

N° d'ordre : 620

50376
1990
310

50376
1990
310

THÈSE

présentée à

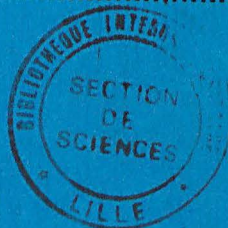
L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE
LILLE FLANDRES ARTOIS

pour obtenir le

DOCTORAT D'UNIVERSITE DE LILLE

Xavier HOLY

LES PROPRIETES CONTRACTILES
DE MUSCLES DE RATS SOUMIS A
UN VOL SPATIAL



Soutenue le 13 décembre 1990 devant la commission d'examen :

Membres du Jury :

M.	VERBERT A.	Professeur, Université de Lille
Mme	MOUNIER Y.	Professeur, Université de Lille
M.	GOUBEL E.	Professeur, Université de Compiègne
M.	FALEMPIN M.	Maître de conférence, Université de Lille
M.	NOGUES C.	Médecin Général, Aix les Bains

Président
Décorateur
Rapporteur
Rapporteur
Invité

Travail réalisé au laboratoire de Physiologie des Structures Contractiles, Université des Sciences
Techniques de Lille Flandres Artois

SCD LILLE 1



D 030 319555 0

N° d'ordre : 620

50376
1990
310

50376
1990
310

THESE

présentée à

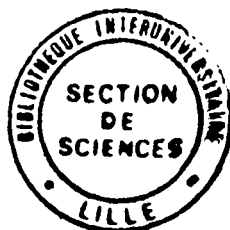
L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE
LILLE FLANDRES ARTOIS

pour obtenir le

DOCTORAT D'UNIVERSITE DE LILLE

Xavier HOLY

**LES PROPRIETES CONTRACTILES
DE MUSCLES DE RATS SOUMIS A
UN VOL SPATIAL**

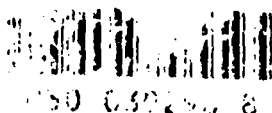


Soutenu le 13 décembre 1990 devant la commission d'examen :

Membres du Jury :

M.	VERBERT A.	Professeur, Université de Lille	Président
Mme	MOUNIER Y.	Professeur, Université de Lille	Directeur
M.	GOUBEL F.	Professeur, Université de Compiègne	Rapporteur
M.	FALEMPIN M.	Maître de conférence, Université de Lille	Rapporteur
M.	NOGUES C.	Médecin Général, Aix les Milles.	Invité

Travail réalisé au laboratoire de Physiologie des Structures Contractiles, Université des Sciences
Techniques de Lille Flandres Artois.



Je dédie ce mémoire à mes parents, ma femme et mon fils.

Je remercie le Professeur Y. MOUNIER qui m'a permis de mener à bien cette étude dans son laboratoire et qui m'a conseillé dans la rédaction de ce document.

J'exprime ma profonde reconnaissance à tous ceux qui m'ont aidé ou soutenu et qui ont pris part d'une façon ou d'une autre à la réalisation de cette thèse.

Je remercie enfin les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

PREAMBULE

La réalisation de ce travail a été rendue possible grâce au C.N.E.S. (Centre National d'Etudes Spatiales) qui a permis au Laboratoire de Physiologie des Structures Contractiles de collaborer étroitement avec les équipes soviétiques impliquées dans les programmes spatiaux mentionnés dans ce travail. En outre, l'obtention d'une allocation de recherche MRT (Ministère de la Recherche et de la Technologie) puis d'une bourse doctorale CNES m'a permis de mener à bien l'analyse de l'ensemble des données recueillis après trois vols spatiaux.

Les échantillons musculaires provenaient de rats placés dans des biosatellites soviétiques de la série BIOCOSMOS. Les biopsies ont été prélevées par les chercheurs soviétiques de l'Institut des Problèmes Médico Biologiques de Moscou (IPBM) qui ont également réalisé le pelage chimique des échantillons selon un protocole détaillé que nous leur avons préalablement fourni. Nous remercions donc ici très vivement les chercheurs soviétiques qui nous ont permis de réaliser nos expériences dans d'excellentes conditions et plus particulièrement le Dr OGANOV, Directeur du groupe "physiologie musculaire" à l'IPBM de Moscou, auprès duquel notre équipe a trouvé un interlocuteur chaleureux et efficace. Nos remerciements s'adressent également aux Drs SKURATOVA et MURASCHKO, responsables des prélèvements dans les programmes spatiaux soviétiques.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

I - <u>SYSTEME MUSCULAIRE ET MICROGRAVITE</u>	3
II - <u>POSITION DU PROBLEME</u>	7

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES DE BASE

STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE DU MUSCLE

I - <u>STRUCTURE DU MUSCLE</u>	9
II - <u>ULTRASTRUCTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE</u>	10
A. Protéines contractiles	10
1. <u>Filament épais</u>	10
2. <u>Filament fin</u>	12
a) Actine	12
b) Tropomyosine	12
c) Complexe des troponines	12
B. Réticulum sarcoplasmique	14
1. <u>Le système longitudinal</u>	14
2. <u>Les citernes terminales</u>	14
III - <u>HETEROGENEITE ET PLASTICITE DU MUSCLE</u>	16
A. Hétérogénéité	16
1. <u>Techniques histologiques</u>	16
2. <u>Technique de dosages biochimiques</u>	17
3. <u>Données ultrastructurales</u>	18
4. <u>Technique électrophorétique</u>	19
5. <u>Propriétés contractiles</u>	21
B. Plasticité du muscle	22

MECANISME DE LA CONTRACTION

I - <u>COUPLAGE EXCITATION-CONTRACTION</u>	29
A - Libération du calcium	30
1. <u>Hypothèse électrique</u> :	30
2. <u>Hypothèse mécanique : Mouvement de charges</u>	31
3. <u>Hypothèse chimique</u>	31
a) Mécanisme de "Ca induced Ca release"	
b) Action de l'IP3	
4. <u>Autres hypothèses</u>	32
B - La recapture du calcium	33
II - <u>LA CONTRACTION</u>	34
A. Les protéines contractiles et le calcium	34
1. <u>Mécanisme</u>	35
2. <u>Relation tension/pCa</u>	35
B - La contraction	36

MATERIEL ET METHODES

I - <u>MATERIEL BIOLOGIQUE</u>	40
A. Animaux	40
1. <u>Biocosmos 1514</u>	40
2. <u>Biocosmos 1667</u>	41
3. <u>Biocosmos 1887</u>	42
B. Choix des muscles - caractéristiques	43
1. <u>Plantaris</u>	43
2. <u>Gastrocnémien</u>	43
3. <u>Soleus</u>	43
4. <u>Diaphragme</u>	44

II- <u>FIBRE PELEE</u>	4 4
A. Données théoriques	4 4
1. <u>Le pelage mécanique</u>	4 5
2. <u>Le pelage chimique</u>	4 5
B. Technique utilisée	4 6
1. <u>Isolement et montage de la fibre</u>	4 6
2. <u>Enregistrements</u>	4 8
3. <u>Solutions</u>	4 8
4. <u>Protocole expérimental</u>	5 0
a) protocole	5 0
b) analyse des résultats	5 1
III - <u>ELECTROPHORESES</u>	5 2
A. Electrophorèse non dénaturante : PAGE	5 2
1. <u>Milieux</u>	5 3
2. <u>Extrait brut de myosine</u>	5 4
3. <u>Préparation du gel</u>	5 4
4. <u>Electrophorèse</u>	5 5
5. <u>Coloration - Décoloration</u>	5 5
6. <u>Lecture de gels</u>	5 5
B. Electrophorèse dénaturante : SDS PAGE	5 6
1. <u>Préparation des plaques</u>	5 6
2. <u>Préparation du gel</u>	5 7
a) gel de concentration	
b) gel de séparation	
3. <u>Tampon cuve</u>	5 7
4. <u>Dilution des échantillons</u>	5 7
5. <u>Electrophorèse</u>	5 8
6. <u>Coloration</u>	5 8
a) au coomassie	
b) à l'argent	

RESULTATS

CHAPITRE I

EXPERIENCES TEMOINS, COMPARAISON MUSCLE LENT-MUSCLE RAPIDE

<u>I - ETUDE DES PROPRIETES CONTRACTILES</u>	60
1. <u>Tension isométrique maximale</u>	60
2. <u>Sensibilité calcique des protéines contractiles</u>	61
a) Seuil d'activation des protéines	62
b) Concentration calcique nécessaire pour obtenir une tension maximale	63
c) Pentes des relations T/pCa	63
d) pCa ₅₀	64
e) Influence du BRIJ.	64
3. <u>Cinétiques.</u>	64
<u>II - ETUDE ELECTROPHORETIQUE</u>	65
1. <u>Myosine native</u>	65
2. <u>Electrophorèse dénaturante</u>	67

CHAPITRE 2

EFFET DES VOLS SPATIAUX (D'UNE ET DEUX SEMAINES) SUR LES PROTEINES CONTRACTILES

<u>I - VIVARIUM ET SYNCHRONE ; CHOIX DU TEMOIN</u>	69
<u>II - PROPRIETES CONTRACTILES</u>	70
A - Vols de faible durée : biocosmos 1514 et 1667	70
1. <u>Masse des muscles</u>	70
2. <u>Tensions maximales</u>	72
a) plantaris	72
b) gastrocnémien	73
c) soleus	75
d) diaphragme	76
3. <u>Relation tension/pCa</u>	77
a) plantaris	77
b) gastrocnémien	79
c) soleus	80

4. <u>Cinétique de contraction</u>	80
a) plantaris	81
b) gastrocnémien	81
c) soleus	82

B - Vol de plus longue durée : Biocosmos 1887	83
---	----

- EXPERIENCE CONTROLE -

1. <u>Tension maximale</u>	84
2. <u>Relation tension pCa</u>	86
a) plantaris	86
b) soleus	86
3. <u>Analyse des cinétiques de contraction</u>	86
a) plantaris	86
b) soleus	87

- VOL 1887 -

1. <u>Masse des muscles</u>	88
2. <u>Tension maximale</u>	89
a) plantaris	89
b) gastrocnémien	89
c) soleus	90
3. <u>Relation T/pCa</u>	91
a) plantaris	91
b) gastrocnémien	92
c) soleus	92
4. <u>Cinétiques de mise sous tension</u>	93
a) plantaris	93
b) gastrocnémien	93
c) soleus	94

III - ELECTROPHORESES 95

A. Myosine native : 95

1. <u>Vol 1667</u>	95
a) plantaris	95
b) gastrocnémien	96
c) soleus	96
d) diaphragme	97
2. <u>Vol 1887</u>	97
a) plantaris	97
b) gastrocnémien	98
c) soleus	98

B. SDS PAGE. 99

a) plantaris	99
b) soleus	99

CHAPITRE 3

EFFET DES VOLS SPATIAUX (D'UNE ET DEUX SEMAINES) SUR LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE

I - <u>PROTOCOLES UTILISES</u>	103
1. <u>Dose de caféine</u>	103
2. <u>Pompage</u>	104
II - <u>EXPERIENCES CONTROLE</u>	105
1. <u>Détermination de la durée de charge</u>	105
2. <u>Détermination de la dose de caféine</u>	106
a) effet maximal : relation dose réponse	106
b) action directe de la caféine sur les protéines contractiles	107
3. <u>Vidange complète du RS</u>	108
4. <u>Conclusion</u>	109
III - <u>VOLS DE FAIBLE DUREE : BIOCOSMOS 1514 ET 1667</u>	110
A - PLANTARIS	110
1. <u>Relation dose réponse</u>	110
a) Vol 1514	110
b) Vol 1667	112
2. <u>Le pompage calcique</u>	112
a) Vol 1514	112
b) Vol 1667	113
B - GASTROCNEMIEN LATERAL	114
1. <u>Relation dose réponse</u>	114
a) Vol 1514	114
b) Vol 1667	116
2. <u>Le pompage calcique</u>	118
a) Vol 1514	118
b) Vol 1667	118
C - SOLEUS	120
1. <u>Relation dose réponse</u>	120
2. <u>Le pompage calcique</u>	121
D - RESUME	122
1. <u>Plantaris</u>	122
2. <u>Gastrocnémien</u>	122
3. <u>Soleus</u>	122

DISCUSSION

I - <u>DIFFERENCES ENTRE MUSCLES NORMAUX LENT ET RAPIDE</u>	123
II - <u>EFFETS DES VOLS SPATIAUX</u>	129
L'ATROPHIE MUSCULAIRE	129
LES PROTEINES CONTRACTILES	129
LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE	137
III - <u>CONCLUSIONS</u>	142

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis quelques décennies l'homme découvre un monde nouveau : L'ESPACE. Le vide qui y règne (de l'ordre de 10^{-13} mmHg), les températures extrêmes (de -150°C à $+150^{\circ}\text{C}$ selon l'orientation par rapport au soleil), les rayonnements UV ou cosmiques importants en font un univers très inhospitalier mais le facteur sans conteste le plus marquant est l'absence de pesanteur. En effet, tout notre organisme et notre vie sont basés sur un mode que nous oublions tellement il semble évident : l'attraction terrestre de 1 G. Dans leur capsule les astronautes (Américains) cosmonautes (Soviétiques) ou spationautes (Français) ne ressentent plus cette attraction. Ils sont alors en état de microgravité. Ce terme est plus adapté que apesanteur ou impesanteur car les modifications de trajectoire du véhicule spatial nécessitent des poussées de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-2} G.

Dans sa course à la découverte de l'espace et pour des raisons également économiques, l'homme devra rester de plus en plus longtemps en conditions de microgravité dans les stations orbitales ou lors de voyage de longue durée (prévisions de 3 ans pour Mars). Le record actuel détenu par le soviétique ROMANENKO est de 326 jours (atterrissage le 29 décembre 1987). Dans les vaisseaux spatiaux, l'organisme des cosmonautes va devoir faire face essentiellement aux rayons cosmiques et à la microgravité.

Les principaux troubles dont souffrent les cosmonautes sont de trois types.

- *Le mal de l'espace*, qui apparaît très tôt et qui disparaît dans la plupart des cas dans les premiers jours du vol. Il se caractérise par des nausées, des vomissements, des difficultés au travail, des vertiges et des problèmes d'orientation. Il est généralement attribué à un dérèglement de l'appareil vestibulaire dont le principe de fonctionnement repose sur la notion de

pesanteur (déplacement des otholites dans la saccule et l'utricule de l'oreille interne).

- *Les perturbations cardio-vasculaires* (et leur répercussion) qui apparaissent également dès le début du vol et qui disparaissent dans la semaine qui suit. Il s'agit d'un déplacement des volumes circulants des parties inférieures du corps vers les parties supérieures thoracique et céphalique (voir GHARIB et coll., 1985 pour revue). Par système réflexe, les modifications cardiovasculaires entraînent des déséquilibres dans la balance des métabolites. Entre autres, il a été observé une très forte augmentation du calcium urinaire chez les cosmonautes des skylab 2 et 3.

- *Les perturbations musculo-squelettiques*. Les deux systèmes os et muscles sont particulièrement touchés pendant un vol spatial. Contrairement aux phénomènes décrits ci-dessus, l'os et les muscles subissent des altérations d'une manière plus tardive mais aussi plus durable. A l'heure actuelle, il s'agit d'un facteur limitatif à la durée des vols spatiaux. Dans le cas de l'os, il s'agit d'un basculement du remodelage osseux dans le sens d'une fragilisation de l'os (SIMMONS et coll., 1983 ; VICO et coll., 1988 ; SHAW et coll., 1988 ; ZERATH et coll., 1990). Dans le cas des muscles, il s'agit d'une fonte importante de la masse musculaire accompagnée de modifications structurales et biochimiques. Dans ce travail, seuls les phénomènes observés sur le tissu musculaire strié squelettique retiendront notre attention.

I - SYSTEME MUSCULAIRE ET MICROGRAVITE

Les premières informations relatives au système musculaire après un vol spatial faisaient état d'une réduction du volume des jambes des cosmonautes (PESTOV et GERALTEWOHL, 1975 ; THORNTON et RUMMEL, 1977). Ces observations ont ensuite été vérifiées sur de nombreux vols habités. Ainsi à partir des résultats obtenus sur les cosmonautes ayant résidé dans la station orbitale SALYUT 6, durant des périodes variant de 74 à 184 jours, VOROBYOV et coll. (1983) décrivent une diminution rapide du volume des jambes dès les premiers jours, puis une diminution beaucoup plus faible dans les second et troisième mois qui suivent et enfin une stabilisation de perte de volume. La perte finale était de 13 à 20 % selon la durée du vol et selon le cosmonaute. Il faut noter qu'aucun des membres de l'équipage n'a été épargné et ceci malgré des séances d'entraînement musculaire quotidiennes. VOROBYOV et coll. (1983) imputent ces modifications à une perte de volume des fluides circulant dans les jambes associée à une diminution de la masse des muscles. Cependant, pour eux, cette perte de masse de muscles pouvait être simplement due à une alimentation insuffisante de la part des cosmonautes en raison de l'augmentation de leur activité physique et émotionnelle réduisant leur appétit. En outre, à cette atrophie, s'associe une diminution du tonus, de la force musculaire et de la tolérance à la fatigue (CHEREPAKHIN et PERVUSHIN, 1971 ; DIETLEIN, 1975 ; GAZENKO et coll., 1980). Cependant VOROBYOV et coll. (1983) rapportent que les cosmonautes récupèrent rapidement et complètement leurs performances physiques dès leur retour sur terre.

Pour deux raisons, ces travaux réalisés sur l'homme ne peuvent constituer qu'une première approche de la physiologie musculaire spatiale : d'une part, les méthodes d'investigation, obligatoirement non invasives, ne permettent pas une étude complète des muscles (structure et ultrastructure du muscle après le vol, typage histochimique des fibres) et d'autre part les cosmonautes subissent un entraînement quotidien, effectué dans le but évident d'enrayer l'atrophie mais qui masque au chercheur les

effets propres de la microgravité sur le muscle. C'est pourquoi de nombreux biosatellites emmenant des animaux de toutes espèces ont été placés en orbite. Les durées respectives des biosatellites auxquels nous ferons référence sont données dans la table 1.

<u>N° du biosatellite</u>		<u>Durée</u>
Cosmos	605	22 jours
Cosmos	690	18,5 jours
Cosmos	782	20,5 jours
Cosmos	936	18,5 jours
Cosmos	1129	21 jours
Cosmos	1514	5 jours
Cosmos	1667	7 jours
Cosmos	1887	13 jours
SpaceLab	SL3	7 jours

Table 1 : durée de vol des biosatellites mentionnés dans ce travail.

Les résultats observés sur le biosatellite 605 (ILYINA-KAKUEVA et coll., 1976) montrent une perte du poids des muscles des pattes postérieures de rats. Cette atrophie musculaire est plus nette sur le soleus (chute de 32 %) que sur l'extensor digitorus longus (EDL) (chute de 12 %). Ce point a ensuite été largement confirmé par d'autres auteurs pour différents vols : OGANOV et coll., 1980 a et b ; RAPSAK et coll., 1983 (vols 605 - 936 - 690 - 1129) ; MARTIN et coll., 1988 (vol SL3).

De tous les résultats, il se dégage que les muscles dont la fonction essentielle est de résister à la force de pesanteur (tel que le muscle lent soleus) sont plus sensibles à la microgravité que les muscles impliqués dans la fonction de mouvement (tel que le muscle rapide EDL). A cette chute de poids du muscle est associée une diminution du diamètre des fibres musculaires. ILYINA-KAKUEVA et coll. (1976) décrivent à la suite du vol 605, une réduction de 22 % de la taille des fibres dites rouges du soleus alors que les fibres blanches ne sont pas affectées. CHUI et

CASTLEMAN (1980) confirment sur les biocosmos 936 et 1129 que les perturbations observées après un vol spatial sont nettement plus marquées pour les fibres de type oxydatif (principalement présentes dans les muscles lents) que pour les fibres de type glycolytique (principalement présentes dans les muscles de type rapide). Ils montrent sur des coupes transversales de muscles que la surface totale des fibres diminue significativement pour le muscle soleus suggérant ainsi une transformation du typage de ce muscle vers un type plus rapide. A de tels changements sont souvent associées des modifications du profil électrophorétique de la myosine musculaire, constituant majeur des protéines contractiles. A la suite du vol 1129, TAKACS et coll. (1983) rapportent que la proportion de la myosine LC₃ augmente dans le soleus et dans l'EDL alors qu'elle diminue dans le triceps et le brachialis, muscles rapides des pattes antérieures. La LC₃ étant une chaîne légère de la myosine de type rapide, ils concluaient à une possible transformation du typage des fibres lentes en fibres rapides.

Des résultats obtenus par technique biochimique permettant d'étudier le métabolisme des fibres musculaires confirment cette hypothèse. PORTUGALOV et PETROVA (1976) sur le vol 605 ont choisi d'étudier l'activité de la lacto-déshydrogénase (LDH). Cette enzyme permet la transformation de l'acide pyruvique en acide lactique. Elle existe sous 5 isoformes séparables par technique électrophorétique. Cependant, le profil électrophorétique de la LDH d'un muscle lent (qui utilise préférentiellement la voie aérobie) est différent de celui d'un muscle rapide (qui utilise préférentiellement la voie anaérobie). La LDH constitue donc un excellent marqueur de la voie métabolique prédominante dans un muscle et par conséquent du type de fibres qui le composent. Après le vol 605, PORTUGALOV et PETROVA (1976) observent une augmentation de la LDH intermédiaire dans le profil électrophorétique sur le soleus.

Très peu de travaux se rapportent à l'étude du réticulum sarcoplasmique en apesanteur ou en situation simulée sur des modèles au sol. Des perturbations des mouvements calciques de

même que des altérations structurales de la membrane du RS ont cependant été décrites dans des cas de dystrophies ou de dénervation (TAKAGI, 1977 ; VERJOVSKI et INESI, 1979 ; MARTONOSI, 1982). Sur des rats suspendus 15 jours, PATTERSON et DETTBARN (1985) mesurent un accroissement du pompage de calcium sur le muscle soleus. Puisqu'il est connu que dans des conditions normales, le degré de développement est plus important dans un muscle rapide que dans un muscle lent, ces auteurs envisagent alors une transformation de fonctionnement du RS de type lent vers un type rapide. En revanche, ils montrent que peu de changements surviennent pour le muscle rapide EDL.

A toutes ces perturbations de structure sont associées des modifications physiologiques de la contraction musculaire. Sur muscle entier, OGANOV et coll. (1980 b) montrent une diminution de la force tétanique développée par le muscle et une diminution de leur résistance à la fatigue (Cosmos 605 et 690). De plus, la vitesse de contraction du soleus augmente, confirmant ainsi une transformation vers un type plus rapide. Les mêmes auteurs (OGANOV et coll., 1980a) ont étudié la contraction sur fibre isolée et concluent à une diminution plus ou moins marquée de la force maximale développée associée à une vitesse de raccourcissement plus élevée pour les muscles lents et plus faible pour les muscles rapides. Les résultats les plus marqués ont toujours été observés pour les muscles lents. Mais pour ces auteurs le typage du muscle n'est que le reflet de sa fonction dans le système locomoteur. Ils suggèrent donc que l'atrophie observée à la suite des vols spatiaux est surtout liée à l'importance du muscle dans le rôle antigravitaire. Ils montrent alors que le Triceps Brachii, muscle extenseur dont le typage est identique à celui de l'EDL mais plus sollicité dans le maintien de la posture que l'EDL est également plus sensible à la microgravité. Enfin, ces auteurs suggèrent une action de la microgravité sur la commande nerveuse. L'altération de la commande nerveuse pourrait ensuite induire les troubles observés sur le muscle. Cette hypothèse semble être étayée par des modifications des EMG des muscles fléchisseurs (CLEMENT et coll., 1984) et par des perturbations structurales de la plaque motrice. Après le vol 782, BARANSKI et MARCINIAK (1979) notent en effet

une diminution du volume et du nombre des vésicules synaptiques et du nombre des mitochondries, l'ensemble suggérant une altération de la jonction neuromusculaire.

II - POSITION DU PROBLEME

Nous venons de décrire les perturbations principales observées sur le système musculaire après un vol spatial. Cependant, l'étude des mécanismes et de leur perturbation en microgravité restait un champ d'investigation inexploré. Nous nous sommes fixé alors les objectifs suivants :

1) étudier les effets de la microgravité sur des fibres musculaires provenant de rats soumis à des vols spatiaux.

a) d'un point de vue fonctionnel (technique de contraction isométrique) en nous intéressant tout particulièrement aux mouvements de l'ion calcium. En effet, connaissant l'importance de l'ion calcium dans le mécanisme de la contraction musculaire il nous a paru intéressant de savoir si les relations entre le calcium et les myofilaments étaient modifiées. En outre, puisque le réticulum sarcoplasmique est considéré comme la principale réserve de calcium intramusculaire, nous avons contrôlé sa capacité de stockage et étudié les mouvements calciques après les vols spatiaux.

b) d'un point de vue structural en étudiant les isoformes des myofilaments.

2) comparer les effets de la microgravité selon le type de muscle étudié et tenter de corréliser les résultats à la fonction du muscle dans l'appareil locomoteur.

3) estimer la rapidité avec laquelle des perturbations consécutives aux vols spatiaux peuvent être observées. Cette étude

est réalisée à partir d'expériences embarquées dans les biosatellites pendant de faibles durées. En effet, la plupart des travaux auxquels nous venons de faire référence ont été obtenus à partir de vols de relativement longue durée (supérieure à 15 jours).

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES
DE BASE

STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE DU MUSCLE

I - STRUCTURE DU MUSCLE

Les muscles se caractérisent par leur propriété à pouvoir se contracter et à engendrer les mouvements. On distingue le muscle cardiaque, les muscles lisses et les muscles striés squelettiques. Dans ce travail, seul le tissu musculaire strié squelettique retiendra notre attention.

Les muscles sont entourés d'un tissu conjonctif dense, l'épimysium. Ils se subdivisent ensuite en faisceaux de fibres musculaires départagés par un tissu conjonctif lâche, le pérимыsium. Les fibres musculaires, qui sont les unités cellulaires de la contraction, sont séparées les unes des autres par un tissu conjonctif fin, l'endomysium. La figure 1 illustre l'architecture du muscle en faisceaux puis en fibres. Dans le cas des muscles squelettiques, la fibre musculaire est une cellule géante polynucléée dont l'ultrastructure sera décrite par la suite. On peut cependant noter qu'elle apparaît au microscope (figure 1) sous la forme d'une succession de zones sombres (disque A) et claires (disque I). Le disque A se caractérise par le chevauchement de deux types principaux de protéines (actine et myosine) alors que le disque I ne contient pas de myosine.

Les muscles sont irrigués par un réseau d'artérioles et de veinules. Chaque fibre est entourée d'un système capillaire assurant l'oxygénation, l'apport des métabolites et permettant l'action des hormones.

II - ULTRASTRUCTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE

La figure 2, empruntée à BLOOM et FAWCETT (1968), présente une reconstitution tridimensionnelle de la fibre musculaire squelettique. On distingue deux types de structures :

- les structures contractiles, constituées par les myofibrilles ou protéines contractiles ;

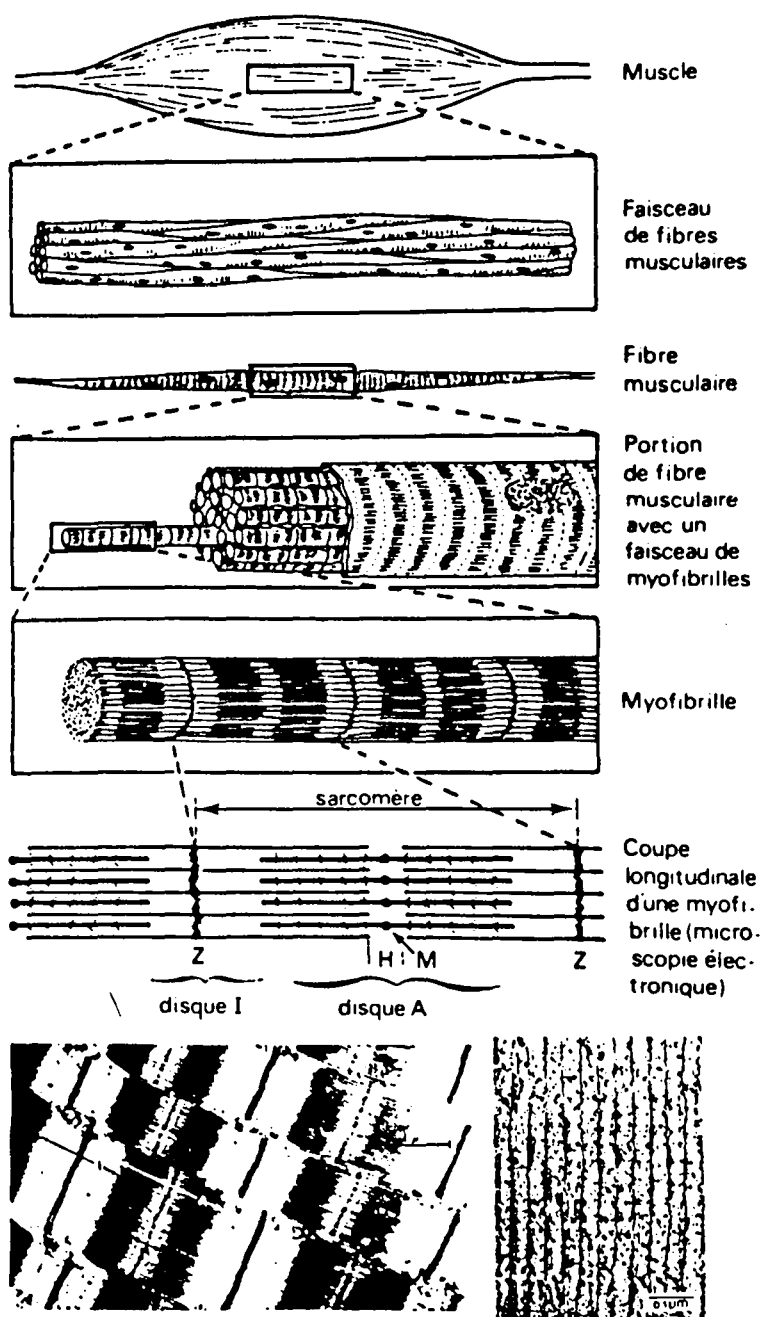


Figure 1 : Organisation du muscle squelettique strié (d'après SHEELER et BIANCHI, 1980). La microphotographie en bas à gauche montre une coupe longitudinale d'une fibre (HUXLEY, 1962). La photographie en bas à droite montre en microscopie à balayage les myofilaments fin et épais d'une bande A (FRANZINI-ARMSTRONG et coll., 1988).

- les structures membranaires, constituées de la membrane de la fibre (ou sarcolemme) s'invaginant en un système tubulaire transverse (le système T) et d'une structure intracellulaire (le réticulum sarcoplasmique RS). Les informations qui passent entre le système T et le réticulum sarcoplasmique sont en apposition formant alors les "triades", considérées comme des "synapses intracellulaires".

Nous allons passer en revue l'ultrastructure des deux systèmes qui nous intéresseront dans cette étude, à savoir les protéines contractiles et le réticulum sarcoplasmique.

A - PROTEINES CONTRACTILES

En coupe longitudinale, la fibre observée au microscope présente une striation régulière (figure 1). Cette striation reflète la distribution des protéines contractiles qui constituent les myofilaments. Le sarcomère est compris entre deux stries Z et constitue l'unité contractile. Il est composé de deux types de filaments : les filaments fins et les filaments épais.

1. Filaments épais

Ils sont présents uniquement dans la bande A et sont constitués de myosine (soit 55 % des protéines contractiles). Chaque filament, d'une longueur de 1500 Å, contient environ 200 molécules de myosine associées entre elles comme le montre la figure 3A. La figure 3B présente une photographie prise en microscopie électronique à transmission (ALBERTS et coll., 1986) d'une seule molécule de myosine. Elle apparaît alors comme un filament de 140 nm portant à l'une de ses extrémités deux têtes glomérulaires.

Les premières études utilisant les coupures enzymatiques à la trypsine et à la chymotrypsine distinguaient la Méromyosine Lourde (HMM) et la Méromyosine Légère (LMM) (figure 3C). Une

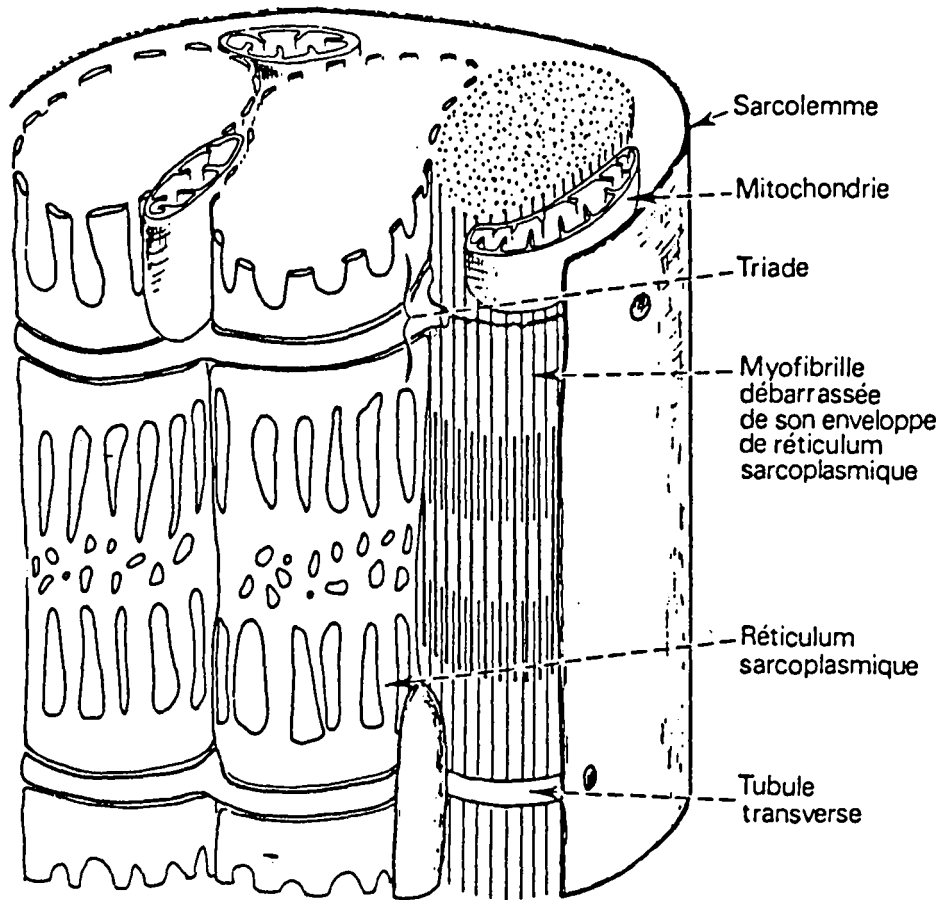


Figure 2 : Reconstitution tridimensionnelle de la fibre musculaire squelettique (d'après BLOOM et FAWCETT, 1968).

fraction de cette dernière, la tête S_1 , portait la fonction ATPasique.

Des analyses plus fines ont montré que la myosine est un hexamère composé de 2 sous unités lourdes (200 kDa) et de 4 sous-unités légères (16-20 kDa) (figure 3D). Les sous-unités lourdes, encore appelées chaînes lourdes (HC), sont enroulées en hélice gauche (LUDESCHER, 1988) dans leur partie C terminale et constituent la "queue" de la myosine. Dans la partie N terminale, les deux chaînes ne sont plus associées l'une avec l'autre mais forment deux "têtes" distinctes. C'est au niveau de ces têtes que se trouvent les sites actifs de l'enzyme et les sites de liaison de la myosine avec l'actine. Une hypothèse de la localisation des différents domaines et des sites de la liaison avec l'actine ou avec l'ATP est proposée figure 3E (VIBERT et COHEN, 1988). Les domaines de 25 et 50 kDa forment ensemble la région globulaire contenant le site de fixation des nucléotides. L'actine se fixe probablement sur une partie du domaine de 50 kDa mais la localisation précise reste incertaine. La zone charnière flexible se situe entre le domaine de 20 kDa et celui de 25 kDa.

Les sous-unités légères ou encore appelées chaînes légères sont positionnées par paire sur chaque tête (figure 3D) et plus probablement dans le domaine de 20 kDa (figure 3E). Selon le schéma de VIBERT et COHEN (1988) à chaque tête est associée :

- une chaîne légère NON PHOSPHORYLABLE, appelée également "essentielle" ou encore "Alkaline Light Chain" en raison de la possibilité de les séparer en milieu basique.

- une chaîne légère PHOSPHORYLABLE ou régulatrice ou encore "DTNB Light Chain" en raison de la possibilité de les dissocier par le DTNB (5,5 - di thio bis - (2-nitrobenzoic acid)).

Nous verrons dans le chapitre "hétérogénéité du muscle" que chaque sous unité de la myosine existe sous différentes formes variant dans leur composition en acides aminés mais gardant les mêmes propriétés et appartenant à la même classe moléculaire. Il s'agit alors d'isoformes séparables par électrophorèse.

En conclusion, le filament épais est constitué de molécules de myosine dont le schéma unitaire est le suivant : 2 chaînes lourdes (MHC) + 2 chaînes légères non phosphorylables (MLC) + 2 chaînes légères phosphorylables (MPLC).

2. Filament fin : Actine - Troponine - Tropomyosine.

La figure 4 (parties A et B) représente la structure du filament fin. Il se compose de trois types de protéines : les molécules d'actine, les molécules de tropomyosine et les molécules du complexe des troponines.

a) *Actine*

La plus grande partie du filament fin est constituée d'actine glomérulaire polymérisée formant deux chaînes hélicoïdales. Nous verrons que l'actine peut former un pont avec la myosine lors de la contraction.

b) *Tropomyosine*

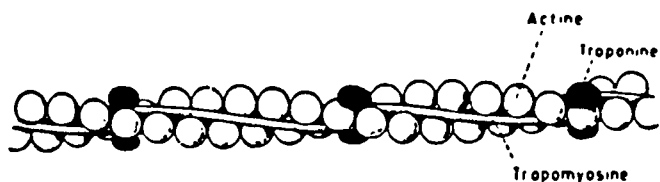
C'est une molécule allongée et rigide qui est logée dans la gorge délimitée par les deux chaînes d'actine. Il s'agit d'une molécule formée de deux sous-unités. Ces sous-unités existent sous deux isoformes α et β . Elles peuvent exister associées en homodimère $\alpha\alpha$ ou en hétérodimère $\alpha\beta$ selon le type de fibre.

c) *Complexe des troponines*

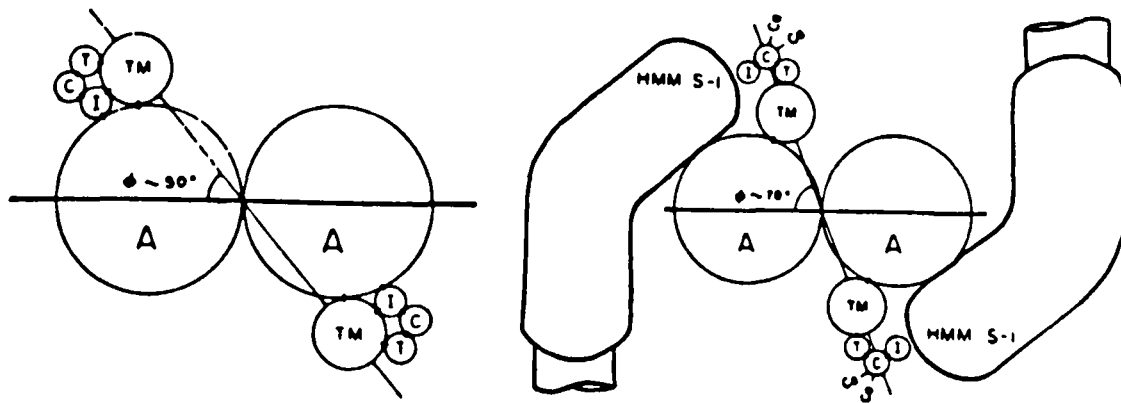
Il s'agit des protéines responsables de l'initiation de la contraction du muscle squelettique (EBASHI et coll., 1968). Le complexe est placé le long du filament fin à intervalle régulier de 7 actines globulaires. Il est constitué de 3 sous-unités (GREASER et GERGELY, 1971,1973) :

- La troponine T (TnT) est une protéine de 30 kDa. Elle assure la liaison entre les troponines (I et C) et la tropomyosine. Selon le

A



B



C

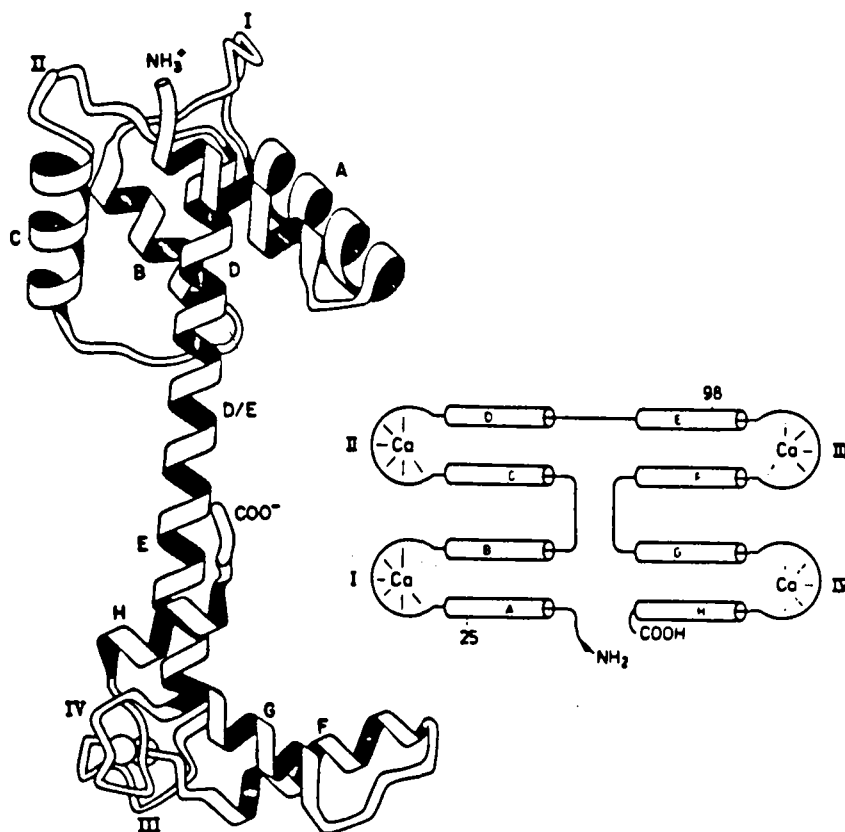


Figure 4 : Le filament fin

A : structure du filament fin

B : représentation transversale de l'interaction entre la myosine et les sous unités régulatrices. A gauche en absence de calcium, à droite en présence de calcium.

C : structure de la troponine C ; I, II, III et IV repèrent les sites caciques ; A, B, C, D, E, F et G définissent la structure secondaire de la molécule.

type de fibre dont elle est extraite on la trouve sous plusieurs formes : l'isoforme TnT_s de type lent et les trois isoformes de types rapides TnT_f (MOORE et SCHACHAT, 1985 ; GREASER et coll., 1988).

- La troponine I (TnI) est une protéine globulaire de 23 kDa. Elle est associée à la troponine C et inhibe l'interaction actine-myosine pendant les phases de relaxation ou de repos de la fibre. On la trouve sous une forme dite rapide (TnI_f) et sous une forme lente (TnI_s)

- La troponine C (TnC) est une protéine de 18-19 kDa qui existe sous deux formes : TnC_s (type lent) et TnC_f (type rapide). La TnC_s a une structure semblable à la troponine C cardiaque et elle serait codée par le même gène (WILKINSON, 1980).

La TnC est la structure de fixation des ions calcium inducteurs de la contraction. Lorsqu'elle est liée au calcium, la TnC change de conformation et provoque le basculement du complexe TnC - TnI - TnT - TM libérant ainsi le site actif de l'actine pour la myosine. La TnC que l'on trouve dans les muscles squelettiques de type rapide possède 4 sites fixant le calcium (POTTER et GERGELY, 1975) (figure 4C). Deux d'entre eux sont à basse affinité liant spécifiquement le calcium (sites I et II), les deux autres sont à haute affinité mais moins spécifiques, car fixant aussi le magnésium (sites III et IV). Les sites I et II sont responsables de la régulation musculaire (POTTER et GERGELY, 1975 ; HOLROYDE et coll., 1980). En revanche, les sites III et IV seraient responsables de l'intégrité et du maintien de la structure de la troponine C (ZOT et POTTER, 1982).

