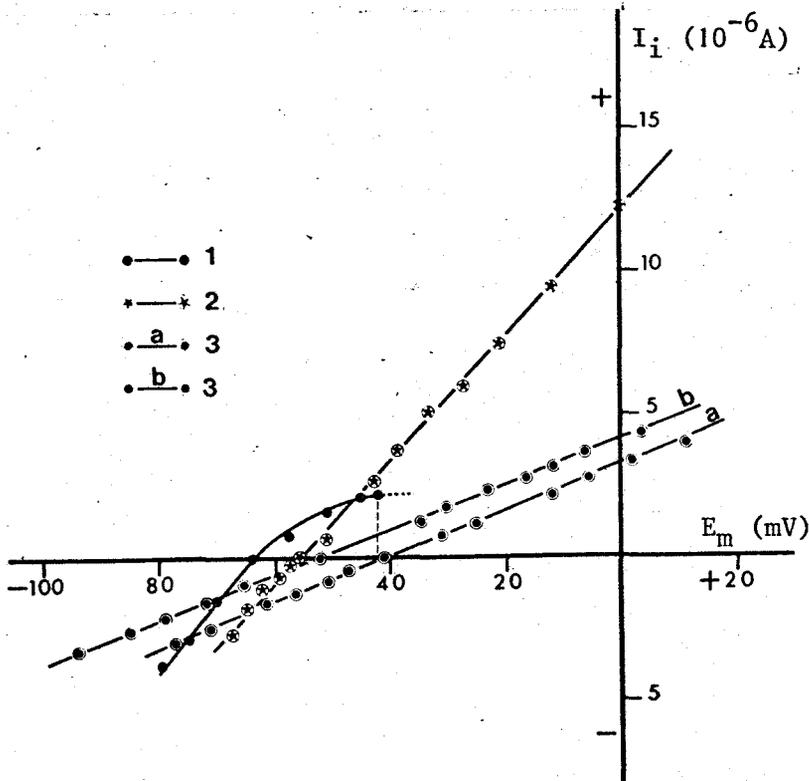


Figure 91 : Caractéristiques courant-potential obtenues (en courant imposé) en milieux dépourvus d'ions chlorure et contenant des ions  $K^+$  ou  $Rb^+$ . Ces deux milieux anormaux ne contiennent que du propionate de  $Ca^{++}$  (11,8 mM) en présence de KCl (12,9 mM) pour l'un, et de  $Rb^+$  (12,9 mM), pour l'autre. La pression osmotique est compensée par apport de saccharose ; le pH est maintenu à 7,8.

Evolution de la relation  $I_i - E_m$  obtenue dans les conditions normales (en fin d'impulsion :  $\Delta t = 15$  ms) (courbe 1) après 15 mn d'action du milieu ne contenant que des ions  $Ca^{++}$  et  $K^+$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms) (courbe 2), puis après 10 mn d'action du milieu ne contenant que des ions  $Ca^{++}$  et  $Rb^+$  (établie en fin d'impulsion :  $\Delta t = 125$  ms), la fibre n'étant pas (courbe 3a) ou étant repolarisée (courbe 3b).

En présence de Rb, la  $R_m$  augmente de façon importante.

imposé. En effet, la pente de la droite traduisant cette relation modifiée par l'action d'un milieu contenant 6,45 mM de  $K_2SO_4$  et 11,8 mM de  $CaSO_4$  (pression osmotique compensée) est réduite considérablement lorsque les ions  $K^+$  de ce milieu sont remplacés par les ions  $Rb^+$ .

2222 - En combinant le blocage de la conductance sarcolemmique et l'inhibition des phénomènes de rectification (par le TEA) on devrait s'attendre, au vu des résultats précédents, à obtenir une  $R_d$  de grande amplitude, amplitude supérieure à celle obtenue dans les conditions où seulement le phénomène de rectification retardée est inhibé en partie par le TEA (100 mM). En effet, un milieu contenant 100 mM de TEA Cl et 12,9 mM de Rb Cl (les autres ions, à l'exclusion du  $K^+$  étant présents à la concentration de référence) agissant sur une fibre dont le  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$ , entraîne l'apparition d'une  $R_d$  de grande amplitude et de grande durée. La figure 92 (p.232) donne un exemple de  $R_d$  obtenue dans ces conditions :  $E_m$ , au maximum de dépolarisation, atteint la valeur de + 48 mV ; la durée de la phase de repolarisation est proche de 1 s. L'ensemble des résultats obtenus donne, du potentiel maximum atteint par la  $R_d$  la valeur moyenne de  $+ 31,0 \pm 9,9$  mV ( $n = 10$ ) et de la durée de la phase de repolarisation, celle de  $560 \pm 95$  ms.

L'absence de  $Na^+$  du milieu anormal concerné ci-dessus entraîne, comme le montre l'exemple de la figure 93 (p.233),

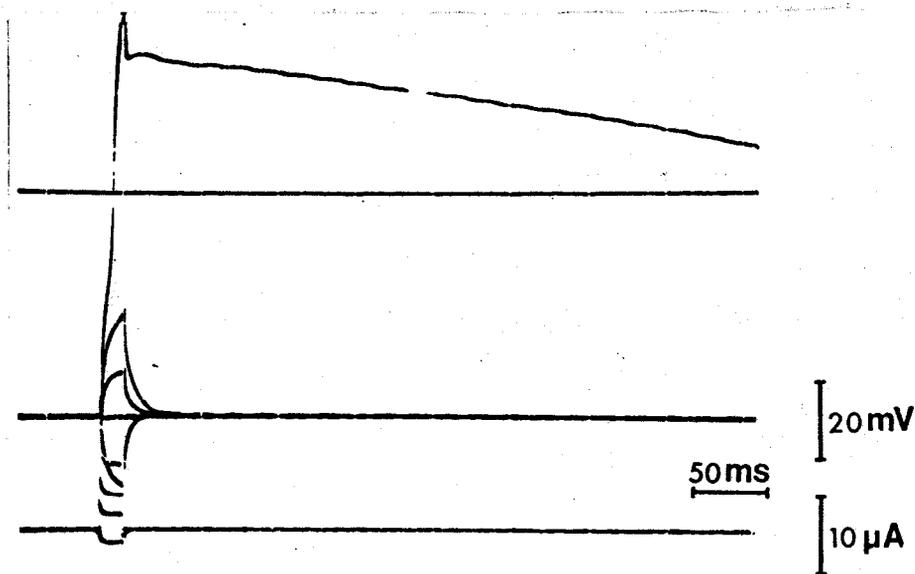


Figure 92 :  $R_d$  d'une fibre de crabe ayant séjourné 8 jours dans de l'eau de mer artificielle, dont le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$  sous l'action du milieu de référence modifié, contenant 100 mM d'ions  $TEA^+$ , les ions  $K^+$  étant remplacés par les ions  $Rb^+$ .

La  $R_d$  est ample et durable. En moyenne, sa durée est de  $560 \pm 95$  ms et l'amplitude de l'inversion de potentiel est de  $37,0 \pm 9,9$  mV ( $n = 10$ ).

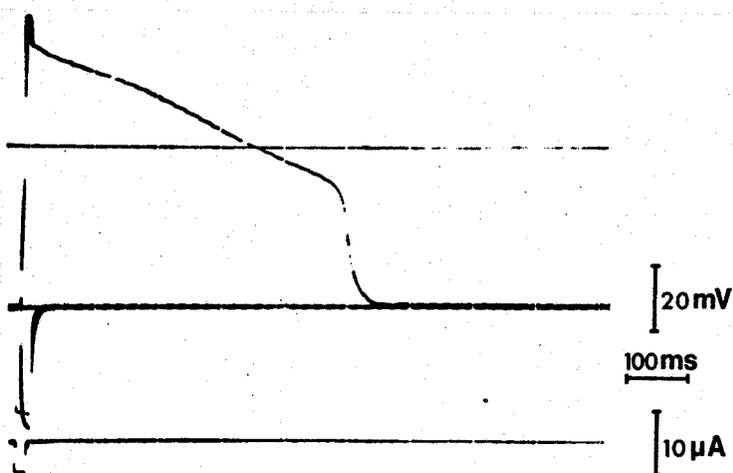


Figure 93 a

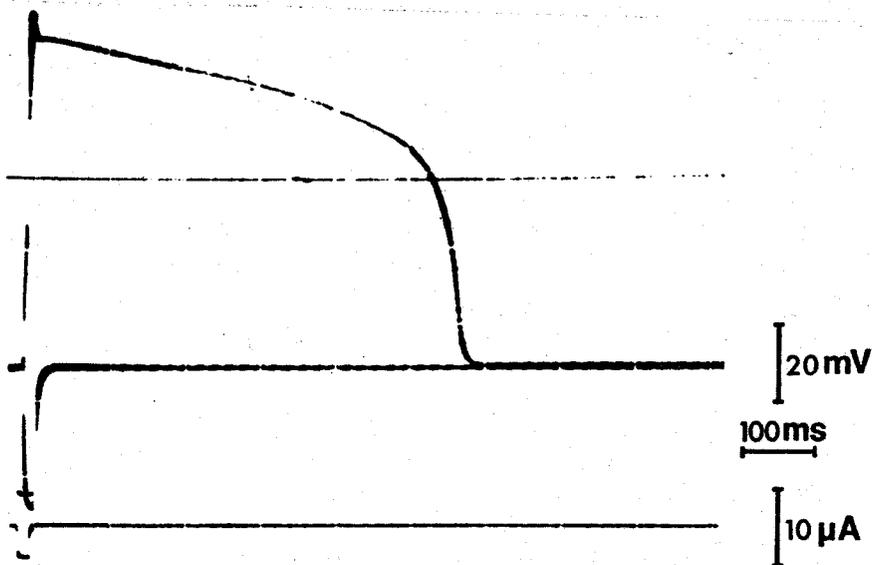


Figure 93 b

Figure 93 : Modification de la  $R_d$  d'une fibre (dont le  $K^+$  intracellulaire est partiellement remplacé par du  $Rb^+$ ) obtenue en présence de  $TEA^+$  et de  $Rb^+$  (remplaçant le  $K^+$ ) lorsque le  $Na^+$  extracellulaire est supprimé.

$R_d$  en milieu de référence modifié par addition de TEA (100 mM) et substitution du  $K^+$  par du  $Rb^+$  (figure 93 a) puis en absence de  $Na^+$  après 10 mn d'action (figure 93 b).

L'absence de  $Na^+$  extracellulaire se traduit par une réponse plus ample ( $+ 6,6 \pm 4,6$  mV ;  $n = 6$ ).

une augmentation de l'amplitude de la  $R_d$ . Cette augmentation dont la valeur moyenne est de  $6,6 \pm 4,6$  mV, est faible. Toutefois, elle confirme les résultats obtenus sur la fibre placée en absence de  $\text{Na}^+$  extracellulaire (chapitre III, § 111, p.129), à savoir qu'il existe un canal calcico-sodique.

Le blocage de la conductance sarcolemmique ( $g_K$ ) peut également être obtenu par les ions  $\text{H}^+$  (chapitre II, § 3223, p.88) et par absence des ions  $\text{K}^+$  du milieu extracellulaire. En associant à ce blocage de  $g_K$  une inhibition du phénomène de rectification par le TEA, des résultats analogues à ceux observés précédemment doivent être attendus. Le milieu anormal contient 100 mM de TEA Cl, les concentrations en ions chlorure,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Mg}^{++}$  étant maintenus à leur valeur de référence. Le pH est amené à la valeur 4,25 par utilisation d'un tampon biphtalate de  $\text{K}^+$  (5 mM) - Na OH (0,25 mM). Les effets de ce milieu anormal consistent en une faible hyperpolarisation de repos ( $E_r = -70,1 \pm 8,6$  mV) et en une augmentation de la  $R_d$ , à la fois de son amplitude (il apparaît une inversion du potentiel de  $+72,2 \pm 11,3$  mV,  $n = 14$ ) et de sa durée.

La figure 94 (p.235) donne un exemple de la  $R_d$  enregistrée dans ces conditions. Cette  $R_d$  est analogue à celle obtenue en remplaçant le  $\text{K}^+$  par du  $\text{Rb}^+$ . Toutefois, l'inversion de potentiel obtenue lors de la  $R_d$ , en bloquant  $g_K$  par les ions  $\text{H}^+$  (+ 72,2 mV), est supérieure à celle obtenue en remplaçant les

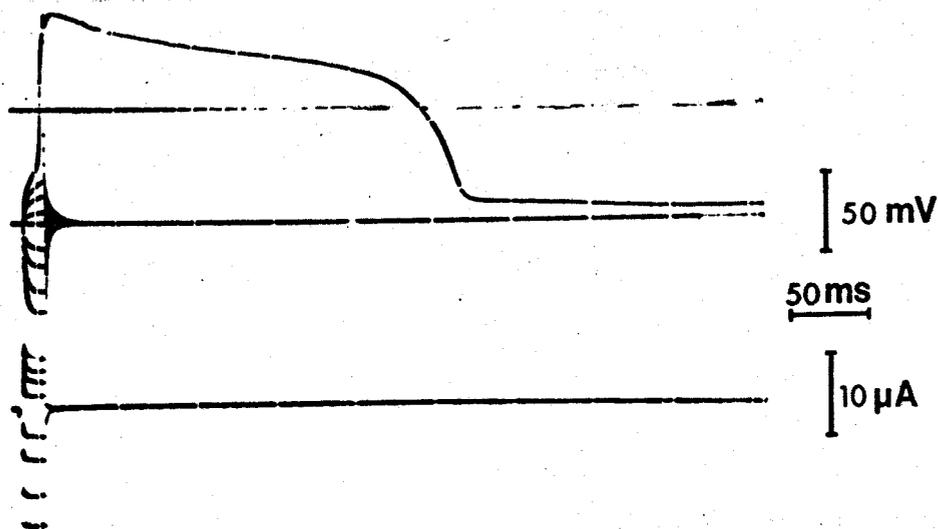


Figure 94 :  $R_d$  d'une fibre immergée dans le milieu de référence modifié : acide (pH 4,25) et additionné de TEA (100 mM), les autres ions étant maintenus à leur concentration normale.

Dans ces conditions, la  $R_d$  devient durable et ample (la valeur moyenne de l'inversion de potentiel atteint  $+72,2 \pm 11,3$  mV ;  $n = 14$ ).



ions  $K^+$  par les ions  $Rb^+$  (+ 31 mV). Cette différence peut s'expliquer en considérant que, dans ce dernier cas, un courant de fuite prenant naissance au niveau sarcolemmique subsiste, la conductance sarcolemmique n'étant pas bloquée entièrement. Par contre, elle le serait plus totalement par les ions  $H^+$ .

2223 - Ainsi, ces résultats obtenus en modifiant la résistance de la membrane sarcolemmique incitent à penser que :

- dans les conditions normales, la  $R_d$  se trouve shuntée par la présence de la résistance sarcolemmique inhérente à  $g_K$ .

- lors de cette  $R_d$ ,  $E_m$  doit tendre vers la valeur d'un potentiel d'équilibre au moins égal à + 72,2 mV, ce qui confirmerait les valeurs du potentiel d'inversion de la pile aux ions responsables du courant entrant, valeurs déterminées en potentiel imposé (chapitre III, § 12, p.142 ).

223 - Augmentation simultanée des résistances membranaires sarcolemmique et tubulaire

Le blocage de  $g_K$  par les ions  $H^+$  et l'augmentation de la résistance de la membrane tubulaire par diminution de  $[Cl^-]_e$  devraient augmenter l'amplitude de la  $R_d$ , étant donné que

$E_{Ca + Na}$  ne devrait plus être shuntée par  $1/g_{Cl}$  et  $1/g_K$  dans la mesure où  $g_{Ca + Na}$  est en parallèle, à la fois avec  $g_{Cl}$  et  $g_K$ .

2231 - Un milieu permettant le blocage de  $g_K$ , ( $[K^+]_e = 0,3$  pH = 4,25) et la diminution de  $g_{Cl}$  par réduction de  $[Cl^-]_e$  ( $[Cl^-]_e = 60$  mEq), ne modifie pas la  $R_d$  dans le sens attendu, comme le montre l'exemple de la figure 95 (p.238). En effet, l'amplitude de cette  $R_d$  diminue, le niveau de potentiel n'atteignant, lors de la phase de dépolarisation, que la valeur moyenne de  $-26,2 \pm 6,7$  mV. Cette faible valeur de l'amplitude de la  $R_d$  n'est due, ni à la dépolarisation de repos (le maintien de  $E_r$  à sa valeur de référence ne la modifiant pas), ni à une modification éventuelle du seuil d'initiation de la réponse.

Ainsi, le fait de diminuer  $g_{Cl}$  ne démasque pas la possibilité à la  $R_d$  d'atteindre une valeur élevée de potentiel. Ceci peut s'expliquer de différentes façons :

- il subsiste des phénomènes de rectification, le seuil de la rectification retardée étant déplacé vers une valeur de potentiel moins négative que dans les conditions normales (chapitre III, § 4144, p. 194).

- la courbe d'inactivation du courant entrant de  $Ca^{++}$  serait, en milieu pauvre en  $Cl^-$ , déplacée dans le sens des hyperpolarisations, selon l'hypothèse de MOUNIER et VASSORT (1974).

- la polarisation de la membrane en profondeur serait différente et plus basse que celle de la membrane de surface ; ceci pourrait expliquer une inactivation de  $g_{Ca + Na}$  en profon-

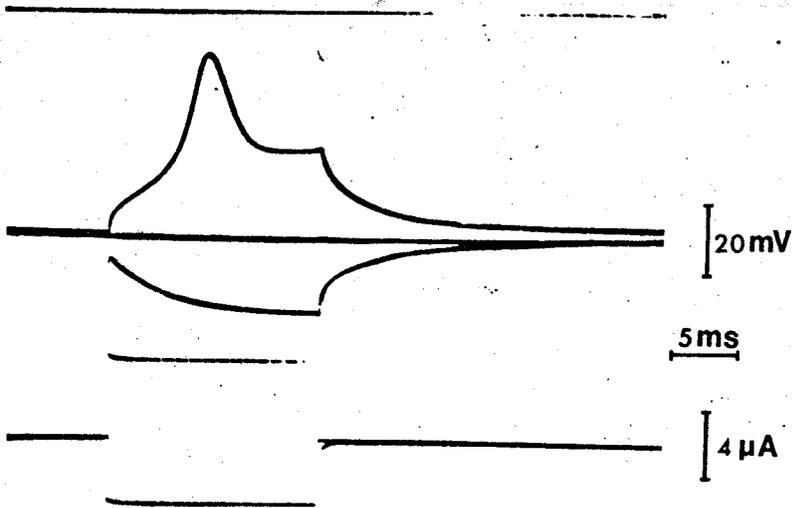


Figure 95 a

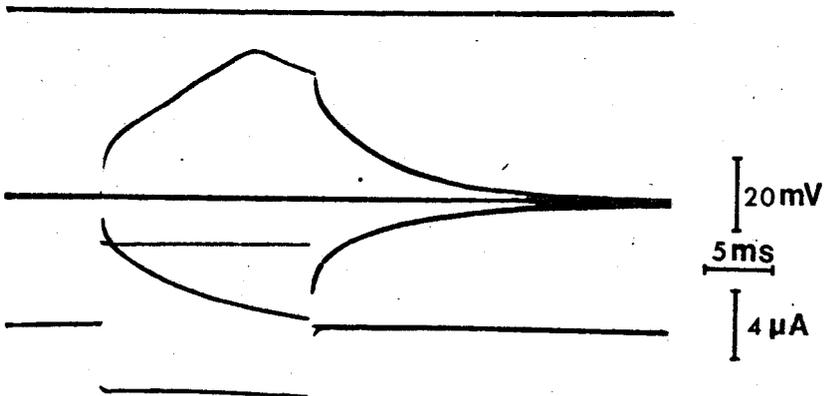


Figure 95 b



Figure 95 :  $R_d$  d'une fibre immergée en milieu acide ( $\text{pH} = 4,25$ ) appauvri en ions chlorure (534 mM des 594 mM du milieu de référence sont remplacées, mM à mM, par des ions propionate).

Evolution de la  $R_d$  obtenue dans les conditions normales (figure 95 a) et après 30 mn d'action du milieu anormal (figure 95 b).

La  $R_d$  est d'amplitude plus faible que dans les conditions normales.

deur, sans pour autant invoquer un déplacement vers les hyperpolarisations de l'éventuelle courbe d'inactivation de la conductance calcique. En effet, sur la fibre de balane, KEYNES et Coll. (1973) montrent qu'il n'existe pas de phénomène d'inactivation de la conductance calcique. Dans ces conditions :

- une accumulation de  $Ca^{++}$  à l'intérieur de la fibre selon l'hypothèse de KEYNES et Coll. diminuerait la valeur de  $E_{Ca}$ .

2232 - Une accumulation d'ions  $Ca^{++}$  dans la partie non stimulée de la fibre pourrait se produire suite à l'activation de  $g_{Ca}$ . Cette activation peut être due à la dépolarisation consécutive à l'effet du milieu pauvre en  $Cl^-$ . Il s'en suivrait, de ce fait, une diminution de la valeur de  $E_{Ca + Na}$ . Cette éventuelle accumulation peut être éliminée en réduisant la fibre à un élément de faible longueur par ligature (longueur de l'ordre de 400  $\mu m$ ) et en repolarisant l'élément de membrane interrogé. Dans ces conditions, le milieu utilisé précédemment (§ 2231, p. 237) bloquant  $g_K$  et diminuant  $g_{Cl}$ , (milieu acide pauvre en  $Cl^-$ ), ne permet pas d'obtenir de  $R_d$  plus ample. (figures 96 a, p.240 et 96 b, p.240 ). En effet, la repolarisation et même l'hyperpolarisation homogène, par un courant constant, de l'élément de fibre cloisonnée, ( $E_m$  est maintenu à une valeur de l'ordre de - 100 mV), ne permet pas d'accroître la réponse. Ce résultat semble infirmer l'hypothèse selon

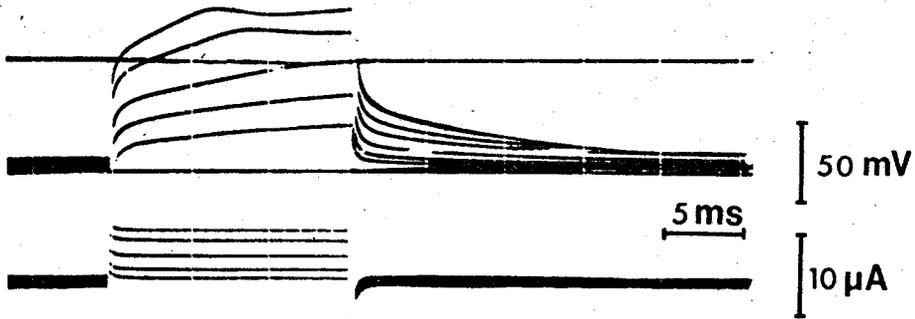


Figure 96 a

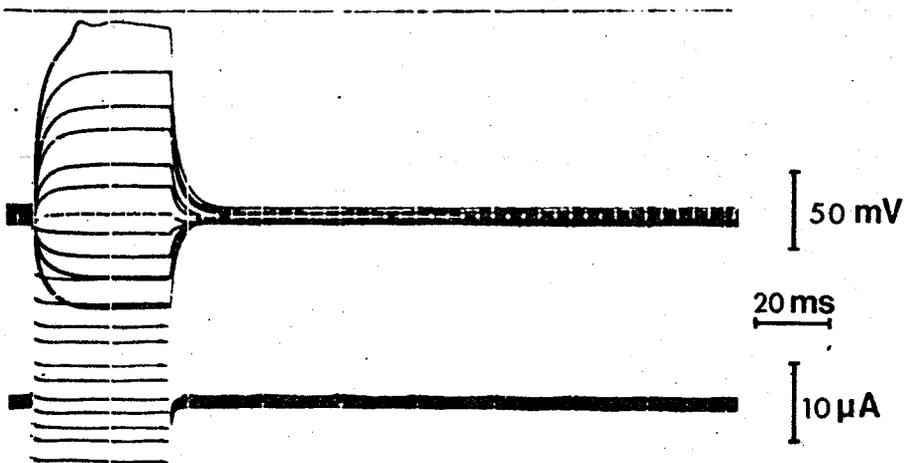


Figure 96 b

Figure 96 : Réponses dépolarisantes en milieu acide ( $\text{pH} = 4,25$ ) et appauvri en ions chlorure (60 mM au lieu de 594 ; les ions de remplacement sont les ions propionate sur fibres cloisonnées par ligature.

96 a :  $R_d$  d'un élément de fibre dont le potentiel de repos est maintenu à sa valeur initiale après 20 mn d'action du milieu anormal.

96 b :  $R_d$  d'un élément d'une autre fibre dont le potentiel de repos est maintenu à une valeur très négative (-130 mV dans le cas de la figure) pendant toute la durée d'action du milieu anormal (25 mn).

La  $R_d$  reste de très faible amplitude.

laquelle, en milieu pauvre en  $\text{Cl}^-$ , il y aurait, si le processus existe, un déplacement de la courbe d'inactivation de la conductance calcique vers les valeurs négatives de  $E_m$ .

2233 - En conclusion, il semble que la localisation de  $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$  corresponde bien à l'hypothèse formulée à la fin du chapitre II. En effet, la très forte amplitude de la  $R_d$  obtenue en bloquant  $g_K$  (soit par les ions  $\text{H}^+$  et l'absence de  $\text{K}^+$  extracellulaire, soit par remplacement des ions  $\text{K}^+$  intra- et extracellulaires par les ions  $\text{Rb}^+$ ) et les phénomènes de rectification (par le TEA), rendent compte de la position en profondeur de la conductance  $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$  en accord avec le schéma proposé au chapitre II, § 24, (figure 45, p. 127).

Il apparaît :

- que  $E_{\text{Ca} + \text{Na}}$ , en profondeur, ne serait pas diminuée par une éventuelle accumulation de  $\text{Ca}^{++}$  à l'intérieur de la fibre, accumulation suggérée par KEYNES et Coll. (1973) sur la fibre musculaire de balane ;

- qu'en milieu appauvri en ions chlorure, la faible amplitude de la  $R_d$  ne serait pas due à un déplacement de la courbe d'inactivation de  $g_{\text{Ca}}$ , comme le proposent MOUNIER et VASSORT (1974) sur la fibre de crabe. Ainsi, si la conductance  $g_{\text{Ca} + \text{Na}}$  est localisée à l'extrémité des tubules, il est probable qu'une partie de la forte résistance longitudinale de ces tubules et celle correspondant aux invaginations du sarcolemme

font qu'en surface, le potentiel d'activité soit très atténué. En effet, la résistance longitudinale des tubules ne peut être négligée, compte-tenu de leur diamètre ( $0,2 \mu\text{m}$  en moyenne) et de leur longueur (qui peut dépasser largement  $100 \mu\text{m}$ ). Sur ces bases de dimensions moyennes, et en considérant la lumière des tubules remplie de liquide physiologique, dont la résistivité est de  $20 \Omega.\text{cm}$  selon SHAW (1955 a), le calcul donne une valeur de résistance de l'ordre de  $2000 \text{M}\Omega$ . Cette valeur élevée expliquerait qu'en surface  $E_{\text{Ca} + \text{Na}}$  ne serait enregistré qu'après sa chute dans tout ou partie de cette résistance; la conductance au  $\text{Cl}^-$  du STT pouvant, dans les conditions normales, shunter plus ou moins cette résistance.

Enfin, si le processus d'inactivation est bien présent sur la fibre de crabe (MOUNIER et VASSORT, 1973), bien que sur la fibre de balane, ce processus n'existe pas (KEYNES et Coll., 1973), il pourrait expliquer pourquoi, dans les conditions de blocage de  $g_K$  et de diminution de  $g_{\text{Cl}}$ , la  $R_d$  est de faible amplitude, dans la mesure où la concentration intracellulaire de  $\text{Cl}^-$  libre, dans les conditions d'état stable, n'est dépendante ni du potentiel  $E_r$ , ni de  $[\text{Cl}^-]_e$  (c'est-à-dire dans la mesure où il existe un phénomène de transport actif de  $\text{Cl}^-$ ). En effet, la disponibilité de l'activation de la conductance membranaire au  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$  serait en relation avec la valeur de  $E_{\text{Cl}}$  et donc avec l'éventuelle existence d'un transport actif. Ceci n'est pas inconcevable dans la mesure où il a été

montré que, chez les fibres de Crustacés, les mouvements d'ions chlorure pourraient ne pas être exclusivement passifs (RICHARDS, 1969) ; GOUBEL et GUILBAULT, 1972 a, sur la fibre squelettique de crabe ; DELALEU (1974) sur la fibre myocardique de cloporte).

224 - Importance de  $E_{Cl}$  pour l'activation de  $g_{Ca + Na}$

2241 - Considérations générales

Les résultats obtenus sur notre préparation, concernant la détermination des processus responsables des mouvements d'ions régissant  $E_r$ , montrent que le  $K^+$  et le  $Cl^+$  ne peuvent être distribués passivement selon leur gradient électrochimique, puisque la membrane est perméable au  $Na^+$  (chapitre II, § 321, p. 81 ).

En effet, MOUNIER (1970) montre que la pente de la droite traduisant la relation  $E_m - \log [K^+]_e$  est de 47 mV en absence d'ions chlorure extracellulaire et de 33 mV en présence de ceux-ci, lorsque  $[K^+]_e$  est modifiée par un facteur de 10. Sachant, de plus, que  $g_{Cl}$  représente 56 p. 100 de la conductance membranaire totale de repos et  $g_K + g_{Na}$ , 44 p. 100, (MOUNIER et GUILBAULT, 1970), il est difficile d'expliquer  $E_r$  sans faire intervenir un mouvement net d'ions chlorure, d'autant qu'en milieu acide, la fibre se comporte justement comme une électrode aux ions chlorure et que le calcul de  $[Cl^-]_i$  donne une valeur de

62 mM (MOUNIER et Coll., 1970), supérieure à ce que prévoit la distribution passive. De même, GOUBEL et GUILBAULT (1972 b), GOUBEL (1973), en étudiant les variations simultanées de  $E_r$  et de l'activité du  $Cl^-$  intracellulaire consécutives à des modifications du contenu ionique du milieu extracellulaire, sont amenés à émettre l'hypothèse d'un transport actif d'ions chlorure puisque l'activité de ces ions, dans le milieu intracellulaire, reste constante, quelle que soit la valeur de  $E_r$  ; ceci, de toute évidence, traduit l'existence d'une distribution non exclusivement passive. Cette hypothèse est proposée par ailleurs pour expliquer l'électrogénèse de repos des membranes de fibres excitables d'Invertébrés et de Vertébrés (voir THOMAS, 1972). RUSSELL et BROWN (1972) montrent l'existence d'un transport actif d'ions chlorure sur le neurone géant du ganglion abdominal de l'aplysie *Aplysia californica* ; de même, la mesure de  $[Cl^-]_i$  des fibres ventriculaires de rat donne une valeur qui conduit POLIMENI (1974) à supposer une distribution non passive des ions chlorure.

De plus, sur notre préparation, les effets du 2-4 dinitrophénol, de l'ouabaïne et du froid conduisent à la même hypothèse.

- Le 2-4 dinitrophénol (DNP) est connu pour bloquer la chaîne des oxydations cellulaires au niveau des transporteurs d'ions  $H^+$ . A la concentration de  $10^{-8}$  g/ml, le DNP dépolarise très rapidement et réversiblement la membrane de la fibre

musculaire de crabe ( $E_r$  passe de  $-65,4$  mV à  $-58,5$  mV : (GOUBEL et GUILBAULT, 1972 b ; GOUBEL, 1973). Cette dépolarisation est expliquée par l'inhibition de la pompe électrogène permettant le transport actif des ions chlorure et celui des ions  $K^+$  et  $Na^+$ . De plus, ils montrent que l'activité du  $Cl^-$  intracellulaire est indépendante de la dépolarisation membranaire consécutive à des modifications de  $[K^+]_e$ , mais par contre, qu'elle devient dépendante en présence de DNP. Cette hypothèse est confirmée par VAN DETH (1974) qui montre que le DNP est sans effet sur la valeur de  $E_r$  et celle de  $R_m$  de la fibre de crabe maintenue à basse température.

- L'ouabaïne inhibe sélectivement la pompe  $Na^+ - K^+$ , ce qui est montré, entre autres, par RUSSELL et BROWN (1972) sur le neurone d'aplysie, CASTEELS (1966), MAGARIBUCHI et KURIYAMA (1972), BRADING et WIDDICOMBE (1974) sur le muscle lisse taenia coli de cobaye, ARMSTRONG, W.M.D. (1969) sur la fibre musculaire squelettique de grenouille, BITTAR et Coll. (1973), BITTAR et Coll. (1974), sur celle de balane. De même, sur la fibre de crabe, à la concentration de  $10^{-7}$  g/ml, l'ouabaïne rend  $E_{Cl}$  dépendante de  $E_r$  pour des  $[K^+]_e$  voisines de la normale, ce qui revient à dire que la distribution des ions chlorure devient passive (GOUBEL et GUILBAULT, 1972 b ; GOUBEL, 1973). Par contre, un excès de  $K^+$  tend à rendre, en présence d'ouabaïne,  $E_{Cl}$  non dépendante de  $E_r$ , conformément au fait que le  $K^+$  en excès lève l'inhibition de la pompe  $Na^+ - K^+$  par l'ouabaïne. Ainsi, le

mouvement actif des ions chlorure serait couplé à ceux des cations  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ , ce qui est à rapprocher des résultats de CASTEELS sur le taenia coli de cobaye (1966) ; cet auteur suggère un passage des ions  $\text{K}^+$ , à travers la membrane, en association avec un anion. Compte-tenu des effets rapides et réversibles des inhibiteurs du métabolisme, l'hypothèse de l'existence sur notre préparation, d'un courant de nature active dans le maintien de  $E_r$ , grâce à une pompe électrogène, se retrouve sur d'autres tissus excitables. C'est le cas des fibres musculaires d'Insectes où HUDDART et WOOD (1966), RHEUBEN (1972) expliquent la valeur de  $E_r$  par l'existence d'une pompe électrogène, ainsi que PIEK et Coll. (1973), mais d'une façon moins affirmative.

- Un autre moyen d'inhiber les transports actifs et dont il a déjà été question précédemment (VAN DETH, 1974), consiste à refroidir la préparation. Il convient, toutefois, de tenir compte du coefficient R.T. affectant les mouvements passifs d'ions.

#### 22412 - Effet de l'abaissement thermique

##### 224121 - sur $E_r$

La figure 97 (p. 247) montre l'évolution moyenne de  $E_r$  et de  $R_m$  de repos de la fibre squelettique de crabe en fonction de la température ( $\theta$ ) (le temps nécessaire à l'obtention d'un état stable étant respecté). La droite de régression ( $E_r = 1,78 \theta - 47,25$  avec un coefficient de corrélation de

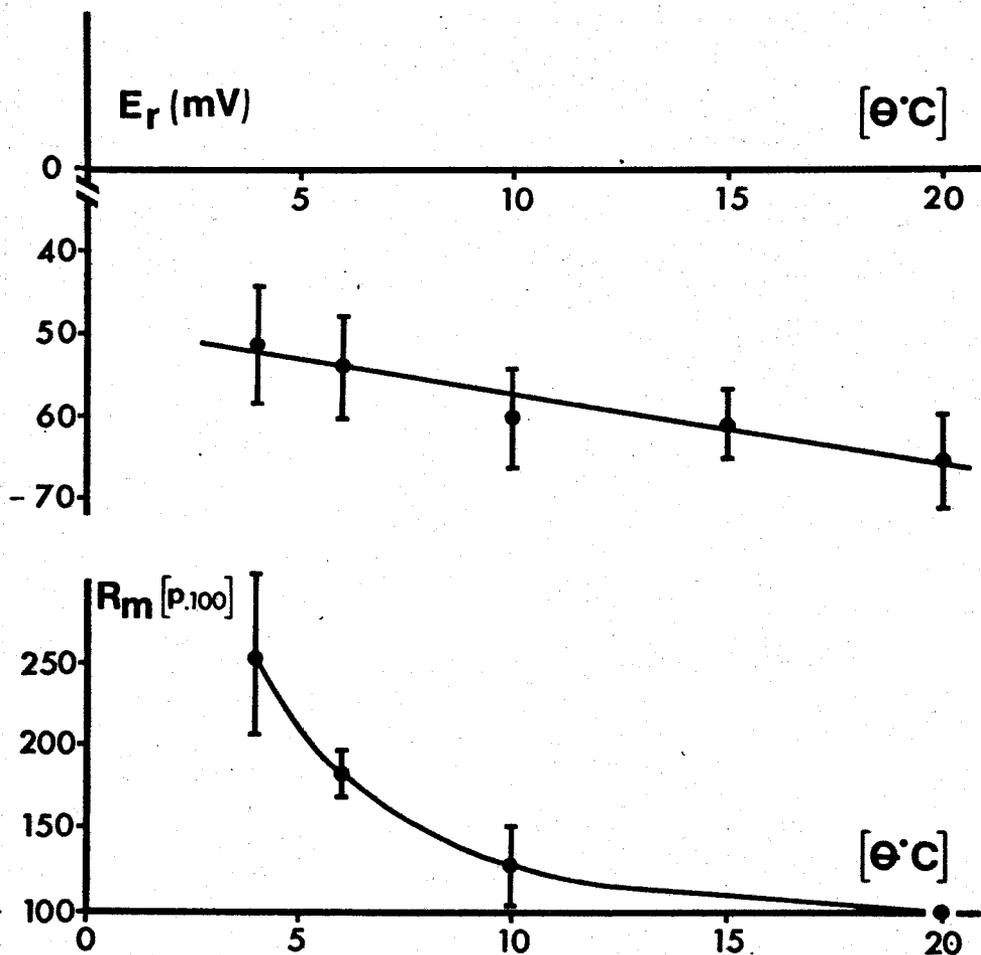


Figure 97 : Variations de  $E_r$  et de  $R_m$  (moyennes + écart-type ;  $n = 24$ ), à l'état stable, en fonction de la température.  
100 p: 100 de  $R_m$  correspondent à la valeur de référence.

L'abaissement thermique dépolarise la membrane tout en augmentant fortement la résistance.



. 990) montre que  $E_r$  passe de la valeur  $-65,1 \pm 5,5$  mV à  $\theta = 20^\circ\text{C}$ .

à celle de  $-52,1 \pm 7$  mV à  $\theta = 4^\circ\text{C}$  ( $n = 24$ ). La dépolarisation de la membrane est donc de 13 mV pour un abaissement thermique de  $16^\circ\text{C}$  ; corrélativement, la  $R_m$  s'accroît réversiblement selon un facteur de 2,5. Ces résultats sont conformes à ceux trouvés, sur la même préparation, par KERKUT et RIDGE (1961) qui donnent une variation de 5 mV pour  $E_r$ , lorsque  $\theta$  passe de  $17,5^\circ\text{C}$  à  $24^\circ\text{C}$  et sur la fibre de balane par HINKE et Mc LAUGHLIN (1967) où  $E_r$  varie de 13 mV pour un abaissement thermique de  $18^\circ\text{C}$ .

Ces variations de  $E_r$  ne sont pas explicables par le terme T de l'expression  $\frac{RT}{nF}$  affectant l'équation de GOLDMAN. En effet, lorsque  $\theta$  évolue de  $20^\circ\text{C}$  à  $4^\circ\text{C}$ , le calcul donne, si l'on considère que les autres termes de l'équation du champ constant ne sont pas affectés, une variation de  $E_m$  de 3,1 mV,  $E_r$  devant passer de  $-65,1$  mV à  $-62,0$  mV. Cette valeur de 3 mV est loin des 13 mV obtenus expérimentalement, ce qui permet de suggérer, avec KERKUT et RIDGE (1961), que le maintien de  $E_r$ , dans les conditions normales, est lié, entre autres, à l'existence d'un transport actif. De même, ROTHBERG (1973), sur la fibre musculaire de balane *Balanus nubilus*, émet l'hypothèse selon laquelle les variations de  $E_r$ , sous l'effet de l'abaissement de température, seraient corrélatives de l'inhibition d'une pompe électrogène, bien que FISCHBARG et SPYROPOULOS (1971), FISCHBARG (1972), LATORRE et DIPOLLO (1971) montrent que les effets dûs aux varia-

tions de la température ne sont pas abolis par les inhibiteurs métaboliques. Pour cette raison, DIPOLO et LATORRE (1972) suggèrent que les variations de  $E_r$  liées à la température sont essentiellement causées par la valeur différente des rapports de perméabilités passives. En effet, FISCHBARG (1972), étudiant les variations de ces rapports, conclut que chaque ion perméant est associé à un site membranaire propre et que l'équilibre ion-site est dépendant de la température. Toutefois, il n'exclut pas l'influence de cette dernière sur la pompe électrogénique sodique. Il est à noter, cependant, que la fibre de balane se comporte, vis-à-vis de la température, différemment de celle de crabe. En effet, sur la fibre de balane, des variations de  $E_r$  selon la température s'observent en présence ou non d'inhibiteurs (DNP, ouabaïne) appliqués extérieurement (FISCHBARG, 1972) alors que, chez la fibre de crabe, les inhibiteurs sont sans effet à basse température (VAN DETH, 1974).

#### 224/22 - sur la $R_d$

L'abaissement de la température se traduit par l'obtention d'une  $R_d$  dont l'amplitude est telle qu'une inversion de potentiel apparaisse ( $E_m$  atteint  $+ 14,0 \pm 5,6$  mV,  $n = 25$ ). La figure 98 (p. 250) montre l'évolution de la  $R_d$  d'une fibre immergée dans le milieu de référence, sous l'effet d'une variation progressive de la température de  $20^\circ\text{C}$  à  $4^\circ\text{C}$ . La vitesse de la phase de dépolarisation de  $13,3 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$  à  $20^\circ\text{C}$  devient

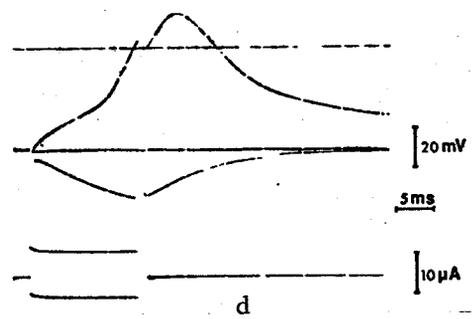
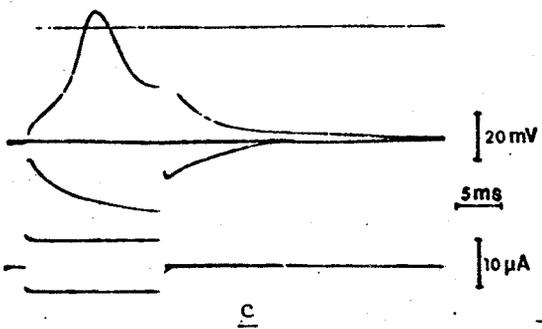
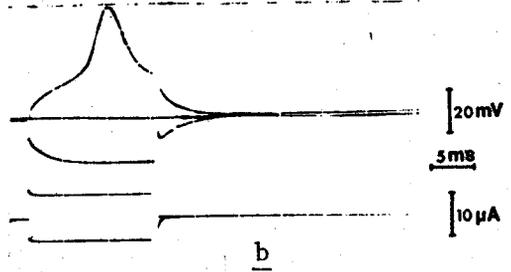
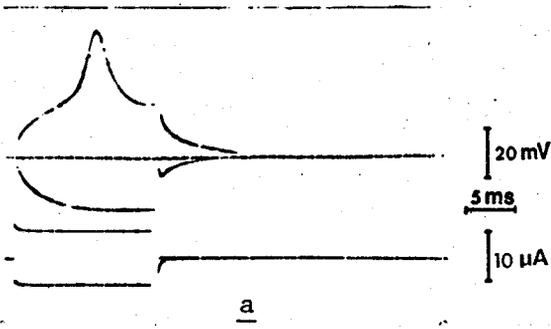


Figure 98 : Evolution de la  $R_d$  d'une fibre à l'état stable placée, dans le milieu de référence, en fonction de la température

- a)  $\theta = 20^\circ\text{C}$  (référence)
- b)  $\theta = 11^\circ\text{C}$
- c)  $\theta = 8^\circ\text{C}$
- d)  $\theta = 4^\circ\text{C}$



L'abaissement thermique, tout en dépolarisant la membrane, accroît l'amplitude et la durée de la  $R_d$ .