La troponine de type lent ne possède que 3 sites. En effet, elle diffère de la TnC_f par quelques acides aminés ce qui détruit l'un des sites à faible affinité (probablement le site I) selon HOLROYDE et coll., 1980).

B - LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE

Il s'agit d'une structure membranaire intracellulaire qui entoure chaque myofibrille d'un sarcomère à l'autre. On distingue de façon structurale 3 parties possédant des compositions et des propriétés différentes.

1. Le système longitudinal

Il est essentiellement composé de Ca-ATPases (EC 3.6.1.3 selon la nomenclature internationale), une enzyme qui permet de diminuer la concentration calcique dans le myoplasme en transférant le calcium à l'intérieur du RS (HASSELBACH et MAKINOSE, 1961 ; EBASHI et LIPMAN, 1962). Il s'agit d'une protéine de 100 kDa, asymétrique, dont 50 % de la masse protéique est en contact avec le cytoplasme (ALLEN et coll., 1980 ; ANDERSEN et JORGENSEN, 1985 ; HERBETTE et coll., 1985). Grâce à l'énergie fournie par l'ATP, elle transporte les ions calcium avec une grande spécificité (constante de dissociation égale à $0.03 \mu\text{M}$) puisque le RS présente une affinité 30 000 fois moindre pour le magnésium que pour le calcium. Le rôle de ces Ca-ATPases sera décrit d'une façon plus précise dans le paragraphe consacré à la relaxation.

2. Les citernes terminales

Il s'agit de structures existant à l'extrémité du système longitudinal et qui servent de lieu de stockage du calcium pendant la phase de relaxation.

On peut distinguer 2 parties :

a) *les citernes terminales libres* (non jonctionnelles) qui contiennent des Ca ATPases tout comme le RS longitudinal.

b) *les systèmes jonctionnels* appelés ainsi car ils sont proches du système tubulaire transverse. L'association structurale d'un tubule transverse et de deux citernes terminales

par leurs systèmes jonctionnels est appelée "triade". Ces deux structures, tubules et citernes, sont en relation entre elles grâce à un matériel amorphe appelé "feet" (FRANZINI ARMSTRONG, 1970, 1975) ou "pillar" (EISENBERG et EISENBERG, 1982). Ce matériel amorphe serait un tétramère de polypeptide et chaque tétramère formerait probablement un canal unitaire. Ces canaux seraient alignés en deux rangées parallèles le long de la jonction tubule T - RS. Cependant, seulement une partie de ces feet constituerait un pont fonctionnel entre le système T et le RS. La triade joue un rôle important dans le mécanisme du couplage excitation contraction. Ce système jonctionnel est exempt de Ca-ATPases mais possède sur sa membrane interne, et en opposition avec les "feet", une protéine extrinsèque de 440 kDa, la calsequestrine (JORGENSEN et coll., 1983 ; FRANZINI ARMSTRONG, 1987). Cette protéine découverte par Mac LENNAN et WONG (1971) est une protéine à faible affinité pour le calcium ($K_D \approx 1\text{mM}$) mais possédant environ 40 sites calciques par molécule. Son rôle dans la lumière du RS serait de fixer une grande quantité de calcium pendant la phase de repos et de le restituer facilement au moment de la contraction. Du fait de sa localisation spécifique, on l'utilise depuis peu comme marqueur du RS jonctionnel (COSTELLO et coll., 1986 ; SAITO et coll., 1986).

III - HETEROGENEITE ET PLASTICITE DU MUSCLE

A - HETEROGENEITE

La première classification, montrant ainsi le caractère hétérogène des muscles, était basée sur la coloration rouge ou blanche du muscle perçue à la dissection (RANVIER, 1874). Cette inégalité reflétait un degré inégal de vascularisation (PLYLEY et GROOM, 1975 ; SILLAU et BANCHERO, 1978). D'autres distinctions furent retenues en prenant en compte la forme et la disposition des fibres à l'intérieur du muscle. Mais ce fut grâce aux techniques histochimiques (différences des réactions enzymatiques), à l'avènement de la microscopie électronique (différences de structure), aux techniques électrophorétiques (différentiation des isoformes) et aux techniques physiologiques de contraction (différence de comportement contractile) que les études purent être affinées (BARNARD et coll., 1971). Selon les techniques utilisées de nombreuses classifications ont été établies. Nous allons passer en revue les plus importantes. Il faut néanmoins noter que même si les différentes classifications se recoupent, les corrélations entre elles ne sont pas toujours parfaites (FARDEAU, 1973, MOORE et SCHACHAT, 1985).

1. Techniques histologiques

Des études histochimiques ont permis d'établir de nombreuses classifications (voir FARDEAU, 1973 pour revue) et c'est à BROOKE et KAISER (1969) que l'on doit l'établissement d'une terminologie homogène en vigueur actuellement. Ils ont utilisé une technique de coloration de l'ATPase de la myosine après préincubation en milieux de pH différents (4.3, 4.6 et 9.3). La réaction histochimique ne pouvant être réalisée que si l'ATPase demeure fonctionnelle, il est possible de différencier des fibres I, II_A et II_B par l'intensité de la coloration. La fonction ATPasique des fibres de type I est détruite à pH 9.3 et les fibres sont donc dites

"alcalino sensibles". Dans le cas des fibres de type II_A et II_B la fonction ATPasique est détruite à pH 4.6 et 4.3 respectivement et les fibres sont dites "acido sensibles". Comme cette caractéristique est homogène le long de la fibre, une analyse en coupe transversale peut être utilisée de façon à caractériser un muscle entier. Cette classification a récemment été complétée par la mise en évidence de fibres de type I intermédiaire et II intermédiaire (DESPLANCHES et coll., 1987a).

2. Technique de dosages biochimiques

Les fibres présentent des degrés très divers d'activité enzymatique. On a donc pu séparer des groupes de fibres en se basant sur leurs réponses enzymatiques. Parmi toutes les enzymes, l'adénosine triphosphatase myofibrillaire (ATPase), la succinate déshydrogénase (SDH) (PADYKULA, 1952) et la cytochrome oxydase sont celles qui ont été les plus utilisées. Le caractère hétérogène des muscles a été confirmé par des analyses biochimiques de dosage de ces enzymes musculaires. Les muscles riches en activités oxydatives (comme la succinate déshydrogénase) sont également pauvres en enzymes glycolytiques (phosphorylase phospho-fructo-kinase, lactase déshydrogénase). A l'échelle des fibres cela implique une orientation différente de leur métabolisme énergétique soit vers un métabolisme aérobie (fibres de type oxydatif) soit vers un métabolisme anaérobie (fibre de type glycolytique). On parle alors de fibres de type oxydatif ou glycolytique. En 1960, DUBOWITZ et PERSE parlaient de fibres I (riches en SDH et pauvres en phosphorylase) et II (inversement). Cette classification correspond dans son ensemble à la classification I et II de BROOKE et KAISER bien que les fibres de type II recouvrent des fibres d'activité SDH très inégales.

3. Données ultrastructurales

Les études en microscopie électronique ont mis en évidence des différences structurales entre les différents types de fibres. Les fibres de type I comparées aux fibres de type II (selon la terminologie de BROOKE et KAISER) sont généralement plus petites. Elles sont plus riches en mitochondries (GAUTHIER, 1974 ; DULHUNTY et DLUTOWSKI, 1979), les stries Z sont plus larges, l'appareil sous neural est moins développé (PADYKULA et GAUTHIER, 1970).

Les propriétés du réticulum sarcoplasmique d'un muscle lent et d'un muscle rapide sont similaires. Cependant, il existe des différences entre les deux types de muscle. Les fibres de type II possèdent un réticulum plus développé. En effet, LUFF et ATWOOD (1971) rapportent que le volume du réticulum sarcoplasmique rapporté au volume total de la fibre est égal à 5.5 % pour le muscle rapide et seulement égal à 2.5 % pour un muscle lent. La différence est probablement due au développement plus important de la citerne terminale. La proportion de système T jonctionnel et la densité de feet sont également plus élevées pour le muscle rapide (FRANZINI-ARMSTRONG et coll., 1988). En outre, FERGUSON et FRANZINI-ARMSTRONG (1988) estiment que la densité des Ca-ATPases est aussi plus importante pour un muscle rapide. Ces différences expliquent facilement que la vitesse maximale de stockage soit de 3 à 11 fois plus rapide pour les muscles de type II que pour les muscles de type I et que leur capacité totale de stockage soit 2 à 4 fois plus grande. Quelques autres paramètres tels que la concentration des gouttelettes lipidiques (rares pour les muscles rapides) ou la densité des grains de glycogène peuvent être une autre source d'information.

Néanmoins, il est plus difficile de distinguer les types intermédiaires comme les fibres II_A. C'est pourquoi la technique en microscopie électronique ne suffit pas, à elle seule, à identifier de façon certaine le typage d'un muscle.

4. Technique électrophorétique

De nombreuses études font aujourd'hui état de différentes formes de myosine (isoformes) selon le muscle ou la fibre à partir duquel elle est isolée.

Des électrophorèses sur gel de polyacrylamide ne contenant pas de SDS ont été réalisées, de manière à ce que la molécule garde sa forme hexamérique (D'ALBIS et coll., 1973, 1979, 1987 ; HOH et coll., 1976, FITZIMONS et HOH, 1981 ; MARECHAL et coll., 1984). Ils montrent l'existence de 5 formes majeures de myosine chez l'adulte : SM₁, SM₂ (Slow Myosine), FM₁, FM₂ et FM₃ (Fast Myosine). Si l'on classe ces formes selon l'ordre de mobilité électrophorétique croissant, on obtient : SM₂ < SM₁ < FM₃ < FM₂ < FM₁.

Les muscles dits lents (par exemple le soleus) sont composés essentiellement de fibres de type I et contiennent les formes SM₁ et SM₂ de la myosine. Une autre catégorie de muscles, dits rapides (comme l'EDL) sont composés essentiellement de fibres de type II_A et II_B et contiennent les isoformes FM₁, FM₂ et FM₃. Il existe des muscles dits mixtes (le diaphragme) qui contiennent les deux types de myosine. En outre, des isoformes spécifiques ont été observés pour les muscles embryonnaires et fœtaux (HOH et YEOH, 1979 ; D'ALBIS et coll., 1987).

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe ultrastructure, la myosine hexamérique est constituée selon le schéma suivant :

2 chaînes lourdes	+ 2 chaînes légères	+ 2 chaînes légères
	phosphorylables	non phosphorylables
2HC	2PLC	2LC

Des électrophorèses en milieu dénaturant en une dimension (VOLPE et coll., 1981 ; SALVIATI et coll., 1982, 1983) ou bidimensionnelle (GIOMETTI et coll., 1983) ont permis de mettre en évidence des isoformes de chaque chaîne.

Le tableau ci-dessous résume les principales formes observées à partir de muscle squelettique adulte.

HCf	200 kDa	Heavy Chain fast	
HCs	200 kDa	Heavy Chain slow	
LC _{1sa}	26 kDa	Light Chain slow	non phosphorylable
LC _{1sb}	25 kDa	Light Chain slow	non phosphorylable
LC _{1f}	25 kDa	Light Chain fast	non phosphorylable
LC _{2s}	19 kDa	Light Chain slow	phosphorylable
LC _{2f}	18 kDa	Light Chain fast	phosphorylable
LC _{3f}	16 kDa	Light Chain fast	non phosphorylable

Le rapport entre les formes hexamériques principales et les différentes sous-unités est répertorié dans le tableau ci-dessous (HOH, 1978 ; HOH et YEOH, 1979 ; D'ALBIS et coll., 1979).

FM ₁	2(HCf) + 2(LC _{2f}) + 2(LC _{3f})	(IIA)
FM ₂	2(HCf) + 2(LC _{2f}) + LC _{1f} + LC _{3f}	(IIAB)
FM ₃	2(HCf) + 2(LC _{2f}) + 2(LC _{1f})	(IIB)
SM ₁	2(HCs) + 2(LC _{2s}) + 2(LC _{1sa})	(I)
SM ₂	2(HCs) + 2(LC _{2s}) + 2(LC _{1sb})	(I)

De plus, comme nous l'avons vu, les molécules de Tropomyosine, Troponine T, I ou C existent également sous une forme rapide ou lente.

Une fibre de type I contient les isoformes lents (s) de la myosine, de la tropomyosine et des troponines de type lent. Les fibres de type II se caractérisent par des isoformes rapides de la

myosine et des protéines régulatrices. Les fibres de types II_A et II_B se distinguent les unes des autres par la chaîne lourde de la myosine (HC_{IIA} et HC_{IIB}) et par un rapport différent des chaînes légères non phosphorylables (LC₃/LC₁).

Le profil électrophorétique d'un muscle entier dépendra du rapport entre les fibres rapides et les fibres lentes qu'il contient. Un muscle rapide présentera, en dominante, un profil électrophorétique similaire à celui d'une fibre rapide et un muscle lent un profil similaire à celui d'une fibre lente. En ce qui concerne les muscles mixtes, qui contiennent en proportion égale des fibres rapides et lentes, on trouve des bandes caractéristiques des deux types de fibres.

5. Propriétés contractiles

Les propriétés contractiles des différents types de muscles ne sont pas identiques. Les différences résident essentiellement dans la vitesse de contraction et dans la résistance du muscle à la fatigue (CLOSE 1964 ; 1972 ; BURKE et coll., 1973). Il est possible d'établir une corrélation satisfaisante entre le typage histochimique et les caractéristiques physiologiques. On distingue alors les fibres à contraction rapide et vite fatigables (type II_B), les fibres à contraction rapide, résistantes à la fatigue (type II_A) et les fibres à contraction lente, résistantes à la fatigue (type I). Associée au caractère enzymatique une dénomination parallèle en trois classes a été établie (PETER et coll., 1972). Les fibres de type lent à caractère oxydatif (SO : Slow Oxydatif), les fibres de type rapide à caractère glycolytique et oxydatif (FOG : Fast Oxydatif Glycolytic) et les fibres rapides à caractère glycolytique seul (EG : Fast Glycogenic). Ces fibres correspondent respectivement aux fibres de type I, II_A et II_B dans la classification de BROOKE et KAISER.

Sur fibre isolée et pelée, il est également possible de distinguer différentes réponses. En associant la réponse contractile de la fibre à son type (déterminé par électrophorèse ou par typage de la fonction ATPasique), il a été démontré que la sensibilité calcique des protéines contractiles suit l'ordre

décroissant suivant : type I > II_B > II_A (EDDINGER et MOSS, 1987 ; GREASER et coll., 1988 ; LASZEWSKI-WILLIAMS, 1989). En outre, la pente de la relation liant l'amplitude de la tension à la concentration calcique est plus forte pour les muscles rapides que pour les muscles lents (STEPHENSON et WILLIAMS, 1981, 1982 ; MOUNIER et coll., 1989). Les vitesses de raccourcissement des fibres ont également été mesurées et complètent les résultats obtenus par les autres techniques. Les fibres de type I se contractent plus lentement ($V_{max} = 0.75$ longueur de muscle/s) que les types II_A ($V_{max} = 2.10$ longueur de muscle/s) et que les types II_B ($V_{max} = 3.20$ longueur de muscle/s) (EDDINGER et MOSS, 1987 ; GREASER et coll., 1988). Selon REISER et coll. (1985), cette différence est principalement corrélée à la composition en chaîne lourde de la myosine.

Il faut noter que les fibres innervées par le même motoneurone (ou encore unité motrice) possèdent le même typage, le même profil électrophorétique et les mêmes caractéristiques contractiles, ce qui laisse présager de la grande importance de la commande nerveuse.

B - PLASTICITE DU MUSCLE

Les caractéristiques des muscles peuvent se modifier. Elles évoluent entre la période embryonnaire, néonatale et adulte. En outre, certaines conditions comme l'entraînement, l'immobilité, les maladies musculaires, les ténotomies, les dénervations, les innervations croisées, modifient le typage des muscles.

Les résultats de CLOSE (1964) à partir d'expériences réalisées sur des muscles de rats nouveau-nés, montrent que les propriétés contractiles évoluent dans les premières semaines de la vie postfoetale. En effet, les muscles qui seront ensuite classés en type rapide ou type lent se contractent au premier jour de la vie postfoetale de façon quasi identique. A partir de la naissance les muscles rapides se distinguent en acquérant progressivement des caractéristiques rapides (accélération importante de la vitesse de

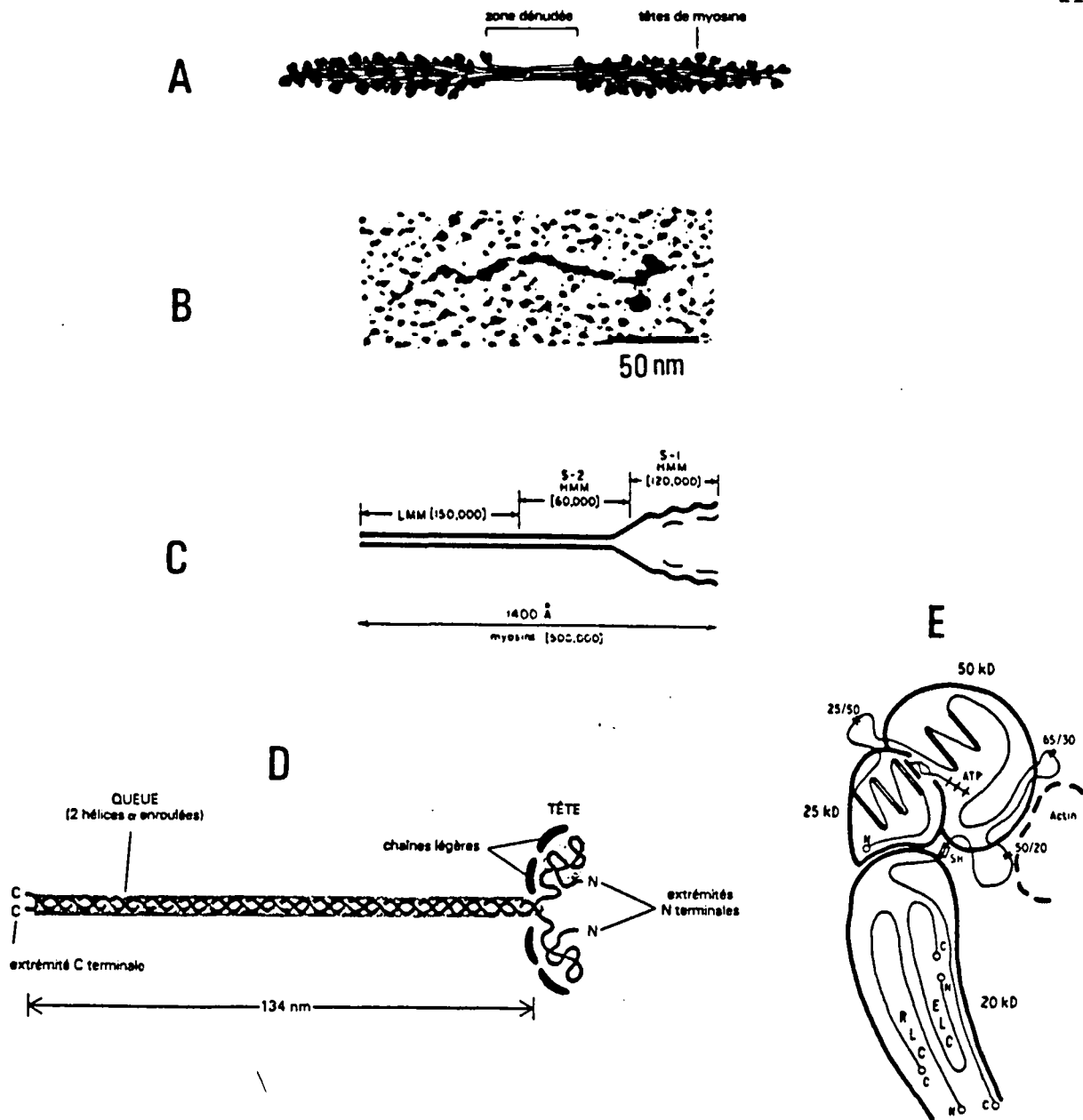


Figure 3 : Le filament épais.

A : structure du filament épais, la zone dénudée correspond à la zone H décrite figure 1.

B : molécule de myosine.

C : schématisation de la myosine selon les anciennes formes de représentations basées sur des coupures enzymatiques.

D : reconstitution de la structure hexamérique de la myosine.

E : représentation des domaines de la tête de la myosine.

contraction). En revanche, la vitesse de contraction n'augmente que faiblement dans le cas des muscles lents. Ces transformations sont achevées vers le 30^{ème} jour chez le rat (CLOSE, 1964). Les études des isoformes de la myosine confirment ces résultats et montrent qu'il existe pendant la vie prénatale deux types de myosines différentes des formes adultes : des myosines de type embryonnaire et des myosines de type néonatal (ou foetal) (HOH et YEOH, 1979 ; FITZIMONS et HOH, 1981 ; WHALEN et coll., 1981 ; SWINGEDAUF, 1986) codées par des gènes différents (PERIASAMY et coll., 1984). Des différences entre ces myosines ne sont cependant pas décelables par la technique histochimique de BROOKE et KAISER et les fibres contenant ces types de myosines ont quelquefois été classées dans un type II_c. Dans les premières semaines de la vie postnatale, ces formes embryonnaires et foetales seront progressivement remplacées par des myosines adultes de type lent (dans le cas d'un muscle lent) et par des myosines de type rapide, dans le cas de muscles rapides (HOH et YEOH, 1979 ; WHALEN et coll., 1981). Dans le même temps le réticulum sarcoplasmique se développe et la concentration en Ca ATPases augmente (TILLACK et coll., 1974).

Des expériences de dénervation ont permis de mettre en évidence le rôle vital de l'innervation sur le muscle. En effet, après section du nerf, le muscle dénervé s'atrophie et la force développée diminue nettement. Ces résultats sont observés pour les muscles lents comme pour les muscles rapides (HENNIG et LOMO, 1987 ; FALEMPIN et LETERME, 1989). De plus, ces auteurs décrivent une modification de la vitesse de contraction des muscles. Après deux mois de dénervation, le temps de contraction de la secousse musculaire est diminué pour le soleus et augmenté pour le l'EDL. L'index de fatigue est également modifié : il diminue pour le soleus mais augmente pour l'EDL. En outre, la capacité de pompage du calcium par le réticulum sarcoplasmique du soleus dénervé est fortement amoindrie (WAN et BOEGMAN, 1981).

La cause de ces modifications serait partagée entre la suppression de la conduction nerveuse d'une part et l'annulation de la circulation des substances trophiques d'autre part (GUTH, 1968 ; Mc ARDLE, 1983).

En 1960, BULLER et coll., utilisent la méthode de réinnervation croisée pour montrer le rôle de l'innervation dans le déterminisme du type du muscle. Cette méthode consiste à couper l'innervation d'un muscle rapide et d'un muscle lent et de faire réinnover le nerf du muscle rapide sur le muscle lent et celui du muscle lent sur le muscle rapide. Avec cette technique, on montre alors une transformation du typage initial du muscle (pour revue JOLESZ et SRETER, 1981). Le muscle lent devient alors rapide et le muscle rapide devient alors lent. Toutes leurs caractéristiques structurales et biochimiques sont alors modifiées : distribution des myosines (HOH, 1975), activité ATPasique (BARANY et CLOSE, 1971), vitesse de contraction (CLOSE, 1969 ; SRETER et coll., 1975) ; quantité et composition du RS (SRETER et coll., 1975).

On commence maintenant à mieux comprendre le mécanisme du rôle de l'innervation. On sait en effet que les impulsions transmises par le nerf d'un muscle rapide n'ont pas le même profil de décharge que celles d'un muscle lent. La fréquence de décharge est grande pour une fibre rapide de type II_A (67 à 91 Hz) ainsi que pour une fibre rapide de type II_B (48 à 83 Hz) alors qu'elle est beaucoup plus faible (18 à 21 Hz) pour une fibre lente (LOMO, 1985). En outre, la décharge des motoneurones innervant les fibres musculaires rapides est de type phasique, c'est-à-dire que ces dernières reçoivent de courtes salves de potentiels apparaissant à des fréquences variables. En revanche, les motoneurones innervant les fibres musculaires lentes ont une décharge continue. Globalement, les fibres reçoivent un nombre de potentiels quotidiens variable selon leur type, soit environ 10 000, 80 000 et 600 000 potentiels par 24 heures pour respectivement les fibres II_B, II_A et I (HENNIG et LOMO, 1985).

Un autre type d'expérience a permis de mieux cerner le problème en stimulant de façon chronique un muscle lent par un choc électrique similaire en intensité et en fréquence à celui retrouvé normalement sur un muscle rapide. On assiste alors à une transformation partielle du typage du muscle, de ses composés contractiles ou biochimiques (SALMONS et SRETER, 1976). La

stimulation chronique d'un muscle rapide par une fréquence de 10 Hz entraîne une diminution de la vitesse de contraction et une transformation du spectre électrophorétique de la myosine vers un type lent (SWEENEY et coll., 1986). Dans les mêmes conditions, la concentration en parvalbumine et en calsequestrine diminue. En revanche, la concentration en NADH-Cyt B5 réductase et en citrate synthétase augmente traduisant un accroissement du potentiel oxydatif (KLUG et coll., 1983 ; SCHMITT et PETTE, 1985 ; BAR et coll., 1989). Ces résultats mettent donc en évidence une transformation d'un muscle rapide vers un type plus lent lorsqu'il est expérimentalement stimulé à des fréquences caractéristiques d'un muscle lent.

La transformation inverse intervient lorsqu'un muscle lent est stimulé chroniquement à une fréquence élevée. Des expériences électrophorétiques ont montré que les isoformes de la troponine d'un soleus deviennent des isoformes typiques d'un muscle rapide après une phase de transition pendant laquelle les deux formes étaient présentes (DHOOT et coll., 1981).

Toutes ces expériences montrent donc que, malgré sa grande spécialisation, le muscle n'est pas un système immuable et qu'il peut se transformer. Ce fait est confirmé par toutes les études réalisées à partir de situations dans lesquelles les systèmes musculaires sont en hypoactivité (immobilisation, plâtrage d'un membre, alitement prolongé)

L'immobilisation induit une atrophie musculaire, qui est spectaculaire essentiellement sur les fibres lentes (pour revue APPEL, 1986) dont le diamètre peut chuter de 50 %. Parallèlement la proportion de fibres lentes diminue au profit de la population rapide (BOOTH et KELSO, 1973) et de nombreux auteurs suggèrent une transformation d'un type lent en type rapide ou intermédiaire, (HERMANSEN et coll., 1983). Après une phase d'immobilisation, BOOTH et KELSO (1973) montrent qu'une période de récupération permet de retrouver les caractéristiques initiales du muscle.

Un autre modèle est aujourd'hui très utilisé dans l'étude de la plasticité du muscle provoquée par un hypofonctionnement des membres. Nous allons le décrire un peu plus largement car il est actuellement utilisé comme modèle de simulation des effets de la microgravité sur le muscle. Il s'agit du modèle appelé "rat suspendu" car la partie postérieure de l'animal est surélevée soit à l'aide d'un harnais (MUSACCHIA et coll., 1980, 1983) soit en suspendant la partie postérieure de l'animal par un gainage de sa queue (MOREY, 1979 ; MOREY-HOLTON et WRONSKI, 1981 ; WRONSKI et MOREY, 1987 ; STEVENS et coll., 1990). Les pattes antérieures sont toujours au sol et permettent la mobilité de l'animal grâce à un système mobile de poulies. Au niveau musculaire, les pattes postérieures du rat sont, dans cette position, en situation conjuguée d'hypokinésie (réduction de l'activité motrice) et d'hypodynamie (réduction du tonus musculaire normalement utilisé pour contrecarrer les effets de pesanteur et donc le poids de l'animal). De plus, du fait de la position même de l'animal, les fluides circulants se déplacent vers les parties céphalique et thoracique mimant ainsi un autre des effets de la microgravité. Ce modèle permet donc de recréer des effets similaires à ceux observés pendant les vols spatiaux. Il est, pour cette raison, très largement utilisé dans les études de l'atrophie musculaire liée aux vols spatiaux. Pour les études concernant le système musculo squelettique, le modèle de rat suspendu type MOREY (1979) est le plus communément utilisé.

A partir de ces modèles, tous les auteurs décrivent un degré d'atrophie dépendant de la fonction du muscle étudié (GOLDSPINK et coll., 1986 ; LOUGHNA et coll., 1986, 1987 ; MUSACCHIA et coll., 1983 ; STEVENS et coll., 1990 ; STEVENS et MOUNIER, 1990). En ce qui concerne les muscles qui nous intéresseront dans notre étude MUSACCHIA et coll. (1983) décrivent un degré d'atrophie différent : soleus > gastrocnemius > plantaris > EDL. Cette atrophie est la conséquence d'une diminution de la synthèse des protéines associée à une augmentation de leur dégradation (JASPER et TISCHLER, 1984 ; GOLDSPINK et coll., 1986 ; LOUGHNA et coll., 1987). STEFFEN et MUSACCHIA (1984) se sont posé la question de savoir si l'atrophie pouvait être expliquée par une diminution du nombre des fibres musculaires ou par une diminution de leur taille. Ils rapportent que

la quantité d'ADN ne varie pas dans le muscle suggérant donc que le nombre de fibres ne change pas après la suspension. En revanche, la quantité d'ARN du muscle diminue significativement après suspension, ce qui confirme la diminution de synthèse protéique. Ces résultats accèdent donc l'hypothèse de la diminution en taille des fibres plutôt que de leur nombre. Les mesures du diamètre ou de la surface de la section des fibres confirment ce résultat (TEMPLETON et coll., 1984 a, b ; STEVENS et coll., 1990). TEMPLETON et coll. (1984 a, b) rapportent également que la diminution de taille est principalement observée pour les fibres de type lent. Ils trouvent en même temps une réduction de la myosine de type lent et une accélération de la vitesse de contraction et de relaxation de ces fibres. GUPTA et coll. (1985) concluent à une conversion des fibres de type lent en fibres de type rapide. DESPLANCHES et coll., (1987 a) grâce à une méthode histochimique plus fine distinguant 5 populations de fibres trouvent une réduction de la distribution des fibres de type I accompagnée d'une augmentation des fibres de type intermédiaire (intermédiaire entre le type I et II pour le soleus et entre le type II_A et II_B pour l'EDL). L'effet maximal est atteint après 13 jours de suspension et les phénomènes sont réversibles (MUSACCHIA et coll., 1983 ; DESPLANCHES et coll., 1987 b).

D'un point de vue fonctionnel, l'analyse de la littérature indique clairement que les propriétés mécaniques du muscle entier sont modifiées en situation de microgravité réelle ou simulée. Ainsi OGANOV et POTAPOV (1976), WINIARSKI et coll. (1987), FALEMPIN et coll. (1988) s'accordent pour constater d'une part sur le soleus une diminution du temps de contraction variant de 22 à 30 % et peu de changement du temps de demi-relaxation, d'autre part sur l'EDL une augmentation du temps de contraction et du temps de demi-relaxation, les résultats pouvant différer pour ce dernier paramètre selon les auteurs. Les relations force-vitesse établies pour les muscles soleus, EDL et la portion superficielle (rapide) du vastus lateralis (WITZMANN et coll., 1983) de rats immobilisés 6 semaines montrent paradoxalement que la V_{max} de ces trois muscles est augmentée bien que celle du muscle soleus le soit plus fortement (67 %). Par contre, seule la V_{max} du muscle soleus apparaît accrue après une suspension de 14 jours (FITTS et

coll., 1986) tandis qu'aucun changement n'est observé sur le muscle gastrocnémien de rat après une suspension de 15 jours (TEMPLETON et coll., 1984). Le rapport P_t/P_0 (tension de la secousse/tension tétranique maximale), indicateur de l'état actif du muscle augmente de 10 % après 15 jours de suspension pour le muscle soleus et chute de 35 % après deux jours de suspension sur l'EDL. Cette donnée peut être corroborée à la capacité des muscles à modifier leurs cinétiques (FALEMPIN et coll., 1990). Enfin un autre rapport P_{20}/P_0 (P_{20} indiquant la tension tétranique obtenue par une stimulation à la fréquence de 20 Hz) sert d'indicateur de la rapidité d'un muscle. Ce rapport est fréquemment voisin de 0.8 sur un muscle lent tel que le soleus et 0.3 sur un muscle rapide tel que l'EDL. Après deux semaines de suspension P_{20}/P_0 est diminué sur le soleus et inchangé sur l'EDL. Ces différents contrôles permettent aux auteurs de constater qu'un muscle lent acquiert des propriétés de cinétique musculaire plus proches de celles d'un muscle rapide tandis qu'inversement un muscle rapide tend, à un degré moindre, à devenir plus lent.

Ces différentes expériences montrent bien la plasticité du muscle puisque ses propriétés biochimiques, ultrastructurales et physiologiques peuvent changer.

MECANISME DE LA CONTRACTION

MECANISME DE LA CONTRACTION

I- COUPLAGE EXCITATION CONTRACTION

Il est maintenant connu que le système contractile s'active lorsque la concentration calcique intracellulaire passe d'environ $0,1 \mu\text{M}$ à $1-10 \mu\text{M}$ (HEILBRUNN et WIERCINSKY, 1947 ; NIEDERGERKE, 1955 ; PODOLSKY et COSTANTIN, 1964). Sur les fibres musculaires de rats, le courant responsable de l'activité électrique membranaire est un courant sodique (DUVAL et LEOTY, 1980). Le couplage entre l'excitation et la contraction est dit de type indirect c'est-à-dire que les ions calcium inducteurs de la contraction ne peuvent provenir uniquement du milieu extracellulaire mais que des structures intracellulaires doivent être impliquées.

Le rôle des mitochondries dans l'homéostasie du calcium dans le muscle est encore très controversé. Il est en effet bien connu que les mitochondries de tous les tissus animaux, muscle inclus, peuvent accumuler de grandes quantités de calcium (jusqu'à $3 \mu\text{mol Ca}$ par mg de protéines mitochondriales). Cependant, l'argument majeur contre un rôle des mitochondries dans le contrôle de la concentration calcique intracellulaire est un K_m apparent du système de transport trop élevé, ce qui indique que les concentrations calciques faibles dans le myoplasme ne pourraient pas être obtenues facilement et rapidement. En outre, l'inhibition au préalable du transport calcique mitochondrial par du dinitrophénol ne modifie pas la cinétique du cycle contraction-relaxation. Il reste néanmoins possible que les mitochondries interviennent dans l'homéostasie du calcium intracellulaire toutefois dans une très faible proportion.

La structure principalement reconnue responsable du stockage et du largage du calcium est le réticulum sarcoplasmique. Il assure la libération massive de l'ion dans le myoplasme pendant

les phases de contraction et sa recapture pendant les phases de relaxation.

A - LIBERATION DU CALCIUM

Le calcium est stocké dans les citernes terminales du RS (HASSELBACH, 1961; COSTANTIN et coll., 1964 ; SANDOW, 1965, WINEGRAD, 1968). Après en avoir reçu l'ordre, le RS libère massivement le calcium emmagasiné. La nature du message et les mécanismes permettant la libération du calcium à partir du RS sont encore très controversés, et actuellement trois hypothèses sont couramment mentionnées :

- hypothèse électrique
- hypothèse mécanique
- hypothèse chimique

1. Hypothèse électrique :

En remplaçant l'ion propionate (impermeant) par du Cl⁻ (perméant), sur des vésicules isolées du RS ou sur des fibres pelées, on obtient une dépolarisation de la membrane. Grâce à cette technique, les auteurs décrivent un largage de calcium à partir du RS. L'hypothèse électrique repose sur le fait qu'un courant existe et qu'il assurerait le couplage. Il y aurait continuité électrique entre la citerne terminale et le tubule T. A partir de cette hypothèse et des travaux structuraux réalisés par FRANZINI-ARMSTRONG (1975), EISENBERG et EISENBERG (1982), le modèle suivant est proposé. Pendant la contracture, des canaux se forment et s'ouvrent à l'intérieur des structures de jonction existant entre le système tubulaire et la citerne terminale ("feet"). Dès lors, l'intérieur du RS et le système T sont en communication, un flux ionique peut entrer dans le RS, flux suffisant pour induire la dépolarisation de la membrane du RS et provoquer la libération du calcium. Cependant, OETLIKER (1982), en dosant les espèces ioniques du système T et du RS, montre qu'au repos la concentration de Na est beaucoup plus faible dans le RS que dans le système T et qu'elle n'augmente pas

pendant la phase d'activation, ce qui devrait être le cas si l'hypothèse d'EISENBERG et EISENBERG (1982) était valable.

2. Hypothèse mécanique : Mouvements de charges

Un modèle basé sur l'existence de particules mobiles chargées positivement connectées aux "feets" est proposé (SCHNEIDER et CHANDLER, 1973). Au repos, ces particules bloquent un canal du RS. Au moment de la contraction la dépolarisation du système T externe attire la particule, libérant ainsi le canal, le calcium peut alors sortir selon l'équation de LUTTGAU et STEPHENSON (1986).

$$Q_u = Q_{\max}/(1-e^{-(V-V')k})$$

- où
- Q_u = mouvement de charge pour un potentiel de membrane donné
 - Q_{\max} = mouvement de charge maximal
 - V = potentiel de membrane au repos
 - V' = potentiel de membrane instantané.
 - K = constante

Cette équation donne une allure sigmoïde à la relation entre le mouvement de charge et la valeur du potentiel de membrane. Cette relation est déplacée vers des valeurs plus négatives de potentiel de membrane lorsqu'il s'agit d'un muscle lent par rapport à un muscle rapide. Cependant, cette hypothèse ne permet pas d'expliquer tous les résultats. En effet, il est possible d'induire des contractions sur de nombreuses préparations au moyen de substances pharmacologiques sans qu'aucun changement du potentiel de membrane ne soit enregistré (SOMLYO et SOMLYO, 1968).

3. Hypothèse chimique

a) Mécanisme de "Ca induced Ca release"

Cette hypothèse avancée par FORD et PODOLSKY (1972) fait intervenir une auto stimulation du largage du calcium par le

calcium. Pendant l'excitation, une faible quantité de calcium entre dans la cellule. Ce calcium provient soit du milieu extracellulaire soit des sites calciques existant dans le système tubulaire. Ensuite, cette petite quantité de calcium pourrait induire la libération du calcium emmagasiné dans le RS.

b) Action de l'IP₃

Le schéma emprunté à VERGARA et coll. (1987) (figure 5) montre le processus envisagé. Le système tubulaire contient les éléments nécessaires à la transmission des informations. Les réactions ont lieu dans l'espace entre le RS et la membrane du tubule (100-200 Å). La membrane du tubule T contient un inositide, le phosphatidylinositol 4,5 bi-phosphate (PtdIns(4,5)P₂). Au moment de la dépolarisation du système T, l'inositide est scindé en deux grâce à une enzyme (une phospholipase C). L'IP₃ est libéré dans l'espace entre le RS et le tubule. L'IP₃ peut activer un canal du RS qui laisse sortir le calcium vers le cytoplasme. Il perd ensuite les groupes phosphate pour revenir à l'état d'inositol. Sous cette forme et grâce à la présence d'ATP il se lie à un acide phosphatidique pour redonner un inoside.

4. Autres hypothèses

D'autres hypothèses selon lesquelles les Ca-ATPases, utilisées pour la recapture du calcium du myoplasme vers le RS (voir paragraphe suivant) seraient impliquées dans le mécanisme de largage du calcium ont été émises. La première hypothèse implique *l'inversion de la pompe* Ca ATPase normalement utilisée dans le sens myoplasme → RS. Dans certaines circonstances, cette pompe fonctionnerait dans l'autre sens c'est-à-dire du RS vers le myoplasme. Cette activité permettrait la synthèse d'ATP (HASSELBACH, 1981 ; FABIATO, 1982). La seconde hypothèse implique la *formation d'un canal calcique par association de plusieurs Ca-ATPases* dans la phase lipidique de la membrane du RS (VANDERKOOI et coll., 1977). L'induction de la formation du canal pourrait être due à une variation de la concentration en ions H⁺ ou

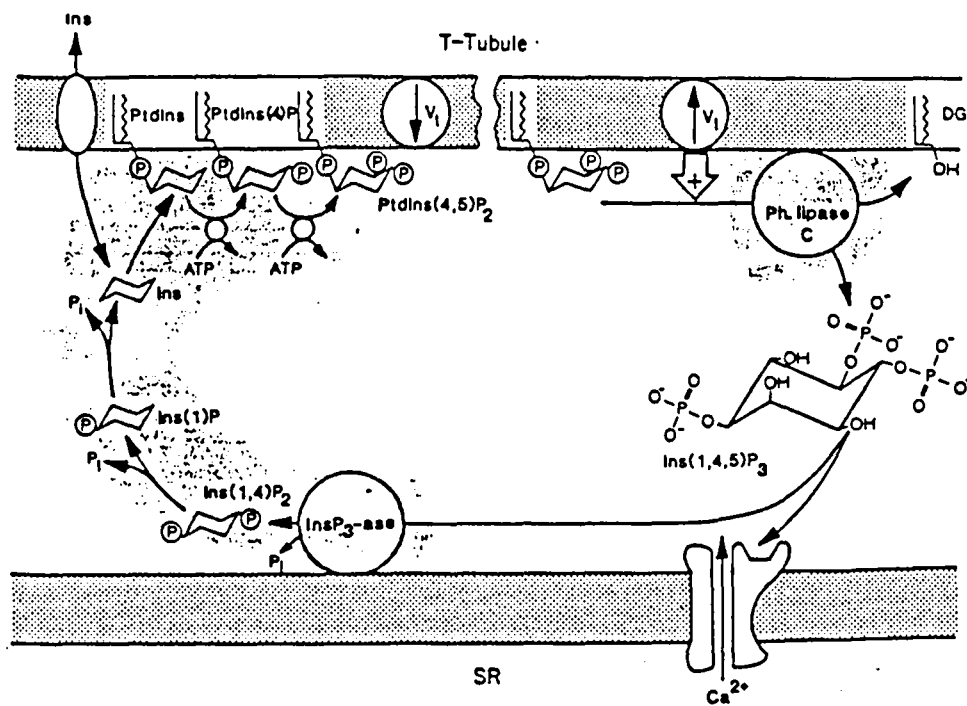


Figure 5 : Couplage excitation contraction : action de l'IP₃ (selon VERGARA et coll., 1987).

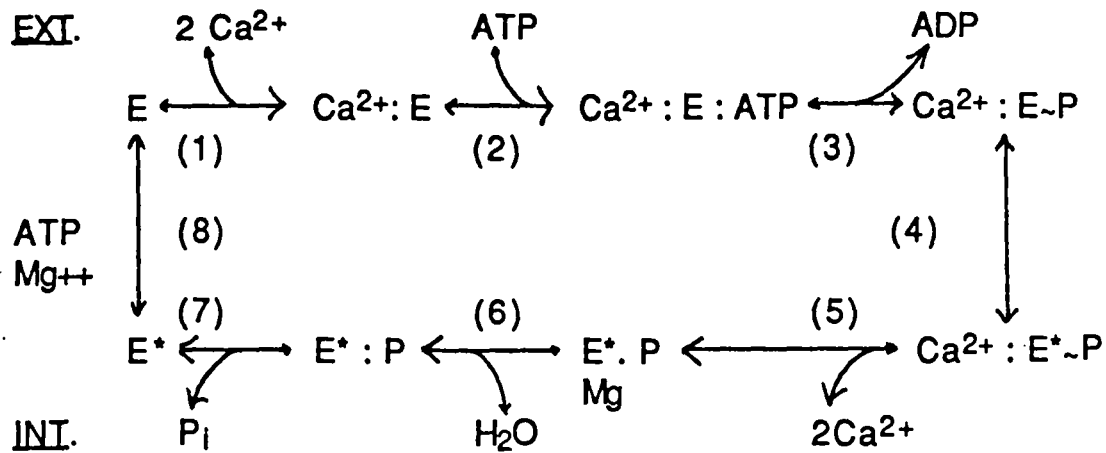
Ca^{++} (CHIESI, 1984) ou à une modification du potentiel de surface (DUX et MARTONOSI, 1983).

B - RECAPTURE DU CALCIUM

Au moment de la relaxation, le calcium est de nouveau restocké dans le RS grâce à des Ca-ATPases, des enzymes qui assurent le transport des ions calcium à travers une membrane grâce à l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP.

Le calcium est probablement véhiculé des myofibrilles vers le RS grâce à un peptide de 12 kDa, soluble dans le myoplasme : la parvalbumine (GERDAY et GILLIS, 1976). Le calcium se fixe sur la parvalbumine qui possède 2 sites de fixation pour le calcium ou pour le magnésium. La constante d'association de la parvalbumine pour le calcium est plus faible que celle des Ca-ATPases. En conséquence, lorsque la parvalbumine est proche des pompes du RS le calcium se détache de la parvalbumine et est pompé par le RS.