égale à  $5,5 \text{ V.s}^{-1}$  à  $4^\circ\text{C}$ . L'amplitude de la  $R_d$ , comme le montre la figure 99 (p. 252), n'est pas fonction de l'intensité du courant de stimulation. De plus, il n'est pas nécessaire que le courant dépolarisant, appliqué à la membrane, soit maintenu pour permettre le développement de la  $R_d$  (figure 99 b, p. 252), laquelle présente un post-potentiel consécutif négatif très durable (figure 100, p. 253). Enfin, dans certains cas, l'amplitude de la dépolarisation de repos est telle que, le seuil critique de potentiel atteint, une activité spontanée apparaît (figure 101, p. 254).

En conclusion, l'accroissement de l'amplitude de la réponse, sous l'influence de l'abaissement thermique, peut être expliqué si l'on tient compte de la très forte augmentation de la résistance membranaire sous l'effet du froid. En effet, les courbes de la figure 102 (p. 255) traduisant la relation  $I_i - E_m$  obtenue en courant imposé, montrent l'augmentation importante de la résistance membranaire sans que change significativement le seuil de potentiel pour lequel la  $R_d$  se déclenche.

Ainsi, l'effet du froid sur la  $R_d$  se révèle assez comparable à celui obtenu lorsque les ions  $\text{K}^+$  intra- et extracellulaires sont remplacés par des ions  $\text{Rb}^+$ , à la seule différence, qu'à basse température, une augmentation de la durée des différentes phases de la  $R_d$  se manifeste. Cette augmentation peut être simplement attribuée à une diminution des constantes de vitesse d'activation des conductances responsables de l'ac-

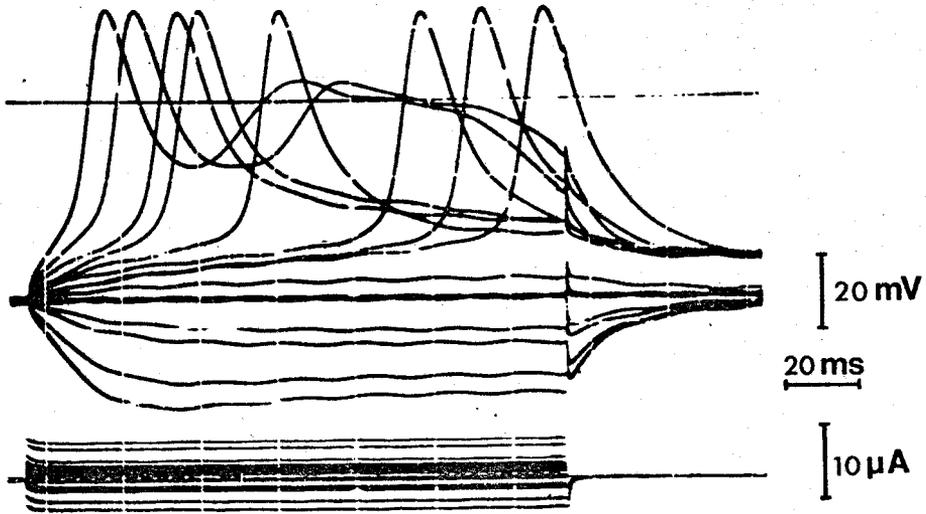


Figure 99 a

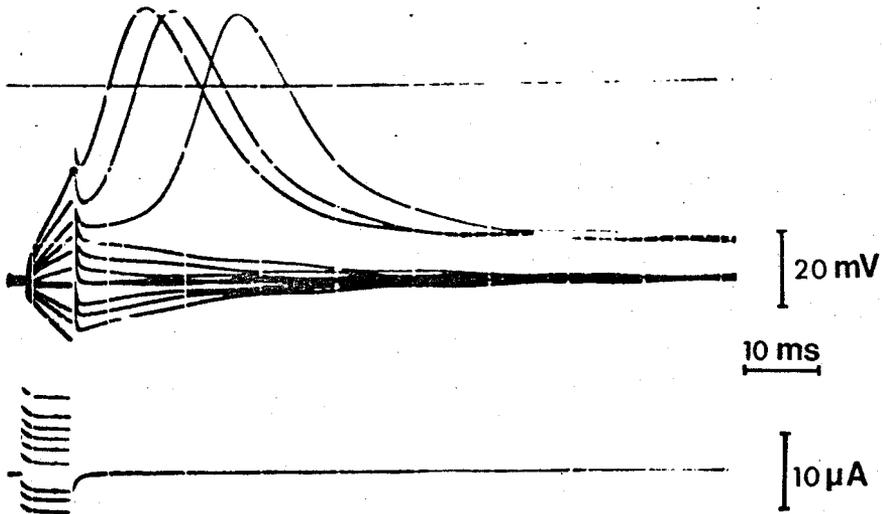


Figure 99 b

Figure 99 : Influence de la durée et de l'intensité du courant de stimulation sur la  $R_d$  d'une fibre placée dans le milieu de référence refroidi ( $2,4^\circ\text{C}$ ).

a - pour une grande durée de stimulation (120 ms).

b - pour une durée brève (7 ms).

L'amplitude de la  $R_d$  à basse température, est indépendante de la durée et de l'intensité du courant appliqué à la membrane.

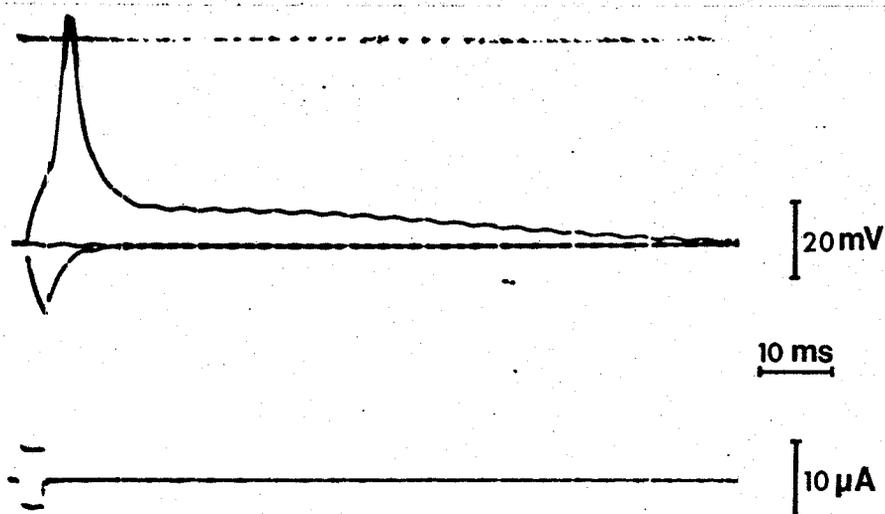


Figure 100 : Mise en évidence de l'importante durée de post-potentiel négatif de la  $R_d$  à basse température ( $5,5^{\circ}\text{C}$ ).

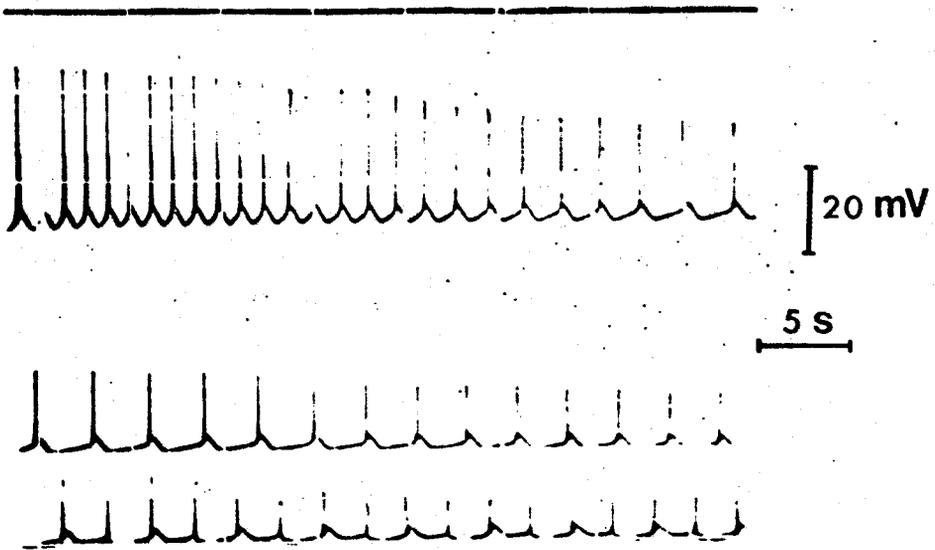


Figure 101 : Activité spontanée d'une fibre placée dans le milieu de référence, déclenchée par la dépolarisation consécutive à l'abaissement thermique de  $20^{\circ}\text{C}$  à  $6^{\circ}\text{C}$ .

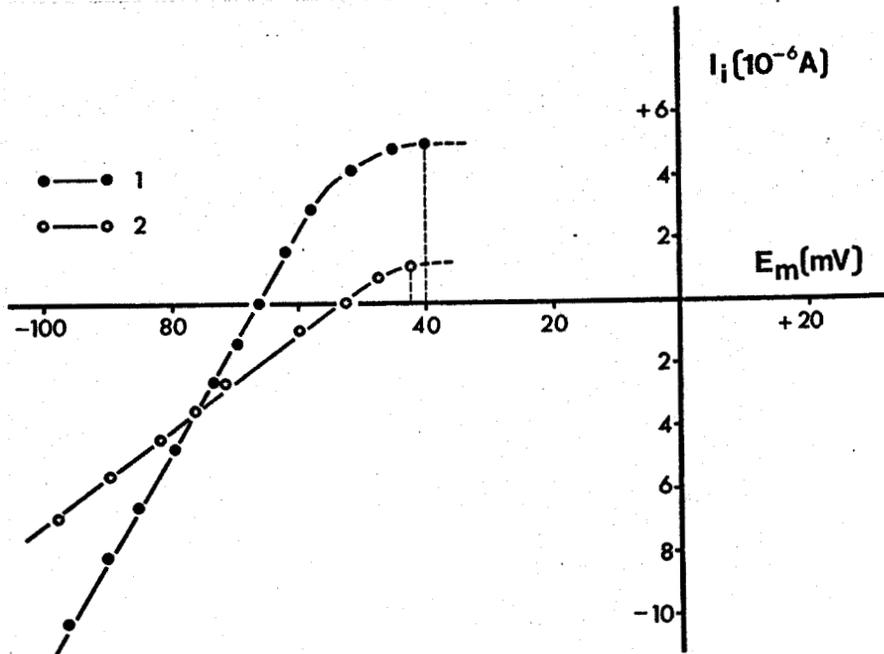


Figure 102 : Caractéristiques courant-potentiel établies (en courant imposé) en milieu de référence à  $20^{\circ}\text{C}$  et à  $4^{\circ}\text{C}$ .

courbe 1 :  $20^{\circ}\text{C}$

courbe 2 :  $4^{\circ}\text{C}$

Le seuil de potentiel, pour lequel la  $R_d$  se déclenche, n'est sensiblement pas modifié par l'abaissement thermique.



tivité électrique.

22413 - En conclusion, si au niveau de la fibre de crabe, il existe un transport actif de  $\text{Cl}^-$  comme l'ensemble des résultats exposés ci-dessus semblent le démontrer, les effets de la diminution de  $[\text{Cl}^-]_e$  peuvent s'expliquer s'il existe, comme le proposent MOUNIER et VASSORT (1974) un processus d'inactivation de la conductance calcique et dans la mesure où le potentiel en profondeur est contrôlé par  $E_{\text{Cl}}$ . De plus, l'existence d'un accroissement de la  $R_m$  de repos par l'abaissement thermique peut rendre compte de l'accroissement en amplitude de la  $R_d$  comme dans le cas du remplacement du  $\text{K}^+$  intra et extracellulaire par du  $\text{Rb}^+$ .

## CONCLUSIONS GENERALES

La fibre musculaire striée squelettique de crabe *Carcinus maenas* possède un système tubulaire transverse très riche et de nombreuses invaginations longitudinales de son sarcolemme. Par ces structures de pénétration, le milieu extracellulaire se trouve très proche des myofilaments, conformément aux observations de BRIGDEN et Coll. (1971) sur la fibre de balane, de PEACHEY (1967) et notamment celles de MATHIEU (1970) relatives à notre préparation. Le  $T_{AI}$ , caractérisé par une lumière vide, est en position jonction bande A-bande I et assure le rapport de contiguïté entre la membrane et le réticulum sarcoplasmique. Le  $T_Z$ , situé au niveau des stries Z, est à lumière opaque et s'enfonce profondément à l'intérieur de la fibre, tout en se ramifiant et en longeant les myofilaments sur des distances importantes comme COHEN et HESS (1967), MATHIEU (1970) le mettent en évidence. Bien que PEACHEY (1967) n'attribue au  $T_Z$  qu'un simple rôle de soutien, il apparaît des observations de MATHIEU (1970) qu'il joue un rôle analogue à celui du  $T_{AI}$ . En effet, le  $T_Z$  présente, à ses extrémités, une différenciation de structure identique à celle du  $T_{AI}$  et surtout des contacts diadiques avec le réticulum sarcoplasmique longitudinal. Ainsi, il est possible d'admettre que le  $T_{AI}$  assure le couplage excitation-contraction de la zone périphérique de la fibre de crabe alors qu'en profondeur, ce couplage est réalisé grâce au  $T_Z$  différencié, à ses extrémités, en  $T_{AI}$ .

: La membrane sarcolemmique est préférentiellement perméable aux ions  $K^+$ , alors que la membrane tubulaire l'est préférentiellement aux ions chlorure. Ceci est conforme aux travaux de GIRARDIER et Coll. (1963), de REUBEN et Coll. (1967), de ORENTLICHER et REUBEN (1971) sur la fibre d'écrevisse, de SELVERSTON (1967), de MOUNIER et GUILBAULT (1970) sur celle de crabe. La sélectivité de chaque système membranaire est établie sur notre préparation à partir :

- des résultats obtenus après choc osmotique. Dans ces conditions,  $E_r$  répond davantage comme une pile de concentration aux ions  $K^+$  (lorsque  $[K^+]_e$  varie) ;

- des résultats obtenus en milieu acide (milieu qui bloque la conductance de surface). Dans ces conditions, la membrane tend à se comporter comme une électrode aux ions chlorure, les variations de  $[K^+]_e$  n'ayant aucune influence sur  $E_r$  ;

- des temps d'action optimaux des milieux modifiant  $g_K$  ou  $g_{Cl}$ . Les milieux modifiant  $g_K$  agissent rapidement et réversiblement, alors que les milieux modifiant  $g_{Cl}$  agissent beaucoup plus lentement, la réversibilité de leurs effets étant également beaucoup plus longue à obtenir.

. Le potentiel de repos de la fibre de crabe ne peut être assimilé à celui d'une pile de concentration, bien que

SHAW (1955) et HAYS et Coll. (1968) considèrent qu'une distribution passive des ions  $\text{Cl}^-$  et  $\text{K}^+$ , selon un équilibre de DONNAN, explique la valeur de  $E_r$ . Cependant,  $g_{\text{Cl}}$  représente 56 p. 100 de la conductance membranaire globale (MOUNIER et GUILBAULT, 1970) et, en absence d'ions chlorure, la pente de la droite traduisant la relation  $E_r = f(\log [\text{K}^+]_e)$  est de 47 mV lorsque  $[\text{K}^+]_e$  varie selon un rapport de 10 (alors qu'elle n'est que de 33 mV en présence d'ions chlorure). De ce fait, la membrane est perméable au  $\text{Na}^+$  et de plus il est nécessaire de faire intervenir un mouvement net d'ions chlorure. Dans ces conditions, l'existence d'un transport actif peut être postulée, d'autant plus que les inhibiteurs du métabolisme (DNP, ouabaïne et froid) agissent réversiblement sur  $E_r$  (GOUBEL et GUILBAULT, 1972 b ; GOUBEL, 1973 ; VAN DETH, 1974) et que la mesure de l'activité des anions très mobiles ( $\text{Cl}^-$  principalement) par électrode spécifique révèle que cette activité est constante, quelle que soit la valeur de  $E_r$  (GOUBEL, 1973). Ainsi,  $E_r$  de la fibre de crabe est dû, essentiellement, à des mouvements d'ions  $\text{K}^+$  et  $\text{Cl}^-$ , sans qu'il faille pour autant négliger les ions  $\text{Na}^+$ , la perméabilité au  $\text{K}^+$  siégeant préférentiellement en surface, celle au  $\text{Cl}^-$  au niveau des tubules.

. L'étude de l'activité électrique de la fibre de crabe donne des résultats analogues à ceux obtenus sur d'autres Crustacés (FATT et KATZ, 1953 ; FATT et GINSBORG, 1958 ;

WERMANN et GRUNDFEST, 1961 ; ATWOOD et Coll., 1965 ; ...). La réponse électrique est de type soit tout-ou-rien, soit gradué, soit passif ; sa propagation à la surface de la fibre, le long de la membrane sarcolemmique n'est pas régénérative, ce qui laisse supposer l'absence, en surface, de l'activation de la conductance responsable de la réponse, absence peut-être corrélative à la poly-innervation de la fibre. Les différents types d'activité sont liés aux propriétés rectificatrices de la membrane (ATWOOD et Coll., 1965) : la rectification anormale ("inward going rectification") apparaît chez les fibres qui possèdent une réponse de type tout-ou-rien ou graduée.

. La réponse est due à des mouvements d'ions consécutifs à l'activation d'une conductance calcico-sodique pour le courant entrant et à l'activation d'une conductance pour le courant sortant, ce dernier étant porté, pour une grande part, probablement par les ions chlorure. Le courant entrant, aboli par le  $Mn^{++}$ , emprunte un "canal lent" calcico-sodique analogue à celui observé sur les fibres cardiaques. Il n'existe pas de courant entrant porté par les ions  $Na^+$  empruntant un canal rapide étant donné que la TTX se révèle sans effet. Comme l'ont montré LÜTTGAU et NIEDERGERKE (1958) sur la fibre cardiaque, il existerait un antagonisme  $Na^+ - Ca^{++}$  compte-tenu du fait :

- qu'en absence de  $\text{Na}^+$  extracellulaire, la réponse est plus ample ;

- qu'en présence d'un excès de  $\text{Na}^+$  extracellulaire, la réponse est abolie et qu'elle est rétablie en présence d'un excès simultané de  $\text{Ca}^{++}$ .

Le courant entrant peut n'être porté que par les ions  $\text{Na}^+$  puisqu'en potentiel imposé, en absence de  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire, il peut être démasqué, et ceci d'autant plus aisément que le courant sortant est inhibé partiellement (addition de 100 mM de TEA au milieu dépourvu de  $\text{Ca}^{++}$ ). Ce courant, porté par les ions  $\text{Na}^+$  en absence de  $\text{Ca}^{++}$ , s'inactiverait très lentement, puisqu'en imposant à la fibre un potentiel suffisant pour l'activer, il est toujours encore très nettement entrant après 300 ms. De plus, cette inactivation ne pourrait être qu'apparente puisque le TEA ne bloque qu'imparfaitement la conductance du courant sortant, comme le montrent également KEYNES et Coll. (1973) sur la fibre de balane. Dans ces conditions, la persistance d'une rectification normale retardée expliquerait que le courant entrant de  $\text{Na}^+$  "diminuerait d'amplitude" sous l'effet de l'activation du courant sortant. D'ailleurs, KEYNES et Coll. (1973) montrent, sur la fibre de balane, qu'il n'existe pas d'inactivation du courant entrant, porté exclusivement par les ions  $\text{Ca}^{++}$ , mais simplement un phénomène d'accumulation à l'intérieur de la fibre. La détermination du potentiel d'inversion de la pile aux ions portant le courant entrant donne une valeur très positive et très supérieure

à celle atteinte par  $E_m$ , au maximum de dépolarisation lors de la réponse. Cette faible amplitude de la réponse peut rendre compte d'une possible activation de la conductance du courant entrant en profondeur. Cette hypothèse est corroborée par différents résultats :

- lorsque la stimulation est homogène (fibre cloisonnée) la réponse n'est pas d'amplitude accrue ;

- lorsque la conductance de surface est bloquée (par les protons ou les ions  $Rb^+$  remplaçant en partie le  $K^+$  intracellulaire) l'inversion de potentiel de la réponse peut atteindre une valeur de + 80 mV, le courant sortant étant partiellement bloqué par le TEA (100 mM) ;

- lorsque les tubules sont désolidarisés du sarcolemme par choc osmotique, la réponse est presque abolie ; cette faible amplitude n'est pas corrélative à un shunt de la membrane, puisque  $E_r$  se maintient à une valeur très proche de la normale et que, de plus, la résistance de membrane augmente.

Le problème de l'amplitude de la réponse peut donc être envisagé en fonction de la localisation en profondeur de la conductance aux ions portant le courant entrant. En effet, au vu des résultats de KIDOKORO et Coll. (1974) qui localisent les "canaux" empruntés par les ions  $Ca^{++}$  à l'extrémité des tubules et des nôtres, il s'avère que la pile  $E_{Ca + Na}$  siègerait au niveau des structures  $T_{AI}$  des tubules (en zone périphérique et en zone profonde). Ainsi, conformément au schéma de la figure

103 (p.264), la position de  $g_{Ca + Na}$ , à l'extrémité des tubules, fait que la majeure partie de cette conductance est en parallèle sur  $g_{Cl}$  et sur  $g_K$  par l'intermédiaire de la résistance  $R_t$  et qu'il n'est pas possible d'enregistrer complètement  $E_{Ca + Na}$  dans nos conditions expérimentales, c'est-à-dire aux bornes de la membrane sarcolemmique.

. L'étude de la relation courant-potentiel en courant imposé ou en potentiel imposé permet de mettre en évidence l'existence de la double rectification membranaire. La phase de repolarisation de la réponse est due à l'activation d'un courant sortant retardé inhibé partiellement par le TEA et porté, pour une part, par les ions chlorure. La rectification retardée de la membrane responsable du courant sortant est mise en évidence (tant en courant imposé qu'en potentiel imposé) en présence de  $Mn^{++}$  ou en absence de  $Ca^{++}$  extracellulaire. La destruction des tubules par choc osmotique abolit les phénomènes de rectification, ce qui permet de localiser ces phénomènes au niveau de la membrane tubulaire en accord avec ILDEFONSE et ROUGIER (1968), KAO et STANFIELD (1968), ILDEFONSE et Coll. (1969 b) sur la fibre de grenouille, bien qu'une partie de la rectification anormale siègerait en surface (TAKEDA et OOMURA, 1969) sur cette dernière préparation.

L'absence d'ions chlorure dans le milieu extracellulaire abolit les phénomènes de rectification, phénomènes qui

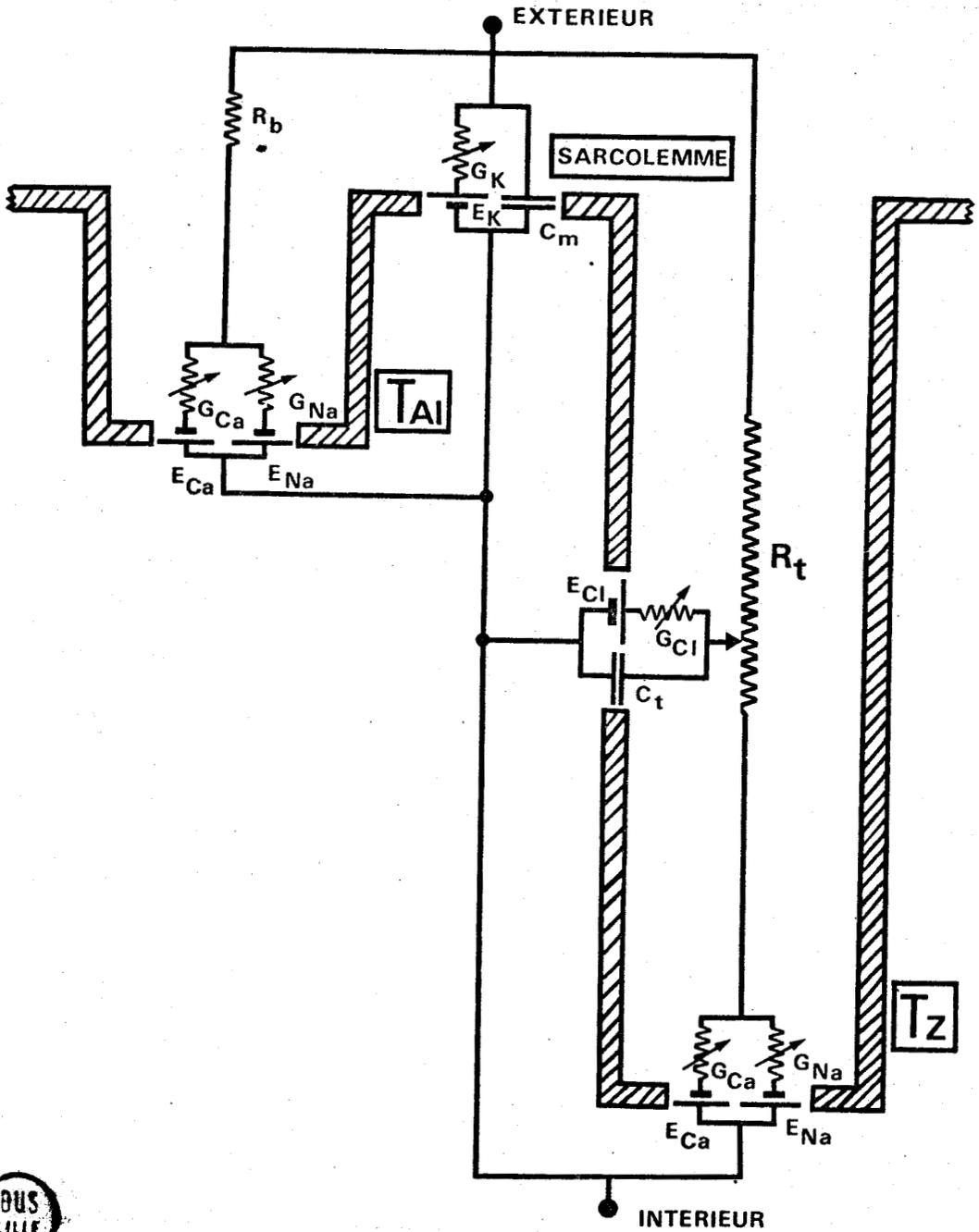


Figure 103.: Schéma électrique équivalent de la fibre musculaire de crabe.

Explications dans le texte.

persistent, par contre, lorsque le milieu externe contient uniquement des ions chlorure. En effet, un milieu isotonique de  $K^+$ , à l'inverse de ce qui se produit pour la fibre de grenouille (ADRIAN, 1969), ne permet pas le maintien des phénomènes de rectification. Les ions  $Rb^+$ , remplaçant le  $K^+$  intracellulaire, inhibent, sur la fibre de grenouille, la rectification anormale (ADRIAN, 1964) et la conductance retardée aux ions  $K^+$  (HUTTER et WARNER, 1972 ; VOLLE et Coll., 1972). Dans ces mêmes conditions, en absence de  $Cl^-$  extracellulaire, la fibre de crabe perd ses propriétés rectificatrices, alors qu'elle les conserve en présence, uniquement, de  $Cl^-$  et  $Rb^+$ . Ces résultats tendent à prouver que les phénomènes de rectification de la membrane de la fibre de crabe sont liés à la présence d'ions chlorure extracellulaires, le seuil de potentiel pour lequel la rectification retardée apparaît étant fonction de  $[Cl^-]_e$ . Cette hypothèse est d'autant plus acceptable que, sur le tissu cardiaque, le courant sortant serait à deux composantes (BROWN et NOBLE, 1969 ; DE HEMPTINNE, 1971 ; OJEDA et ROUGIER, 1974) la seconde n'étant pas portée exclusivement par les ions  $K^+$  (OJEDA et ROUGIER, 1974). De même, sur le tissu de Purkinje en particulier, le courant sortant dynamique, responsable du rebond lors de la phase de repolarisation, (DUDEL et Coll., 1967) est porté, exclusivement, par les ions chlorure (HIRAOKA et FOZZARD, 1972 ; FOZZARD et HIRAOKA, 1973). Ainsi, le  $Rb^+$  en bloquant les sites aux ions  $K^+$  et le froid en augmentant la résistance membranaire

permettent l'obtention d'une réponse ample uniquement par diminution du courant de fuite, alors que le TEA agirait en inhibant la rectification retardée. Le rôle du TEA serait donc de bloquer le système membranaire, siège des phénomènes de rectification et non de bloquer un courant sortant retardé de nature potassique exclusivement. En conclusion, au vu de nos résultats, une analogie de comportement peut être faite entre notre préparation et la fibre cardiaque, où chez cette dernière, le canal rapide serait bloqué par la TTX. La phase de dépolarisation est due à un courant calcico-sodique empruntant un "canal lent" inhibé par les ions  $Mn^{++}$ , celle de repolarisation à un courant dynamique sortant porté par les ions chlorure.

. Compte-tenu de l'ensemble de nos résultats, un schéma électrique équivalent de la fibre peut être proposé (figure 103, p.264) en localisant les différentes conductances membranaires.

L'exploitation de la réponse impulsionnelle de la membrane permet d'affirmer que celle-ci répond de façon analogue au schéma proposé par EISENBERG (1967). En effet, la membrane est constituée de deux circuits R.C. en parallèle, correspondant chacun respectivement à celui de la membrane sarcolemmique et à celui de la membrane tubulaire.

Le schéma proposé (figure 103) montre, de façon simplifiée, chaque système membranaire portant sa conductance ioni-

que préférentielle :  $G_{Cl}$  pour la membrane tubulaire,  $G_K$  pour la membrane du sarcolemme. La conductance relative au courant entrant ( $g_{Ca + Na}$ ) est placée à l'extrémité des tubules en position jonction bande A - bande I pour la périphérie de la fibre ( $T_{AI}$ ) et en position Z pour la profondeur ( $T_Z$ ). La résistance  $R_b$  représente celle du matériel amorphe présent au niveau du sarcolemme et dans les invaginations longitudinales de celui-ci ;  $R_t$  représente la résistance de la lumière des tubules.

La position de  $g_{Ca + Na}$ , en parallèle sur  $g_K$  et  $g_{Cl}$  et en série avec  $1/R_t$ , peut expliquer la faible amplitude de la  $R_d$  enregistrée dans les conditions normales.

Ce schéma permet également d'expliquer qu'en milieu pauvre ou dépourvu en ions chlorure, il soit difficile et même impossible de déclencher une réponse. En effet, si le  $Cl^-$  n'est pas distribué passivement comme le suggèrent de nombreux résultats, le contrôle du potentiel en profondeur se ferait, principalement, par l'intermédiaire de  $E_{Cl}$ . Ainsi, l'impossibilité d'enregistrer au niveau de la membrane sarcolemmique le potentiel de la pile de diffusion aux ions portant le courant entrant, peut s'expliquer par la présence de  $R_t$  et l'importance de  $E_{Cl}$  au niveau tubulaire. Dans le cas où  $g_{Cl}$  de repos est bloquée, (milieu sans  $Cl^-$ ), le potentiel en profondeur n'est plus contrôlé que par  $E_K$  (en surface). La présence de  $R_t$  rend difficile ce contrôle, et dans ces conditions, le potentiel à l'extrémité des tubules serait très bas par rapport à celui de la surface.

Ainsi, l'activation de la conductance aux ions portant le courant entrant serait sous l'influence de  $[Cl^-]_e$ , en fait de  $E_{Cl}$  dans la mesure où la distribution des ions chlorure ne serait pas exclusivement passive. L'influence de  $[Cl^-]_e$  sur la réponse pourrait ainsi être expliquée. Si l'on admet, avec KEYNES et Coll. (1973), qu'il n'existe pas d'inactivation de  $g_{Ca}$ , selon notre dernière hypothèse, une accumulation de  $Ca^{++}$  à l'intérieur de la fibre pourrait se produire du fait de la faible valeur du potentiel au niveau des tubules, la conductance aux ions  $Ca^{++}$  étant en activation permanente. Néanmoins, en contrebalançant la dépolarisation membranaire consécutive à l'application d'un milieu appauvri en  $Cl^-$  (60 mM) et même en maintenant une hyperpolarisation importante par un courant constant sur une fibre cloisonnée, une réponse ne peut être déclenchée. Dans ces conditions, l'absence de réponse ne peut être consécutive à un processus d'accumulation de  $Ca^{++}$  (KEYNES et Coll., 1973) pas plus d'ailleurs qu'à celui relatif à une inactivation (MOUNIER et VASSORT, 1974). D'ailleurs, nos résultats montrent en effet qu'en absence de  $Ca^{++}$  et en présence de TEA (le courant entrant étant porté par les ions  $Na^+$  dont la cinétique peut rendre compte des propriétés de fonctionnement du canal "calcico-sodique" bloqué par les ions  $Mn^{++}$ ), le courant entrant ne semble pas présenter de processus d'inactivation puisqu'il reste entrant même après 300 ms (figure 84, p. 209) et que le "courant de queue" est également entrant. Cependant, sur le tissu cardiaque,

il est bien connu qu'en absence de  $\text{Ca}^{++}$  extracellulaire, le courant "lent" de  $\text{Na}^+$  reste entrant très longtemps, alors qu'en présence de  $\text{Ca}^{++}$ , ce courant reste bien moins longtemps entrant. Ceci, en définitive, pose le problème de l'existence d'un seul canal "calcico sodique" ou de deux canaux lents de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Ca}^{++}$  bloqués par les ions  $\text{Mn}^{++}$ .

L'explication de l'absence de réponse en milieu pauvre en  $\text{Cl}^-$  peut cependant être apportée en examinant la relation courant-potentiel mettant en évidence les phénomènes de rectification. Le seuil de rectification retardée se trouve être dépendant de  $[\text{Cl}^-]_e$ . En milieu riche en  $\text{Cl}^-$ , le seuil est déplacé vers les valeurs moins négatives de potentiel, alors qu'il est déplacé dans le sens opposé en milieu pauvre en  $\text{Cl}^-$  par rapport aux conditions normales.

. Le travail concernant la fibre musculaire striée de crabe *Carcinus maenas*, tendant à montrer le rapport qui lie sa structure à ses propriétés électriques, a été établi à partir de preuves indirectes constituées par des résultats en courant imposé et confirmées par quelques uns obtenus en potentiel imposé.

Finalement, se pose le problème de localiser les "canaux" par où transitent les ions, problème qui peut être envisagé en bloquant ces sites par des inhibiteurs et en localisant ces inhibiteurs. Il convient d'essayer également d'établir un rapport entre les conductances préférentielles des membranes

et la nature du matériel qui tapisse l'extérieur de ces membranes, notamment au niveau du sarcolemme et du système tubulaire transverse à lumière optiquement opaque.

L'étude des courants de membrane par la technique des microélectrodes est applicable à notre préparation. Dans ces conditions, les vitesses d'activation et éventuellement, d'inactivation des deux conductances responsables de la réponse dépolarisante peuvent être déterminées à partir des équations de HODGKIN et HUXLEY. Toutefois, en ce qui concerne le courant entrant, la contraction entraîne l'apparition d'artéfacts rendant aléatoire l'étude de la cinétique de ce courant. Néanmoins, un excès d'ions chlorure dans le milieu extracellulaire découple le phénomène électrique du phénomène mécanique et une étude des courants de membrane dans ces conditions est rendue possible.

## RESUME

La structure de la fibre musculaire striée squelettique phasique de crabe *Carcinus maenas* est de nature complexe de par les invaginations longitudinales de son sarcolemme et de par son double système tubulaire transverse, l'un au niveau de la strie Z, l'autre au niveau de la jonction bande A-bande I.

Dans les conditions de repos, chaque système membranaire présente une perméabilité ionique préférentielle, aux ions potassium pour le sarcolemme, aux ions chlorure pour les tubules.

Le potentiel de repos est dû à des mouvements passifs nets d'ions  $K^+$ ,  $Cl^-$  et  $Na^+$ .

La réponse dépolarisante ne présente pas, dans les conditions normales, d'inversion de potentiel et n'est pas conduite de façon régénérative le long de la membrane sarcolemmique. Sa phase de dépolarisation est due à un courant entrant porté, essentiellement, par les ions  $Ca^{++}$  et  $Na^+$  (en majorité par les ions  $Ca^{++}$ ) empruntant un canal lent "calcicosodique" inhibé par les ions  $Mn^{++}$ . Sa phase de repolarisation est liée à des phénomènes de rectification siégeant au niveau du système tubulaire transverse et probablement dûs, tout au moins en partie, à des mouvements d'ions chlorure.

La faible amplitude de la réponse dépolarisante enregistrée dans les conditions normales est liée à la structure de la fibre et à la localisation des différentes conductances. Un

schéma électrique équivalent dérivé de celui d' EISENBERG (1967) permet d'expliquer pourquoi le potentiel de la pile de diffusion aux ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$  portant le courant entrant ne peut être atteint. En effet, la variation de potentiel provoquée par l'activation de la conductance aux ions  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Na}^+$  (se trouvant à l'extrémité des tubules) ne serait enregistrée en surface que partiellement, du fait de sa chute dans les résistances tubulaire et sarcolemmique et dans les résistances passives constituées par le matériel amorphe contenu dans les lumières tubulaires et les invaginations longitudinales du sarcolemme.

- BIBLIOGRAPHIE -

- ADRIAN, R.H. (1956)  
The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. *J. Physiol., London*, 133, 631-658.
- ADRIAN, R.H. (1961)  
Internal chloride concentration and chloride efflux of frog muscle. *J. Physiol., London*, 156, 623-632.
- ADRIAN, R.H. (1964).  
The rubidium and potassium permeability of frog muscle membrane. *J. Physiol., London*, 175, 134-159.
- ADRIAN, R.H. (1969)  
Rectification in muscle membrane. *Prog. Biophys. biophys. Chem.* 19, 341-369.
- ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K., HODGKIN, A.L. (1969 a)  
The kinetics of mechanical activation in frog muscle. *J. Physiol., London*, 204, 207-230.
- ADRIAN, R.H., COSTANTIN, L.L., PEACHEY, L.D. (1969 b)  
Radial spread of contraction in frog muscle fibres. *J. Physiol., London*, 204, 231-257.
- ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K., HODGKIN, A.L. (1966)  
Voltage clamp experiments in skeletal muscle fibres. *J. Physiol., London*, 186, 51 P - 52 P.
- ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K., HODGKIN, A.L. (1968)  
Voltage clamp experiments in striated muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 51, 188-192.
- ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K., HODGKIN, A.L. (1970 a)  
Voltage clamp experiments in striated muscle fibres. *J. Physiol., London*, 208, 607-644.
- ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K., HODGKIN, A.L. (1970 b)  
Slow changes in potassium permeability in skeletal muscle. *J. Physiol., London*, 208, 645-668.
- ADRIAN, R.H., FREYGANG, W.H. (1962 a)  
The potassium and chloride conductance of frog muscle membrane. *J. Physiol., London*, 163, 61-103.

## II.

- ADRIAN, R.H., FREYGANG, W.H. (1962 b)  
Potassium conductance of frog muscle membrane under controlled voltage.  
J. Physiol., London, 163, 104-114.
- ADRIAN, R.H., PEACHEY, L.D. (1973)  
Reconstruction of the action potential of frog sartorius muscle. J. Physiol., London, 235, 103-131.
- AKELIENE, D. (1973)  
Simultaneous measurement of the activity of potassium and membrane potential in an isolated single muscle fibre of frog. Biofizica, 18, 279-285.
- ALEXANDER, J.T., NASTUK, W.L. (1953)  
An instrument for the production of microelectrodes used in electrophysiological studies. Rev. Scient. Instrum. 24, 528-531.
- ALLEN, R.D., HINKE, J.A.M. (1971)  
Single influx rate for  $^{42}\text{K}^+$  in the single fiber of the barnacle. Can. J. Physiol. Pharmacol., 49, 624-626.
- ALMERS, W. (1972)  
Potassium conductance changes in skeletal muscle and the potassium concentration in the transverse tubules.  
J. Physiol., London., 225, 33-46.
- ANDERSON, N.C. (1969)  
Voltage-clamp studies on uterine smooth muscle.  
J. Gen. Physiol., 54, 145-165.
- ARGIBAY, J.A., HUTTER, O.F. (1973)  
Voltage clamp experiments on the inactivation of the delayed potassium current in skeletal muscle fibres.  
J. Physiol. London., 232, 41 P - 43 P.
- ARMSTRONG, C.M. (1969)  
Inactivation of the potassium conductance and related phenomena caused by quaternary ammonium ion injection in squid axons. J. Gen. Physiol., 54, 553-575.
- ARMSTRONG, C.M. (1971)  
Interaction of tetraethylammonium ion derivatives with the potassium channels of giant axons. J. Gen. Physiol., 58, 413-437.

ARMSTRONG, C.M. (1975)

Ionic pores, gates and gating currents.  
Quat. Rev. Biophys., 7, 179-210.

ARMSTRONG, C.M., BINSTOCK, L. (1965)

Anomalous rectification in the squid giant axon injected with tetraethylammonium chloride. J. Gen. Physiol., 48, 859-872.

ARMSTRONG, C.M., HILLE, B. (1972)

The inner quaternary ammonium ion receptor in potassium channels of the node of Ranvier. J. Gen. Physiol., 59, 388-400.

ARMSTRONG, W.M.D. (1969)

Effect of external potassium and ouabain on sodium efflux from frog sartorius muscle.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 130, 1264-1270.

ATWOOD, H.L. (1963)

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

ATWOOD, H.L. (1971)

Z and T tubules in stomach muscles of the spiny lobster.  
J. Cell. Biol., 50, 264-268.

ATWOOD, H.L. (1973)

An attempt to account for the diversity of crustacean muscles. Am. Zoologist., 13, 357-378.

ATWOOD, H.L., HOYLE, G., SMYTH, T. (1965)

Mechanical and electrical responses of single innervated crab-muscle fibres. J. Physiol., London., 180, 449-482.

BASTIAN, J., NAKAJIMA, S. (1974)

Action potential in the transverse tubules and its role in the activation of skeletal muscle. J. Gen. Physiol., 63, 257-278.

BEAULIEU, G., FRANK, G.B. (1967)

Tetraethylammonium-induced contraction of frog's skeletal muscle. III - Mechanism of action by calcium release.  
Can. J. Physiol. Pharmacol., 45, 845-855.

#### IV.

- BEELER, G.W., REUTER, H. (1970)  
Membrane calcium current in ventricular myocardial fibres.  
J. Physiol., London., 207, 191-209.
- BENNETT, H.S. (1955)  
Modern concepts of structure of striated muscle.  
Amer. J. Phys. Med., 34, 46-67.
- BENNETT, M.R. (1967)  
Effect of cations on electrical properties of smooth muscle cells of guinea-pig vas deferens.  
J. Physiol., London., 190, 465-479.
- BESSEAU, A. (1972)  
Analyse, selon le modèle de HODGKIN-HUXLEY, des conductances membranaires du myocarde de grenouille (*Rana esculenta*). J. Physiol., Paris., 204, 717-736.
- BESSEAU, A., GARGOUIL<sup>\*\*</sup>, Y.M. (1969)  
Ionic currents in rat ventricular heart fibers : voltage-clamp experiments using double sucrose-gap technique. J. Physiol., London., 204, 95 P.
- BEZANILLA, F., CAPUTO, C., GONZALEZ-SERRATOS, H., VENOSA, R.A. (1972)  
Sodium dependence of the inward spread of activation in isolated twitch muscle fibres of the frog.  
J. Physiol., London., 223, 507-423.
- BIRKS, R.I. (1965)  
The sarcoplasmic reticulum of twitch fibres in the frog sartorius muscle. in : "Muscle", PERGAMON PRESS Ed., Oxford, London., 199-216.
- BIRKS, R.I., DAVEY, D.R. (1969)  
Osmotic responses demonstrating the extracellular character of the sarcoplasmic reticulum. J. Physiol., London., 202, 171-188.
- BITTAR, E.E., CHEN, S., DANIELSON, B.G., TONG, E.Y. (1973)  
An investigation of the action of ouabain on the sodium efflux in barnacle muscle fibres. Acta Physiol. Scand., 87, 377-390.
- BITTAR, E.E., HIFT, H., HUDDART, H., TONG, E. (1974)  
The effects of caffeine on sodium transport, membrane potential, mechanical tension and ultrastructure in barnacle muscle fibres. J. Physiol., London., 242, 1-34.