Le repompage du calcium à l'intérieur du réticulum est réalisé grâce aux pompes calciques : les Ca-ATPases. Elles représentent 90% des protéines du RS. Grâce à l'énergie fournie par l'hydrolyse d'une molécule d'ATP, deux ions calcium sont introduits dans le RS (HASSELBACH et MAKINOSE, 1961 ; WEBER, 1966). Le schéma simplifié (figure 6) résume les différentes étapes du pompage du calcium par le RS.



E : forme de l'ATPase ayant une haute affinité pour le Ca ($K_s = 0.1-2.0 \mu M$ à pH 7.0)

E^* : forme de l'ATPase ayant une faible affinité pour le Ca ($K_s = 1-2 \text{ mM}$ à pH 7.0)

Figure 6 : Hypothèse du principe du fonctionnement de la calcium ATPase selon DE MEIS et VIANNA (1979).

Le rôle du magnésium est complexe. D'après SHIGAWARA et coll. (1983), il ne serait pas indispensable mais servirait à accélérer la réaction.

Une variante du fonctionnement de l'ATPase a été proposée par DUPONT (1983) qui la définit comme une pompe utilisant les molécules H_2O et la réaction serait possible grâce à l'existence de deux types de sites différents : l'un présenterait une affinité pour le calcium hydraté et l'autre pour le calcium déshydraté.

II - LA CONTRACTION

A - PROTEINES CONTRACTILES ET CALCIUM

L'importance de l'ion calcium dans le mécanisme d'initiation de la contraction musculaire n'est maintenant plus à démontrer (HEILBRUNN et WIRCIENSKY, 1947). Les études réalisées sur fibres pelées ont beaucoup contribué à la compréhension du fonctionnement des protéines contractiles vis-à-vis du calcium. En

effet, cette technique permet de perméabiliser totalement le sarcolemme rendant ainsi les myofilaments accessibles à toutes les molécules (NATORI, 1954). Grâce à cette technique, ASHLEY et MOISCESCU (1977) montrent, initialement sur le crustacé dont les fibres sont de gros diamètre, que la relation liant l'amplitude de la contraction à la valeur de la concentration calcique du milieu est de type sigmoïde. Cette relation est habituellement appelée relation tension/pCa ou T/pCa ($pCa = -\log [Ca^{2+}]$).

1. Mécanisme

Depuis les études d'EBASHI et ENDO, (1968), POTTER et GERGELY (1974), on sait que la contraction est sous le contrôle d'un groupe de protéines régulatrices, la tropomyosine et le complexe de la troponine (voir le chapitre ultrastructure). La tropomyosine, filament allongé et rigide, se loge dans la gorge située entre les deux brins d'actine. Lorsque la fibre musculaire est au repos, ce filament cache par encombrement stérique le site de liaison de l'actine pour la myosine (figure 4B). La Troponine T (TnT) qui possède un site de liaison avec la Tropomyosine est responsable du positionnement du complexe. La troponine I empêche au repos l'interaction actine-myosine. Cette inhibition ne sera levée qu'en présence des ions calcium sur la troponine C (TnC). En effet, lorsque le calcium se fixe sur la TnC, le changement de conformation du polypeptide va induire une séquence d'évènements, en cascade. Le complexe troponine va basculer en entraînant avec lui la tropomyosine. Il libère de cette façon tous les sites de l'actine permettant alors la contraction (POTTER et GERGELY, 1975).

2. Relation tension/pCa

Dans le système contractile, le mécanisme d'induction de la contraction passe donc par l'étude de la relation privilégiée entre la TnC et le calcium. La courbe tension/pCa traduit cette relation. Sur fibre pelée ZOT et coll. (1985, 1986) ont enlevé la troponine endogène pour la remplacer par une troponine marquée par le DANZ (5-diméthylaminonaphtalene-2-sulfonyl azirine), une protéine qui

émet une fluorescence en présence de calcium. Ils constatent alors que la relation fluorescence/pCa est similaire à la relation tension/pCa. Elle a une allure sigmoïde indiquant un mécanisme de coopérativité (BRANDT et coll., 1980, 1982, 1984 ; STEPHENSON et WILLIAMS, 1982 ; MOUNIER et coll., 1989). Les premières courbes de ce type ont été décrites par HUXLEY (1954) et l'application à la relation tension/pCa donne l'équation suivante (BRANDT et coll., 1980, 1982).

$$P/Po = [Ca]^n / ([Ca]^n + K^n)$$

où

- P = tension
- Po = tension maximale
- [Ca] = concentration calcique
- K = constante apparente de dissociation
- n = coefficient de Hill

Ce mécanisme complet de coopérativité est encore mal connu. En effet, on sait que l'association de la troponine C isolée avec le calcium suit une relation hyperbolique conforme à la loi de MICHAELIS-MENTEL, suggérant qu'il n'y a pas de coopérativité entre les différents sites calciques d'une troponine isolée. Cependant, sur fibres pelées (préparation sur laquelle tous les acteurs de la contraction, protéines contractiles et protéines régulatrices, sont présents), des expériences de substitution partielle de la troponine C d'un type par une TnC d'un autre type musculaire montrent clairement que la relation entre la tension et la concentration calcique est très dépendante du type de la TnC. Ceci indique donc que la troponine C participe directement au mécanisme coopératif lorsqu'elle est placée dans son environnement normal. C'est pourquoi les hypothèses les plus récentes proposent l'idée que les différentes unités régulatrices (telles que les troponines et tropomyosines) sont aussi impliquées dans le mécanisme coopératif (TRUEBLOOD et coll., 1982). Une autre hypothèse fait état d'une augmentation de la sensibilité calcique de la tête S₁ de la myosine pendant la contraction. GUTH et coll. (1986) suggèrent ainsi que les propriétés de la liaison calcium-Troponine C sont modifiées pendant la phase attachée actine-myosine.

La sensibilité calcique apparente du système contractile peut être modifiée par de nombreux facteurs physiques ou chimiques. En effet, une diminution de la sensibilité apparente des protéines contractiles pour le calcium est observée lorsque la température (STEPHENSON et WILLIAMS, 1982), la force ionique (BRANDT et coll., 1982 ; FINK et coll., 1986), la concentration en nucléotides (BRANDT et coll., 1982) sont augmentées ou lorsque la longueur du sarcomère est diminuée (STEPHENSON et WILLIAMS, 1982). En revanche, des drogues telles que la caféine (WENDT et STEPHENSON, 1983), la quercitine ou le DMSO (KUREBAYASHI et coll., 1984) augmentent la sensibilité calcique des protéines contractiles pour le calcium.

B - LA CONTRACTION

Lorsque l'inhibition par la troponine est levée par le calcium, la contraction peut se développer grâce à l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. La contraction du muscle et donc le mouvement qui est généré, sont réalisés grâce au raccourcissement des fibres musculaires. Ce raccourcissement est expliqué par la théorie des filaments glissants d'HUXLEY (1957). Cette théorie a ensuite ouvert la voie à de très nombreux travaux sur la mécanique des fibres et des têtes de myosine. Pendant la contraction les myofilaments fins glissent par rapport aux filaments épais. Ce glissement est expliqué par la formation cyclique de ponts entre l'actine et la myosine. Rappelons que la myosine :

- peut se lier à l'actine
- peut hydrolyser l'ATP
- possède une structure élastique qui constitue une charnière entre la tête et la queue de la myosine.

La figure 7 présente la contraction musculaire et le glissement des filaments. La figure 7A illustre le mouvement cyclique de la myosine. La figure 7B montre le schéma du couplage biochimique mettant en relation les équilibres moléculaires avec les mouvements des filaments (couplage mécano-chimique). De

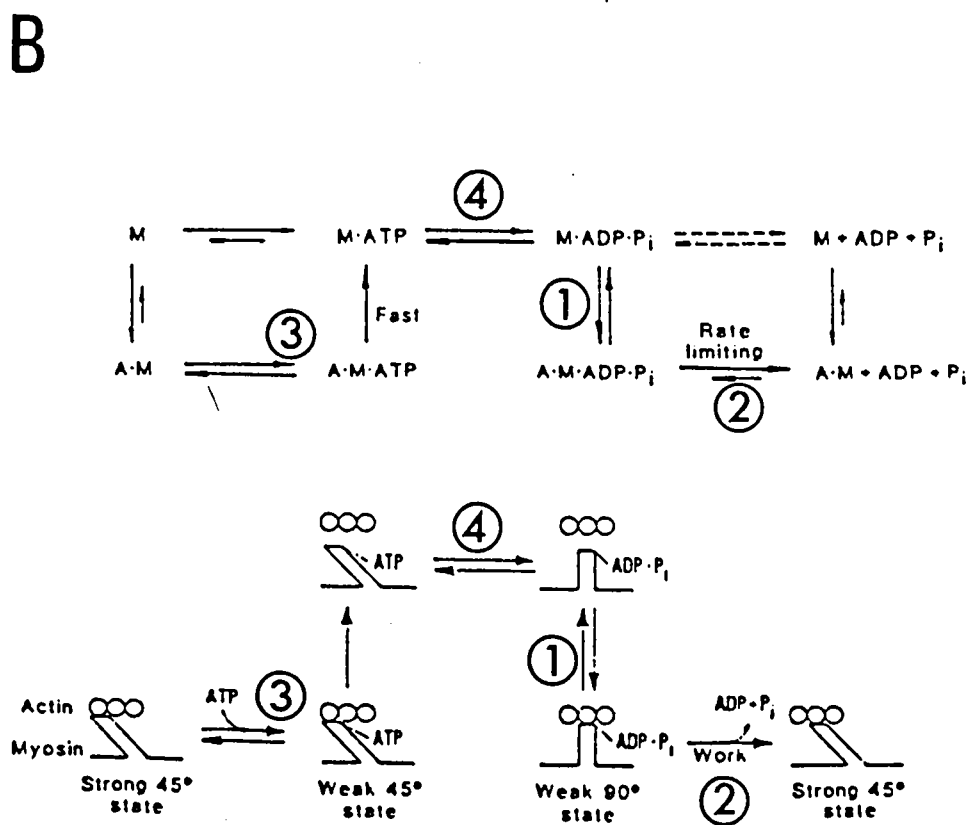
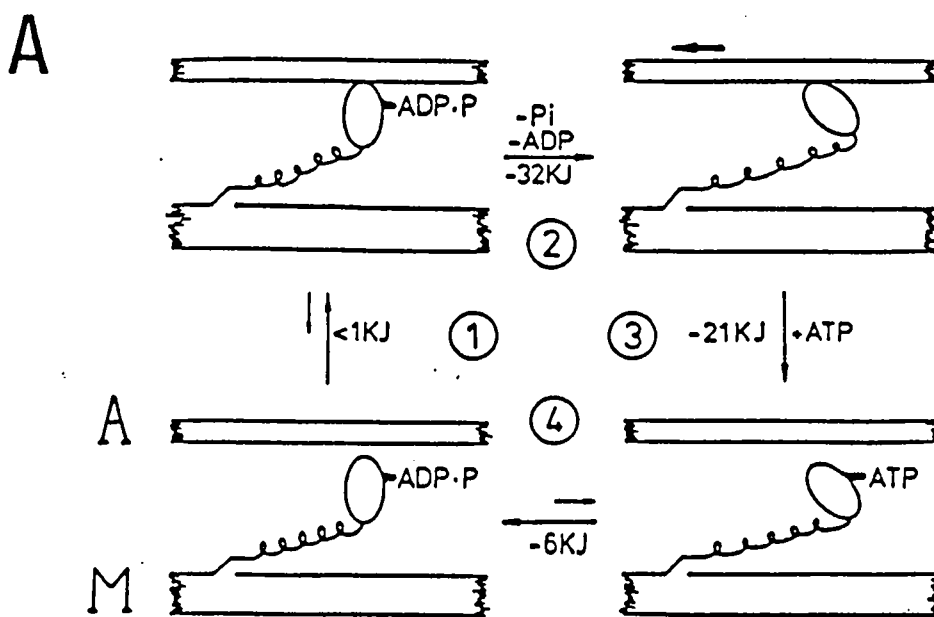


Figure 7 : A : schéma simplifié de la formation d'un cycle de liaison actine-myosine (TAYLOR et coll., 1981).
 B : hypothèse du couplage mécano-chimique (selon LYMN et TAYLOR, 1971).

nombreux modèles ont été proposés (EISENBERG et MOSS, 1968 ; LYMN et TAYLOR, 1971 ; CHOCK et coll., 1976 ; STEIN et coll., 1979 ; EISENBERG et HILL, 1985). La figure 7B présente un schéma simplifié (HUXLEY 1980) à partir du modèle de LYMN et TAYLOR (1971). La correspondance des étapes entre les deux schémas est donnée par la numérotation.

Dans l'étape 1, la myosine se lie avec une molécule d'actine pour laquelle elle a, sous cette forme, une grande affinité. La stochiométrie est de 1 pont par molécule d'actine glomérulaire. L'angle formé entre la tête de la myosine et le filament fin est alors de 90° . L'équilibre qui existe entre les formes actine-myosine détachée et liée se déplace alors vers la forme attachée. Dans l'étape 2, l'énergie emmagasinée sous la forme ADP.P_i permet une rotation de la tête de myosine dans une position à 45° . Comme elle est toujours attachée à l'actine, un déplacement des deux filaments, l'un par rapport à l'autre est réalisé, ce qui se traduit par un raccourcissement du sarcomère de 10 nm. Dans cette étape les produits de l'hydrolyse ADP et P_i quittent le site. Dans cette nouvelle configuration, l'affinité actine-myosine diminue et la séparation a lieu (étape 3). L'angle formé est toujours égal à 45° . Une molécule d'ATP se fixe sur le site désormais accessible et libre. Dans l'étape 4, l'hydrolyse de l'ATP sous la forme ADP.P_i permet à la tête de prendre un angle de 90° . Le système se retrouve donc dans la même configuration qu'au début, un nouveau cycle peut alors commencer.

En résumé, après avoir étudié la structure de base du muscle nous avons constaté :

- le caractère hétérogène du tissu musculaire
- la plasticité du muscle
- que la fibre musculaire est le siège de mécanismes distincts et complémentaires : les mouvements calciques à travers le réticulum sarcoplasmique et le glissement des filaments entre eux engendrant la contraction musculaire.

Nous nous sommes attaché dans notre étude à analyser les propriétés mécaniques des protéines contractiles et des mouvements de l'ion calcium à travers le réticulum sarcoplasmique. Pour chacune des expériences, nous ferons régulièrement référence à la plasticité et au caractère hétérogène du muscle.

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL BIOLOGIQUE

Nos travaux ont porté sur des échantillons musculaires obtenus à la suite de trois vols spatiaux. La chronologie des événements de chacun des vols est indiquée table 2.

A - ANIMAUX

1. Biocosmos 1514 (décembre 1983)

Les expériences ont été réalisées à partir de rattes de souche WISTAR provenant des animaleries soviétiques. Les animaux pesaient 300 g et ont été répartis en 3 groupes.

* Le groupe "VIVARIUM" (ou V) était composé de 5 rattes laissées à terre en animalerie dans des cages individuelles.

* Le groupe "SYNCHRONE" (ou S) était constitué de 5 rattes ayant subi une simulation du vol dans une maquette reproduisant toutes les conditions du vol à l'exception de la microgravité. Il s'agissait d'une simulation des vibrations, secousses et accélération (4 G) d'un décollage puis, après une période égale à la durée du vol, d'une simulation des vibrations et du choc d'atterrissage. Ces animaux seront considérés dans notre étude comme les vrais témoins puisqu'ils ont été soumis aux mêmes contraintes que celles des animaux "Vol" à l'exception de la microgravité.

* Le groupe "VOL" (ou F) était constitué des 5 rattes embarquées dans le biosatellite. La durée du vol était de 5 jours.

La table 3 donne la nomenclature qui a été utilisée lors du vol 1514 pour la reconnaissance des biopsies.

BIOCOSMOS 1514

(décembre 1983)

14 décembre		début du vol
19 décembre		sacrifice des animaux vol (F)
22 décembre		sacrifice des animaux vivarium (V)
2 janvier		sacrifice des animaux synchrone (S)

BIOCOSMOS 1667

(juillet 1985)

10 juillet		début du vol
17 juillet		sacrifice des animaux vol (F)
20 juillet		sacrifice des animaux vivarium (V)
9 août		début de l'expérience synchrone
16 août		sacrifice des animaux synchrone (S)

BIOCOSMOS 1887

(septembre 1987)

29 septembre		début du vol
5 octobre		début de l'expérience synchrone
12 octobre		atterrissage
14 octobre		sacrifice des animaux vol (F)
17 octobre		sacrifice des animaux vivarium (V)
20 octobre		sacrifice des animaux synchrone (S)

*Table 2 : Chronologie des évènements des trois programmes
BIOCOSMOS.*

nom	Muscle	groupe
S ₁ à S ₅	plantaris	vol
S ₆ à S ₁₀	plantaris	vivarium
SS ₁ à SS ₅	plantaris	synchrone
G ₁ à G ₅	Gastrocnémien	vol
G ₆ à G ₁₀	Gastrocnémien	vivarium
SG ₁ à SG ₅	Gastrocnémien	synchrone
D ₁ à D ₅	Diaphragme	vol
D ₆ à D ₁₀	Diaphragme	vivarium
SD ₁ à SD ₅	Diaphragme	synchrone

Table 3 : Nomenclature des biopsies du vol 1514

L'alternance nuit-jour (12 heures - 12 heures), la température, la nourriture et l'eau ad libitum étaient communs à tous les groupes. Les animaux ont été décapités aux dates inscrites dans la table 2. Les muscles ont été prélevés et pesés puis une biopsie de chacun d'eux a été traitée selon le protocole fourni (voir fibre pelée).

2. Biocosmos 1667 (juillet 1985)

Des lots de 7 rats mâles (souche WISTAR) pesant 300 g ont été constitués. La durée du vol était de 7 jours. La table 2 donne les dates des prélèvements. En raison du nombre considérable de prélèvements à faire sur le terrain d'atterrissage et du temps nécessaire à l'application des méthodes de conservation spécifiées par chacun des participants impliqués dans le programme, l'expérience synchrone a été réalisée un mois plus tard. De plus, cette façon de procéder permettait de reproduire fidèlement toutes les conditions du vol. Les abréviations PL, GL, Sol et Dia ont été utilisées pour désigner respectivement les muscles plantaris,

gastrocnémien latéral, soleus et diaphragme. A cette abréviation, un numéro correspondant à l'animal a été associé :

F ₁	à	F ₇	animaux vol (F)
V ₉	à	V ₁₅	animaux vivarium
S ₁₇	à	S ₂₃	animaux synchrone (S)

3. Biocosmos 1887 (septembre 1987)

Trois lots de 10 rats mâles (souche WISTAR) pesant 300 g ont été constitués selon la classification désormais classique : Vol, Synchrone et Vivarium. Le vol spatial avait une durée programmée de 13 jours. Cependant, à cause d'un incident survenu au moment de la rentrée du biosatellite dans l'atmosphère, la récupération des animaux n'a pu être effectuée que 2 jours après l'atterrissage (voir table 2). Toutes les circonstances du vol ont été prises en considération dans la programmation de l'expérience synchrone : conditions de vie et de nourriture, baisse progressive de température jusqu'à 12°C pendant les 48 heures suivant l'atterrissage et précédant la récupération des animaux.

La nomenclature utilisée était la suivante : les abréviations BC, F, S et V ont été utilisées pour respectivement les lots d'animaux Basic Control, Vol, Synchrone et Vivarium. A cette abréviation étaient associés le muscle et le numéro de l'animal.

Sol ₁	à	Sol ₅	muscle soleus
Pl ₁	à	Pl ₅	muscle plantaris
GL ₁	à	GL ₅	muscle gastrocnémien latéral
Dia ₁	à	Dia ₅	muscle diaphragme

B - CHOIX DES MUSCLES - CARACTERISTIQUES

Comme nous l'avons vu précédemment, les muscles n'ont pas tous les mêmes fonctions, composition et caractéristiques contractiles. Les quatre muscles présentés ci-dessous ont été prélevés lors de chacun des biocosmos à l'exception du soleus que nous n'avons pas obtenu lors du biocosmos 1514.

1. plantaris

Le plantaris est un muscle fléchisseur de la patte postérieure. Il se situe sous le gastrocnémien et au-dessus du soleus (figure 8). Il s'agit d'un muscle répertorié parmi les muscles rapides. Il est, en effet, constitué de 50 % de fibres de type FOG (Fast Oxydative Glycolytic), 41 % de type FO (Fast Oxydative) et seulement 9 % de type SO (Slow Oxydative) (ARMSTRONG et PHELPS, 1984). Il a été choisi pour ses caractéristiques rapides et parce qu'il n'est pas impliqué dans une fonction de maintien de la posture.

2. gastrocnémien

Le gastrocnémien est un muscle extenseur, situé dans la patte postérieure. Il est considéré comme un muscle à dominante rapide à fonction antigravitaire. Il s'agit d'une grosse masse musculaire divisée structurellement en trois chefs, l'un médian, les autres latéraux (figure 8). Histologiquement, il s'agit d'un muscle essentiellement de type rapide mais plus hétérogène que le plantaris. On distingue généralement 3 zones de typages différents : la partie blanche contient 16 % de FOG, 84 % de FG et 0 % de SO ; la partie rouge, 62 % de FOG, 8 % de FG et 30 % de SO et la partie mixte 28 % de FOG, 65 % de FG et 7 % de SO (ARMSTRONG et PHELPS, 1984). La partie latérale, qui a servi à nos études a été prélevée dans la partie blanche.

3. soleus

Le soleus est un muscle extenseur de la cheville. Il se situe sous le gastrocnémien et sous le plantaris (figure 8). Son typage

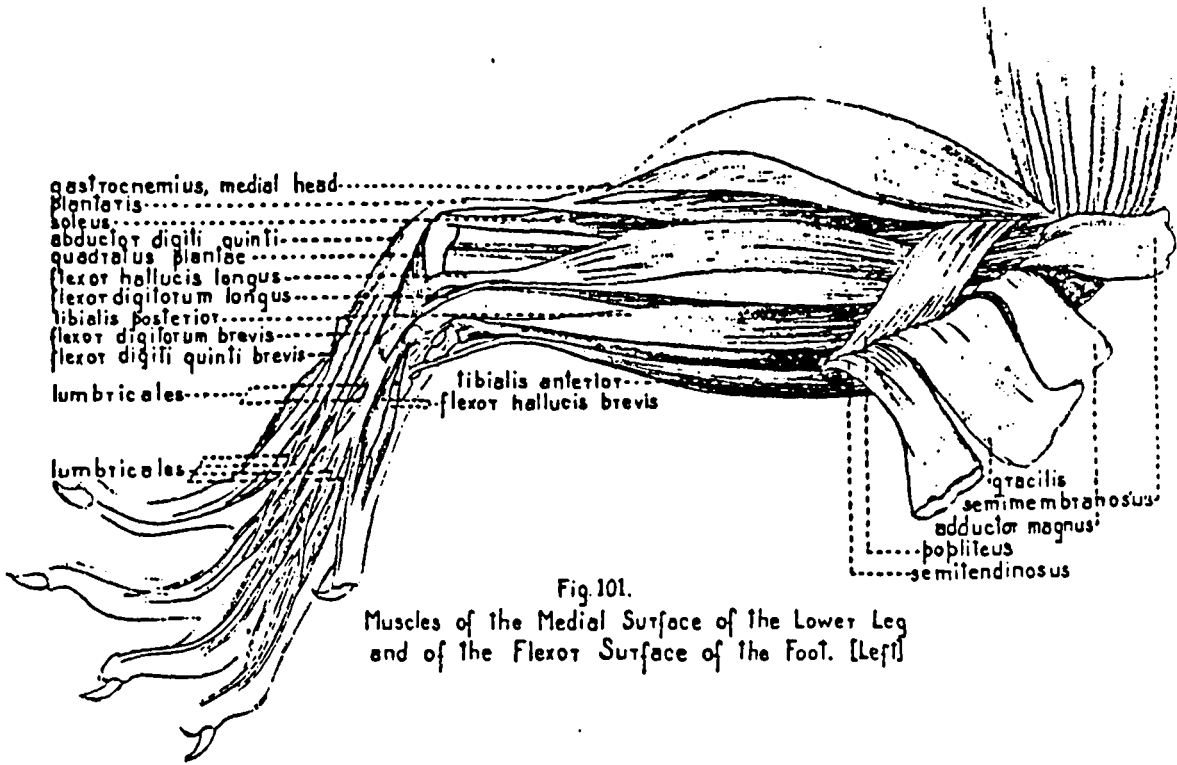


Fig.101.
Muscles of the Medial Surface of the Lower Leg
and of the Flexor Surface of the Foot. [Left]

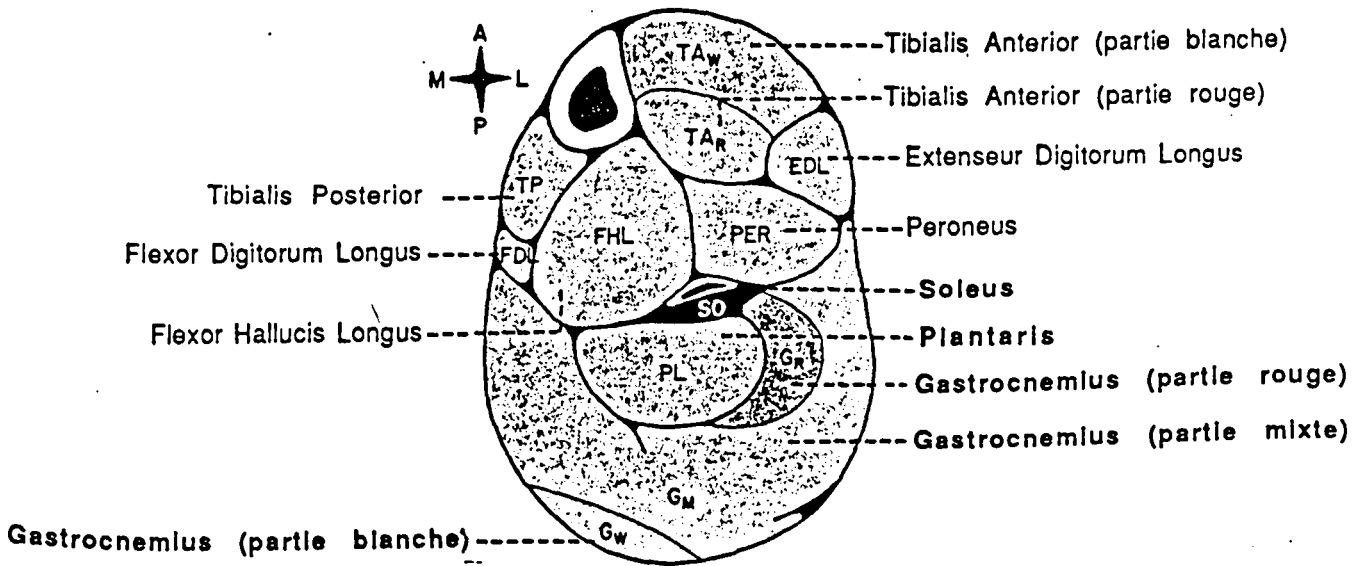


Figure 8 : Anatomie de la patte postérieure du rat.
Partie supérieure, écorché de la patte selon GREEN, (1968).
Partie inférieure, coupe transversale de la même partie
selon ARMSTRONG et PHELPS,(1984).

histologique montre qu'il est composé en grande majorité de fibres lentes. Selon ARMSTRONG et PHELPS (1984), il est constitué de 13 % de FOG, 0 % de FG et 87 % de SO. Il s'agit d'un muscle impliqué dans la fonction de maintien de la posture.

4. diaphragme

Le diaphragme est un muscle strié intervenant dans les processus respiratoires. Il a été choisi car il s'agit d'un muscle strié qui n'est pas impliqué dans la locomotion et dont l'activité est supposée identique en condition de microgravité. Son étude devrait apporter des éléments de réponse à la question de l'origine des effets observés après les vols spatiaux. En effet, on peut déjà se demander si des modifications apparaîtront sur tous les muscles, ou bien seulement sur des muscles participant à une fonction précise. Cependant nos études sur le diaphragme ont été restreintes en raison de la difficulté d'isoler, sans la léser, une fibre musculaire. En effet, un tissu conjonctif particulièrement dense empêche une dissection aisée des fibres.

II - FIBRES PELEES

A - DONNEES THEORIQUES

Le principe de "pelage" d'une fibre musculaire consiste à rendre accessible la machinerie contractile (protéines et réticulum sarcoplasmique) à toutes les substances. Pour cela, il est nécessaire soit d'enlever la membrane soit de la rendre hyperperméable. Dès lors, l'expérimentateur aura directement accès au système contractile et à son environnement puisqu'il n'y aura plus de compartiment extracellulaire ou intracellulaire, mais un seul dont la composition pourra être imposée et modifiée selon les besoins des expériences. Les techniques de fibres pelées sont aujourd'hui largement utilisées lors des études sur les mécanismes de la contraction (MOISESCU et THIELECZEK, 1979 ; BRANDT et

coll., 1980, 1982, 1985 ; STEPHENSON et WILLIAMS, 1981, 1985), sur le fonctionnement du réticulum sarcoplasmique et sur le couplage excitation-contraction (DONALDSON, 1985 ; SALVIATI et coll., 1982 ; FILL et BEST, 1988). On peut dissocier deux types de pelage (voir pour revue STEPHENSON, 1981).

1. Le pelage mécanique

Le premier à effectuer ce type de préparation fut NATORI en 1954. Il fit baigner des fibres musculaires de grenouille dans un bain d'huile de paraffine et put ôter quelques fragments de sarcolemme. Ce pelage s'utilise généralement sur des fibres de gros diamètre et consiste soit à enlever le sarcolemme avec des pinces ("skinned fiber", type NATORI, 1954) soit à fendre la fibre de part et d'autre ("split fiber", type ENDO, 1973). De nombreux auteurs ont repris et amélioré la technique de pelage mécanique (COSTANTIN et PODOLSKI, 1967 ; REUBEN et coll., 1971 ; ENDO et NAKAJIMA, 1973 ; STEPHENSON et PODOLSKI, 1977 ; GOBLET et MOUNIER, 1986).

2. Le pelage chimique

Il s'utilise essentiellement pour des fibres de petit diamètre sur lesquelles il est plus difficile d'utiliser le pelage mécanique. De plus, il permet de traiter une biopsie complète. Par cette technique, il s'agit de rendre la membrane sarcolemmique hyperperméable au moyen d'agents chimiques. La plus ancienne façon de procéder était de laisser les fibres à basse température dans une solution contenant du glycérol ("fibres glycérolées", SZENT-GYORGY, 1949). Mais la technique la plus répandue actuellement utilise des chélateurs calciques tels que l'EGTA (Ethylene Glycol bis (amino ethyl ether) N-N' tetraacetic Acid), ou l'EDTA (ethylene Diamine Tetraacetic Acid). Elle est utilisée sur muscle squelettique de vertébrés (NATORI, 1954, 1975 ; WOOD et coll., 1975, 1978 ; REUBEN et coll., 1977 ; SORENSON, 1980 ; STEPHENSON et WILLIAMS, 1982 ; MOUNIER et GOBLET, 1983 ; GOBLET et coll., 1984), sur fibre squelettique de Crustacés (REUBEN et coll., 1971) enfin sur les fibres cardiaques (WINEGRAD, 1971 ;

FABIATO et FABIATO, 1972). Récemment un traitement utilisant la saponine, glycoside végétal, a été utilisé sur les fibres musculaires lisses pour lesquelles EDTA et EGTA sont peu efficaces (ENDO et coll., 1982 ; SAIDA, 1982). En effet, la saponine solubilise le cholestérol ce qui permet de perméabiliser le sarcolemme qui contient du cholestérol et de laisser intact le RS qui n'en contient pratiquement pas. Cette substance, de même que le TRITON X 100, a été également utilisée sur le muscle cardiaque (WENDT et STEPHENSON, 1983 ; VENTURA et coll., 1987).

B - TECHNIQUE UTILISEE

Pour des raisons de contrainte technique sur l'aire d'atterrissage, nous avons fourni aux Soviétiques un protocole de pelage chimique à l'EGTA légèrement simplifié par rapport à la technique classique initiale décrite par WOOD et coll. (1975). Nous avons préalablement contrôlé sur des animaux témoins que la simplification apportée (suppression d'une étape de 24 heures de changement de la solution R) ne modifiait pas la qualité du pelage ni les caractéristiques physiologiques des fibres.

Les animaux sont sacrifiés par décapitation, les muscles prélevés et pesés. Les biopsies sont placées à 0°C dans la solution R (Relaxante) de pelage dont la composition sera donnée dans le paragraphe "solutions". Après un temps de 4 à 8 heures, la solution R est remplacée trois fois par une solution R fraîche et les biopsies sont replacées à 0°C. 48 heures après la dissection, les biopsies sont transférées dans un mélange R/glycérol (50 %, vol/vol). Ce mélange permet de maintenir les biopsies à - 20°C et de prolonger ainsi le temps de conservation à plusieurs mois (WOOD et coll., 1975). C'est dans ce mélange que les biopsies ont été convoyées vers la France dans des caissons isothermes.

1. Isolement et montage de la fibre

Une biopsie est, comme nous l'avons déjà dit, un ensemble d'une centaine de fibres. En tenant compte des pertes occasionnées par la dissection d'une fibre, il reste néanmoins possible d'en

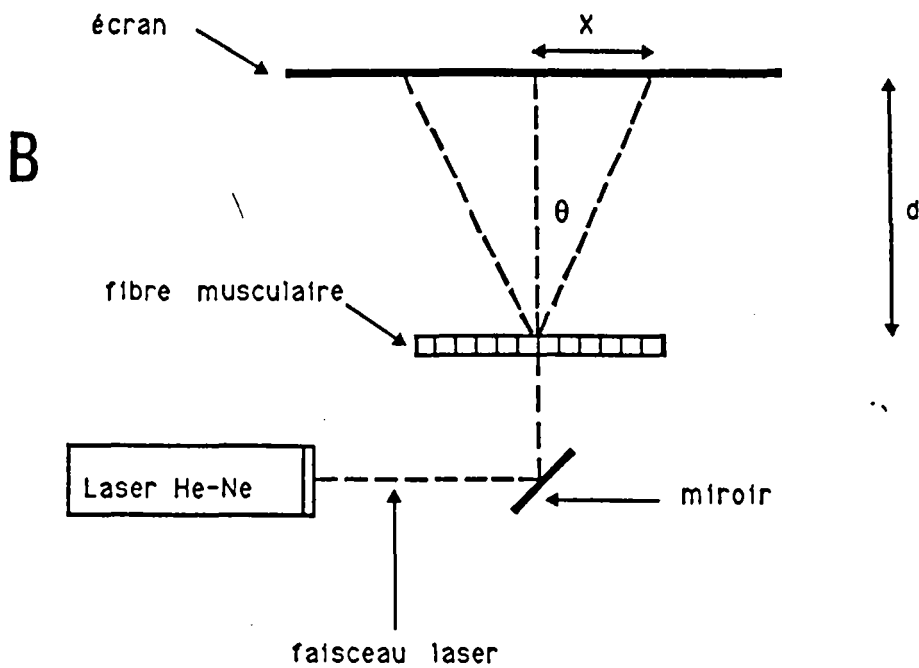
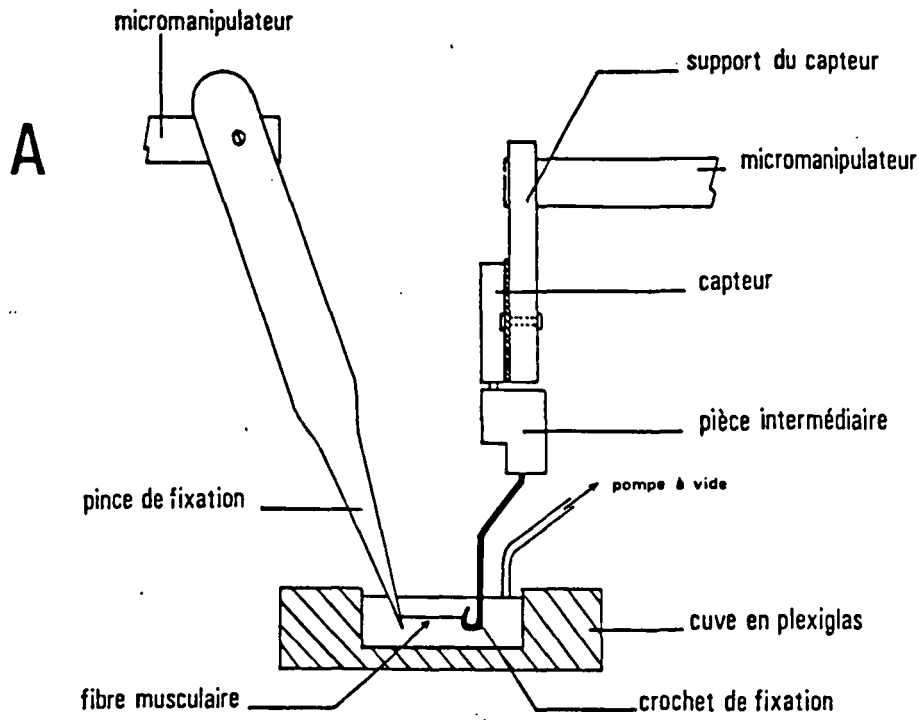


Figure 9 : Représentation schématique du dispositif de montage d'une fibre musculaire. (A). Principe de la mesure de la longueur des sarcomères (B).

utiliser un grand nombre et de réaliser un nombre important d'expériences. Afin de limiter les chocs thermiques dûs au transfert de la biopsie de la zone de stockage (-20°C) au lieu de dissection (température ambiante), on choisit de prélever chaque semaine un ensemble d'une trentaine de fibres de la biopsie principale qualifiée de primaire. Cet ensemble de fibres, ou biopsie secondaire, est transféré dans une boîte de pétri contenant également la solution de stockage. La biopsie primaire est replacée dans le congélateur d'où elle ne sera sortie que pour le prélèvement d'une nouveau faisceau. La fibre est isolée à partir de la biopsie secondaire, à l'aide de fines pinces sous loupe binoculaire. La fibre isolée est ensuite placée dans une coupelle remplie de solution R et le pétri contenant la biopsie secondaire est replacé à -20°C. A chaque extrémité de la fibre, on noue un fil de suture de soie noire tressée (ETHICON, Ethnor S.A., Paris). La fibre est ensuite transférée dans la cuve expérimentale contenant de la solution R. L'une des extrémités est maintenue par l'intermédiaire du fil de suture par une pince. L'autre extrémité est fixée à une tige reliée au capteur (figure 9,A). Un étirement de 20 % est appliqué à la fibre. Cet étirement de 20 % à partir de la longueur de repos a été ensuite vérifié par diffraction d'un rayon laser He-Ne. La longueur de sarcomère était toujours égale à 2,6 μm . On peut en effet assimiler un sarcomère à une fenêtre de diffraction et par simple calcul à partir des lignes de diffraction de 1er ordre en déterminer la longueur.

L'équation permettant le calcul est la suivante :

$$S = \lambda / \sin \theta \quad \text{dans laquelle :}$$

- S est la fenêtre de diffraction (soit la longueur de sarcomère),
- λ est la longueur d'onde du laser ($\lambda = 632 \text{ nm}$)
- θ l'angle de diffraction.

A l'aide des formules trigonométriques, l'équation devient :

$$S = \lambda (X^2 + d^2)^{0.5} / X,$$

X étant la distance entre le centre et la première bande de diffraction, d étant la distance entre la fibre et la plaque sur

laquelle est projeté le faisceau laser après avoir traversé la fibre musculaire (figure 9,B).

2. Enregistrements

La tension développée par la fibre musculaire est enregistrée à l'aide d'un capteur de force BG 10 (KULITE semiconductor Products, Inc. Ridgefield, NJ, USA) composé de 4 jauges de contrainte. Ces jauges sont utilisées comme résistances variables dans un pont de wheastone. Le pont est alimenté et la tension de sortie, filtrée et amplifiée, reflète la force développée par la fibre. Les tracés sont enregistrés sur un enregistreur GOULD 2200 (GOULD, Longjumeau, France). Le système est étalonné et la relation entre la déflexion électrique et la force imposée est linéaire jusqu'à 4 g, la sensibilité est égale à 0,70 V/g.

Les valeurs des données seront exprimées dans toute notre étude sous la forme de la moyenne $\bar{x} \pm \sigma / \sqrt{n}$. L'analyse statistique entre les animaux témoins et vol sera réalisée à l'aide du test *t* de student.

3. Solutions

Tous les produits chimiques entrant dans la composition des solutions ont une très grande pureté (Reagent grade). Ils proviennent de SIGMA Chemical (St Louis, MO, USA) exceptée la caféine (MERCK, Darmstadt, RFA).

Toutes les solutions ont un pH ajusté à pH 7.00 ± 0.02 à l'aide soit de la potasse (KOH 1N, 0.1 N) soit de l'acide propionique (1N, 0.1N) et une force ionique égale à 0,2 M.

La solution mère d'adénosine triphosphate (ATP, 200 mM) est stockée à -20° C. Au début d'une journée d'expériences, un tube de solution mère est décongelé et l'ATP est ajouté dans chaque solution en quantité telle que la concentration soit 2.5 mM. Les solutions qui seront décrites ci-dessous contiennent donc toutes de l'ATP (2,5 mM).

Solution de pelage : 170 mM propionate de potassium, 2.5 mM acétate de magnésium, 5 mM K₂EGTA, 10 MOPS (3 morpholino propane sulfonic acid).

Solution de conservation : 50 % de solution de pelage et 50 % de glycérol (volume/volume).

Solution relaxante, R : identique à la solution de pelage.

Solution de lavage, W : 185 mM de propionate de potassium, 2.5 mM d'acétate de magnésium, 10 mM de MOPS.

Solution caféinique : on obtient les solutions de différentes concentrations de caféine (de 0.312 mM à 10 mM) en dissolvant la caféine solide dans la solution de lavage. Le pH est contrôlé.

Solutions pCa : Les solutions calciques dites pCa ($pCa = -\log [Ca^{2+}]$) sont confectionnées avec les mêmes composants que ceux entrant dans la solution de lavage. L'apport calcique est réalisé grâce au CaEGTA. La concentration totale d'EGTA est constante et égale à 5 mM par ajout de K₂EGTA. Les diverses concentrations sont données dans la table 4 et calculées à l'aide d'un programme informatique (FABIATO et FABIATO, 1979) avec les constantes d'association d'ORENTELICHER et coll. (1977) : $K_{CaEGTA} = 1.919 \cdot 10^6 M^{-1}$; $K_{CaATP} = 5.0 \cdot 10^3 M^{-1}$; $K_{MgEGTA} = 40 M^{-1}$ et $K_{MgATP} = 1.0 \cdot 10^4 M^{-1}$. Les valeurs alors calculées de pMg, pATP et pMgATP sont respectivement égales à 3.4, 3.3 et 2.7 quelle que soit la valeur de pCa.

	K Prop. (mM)	MOPS (mM)	Mg AC ₂ (mM)	K ₂ -EGTA (mM)	Ca-EGTA (mM)
pCa 7.0	172	10	2.46	4.20	0.80
6.8	172	10	2.46	3.85	1.15
6.6	172	10	2.44	3.40	1.60
6.4	172	10	2.44	2.85	2.15
6.2	172	10	2.44	2.28	2.72
6.0	172	10	2.42	1.73	3.27
5.8	172	10	2.42	1.25	3.75
5.6	172	10	2.40	0.86	4.14
5.4	172	10	2.40	0.57	4.43
5.2	172	10	2.40	0.36	4.64
5.0	172	10	2.40	0.22	4.78
4.8	172	10	2.40	0.11	4.89

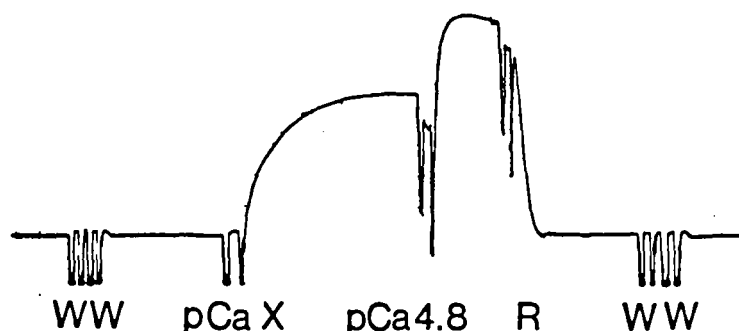
Table 4 : Valeurs de la concentration de chaque constituant composant les solutions pCa.