- BLINKS, J.R. (1965)  
Influence of osmotic strength on cross-section and volume of isolated single muscle fibres. *J. Physiol.*, London, 177, 42-57.
- BOUKOULOU, C. (1975)  
Etude des potentiels de membrane de la fibre nerveuse du crabe *Carcinus maenas*. Thèse 3<sup>e</sup> cycle, LILLE.
- BOYLE, P.J., CONWAY, E.J. (1941)  
Potassium accumulation in muscle and associated changes. *J. Physiol.*, London, 100, 1-63.
- BOZLER, E. (1961)  
Distribution of nonelectrolytes in muscle. *Amer. J. Physiol.*, 200, 651-655.
- BRADING, A.F., BÜLBRING, E., TOMITA, T. (1969)  
The effect of sodium and calcium on the action potential of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.*, London, 200, 637-654.
- BRADING, A.F., WIDDICOMBE, J.H. (1974)  
An estimate of sodium-potassium pump activity and the number of pump sites in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli, using [<sup>3</sup>H] ouabain. *J. Physiol.*, London, 238, 235-249.
- BRADY, A.J., WOODBURY, J.W. (1957)  
Effects of sodium and potassium on repolarization in frog ventricular fibers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 65, 687-692.
- BRADY, A.J., WOODBURY, J.W. (1960)  
The sodium-potassium hypothesis as the basis of electrical activity in frog ventricle. *J. Physiol.*, London, 154, 385-407.
- BRANDT, P.W., REUBEN, J.P., GIRARDIER, L., GRUNDFEST, H. (1965)  
Correlated morphological and physiological studies on isolated muscle fibers. I - Fine structure of the crayfish muscle fiber. *J. Cell. Biol.*, 25, 233-260.
- BRANDT, P.W., REUBEN, J.P., GRUNDFEST, H. (1968)  
Correlated morphological and physiological studies on isolated single muscle fibers. II - The properties of the crayfish transverse tubular system : localization of the sites of reversible swelling. *J. Cell. Biol.*, 38, 115-129.

VI.

- BRIGDEN, M.L., SPIRA, A.W., HINKE, J.A.M. (1971)  
The extracellular space of the single fiber from the giant barnacle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 49, 801-811.
- BROOKS, A.E., HUTTER, O.F. (1962)  
The influence of pH on the chloride conductance of skeletal muscle. *J. Physiol.*, London, 163, 9 P - 10 P.
- BROOKS, A.E., HUTTER, O.F. (1964)  
The effect of pH on the efflux of  $^{36}\text{Cl}$  from skeletal muscle. *J. Physiol.*, London, 172, 29 P - 30 P.
- BROWN, H.F., NOBLE, S.J. (1969 a)  
Membrane currents underlying delayed rectification and pace maker activity in frog atrial muscle. *J. Physiol.*, London, 204, 717-736.
- BROWN, H.F., NOBLE, S.J. (1969 a)  
A quantitative analysis of the slow component of delayed rectification in frog atrium. *J. Physiol.*, London, 204, 737-747.
- BRULÉ, G. (1972)  
Etude de la secousse de la fibre musculaire striée de crabe. Thèse 3è cycle, Lille.
- BRULÉ, G., GUILBAULT, P. (1975)  
Effets des cations sur la contraction des myofilaments de la fibre striée de crabe. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 180, 1269-1272.
- BÜLBRING, E. (1954)  
Membrane potentials of smooth muscle fibres of the taenia coli of the guinea-pig. *J. Physiol.*, London. 125, 302-315.
- BÜLBRING, E. (1962)  
Electrical activity in intestinal smooth muscle. *Physiol. Rev.*, 42, 160-174.
- BÜLBRING, E., HOLMAN, M., LÜLLMANN, H. (1956)  
Effects of calcium deficiency on striated muscle of the frog. *J. Physiol.*, London, 133, 101-117.
- BURKE, W., GINSBORG, B.L. (1956)  
The electrical properties of the slow fibre membrane. *J. Physiol.*, London, 132, 586-598.

- CAILLÉ, J.P., GAGNÉ, S. (1971)  
Résistance électrique de la paroi d'une microélectrode.  
Can. J. Physiol. Pharmacol., 49, 783-786.
- CAILLÉ, J.P., HINKE, J.A.M. (1973)  
Evidence for  $K^+$  and  $Cl^-$  binding inside muscle from diffusion studies. Can. J. Physiol. Pharmacol., 51, 390-400.
- CAPUTO, C., DIPOLO, R. (1973)  
Ionic diffusion delays in the transverse tubules of frog twitch muscle fibres. J. Physiol., London, 229, 547-557.
- CARMELIET, E. (1961)  
Chloride ions and the membrane potential of Purkinje fibres. J. Physiol., London, 156, 375-388.
- CASTEELS, R. (1965)  
The chloride distribution in the smooth muscle of the guinea-pig's taenia-coli. J. Physiol., London, 178, 10 P-11P.
- CASTEELS, R. (1966)  
The action of ouabain on the smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia-coli. J. Physiol., London, 184, 131-142.
- CASTEELS, R. (1969)  
Calculation of the membrane potential in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia-coli by the Goldman equation. J. Physiol., London, 205, 193-208.
- CASTEELS, R., DROGMANS, G., HENDRICKX, H. (1971 a)  
Membrane potential of smooth muscle cells in  $K^-$  free solution. J. Physiol., London, 217, 281-295.
- CASTEELS, R., DROGMANS, G., HENDRICKX, H. (1971 b)  
Electrogenic sodium pump in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia-coli. J. Physiol., London, 217, 297-313.
- CHEVAL, J. (1966)  
Changeur d'impédance à transistor à effet de champ.  
Electronique et électromécanique appliquée à la physiologie.  
Bull. Inf. Techn. CNRS . 2.
- CHIARANDINI, D.J., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GRUNDFEST, H. (1970)  
Effects of caffeine on crayfish muscle fibers. I - Activation of contraction and induction of Ca spike electrogenesis.  
II - Refractoriness and factors influencing recovery (repriming) of contractile responses. J. Gen. Physiol., 55, 640-687.

VIII.

- CHIARANDINI, D.J., STEFANI, E. (1973)  
Effects of manganese on the electrical and mechanical properties of frog skeletal muscle fibres.  
J. Physiol., London, 232, 129-147.
- CLOTTES, A. (1969)  
Abaisseur d'impédance pour enregistrement des potentiels physiologiques par microélectrodes neutres ou polarisées.  
Electron. Méd., 53, 93-95.
- COCHRANE, D.G., ELDER, H.Y., USHERWOOD, P.N.R. (1972)  
Physiology and ultrastructure of phasic and tonic skeletal muscle fibres in the locust, *Schistocerca gregaria*.  
J. Cell. Sci., 10, 419-441.
- COHEN, M.J., HESS, A. (1967)  
Fine structural differences in "fast" and "slow" muscle fibers of the crab. *Am. J. Anat.*, 121, 285-304.
- COLE, K.S. (1968)  
Membranes, ions and impulses. in : Classical Biophysics. University of California Press-, Berkeley.  
255-256, 314-316, 396.
- COLE, K.S., CURTIS, H.J. (1936)  
Electric impedance of nerve and muscle.  
Cold. Spring. Harb. Symp. quant. Biol., 4, 73-89.
- COLE, K.S., CURTIS, H.J. (1938)  
Electric impedance of *Nitella* during activity.  
J. Gen. Physiol., 22, 37-64.
- COLQUHOUN, D., RITCHIE, J.M. (1972)  
The interaction at equilibrium between tetrodotoxin and mammalian non-myelinated nerve fibres.  
J. Physiol., London, 221, 533-553.
- CONNOR, C., PROSSER, C.L. (1974)  
Comparison of ionic effects on longitudinal and circular muscle of cat jejunum. *Amer. J. Physiol.*, 226, 1212-1218.
- CORABOEUF, E., OTSUKA, M. (1956)  
L'action des solutions hyposodiques sur les potentiels cellulaires de tissu cardiaque de Mammifères.  
C.R. Acad. Sci., Paris, 243, 441-444

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

Effets de la TTX, du TEA et du Mn sur l'activité du myocarde de rat et de cobaye. C.R. Acad. Sci., Paris, 264, 1072-1075.

CORABOEUF, E., VASSORT, G. (1968)

Effects of some inhibitors of ionic permeabilities on ventricular action potential and concentration of rat and guinea-pig hearts. J. Electrocardiol., 1, 19-30.

CORABOEUF, E., ZACOUTO, F., GARGOUÏL, Y.M., LAPLAUD, J. (1958)

Mesure de la résistance membranaire du myocarde ventriculaire de Mammifères au cours de l'activité. C.R. Acad. Sci., Paris, 246, 2934-2937.

COSTANTIN, L.L. (1970)

The role of sodium currents in the radial spread of contraction in frog muscle fibres. J. Gen. Physiol., 55, 703-715.

COSTANTIN, L.L., TAYLOR, S.R. (1971)

Active and passive shortening in voltage-clamped frog muscle fibres. J. Physiol., London, 218, 13 P - 15 P.

D'ANCONA, U. (1925)

Per la miglior conoscenza delle terminazione nervose nei muscoli stomatici dei crostacei decapodi. Trav. Biol. Univ. MADRID, 23, 393-423.

DECK, K.A., TRAUTWEIN, W. (1964)

Ionic currents in cardiac excitation. Pflügers Arch., 280, 63-80.

DE HEMPTINNE, A. (1971 a)

Properties of the outward currents in frog atrial muscle. Pflügers Arch., 329, 321-331.

DE HEMPTINNE, A. (1971 b)

The frequency dependence of outward current in frog auricular fibres. An experimental and theoretical study. Pflügers Arch., 329, 332-340.

DELALEU, J.C. (1974)

Structure et physiologie d'un coeur à automatisme neurogène (Crustacé isopode) : myocarde, relations neuro-musculaires, facteurs de la régulation. Thèse Doctorat d'Etat, LYON.

X.

DE MELLO, W.C., HUTTER, O.F. (1966)

The anion conductance of crustacean muscle.  
J. Physiol., London, 183, 11 P - 13 P.

DIPOLO, R. (1972)

Chloride fluxes in isolated dialyzed barnacle muscle fibers.  
J. Gen. Physiol., 60, 471-497.

DIPOLO, R., LATORRE, R. (1972)

Effect of temperature on membrane potential and ionic fluxes  
in intact and dialyzed barnacle muscle fibres.  
J. Physiol., London, 225, 255-273.

DONNAN, F.G. (1924)

The theory of membrane equilibria. Chem. Rev. 1, 73-90.

DORAI RAJ, B.S. (1964)

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

DUDEL, J., PEPER, K., RÜDEL, R., TRAUTWEIN, W. (1967)

The dynamic chloride component of membrane current in  
cardiac Purkinje fibres. Pflügers Arch., 295, 197-212.

DUDEL, J., RÜDEL, R. (1969)

Voltage controlled contractions and current-voltage  
relations of crayfish muscle fibers in chloride free  
solutions. Pflügers Arch., 308, 291-314.

DUNHAM, P.B., GAINER, H. (1968)

The distribution of inorganic ions in Lobster muscle.  
Biochim. Biophys. Acta., 150, 488-499.

EDMAN, K.A.P., GRIEVE, D.W. (1963)

A calcium dependent link beyond the electrical excitation  
of the membrane in muscular contraction. Experientia,  
19, 40-41.

EISENBERG, R.S. (1967)

The equivalent circuit of single crab muscle fibers as de-  
termined by impedance measurements with intracellular  
electrodes. J. Gen. Physiol., 50, 1785-1806.

EISENBERG, B., EISENBERG, R.S. (1968)

Selective disruption of the sarcotubular system in frog  
sartorius muscle. J. Cell. Biol., 39, 451-467.

- EISENBERG, R.S., GAGE, P.W. (1967)  
Frog skeletal muscle fibers : changes in electrical properties after disruption of transverse tubular system. *Science*, 158, 1700-1701.
- EISENBERG, R.S., GAGE, P.W. (1969)  
Ionic conductances of the surface and transverse tubular membranes of frog sartorius fibers. *J. Gen. Physiol.*, 53, 279-297.
- EISENBERG, R.S., HOWELL, J.N., VAUGHAN, P.C. (1971)  
The maintenance of resting potentials in glycerol-treated muscle fibres. *J. Physiol., London*, 215, 95-102.
- EISENBERG, R.S., VAUGHAN, P.C., HOWELL, J.N. (1972)  
A theoretical analysis of the capacitance of muscle fibers using a distributed model of the tubular system. *J. Gen. Physiol.*, 59, 360-373.
- EVANS, M.H. (1969)  
The effects of saxitoxin and tetrodotoxin on nerve conduction in the presence of lithium ions and of magnesium ions. *Brit. J. Pharmacol.*, 36, 418-425.
- FAHRENBACH, W.H. (1967)  
The fine structure of fast and slow crustacean muscles. *J. Cell. Biol.*, 35, 69-79.
- FALK, G. (1968)  
Predicted delays in activation of the contractile system. *Biophys. J.*, 8, 608-625.
- FALK, G., FATT, P. (1964)  
Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes. *Proc. Roy. Soc., London*, 160, 69-123.
- FATT, P., 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., KATZ, B. (1951)  
An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular microelectrode. *J. Physiol., London*, 115, 320-370.

XII.

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

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

FERRIS, C.D., STEWART, L.R. (1974)

Electrode-produced signal distortion in electrophysiological recording systems. IEEE Trans. Biomed. Eng. 21, 318-326.

FINKELSTEIN, A. (1964)

Electrical excitability of isolated frog skin and toad bladder. J. Gen. Physiol., 47, 545-565.

FISCHBARG, J. (1972)

Ionic permeability changes as the basis of the thermal dependence of the resting potential in barnacle muscle fibres. J. Physiol., London, 224, 149-171.

FISCHBARG, J., SPYROPOULOS, C.S. (1971)

Some observations on temperature dependence of the resting potential in barnacle muscle fiber. Biophys. Soc. Abst., 135 a.

FOULKES, J.G., PACEY, J.A., PERRY, F.A. (1965)

Contractures and swelling of the transverse tubules during chloride withdrawal in frog skeletal muscle.  
J. Physiol., London, 180, 96-115.

FOURCROY, S.J. (1967)

Microelectrode studies of the house fly heart, *Musca domestica* L.. Master's thesis, San Jose State College.

FOZZARD, H.A., HIRAOKA, M. (1973)

The positive dynamic current and its inactivation properties in cardiac Purkinje fibres. J. Physiol., London., 234, 569-586.

FRANK, K., BECKER, M.C. (1964)

Microelectrodes for recording and stimulation. In : Physical techniques in biological research. V.5. NASTUK Ed., Academic Press, New York.

FRANK, G.B., INOUE, F. (1973)

Effects of reducing the extracellular calcium concentration on the resting potential of frog's skeletal muscle fibers. Jap. J. Physiol., 23, 183-197.

FREEMAN, A.R. (1969)

Action of tetrodotoxin on the resting potential of the squid giant axon membrane. *Fed. Proc.*, 28, 333.

FREEMAN, A.R. (1971)

Electrophysiological activity of tetrodotoxin on the resting membrane of the squid giant axon. *Comp. Biochem. Physiol.*, 40, 71-82.

FREYGANG, W.H., GOLDSTEIN, D.A., HELLAM, D.C. (1964 a)

The after-potential that follows trains of impulses in frog muscle fibres. *J. Gen. Physiol.*, 47, 929-952.

FREYGANG, W.H., GOLDSTEIN, D.A., HELLAM, D.C., PEACHEY, L.D. (1964 b)

The relation between the late after-potential and the size of the transverse tubular system of frog muscle. *J. Gen. Physiol.*, 48, 235-263.

FREYGANG, W.H., RAPOPORT, S.I., PEACHEY, L.D. (1967)

Some relations between changes in the linear electrical properties of striated muscle fibers and changes in ultrastructure. *J. Gen. Physiol.*, 50, 2437-2458.

FUCHS, F. (1974)

Striated muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 36, 461-502.

FUJINO, M., YAMAGUCHI, T., FUJINO, S. (1972)

"Glycerol effect" in various kinds of muscle cell. *Jap. J. Physiol.*, 22, 477-489.

FUJINO, M., YAMAGUCHI, T., SUZUKI, K. (1961)

"Glycerol effect" and the mechanism linking excitation of the plasma membrane with contraction. *Nature*, 192, 1159-1161.

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

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

GAGE, P.W., EISENBERG, R.S. (1969)

Action potentials, afterpotentials, and excitation-contraction coupling in frog sartorius fibers without transverse tubules. *J. Gen. Physiol.*, 53, 298-310.

GAINER, H. (1968)

The role of calcium in excitation-contraction coupling of lobster muscle. *J. Gen. Physiol.*, 52, 88-110.

- GAINER, H., GRUNDFEST, H. (1968)  
Permeability of alkali metal cations in lobster muscle.  
A comparison of electrophysiological and osmometric analyses.  
*J. Gen. Physiol.*, 51, 399-425.
- GARNIER, D., ROUGIER, O., GARGOUÏL, Y.M., CORABOEUF, E. (1969)  
Analyse électrophysiologique du plateau des réponses myocardiques, mise en évidence d'un courant lent entrant en absence d'ions bivalents. *Pflügers Arch.*, 313, 321-342.
- GAYTON, D.C., HINKE, J.A.M. (1971)  
Evidence for the heterogeneous distribution of chloride in the barnacle muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 49, 323-330.
- GESTELAND, R.C., HOWLAND, B., LETTWIN, J.Y., PITTS, W.H. (1959)  
Comments on microelectrodes. *Proc. Inst. Radio Engrs.* 1856-1862.
- GETTES, L.S., REUTER, H. (1974)  
Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J. Physiol.*, London, 240, 703-724.
- GILLESPIE, C.J. (1973 a)  
Towards a molecular theory of the nerve membrane : the significance of the quasithreshold behaviour.  
*J. Theor. Biol.*, 42, 519-531.
- GILLESPIE, C.J. (1973 b)  
Towards a molecular theory of the nerve membrane : prediction of the maximum negative conductance. *J. Theor. Biol.*, 42, 533-543.
- GIRARDIER, L., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GRUNDFEST, H. (1963)  
Evidence for anion-permselective membrane in crayfish muscle fibers and its possible role in excitation-contraction coupling. *J. Gen. Physiol.*, 47, 189-214.
- GLITSCH, H.G. (1973)  
An effect of the electrogenic sodium pump on the membrane potential in beating guinea-pig atria. *Pflügers Arch.*, 344, 169-180.
- GOLDMANN, D.E. (1943)  
Potential, impedance and rectification in membranes.  
*J. Gen. Physiol.*, 27, 37-60.

- GONZÁLEZ-SERRATOS, H. (1966)  
Inward spread of contraction during a twitch.  
J. Physiol., London, 185, 20 P - 21 P.
- GONZÁLEZ-SERRATOS, H. (1971)  
Inward spread of activation in vertebrate muscle fibres.  
J. Physiol., London, 212, 777-799.
- GOTO, M., KIMONO Y., SUETSUGU, Y. (1972)  
Membrane currents responsible for contraction and relaxation  
of the bullfrog ventricle. Jap. J. Physiol., 22, 315-331.
- GOUBEL, M.M. (1973)  
Contribution à l'étude de la distribution du chlore par la  
détermination de son activité intracellulaire chez la fibre  
musculaire striée de crabe. Thèse 3è cycle, LILLE.
- GOUBEL, M.M., GUILBAULT, P. (1972 a)  
Détermination de l'activité du  $Cl^-$  intracellulaire de la  
fibre striée squelettique. J. Physiol., Paris, 65, 239.
- GOUBEL, M.M., GUILBAULT, P. (1972 b)  
Distribution du chlore au niveau de la fibre striée phasique  
du crabe *Carcinus maenas*. C.R. Acad. Sci., Paris,  
275, 1796-1798.
- GRAHAM, J., GERARD, R.W. (1946)  
Membrane potential and excitation of impaled single muscle  
fibers. J. Cell. Comp. Physiol., 28, 97-117.
- GRUNDFEST, H. (1961)  
Ionic mechanisms in electrogenesis. Ann. N.Y. Acad. Sci.  
94, 405-457.
- GRUNDFEST, H. (1967)  
Some comparative biological aspects of membrane permeability  
control. Fed. Proc. Fed. Am. Socs. Exp. Biol., 26, 1613-1626.
- HAFEMANN, D.R. (1969)  
Effects of metal ions on action potentials of lobster giant  
axons. Comp. Biochem. Physiol., 29, 1149-1161.
- HAGIWARA, S. (1966)  
Membrane properties of the barnacle muscle fiber.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 137, 1015-1024.