4. Protocole expérimental

a) protocole

La relation entre la tension développée et la concentration calcique utilisée est appelée relation tension/pCa ou encore T/pCa où T est la tension relative (en % de la tension maximale) et où pCa ($pCa = -\log([Ca^{++}])$) indique la concentration calcique. Après avoir lavé 2 fois la fibre par une solution W, une contraction est induite par une solution pCa donnée. La valeur de la contraction (P) est exprimée en mg grâce à l'étalonnage du capteur réalisé au préalable. De façon à comparer les résultats obtenus sur des fibres différentes, cette tension est normalisée par rapport à la tension maximale (Po) que peut développer la fibre. La tension Po est induite par une solution de forte concentration calcique (pCa 4.8). Après chaque contraction la fibre est relâchée grâce à la solution de relaxation R et un nouveau cycle avec une autre nouvelle solution de concentration calcique X peut débuter. Le schéma ci-dessous récapitule l'enchaînement des opérations (les déflexions

verticales transitoires correspondent à des artéfacts de changement de solution).



b) analyse des résultats

Toutes les expériences ont été réalisées dans une pièce thermostatée à $17 \pm 1^\circ\text{C}$. La fibre musculaire est installée dans la cuve expérimentale. Si les expériences portent sur les protéines contractiles la fibre est laissée 20 minutes dans une solution R + BRIJ 58 (2%) de façon à détruire le réticulum sarcoplasmique et ne laisser que les protéines contractiles. La fibre est ensuite lavée 10 fois dans une solution W. Nous avons vérifié que le traitement au BRIJ n'affecte pas les propriétés des protéines contractiles. Lorsque les différentes concentrations calciques ont été appliquées à la fibre et que les tensions sont normalisées, on utilise la relation dite de Hill pour ajuster la courbe à partir des points expérimentaux (BRANDT et coll., 1980, 1982, 1985 ; STEPHENSON et WILLIAMS, 1982, 1985 ; STIENEN et BLANGE, 1985). L'équation de Hill est donnée page 36.

Elle peut être linéarisée sous la forme :

$$\begin{aligned} \log \left(\frac{\text{Pr}}{1-\text{Pr}} \right) &= -\log K^n - \log C^n \\ &= -\log K^n - n \cdot \text{pCa} \end{aligned}$$

où Pr est la tension relative, égale à P/P_0 .

Grâce à une méthode de régression linéaire, on peut alors extrapoler les valeurs de K et n pour chaque relation T/pCa et ajuster ensuite la courbe selon les points théoriques calculés. Chaque phase de calcul a été réalisée à l'aide de programmes informatiques écrits pour un Apple II.

Deux coefficients de Hill peuvent être alors calculés (BRANDT et coll., 1982) : n_1 pour les valeurs de tension supérieures à 50 % et n_2 pour les valeurs de tension inférieures à 50 % de P_0 . Cette méthode permet d'obtenir un meilleur ajustement de l'équation théorique aux points expérimentaux.

III - ELECTROPHORESES

Nous avons vu dans le paragraphe historique que la myosine pouvait présenter diverses formes avec des propriétés différentes mais appartenant à la même famille moléculaire. Ces isoenzymes peuvent être séparés par électrophorèse sous leur forme native hexamérique (électrophorèse non dénaturante) ou sous une forme dissociée en 6 monomères (électrophorèse dénaturante) grâce au SDS.

A - ELECTROPHORESE NON DENATURANTE : P.A.G.E.¹

Il s'agit d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide T = 4 % (p/v) et C = 3 % (p/p) selon la technique de MARECHAL et coll., (1984).

¹ P.A.G.E. : Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

1. Milieux

- milieu d'extraction ou GUBA-STRAUB

NaCl	0.3 M
NaH ₂ PO ₄	0.1 M
Na ₂ HPO ₄	0.05 M
MgCl ₂	1 mM
Na ₄ P ₂ O ₇	10 mM
NaN ₃	0.1 %

Le pH est ajusté à 6.5 par NaOH et on ajoute au moment de l'emploi 10 µl de β mercapto éthanol pour 10 ml du milieu d'extraction.

- tampon de gel

Na₄P₂O₇ 0.1 M ajusté à pH 8.5 par HCl

- tampon d'échantillon

Na₄P₂O₇ 0.04 M ajusté à pH 8.5 par HCl puis additionné de glycérol à volume égal. Au moment de l'emploi on ajoute du β mercapto éthanol (10 µl pour 10 ml) et une pointe de bleu de Bromophénol.

- tampon de cuve

Na₄P₂O₇ 20 mM
 EDTA 1 mM ajusté à pH 8.6 par HCl
 Glycérol 10 % (p/v)
 β mercapto éthanol 0.01 %

2. Extrait brut de myosine

Les biopsies sont extraites de leur milieu de conservation, séchées rapidement puis pesées. Elles sont broyées dans un volume équivalent (en µl) à 8 fois leur poids (en mg) dans le tampon d'extraction (GUBA-STRAUB). Le broyat est laissé sous agitation pendant 20 min à 4°C puis centrifugé à la même température à 20

000 t/min pendant 10 mn. Le surnageant est récupéré et additionné d'un volume équivalent de glycérol. L'extrait de myosine peut alors être conservé pendant plusieurs mois à la température de -20°C .

3. Préparation du gel

Le gel est préparé de la façon suivante pour un volume final de 100 ml.

Acrylamide	3.88 g	
Bis acrylamide	0.12 g	
tampon gel	20 ml	
glycérol	10 ml	
TEMED	200 μl	qsp 100 ml.

On ajuste le pH à 8.5 par HCl. La solution est déaérée quelques minutes et on ajoute au moment du coulage du gel 100 μl d'une solution de persulfate à 12.5 % fraîchement préparée. On agite légèrement et on coule rapidement le gel dans des tubes de 7.5 cm de long et d'un diamètre intérieur de 5 mm. On laisse polymériser à température ambiante pendant 2 heures après avoir déposé 20 μl d'eau distillée en haut de chaque tube.

4. Electrophorèse

Une cuve PHARMACIA GE 2/4 préparée pour tube est utilisée. Le tampon de cuve est réfrigéré à 3°C et recircule de la partie inférieure vers la partie supérieure. Les tubes sont placés dans les logements prévus à cet effet et seront réfrigérés par le tampon de cuve.

Avant de déposer les extraits, on réalise une préélectrophorèse à 50 V constant pendant 30 minutes de manière à éliminer les traces de persulfate.

La dilution des échantillons s'effectue de la façon suivante :

- 20 μl de l'extrait à analyser
- 20 μl du témoin interne (= myosine du muscle lisse)
- 60 μl du tampon d'échantillon.

Après un dépôt de 10, 20 et 40 μ l, l'électrophorèse est réalisée à voltage constant de 50 V pendant 30 minutes puis 84 V pendant 19 h 30.

5. coloration-décoloration

Les gels sont démoulés et placés dans des tubes remplis d'une solution de coloration diluée 10 fois :

Bleu de COOMASSIE	500 g
Méthanol	200 ml
Acide Acétique	700 ml
H ₂ O	100 ml

La coloration est réalisée à 65° pendant 20 min puis les gels sont décolorés pendant une nuit dans une solution d'acide acétique à 7%.

6. Lecture des gels

Selon la technique de MARECHAL et coll., (1984) nous avons systématiquement introduit dans nos dépôts de la myosine de muscle lisse (colon de Hamster). La myosine de muscle lisse migre plus rapidement que celle des muscles squelettiques et servira de référence 100%, la référence 0% étant au niveau du dépôt. Il est alors possible d'attribuer à chaque bande un pourcentage de migration. La mobilité relative des différentes bandes constitue le paramètre permettant l'identification des protéines. La lecture a été effectuée au Laboratoire de Physiologie Générale chez Monsieur le Professeur MARECHAL à LOUVAIN. Elle a été réalisée sur un appareil de conception "maison" permettant une analyse densitométrique à $\lambda = 546$ nm. A chaque myosine correspond un pic de coloration. La somme de tous les pics donne la quantité totale de myosine (en unités arbitraires). La proportion de chaque myosine est égale à l'intensité du pic rapportée à la quantité totale de myosine.

B - ELECTROPHORESE DENATURANTE : SDS PAGE¹

Il s'agit d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide destinée à séparer les chaînes légères de la myosine. La concentration de polyacrylamide généralement utilisée varie de 12 à 18% selon les auteurs. Nous avons choisi une concentration élevée de 18% de manière à mieux dissocier les protéines de très faible masse moléculaire.

1. Préparation des plaques

Les plaques sont soigneusement lavées puis rincées. Sur l'une d'elles on fait adhérer une plaque "Gel bond" (LKB) qui servira de support au gel au moment du démoulage. Les deux plaques sont ajustées et assujetties au moyen de pinces à dessin. L'espace correspondant à l'épaisseur du gel est réalisé grâce à un joint d'1 mm d'épaisseur.

2. Préparation du gel

a) *gel de concentration*

Acrylamide	} T = 4 %, C = 3 %
Bisacrylamide	
Tris / HCl	0.125 M
SDS	0.1 %
TEMED	0.1 %
Glycérol	10 %

¹Sodium Dodecyl Sulphate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis

Le pH est ajusté à 6,8 par HCl. La solution est déaérée et on ajoute 100 µl d'une solution de persulfate à 12,5 % pour 100 ml de gel.

b) gel de séparation

Acrylamide	} T = 18 %, C = 3 %
Bis Acrylamide	
Tris/H Cl	0.375 M
SDS	0.1 %
TEMED	0.1 %
Glycérol	10 %

Le pH est ajusté à 8,8 par HCl, la solution est dégazée puis 100 µl d'une solution de persulfate à 12,5 % est ajoutée dans 100 ml de gel.

3. Tampon cuve

Il s'agit d'un tampon Tris/glycine pH 8.3

Tris	50 mM
Glycine	0.384 M
SDS	0.1 %
Glycérol	10 %

4. Dilution des échantillons

Les échantillons sont les mêmes que pour l'électrophorèse non dissociante. Ils sont repris dans le tampon de dilution et placés à 70° C pendant 10 min.

Tris/HCl	62.5 mM
SDS	2.3 %
Glycérol	10 %
β mercapto éthanol	0.1%
bleu de bromophénol,	quantité suffisante
	pour obtenir une
	coloration bleue.

5. Electrophorèse

Il s'agit d'une électrophorèse horizontale sur un système MULTIPHORE II (LKB) réfrigéré à 3° C. Les dépôts sont de 15 µl. La migration est réalisée à 20 mA constant pendant 6 heures.

6. Coloration

a) coloration au coomassie :

Il s'agit d'une coloration au bleu de coomassie selon STEPHANO et coll. (1986). La fixation à l'acide picrique permet d'obtenir une coloration rapide (1 à 2 h), sensible et avec un bruit de fond extrêmement faible après décoloration.

Toutes les étapes se font sous agitation :

- lavage : trois fois 10 minutes par une solution Méthanol/Acide acétique (45 %/10 %)
- coloration : une nuit dans la solution préparée de la façon suivante :

800 ml d'une solution d'Acide picrique 0.1 M pH 7.00 (par NaOH) + 200 ml d'une solution de bleu de coomassie 0.2 % (30 ml Methanol, 20 ml d'Acide Acétique, 90 ml H₂O).

- décoloration : dans une solution d'Acide Acétique 10 %
- conservation : 9 min dans une solution de décoloration/glycérol 5 %
- séchage, à température ambiante.

b) coloration à l'argent :

La coloration à l'argent est généralement réalisée après une coloration au coomassie lorsque celle-ci n'est pas suffisante. Dans ce cas, le milieu de conservation et le séchage ne sont pas appliqués.

Il s'agit d'une coloration à l'Argent selon ANSORGUE (1982) dont les avantages sont la rapidité de la technique et un fond de gel faible.

- laisser la nuit dans une solution
 - 30 % Ethanol
 - 10 % Acide Acétique
- incubation des gels 20 minutes dans la solution
 - 50 % éthanol
 - 12 % Acide Acétique
 - 2 % CuCl_2
- rinçage 10 minutes dans la solution A
 - 10 % Ethanol
 - 5 % Acide Acétique
- rinçage 10 min dans une solution 0.01 % KMnO_4
- lavage 10 min dans la solution A
- lavage 10 min dans H_2O
- incubation 10 min dans AgNO_3 0.1 %
- lavage 2 fois 30 secondes dans H_2O
- lavage 1 min dans K_2CO_3 10 %
- lavage rapide dans H_2O
- révélation dans une solution K_2CO_3 2 % + 0.05 %
formaldéhyde 37 %
- lavage dans H_2O
- fixation 15 min dans la solution A.
- séchage après un lavage d'une nuit dans une solution de glycérol 25%. Le gel est protégé par un film en cellulose.

RESULTATS

CHAPITRE 1

EXPERIENCES TEMOINS :

COMPARAISON MUSCLE LENT - MUSCLE RAPIDE

Comme nous l'avons décrit dans le paragraphe d'introduction, les muscles squelettiques ne possèdent pas tous les mêmes caractéristiques biochimiques et n'assurent pas tous la même fonction. Par conséquent ils n'ont pas les mêmes comportements contractiles et sont susceptibles de répondre différemment aux conditions de microgravité.

C'est pourquoi un premier chapitre a été consacré, sur des animaux contrôlés, à l'analyse de deux muscles représentatifs de l'une et l'autre des catégories musculaires. Les muscles lents seront représentés par le soleus, composé en majorité de fibre de type I selon la classification histochimique de BROOKE et KAISER (1969), et les muscles rapides par le plantaris, composé dans sa grande majorité par des fibres de type II A et II B.

I - ETUDE DES PROPRIETES CONTRACTILES

1. Tension isométrique maximale

Les tensions maximales sont obtenues par l'application d'une solution calcique tamponnée à pCa 4.8 par l'EGTA. A cette concentration, tous les sites calciques de la troponine C sont occupés et par conséquent le nombre de ponts formés entre l'actine et les têtes de myosine est maximal. Les tensions maximales absolues sont égales à 52.31 ± 0.47 mg (n = 40) pour les fibres musculaires de soleus et à 63.03 ± 3.14 mg (n = 20) pour les fibres de plantaris. Le test de Student montre que la variation est significativement différente à 0.1 %. Il apparaît donc que les fibres de type rapide développent une tension plus forte que celles de type lent.

Cependant, il est connu que la force musculaire dépend du diamètre des fibres. L'analyse des mesures des diamètres montre que les fibres de muscle lent sont significativement plus grosses

que celles du muscle rapide étudié : $78.56 \pm 2.49 \mu\text{m}$ ($n = 40$) pour le soleus et $68.75 \pm 1.97 \mu\text{m}$ ($n = 20$) pour le plantaris. Afin de comparer les tensions isométriques maximales par unité de section pour chaque type de fibre, la tension absolue (exprimée en kg) a alors été ramenée à l'unité de section de la fibre (exprimée en cm^2). Les valeurs moyennes des tensions sont respectivement égales à $1.12 \pm 0.06 \text{ kg.cm}^{-2}$ et à $1.72 \pm 0.08 \text{ kg.cm}^{-2}$ pour les fibres de soleus et de plantaris ($p < 0.001$), c'est-à-dire qu'à taille identique une fibre rapide développe une tension plus forte qu'une fibre lente.

Toutes les fibres utilisées pour cette étude ont été traitées au BRIJ. Une expérience de contrôle visant à vérifier que le traitement au BRIJ n'altérerait pas les propriétés contractiles de la fibre a donc été réalisée. Nos résultats ont montré que les tensions maximales n'étaient pas modifiées après un traitement au BRIJ ni dans leur amplitude ni dans leur vitesse de développement.

2. Sensibilité calcique des protéines contractiles

La sensibilité des protéines contractiles pour le calcium peut être contrôlée par la relation liant l'amplitude de la contraction à la concentration calcique utilisée pour induire cette contraction (relation tension/pCa). La figure 10 présente les tracés d'enregistrements obtenus sur le soleus (partie A) et le plantaris (partie B) pour 3 concentrations calciques différentes. La seconde contraction observée sur chaque tracé correspond à une tension maximale P_0 (pCa 4.8) permettant d'évaluer la tension relative pour chaque contraction testée.

A partir de ces enregistrements, nous remarquons qu'une concentration calcique égale à pCa 6.4 permet d'induire une faible tension sur les fibres de soleus alors qu'elle est insuffisante dans le cas des fibres de plantaris. Cependant, à pCa 6.0, la tension obtenue sur le plantaris est supérieure à 50 % de la tension maximale ce qui n'est pas le cas pour le soleus. Ceci veut dire qu'une même variation de concentration ne produit pas les mêmes différences de tension sur le soleus et sur le plantaris. En outre, on

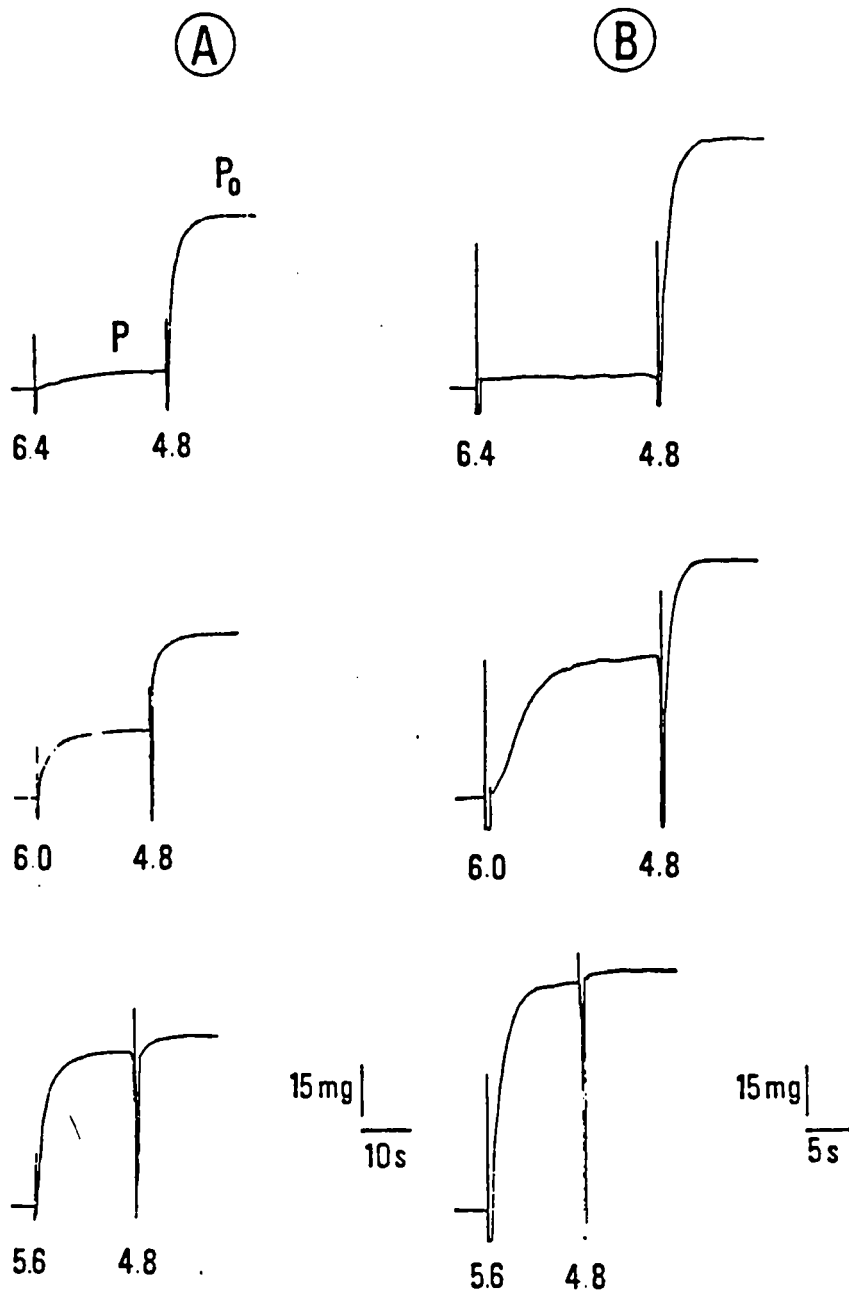


Figure 10 : Enregistrements des tensions obtenues à partir du muscle soleus (A) et du muscle plantaris (B). Les contractions sont induites par une solution calcique dont la concentration est exprimée en unité pCa au début de chaque enregistrement. Dimensions des fibres en μm (longueur, diamètre, longueur de sarcomère) : soleus (900, 70, 2.60) et plantaris (900, 65, 2.60).

peut noter que les cinétiques de mises sous tension sont différentes. En effet, le temps nécessaire pour atteindre l'état stable de la contraction est plus court dans le cas du plantaris que dans le celui du soleus. Nous reviendrons ensuite sur ces analyses de cinétiques de mise sous tension.

La figure 11A présente les relations T/pCa obtenues pour les deux muscles. La tension P est exprimée en pourcentage de la valeur de la tension maximale P_0 . Cette tension maximale est induite par une solution de concentration calcique égale à pCa 4.8. Ce type de courbe sigmoïde a souvent été décrit par la relation de Hill et utilisé comme tel ou légèrement modifié par de nombreux auteurs (voir matériel et méthodes). Dans cette relation la pente de la courbe est décrite par le coefficient de Hill (n_H) et la position de la courbe le long de l'axe des abscisses par la valeur de pK (où K est la constante de dissociation) correspondant à la pCa₅₀, c'est-à-dire la concentration calcique, exprimée en unité pCa, nécessaire pour induire 50 % de la tension maximale. Une meilleure estimation de la pente peut être obtenue en calculant deux coefficients : l'un pour des valeurs de tensions supérieures à 50% P_0 (n_1), l'autre pour des valeurs inférieures à 50% P_0 (n_2). La figure 11B présente la forme linéarisée de la relation T/pCa. Les coefficients n_1 et n_2 correspondent alors à la pente de chaque demi-droite.

Seuil d'activation des protéines

Comme nous l'avons remarqué sur les enregistrements de la figure 10, une solution pCa 6.4 permettait d'obtenir une faible tension sur les deux muscles. Afin de mieux cerner les seuils d'activation nous avons réalisé une extrapolation de la courbe en utilisant l'équation théorique de Hill et en prenant comme paramètres les valeurs de pCa₅₀ et n_H trouvées expérimentalement. Les calculs montrent que le seuil est plus faible pour le soleus (pCa 7.00) que pour le plantaris (pCa 6.75).

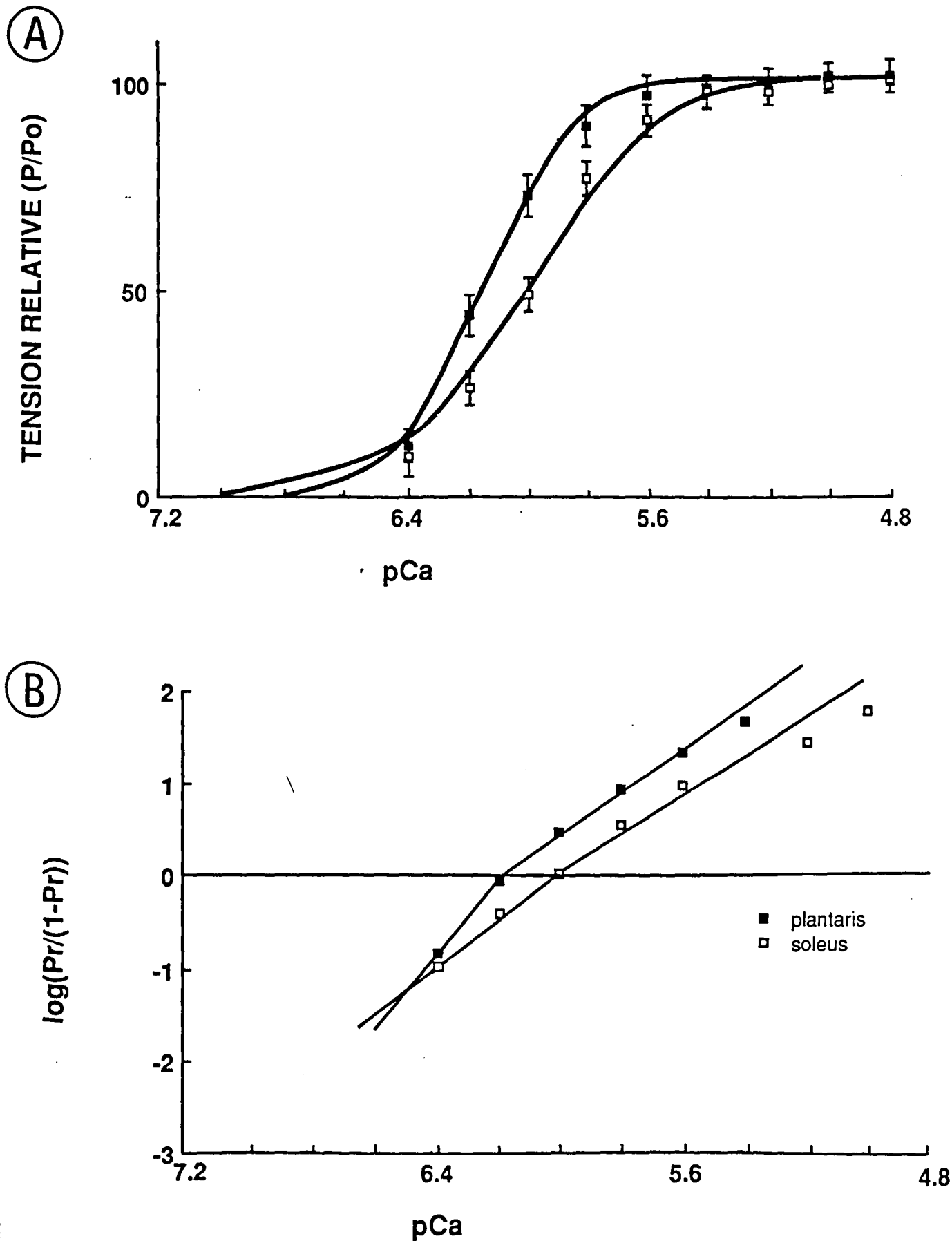


Figure 11 : A : Relation T/pCa pour le soleus (\square) et pour le plantaris (\blacksquare). Les courbes sont tracées selon la relation de Hill. Les points expérimentaux sont présentés sous la forme : moyennes \pm S.E.M avec $n=15$ pour les deux muscles. B : Forme linéarisée de la relation T/pCa .

Concentration calcique nécessaire pour obtenir une tension maximale

La figure 11 montre que la tension maximale peut être obtenue avec une concentration calcique plus faible pour un muscle rapide que pour un muscle lent. En effet, si pour une concentration égale à pCa 5.0 la tension est maximale pour le plantaris, une concentration égale à pCa 5.2 doit être utilisée pour le soleus. Pour une valeur de pCa égale à 4.8 la tension est maximale pour les deux muscles.

Pentes des relations T/pCa

Comme le montre la figure 11 la pente est plus importante pour le plantaris que pour le soleus. Ceci explique que la concentration calcique nécessaire pour obtenir une augmentation de tension de 10 % à 90 % de la tension maximale P_0 doit croître de 7.74 fois dans le cas du soleus alors qu'une augmentation de 4.16 fois est suffisante pour le plantaris. Mathématiquement ceci se traduit par une valeur de n_H plus grande pour le plantaris ($n_H = 3.12$) que pour le soleus ($n_H = 2.05$). Cette valeur correspond au nombre de sites calciques de la troponine C, impliqués dans la réaction si le degré de coopérativité est admis infini. Cette différence de n_H entre les deux types de fibres traduit donc une différence dans le fonctionnement et/ou dans la structure de la troponine C. Le calcul des pentes de la relation sous sa forme linéarisée illustrée à la figure 11B montre que les coefficients n_1 et n_2 sont plus élevés pour le plantaris que pour le soleus : n_1 est égal à 2.24 et 2.07 et n_2 est égal à 3.88 et 2.50 pour respectivement le plantaris et le soleus.

pCa₅₀.

Les valeurs de la pCa₅₀ sont également différentes et les fibres de type rapide nécessitent moins de calcium (pCa₅₀ = 6.14) que celles de type lent (pCa₅₀ = 5.98) pour obtenir 50 % de la tension maximale. Ce paramètre permet de déterminer la

sensibilité apparente des protéines contractiles pour le calcium. La valeur de pCa_{50} permet donc de donner une indication sur le caractère lent ou rapide de la fibre.

Influence du traitement au BRIJ

L'expérience de contrôle du comportement des protéines contractiles après destruction du RS par le BRIJ a montré que ni le seuil d'activation des protéines, ni la pente de la relation T/pCa, ni la valeur de pCa_{50} n'ont été modifiés.

3. Cinétiques

Une étude des cinétiques a mis en évidence une autre différence significative entre le soleus et le plantaris. Dans la mesure où nous n'avons pas au moment des expériences l'équipement nécessaire pour effectuer la différenciation électronique du signal et donc obtenir les valeurs de dP/dt de la contraction, nous avons utilisé d'autres paramètres indicateurs des cinétiques de tension. Le premier est le temps mis entre le début de la contraction et le moment où la tension se stabilise à son niveau maximum. Ce temps est appelé t_{max} . Cependant, il est quelquefois difficile à déterminer précisément et nous avons également mesuré le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la tension (t_{50}).

La figure 12 présente les relations existant entre ces deux paramètres et la concentration calcique. Nous constatons que pour les tensions élevées, c'est-à-dire entre pCa 5.6 et pCa 4.8, t_{max} et t_{50} sont plus faibles pour le plantaris. A pCa 4.8, t_{max} est égal à 3.0 et 8.7 secondes respectivement pour le plantaris et le soleus, c'est-à-dire que la tension se développe plus rapidement pour le plantaris. En ce qui concerne les tensions faibles induites par des solutions de pCa supérieures à 5.7 (concentration plus faible en calcium), les temps sont plus élevés et t_{max} et t_{50} deviennent même plus grands sur le plantaris que sur le soleus.

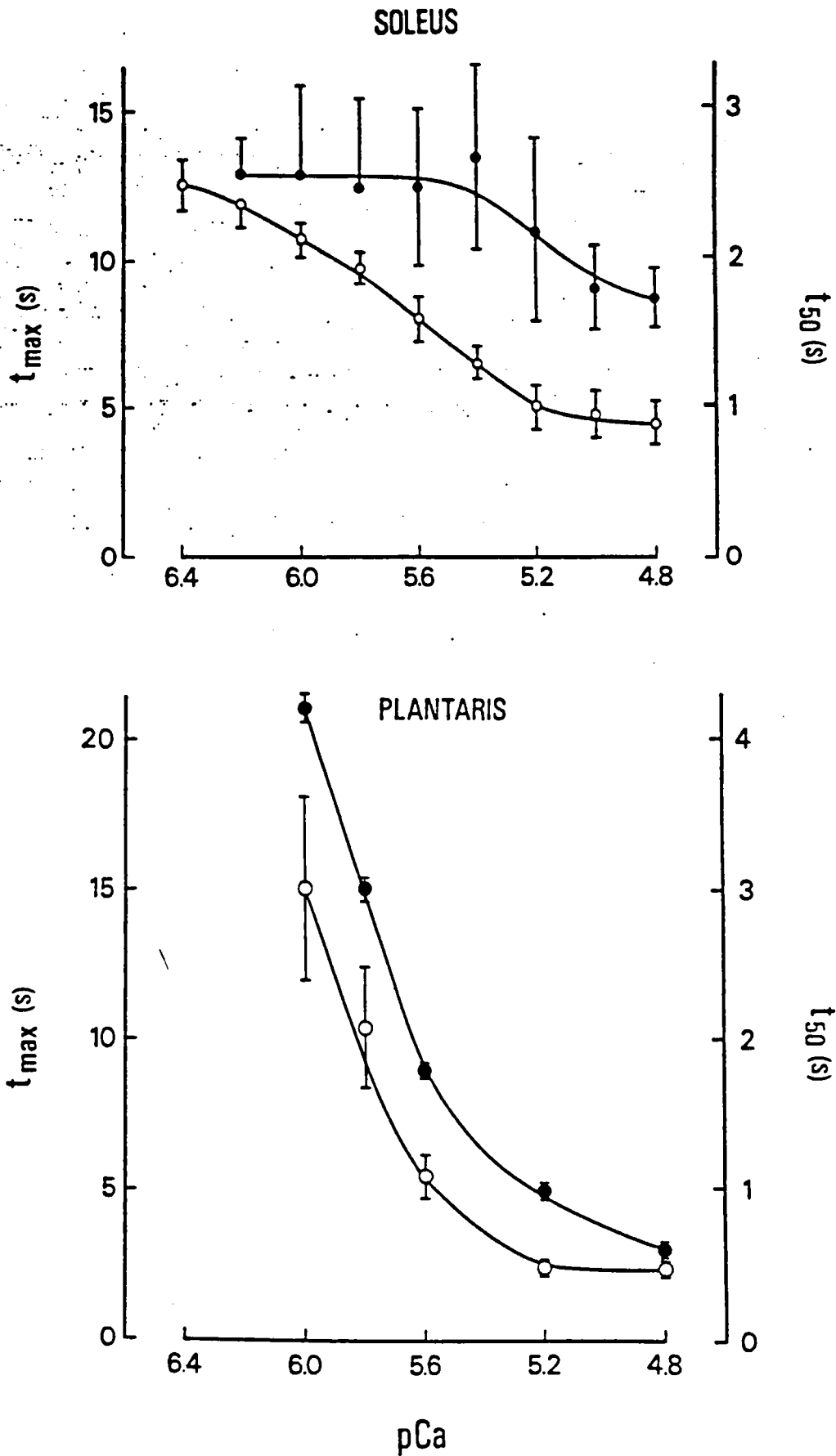


Figure 12 : Relation entre les valeurs de t_{max} (●) et t_{50} (○) en fonction de la concentration calcique pour le soleus ($n=8$) et pour le plantaris ($n=12$).

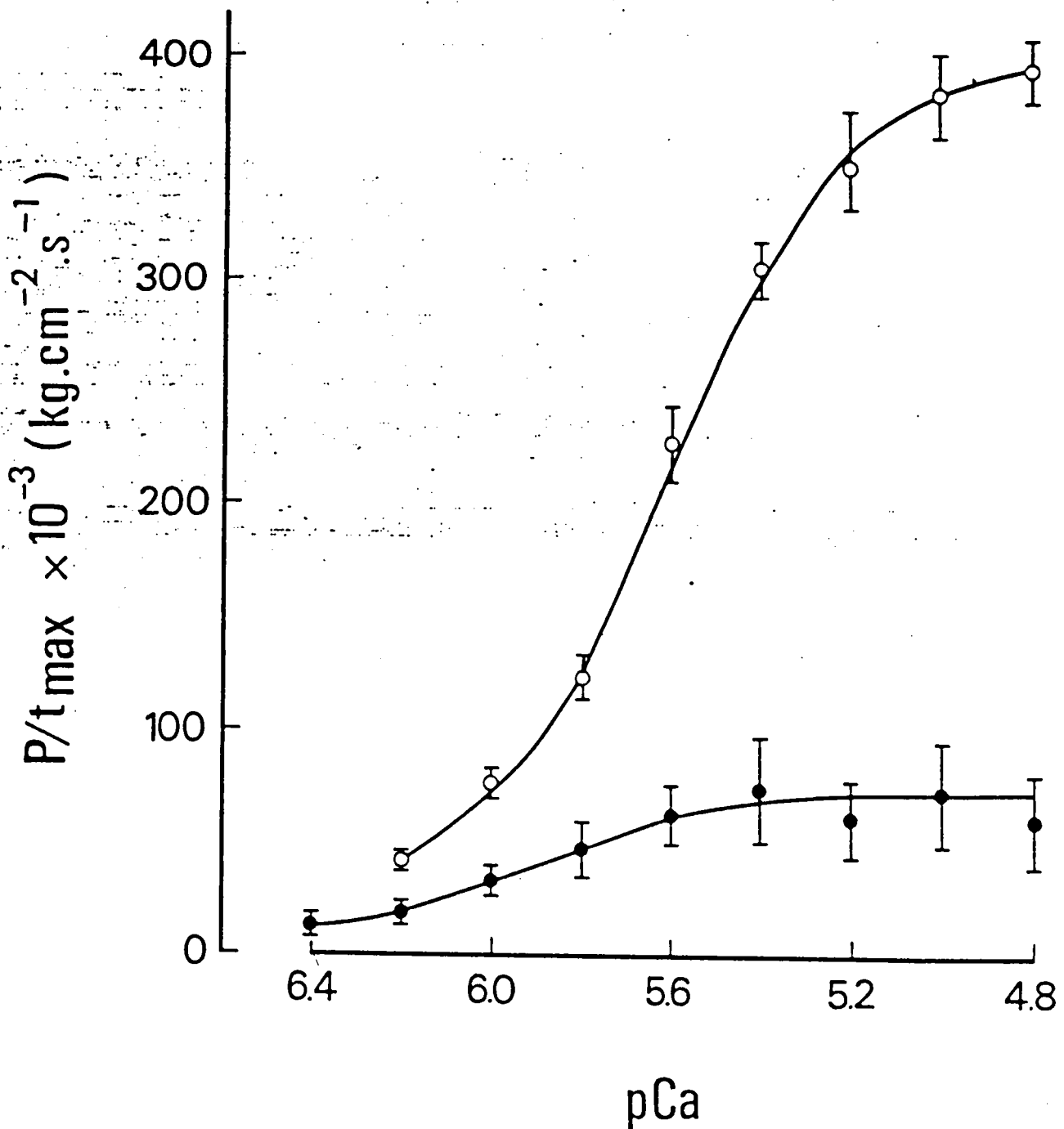


Figure 13 : Relation entre la valeur de P/t_{max} et la concentration calcique utilisée pour induire la contraction sur le soleus (●) et sur le plantaris (○).

Cependant, dans la mesure où le temps de contraction dépend du niveau de tension à atteindre, nous avons employé un dernier paramètre tenant compte du niveau de tension de la fibre. Nous avons alors ramené l'amplitude de la tension au temps nécessaire pour atteindre l'état stable de cette tension : soit P/t_{max} . La figure 13 exprime ce paramètre en fonction de la pCa pour les deux types de fibres. Pour chaque pCa, la valeur de P/t_{max} , qui peut alors être considérée comme un indice de la vitesse globale de contraction, est plus élevée pour le plantaris que pour le soleus. On constate également que P/t_{max} croît de façon plus importante pour le plantaris que pour le soleus. En effet, pour des valeurs de tension comprises entre 10 et 90 % P_0 , P/t_{max} change d'un facteur 18 pour le plantaris et seulement d'un facteur 7 pour le soleus.

En outre, l'expérience de contrôle a permis de montrer que les fibres traitées ou pas par le BRIJ présentaient des vitesses de développement de la contraction similaires.

En conclusion, les résultats obtenus montrent qu'il est possible de classer une fibre pelée dans une catégorie "lente" ou "rapide" grâce à la réponse mécanique enregistrée après activation des protéines contractiles par l'ion calcium. Il est actuellement admis que cette différence de réponse mécanique est liée à l'existence d'isoforme des composés impliqués dans la contraction. Il est en effet bien connu que les unités constituant les myofilaments d'une fibre lente sont structurellement différentes de celles qui existent dans une fibre rapide.

II - ETUDE ELECTROPHORETIQUE

1. Myosine native

L'électrophorèse de la myosine native consiste à montrer les différents isoformes de la myosine sous forme hexamérique. Selon la technique de MARECHAL et coll., (1984)(voir matériel et méthode), un témoin interne sous la forme de myosine de muscle lisse, est introduit dans chaque échantillon. Ce témoin

correspondra à un front de migration (100 %) et permettra de donner une mobilité relative très exacte de chaque bande de muscle strié. La figure 14 montre les résultats obtenus à partir d'un extrait de soleus et de plantaris.

L'électrophorégramme (figure 14A) d'un soleus ne présente qu'une seule bande de myosine de muscle strié ; la seconde bande présente correspond au témoin interne. Cette myosine est habituellement reconnue sous l'appellation SM (slow myosine). Dans notre exemple, la mobilité relative est égale à 67 %. Les expériences menées sur 6 soleus présentent le même profil électrophorétique et les résultats moyennés sont les suivants.

n = 6	mobilité (%)	% myosine
SM	66.50 ± 0.49	100.00 ± 0.00

Une électrophorèse réalisée à partir du plantaris d'un même animal nous montre un profil très différent de celui du soleus (figure 14B). Il s'agit de 3 bandes rapprochées migrant plus rapidement que celle du soleus et appelées FM (fast myosine). FM₃ correspond à l'isoforme la plus lente, FM₂ à l'isoforme de mobilité intermédiaire et FM₁ à l'isoforme migrant le plus rapidement. Le tableau ci-dessous donne la mobilité relative et la proportion de chaque pic et donc la proportion des différents isoformes de myosine obtenue grâce à un système d'intégration de surface.

n = 8	mobilité (%)	% myosine
FM ₃	79.79 ± 0.31	37.57 ± 2.55
FM ₂	83.22 ± 0.28	31.54 ± 3.54
FM ₁	86.80 ± 0.37	30.87 ± 2.26

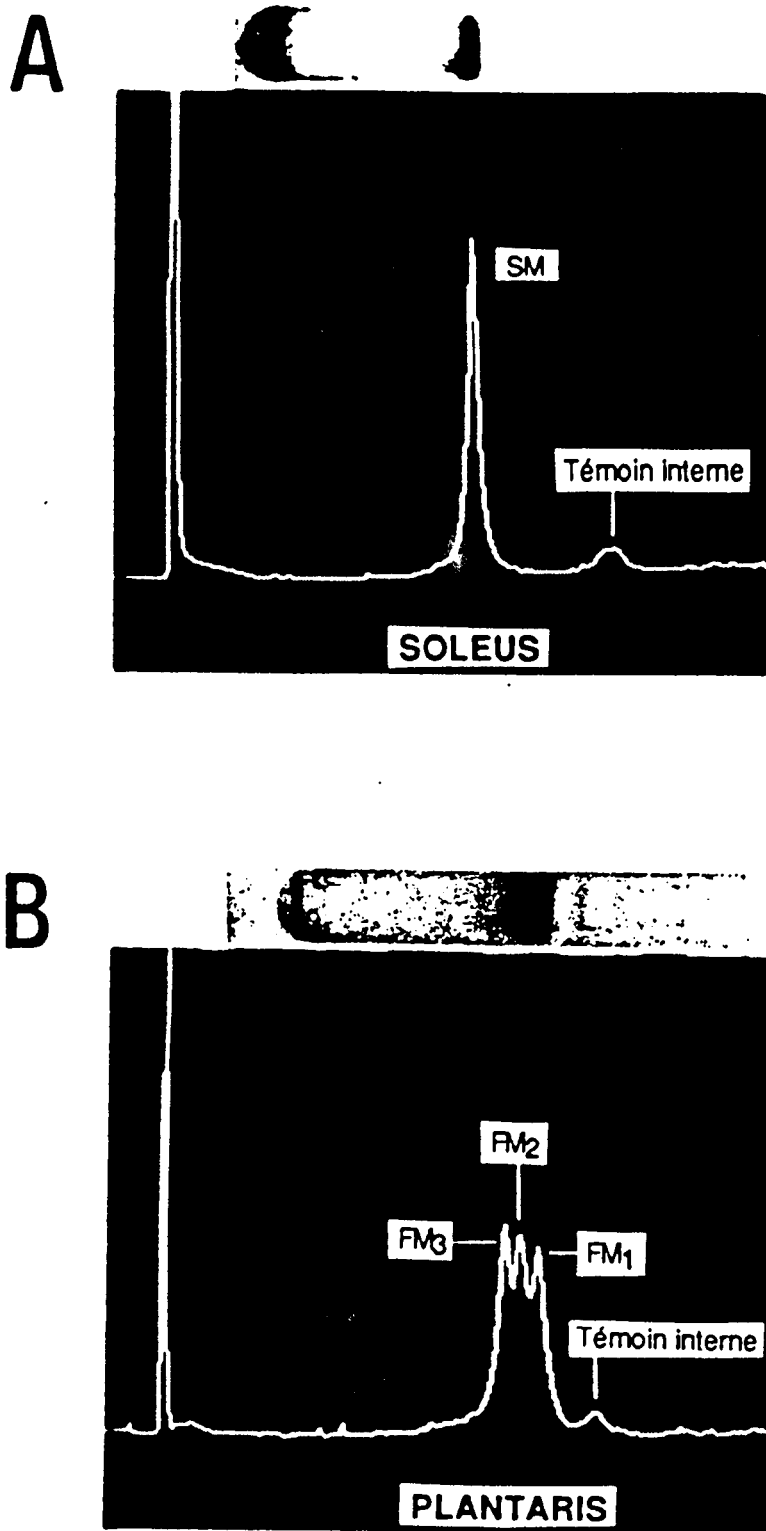


Figure 14 : Profil électrophorétique d'un muscle typiquement lent, le soleus (A) et d'un muscle typiquement rapide, le plantaris (B).