- HAGIWARA, S., CHICHIBU, S., NAKA, K. (1964)  
The effects of various ions on resting and spike potentials of barnacle muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 48, 163-179.
- HAGIWARA, S., FUKUDA, J., EATON, D.C. (1974)  
Membrane currents carried by Ca, Sr and Ba in barnacle muscle fiber during voltage clamp. *J. Gen. Physiol.*, 63, 564-578.
- HAGIWARA, S., GRUENER, R., HAYASHI, H., SAKATA, H., GRINNELL, A.D. (1968)  
Effect of external and internal pH changes on K and Cl conductances in the muscle fiber membrane of a giant barnacle. *J. Gen. Physiol.*, 52, 773-792.
- HAGIWARA, S., HAYASHI, H., TAKAHASHI, K. (1969)  
Calcium and potassium currents of the membrane of a barnacle muscle fibre in relation to the calcium spike. *J. Physiol.*, London, 205, 115-129.
- HAGIWARA, S., HENKART, M.P., KIDOKORO, Y. (1971 a)  
Action potential and excitation contraction coupling of muscle cells in amphioxus. *Biophys. J.*, 11, 203 a.
- HAGIWARA, S., HENKART, M.P., KIDOKORO, Y. (1971 b)  
Excitation-contraction coupling in amphioxus muscle cells. *J. Physiol.*, London, 219, 233-251.
- HAGIWARA, S., KIDOKORO, Y. (1971)  
Na and Ca components of action potential in amphioxus muscle cells. *J. Physiol.*, London, 219, 217-232.
- HAGIWARA, S., NAKA, K. I. (1964)  
The initiation of spike potential in barnacle muscle fibers under low intracellular  $Ca^{++}$ . *J. Gen. Physiol.*, 48, 141-162.
- HAGIWARA, S., NAKAJIMA, S. (1966)  
Differences in  $Na^+$  and  $Ca^{++}$  spikes as examined by application of tetrodotoxin, procaine and manganese ions. *J. Gen. Physiol.*, 49, 793-805.
- HAGIWARA, S., TAKAHASHI, K. (1967)  
Surface density of calcium ions and calcium spikes in the barnacle muscle fiber membrane. *J. Gen. Physiol.*, 50, 383-601
- HAGIWARA, S., TAKAHASHI, K. (1974)  
Mechanism of anion permeation through the muscle fibre membrane of an elasmobranch fish, *Taeniura lymna*. *J. Physiol.*, London, 238, 109-127.

- HAGIWARA, S., TOYAMA, K., HAYASHI, H. (1971 c)  
Mechanisms of anion and cation permeations in the resting membrane of a barnacle muscle fiber. *J. Gen. Physiol.*, 57, 408-434.
- HAGIWARA, S., WATANABE, A. (1955)  
The effect of tetraethylammonium chloride on the muscle membrane examined with an intracellular microelectrode. *J. Physiol.*, London, 129, 513-527.
- HALL, A.E., HUTTER, O.F., NOBLE, D. (1963)  
Current-voltage relations of Purkinje fibres in sodium-deficient solutions. *J. Physiol.*, London, 166, 225-240.
- HARRIS, E.J. (1963)  
Distribution and movement of muscle chloride. *J. Physiol.*, London, 166, 87-109.
- HARRIS, E.J., OCHS, S. (1966)  
Effects of sodium extrusion and local anaesthetics on muscle membrane resistance and potential. *J. Physiol.*, London, 187, 5-21.
- HASSELBACH, W. (1966)  
Structural and enzymatic properties of the calcium transporting membranes of the sarcoplasmic reticulum. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 137, 1041-1048.
- HAUDECOEUR, G. (1971)  
Etude des perméabilités ioniques membranaires de la fibre musculaire striée de crabe. Thèse 3<sup>e</sup> cycle, LILLE.
- HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1972 a)  
Contribution à l'étude de l'activité électrique de la fibre musculaire striée de crabe (*Carcinus maenas*). I - Effets sur le potentiel d'action de solutions de contenu ionique modifié. *J. Physiol.*, Paris, 64, 367-386.
- HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1972 b)  
Existence d'un antagonisme  $Ca^{++}$ - $Mg^{++}$  au niveau de l'activité électrique de la fibre musculaire striée de crabe. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 274, 2889-2892.
- HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1974 a)  
Action des ions  $H^+$  et des ions tétraéthylammonium (TEA) sur la réponse dépolarisante de la fibre musculaire striée phasique de crabe (*Carcinus maenas*). *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 278, 303-306.

HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1974 b)

Etude des phénomènes de rectification membranaire de la fibre musculaire striée de crabe (*Carcinus maenas*).  
C.R. Acad. Sci., Paris. 278, 2457-2460

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

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

HEISTRACHER, P., HUNT, C.C. (1969)

The relation of membrane changes to contraction in twitch muscle fibres. J. Physiol., London, 201, 589-611.

HENČEK, M., ZACHAR, J., ZACHAROVÁ, D. (1962)

The relation potassium and chloride conductances in the muscle membrane of the crayfish. J. Physiol., London, 162, 68 P - 69 P.

HENDERSON, E.G. (1970)

The effect of external potassium on resting and action potentials in glycerol-treated muscle fibers.  
Biophys. J., 10, 74 a.

HENDERSON, R., RITCHIE, J.M., STRICHARTZ, G.R. (1974)

Evidence that tetrodotoxin and saxitoxin act at a metal cation binding site in the sodium channels of nerve membrane. Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 71, 3936-3940.

HIDAKA, T., ITO, Y., KURIYAMA, H., TASHIRO, N. (1969 a)

Membrane properties of the somatic muscle (obliquely striated muscle) of the earthworm. J. Exp. Biol., 50, 387-404.

HIDAKA, T., ITO, Y., KURIYAMA, H., TASHIRO, N. (1969 b)

effects of various ions on the resting and active membrane of the somatic muscle of the earthworm. J. Exp. Biol., 50, 405-416.

HIDAKA, T., ITO, Y., KURIYAMA, H., TASHIRO, N. (1969 c)

Neuromuscular transmission in the longitudinal layer of somatic muscle in the earthworm. J. Exp. Biol., 50, 417-430.

HILLE, B. (1967)

The selective inhibition of delayed potassium currents in nerve by tetraethylammonium ion. J. Gen. Physiol., 50, 1287-1302.

- HILLE, B. (1968)  
Charges and potentials at the nerve surface : divalents ions and pH. *J. Gen. Physiol.*, 51, 221-236.
- HINKE, J.A.M., CAILLÉ, J.P., GAYTON, D.C. (1973)  
Distribution and stage of monovalent ions in skeletal muscle based on ion electrode, isotope, and diffusion analyses. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 204, 274-296.
- HINKE, J.A.M., GAYTON, D.C. (1971)  
Transmembrane  $K^+$  and  $Cl^-$  activity gradients for the muscle fiber of the giant barnacle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 49, 312-322.
- HINKE, J.A.M., Mc LAUGHLIN, S.G.A. (1967)  
Release of bound sodium in single muscle fibers. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 45, 655-667.
- HINKLE, M., HELLER, P., VAN DER KLOOT, W. (1971)  
The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibers of the crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 40, 181-201.
- HIRAOKA, M., FOZZARD, H.A. (1972)  
Effects of low temperature on chloride current in cardiac Purkinje fibres. *Fed. Proc.*, 31, 313
- HIRAOKA, M., HIRAOKA, M. (1973)  
Effects of low temperature on the positive dynamic current of cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol., London*, 234, 587-595.
- 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., 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., 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., HUXLEY, A.F. (1952 a)  
 Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo. J. Physiol., London, 116, 449-472.
- HODGKIN, A.L., HUXLEY, A.F. (1952 b)  
 The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo. J. Physiol., London, 116, 473-496.
- HODGKIN, A.L., HUXLEY, A.F. (1952 c)  
 The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of Loligo. J. Physiol., London, 116, 497-506.
- HODGKIN, A.L., HUXLEY, A.F. (1952 d)  
 A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol., London, 117, 500-544.
- HODGKIN, A.L., KATZ, B. (1949)  
 The effect of sodium on the electrical activity of the giant axon of the squid. J. Physiol., London, 108, 37-77.
- HOLLEY, A. (1968)  
 Physiologie du coeur d'un Crustacé Isopode (Porcellio dilatatus) : activité mécanique, activité électrique, régulation nerveuse. Thèse Doctorat d'Etat, POITIERS.
- HOLMAN, M.E. (1958)  
 Membrane potentials recorded with high-resistance microelectrodes, and the effects of changes in ionic environment on the electrical and mechanical activity of the smooth muscle of the taenia-coli of the guinea-pig. J. Physiol., London, 141, 464-488.
- HOROWICZ, P. (1964)  
 The effects of anions on excitable cells. Pharmacol. Rev., 16, 193-221.
- HOWARTH, J.V. (1957)  
 The effect of hypertonic solutions on the velocity of shortening of the frog's sartorius. J. Physiol., London, 137, 23 P - 24 P.
- HOWELL, J.N. (1969)  
 A lesion of the transverse tubules of skeletal muscle. J. Physiol., London, 201, 515-533.

- HOWELL, J.N., JENDEN, D.J. (1967)  
T - tubules of skeletal muscle : morphological alterations which interrupt excitation-contraction coupling.  
Fed. Proc., 26; 553
- HOWELL, J.N., VAUGHAN, P.C., EISENBERG, R.S. (1970)  
Maintenance of resting potentials in glycerol treated muscle fibres. Biophys. J., 10, 75 a.
- HOYLE, G. (1967)  
Specificity of muscle. In : Invertebrate nervous system : their significance for mammalian neurophysiology.  
C.A.G. WIERSMA Ed. Chicago and London University Press., 151-167.
- HOYLE, G., SMYTH, T. (1963)  
Giant muscle fibres in a barnacle Balanus nubilus Darwin. Science, N.Y., 139, 49-50.
- HOYLE, G., WIERSMA, C.A.G. (1958)  
Excitation at neuromuscular junctions in crustacea. J. Physiol., London, 143, 403-425.
- HOYT, R.C. (1971)  
Independence of the sodium and potassium conductance channels. A kinetic argument. Biophys. J., 11, 110-122.
- HUDDART, H., WOOD, D.W. (1966)  
The effect of DNP on the resting potential and ionic content of some insect skeletal muscle fibers.  
Comp. Biochem. Physiol., 18, 681-688.
- HUTTER, O.F. (1970)  
The properties of the delayed rectifier as studied in voltage-clamped skeletal muscle fibres in isotonic potassium methylsulphate solution containing formaldehyde.  
J. Physiol., London, 208, 80 P.
- HUTTER, O.F., NOBLE, D. (1960 a)  
Rectifying properties of cardiac muscle. Nature, London, 188, 495.
- HUTTER, O.F., NOBLE, D. (1960 b)  
The chloride conductance of frog skeletal muscle.  
J. Physiol., London, 161, 89-102.

- HUTTER, O.F., PADSHA, S.M. (1959)  
Effect of nitrate and other anions on the membrane resistance of frog skeletal muscle. *J. Physiol.*, London, 146, 117-132.
- HUTTER, O.F., WARNER, A.E. (1967 a)  
The pH sensitivity of the chloride conductance of frog skeletal muscle. *J. Physiol.*, London, 189, 403-425.
- HUTTER, O.F., WARNER, A.E. (1967 b)  
The effect of pH on the  $^{36}\text{Cl}$  efflux from frog skeletal muscle. *J. Physiol.*, London, 189, 427-443.
- HUTTER, O.F., WARNER, A.E. (1967 c)  
The anion discrimination of the skeletal muscle membrane. *J. Physiol.*, London, 61P - 62 P.
- HUTTER, O.F., WARNER, A.E. (1967 d)  
Action of some foreign cations and anions on the chloride permeability of frog muscle. *J. Physiol.*, London, 189, 445-460.
- HUTTER, O.F., WARNER, A.E. (1972)  
The voltage dependence of the chloride conductance of frog muscle. *J. Physiol.*, London, 227, 275-290.
- HUXLEY, A.F. (1959)  
Local activation in muscle. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 81, 446-452.
- HUXLEY, A.F., STAUB, R.W. (1958)  
Local activation and inter-fibrillar structures in striated muscle. *J. Physiol.*, London, 143, 40 P - 41 P.
- HUXLEY, A.F., TAYLOR, R.E. (1956)  
Local activation of striated muscles from the frog and the crab. *J. Physiol.*, London, 135, 17 P - 18 P.
- HUXLEY, A.F., TAYLOR, R.E. (1958)  
Local activation of striated muscle fibres. *J. Physiol.*, London, 144, 426-441.
- ILDEFONSE, M., PAGER, J., ROUGIER, O. (1969 a)  
Relations entre les propriétés de rectification et le système tubulaire transverse des fibres musculaires squelettiques rapides. *J. Physiol.*, Paris, 61, suppl. 1, 137.

- ILDEFONSE, M., PAGER, J., ROUGIER, O. (1969 b)  
Analyse des propriétés de rectification de la fibre musculaire squelettique rapide après traitement au glycérol. C.R. Acad. Sci., Paris, 268, 2783-2786.
- ILDEFONSE, M., ROUGIER, O. (1968)  
Activation et inactivation du courant potassium de la fibre musculaire squelettique. C.R. Acad. Sci., Paris, 267, 2344-2347.
- ILDEFONSE, M., ROUGIER, O. (1969)  
Sodium and potassium components of the membrane current in twitch skeletal muscle fibres investigated with a voltage-clamp technique. J. Physiol., London, 204, 97 P - 98 P.
- ILDEFONSE, M., ROUGIER, O. (1972)  
Voltage-clamp analysis of the early current in frog skeletal muscle fibre using the double sucrose-gap method. J. Physiol., London, 222, 373-395.
- ILDEFONSE, M., ROY, G. (1972)  
Kinetic properties of the sodium current in striated muscle fibres on the basis of the HODGKIN-HUXLEY theory. J. Physiol., London, 227, 419-431.
- INOUE, F. (1971)  
Membrane ionic current of the propagated action potential. A new method. Jap. J. Physiol., 21, 601-606.
- ITO, Y., KURIYAMA, H., TASHIRO, N. (1970)  
Effects of divalents cations on spike generation in the longitudinal somatic muscle of the earthworm. J. Exp. Biol., 52, 79-94.
- JENERICK, H.P. (1953)  
Muscle membrane potential, resistance and external potassium chloride. J. Cell. Comp. Physiol., 42, 427-448.
- JENERICK, H. (1963)  
Phase plane trajectories of the muscle spike potential. Biophys. J., 3, 363-377.
- JENERICK, H. (1964)  
An analysis of the striated muscle fibre action current. Biophys. J., 4, 77-91.

XXIV.

- JULIAN, F.J., GOLDMAN, D.E. (1960)  
A method for obtaining full-sized resting and action potentials from single axons without internal electrodes.  
Abstr. Biophys. Soc., E, 3.
- JULIAN, F.J., MOORE, J.W., GOLDMAN, D.E. (1962)  
Membrane potentials of the lobster giant axon obtained by use of the sucrose-gap technique. *J. Gen. Physiol.*, 45, 1195-1216.
- KAO, C.Y., STANFIELD, P.R. (1968)  
Actions of some anions on electrical properties and mechanical threshold of frog twitch muscle. *J. Physiol.*, London, 198, 291-309.
- KAO, C.Y., STANFIELD, P.R. (1970)  
Actions of some cations on the electrical properties and mechanical threshold of frog sartorius muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 55, 620-639.
- KATASE, K., TOMITA, T. (1972)  
Influence of Na and Ca on the recovery process from K contracture in the guinea-pig taenia-coli.  
*J. Physiol.*, London, 224, 489-500.
- KATZ, B. (1948)  
The electrical properties of the muscle fibre membrane. *Proc. Roy. Soc.*, London, 135, 506-534.
- KATZ, B. (1949)  
Les constantes électriques de la membrane du muscle. *Arch. Sci. Physiol.*, 3, 285-300.
- KATZ, B., LOU, C.H. (1947)  
Electric rectification in frog's muscle. *J. Physiol.*, London, 106, 29 P - 30 P.
- KATZ, G.M., REUBEN, J.P., BERMAN, M., DUNHAM, P.B. (1972)  
Potassium redistribution and water movement in crayfish muscle fibers. *J. Comp. Physiol.*, 80, 267-283.
- KATZ, G.M., SCHWARTZ, T.L. (1967)  
Some problems and criteria for the voltage clamping of excitable cells. *Med. Biol. Eng.*, 25 - 9, 360.
- KERKUT, G.A., RIDGE, R.M.A.P. (1961)  
The effect of temperature changes on the resting potential of crab, insect and frog muscle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 3, 64-70.

- KEYNES, R.D., ROJAS, E., TAYLOR, R.E., VERGARA, J. (1973)  
Calcium and potassium systems of a giant barnacle muscle fibre under membrane potential control. *J. Physiol.*, London, 229, 409-455.
- KIDOKORO, Y., HAGIWARA, S., HENKART, M.P. (1974)  
Electrical properties of obliquely striated muscle fibre membrane of *Anodonta glochidium*. *J. Comp. Physiol.*, 90, 321-338.
- KLEBER, A.G. (1973)  
Effects of sucrose solution on the longitudinal tissue resistivity of trabecular muscle from mammalian heart. *Pflügers Arch.*, 345, 195-205.
- KOHLHARDT, M., HAASSTERT, H.P., KRAUSE, H. (1973)  
Evidence of non-specificity of the Ca channel in mammalian myocardial fibre membranes. Substitution of Ca by Sr, Ba or Mg as charge carriers. *Pflügers Arch.*, 342, 125-136.
- KÖLLIKER, A. (1866)  
Über die Cohnheim'schen Felder der Muskelquerschnitte. *Z. Wiss. Zool.*, 16, 374-382.
- KOOTSEY, J.M., JOHNSON, E.A. (1972)  
Voltage clamp of cardiac muscle. A theoretical analysis of early currents in the single sucrose gap. *Biophys. J.*, 12, 1496-1508.
- KOPPENHÖFER, E. (1967)  
Die Wirkung von Tetraäthylammonium - Chloride auf die Membranströme Ranvierscher Schnürringe von *Xenopus laevis*. *Pflügers Arch.*, 293, 34-55.
- KOPPENHÖFER, E., SCHRAMM, M. (1974)  
Intracellular application of strong currents under current clamp conditions. *Pflügers Arch.*, 350, 335-340.
- KOPPENHÖFER, E., VOGEL, W. (1969)  
Wirkung von Tetrodotoxin und Tetraäthylammoniumchlorid an der Innenseite der Schnürringmembran von *Xenopus laevis*. *Pflügers Arch.*, 313, 361-380.
- KROLENKO, S.A. (1969)  
Changes in T - system of muscle fibres under the influence of influx and efflux of glycerol. *Nature*, 221, 966-968.

- KROLENKO, S.A., ADAMJAN, S.J. (1967)  
Permeability of muscle fibres to non-electrolytes.  
Cytology, URSS, 9, 185-192.
- KROLENKO, S.A., PAK, A.D., FEDOROV, V.V. (1973)  
Effect of influx and efflux of glycerol on the twitches of  
frog isolated muscle fibres. Tsitologia, 15, 301-309.
- KURIYAMA, H. (1963)  
The influence of potassium, sodium and chloride on the  
membrane potential of the smooth muscle of taenia-coli.  
J. Physiol., London, 166, 15-28.
- LAKSHMINARAYANAI AH, N., ROJAS, E. (1973)  
Effects of anions and cations on the resting membrane poten-  
tial of internally perfused barnacle muscle fibres.  
J. Physiol., London, 233, 613-634.
- LANG, F., SUTTERLIN, A., PROSSER, C.L. (1970)  
Electrical and mechanical properties of the closer muscle  
of the alaskan king crab Paralithodes camtschatica.  
Comp. Biochem. Physiol., 32, 615-628.
- LASALLE, B. (1971)  
Contribution à l'étude de l'électrogénèse cardiaque du  
crabe Carcinus maenas. Thèse 3è cycle, LILLE.
- LASALLE, B., GUILBAULT, P. (1972)  
Effets des inhibiteurs de perméabilité membranaire sur le  
potentiel d'action cardiaque du crabe Carcinus maenas.  
C.R. Acad. Sci., Paris, 274, 1175-1178.
- LAW, P.K., ATWOOD, H.L. (1971)  
Membrane resistance change induced by nitrate and other  
anions in long and short sarcomere muscle fibres of  
crayfish. Comp. Biochem. Physiol., 40, 265-271.
- LATORRE, R., DIPOLO, R. (1971)  
The effet of temperature on resting potential in muscle  
fibres of the barnacle. Biophys. Soc. Abst., 135 a.
- LEENDERS, H.J. (1967)  
Ca-coupling in the anterior byssal retractor muscle of  
Mytilus edulis L. J. Physiol., London, 192, 681-693.
- LEOTY, C. (1974)  
Membrane currents and activation of contraction in rat  
ventricular fibres. J. Physiol., London, 239, 237-249.

LOCKWOOD, A.P.M. (1968)

The neuromuscular system. in : "Aspects of the physiology of crustacea" OLIVIER et BOYD Ed. (Edinburgh et London). 7, 160-205.

LOUAGE, M. (1975)

Communication personnelle.

LÜTTGAU, H.C., NIEDERGERKE, R. (1958)

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

Mc CANN, F.V. (1971)

Calcium action potentials in insect myocardial fibers. Comp. Biochem. Physiol., 40, 353-357.

Mc GUIGAN, J.A.S. (1974)

Some limitations of the double sucrose gap, and its use in a study of the slow outward current in mammalian ventricular muscle. J. Physiol., London, 240, 775-806.

MAGARIBUCHI, T., KURIYAMA, H. (1972)

Effects of noradrenaline and isoprenaline on the electrical and mechanical activities of guinea pig depolarized taenia coli. Jap. J. Physiol., 22, 253-270.

MAINWOOD, G.W., LEE, S.L. (1968)

The hyperpolarizing effect of hydrogen ions on transmembrane potential in frog skeletal muscle. Can. J. Physiol. Pharmacol., 46, 151-157.

MANDRINO, M. (1973)

Inactivation du courant sodium de la fibre musculaire striée de grenouille, normale et détubulée. Rôle du système tubulaire transverse. C.R. Soc. Biol., Paris, 167, 908-913.

MARSHALL, J.M. (1965)

Calcium and uterine smooth muscle membrane potentials. In : Muscle. W. M. PAUL, E.E. DANIEL, C.M. KAY, G. MANCKTON, Ed. New York Pergamon Press, 229-238.

MASCHER, D., PEPER, K. (1969)

Two components of inward current in myocardial muscle fibers. Pflügers Arch., 307, 190-203.

MASHIMA, H., WASHIO, H. (1964)

The effect of zinc on the electrical properties of membrane and the twitch tension in frog muscle. Jap. J. Physiol., 14, 538-550.