Il apparaît donc qu'il est possible de différencier un muscle de type lent ou de type rapide selon son profil électrophorétique en conditions non dénaturantes.

2. Electrophorèse dénaturante

Une étude en milieu dénaturant (milieu S.D.S. : Sodium Dodecyl Sulfate) permet d'étudier les isoformes des chaînes légères de la myosine. La figure 15 montre le résultat d'une électrophorèse réalisée à 20 mA constant pendant 6 heures sur un gel de polyacrylamide de 18 %. Les échantillons déposés proviennent d'extrait d'un muscle lent (soleus) et d'un muscle rapide (le plantaris). Un témoin de masse moléculaire (Kit Pharmacia) a également été déposé de façon à pouvoir extrapoler les masses moléculaires approximatives de chaque isoforme. A partir de ces masses et de la nombreuse bibliographie concernant les chaînes légères de la myosine (pour revue voir SWYNGHEDAUW, 1986) nous pouvons identifier les différents isoformes comme il est montré dans la figure 15. Les chaînes légères de la myosine sont reconnues sous le sigle LC (Light Chain) indicé d'un "s" ou "f" selon leur appartenance à un muscle de type lent (s) ou rapide (f).

Les chaînes légères de type lent existent sous deux formes :

- * Les LC_{1sa} sont les chaînes les moins mobiles et ont une masse moléculaire approximative de 27 KDa.
- * Les LC_{1sb} ont une masse moléculaire d'environ 26 KDa
- * Les LC_{2s} sont les chaînes les plus mobiles des muscles lents et ont une masse moléculaire approximative de 20 KDa.

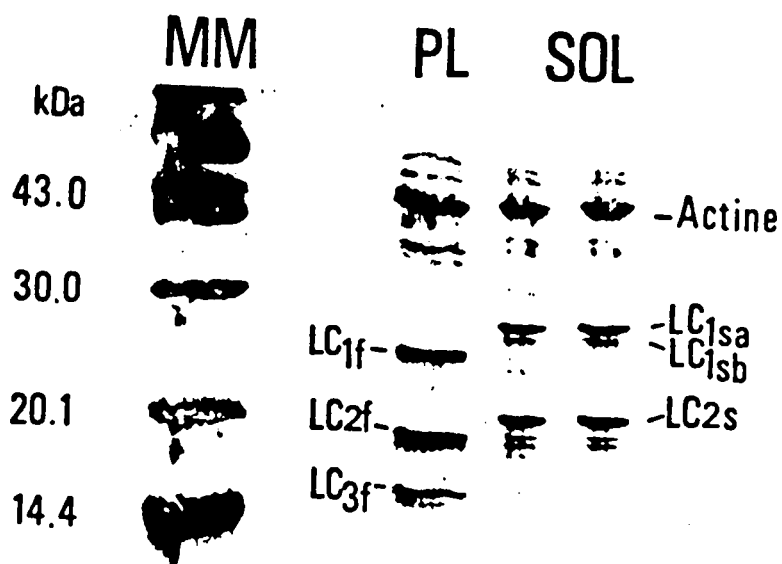


Figure 15 : Localisation des chaînes légères de la myosine après une électrophorèse de 6 h à 20 mA constant (gel 18 %). LC = light chain, MM = masses moléculaires (PHARMACIA), PL = plantaris, SOL = soleus.

Les chaînes légères de type rapide existent sous trois formes qui sont dans l'ordre de mobilité croissante :

- * Les LC_{1f} de masse moléculaire approximative de 25 KDa.
- * Les LC_{2f} de masse moléculaire approximative de 19 KDa.
- * Les LC_{3f} de masse moléculaire approximative de 16 KDa et qui constituent un isoforme présent exclusivement dans les muscles de type rapide.

A ce stade de notre étude il faut noter que les extraits obtenus à partir du soleus peuvent contenir des isoformes rapides. Ces isoformes sont visibles lorsque le dépôt est suffisamment important. Ceci n'est pas étonnant puisque nous avons vu que le soleus pouvait contenir 13% de fibres FOG (ARMSTRONG et PHELPS, 1984).

A partir de la technique électrophorétique il est également possible de distinguer les isoformes des protéines régulatrices :

La tropomyosine et les troponines T migrent en dessous de l'actine.

La troponine I et C migrent au niveau des chaînes légères de la myosine de type 1 et 2 respectivement. Pour chaque type de fibre il existe un isoforme lent ou rapide.

En conclusion, un muscle peut donc être caractérisé en type lent ou rapide selon son profil électrophorétique.

CHAPITRE 2

**EFFET DES VOLS SPATIAUX (D'UNE ET DEUX
SEMAINES) SUR LES PROTEINES CONTRACTILES**

Dans ce chapitre nous allons étudier les effets de séjours de durée variable, en condition de microgravité. Une partie sera consacrée aux résultats obtenus sur des vols courts à bord des biosatellites 1514 (5 jours) et 1667 (7 jours). Une autre partie traitera ensuite de l'étude d'un vol de plus longue durée à bord du biocosmos 1887 (13 jours).

I - VIVARIUM ET SYNCHRONE : CHOIX DU TEMOIN

Les animaux témoins sont divisés en deux groupes Vivarium et Synchrone. Un animal du groupe Vivarium est un animal sans stress particulier, laissé à terre en animalerie dans des cages à métabolisme. Un animal du groupe synchrone est un animal ayant subi une simulation complète du vol spatial (voir Matériels et Méthodes) et ayant donc subi le stress qui en découle. Nous pouvons ainsi établir le schéma suivant :

VIVARIUM : conditions de vie

SYNCHRONE : conditions de vie + stress

VOL : conditions de vie + stress + microgravité

Bien qu'il soit difficile d'affirmer que le stress subi par le groupe synchrone ait été rigoureusement identique à celui subi par le groupe vol, c'est cependant la comparaison entre ces deux lots d'animaux qui permettra d'extraire les effets propres d'un séjour en condition de microgravité. De ce fait, nous avons privilégié les expériences menées sur les animaux synchrone comme expériences contrôle lorsque nous devons limiter le nombre d'expérimentations. En effet, pour des raisons de conservation fiable des propriétés du matériel biologique, les expériences devaient être impérativement réalisées dans les 8 à 10 semaines après le prélèvement des biopsies musculaires.

II - PROPRIETES CONTRACTILES

A - VOLS DE FAIBLE DUREE : BIOCOSMOS 1514 ET 1667

Pour le vol de 5 jours (biocosmos 1514), nous avons à notre disposition les muscles plantaris, gastrocnémien latéral et diaphragme. Les deux premiers appartiennent à la catégorie des muscles dits rapides alors que le diaphragme est d'un type mixte. Pour le vol de 7 jours (biocosmos 1667) nous avons, en plus de ces trois muscles, le soleus de type lent.

1. Masse des muscles

A l'atterrissage du biosatellite, les animaux ont été pesés avant d'être décapités. Les muscles ont ensuite été prélevés et pesés.

Juste au début de l'expérience 1514, tous les animaux pesaient entre 290 et 300g. Pendant les 5 jours de la durée du vol, les animaux vivarium et synchrone ont normalement grossi et pesaient au moment du sacrifice respectivement 348.80 ± 17.75 g (n=5) et 359.00 ± 3.32 g (n=5). En revanche, aucun des animaux ayant subi le vol (n = 5) n'avait pris de poids : 291.40 ± 5.60 g avant le vol et 293.40 ± 6.49 g après le vol.

Nous ne pouvons pas apporter de données comparables concernant le vol de 7 jours (biocosmos 1667) car nous ne possédons pas le poids des animaux du groupe vol.

La masse des muscles que nous allons étudier est présentée dans le tableau 5 :

	<u>PLANTARIS</u>	<u>GASTROCNEMIEN</u>	<u>SOLEUS</u>
<u>1514</u>			
VIV. (V)	254.61 ± 14.26	776.41 ± 37.87	
SYN. (S)	278.02 ± 16.85	731.62 ± 23.91	
VOL (F)	229.63 ± 13.61	556.23 ± 39.28 a,b	
<u>1667</u>			
VIV. (V)	328.71 ± 14.76	1055.71 ± 41.39	158.42 ± 4.51
SYN. (S)	325.42 ± 15.65	1085.71 ± 33.08	172.43 ± 6.01
VOL (F)	281.00 ± 7.47a,b	982.85 ± 38.15 a,b	122.42 ± 5.01 a,b

Tableau 5 : Masse des muscles après les expériences 1514 et 1667. Les données sont exprimées en mg et les différences significatives par les lettres a et b.

a : Différence significative entre les animaux vol et vivarium.

b : Différence significative entre les animaux vol et synchrone.

Nous observons que les masses des muscles plantaris, gastrocnémien et soleus ne sont pas significativement différentes pour les animaux vivarium et synchrone.

Après un vol de 5 jours, la masse du plantaris (muscle rapide) ne varie pas significativement. En revanche, la masse du gastrocnémien (muscle rapide à fonction antigravitaire) chute de 28% si on la compare à celle des animaux vivarium et de 24% par rapport aux animaux synchrone. Il en est de même pour le soleus (muscle lent antigravitaire) dont la masse musculaire diminue de 11% et 17% lorsqu'elle est respectivement comparée à la masse des soleus d'animaux vivarium et synchrone.

La même étude a été réalisée pour le vol de 7 jours. Les mesures montrent une chute de poids de 12, 11 et 29%

respectivement pour les muscles plantaris, gastrocnémien et soleus. Ce vol confirme le résultat observé pour le gastrocnémien après 5 jours de vol et montre que le soleus, muscle postural typiquement lent, est le plus atrophié des trois. En revanche, le muscle plantaris qui n'était pas touché par le vol de 5 jours accuse une chute significative de sa masse musculaire après un vol de 7 jours.

En résumé, la masse musculaire diminue à la suite d'un vol spatial. Cette chute apparaît plus rapidement et de façon plus importante sur les muscles à fonction antigravitaire tels que le soleus et le gastrocnémien.

2. Tensions maximales

Les tensions maximales ont été induites au moyen d'une solution calcique dont la concentration est égale à $pCa\ 4.8$. Les résultats obtenus sont présentés pour chaque muscle.

a) *Plantaris*

Les valeurs des tensions maximales et du diamètre des fibres sont consignées dans le tableau 6 :

<u>1514</u>	n	Diamètre μm	tension maximale	
			mg	kg.cm ⁻²
VIV. (V)	6	56.25 ± 3.89	46.50 ± 6.19	1.85 ± 0.32
SYN. (S)	12	65.63 ± 3.83	61.85 ± 6.13	1.87 ± 0.13
VOL (F)	12	58.85 ± 2.99	57.53 ± 4.39	2.13 ± 0.18

<u>1667</u>				
SYN (S)	12	70.00 ± 2.04	62.01 ± 2.85	1.64 ± 0.12
VOL (F)	28	70.03 ± 3.20	64.70 ± 4.15	1.70 ± 0.13

Tableau 6 : Caractéristiques des fibres musculaires de plantaris après des vols de 5 jours (biocosmos 1514) et 7 jours (biocosmos 1667).

L'examen du tableau des résultats du vol 1514 montre que le diamètre des fibres des animaux F est légèrement inférieur à celui mesuré sur les animaux S. Cependant, la différence n'est pas significative. Ces mêmes valeurs comparées à celles du témoin vivarium confirment qu'aucune variation de taille ne peut être établie après un vol de 5 jours sur le plantaris.

Les mêmes résultats sont obtenus à la suite d'un vol de 7 jours (biocosmos 1667).

Les tensions maximales obtenues sont présentées sous deux formes : tension absolue (exprimée en mg), et tension rapportée à l'unité de section (exprimée en kg.cm⁻²). Les résultats montrent clairement que les fibres musculaires isolées du plantaris d'animaux vol (F) peuvent développer une tension similaire à celle des animaux synchrone ou vivarium. Les tensions sont en effet identiques pour les différentes catégories de muscles (V, S, F) pour un même vol, quelle que soit la forme choisie pour exprimer les résultats.

Il apparaît donc qu'à la suite d'un vol spatial de 5 ou 7 jours, les fibres musculaires du plantaris (muscle rapide) ne sont pas

atrophées et que les forces maximales qu'elles peuvent produire ne sont pas modifiées.

b) Gastrocnémien

Les expériences ont été réalisées selon le même protocole que celui utilisé pour le muscle plantaris.

Le tableau 7 résume les résultats obtenus.

<u>1514</u>	n	diamètre μm	tension maximale	
			mg	$\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$
VIV.(V)	7	73.21 ± 1.65	72.26 ± 4.05	1.70 ± 0.22
SYN.(S)	26	85.15 ± 2.02	88.26 ± 6.52	1.55 ± 0.17
VOL (F)	16	78.60 ± 2.64^b	68.41 ± 5.13^b	1.23 ± 0.13

<u>1667</u>	n	diamètre μm	mg	$\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$
VIV.(V)	6	89.58 ± 5.02	99.75 ± 4.12	1.62 ± 0.13
SYN.(S)	12	88.30 ± 4.49	87.30 ± 4.49	1.45 ± 0.08
VOL (F)	19	83.15 ± 2.93	77.39 ± 5.91	1.41 ± 0.07

Tableau 7 : Caractéristiques des fibres musculaires de gastrocnémien après un vol de 5 (1514) et 7 jours (1667).

^b différence significative entre animaux synchrones et vol

Ce tableau montre que le diamètre des fibres chute significativement ($p < 0.05$) après 5 jours de vol. Après le vol biocosmos 1667, d'une durée pourtant légèrement supérieure, le résultat est différent puisqu'aucune atrophie significative ne peut être décelée sur les fibres testées.

La valeur de la tension maximale induite par une concentration calcique élevée a également été étudiée pour les deux biocosmos. Pour le vol de 5 jours, la valeur de la tension maximale exprimée en mg est significativement inférieure à celle des animaux témoins. Cependant lorsque cette tension est

rapportée à l'unité de section de la fibre (et exprimée en kg. cm⁻²) la différence n'est plus significative. Ce résultat prouve que la chute de la tension maximale peut être totalement expliquée par la diminution de la taille des fibres.

Des résultats compatibles avec ceux obtenus pour une durée de 5 jours ont été observés après un vol de 7 jours. La surface de section des fibres des animaux "vol" est plus petite et la force qu'elles développent est plus faible que celle observée pour les animaux témoins. Les différences sont toutefois non significatives.

En conclusion, une atrophie significative est observée sur le gastrocnémien latéral après 5 jours de vol spatial. Cette atrophie se caractérise par une chute du diamètre des fibres qui induit une perte de la force maximale absolue (exprimée en mg). Pour l'autre vol, bien que les résultats montrent une tendance similaire, aucune différence significative ne peut être mentionnée. Cette apparente contradiction peut être expliquée par la dualité entre l'hétérogénéité de typage de ce muscle et sa fonction. Comme nous l'avons mentionné dans le paragraphe "Matériel et Méthodes" le gastrocnémien est un muscle rapide contenant davantage de fibres de type II_A que le plantaris et impliqué dans un rôle antigravitaire.

c) *Soleus*

L'étude de l'influence de la microgravité pendant une faible durée n'a été faite sur ce muscle lent que pour le vol biocosmos de 7 jours. Les résultats relatifs à ce vol sont consignés dans le tableau 8.

1667	n	diamètre μm	tension maximale	
			mg	kg.cm ⁻²
VIV.(V)	3	87.50 ± 9.50	70.30 ± 2.22	1.39 ± 0.37
SYN.(S)	29	78.02 ± 2.68	56.12 ± 3.26	1.21 ± 0.07
VOL (F)	16	67.18 ± 3.47 ^{a,b}	40.13 ± 3.32 ^{a,b}	1.34 ± 0.19

Tableau 8 : Caractéristiques des fibres musculaires de soleus après un vol de 7 jours (1667). a et b expriment une différence significative entre les animaux vol et respectivement les animaux vivarium et synchrone.

L'examen du tableau montre clairement que sur ce muscle, les valeurs moyennes du diamètre des fibres des animaux vol chutent significativement ($p < 0.02$) lorsqu'on les compare à celles des animaux synchrone ou vivarium. Cette diminution de diamètre de 13 % est accompagnée d'une réduction significative (28 %, $p < 0.01$) de la force maximale exprimée en mg. En revanche, lorsque la tension est ramenée à l'unité de section, la différence disparaît.

En conclusion, après 7 jours de vol spatial, les fibres d'un muscle lent, tel que le soleus, s'atrophient. Cette atrophie induit une chute de la force maximale absolue.

d) Diaphragme

Le diaphragme est un muscle strié intervenant dans les processus respiratoires. Il a été choisi car il peut constituer un bon témoin pour une réflexion sur l'origine de l'atrophie musculaire (voir Matériel et Méthodes).

En contre partie, ce muscle possède un conjonctif dense qui rend difficile l'isolement d'une fibre unique exempte de lésion. Sur ces fibres nous avons mesuré la force maximale et la surface de section. En revanche, il a été impossible de déclencher par des solutions de pCa différentes un nombre suffisant de contractions sur une même fibre (et donc de construire une relation T/pCa complète). Le tableau 9 présente les données obtenues sur le diaphragme d'animaux ayant subi les vols 1514 et 1667.

<u>1514</u>	n	diamètre μm	tension maximale	
			mg	kg.cm ⁻²
SYN.(S)	6	58.85 ± 3.78	22.35 ± 6.05	0.62 ± 0.08
VOL (F)	2	50.00 ± 1.00	15.46 ± 8.06	0.78 ± 0.40

<u>1667</u>				
VIV.(V)	7	76.78 ± 4.25	60.82 ± 7.32	1.16 ± 0.18
SYN.(S)	9	76.56 ± 3.69	46.32 ± 5.82	0.94 ± 0.12
VOL (V)	7	89.28 ± 10.36	73.35 ± 11.32	1.06 ± 0.19

Tableau 9 : Caractéristiques des fibres musculaires de diaphragme après un vol de 5 jours (biocosmos 1514) et 7 jours (biocosmos 1667).

Le faible nombre de fibres de diaphragme ayant pu être testées à la suite du vol 1514 ne permet pas une analyse statistique. Néanmoins, ces chiffres associés à nos observations au moment des dissections indiquent que la taille des fibres entre les différents groupes d'animaux n'a pas changé après ce vol.

Une étude un peu plus complète a pu être réalisée pour le vol 1667. Le diamètre des fibres n'a pas évolué de façon significative après le vol. De la même manière, la tension maximale exprimée en mg ou en kg/cm² ne change pas. Le diaphragme semble donc être un muscle qui n'est pas affecté par un vol spatial.

3. Relation Tension/pCa

a) *Plantaris*

Les figures 16, 17, 18 et 19 montrent la relation qui existe entre la concentration en calcium libre appliquée sur les protéines contractiles et la force développée par la fibre. La figure 16 présente les résultats obtenus pour le plantaris après le vol 1514.

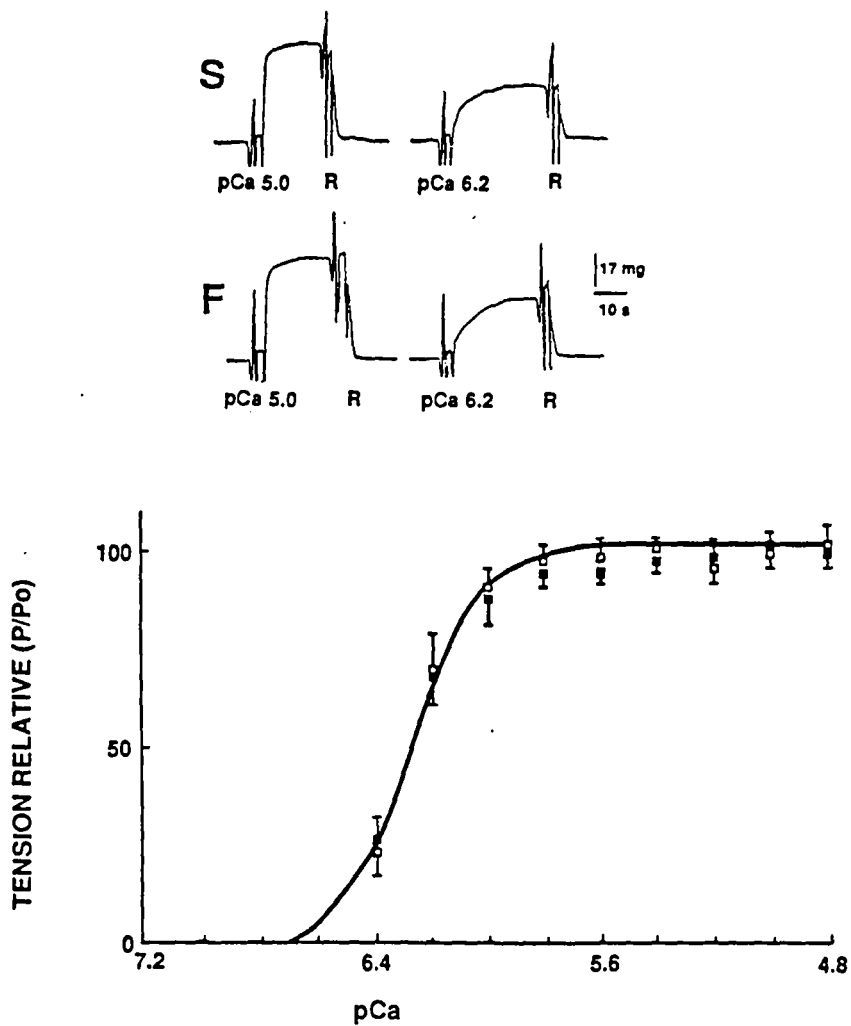


Figure 16 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrone (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrone (■); vol (□).

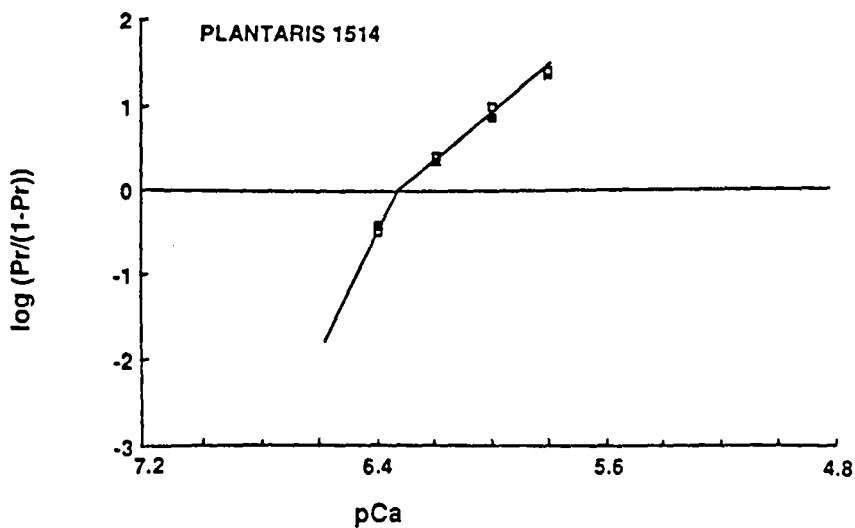


Figure 17 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 16. Animaux synchrone (■) et vol (□).

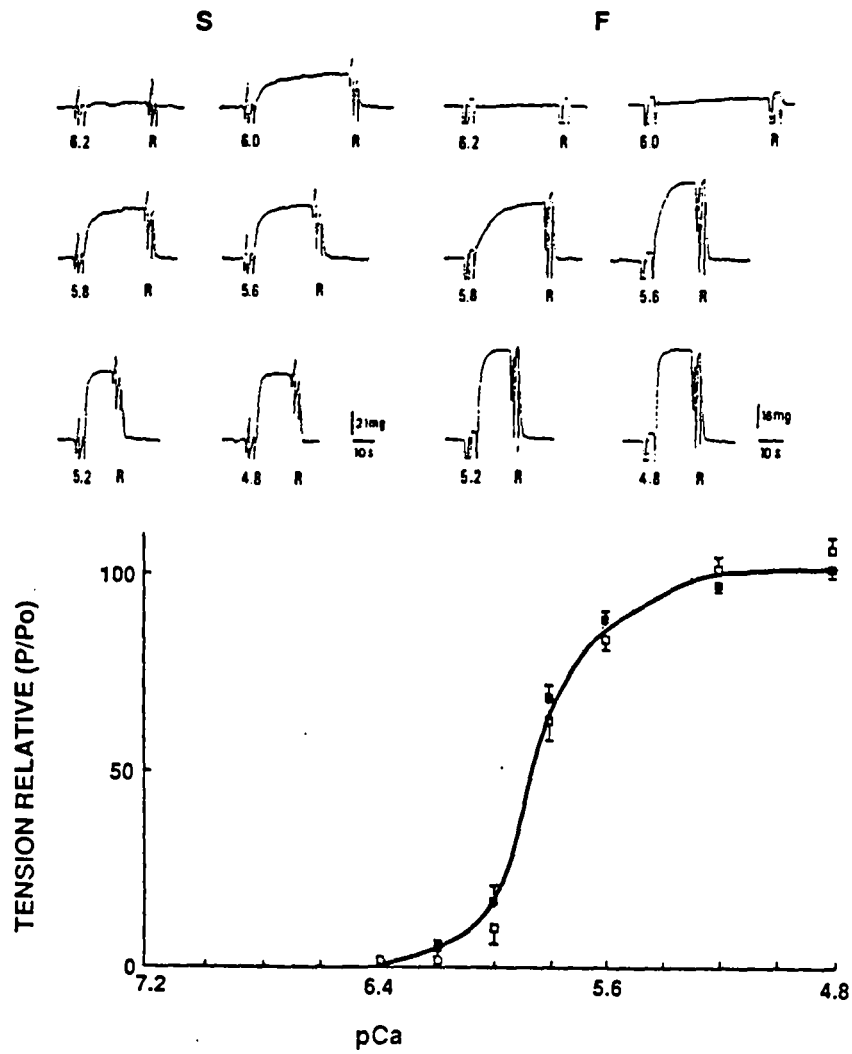


Figure 18 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrones (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrones (■); vol (□).

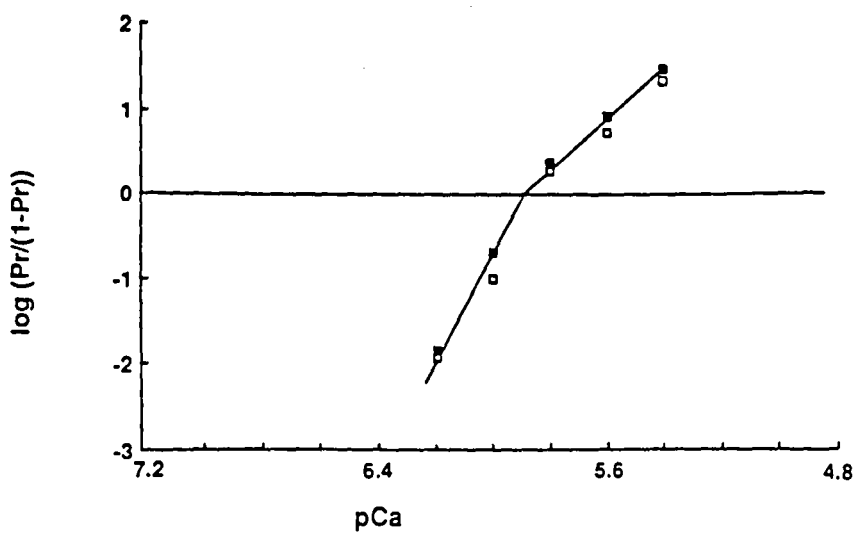


Figure 19 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 18. Animaux synchrones (■) et vol (□).

La partie supérieure présente des enregistrements de contractions obtenues pour deux concentrations calciques ; l'une est maximale (pCa 5.0) et l'autre non (pCa 6.2). Ces enregistrements illustrent le comportement contractile de fibres S et F. On constate que les valeurs des tensions ne sont pas significativement différentes pour les deux pCa présentées mais que la cinétique de contraction est ralentie après le vol. Cette observation est particulièrement claire pour les tracés obtenus à pCa 6.2. Les résultats concernant les tensions maximales sont résumés dans l'autre partie de la figure 16 sous la forme de la relation T/pCa. On constate que les deux courbes se superposent parfaitement et qu'aucune modification ne peut être mise en évidence. Le seuil d'activation des protéines est égal à 6.60, la valeur de la pCa₅₀ reste égale à 6.26 et la linéarisation de la relation de Hill (figure 17) montre que n_1 (2.66) et n_2 (5.00) sont identiques pour les deux lots d'animaux S et F.

La figure 18 présente les résultats du vol 1667. Les enregistrements obtenus sur les fibres d'animaux S et F montrent qu'à pCa 6.2, une très petite tension se développe pour les fibres S. En revanche, avec la même solution calcique aucune tension n'a été décelée pour les fibres F. Pour des valeurs de concentrations plus élevées, les amplitudes relatives des tensions développées pour les fibres S et F sont similaires. Par contre, la cinétique est nettement ralentie après le vol. Cette observation est particulièrement visible pour la pCa 5.8. Sur la courbe tracée figure 18, qui illustre l'ensemble de la relation T/pCa, les amplitudes des tensions développées par les animaux F puisque légèrement plus faibles ne sont pas significativement différentes de celles des animaux S. Le seuil d'activation des protéines reste le même (pCa 6.30) ainsi que le niveau de demi activation (pCa₅₀ = 5.85). Les valeurs de n_1 et n_2 ne changent pas et sont respectivement égales à 2.70 et 4.90 (figure 19).

En conclusion, sur le plantaris, la relation T/pCa n'est pas altérée après un vol de 5 ou 7 jours. Par contre, pour chacun des vols la cinétique de mise sous tension apparaît ralentie.

GASTROCNEMIEN 1514

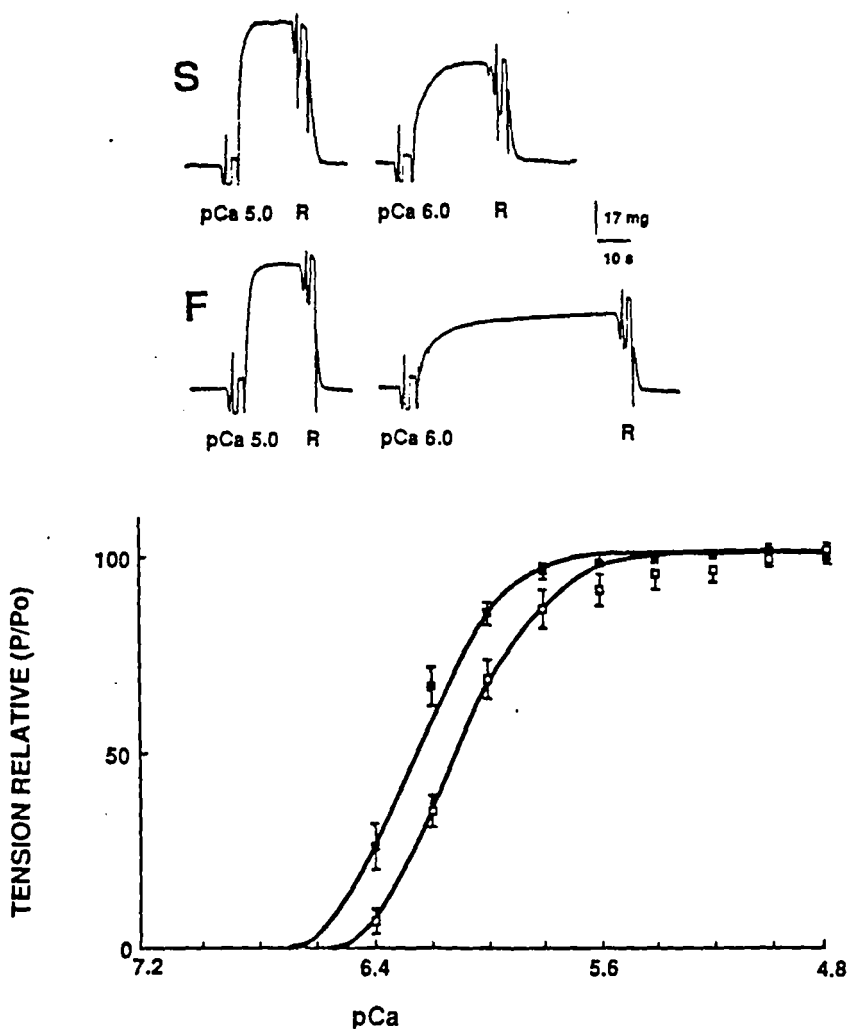


Figure 20 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrones (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrones (■); vol (□).

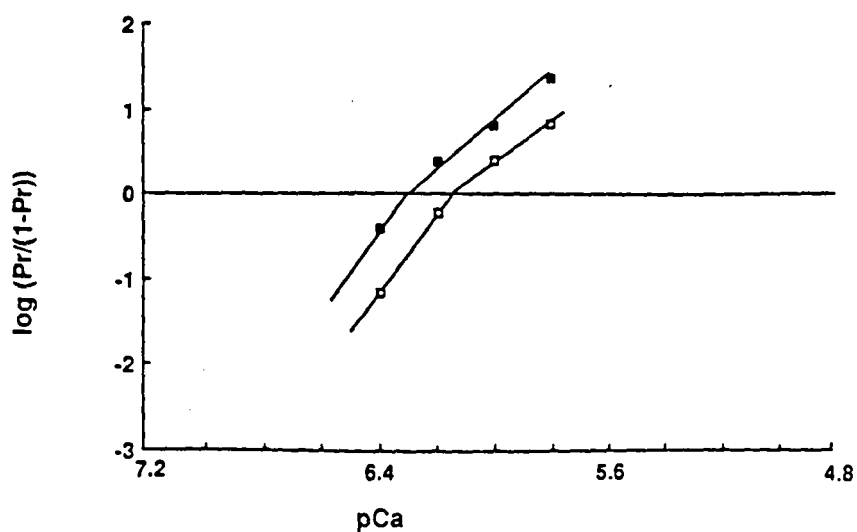


Figure 21 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 20. Animaux synchrones (■) et vol (□).

GASTROCNEMIEN 1667

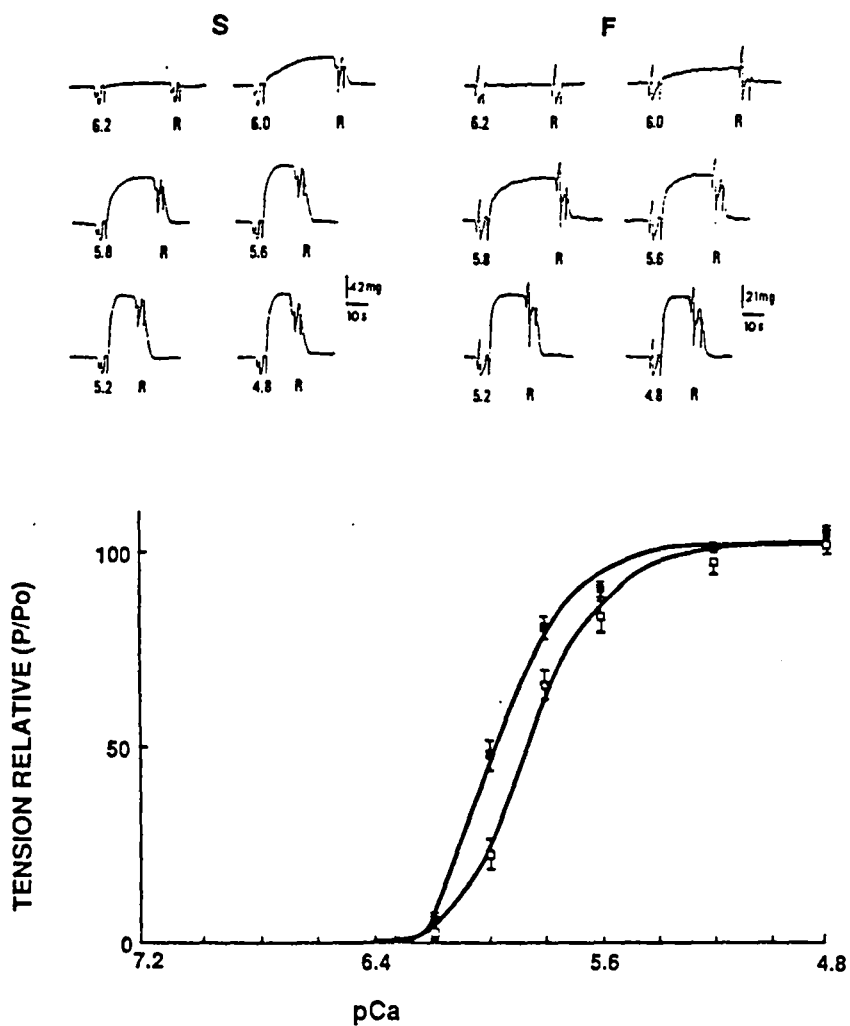


Figure 22 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrones (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrones (■); vol (□).

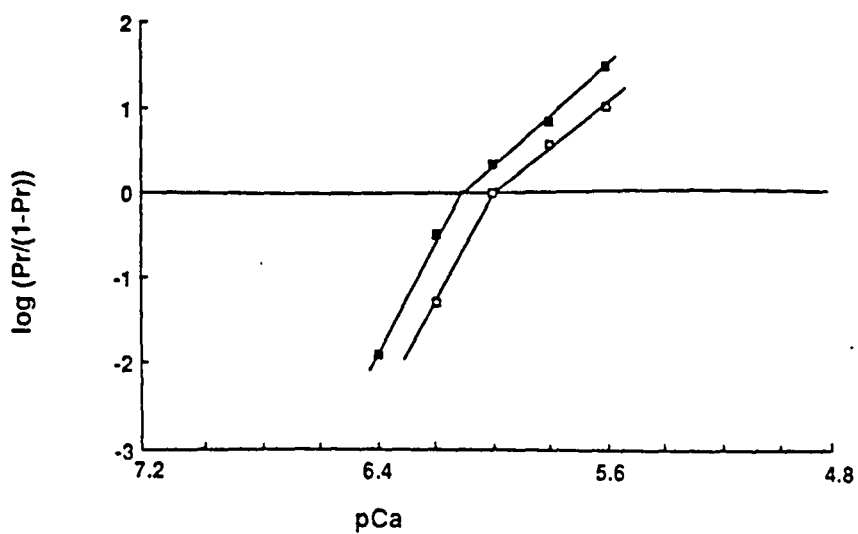


Figure 23 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 22. Animaux synchrones (■) et vol (□).

b) Gastrocnémien

L'étude menée sur le gastrocnémien pour le vol 1514 est illustrée aux figures 20 et 21. Les enregistrements montrent que les contractions sont plus faibles pour les animaux vol que pour les témoins synchrones. D'autre part, le temps de mise sous tension est plus long après le vol. La relation Tension/pCa présente un seuil d'activation calcique légèrement plus élevé après le vol : 6.65 et 6.55 respectivement pour S et F soit $\Delta pCa = 0.10$. La courbe est déplacée vers des valeurs de concentrations calciques plus fortes, ce qui se traduit par une diminution de la valeur de la pCa_{50} : 6.25 et 6.10 respectivement pour S et F soit $\Delta pCa_{50} = 0.15$. Le calcul des pentes, obtenues après linéarisation de la relation de Hill (figure 21) montre que n_1 et n_2 sont plus faibles après le vol : n_1 diminue de 2.66 à 2.40 et n_2 de 5.71 à 4.00.

Après un vol spatial de 5 jours, la sensibilité des protéines contractiles pour le calcium (pCa_{50}) et la coopérativité des sites calciques du filament fin (coefficients de Hill) sont donc diminués.

La figure 22 présente les enregistrements obtenus sur les animaux S et F pour le vol 1667. A pCa 6.2, une faible contraction se développe pour les animaux S ce qui n'est pas le cas pour les animaux F. A pCa 6.0, 5.8 et 5.6 les tensions sont plus faibles sur l'animal F. Quand les tensions sont exprimées par rapport à la tension maximale, les résultats sont résumés dans la relation T/pCa (figure 22). La courbe relative aux animaux vol est déplacée vers des valeurs de concentrations calciques plus fortes, ce qui se traduit par des modifications nettes de plusieurs paramètres : la valeur du seuil d'activation diminue de 6.30 à 6.20, la pCa_{50} chute de 5.97 à 5.87 et la concentration la plus faible suffisante pour induire une contraction maximale augmente après le vol (pCa 5.2 et 4.8 respectivement pour S et F). Ceci suggère une diminution d'affinité des protéines contractiles pour le calcium après le vol. Les valeurs des coefficients sont obtenues grâce à la linéarisation de la relation T/pCa représentée figure 23. Le coefficient n_1 ne

SOLEUS 1667

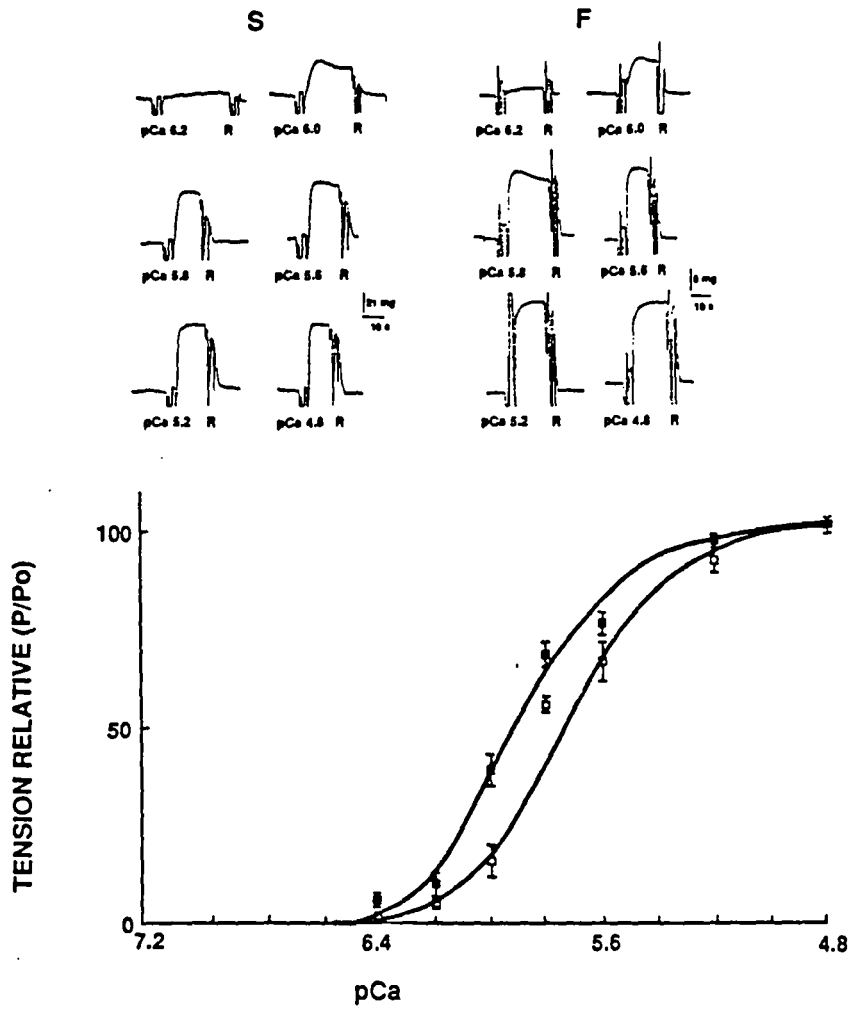


Figure 24 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrone (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrone (■); vol (□).

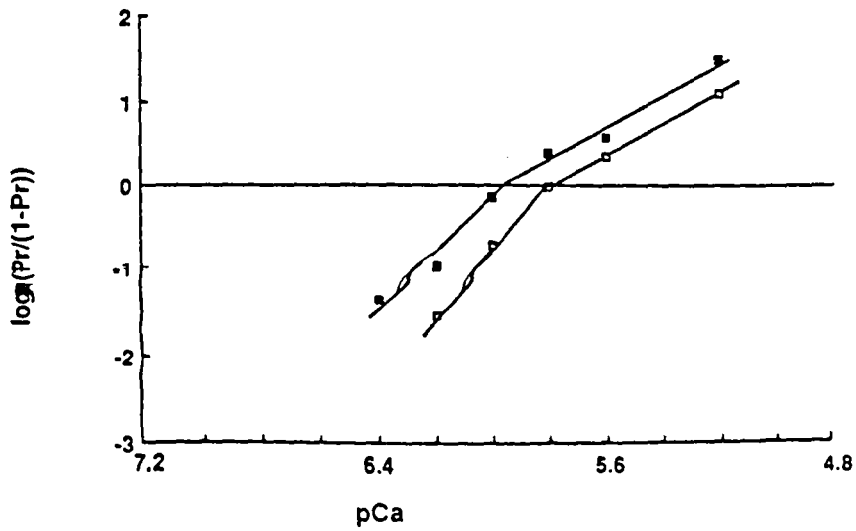


Figure 25 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 24. Animaux synchrone (■) et vol (□).

varie pas significativement (2.77 pour les rats synchrones et 2.88 pour les animaux vol). En revanche, n_2 chute de 5.88 à 4.84.