MATHIEU, J. (1970)

Participation de la microscopie électronique dans la compréhension du couplage excitation-contraction.  
D.E.A. Physiologie, LILLE.

MILEDI, R., STEFANI, E., STEINBACH, A.B. (1971)

Induction of the action potential mechanism in slow muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, London, 217, 737-754.

MIRONNEAU, J. (1974)

Voltage clamp analysis of the ionic currents in uterine smooth muscle using the double sucrose gap method. *Pflügers Arch.*, 352, 197-210.

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

Analyse des réponses électriques de la fibre musculaire lisse d'utérus de ratte : mise en évidence d'un courant lent calcico-sodique. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 272, 436-439.

MIRONNEAU, J., LENFANT, J. (1972)

Activité électrique du faisceau musculaire lisse de l'utérus. *J. Physiol.*, Paris, 64, 97-105.

MIYAMOTO, M., HUBBARD, J.I. (1972)

On the inhibition of muscle contraction caused by exposure to hypertonic solutions. *J. Gen. Physiol.*, 59, 689-700.

MOMMAERTS, W.F.H.M. (1971)

Excitation and response in muscular tissues. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 185, 425-432.

MOORE, J.W., BLAUSTEIN, M.P., ANDERSON, N.C., NARAHASHI, T. (1967 a)

Basis of tetrodotoxin's selectivity in blockage of squid axons. *J. Gen. Physiol.*, 50, 1401-1411.

MOORE, J.W., NARAHASHI, T., SHAW, T.I. (1967 b)

An upper limit to the number of sodium channels in nerve membrane ? *J. Physiol.*, London, 188, 99-105.

MOORE, J.W., RAMON, F. (1974)

On numerical integration of the HODGKIN and HUXLEY equations for a membrane action potential. *J. Theor. Biol.*, 45, 249-273.

MOORE, L.E. (1969)

Anion permeability of frog skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* 54, 33-52.

- MOUNIER, Y. (1970)  
Conductances ioniques membranaires de repos de la fibre musculaire de crabe. Thèse 3<sup>e</sup> cycle, LILLE.
- MOUNIER, Y., GUILBAULT, P. (1970)  
Influence du chlore sur les phénomènes électriques de repos de la fibre musculaire striée de crabe.  
C.R. Acad. Sci., Paris, 271, 415-418.
- MOUNIER, Y., HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1969 a)  
Données électrophysiologiques sur la fibre musculaire de crabe (*Carcinus maenas*). J. Physiol., Paris, 61, 359-360.
- MOUNIER, Y., HAUDECOEUR, G., GUILBAULT, P. (1969 b)  
Perméabilité membranaire aux ions monovalents de la fibre musculaire de crabe (*Carcinus maenas*)  
C.R. Soc. Biol., Paris, 163, 1546-1550.
- MOUNIER, Y., VASSORT, G. (1973)  
Analyse en potentiel imposé des courants membranaires de la fibre musculaire de crabe. C.R. Acad. Sci., Paris, 276, 173-176.
- MOUNIER, Y., VASSORT, G. (1974)  
Influence of Cl ions on the Ca-current in crab muscle fibre. J. Physiol., London, 242, 92 P - 93 P.
- MOUNIER, Y., VILAIN, J.P., GUILBAULT, P. (1970)  
Influence du pH externe sur la perméabilité ionique membranaire de la fibre musculaire de crabe (*Carcinus maenas*)  
C.R. Soc. Biol., Paris, 164, 2566-2570.
- MOZHAYEVA, G.N., NAUMOV, A.P. (1972)  
Tetraethylammonium ion inhibition of potassium conductance of the nodal membrane. Biochim. Biophys. Acta, 290, 248-255.
- NAKAJIMA, S., BASTIAN, J. (1974)  
Double sucrose-gap method applied to single muscle fiber of *Xenopus laevis*. J. Gen. Physiol., 63, 235-256.
- NAKAJIMA, S., IWASAKI, S., OBATA, K. (1962)  
Delayed rectification and anomalous rectification in frog's skeletal muscle membrane. J. Gen. Physiol., 46, 97-115.

- NAKAJIMA, S., NAKAJIMA, Y., PEACHEY, L.D. (1969)  
Speed of repolarization and morphology of glycerol-treated muscle fibres. *J. Physiol.*, London, 200, 115 P - 116 P.
- NARAHASHI, T. (1974)  
Chemicals as tools in the study of excitable membranes. *Physiol. Rev.*, 54, 813-889.
- NARAHASHI, T., DEGUCHI, T., URAKAWA, N., OHKUBO, Y. (1960)  
Stabilization and rectification of muscle fiber membrane by tetrodotoxin. *Amer. J. Physiol.*, 198, 934-938.
- NASTUK, W.L., HODGKIN, A.L. (1950)  
The electrical activity of single muscle fibers. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 35, 39-73.
- NEHER, E., LUX, H.D. (1972)  
Differential action of TEA<sup>+</sup> on two K<sup>+</sup>-current components of a molluscan neurone. *Pflügers Arch.*, 336, 87-100.
- NOBLE, D. (1960)  
Cardiac action and pacemaker potentials based on the HODGKIN-HUXLEY equations. *Nature*, 188, 495-497.
- NOBLE, D. (1962)  
A modification of the HODGKIN-HUXLEY equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. *J. Physiol.*, London, 160, 317-352.
- NOBLE, D. (1965)  
Electrical properties of cardiac muscle attributable to inward going (anomalous) rectification. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 66, 127-136.
- NOBLE, D. (1966)  
Applications of HODGKIN-HUXLEY equations to excitable tissues. *Physiol. Rev.*, 46, 1-50.
- NOBLE, D., TSIEN, R.W. (1969 a)  
Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in Purkinje fibres. *J. Physiol.*, London, 200, 205-231.
- NOBLE, D., TSIEN, R.W. (1969 b)  
Reconstruction of the repolarization process in cardiac Purkinje fibres based on voltage clamp measurements of membrane currents. *J. Physiol.*, London, 200, 233-254.

- NOBLE, S.J. (1972)  
Membrane currents in atrial muscle. Thèse, Somerville College, OXFORD.
- OCHI, R. (1970)  
The slow inward current and the action of manganese ions in guinea-pig myocardium. *Pflügers Arch.*, 316, 81-94.
- OCHI, R., NISHIYE, H. (1974)  
Effect of intracellular tetraethylammonium ion on action potential in the guinea-pig's myocardium. *Pflügers Arch.*, 348, 305-316.
- O'DONNELL, J.M., KOVÁCS, T. (1974)  
Functional and ionic changes accompanying magnesium penetration in skeletal muscle. *Pflügers Arch.*, 350, 321-334.
- OFFNER, F.F. (1973)  
The excitable membrane. Biophysical theory and experiment. *Bull. Math. Biol.*, 35, 101-107.
- OJEDA, C., ROUGIER, O. (1974)  
Kinetic analysis of the delayed outward currents in frog atrium. Existence of two types of preparation. *J. Physiol.*, London, 239, 51-73.
- ORENTLICHER, M., ORNSTEIN, R.S. (1971)  
Influence of external cations on caffeine-induced tension : calcium extrusion in crayfish muscle. *J. Membrane Biol.*, 5, 319-333.
- ORENTLICHER, M., REUBEN, J.P. (1971)  
Localization of ionic conductances in crayfish muscle fibers. *J. Membrane Biol.*, 4, 209-226.
- OVERTON, E. (1902)  
Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. *Pflügers Arch.*, 92, 115-280.
- OZEKI, M. (1969)  
Crayfish muscle fiber : spike electrogenesis in fibers with long sarcomères. *Science*, 163, 82-83.
- PAPIR, D. (1973)  
The effect of glycerol treatment on crab muscle fibres. *J. Physiol.*, London, 230, 313-330.

- PARDO, R.J., KLOKA, A.C., FARINA, J.F. (1974)  
Action potentials from a glycerol perfused frog gastrocnemius : a new approach to an old problem.  
Comp. Biochem. Physiol., 48, 245-248.
- PARNAS, I., DAGAN, D. (1969)  
Electrical et mechanical properties of abdominal extensor muscles of the prawn *Palaemon elegans*.  
Comp. Biochem. Physiol., 28, 359-369.
- PEACHEY, L.D. (1965)  
Transverse tubules in excitation-contraction coupling.  
Fed. Proc., 24, 1124-1134.
- PEACHEY, L.D. (1966)  
The role of transverse tubules in excitation contraction coupling in striated muscles.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 137, 1025-1037.
- PEACHEY, L.D. (1967)  
Membrane systems of crab fibers. Amer. Zoologist., 7, 505-513.
- PEACHEY, L.D., ADRIAN, R.H. (1973)  
Electrical properties of the transverse tubular system.  
In : Structure and function of muscle. G. BOURNE, Ed.  
Academic Press, Inc., New York, 3.
- PEACHEY, L.D., HUXLEY, A.F. (1964)  
Transverse tubules in crab muscle. J. Cell. Biol., 23, 70 A - 71 A.
- PEPER, K., TRAUTWEIN, W. (1968)  
A membrane current related to the plateau of the action potential of Prukinje fibres. Pflügers Arch., 303, 108-123.
- PIEK, T. (1974)  
Ion barriers in muscle fibres.  
Arch. Internat. Physiol. Biochim., 82, 337-339.
- PIEK, T., NJIO, K.D., MANTEL, P. (1973)  
Effects of anions and dinitrophenol on resting membrane potentials of insect muscle fibres. J. Insect. Physiol., 19, 2373-2392.
- PLONSEY, R. (1974)  
The active fiber in a volume conductor.  
I.E.E.E. Trans. Biomed. Eng., 21, 371-381.

- POLIMENI, P.I. (1974)  
Extracellular space and ionic distribution in rat ventricle.  
*Amer. J. Physiol.*, 227, 676-683.
- PORTER, K.R., PALADE, G.E. (1957)  
Studies on the endoplasmic reticulum. III - Its form and  
distribution in striated muscle cells.  
*J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 3, 269-300.
- PORTZEHL, H., CALDWELL, P.C., RÜEGG, J.C. (1964)  
The dependence of contraction and relaxation of muscle  
fibres from the crab *Maia squinado* on the internal concen-  
tration of free calcium ions. *Biochim. Biophys. Acta*,  
79, 581-591.
- PROSSER, C.L. (1974)  
Smooth muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 36, 503-535.
- PROSSER, C.L., BROWN, F.A. (1962)  
Inorganic ions. in : *Comparative animal physiology*.  
SAUNDERS COMPANY Ed. Philadelphia., 3, 57-80.
- RAPOPORT, S.I., FREYGANG, W.H., PEACHEY, L.D. (1968)  
Swelling of transverse tubular system of frog sartorius.  
*Biophys. J.*, 8, 116 A.
- RENKIN, E.M. (1961)  
Permeability of frog skeletal muscle cells to choline.  
*J. Gen. Physiol.*, 44, 1159-1164.
- REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., BERMAN, M. (1970)  
The relation between pCa and steady state tension in  
skinned crayfish muscle fibers. *Fed. Proc.*, 29, 846.
- REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., BERMAN, M., GRUNDFEST, H. (1971)  
Regulation of tension in the skinned crayfish muscle  
fiber. I - contraction and relaxation in the absence of Ca  
( pCa > 9). *J. Gen. Physiol.*, 57, 385-407.
- REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GARCIA, H., GRUNDFEST, H. (1967)  
Excitation-contraction coupling in crayfish.  
*Am. Zoologist.* 7, 623-645.
- REUBEN, J.P., GIRARDIER, L., GRUNDFEST, H. (1962)  
The chloride permeability of crayfish muscle fibers.  
*Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole.*, 123, 509-510.

XXXIV.

- REUBEN, J.P., GIRARDIER, L., GRUNDFEST, H. (1964)  
Water transfer and cell structure in isolated crayfish muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 47, 1141-1174.
- REUBEN, J.P., WERMAN, R., GRUNDFEST, H. (1961)  
The ionic mechanisms of hyperpolarizing responses in lobster muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 45, 243-265.
- REUTER, H. (1967)  
The dependance of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium-concentration. *J. Physiol.*, London, 192, 479-492.
- REUTER, H. (1968)  
Slow inactivation of currents in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.*, London, 197, 233-253.
- RHEUBEN, M.B. (1972)  
The resting potential of moth muscle fibre. *J. Physiol.*, London, 225, 529-554.
- RICHARDS, C.D. (1969)  
Chloride fluxes in crab muscle fibres. *J. Physiol.*, London, 202, 211-221.
- ROJAS, E., ATWATER, I. (1967)  
Effect of tetrodotoxin on the early outward currents in perfused giant axons. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 57, 1350-1355.
- ROSENBLUTH, J. (1969)  
Sarcoplasmic reticulum of an unusually fast-acting crustacean muscle. *J. Cell. Biol.*, 42, 534-547.
- ROUGIER, O. (1963)  
La rectification de la membrane musculaire étudiée à l'aide du "sucrose-gap". *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta.* 22, 36 C - 38 C.
- ROUGIER, O. (1964)  
Mesure de la résistance membranaire de la fibre musculaire squelettique. Etude à l'aide de la méthode dite du "sucrose-gap". *C.R. Soc. Biol., Paris*, 158, 343-347.
- ROUGIER, O., ILDEFONSE, M., GARGOUÏL, Y.M. (1966)  
Application de la technique du double "sucrose-gap" à l'étude électrophysiologique du muscle cardiaque. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 263, 1482-1485.

- ROUGIER, O., VASSORT, G., GARNIER, D., GARGOUÏL, Y.M.,  
CORABOEUF, E. (1969)  
Existence and role of slow inward current during the frog  
atrial action potential. *Pflügers Arch.*, 308, 91-110.
- ROUGIER, O., VASSORT, G., ILDEFONSE, M. (1968 a)  
Analyse qualitative en voltage imposé du courant de membrane  
de la fibre musculairesquelettique.  
*C.R. Acad. Sci., Paris*, 266, 1754-1757.
- ROUGIER, O., VASSORT, G., STÄMPFLI, R. (1968 b)  
Voltage clamp experiments on frog atrial heart muscle fibres  
with the sucrose-gap technique. *Pflügers Arch.*, 301, 91-103.
- ROTHBERG, J.M. (1973)  
Temperature effects on the electrical characteristics of the  
barnacle muscle fiber. *Amer. J. Physiol.*, 225, 240-246.
- RÓZSA, K.S., SZÓKE, I.V. (1972)  
Ion mechanisms of the resting and action potentials in the  
heart of some insect species. *Comp. Biochem. Physiol.*,  
41, 495-506.
- RUSKA, H., EDWARDS, G.A., CAESAR, R. (1958)  
A concept of intracellular transmission of excitation by  
means of the endoplasmic reticulum. *Experientia*,  
14, 117-120.
- RUSSELL, J.M., BROWN, A.M. (1972)  
Active transport of chloride by the giant neurone of the  
*Aplysia abdominal ganglion*. *J. Gen. Physiol.*, 60, 499-518.
- RUTHERFORD, W. (1897)  
On the structure and contraction of striped muscular fibre.  
*J. Anat. Physiol.*, 31, 309-342.
- SAKAI, T., IIZUKA, T. (1972)  
Effect of caffeine and cooling on smooth muscle of toad  
bladder. *Jap. J. Physiol.*, 22, 135-145.
- SAKAI, T., KURIHARA, S., YOSHIOKA, T. (1974)  
Action of manganese ions on excitation-contraction coupling  
of frog skeletal muscle fibres. *Jap. J. Physiol.*, 24, 513-530.
- SANDOW, A. (1965)  
Excitation-contraction coupling in skeletal muscle.  
*Pharmacol. Rev.*, 17, 265-320.

- SANDOW, A. (1970)  
Skeletal muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 32, 87-138.
- SCHANNE, O.F., LAVALLÉE, M., LAPRADE, R., GAGNÉ, S. (1968)  
Electrical properties of glass microelectrodes.  
*Proc. Inst. Electr. Electron. Eng.*, 56, 1072-1082.
- SELVERSTON, A. (1967)  
Structure and function of the transverse tubular system  
in crustacean muscle fibers. *Amer. Zoologist.*, 7, 515-525.
- SEVCIK, C., NARAHASHI, T. (1972)  
Electrical properties and excitation-contraction coupling  
in skeletal muscle treated with ethylene glycol.  
*J. Gen. Physiol.*, 60, 221-236.
- SHAW, J. (1955 a)  
Ionic regulation in the muscle fibres of *Carcinus maenas*.  
I - The electrolyte composition of single fibres.  
*J. Exp. Biol.*, 32, 383-396.
- SHAW, J. (1955 b)  
Ionic regulation in the muscle fibres of *Carcinus maenas*  
II - The effect of reduced blood concentrations.  
*J. Exp. Biol.*, 32, 664-680.
- SHAW, J. (1958 a)  
Further studies on ionic regulation in the muscle fibres of  
*Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.*, 35, 902-919.
- SHAW, J. (1958 b)  
Osmoregulation in the muscle fibres of *Carcinus maenas*.  
*J. Exp. Biol.*, 35, 920-929.
- SHERMAN, R.G., ATWOOD, H.L. (1972)  
Correlated electrophysiological and ultrastructural  
studies of a crustacean motor unit.  
*J. Gen. Physiol.*, 59, 586-615.
- SHRAGER, P. (1974)  
Ionic conductance changes in voltage clamped crayfish  
axons at low pH. *J. Gen. Physiol.*, 64 666-690.
- SMITH, D.S. (1965)  
The organization of flight muscle in an aphid, *Megoura  
viciae* (Homoptera). *J. Cell. Biol.*, 27, 379-393.

- SMITH, D.S. (1966)  
The organization and function of the sarcoplasmic reticulum and T - system of muscle cells.  
Prog. Biophys. molec. Biol., 16, 107-142.
- SPURWAY, N.C. (1965)  
Effects of pH variation upon the anion permeability of frog muscle. J. Physiol., London, 181, 51 P.
- STÄMPFLI, R. (1954)  
A new method for measuring membrane potentials with external electrodes. Experientia, 10, 508-509.
- STANFIELD, P.R. (1970)  
The effect of the tetraethylammonium ion on the delayed currents of frog skeletal muscle. J. Physiol., London, 209, 209-229.
- STEFANI, E., STEINBACH, A.B. (1969)  
Resting potential and electrical properties of frog slow muscle fibres. Effect of different external solutions. J. Physiol., London, 203, 383-401.
- STEGGARDA, F.R. (1927)  
Effects of water content on muscular efficiency. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 24, 915-916.
- SUAREZ-KURTZ, G. (1974)  
Inhibition of membrane calcium activation by neomycin and streptomycin in crab muscle fibers. Pflügers Arch., 349, 337-349.
- SUAREZ-KURTZ, G., REUBEN, J.P., BRANDT, P.W., GRUNDFEST, H. (1972)  
Membrane calcium activation in excitation-contraction coupling. J. Gen. Physiol., 59, 676-688.
- SUGI, H. (1973)  
The mode of inward spread of activation in frog muscle fibres investigated by means of high-speed microcinematography. Proc. Japan. Acad., 49, 63-68.
- SUGI, H. (1974)  
Inward spread of activation in frog muscle fibres investigated by means of high-speed microcinematography. J. Physiol., London, 242, 219-235.

- TAKEDA, K. (1967)  
Permeability changes associated with the action potential in procaine-treated crayfish abdominal muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, 50, 1049-1074.
- TAKEDA, K., OOMURA, Y. (1969)  
Two component anomalous rectification in frog muscle fibers. *Proc. Japan. Acad.*, 45, 814-819.
- TAKEDA, K., OOMURA, Y. (1970)  
Regenerative response in sarcotubular system of frog muscle fibers in F - rich solution. *Proc. Japan. Acad.*, 46, 1046-1050.
- TARR, M. (1971)  
Two inward currents in frog atrial muscle. *J. Gen. Physiol.*, 58, 523-543.
- TASAKI, I., HAGIWARA, S. (1957)  
Demonstration of two stable potential states in the squid giant axon under tetraethylammonium chloride. *J. Gen. Physiol.*, 40, 859-885.
- TASAKI, I., LUXORO, M., RUARTE, A. (1965)  
Electrophysiological studies of Chilean squid axons under internal perfusion with sodium-rich media. *Science*, 150, 899-901.
- TASAKI, I., TAKENAKA, T. (1963)  
Resting and action potential of squid giant axon intracellularly perfused with sodium-rich solutions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 50, 619-626.
- THOMAS, R.C. (1972)  
Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells. *Physiol. Rev.*, 52, 563-594.
- TOMITA, T., YAMAMOTO, T. (1971)  
Effects of removing the external potassium on the smooth muscle of guinea-pig taenia-coli. *J. Physiol.*, London, 212, 851-868.
- TRAUTWEIN, W. (1973)  
Membrane current in cardiac muscle fibres. *Physiol. Rev.*, 53, 793-835.
- VAN DER KLOOT, W. (1973)  
The effects of the "calcium-antagonist" prenylamine, on the action potential of crayfish muscle (*Orconectes virilis*). *Experientia*, 29, 975-976.

- VAN DETH, M.C. (1974)  
Transport actif des ions monovalents au travers des membranes biologiques. D.E.A., LILLE.
- VASSORT, G. (1973 )  
Initial ionic currents in guinea-pig myometrium. J. Physiol., London, 237, 50 P - 51 P.
- VASSORT, G., ROUGIER, O., GARNIER, D., SAUVIAT, M.P., CORABOEUF, E., GARGOUIL, Y.M. (1969)  
Effect of adrenaline on membrane inward currents during the cardiac action potential. Pflügers Arch., 309, 70-81.
- VAUGHAN, P.C., HOWELL, J.N., EISENBERG, R.S. (1972)  
The capacitance of skeletal muscle fibers in solutions of low ionic strength. J. Gen. Physiol., 59, 347-359.
- VENOSA, R.A. (1974)  
Inward movement of sodium ions in resting and stimulated frog's sartorius muscle. J. Physiol., London, 241, 155-173.
- VERATTI, E. (1902)  
Investigations on the fine structure of striated muscle fiber. in : J. Biophys. Biochem. Cytol. (1961), 10, 1-59.
- VIERHAUS, J., ULBRICHT, W. (1971)  
Rate of action of tetraethylammonium ions on the duration of action potentials in single Ranvier nodes. Pflügers Arch., 326, 88-100.
- VITEK, M., TRAUTWEIN, W. (1971)  
Slow inward current and action potential in cardiac Purkinje fibres. The effect of  $Mn^{++}$  ions. Pflügers Arch., 323, 204-218.
- VOLLE, R.L., GLISSON, S.N., HENDERSON, E.G. (1972)  
Blockade by tetraethylammonium (TEA) and rubidium of potassium exchange in sartorius muscle fibers : distribution of  $^{14}C$ -TEA in muscle. Pflügers Arch., 333, 281-296.
- WASHIO, H. (1971)  
Initiation of action potential in insect muscle fibres. Proc. Can. Fed. Biol. Soc., 14, 144.
- WASHIO, H. (1972)  
The ionic requirements for the initiation of action potentials in insect muscle fibers. J. Gen. Physiol., 59, 121-134.