En conclusion, ces deux vols de faible durée mettent en évidence un déplacement de la courbe T/pCa vers la droite et une diminution de la pente pour les faibles concentrations calciques (n_2) après un vol spatial. La sensibilité calcique et la coopérativité des sites de faible affinité calcique du filament fin des fibres du gastrocnémien sont donc diminuées.

c) Soleus

Les résultats obtenus après le vol 1667 pour le soleus sont présentés figure 24. Les enregistrements montrent qu'une concentration calcique égale à pCa 6.2 induit une légère tension pour les deux lots d'animaux, S et F. Pour des concentrations calciques supérieures pCa 6.00, 5.8 et 5.6 la tension est toujours plus faible pour les animaux F. En outre, la tension se développe généralement plus rapidement sur les animaux F (voir illustration à pCa 5.8).

L'ensemble des résultats qui expriment les tensions en % de la tension maximale est résumé par la relation T/pCa. On constate que la courbe F est significativement déplacée vers des valeurs de concentrations plus fortes (pCa plus faibles). En effet, les valeurs du seuil d'activation chutent de 6.60 (S) à 6.40 (F) et celles de la pCa₅₀ de 5.90 (S) à 5.75 (F). Ces éléments suggèrent que l'affinité des protéines du soleus pour le calcium est diminuée après le vol de 7 jours. De plus, la figure 25 montre que les pentes de la courbe sont plus fortes après le vol : n_1 augmente de 1.66 (S) à 1.81 (F) et n_2 augmente de 3.00 à 3.14. Ceci traduit une augmentation de coopérativité des sites calciques du filament fin.

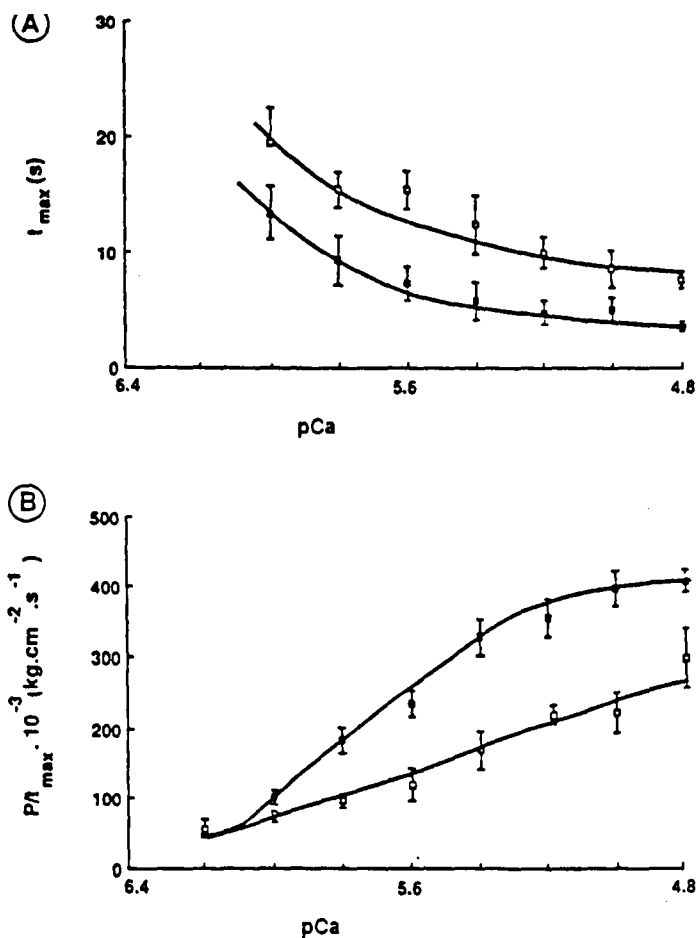


Figure 26 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/i_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions synchrones (■); vol (□).

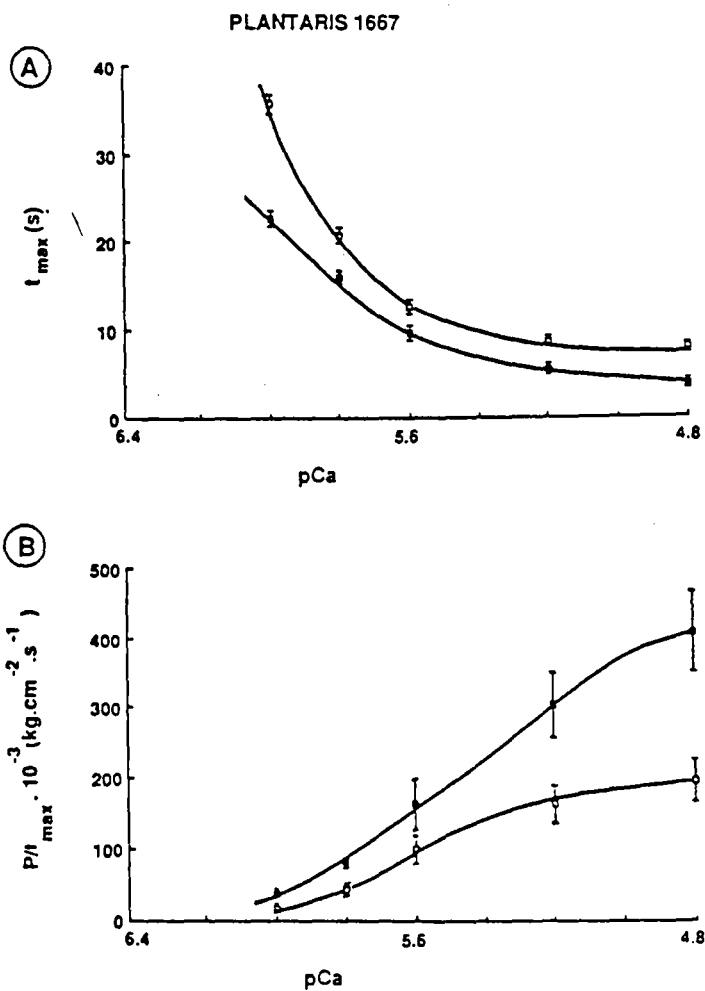


Figure 27 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/i_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions synchrones (■); vol (□).

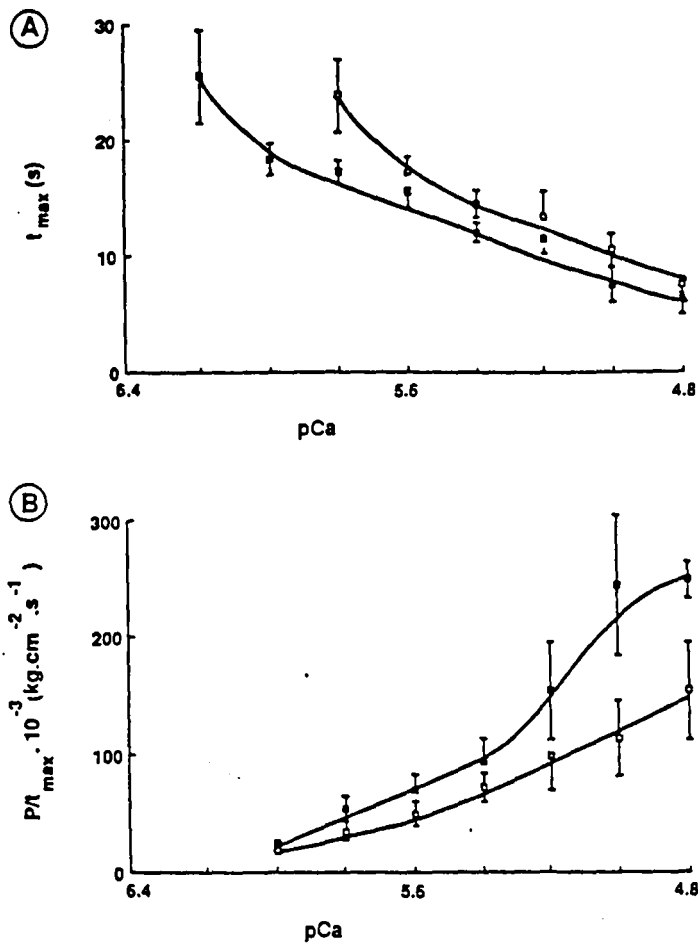


Figure 28 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/I_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions. synchrone (■); vol (□).

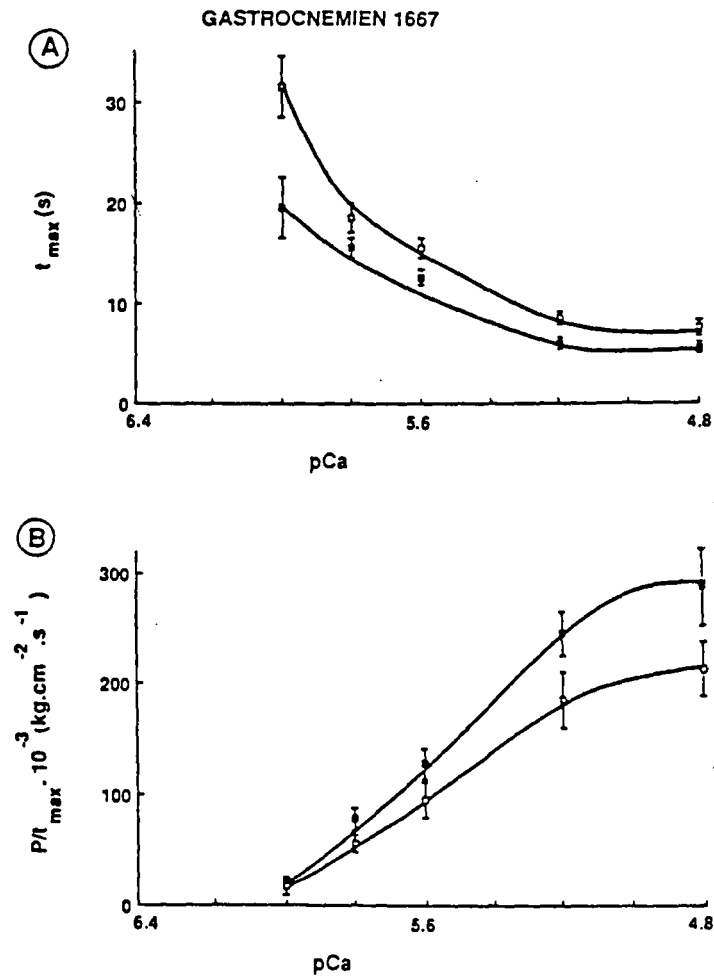


Figure 29 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/I_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions. synchrone (■); vol (□).

4. Cinétique de contraction

a) *Plantaris*

La figure 26 A montre l'évolution de la valeur du temps de mise sous tension en fonction de la valeur de la concentration calcique pour les animaux S et F. On constate que pour toutes les valeurs de pCa le temps de mise sous tension est plus élevé pour les animaux F, c'est-à-dire que la vitesse globale de mise sous tension est plus faible. Nous vérifions à nouveau que plus la tension est élevée (induite par une forte concentration calcique) plus le temps de mise sous tension est faible. Les résultats exprimés sous la forme du rapport P/t_{max} (figure 26 B) permettent de tenir compte de l'amplitude de la tension dans l'analyse de la cinétique. La relation confirme que la vitesse de contraction est plus faible après le vol. Cette différence est plus nette pour les tensions induites par des concentrations calciques élevées (pCa inférieure à 5.4).

La même analyse a été entreprise sur le plantaris après le vol de 7 jours (figure 27) et des résultats analogues à ceux observés pour le vol de 5 jours ont été enregistrés. Pour toutes les valeurs de concentrations calciques le temps de mise sous tension est plus élevé. La relation exprimant le rapport P/t_{max} en fonction de la concentration calcique (figure 27B) confirme ce résultat. En effet, toutes les valeurs de P/t_{max} des animaux synchrones sont inférieures à celles des animaux vol.

En conclusion, pour le muscle rapide plantaris, la cinétique de mise sous tension est ralentie après les vols spatiaux de faible durée.

b) *Gastrocnémien*

La relation entre le temps de mise sous tension et la valeur de pCa est illustrée figure 28A. Les valeurs de mise sous tension obtenues sur animaux F sont plus grandes que celles obtenues sur animaux S. Nous avons également construit la relation P/t_{max} en

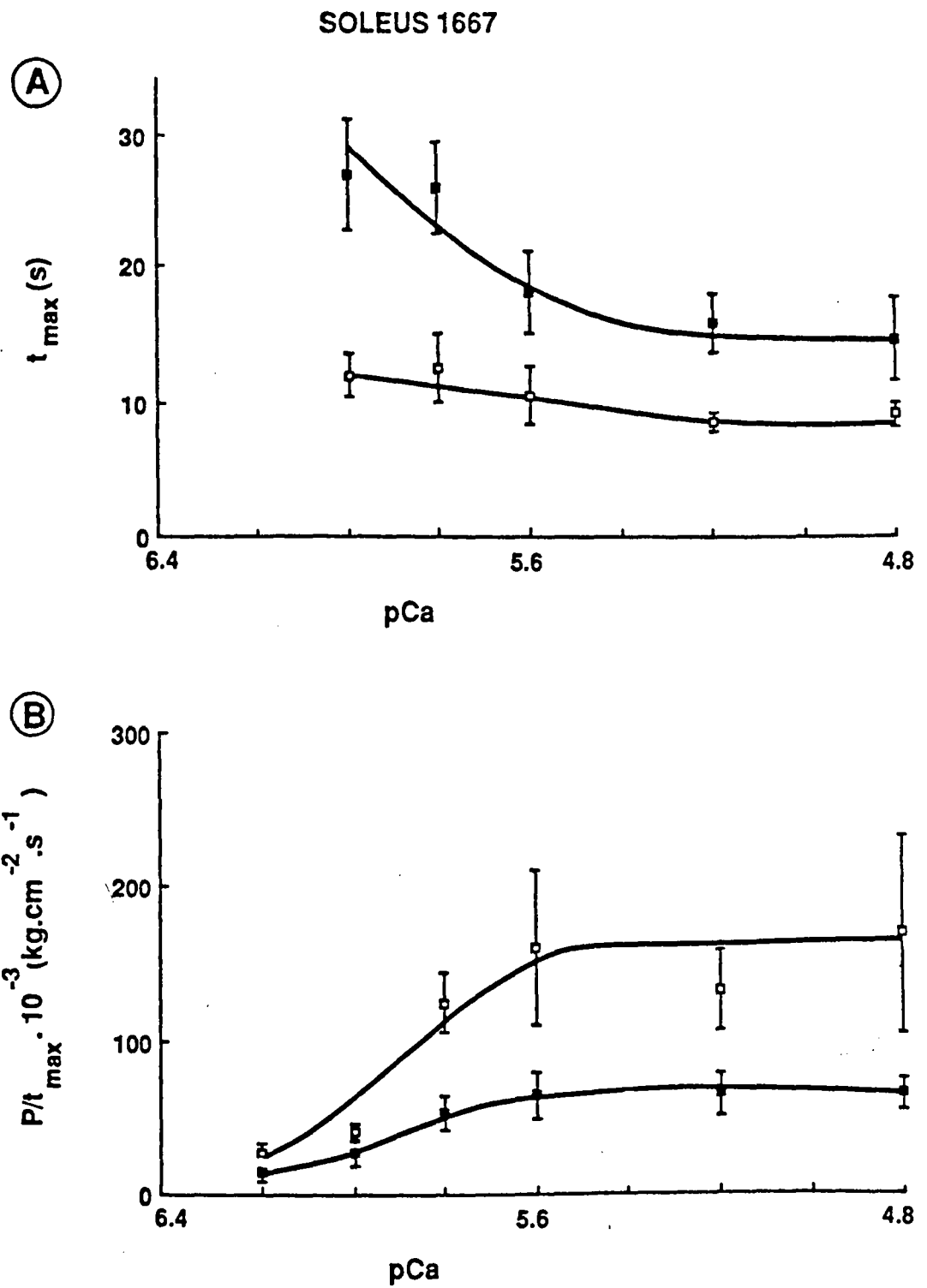


Figure 30 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/t_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions. synchrone (■); vol (□).

fonction de la pCa (figure 28B). Les valeurs de P/t_{max} chutent après le vol pour toutes les valeurs de pCa traduisant ainsi une diminution de la vitesse de développement des contractions des fibres.

Une étude similaire de la cinétique des contractions a été réalisée sur le gastrocnémien à la suite du vol 1667 de 7 jours. Les résultats sont résumés figure 29. Nous observons les mêmes résultats que pour le vol 1514. Les temps de mise sous tension sont augmentés après le vol et les valeurs de P/t_{max} sont réduites.

En conclusion, après 5 ou 7 jours de vol spatial, les résultats sont semblables et suggèrent une diminution de la vitesse de la contraction.

c) *Soleus*

Les mesures des temps de mise sous tension sont exprimées pour toutes les valeurs de pCa à la figure 30A. t_{max} varie de 25 secondes (pour une faible concentration calcique) à 12 secondes (pour une forte concentration calcique) pour les témoins synchrones. Ces valeurs restent toujours supérieures à celles mesurées pour les animaux vol. Il apparaît donc que la mise sous tension des fibres du soleus se fait plus rapidement après un vol spatial. Afin de tenir compte de l'état de tension, nous avons mesuré le paramètre P/t_{max} . Les résultats sont présentés dans la partie B de la figure 30. On retrouve sous cette forme une différence allant dans le sens d'une accélération de la vitesse globale de mise sous tension, la différence étant la plus significative pour les fortes concentrations.

En conclusion, à l'opposé du plantaris et du gastrocnémien pour lesquels la vitesse de contraction diminue, le soleus présente en conditions de microgravité des caractéristiques d'un muscle qui se contracte plus rapidement.

B - VOL DE LONGUE DUREE : BIOCOSMOS 1887

Le vol 1887 présentait l'avantage d'être long de 13 jours. En effet, la bibliographie rapporte que les effets observés dans les cas d'atrophie musculaire sont maximaux vers le 13ème jour (FALEMPIN et coll., 1990). Cependant, en raison de difficultés techniques, les animaux n'ont été récupérés que deux jours après l'atterrissage du biosatellite (voir matériel et méthodes). De façon à évaluer l'intensité d'une éventuelle récupération et permettre alors une meilleure compréhension du vol, une expérience de contrôle a préalablement été réalisée. Il s'agissait de provoquer une atrophie de 13 jours (à partir d'un modèle que nous décrivons dans la suite du paragraphe) puis de laisser récupérer les animaux pendant 48 heures avant de les sacrifier.

Dans un premier temps, nous allons donner les résultats enregistrés sur l'expérience contrôle, puis dans une seconde partie nous décrivons les résultats obtenus sur le vol 1887. Les expérimentations nécessaires à la première partie ont été essentiellement réalisées par M^{lle} L. STEVENS qui fait également partie de l'équipe du Laboratoire de Physiologie des Structures Contractiles. Les résultats sont présentés ici avec son accord.

- EXPERIENCE CONTROLE -

Le modèle simulant actuellement le mieux les conditions de microgravité est appelé modèle HS (pour Hindlimb Suspension) ou modèle de "rat suspendu". Ce modèle a pour but de générer une atrophie musculaire en réduisant l'activité hypokinésique des muscles qu'ils soient de type rapide ou lent, impliqués dans le mouvement ou dans le maintien de la posture. La technique consiste à soulager les pattes postérieures de la charge du poids du corps. Ceci est réalisé en soulevant la partie postérieure de l'animal, ce dernier conservant la faculté de se déplacer dans la cage grâce à ses membres antérieurs et à un système de poulies.

Cette expérience de contrôle a pour but de vérifier que les deux jours dits "de récupération" n'ont pas induit d'effets contrariant ou atténuant ceux attendus après un vol spatial ce qui rendrait très délicate une analyse fiable du vol biocosmos 1887. L'expérience a été réalisée sur le plantaris et sur le soleus représentatifs des muscles rapide et lent respectivement.

Pour cette étude, nous disposons donc d'animaux vivarium, d'animaux suspendus 15 jours et d'animaux suspendus 15 jours puis désuspendus 48 heures avant les prélèvements.

1. Tension maximale

Le tableau 10 montre les mesures des diamètres et de la forme maximale développée par les fibres de plantaris et de soleus, pour les animaux vivarium (VIV.), suspendus (SUSP.) et suspendus + 48 heures (S.+48H).

<u>PLANT.</u>	n	diamètre μm	<u>tension maximale</u>	
			mg	kg.cm ⁻²
VIV.	8	78.93 \pm 4.95	70.47 \pm 11.90	1.62 \pm 0.19
SUSP.	8	68.50 \pm 3.24	63.07 \pm 8.00	1.65 \pm 0.50
S.+48H	9	72.20 \pm 3.65	67.18 \pm 6.00	1.48 \pm 0.15

SOLEUS

VIV.	10	88.71 \pm 6.50	33.71 \pm 5.60	0.55 \pm 0.04
SUSP.	12	59.72 \pm 1.90	19.10 \pm 1.90	0.68 \pm 0.06
S.+48H	13	63.42 \pm 2.60	23.13 \pm 3.12	0.75 \pm 0.10

Tableau 10 : Diamètre des fibres et force maximale développée par le plantaris et le soleus dans l'expérience de contrôle réalisée sur un modèle de simulation.

Ce tableau montre que le plantaris ne présente après suspension aucune variation significative du diamètre de ses fibres ou des tensions qu'elles peuvent générer. Ce muscle n'est donc pas sensible à une suspension de 15 jours. Les 48 heures au sol ne changent rien et les valeurs de diamètre et de force ne sont pas significativement différentes de celles obtenues pour les animaux suspendus.

En ce qui concerne le soleus, la situation est différente. En effet, on retrouve comme pour le vol 1667 une diminution (ici de 37 %) de la taille des fibres ($p < 0.001$) après suspension. Cette chute de diamètre est accompagnée d'une diminution de 43 % de la force isométrique maximale exprimée en mg ($p < 0.001$). Ces deux résultats caractérisent parfaitement un état atrophique similaire à celui observé consécutivement au vol 1667. De la même façon, aucune différence significative de la force maximale ramenée à l'unité de section n'a été enregistrée.

Après une récupération de deux jours, la valeur moyenne des diamètres augmente légèrement de 6 % mais reste significativement plus faible ($p < 0.001$) que celle des animaux vivarium. Les valeurs des tensions maximales exprimées en mg sont identiques pour les deux groupes d'animaux et aucune différence significative n'apparaît entre les animaux suspendus et suspendus + 48 heures.

En conclusion, on ne détecte aucune atrophie pour le plantaris après une suspension de 15 jours. En revanche, sur le soleus on note une atrophie que deux jours de désuspension ne comblent pas, même si un début de récupération apparaît. En conséquence, on peut raisonnablement penser que sur ce muscle les effets du vol 1887 sont demeurés décelables mais peuvent apparaître atténués par les deux jours où les animaux sont restés à terre avant le prélèvement des biopsies.

2. Relation T/pCa

La relation tension/pCa et sa version linéarisée sont présentées pour les deux muscles figures 31 et 32. Puisque dans cette expérience, seule l'éventuelle récupération nous intéresse, nous allons présenter les résultats observés entre les animaux suspendus et suspendus + 48 heures.

a) *Plantaris*

L'analyse de la relation T/pCa des fibres de plantaris d'animaux suspendus et suspendus + 48 heures montre que les deux jours de désuspension n'ont eu aucun effet (figure 31). La valeur de la pCa_{50} reste égale à 6.00 pour les deux types d'animaux ce qui signifie que la sensibilité calcique des protéines contractiles ne change pas. Les valeurs de n_1 et n_2 restent respectivement égales à 2.54 et 4.07.

b) *Soleus*

La figure 32, présente la relation T/pCa obtenue sur le soleus pour les animaux suspendus et suspendus + 48 heures. Le profil des courbes est identique. La valeur de la pCa_{50} est égale à 6.02 pour les deux lots d'animaux. Les coefficients n_1 et n_2 ne varient pas et sont respectivement égaux à 2.15 et 2.15.

3. Analyse des cinétiques de contraction

Une analyse des cinétiques des contractions a été réalisée de façon à parachever cette expérience contrôle.

a) *Plantaris*

Les résultats obtenus sur ce muscle ont été résumés à la figure 33. On constate que les valeurs du rapport P/t_{max} entre les deux lots d'animaux ne sont jamais différentes. Il apparaît donc que la durée de récupération de 48 heures n'a pas suffi pour induire sur

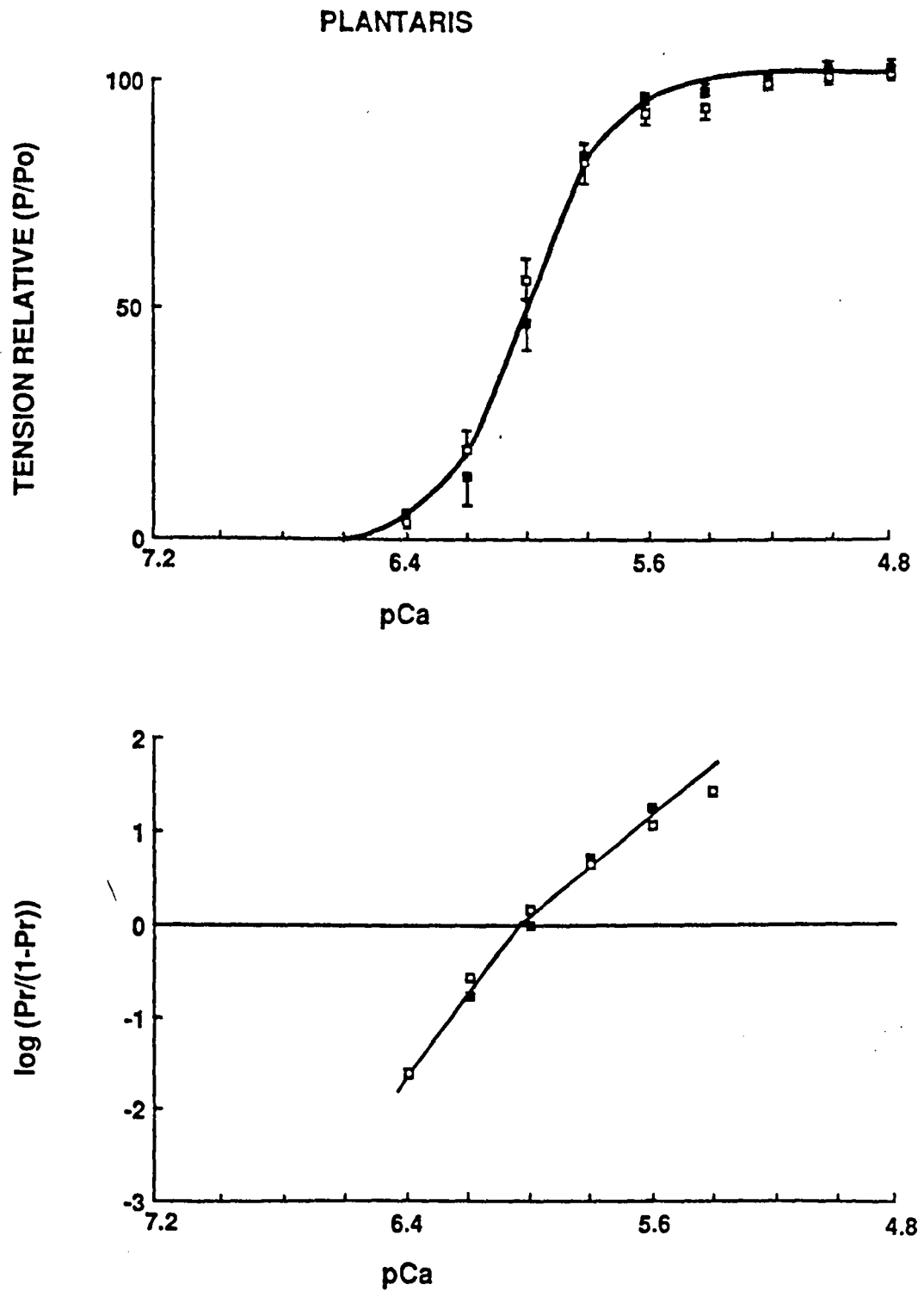


Figure 31 : Relation T/pCa (partie supérieure) et sa version linéarisée (partie inférieure) correspondant aux fibres de plantaris pour les animaux de l'expérience contrôlée ; suspendu (■) ; suspendu + 48 H (□).

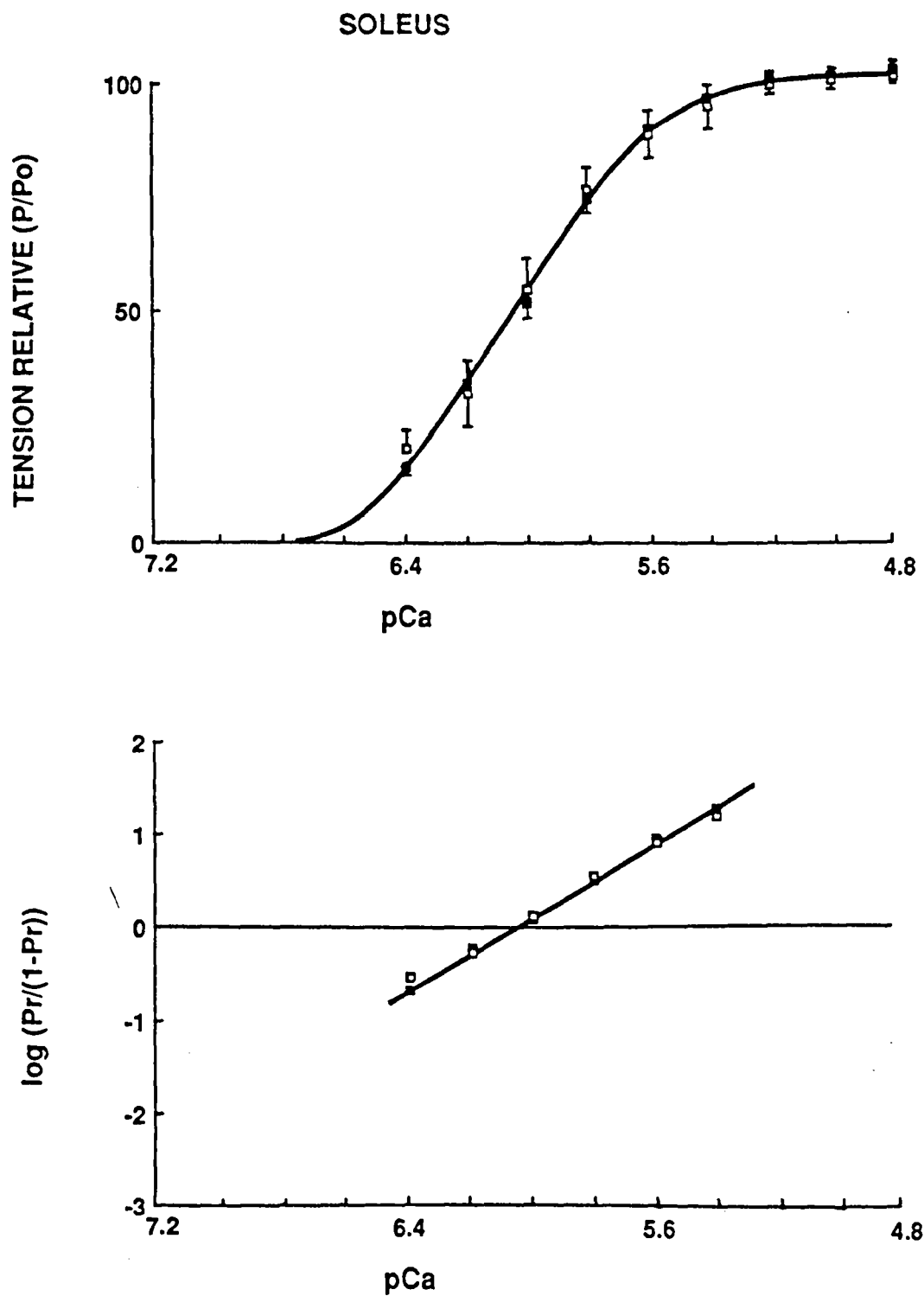


Figure 32 : Relation T/pCa (partie supérieure) et sa version linéarisée (partie inférieure) correspondant aux fibres de soleus pour les animaux de l'expérience contrôlée ; suspendu (■) ; suspendu + 48 H (□).

ce muscle un effet propre éventuellement capable de masquer l'effet du vol lui-même.

b) Soleus

La figure 34 montre la cinétique de contraction de ce muscle pour trois lots d'animaux. Il nous a paru intéressant, car représentatif du but de cette expérience, de présenter ici les résultats observés pour les animaux vivarium. En effet, il s'agit du seul paramètre pour lequel la réponse obtenue pour les animaux suspendus est différente de celle obtenue pour les animaux suspendus + 48 H.

On constate une chute significative de la valeur de P/t_{max} après la suspension pour toutes les pCa. La différence devient moins grande lorsque les animaux ont été désuspendus pendant 48 heures mais reste cependant significative. La vitesse globale de contraction augmente donc après la suspension et 2 jours de désuspension sont suffisants pour induire une récupération partielle de 60 %.

Ceci veut donc dire que les résultats que nous obtiendrons pour les cinétiques de contraction du soleus après le vol de 13 jours seront probablement sous évalués et que les variations auraient été plus importantes que celles que nous pourrions décrire.

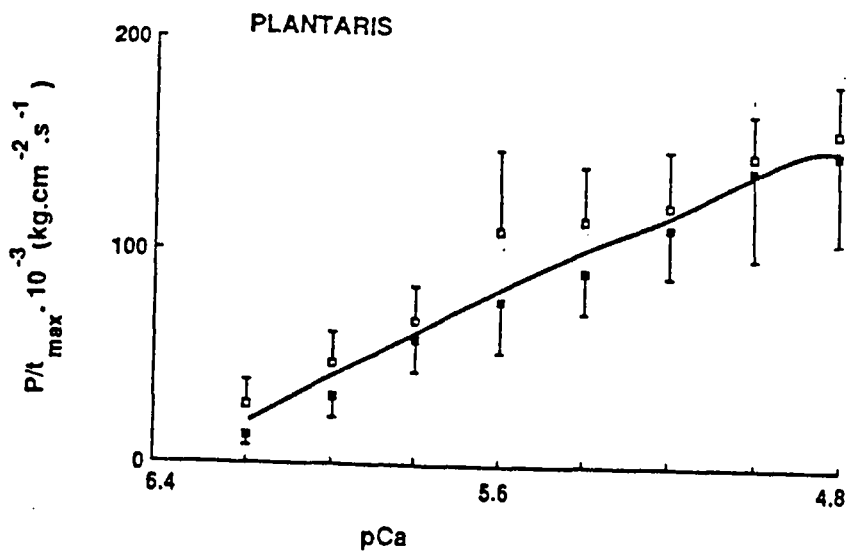


Figure 33 : Relation entre la valeur de P/l_{max} et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions ; muscle plantaris. Animaux suspendu (■) et suspendu + 48 H (□).

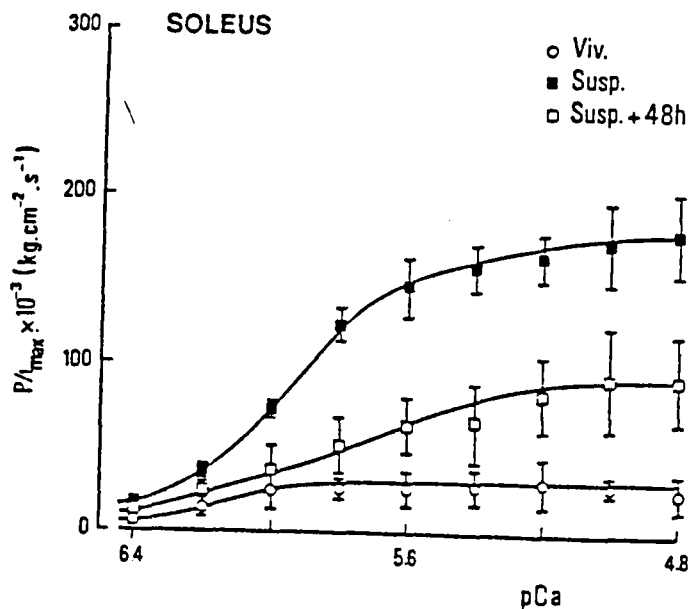


Figure 34 : Relation entre la valeur de P/l_{max} et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions ; muscle soleus. Animaux vivarium (○), suspendu (■) et suspendu + 48 H (□).

- VOL 1887 -1. Masse des muscles

Les rats pesaient au départ de chaque expérience entre 310 et 340 g. Ils ont été de nouveau pesés au moment du prélèvement des muscles. Les animaux vivarium et synchrone ont normalement grossi pendant les 14 jours qu'ont duré les expériences. En revanche, pendant la même période, les animaux vol n'ont pris pratiquement aucun poids : 311.50 ± 3.69 g avant le vol et 317.70 ± 8.40 g après le vol.

Comme pour les vols de 5 et 7 jours, les muscles des animaux ont été pesés. Les résultats sont résumés dans le tableau 11.

<u>1887</u>	PLANTARIS	GASTROCNEMIEN	SOLEUS
VIV. (V)	311.00 ± 11.80	1002.00 ± 20.94	153.21 ± 6.30
SYN. (S)	324.41 ± 4.55	992.82 ± 36.81	149.00 ± 5.75
VOL (F)	313.45 ± 7.84	900.80 ± 32.23 a,b	168.80 ± 9.80

Tableau 11 : Poids des muscles (en mg) après l'expérience biocosmos 1887.

a : Différence significative entre les animaux vol et vivarium.

b : Différence significative entre les animaux vol et synchrone.

La différence de masse des trois muscles entre les animaux vivarium et synchrone n'est pas significative. La masse du plantaris et soleus des animaux vol est identique à celle des animaux témoins. Une diminution significative a été trouvée pour le gastrocnémien.

2. Tension maximale

a) *Plantaris*

Le tableau 12 résume les résultats obtenus à la suite du vol 1887.

<u>1887</u>	n	diamètre μm	<u>tension maximale</u>	
			mg	kg.cm^{-2}
SYN.(S)	7	66.07 ± 2.30	46.32 ± 7.24	1.39 ± 0.25
VOL (V)	15	64.08 ± 2.85	42.39 ± 6.11	1.39 ± 0.22

Tableau 12 : Caractéristiques des fibres musculaires de plantaris après un vol de 13 jours (biocosmos 1887)

Dans ce vol, nous n'avons pas pu réaliser de manipulations concernant les animaux vivarium. Cependant, la comparaison entre les animaux synchrone et vol ne montre aucune différence significative aussi bien pour des fibres que pour la force développée. Puisque nous avons vu que la récupération n'a pas eu d'influence sur ce muscle, nous pouvons conclure que 13 jours de vol spatial n'induisent pas davantage d'atrophie sur ce muscle rapide que des vols de 5 et 7 jours.

b) *Gastrocnémien*

Le tableau 13 résume les résultats :

1887	n	diamètre μm	tension maximale	
			mg	kg.cm ⁻²
VIV.(V)	3	100.00 ± 8.33	50.00 ± 11.45	1.62 ± 0.14
SYN.(S)	10	91.25 ± 2.82	130.15 ± 14.10	1.95 ± 0.14
VOL (F)	11	80.47 ± 3.64 ^b	98.07 ± 5.30 ^b	2.08 ± 0.14

Tableau 13 : Caractéristiques des fibres musculaires de gastrocnémien après un vol de 13 jours. ^b : différence significative entre les animaux vol et synchrone.

Les valeurs obtenues sur le vivarium sont peu nombreuses et sont présentées dans le tableau 13 pour indication. Cependant, aucune variation significative n'apparaît entre ces valeurs et celles du synchrone. En revanche, lorsqu'on compare les résultats des animaux vol à ceux des animaux synchrone, on constate une chute significative de 11 % pour le diamètre des fibres ($p < 0.05$) et de 24 % pour la force maximale exprimée en mg ($p < 0.05$). Cette différence disparaît lorsque la force est ramenée à l'unité de surface. En conclusion, sur ce muscle rapide à fonction antigravitaire, on retrouve le même résultat que pour le vol 1514 mais de façon plus marquée, à savoir une perte de la force musculaire associée à une chute du diamètre des fibres.

c) Soleus

Le tableau 14 présente les résultats obtenus sur ce muscle.

1887	n	diamètre μm	tension maximale	
			mg	kg.cm ⁻²
SYN.(S)	9	78.33 ± 6.50	41.39 ± 5.27	0.96 ± 0.10
VOL (F)	14	46.07 ± 1.92 ^b	16.89 ± 1.45 ^b	1.08 ± 0.15

Tableau 14 : Caractéristiques des fibres musculaires de soleus après un vol de 13 jours. ^b : différence significative entre les animaux vol et synchrone.

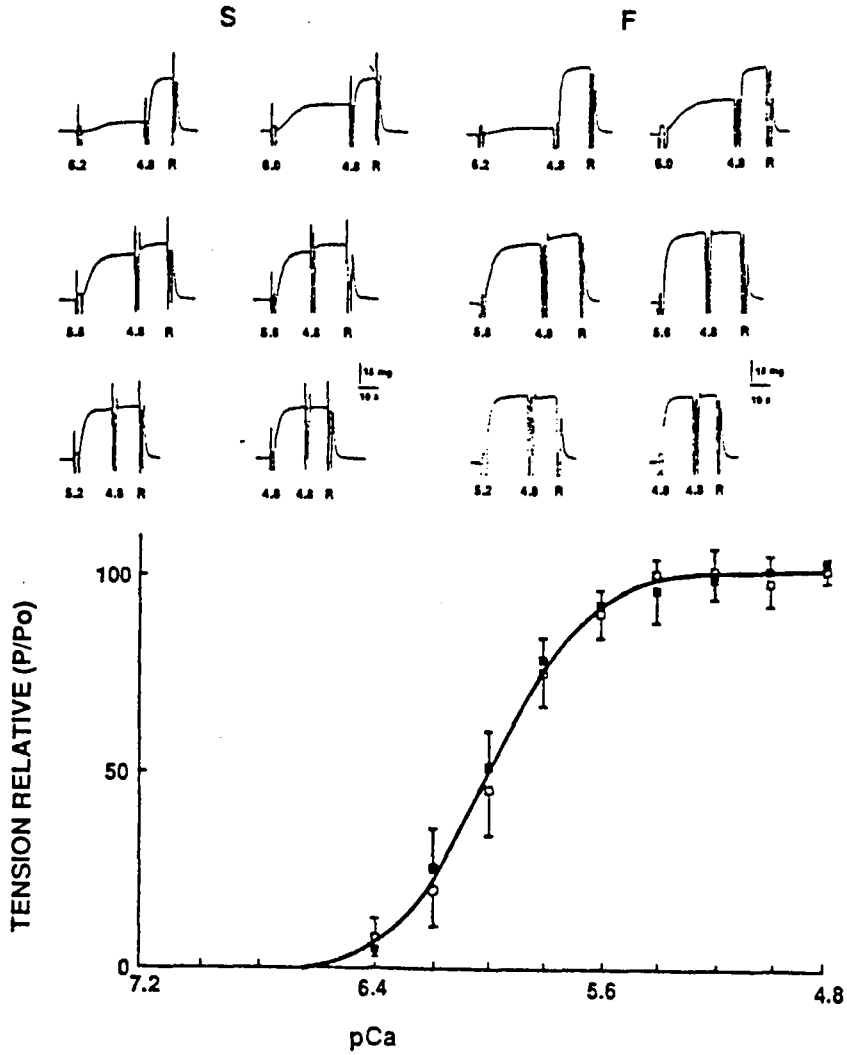


Figure 35 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrones (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrone (■); vol (□).

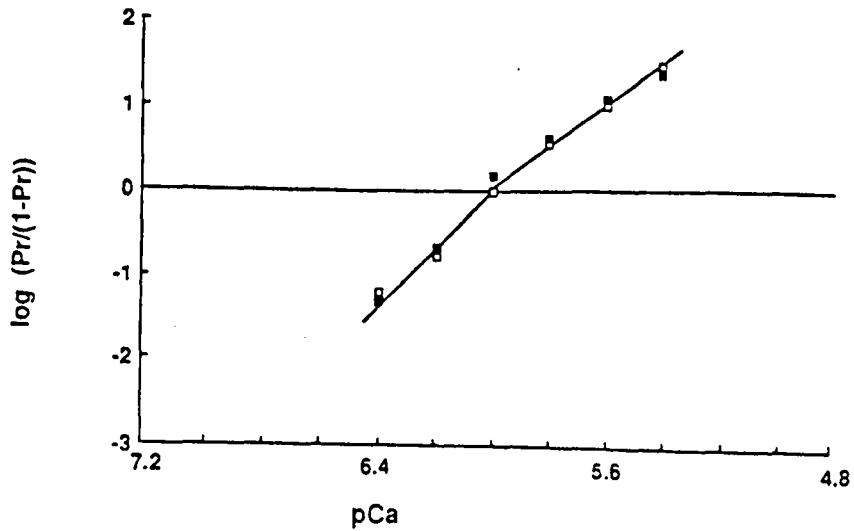


Figure 36 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 35. Muscle plantaris, vol 1887 ; synchrone (■); vol (□).

Après 13 jours de vol, une nette atrophie apparaît sur ce muscle : diminution de 41 % du diamètre des fibres et de 60 % de la force exprimée en mg. En revanche aucune modification n'apparaît entre les animaux S et F lorsque l'amplitude de la tension est ramenée à l'unité de section (kg.cm^{-2}). Par conséquent, cette diminution de force peut être directement corrélée à la diminution de section.

Ce résultat est conforme à celui décrit pour le vol 1667. Les pertes de force et de diamètre sont cependant plus importantes lors de ce vol de 13 jours en dépit de la récupération suggérée par les résultats obtenus sur l'expérience contrôle.

En conclusion : Après un vol spatial de 13 jours avec une récupération possible de 48 heures, on observe : - une absence d'atrophie sur le plantaris, muscle typiquement rapide impliqué dans le mouvement, - une atrophie sur le gastrocnémien, autre muscle rapide mais à fonction antigravitaire, - une atrophie, enfin plus marquée sur le soleus, muscle postural typiquement lent à fonction antigravitaire. L'atrophie se caractérise par une perte de force corrélée à une chute du diamètre des fibres. En outre, les effets sont plus marqués que sur les vols de 5 et 7 jours bien que la récupération de deux jours ait dû minimiser les résultats.

3. Relation T/pCa

a) *Plantaris*

Les figures 35 et 36 présentent les résultats obtenus pour le plantaris sur les animaux synchrone et vol. Après le vol, la position des courbes ne varie pas. La valeur du seuil reste égal à 6.5 et celle de la pCa_{50} à 6.00. L'affinité apparente des protéines contractiles pour le calcium n'est donc pas modifiée. Les coefficients de Hill, traduisant la pente de la relation ne varient pas davantage et restent égaux à 2.50 et 3.50 pour respectivement n_1 et n_2 .

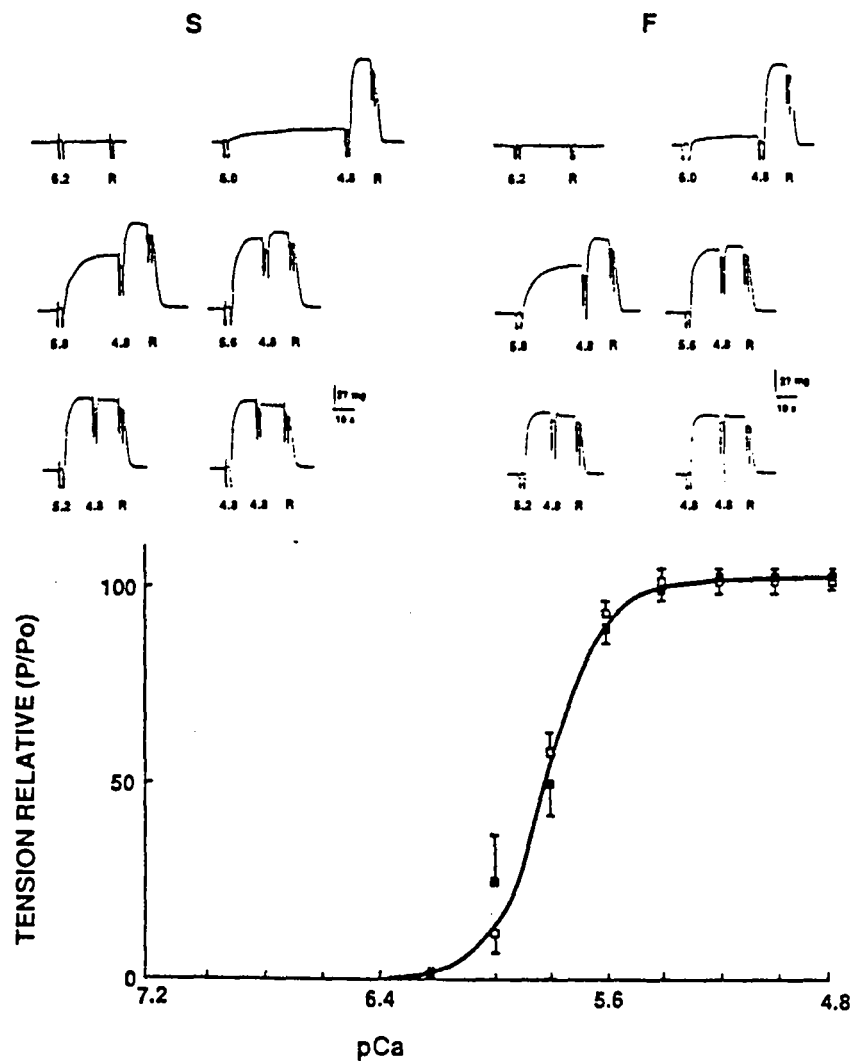


Figure 37 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrone (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrone (■); vol (□).

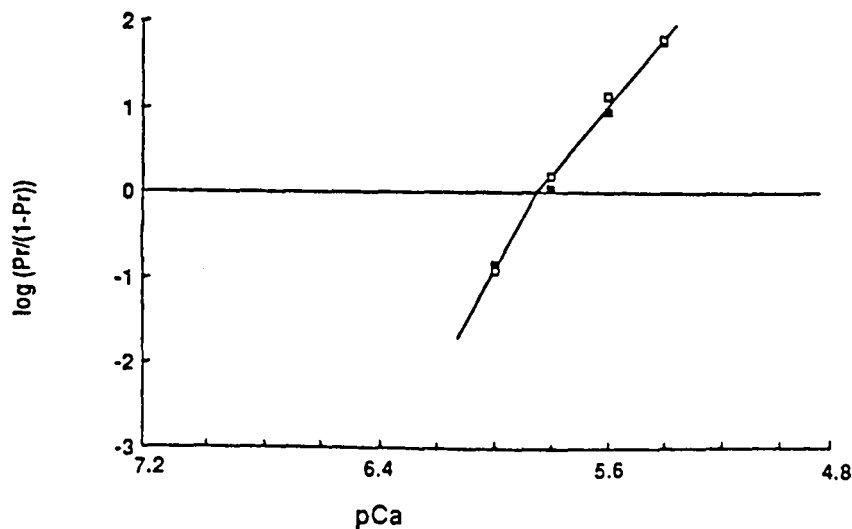


Figure 38 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 37. Muscle gastrocnémien, vol 1887 ; synchrone (■); vol (□).

b) Gastrocnémien

Les relations tension/pCa obtenues pour le gastrocnémien sont consignées dans les figures 37 et 38. Les amplitudes des tensions développées par les deux groupes d'animaux pour une concentration calcique donnée ne sont pas significativement différentes. Le seuil d'activation calcique est égal à 6.2 pour S et F et l'affinité calcique apparente n'est pas modifiée après le vol ($pCa_{50} = 5.81$ et 5.79 pour S et F respectivement) et les valeurs des pentes ne changent pas de façon significative ($n_1 = 3.95$ et $n_2 = 5.26$). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus pour le vol 1667 pour lequel nous avons abouti à une diminution de l'affinité apparente des protéines contractiles pour le calcium. Nous n'avons pas pu effectuer une expérience contrôle sur ce muscle et de ce fait nous ne savons pas si l'absence de différence est liée à une éventuelle récupération ou s'il faut l'attribuer au caractère plus hétérogène de ce muscle.

c) Soleus

La relation T/pCa (figures 39 et 40) est déplacée dans le sens de concentrations calciques plus fortes (pCa plus faibles). En effet, la pCa_{50} chute de 6.06 à 5.85 respectivement pour les animaux S et F soit une diminution de 0.2 unité pCa. Ceci traduit une baisse d'affinité apparente des protéines contractiles pour le calcium. En outre, le calcul de pente montre que n_1 est égal à 2.00 et 2.03 et que n_2 s'accroît légèrement de 2.50 à 2.85 pour les animaux S et F respectivement.

Comme l'expérience contrôle n'avait montré aucune variation sur l'animal suspendu après récupération, on peut considérer que la diminution d'affinité observée doit être très proche de celle que nous aurions obtenue si le vol s'était déroulé sans difficulté. Il faut néanmoins noter une plus grande variabilité dans les résultats de ce vol que dans les précédents.

En résumé : A la suite du vol 1887, la relation tension/pCa n'est pas modifiée pour le muscle plantaris de type rapide, et donne

SOLEUS 1887

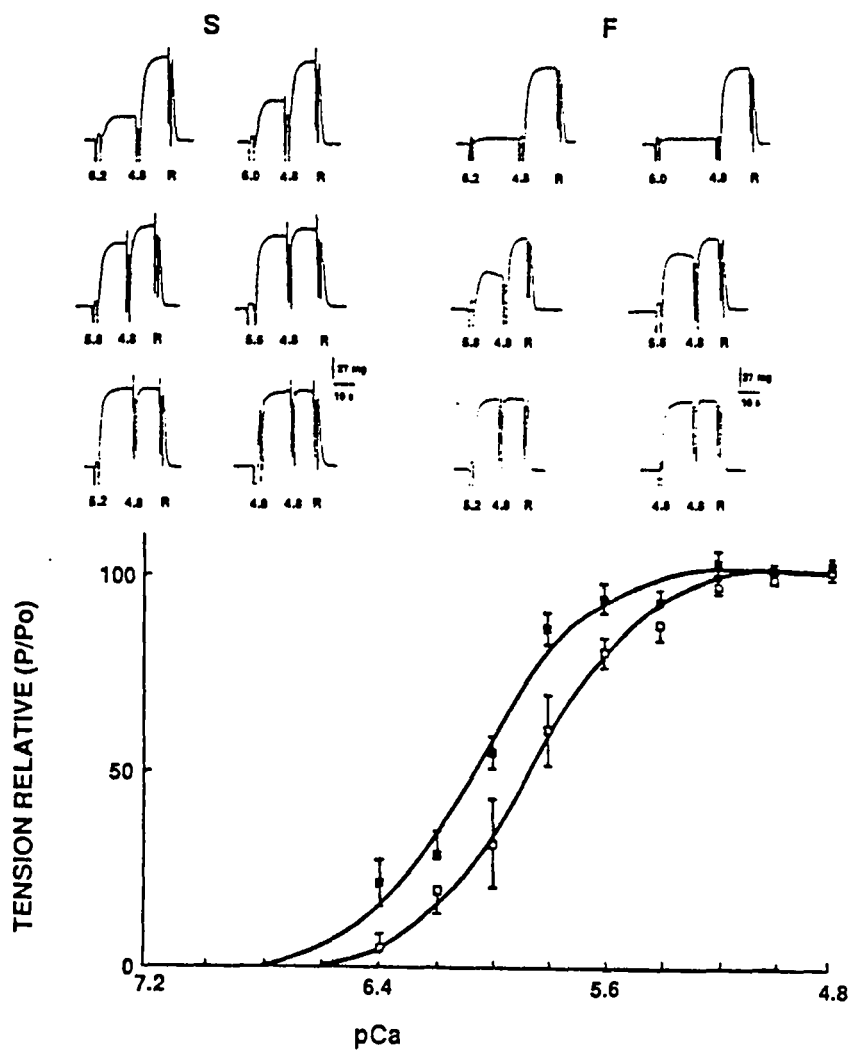


Figure 39 : Enregistrements des contractions obtenues sur animaux synchrones (S) et vol (F) (partie supérieure) et relations T/pCa correspondantes (partie inférieure); synchrones (■); vol (□).

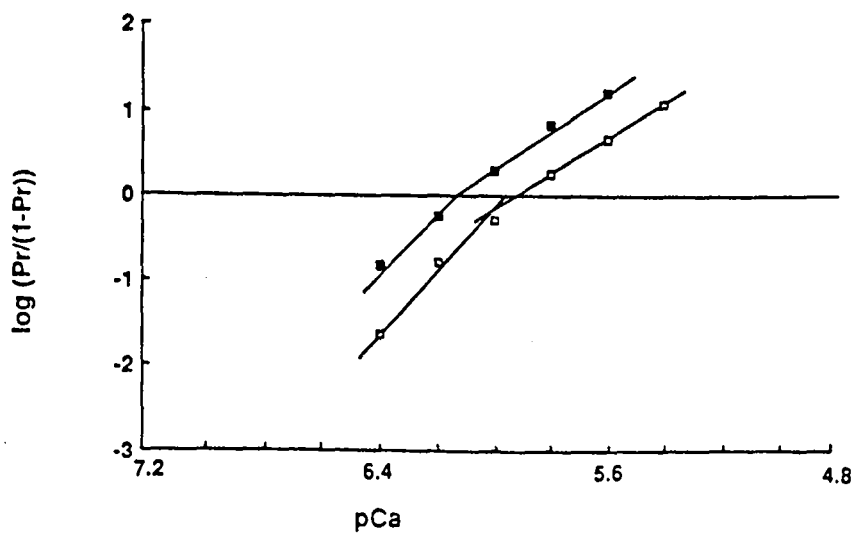


Figure 40 : Linéarisation de la relation T/pCa de la figure 39. Muscle soleus, vol 1887 ; synchrones (■); vol (□).

donc les mêmes résultats que pour les deux vols précédents. Le gastrocnémien latéral, muscle rapide également mais à la fonction plus antigravitaire, présente un résultat différent de ceux obtenus sur les autres vols puisqu'il semble peu affecté par ce vol. Le soleus, muscle lent, présente un déplacement vers la droite et une légère augmentation de la pente de la relation T/pCa comme pour le vol 1667.

4. Cinétiques de mise sous tension

a) *Plantaris*

La figure 41A présente la relation entre le temps de mise sous tension et la concentration calcique utilisée pour induire la contraction. On constate que la valeur de t_{max} augmente, quelle que soit la solution pCa utilisée. Ceci correspond donc à un ralentissement global de la contraction. Nous retrouvons ici les résultats obtenus pour les deux vols précédents. Ce résultat est confirmé (figure 41B) par l'étude du rapport P/t_{max} . Celui-ci chute significativement après le vol surtout en ce qui concerne les contractions induites par de fortes valeurs de concentrations calciques (pCa 4.8). Comme l'analyse des cinétiques réalisée sur l'expérience contrôle n'a montré aucune récupération, nous pouvons estimer que la vitesse globale de contraction diminue après le vol.

b) *Gastrocnémien*

La figure 42 résume les résultats obtenus sur le gastrocnémien. L'analyse du temps de mise sous tension en fonction de la pCa montre qu'aucune variation significative n'a été enregistrée à la suite de ce vol. La relation utilisant le paramètre P/t_{max} donne le même résultat. Une fois encore nous ne retrouvons pas ici les résultats obtenus sur ce muscle pour les vols de 5 et 7 jours puisque pour ces derniers une diminution de vitesse avait été observée.

PLANTARIS 1887

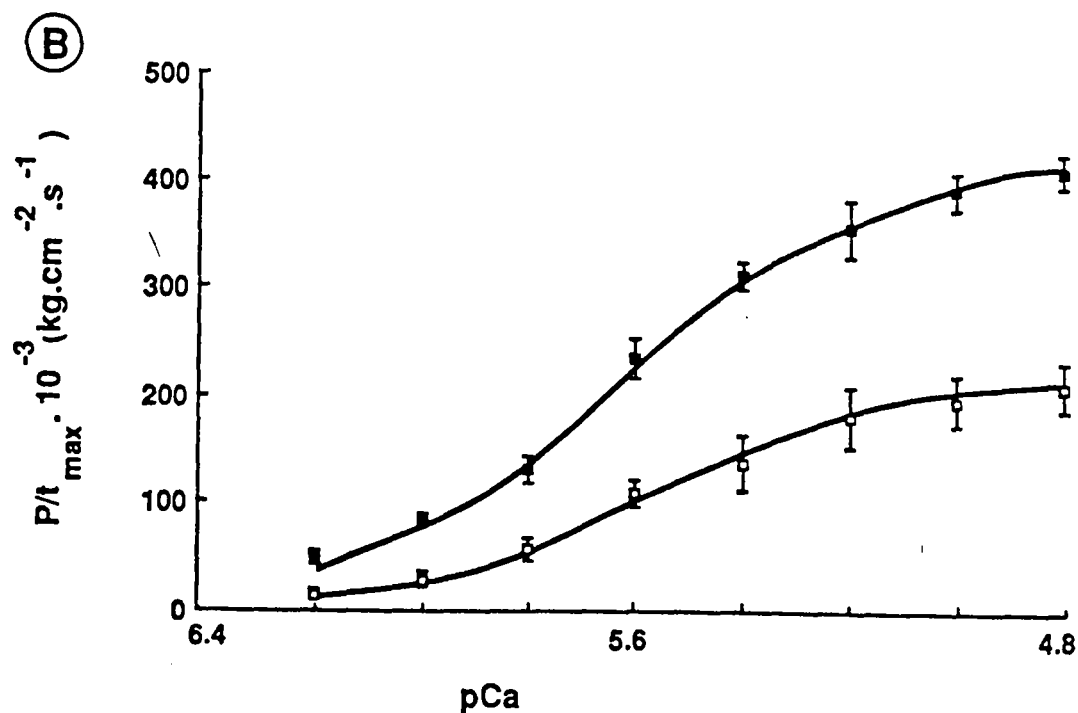
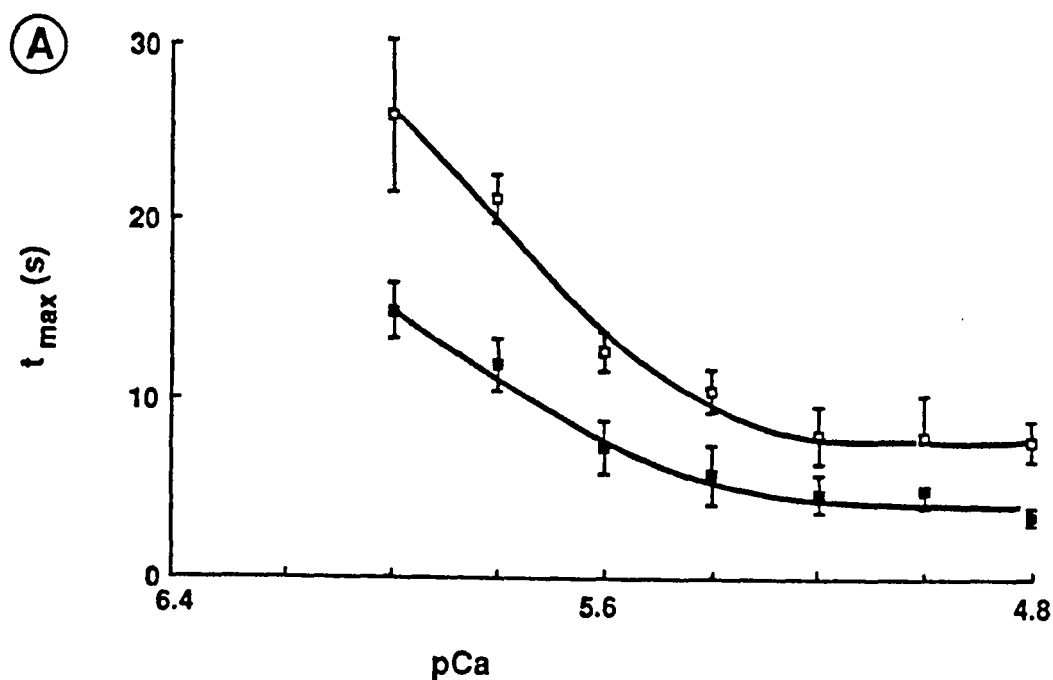


Figure 41 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/t_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions synchrones (■); vol (□).

GASTROCNEMIEN 1887

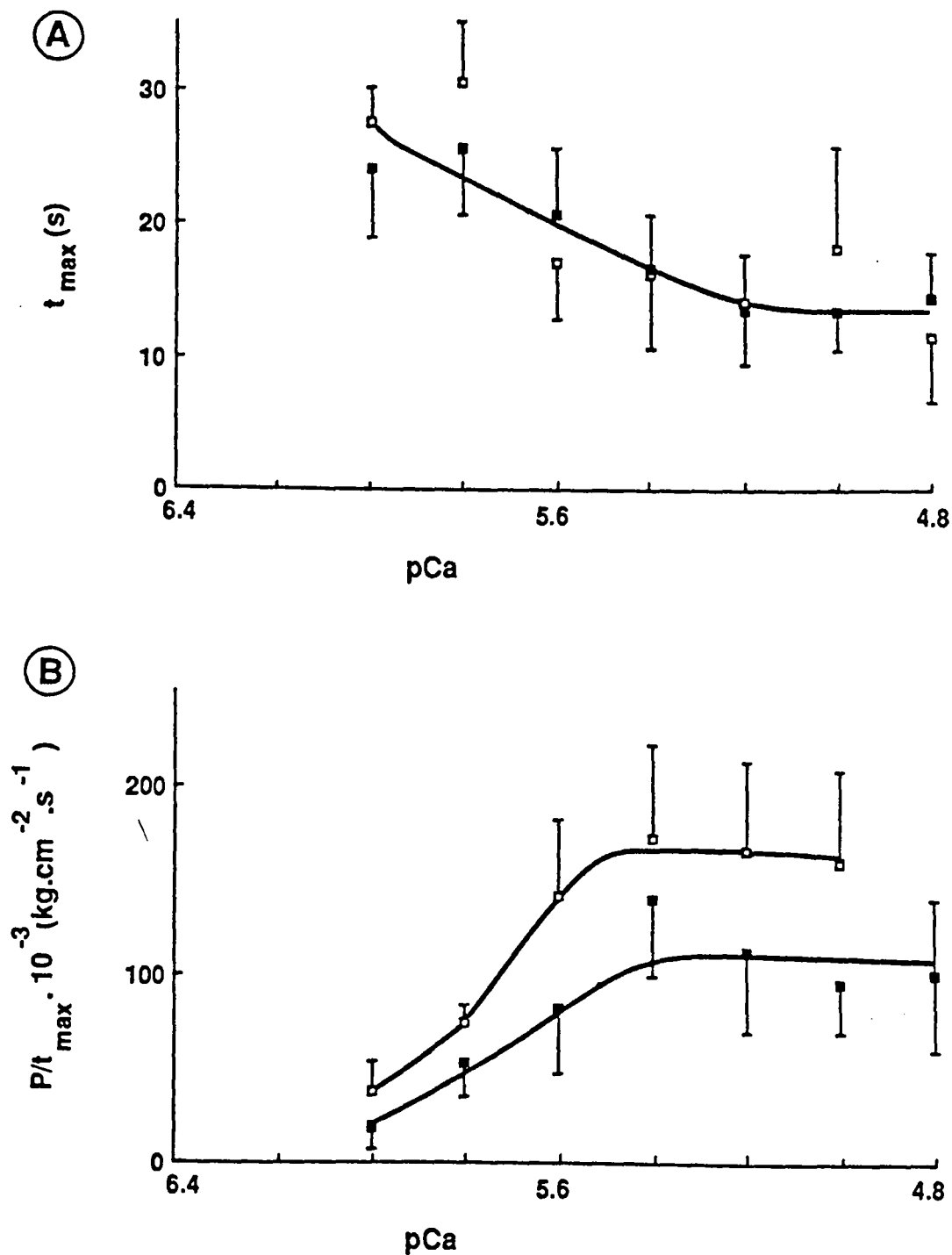


Figure 42 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/t_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions synchrones (■); vol (□).

c) Soleus

Sur ce muscle lent, le temps nécessaire pour atteindre le maximum de la tension (t_{\max}) est diminué pour toutes les valeurs de concentration calcique (figure 43A) après le vol. Afin de tenir compte de l'amplitude des tensions, le rapport P/t_{\max} a été étudié (figure 43B). Cette relation confirme les résultats cités ci-dessus. Le rapport P/t_{\max} est significativement accru, malgré tout, de façon moins importante que pour le vol 1667, pourtant moins long. Ce paradoxe apparent pourrait être expliqué par l'effet de récupération décrit dans l'expérience contrôle, empêchant ainsi de mesurer l'intégralité du phénomène. Il n'en demeure pas moins, que comme précédemment, la vitesse globale de mise sous tension apparaît plus rapide après le vol spatial.

SOLEUS 1887

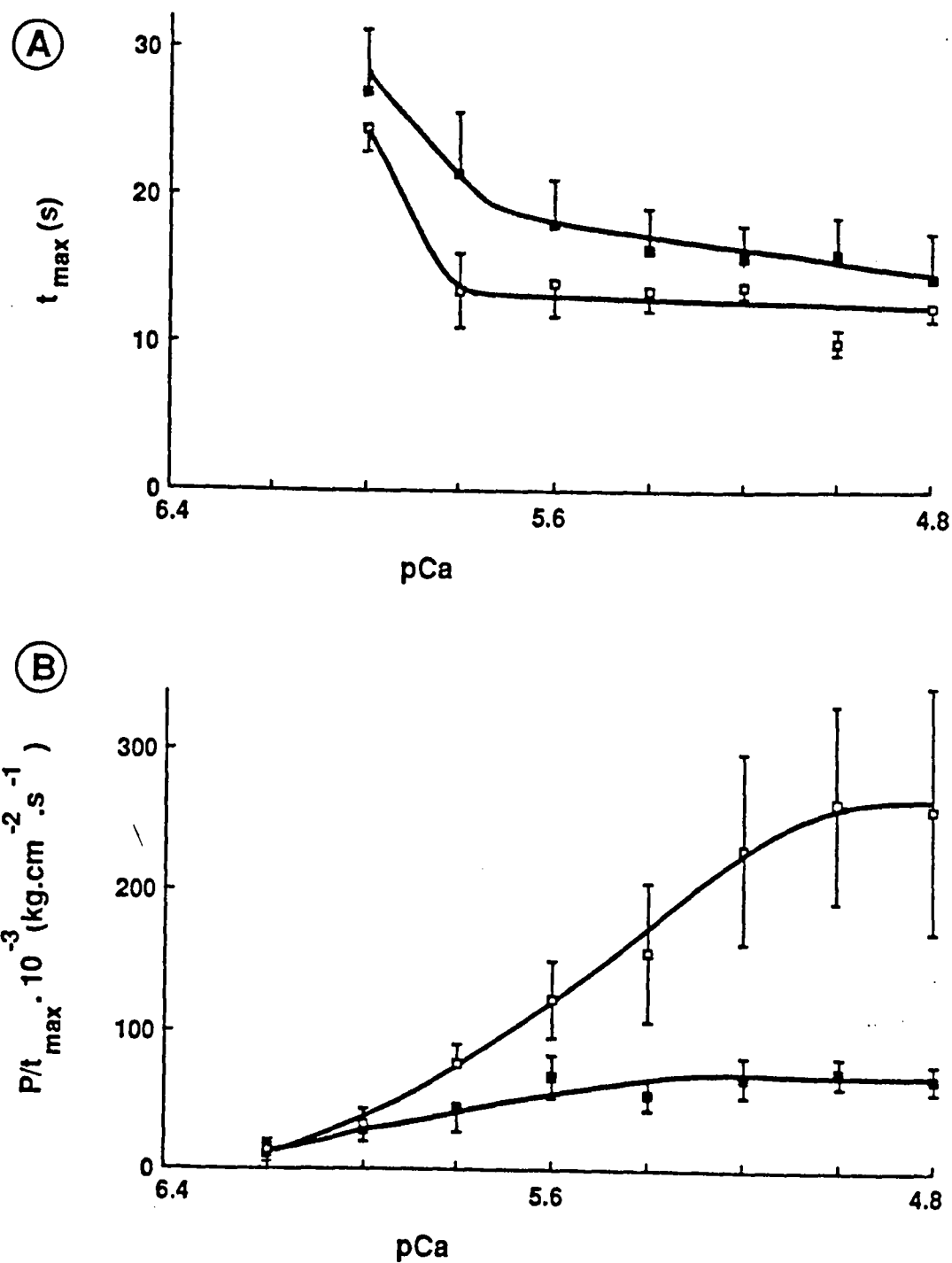


Figure 43 : Relation entre la valeur de t_{max} (A), la valeur de P/t_{max} (B) et la concentration calcique utilisée pour induire les contractions synchrones (■); vol (□).

III - ELECTROPHORESES

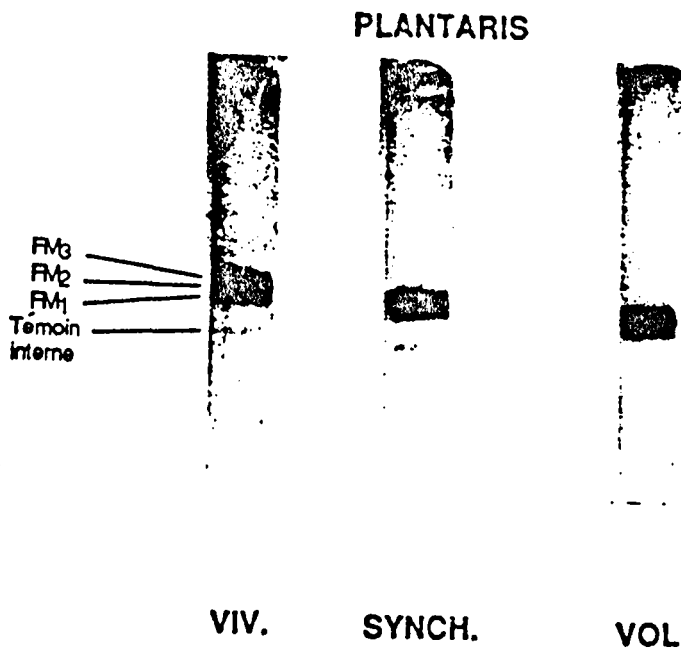
A - MYOSINE NATIVE

1. Vol 1667 (7 jours)

a) *Plantaris*

Une analyse en électrophorèse non dénaturante a été entreprise sur des extraits de muscles provenant des différents lots d'animaux. Les résultats sont résumés figure 44. Les gels sont présentés dans la partie supérieure. On distingue nettement les trois bandes caractérisant un muscle rapide. Il s'agit des FM₃ (mobilité égale à 80 %), FM₂ (mobilité 83 %) et FM₁ (mobilité égale à 86 %). On distingue également une bande plus rapide et moins contrastée qui correspond au témoin interne (extrait de muscle lisse). Le même profil électrophorétique est retrouvé pour le synchrone et également pour les animaux vol. Sur aucun des extraits provenant du vol nous n'avons observé de bande supplémentaire ou de disparition de bande. La totalité des résultats est consignée dans le tableau de la figure 44. L'analyse des mobilités relatives confirme la présence des mêmes formes pour les trois lots d'animaux. En effet, aucune différence significative n'a été trouvée pour le % de mobilité, paramètre précis et caractéristique de l'isoenzyme. Noter sur cette figure que les distances (en mm) entre le dépôt et les protéines ne sont pas rigoureusement identiques pour les trois gels présentés. Cependant grâce au témoin interne et au calcul de mobilité relative, il a été possible de déterminer qu'il s'agissait bien des mêmes protéines. Cette technique permet donc d'identifier sûrement les isoformes de la myosine.

De façon à voir s'il n'y avait pas une variation sélective de l'un ou l'autre isoforme, nous avons calculé sur l'ensemble des animaux la proportion relative de chaque forme de myosine. Cette proportion de myosine ne change pas de façon significative c'est-à-dire que chaque isoforme est représenté de la même façon chez le plantaris d'animaux vivarium, synchrone et vol.

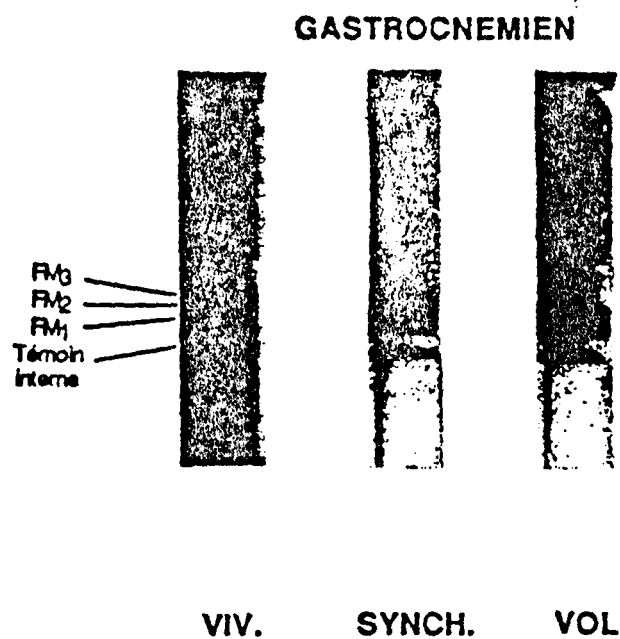


<u>VIVARIUM</u> n = 8	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	79.79 ± 0.31	37.57 ± 2.55
FM ₂	83.19 ± 0.44	31.54 ± 3.54
FM ₁	86.80 ± 0.37	30.87 ± 2.68

<u>SYNCHRONIE</u> n = 4	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	80.30 ± 0.22	36.07 ± 1.62
FM ₂	83.22 ± 0.28	35.47 ± 2.77
FM ₁	86.39 ± 0.49	28.44 ± 1.82

<u>VOL</u> n = 4	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	79.85 ± 0.47	37.02 ± 1.58
FM ₂	82.83 ± 0.62	28.44 ± 1.82
FM ₁	86.59 ± 0.78	31.25 ± 5.95

Figure 44 : Valeurs des mobilités relatives et du pourcentage de chaque isoforme de myosine contenus dans le plantaris pour les animaux Vivarium, Synchrone et Vol de l'expérience COSMOS 1667.



<u>VIVARIUM</u> n = 7	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	78.32 ± 0.96	31.08 ± 4.79
FM ₂	82.29 ± 0.81	37.49 ± 4.43
FM ₁	85.31 ± 0.73	30.78 ± 3.64

<u>SYNCHONE</u> n = 4	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	79.92 ± 1.21	31.05 ± 2.80
FM ₂	82.71 ± 1.19	34.30 ± 5.06
FM ₁	86.33 ± 1.45	32.86 ± 1.76

<u>VOL</u> n = 4	Mobilité (%)	% myosine
FM ₃	79.88 ± 1.97	33.87 ± 4.65
FM ₂	82.88 ± 1.97	32.82 ± 4.78
FM ₁	86.10 ± 1.95	33.28 ± 2.35

Figure 45 : Valeurs des mobilités relatives et du pourcentage de chaque isoforme de myosine contenus dans le gastrocnémien pour les animaux Vivarium, Synchrone et Vol de l'expérience COSMOS 1667.

En conclusion, le profil électrophorétique du muscle plantaris ne change pas après 7 jours de vol spatial.

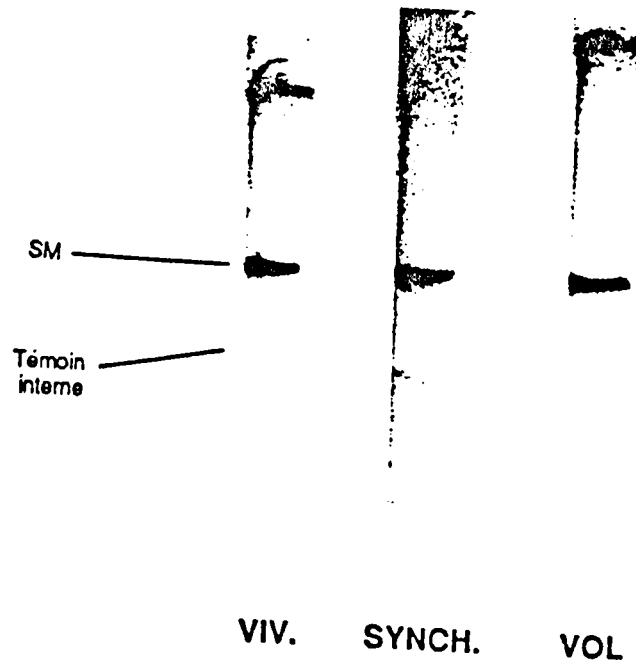
b) Gastrocnémien

La même analyse a été menée sur le muscle gastrocnémien. L'observation des gels présentés dans la partie supérieure de la figure 45 confirme l'appartenance de ce muscle au type rapide. En effet, les mobilités relatives de 79 %, 82 % et 86 % permettent de classer les bandes sous l'appellation FM₃, FM₂ et FM₁. Pour les trois lots d'animaux étudiés, l'analyse du tableau prouve qu'il s'agit bien des mêmes isoformes et qu'aucune autre n'apparaît ou ne disparaît à la suite d'un vol. Le pourcentage de chaque bande a été analysé et les chiffres indiqués dans le tableau montrent qu'aucune forme particulière n'augmente ou ne diminue au détriment d'une autre.

En conclusion, un vol de 7 jours n'induit aucune variation significative du spectre électrophorétique du muscle gastrocnémien latéral.

c) Soleus

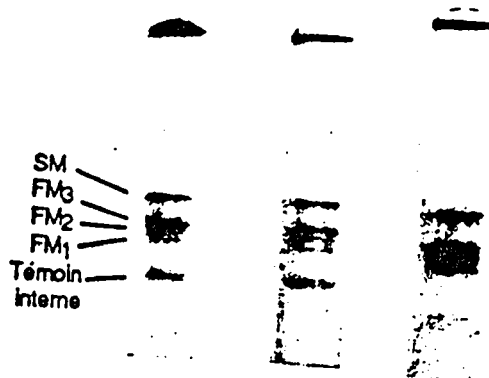
La figure 46 donne les résultats obtenus sur le soleus pour les trois types d'animaux. Les gels présentés dans la partie supérieure montrent un profil différent de ceux examinés jusqu'à présent. Outre la bande du témoin interne faiblement marquée, on observe une seule bande de myosine appelée SM. Cette bande unique caractérisée par une mobilité relative égale à 67 % est retrouvée, seule, dans les muscles des trois lots d'animaux. Aucune bande supplémentaire n'est apparue après le vol spatial. Les mêmes résultats ont été observés en faisant un dépôt plus important de façon à pouvoir mettre en évidence une éventuelle forme qui aurait pu être faiblement représentée.



<u>VIVARIUM</u> n = 6	Mobilité (%)	% myosine
SM	66.50 ± 0.49	100 ± 0.00
<u>SYNCHONE</u> n = 4		
SM	67.15 ± 0.56	100 ± 0.00
<u>VOL</u> n = 4		
SM	67.15 ± 0.64	100 ± 0.00

Figure 46 : Valeurs des mobilités relatives et du pourcentage de chaque isoforme de myosine contenus dans le soleus pour les animaux Vivarium, Synchrone et Vol de l'expérience COSMOS 1667.

DIAPHRAGME



VIV. SYNCH. VOL

<u>VIVARIUM</u> n = 7	Mobilité (%)	% myosine
SM	67.92 ± 0.55	26.97 ± 1.73
FM ₃	78.95 ± 0.57	34.39 ± 2.83
FM ₂	81.95 ± 0.68	19.00 ± 1.79
FM ₁	85.68 ± 0.77	19.57 ± 2.18
<u>SYNCHRONE</u> n = 4		
SM	67.05 ± 0.71	27.05 ± 3.91
FM ₃	78.45 ± 0.60	29.75 ± 5.58
FM ₂	81.22 ± 0.77	23.53 ± 0.52
FM ₁	84.71 ± 1.05	19.64 ± 1.67
<u>VOL</u> n = 4		
SM	67.87 ± 1.00	19.51 ± 1.95
FM ₃	78.84 ± 0.88	33.62 ± 1.61
FM ₂	81.68 ± 1.16	26.67 ± 0.76
FM ₁	85.26 ± 1.05	20.19 ± 1.83

Figure 47 : Valeurs des mobilités relatives et du pourcentage de chaque isoforme de myosine contenus dans le diaphragme pour les animaux Vivarium, Synchrone et Vol de l'expérience COSMOS 1667.

En conclusion, aucune modification du profil électrophorétique du soleus n'a été mise en évidence après un vol de 7 jours.

d) *Diaphragme*

Les extraits musculaires des animaux vivarium synchrone et vol sont soumis à une séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide 3 %. Les résultats sont illustrés figure 47.

On observe sur les animaux témoins 4 bandes de myosine. La première bande migre de façon équivalente à celle du soleus (67 %). Les trois autres migrent de façon équivalente à celles du plantaris (respectivement dans l'ordre croissant 78, 81 et 85 %). Le diaphragme est donc appelé muscle mixte en raison d'isoformes de type lent et rapide.

Les mobilités et les proportions des quatre isoenzymes ont été étudiées sur les trois lots d'animaux. Les valeurs de mobilité en ce qui concerne chaque isoforme sont identiques pour les deux témoins (synchrone et vivarium) et pour les animaux vol. Aucune bande supplémentaire n'apparaît et aucune ne disparaît. L'analyse des proportions relatives montre une légère augmentation de la proportion de la FM₂ pour les animaux synchrone et vol par rapport aux vivarium ; cette diminution est compensée par une plus forte proportion de la SM.

2. Vol 1887 (13 jours)

a) *Plantaris*

La figure 48 présente les gels obtenus à partir d'extraits de muscle de plantaris. Pour ce vol, aucune étude densitométrique n'a été réalisée. Cependant, pour aucun des extraits nous n'avons observé de bande supplémentaire. Les muscles d'animaux vivarium, synchrone et vol présentent le même profil à savoir les bandes FM₃, FM₂ et FM₁ accompagnées du témoin interne. Les mobilités relatives sont les suivantes :

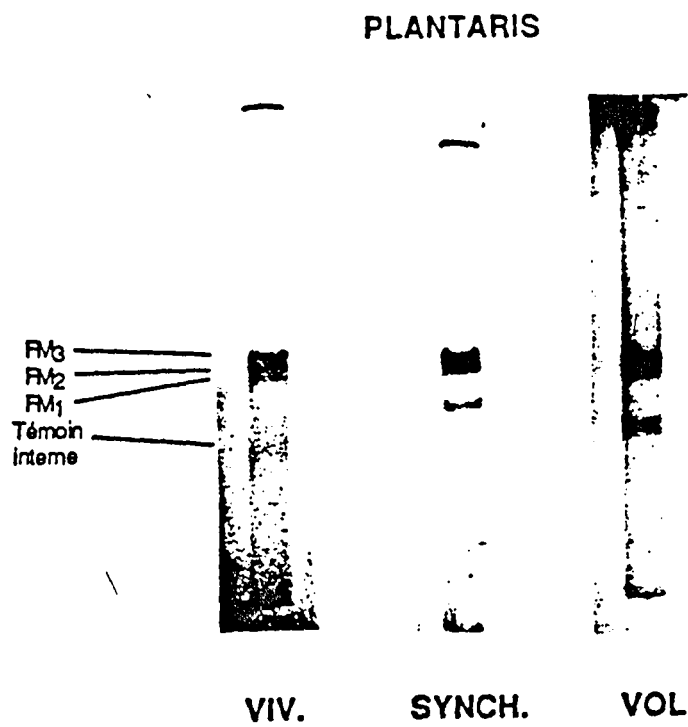


Figure 48 : Myosine native et isoformes contenus dans le plantaris pour les animaux Vivarium, Synchrone et Vol de l'expérience COSMOS 1887.

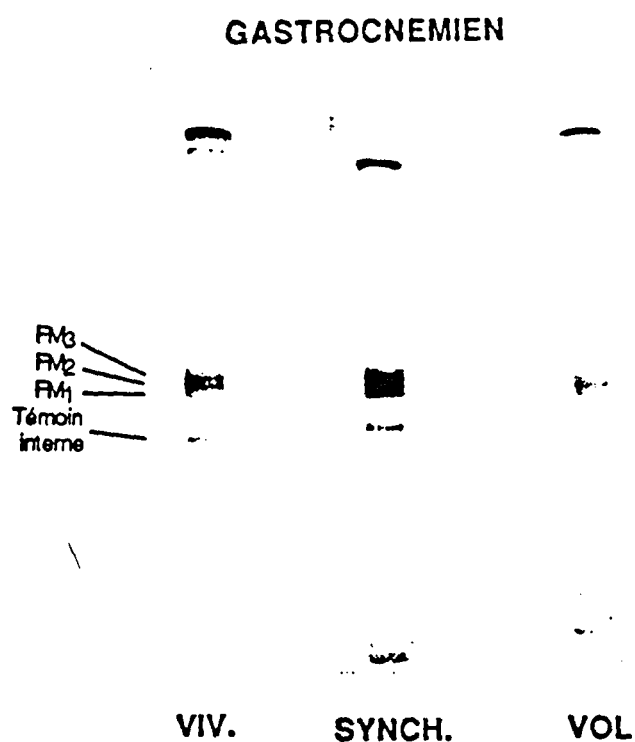


Figure 49 : Myosine native et isoformes contenus dans le gastrocnémien pour les animaux Vivarium, Synchrones et Vol de l'expérience COSMOS 1887.