- WEBER, A. (1966)  
Energized calcium transport and relaxing factors. in :  
Current topics in bioenergetics. D.R. SANADI, Ed.  
Academic Press., Inc. New York, 1.
- WEIDMAN, S. (1955)  
Rectifier properties of Purkinje fibres. Amer. J. Physiol.,  
183, 671.
- WEIDMANN, S. (1968)  
Elektrische Konstanten des Myokards.  
Helv. Physiol. Acta. 26, 363.
- WEIDMANN, S. (1970)  
Electrical constants of trabecular muscle from mammalian  
heart. J. Physiol., London, 210, 1041-1054.
- WEIDMANN, S. (1974)  
Heart : electrophysiology. Ann. Rev. Physiol., 36, 155-169.
- WEINGART, R. (1974)  
The permeability to tetraethylammonium ions of the surface  
membrane and the intercalated disks of sheep and calf  
myocardium. J. Physiol., London, 240, 741-762.
- WERMAN, R., GRUNDFEST, H. (1961)  
Graded and all-or-none electrogenesis in arthropod muscle.  
II - The effects of alkali-earth and onium ions on lobster  
muscle fibres. J. Gen. Physiol., 44, 997-1027.
- YAMAGUCHI, T., MATSUSHIMA, T., FUJINO, M., NAGAI, T. (1962)  
The excitation-contraction coupling of the skeletal muscle  
and the "glycerol effect". Jap. J. Physiol., 12, 129-142.
- ZACHAR, J., ZACHAROVÁ, D., HENČEK, M. (1964)  
The relative potassium and chloride conductances in the  
muscle membrane of the crayfish (*Astacus fluviatilis*).  
Physiol. Bohemoslov., 13, 129-136.
- ZACHAROVÁ, D., ZACHAR, J. (1967)  
The effect of external calcium ions on the excitation-  
contraction coupling in single muscle fibres of the  
crayfish. Physiol. Bohemoslov., 16, 191-207.

## ANNEXE I

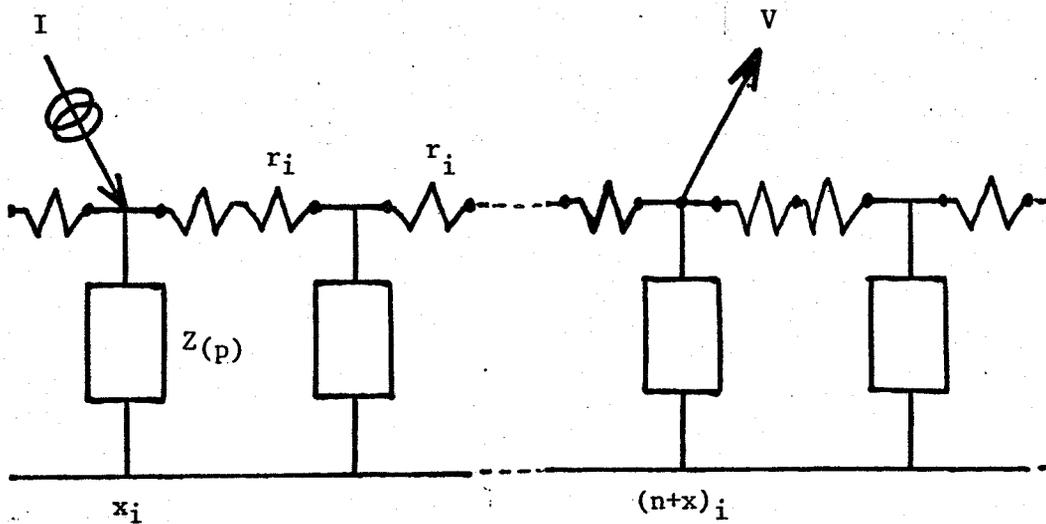
### ETUDE DE LA REPONSE IMPULSIONNELLE DU CIRCUIT ELECTRIQUE EQUIVALENT A LA FIBRE DE CRABE.

- 1 - Expression de la tension relevée en un point de circuit
- 2 - Réponse du circuit équivalent.

Cette analyse permet de déterminer la valeur du potentiel en un point du circuit selon le courant appliqué à ce circuit en un autre point.

### 1 - EXPRESSION DE LA TENSION RELEVÉE EN UN POINT DU CIRCUIT

La membrane de la fibre peut être schématisée de la façon suivante :



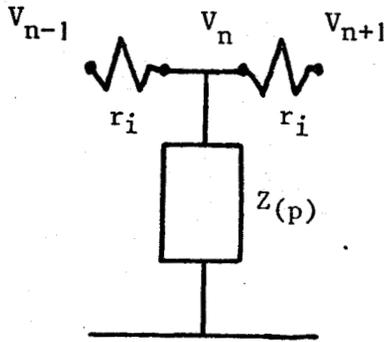
$r_i$  est la résistance interne

$Z(p)$  est l'impédance équivalente de l'élément

L'échelon de courant est envoyé à l'abscisse  $x_i$  du  $n^{\text{ème}}$  élément,

et l'on mesure la tension au  $n + x^{\text{ème}}$  élément.

Si l'on considère un élément n quelconque :



il peut être écrit :

$$\frac{-V_n + V_{n-1}}{r_i} + \frac{-V_n + V_{n+1}}{r_i} + \frac{-V_n}{Z(p)} = 0 \quad (\text{Loi du noeud})$$

Posons :  $V_{n+1} - 2V_n + V_{n-1} = \Delta^2 V_n$

On a alors :  $\Delta^2 V_n = \frac{r_i}{Z(p)} V_n$

Or, on peut montrer, qu'en effectuant une approximation au second ordre :

$$\frac{\partial^2 V_n}{\partial x^2} = \frac{\Delta^2 V_n}{\Delta x^2}$$

Ceci revient à une discrétisation de l'équation aux dérivées partielles :

$$\omega_{(p)} V_n = \frac{\partial^2 V_n}{\partial x^2}$$

avec :

$$\omega_{(p)} = \frac{r_i}{Z_{(p)}} \Delta x^2$$

Si l'on suppose que les variations de  $V$  en fonction de  $x$ , entre chaque accroissement  $\Delta x$  sont linéaires, on a :

$$\omega_{(p)} V_n = 0$$

Ces différentes approximations signifient concrètement que :

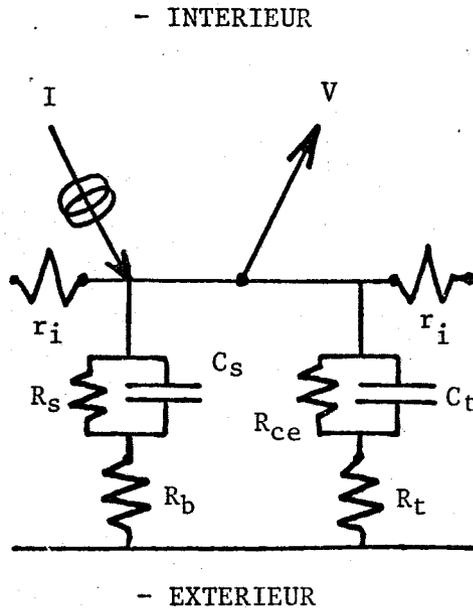
- . si l'on se trouve à une distance suffisante du point d'application du courant (par exemple 10 éléments)
- . si l'on ne tient pas compte de ce qui se passe pendant un temps  $\tau$  très faible ( $< 1 \mu s$ ) juste après l'application du courant,

tout se passe comme s'il n'y a qu'un seul élément qui répond à l'échelon de courant d'entrée suivant les constantes de temps exprimées par  $Z_{(p)}$ .

Il faut mentionner, enfin, que cette méthode ne permet d'étudier que l'allure de la phase transitoire à partir de l'instant  $\tau$  et non pas la valeur de la tension en régime permanent.

2 - REPONSE DU CIRCUIT EQUIVALENT

Etudions la réponse d'un élément tel que celui ci-dessous :



$R_b$  = Résistance du matériel amorphe présent à la surface du sarcolemme et dans les invaginations longitudinales de celui-ci.

$R_s$  = Résistance de la membrane sarcolemmique

$C_s$  = Condensateur de la membrane sarcolemmique

$R_t$  = Résistance longitudinale des tubules

$R_{ce}$  = Résistance de la membrane tubulaire

$C_t$  = Condensateur de la membrane tubulaire

$r_i$  = Résistance du milieu intracellulaire

La résistance du milieu extracellulaire est négligée.

- Calcul de  $V = f(I)$

Il suffit d'exprimer la valeur de  $Z_{(p)}$ . Le calcul de l'admittance donne :

$$Y_p = Y_S + Y_T$$

$Y_S$  : admittance du sarcolemme

$Y_T$  : admittance des tubules.

En posant :

$$\alpha_s = \frac{1}{R_b \cdot C_s} ; \quad \beta_s = \frac{1}{R_s \cdot C_s}$$

$$\alpha_t = \frac{1}{R_t \cdot C_t} ; \quad \beta_t = \frac{1}{R_{ce} \cdot C_t}$$

on a :

$$Z_s = R_b \frac{p + \alpha_s + \beta_s}{p + \beta_s}$$

et :

$$Z_t = R_t \frac{p + \alpha_t + \beta_t}{p + \beta_t}$$

D'où :

$$Y_p = \frac{p + \beta_s}{R_b (p + \alpha_s + \beta_s)} + \frac{p + \beta_t}{(p + \alpha_t + \beta_t) R_t}$$

La tension s'exprime par :

$$V_{(p)} = Z_p \cdot I_p$$

Comme il est appliqué un échelon de courant :

$$I_{(p)} = \frac{I_o}{p}$$

XLVI.

L'examen de la forme de  $Y_{(p)}$  montre que la réponse temporelle du système est du type :

$$v_t = V [1 + K(e^{-A_1 t} - e^{-A_2 t})]$$

Si l'on bloque l'une ou l'autre partie du circuit, la réponse est du type :

$$v_t = V (1 - e^{-\alpha t})$$

$\alpha$ , coefficient d'exponentielle est égal à  $\frac{1}{R.C.}$ .

La détermination, par calculateur, de l'équation de la relation  $V - v_t = f(t)$  permet de déterminer  $\alpha$ , donc la valeur du circuit R.C. équivalent de la membrane.

## ANNEXE II

### DOSAGE DES IONS $K^+$ ET $Rb^+$ DANS LE MILIEU INTRACELLULAIRE DE LA FIBRE STRIEE DE CRABE

1 - Préparation

2 - Appareil et étalonnage

3 - Résultats

## 1 - PREPARATION

Les fibres des crabes placés dans les conditions normales (eau de mer), d'une part, et de ceux ayant séjourné dans l'eau de mer artificielle dont le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$ , d'autre part, sont disséquées, pesées et placées dans une quantité connue d'eau bidistillée. Elles sont ensuite broyées et centrifugées. Le surnageant est prélevé afin d'en doser le  $K^+$  et le  $Rb^+$ . Chacune des valeurs obtenues après dosage est ramenée à une quantité par unité de poids de fibre (mM)/Kg.

## 2 - APPAREIL ET ETALONNAGE

Les dosages sont faits au SPECTROPHOTOMETRE de flamme "UNICAM" SP 1900 (Air-acétylène).

La longueur d'onde d'émission est réglée à 766,5. nm pour le  $K^+$  et 780,0 nm pour le  $Rb^+$ .

Une gamme étalon est établie pour chaque espace ionique dosée. D'autre part, le dosage du  $K^+$  est fait en présence de  $Rb^+$  et vice versa pour noter une éventuelle interférence dans les émissions.

Un dosage de l'eau bidistillée est réalisé pour détecter d'éventuelles traces d'ions  $K^+$  ou  $Rb^+$ .

L'interférence avec les protéines est nulle comme cela a été vérifié.

21 - Dosage du  $K^+$ 

La figure 104 a (p. IL ) correspond à la courbe d'étalonnage donnant la déviation en fonction de  $[K^+]$  dans une gamme allant de 0 à 50 mM. Chaque valeur de déviation correspond à une série de "moyennages" de 4s de durée. et se révèle stable (à une unité près).

Le dosage de l'eau bidistillée fait apparaître des traces de  $K^+$  négligeables ( $< 0,04$  mM).

L'interférence du  $Rb^+$  sur le  $K^+$  est également négligeable. Une solution de 100 mM de KCl donne une déviation de 621 divisions, alors que la même solution, contenant en outre 10 mM de RbCl, donne une déviation de 634 divisions, soit une erreur de l'ordre de 2,00 p. 100.

22 - Dosage du  $Rb^+$ 

La figure 104 b correspond à la courbe d'étalonnage donnant la déviation en fonction de  $[Rb^+]$ .

Le dosage de l'eau bidistillée ne révèle pas la présence de  $Rb^+$ .

L'interférence du  $K^+$  sur le  $Rb^+$  est négligeable car une solution de 10 mM de RbCl donne une déviation de 345 divisions alors que la même solution, additionnée de 10 mM de KCl, donne une déviation de 347 divisions, soit une différence de l'ordre de 0,87 p. 100.

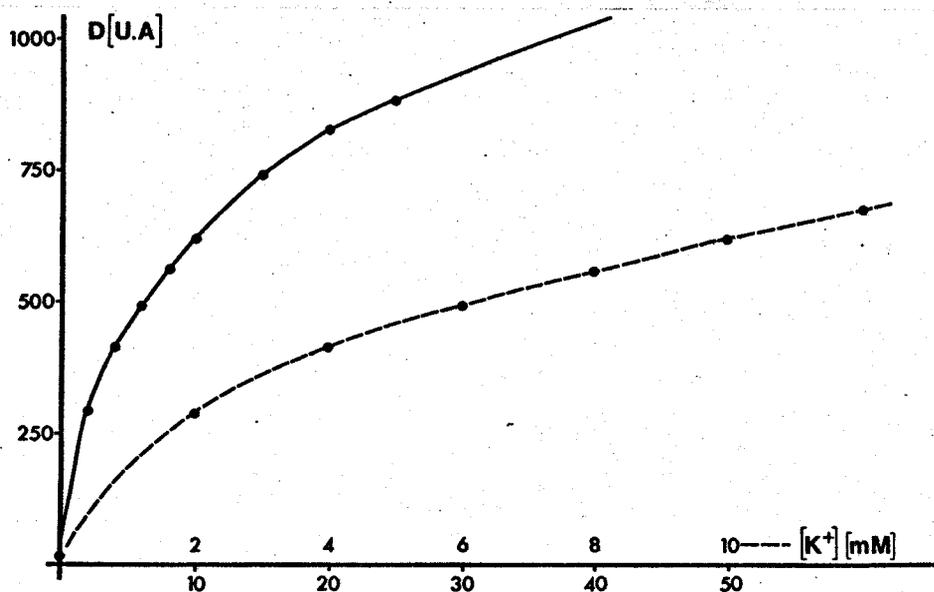


Figure 104 a

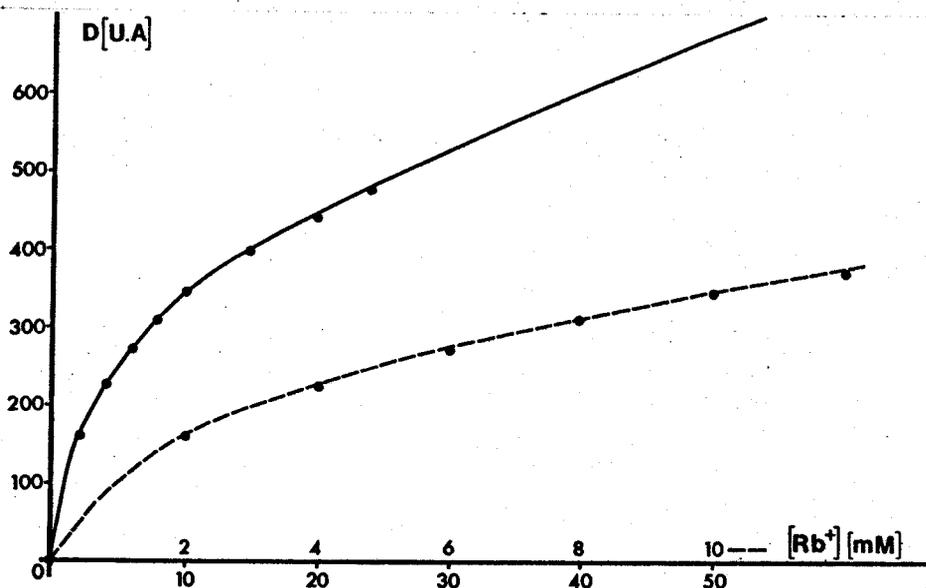


Figure 104 b

Figure 104 : Courbes d'étalonnage établies au spectrophotomètre de flamme donnant la déviation (en unités arbitraires) en fonction de la concentration (en mM) du  $K^+$  (figure 104 a) et du  $Rb^+$  (figure 104 b).

Longueurs d'onde d'émission :  $\lambda = 766,5 \text{ nm}$  pour le  $K^+$   
 $\lambda = 780 \text{ nm}$  pour le  $Rb^+$

L.

### 3 -- RESULTATS

31 - Sur les fibres prélevées sur des crabes placés dans les conditions de survie normale (eau de mer).

Le dosage du  $K^+$  "intracellulaire" donne  $98,01 \pm 4,76$  mM/kg de fibre (4 dosages provenant chacun de 6 crabes différents). Le dosage de  $Rb^+$ , sur ces fibres de crabes normaux, révèle des traces (0,06 mM/kg de fibre).

32 - Sur les fibres prélevées sur les crabes ayant séjourné dans de l'eau de mer artificielle dont le KCl est remplacé par du RbCl.

- Séjour 80 heures :

$$[Rb^+]_e = 39,4 \text{ mM/kg de fibre}$$

$$[K^+]_i = 60,0 \text{ mM/kg de fibre}$$

Ce qui revient à dire qu'en 80 h, 39,6 p. 100 du  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$ .

- Séjour 160 heures :

Dans ces conditions,  $55,7 \pm 1,3$  p. 100 du  $K^+$  "intracellulaire" est remplacé par des ions  $Rb^+$ . Il subsiste donc

$44,3$  p. 100 de  $K^+$  sur les  $98,4 \pm 8,5$  mM/kg de fibre d'ions  $Rb^+$

+ K

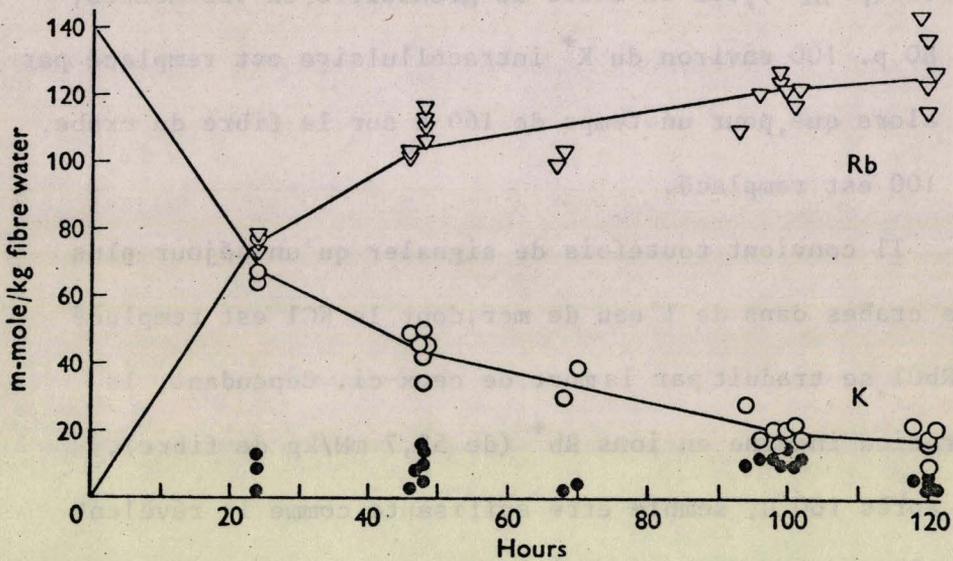


Figure 105 : D'après ADRIAN (1964)

Concentrations intracellulaires de la fibre de grenouille en ions  $K^+$  et en ions  $Rb^+$  en fonction du temps d'imbibition de cette fibre dans le liquide physiologique dont le  $K^+$  est remplacé par du  $Rb^+$ .



33 - Ces résultats montrent que le protocole expérimental utilisé par ADRIAN, sur la fibre musculaire de grenouille, en 1964 pour remplacer le  $K^+$  intracellulaire par du  $Rb^+$ , est applicable à la fibre de crabe. Toutefois, comme le montre la figure 105 (p. LI ), sur la fibre de grenouille, en 120 heures, plus de 80 p. 100 environ du  $K^+$  intracellulaire est remplacé par du  $Rb^+$  alors que, pour un temps de 160 h sur la fibre de crabe, 55,7 p. 100 est remplacé.

Il convient toutefois de signaler qu'un séjour plus long des crabes dans de l'eau de mer, dont le KCl est remplacé par du RbCl, se traduit par la mort de ceux-ci. Cependant, la concentration interne en ions  $Rb^+$  (de 52,7 mM/kg de fibre), obtenue après 160 H, semble être suffisante comme le révèlent nos enregistrements électrophysiologiques obtenus dans ces conditions.