	V	S	F
FM ₃	78.90 ± 1.50	79.85 ± 1.51	79.45 ± 2.05
FM ₂	82.01 ± 1.47	82.80 ± 1.40	82.70 ± 1.94
FM ₃	84.70 ± 1.67	85.40 ± 1.38	86.30 ± 1.63

Tous les gels présentent le même profil d'intensité indiquant que la proportion d'aucun isoforme n'augmente ou ne diminue au profit d'un autre.

En conclusion, aucune modification majeure du spectre électrophorétique du plantaris n'a été mise en évidence après le vol 1887.

b) gastrocnémien

La figure 49 montre les résultats obtenus pour le gastrocnémien à la suite du vol 1887. Nous retrouvons les trois bandes rapides FM₃, FM₂ et FM₁ caractérisées par leur mobilité relative.

	V	S	F
FM ₃	79.31 ± 1.52	79.61 ± 1.57	79.47 ± 1.80
FM ₂	82.28 ± 1.09	82.51 ± 1.43	82.37 ± 1.75
FM ₁	86.54 ± 1.33	86.49 ± 1.38	86.20 ± 1.77

Cependant, aucune bande supplémentaire n'apparaît même lorsque les dépôts sont plus importants ou plus concentrés.

c) soleus

Les résultats sont présentés figure 50. Pour ce muscle, aucune bande supplémentaire n'apparaît et pour chaque échantillon, seule la myosine SM a été retrouvée. Les mobilités relatives sont respectivement de 67.80 ± 0.98%, 66.97 ± 0.80% et 67.30 ± 1.05% pour les animaux vivarium, synchrone et vol.

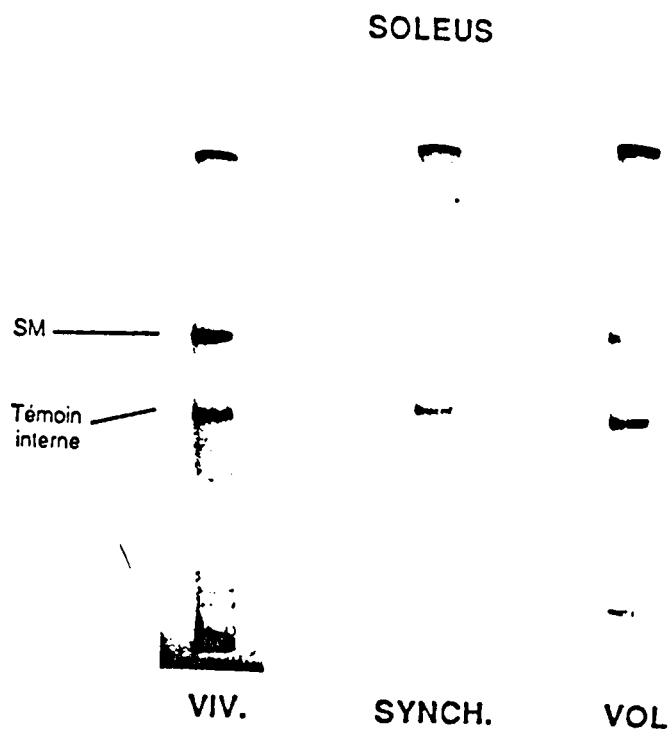


Figure 50 : Myosine native et isoformes contenus dans le soleus pour les animaux Vivarium, Synchrones et Vol de l'expérience COSMOS 1887.

En conclusion, l'analyse de la myosine native des muscles plantaris, gastrocnémien et soleus n'a pas permis de mettre en évidence une variation dans leur composition ou la proportion en une forme particulière de la myosine.



B - SDS PAGE

Nous avons réalisé une étude de la troponine C et des chaînes légères de la myosine après le vol spatial 1887 pour les deux muscles suivants : le plantaris muscle typiquement rapide, principalement impliqué dans le mouvement, et le soleus en raison de son typage typiquement lent et à fonction antigravitaire. Les électrophorèses qui ont été réalisées en milieu dénaturant avaient pour but d'étudier plus particulièrement des chaînes légères de la myosine et les troponines. La coloration à l'argent sur fibre unique permet d'augmenter la sensibilité de la technique que nous avons appliquée sur fibre pelée unique.

Les résultats sont présentés figure 51 et 52.

a) *plantaris*

Les gels (figure 51) montrent les trois chaînes légères LC_{1f}, LC_{2f} et LC₃ typiques d'un muscle rapide. Pour les animaux vol aucune chaîne légère de type lent n'apparaît. Cependant, pour ces animaux, la chaîne LC_{3f} est souvent moins marquée que pour les animaux synchrone.

b) *soleus*

La figure 52 présente les résultats obtenus sur des fibres musculaires d'animaux synchrone et vol.

Les protéines présentes dans les fibres d'animaux synchrone sont identifiées comme étant :



PLANTARIS

Figure 51 : Electrophorèse réalisée à partir de fibres de PLANTARIS. Intensité constante de 20mA pendant 6 heures, coloration à l'argent. Animaux synchrones (S) et vol (F).

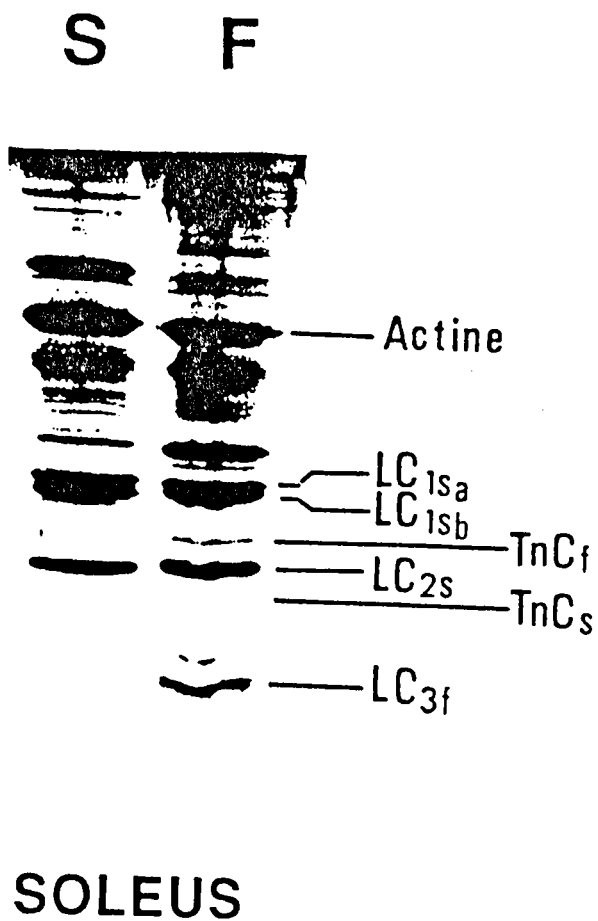


Figure 52 : Electrophorèse réalisée à partir de fibres de SOLEUS.
Intensité constante de 20mA pendant 6 heures, coloration
à l'argent. Animaux synchrones (S) et vol (F).

- des isoformes de type lent des chaînes légères de la myosine : LC_{1sa}, LC_{1sb} et LC_{2s},
- un isoforme de type lent de la troponine C (TnC_s).

En plus des bandes correspondantes aux isoformes lents du soleus, des isoformes rapides sont décelés dans les fibres d'animaux vol. En particulier, une chaîne légère LC_{3f}, caractéristique des muscles rapides, devient visible. Il faut toutefois mentionner que ce résultat n'a pas été obtenu sur toutes les préparations testées. Enfin, la forme lente de la troponine C disparaît et la forme rapide apparaît.

En conclusion, le vol spatial induit :

- pour le muscle rapide : une diminution de la proportion de la chaîne légère de la myosine LC₃.
- pour le muscle lent : l'apparition d'un isoforme LC_{3f} normalement caractéristique d'un muscle rapide ; l'apparition d'un isoforme rapide de la troponine C .

Ceci confirme les résultats obtenus par les contractions des fibres pelées à savoir que les modifications subies par le soleus sont plus importantes que celles observées pour le plantaris. En outre, l'analyse électrophorétique a permis de localiser les modifications structurales subies par les myofilaments après le vol.

CHAPITRE 3

**EFFET DES VOLS SPATIAUX D'UNE SEMAINE SUR LE
RETICULUM SARCOPLASMIQUE**

Bien que de nombreuses interrogations concernant le mécanisme précis du couplage excitation-contraction restent encore en suspens, il est cependant bien admis que le réticulum sarcoplasmique (RS) joue un rôle prépondérant en :

- 1) stockant le calcium pendant les phases de repos,
- 2) en largant le calcium dans le myoplasme et vers les protéines contractiles pendant la phase de contraction et
- 3) en repompant le calcium vers le RS pendant la phase de retour au repos de la fibre musculaire.

Les mouvements calciques intraréticulaires peuvent donc être entrants ou sortants.

Le but que nous nous sommes fixé était de savoir si ces mouvements calciques intramusculaires étaient altérés par la microgravité subie par les animaux.

Cette étude est réalisée sur fibre pelée. En effet, et comme nous l'avons déjà décrit dans le paragraphe "Matériel et Méthodes", le "pelage" permet de détruire le sarcolemme sans affecter le RS, les deux types de membranes n'ayant pas la même constitution biochimique. Il est alors possible d'accéder à une structure intracellulaire telle que le RS.

Le principe général de l'expérience consiste, dans un premier temps, à charger le RS. Cette étape est réalisée en appliquant sur la fibre une solution calcique tamponnée. Le calcium est alors pompé vers l'intérieur du RS grâce à des Ca-ATPases intramembranaires. Dans un second temps, le calcium précédemment capturé peut être relargué. La sortie de calcium peut être obtenue de différentes manières : à l'aide de solutions dépolarisantes, en diminuant la force ionique ou en employant des agents chimiques. Le calcium alors libéré peut se fixer sur les protéines contractiles et engendrer une tension. La mesure de cette tension donne indirectement l'amplitude de la quantité de calcium qui avait été stockée dans le RS.

La caféine est un agent chimique particulièrement utilisé pour les études concernant le RS. La caféine peut potentialiser les secousses musculaires et induire des contractures sur la plupart des muscles squelettiques ou cardiaques (BIANCHI, 1968 ; LUTTGAU et OETLIKER, 1968 ; HUERTA et STEPHANI, 1981 ; NIEDERGERKE et PAGE, 1981). Le site d'action de la caféine a invariablement été associé aux membranes cellulaires. C'est ainsi que différents modes d'action de la caféine ont été démontrés : elle favorise l'augmentation de l'influx calcique à travers le sarcolemme (BIANCHI, 1968 ; NIEDERGERKE et PAGE, 1981), elle a une action directe au niveau de la jonction entre le tubule T et la citerne du RS (LUTTGAU et OETLIKER, 1968), enfin, elle inhibe la phosphodiesterase (BUTCHER et SUTHERLAND, 1962) et peut donc changer le niveau intracellulaire des nucléotides cycliques (Mac LENNAN et WINEGRAD, 1978 ; FABIATO, 1981). Dans ce dernier cas, les structures membranaires sont impliquées puisqu'elles contiennent les adénylates cyclases responsables de la production des nucléotides cycliques. Mais l'action qui retiendra notre attention dans notre étude est l'induction du largage du calcium accumulé dans le RS associée à une inhibition de l'activité de pompage.

A partir des propriétés de la caféine, WOOD et coll. (1975) ont développé, sur fibres pelées, des tests permettant d'étudier le mécanisme de la régulation calcique par le RS sur fibre unique. Ces tests peuvent être utilisés pour localiser des dysfonctionnements du RS lors de maladies musculaires. Nous les avons donc appliqués à des fibres pelées provenant de muscles de rat soumis à l'influence de la microgravité. Ces tests sont destinés à évaluer l'activité de pompage et de largage du calcium par le réticulum sarcoplasmique.

Dans un premier temps, nous allons présenter les protocoles destinés à étudier les mouvements calciques du RS. Dans une seconde partie, nous exposerons les résultats d'expériences contrôlées réalisées sur des animaux témoins afin de déterminer les paramètres de charge et de relargage maximum. Dans une dernière

partie, nous étudierons l'influence de la microgravité sur le mouvement de pompage calcique par le RS.

I - PROTOCOLES UTILISES

Nous nous sommes proposé d'étudier le mécanisme de pompage du calcium par le RS. L'expérience s'articule de la façon suivante : la première étape consiste à déterminer la concentration caféinique nécessaire pour libérer tout le calcium stocké dans le réticulum, la seconde étape aborde le mécanisme de pompage proprement dit en utilisant la concentration caféinique précédemment déterminée.

1. Dose de caféine.

Le protocole qui permet de déterminer la concentration caféinique induisant la libération maximale du calcium stocké dans le RS est présenté figure 53.

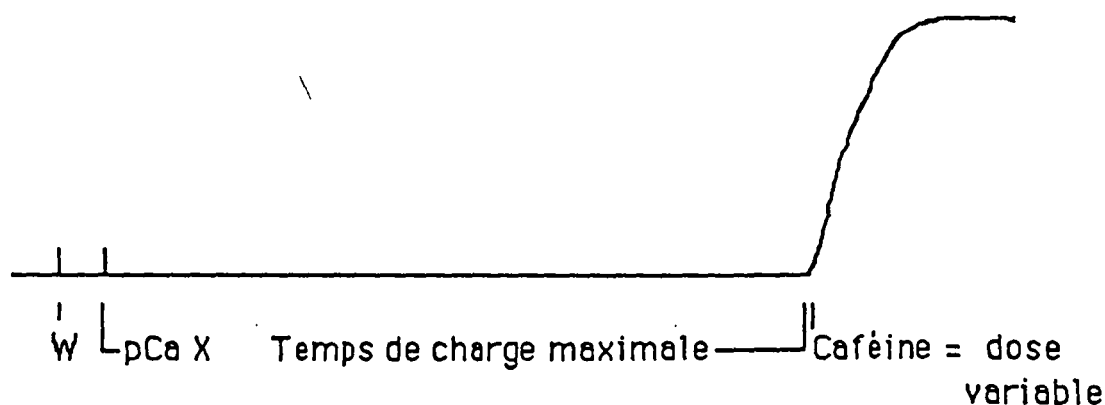


Figure 53 : Descriptif du protocole utilisé pour déterminer la concentration de caféine nécessaire pour libérer la quantité maximale de calcium.

La fibre est lavée (solution W) de façon à éliminer l'EGTA et le Ca^{2+} , puis mise en contact avec une solution calcique (pCa X) pendant un laps de temps permettant une charge maximale du réticulum. Le calcium est ensuite libéré sous l'action d'une solution

caféinique de concentration variable. La dose qui permet d'induire la contraction la plus élevée est alors sensée avoir libéré la quantité maximale de calcium stocké dans le RS. Ceci est systématiquement vérifié en appliquant une nouvelle fois la caféine sans avoir rechargé le RS (voir plus loin).

2. Pompage.

En faisant varier le temps de charge, puis en utilisant la caféine, il est possible de contrôler l'efficacité du pompage du calcium par le RS d'une fibre musculaire. Le protocole est schématisé dans la figure 54.

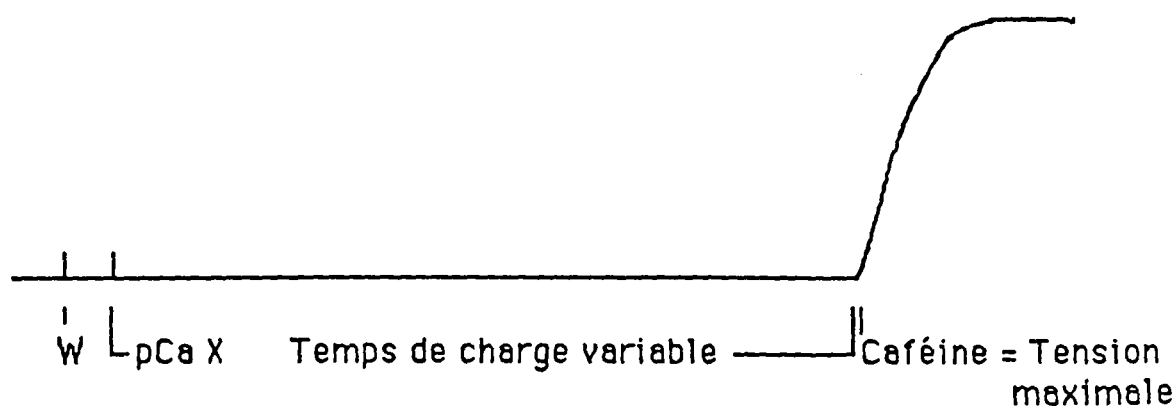


Figure 54 : Descriptif du protocole utilisé dans l'étude de la capacité du réticulum sarcoplasmique à pomper le calcium.

La fibre est lavée avec la solution W, puis mise en contact avec une solution calcique (pCa X) pendant un temps variable. Le contrôle de la quantité de calcium pompé est ensuite effectué à l'aide de la caféine. La dose de caféine utilisée est celle permettant un largage maximal de calcium. Le temps nécessaire pour que le RS se charge de façon maximale constitue alors un indice de fonctionnement des Ca-ATPases et de la capacité du RS à stocker le calcium.

II - EXPERIENCES CONTROLES

1. Détermination de la durée de charge

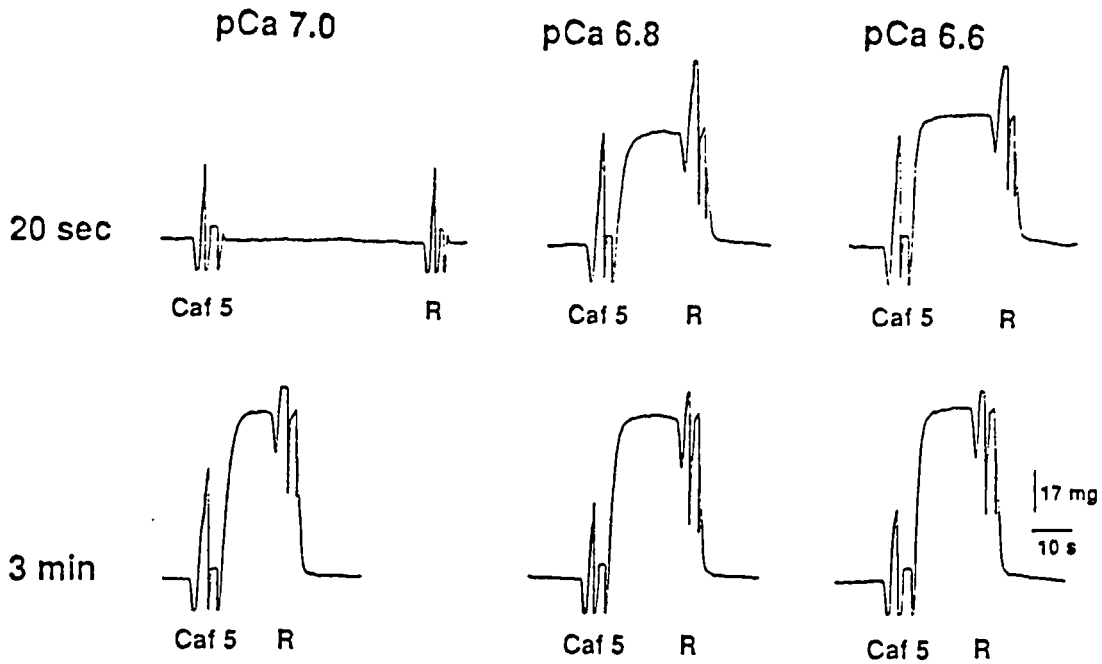
Dans le but de pouvoir comparer les résultats obtenus sur les différents lots d'animaux, nous avons décidé de charger le RS de façon maximale. Il n'est en effet pas possible par notre technique de quantifier le taux de calcium que le RS de chaque fibre testée pourrait emmagasiner.

Nous avons donc chargé le réticulum à l'aide d'une solution calcique. Trois concentrations pCa 7.0, 6.8 et 6.6 ont été utilisées pour des temps de charge variables. La contraction est induite par de la caféine à une concentration de 5 mM, concentration suffisante pour induire une vidange totale du RS sur des fibres humaines de biceps femoris (WOOD et coll., 1975). Cette concentration sera vérifiée dans une expérience suivante.

La figure 55A nous montre que si le réticulum est mis en contact pendant 20 secondes avec une solution contenant du calcium à faible concentration (pCa 7.00), le RS est trop faiblement chargé et la quantité de calcium libéré par la caféine 5 mM ne suffit pas à induire une contraction. En revanche, pour la même durée mais avec des solutions plus concentrées (pCa 6.8 et pCa 6.6) le réticulum est capable de restituer une quantité de calcium suffisante pour induire des tensions significatives (respectivement de 82 et 95 % P_0). Après 3 minutes de charge, quelle que soit la pCa utilisée pour charger le RS, la tension caféinique est maximale.

La courbe (figure 55B) résume les résultats obtenus après différents temps de charge pour les trois valeurs de pCa utilisée : pCa 7.0, 6.8 et 6.6. On constate que plus le temps de charge est grand, plus la tension reflétant la quantité de calcium libéré est élevée. Pour de faibles concentrations calciques (pCa 7.0) un seuil existe signifiant ainsi que le RS doit être chargé suffisamment pour que le processus appelé "caffeine induced-calcium release"

A



B

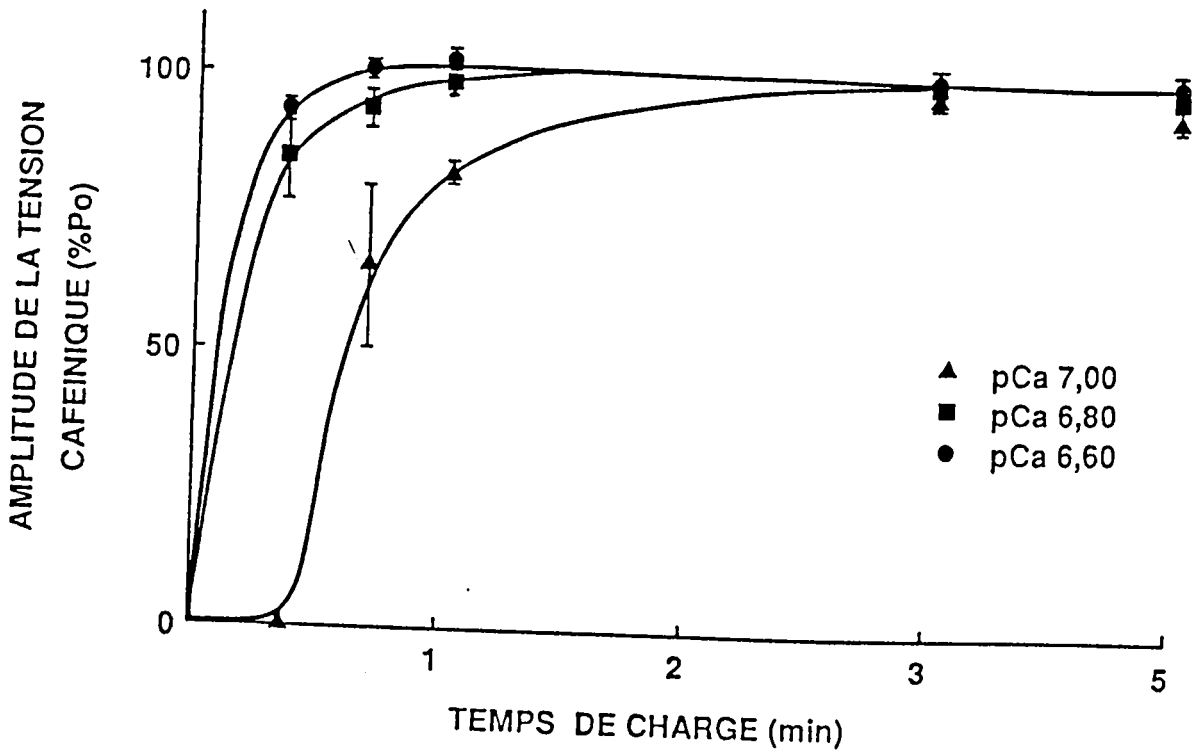


Figure 55 : A - Enregistrements des contractions caféiniques obtenues après 20 secondes et 3 minutes de charge ; B - Relation entre le temps de charge et la tension caféinique correspondante.

intervienne. Pour les valeurs de concentration calcique plus élevées, le seuil diminue et les tensions sont plus importantes à temps de charge identique. La courbe nous indique la durée minimale du temps de charge nécessaire à l'obtention des tensions maximales. Elles sont de 3 min, 1 min et 40 sec pour les solutions de charge de pCa respectivement égales à 7.0, 6.8 et 6.6.

Dans nos expériences sur la microgravité et dans le but de pouvoir comparer nos différents lots d'animaux, nous avons chargé le RS de façon maximale. Nous avons choisi d'utiliser une solution calcique pCa 6.8 appliquée pendant 3 minutes.

2. Détermination de la dose de caféine

Dans l'expérience précédente, nous avons choisi d'utiliser la caféine 5 mM en se basant sur des données bibliographiques (WOOD et coll., 1975). Nous allons vérifier si cette concentration :

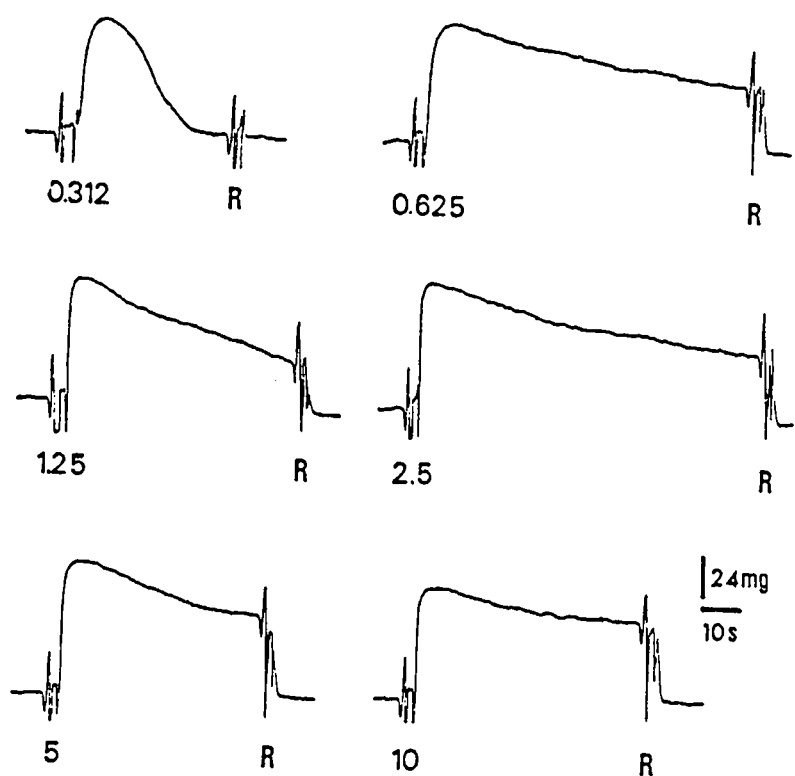
- produit un effet maximal
- n'intervient pas directement sur les protéines contractiles puisqu'il est bien connu que cette drogue augmente leur sensibilité calcique selon une relation dépendant de la dose (WENDT et STEPHENSON, 1983).

a/ Effet maximal : Relation DOSE REPONSE

Le réticulum sarcoplasmique est chargé de façon maximale comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent, par application d'une solution calcique pCa 6.8 pendant 3 minutes. Pour faire sortir le calcium emmagasiné nous avons utilisé différentes concentrations de caféine. La figure 56A présente des enregistrements de contractions obtenues par application de différentes solutions caféiniques. Ils montrent qu'une tension phasique se développe pour une concentration caféinique de 0.312 mM. Lorsque la concentration en caféine augmente, l'amplitude de la tension augmente et la tension se relâche plus lentement. Dans nos conditions, la tension est maximale pour 0.625 mM. Les résultats sont résumés sur la figure 56B. Plus la concentration

RELATION DOSE REPOSE

A



B

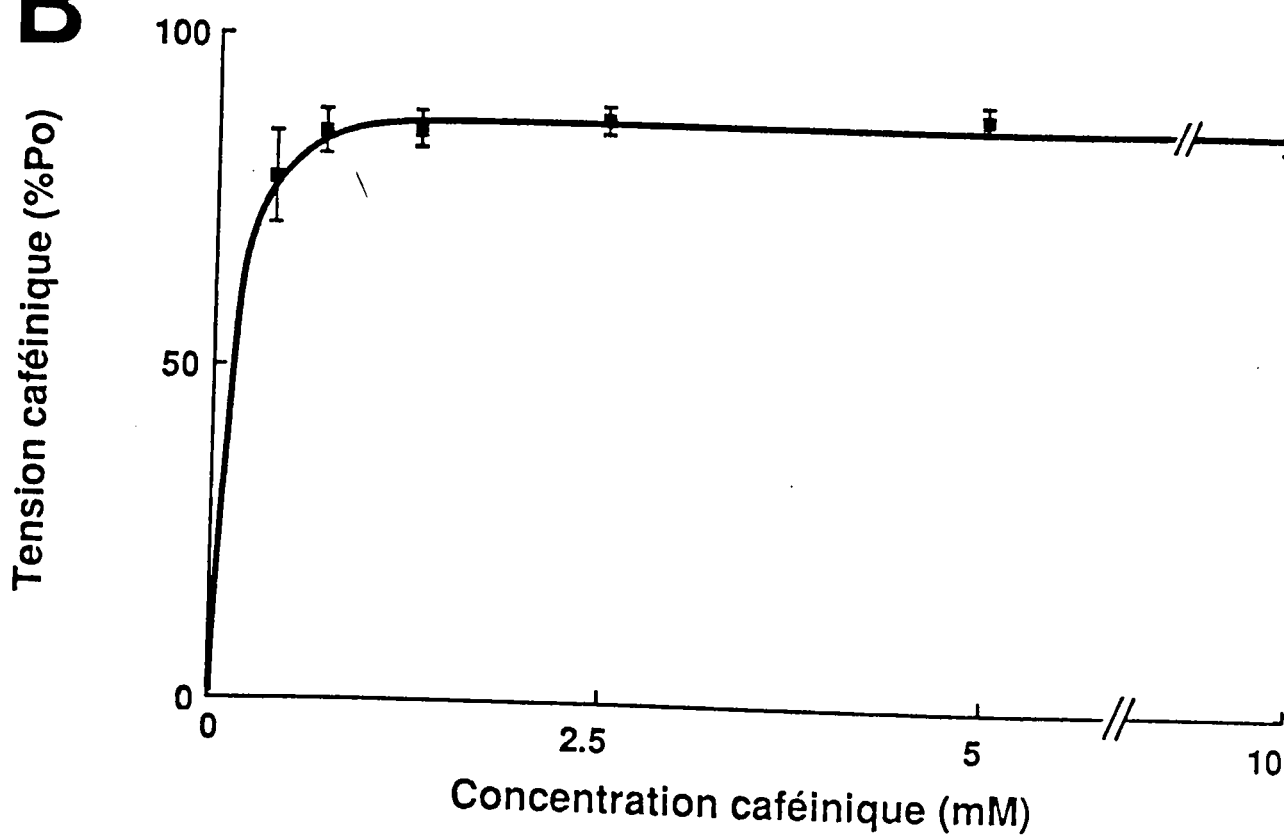


Figure 56 : A - Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine ; B - relation dose-réponse correspondante.

caféinique est élevée, plus la tension développée est importante. La tension atteint son amplitude maximale pour une valeur de concentration caféinique égale à 0.625 mM et reste à un même niveau jusqu'à 5 mM. Il nous faut cependant remarquer que la tension caféinique est souvent légèrement inférieure (90% à 100% P_0) à la tension induite par une solution calcique pCa 4.8. Ce fait avait déjà été observé par Wood. Il ne s'agit pas d'une concentration trop faible puisque, au contraire, des valeurs de concentrations caféiniques supérieures à 5 mM provoquent des contractions de plus faible amplitude.

En conclusion, une concentration de 5 mM peut être considérée comme suffisante pour induire une tension maximale.

b/ Action directe de la caféine sur les protéines contractiles.

Depuis les travaux de WENDT et STEPHENSON, 1983, on sait que la caféine agit directement sur les protéines contractiles en augmentant leur sensibilité vis à vis du calcium. Cependant, cette action dépend de la dose de caféine employée particulièrement pour des concentrations supérieures à 5 mM. Dans ce but, nous avons évalué les tensions maximales avec des solutions calciques contenant de la caféine 5, 10 et 20 mM. Les expériences ont été réalisées sur des fibres dont le RS avait été préalablement détruit par application d'un détergent, le BRIJ 58 à 2 % pendant 20 min. La destruction du RS est ensuite systématiquement vérifiée en plaçant la fibre dans une solution pCa 6.8 pendant 3 min (concentration calcique et temps suffisant pour charger maximalelement le RS) puis en appliquant de la caféine 5 mM). Si le RS est parfaitement détruit, il perd ses fonctions de pompage et de largage de calcium et la solution caféinique ne doit pas pouvoir induire de contraction. Seules les fibres qui ne répondent pas à ce test ont été gardées pour l'expérience.

La caféine a été dissoute dans une solution pCa 4.8, concentration calcique suffisante pour induire une contraction maximale. Des concentrations caféiniques de 5, 10 et 20 mM ont

été préparées. La valeur de la tension a été à chaque fois normalisée à la tension obtenue par une solution pCa 4.8 sans caféine.

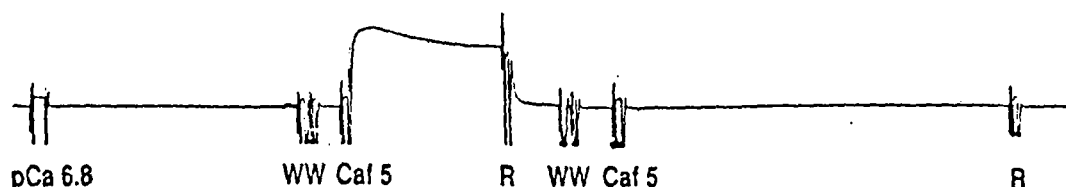
Les amplitudes des contractions induites par une solution pCa 4.8 contenant de la caféine sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Dose de caféine (mM)	Tensions (%P ₀) $\bar{x} \pm \text{SEM}$
5	99.00 \pm 0.81 (n=6)
10	92.96 \pm 0.84 (n=6)
20	84.88 \pm 0.74 (n=6)

Ces résultats montrent que pour 5 mM la tension est identique à une tension P₀ induite sans caféine. Avec des concentrations caféiniques plus fortes telles que 10 mM et 20 mM les tensions chutent par effet direct de la caféine sur les protéines contractiles.

3. Vidange complète du RS.

A ce stade de notre étude de contrôle, il était important de confirmer non seulement que la caféine 5 mM était capable d'induire une contraction maximale mais encore que la vidange du RS était complète. Une expérience contrôle a donc été réalisée.



Expérience de contrôle destinée à vérifier la vidange totale du RS après l'application de la caféine 5 mM.

Le RS est chargé de façon maximale par la solution pCa 6.8 pendant 3 minutes. La "vidange" du calcium est ensuite induite par la caféine 5 mM provoquant alors une contraction. Le relâchement de la fibre est enfin assuré par la solution R. La fibre est de nouveau lavée et une seconde application de la solution caféinique 5 mM est effectuée. Nous constatons que dans la grande majorité des cas, aucune nouvelle tension caféinique n'est décelable, signifiant qu'il ne reste plus une quantité de Ca^{2+} suffisante dans le RS pour induire une tension. En d'autres termes que la vidange effectuée par la première application est complète. Les rares fibres qui répondaient à la seconde application ont été systématiquement rejetées de nos expériences.

4. Conclusion

Les tests que nous avons effectués montrent :

- qu'une application d'une solution pCa 6.8 pendant 3 minutes correspond à une charge maximale du réticulum sarcoplasmique,
- qu'une solution caféinique de concentration égale à 5 mM permet une vidange complète du RS sans altérer les propriétés des protéines contractiles.

En conclusion, pour nos expériences la charge maximale du RS sera assurée par pCa 6,8 pendant 3 minutes et les contractions seront induites par une solution caféinique 5 mM.

III - VOLS DE FAIBLE DUREE : BIOCOSMOS 1514 ET 1667

Pour ces vols, notre but était de comparer uniquement les effets de la microgravité sur l'activité de pompage du calcium par le réticulum sarcoplasmique. Les études ont été menées pour le biocosmos 1514 sur les muscles plantaris et gastrocnémien et pour le biocosmos 1667 sur les muscles plantaris, gastrocnémien latéral et soleus. Dans une première étape, nous avons systématiquement vérifié que la concentration choisie de 5 mM comme concentration suffisante pour obtenir une vidange complète du RS convenait également dans le cas des animaux Vol. Pour cela, l'expérience "dose-réponse" décrite dans le paragraphe précédent a été réalisée pour chaque lot d'animaux. Dans une seconde étape, la capacité de pompage du calcium par le RS a été testée en faisant varier le temps de charge.

A - PLANTARIS

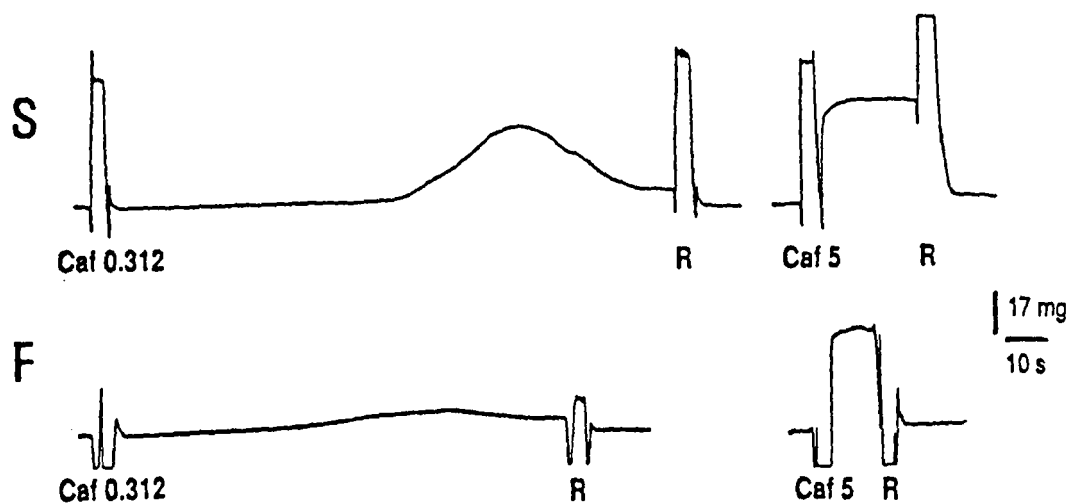
1. Relation dose réponse

a) Vol 1514

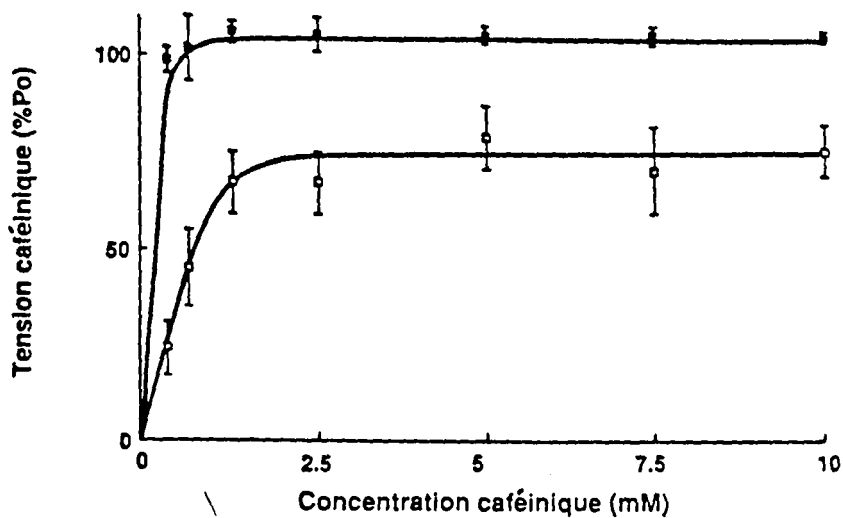
La figure 57 présente les résultats de l'expérience "dose-réponse". Différentes doses de caféine ont été appliquées à des fibres dont le RS avait été préalablement chargé pendant 3 minutes avec une solution pCa 6.8.

Les enregistrements (figure 57A) recueillis à partir de fibre synchrone montrent qu'une solution caféinique de faible concentration (0.312 mM) permet de faire sortir après un temps de latence de 60 secondes, une quantité de calcium suffisante pour induire une contraction égale à 90 % de la tension caféinique maximale, obtenue par la solution 5mM. On peut noter que la contraction induite par 0.312 mM est phasique alors que celle induite par 5 mM est maintenue. En ce qui concerne les animaux vol, la concentration de 0.312 mM est insuffisante pour induire le

A



B



C

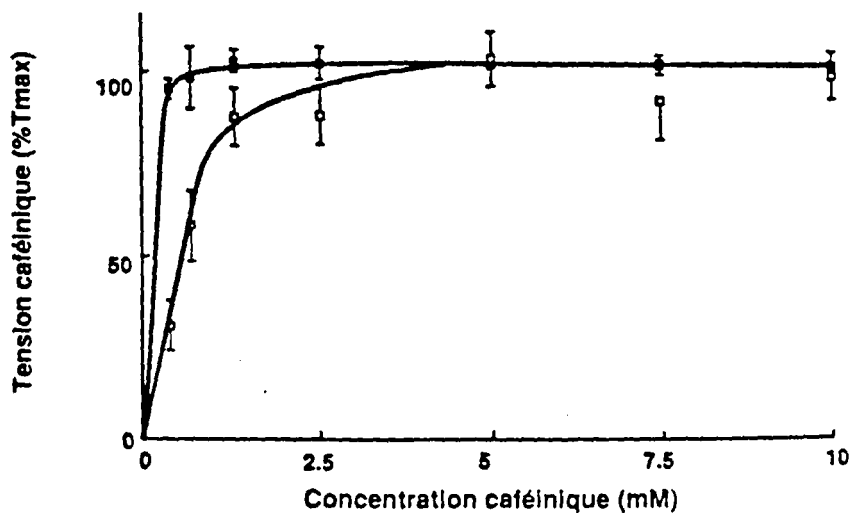


Figure 57 : Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine (A). Relation dose réponse : les tensions sont exprimées en % Po (B) et en % de la tension caféinique maximale (C). Animaux synchrones (■) et vol (□).

largage de tout le calcium stocké dans le RS et la tension alors obtenue est égale à 20 % de celle induite par 5 mM. Néanmoins, on constate que la tension est phasique pour de faibles concentrations et maintenue pour 5 mM.

Les résultats sont résumés dans la courbe dose-réponse de la figure 57B. Les tensions sont exprimées en % P_0 , c'est-à-dire par rapport à une activation totale des protéines contractiles. Nous constatons que la tension caféinique maximale est égale à 100 % P_0 pour les animaux synchrones alors qu'elle n'atteint que 70 % P_0 pour les animaux vol. Ainsi, pour ces derniers, la quantité de calcium libérée est insuffisante pour saturer tous les sites calciques des protéines contractiles. Dans le but de savoir si une partie du calcium n'est pas restée stockée à l'intérieur du RS, nous avons réalisé immédiatement après la contraction une nouvelle application de solution caféinique. Nous avons alors observé dans ces conditions qu'aucune autre tension ne se développait, ce qui suggère fortement que le RS est bien vidé de son contenu en calcium. La diminution de la tension caféinique maximale ne peut donc être imputée qu'à une diminution de la capacité de pompage du réticulum conduisant à une réduction de la quantité intraréticulaire calcique.

De manière à tenir compte de la différence de tension maximale, la relation dose-réponse a été exprimée en normalisant la tension à la tension caféinique maximale (T_{max}) (figure 57C). On observe alors que la tension maximale est obtenue pour 0.625 mM et 5 mM pour respectivement les animaux synchrones et vol. Autrement dit, la concentration caféinique minimale nécessaire pour libérer tout le calcium stocké dans le RS est supérieure après le vol. Néanmoins, une dose de caféine égale à 5 mM permet d'obtenir un largage maximal de calcium à partir du RS. En conséquence, les préparations vol présentent une sensibilité à la caféine diminuée ce qui se traduit par un largage du calcium moins efficace.

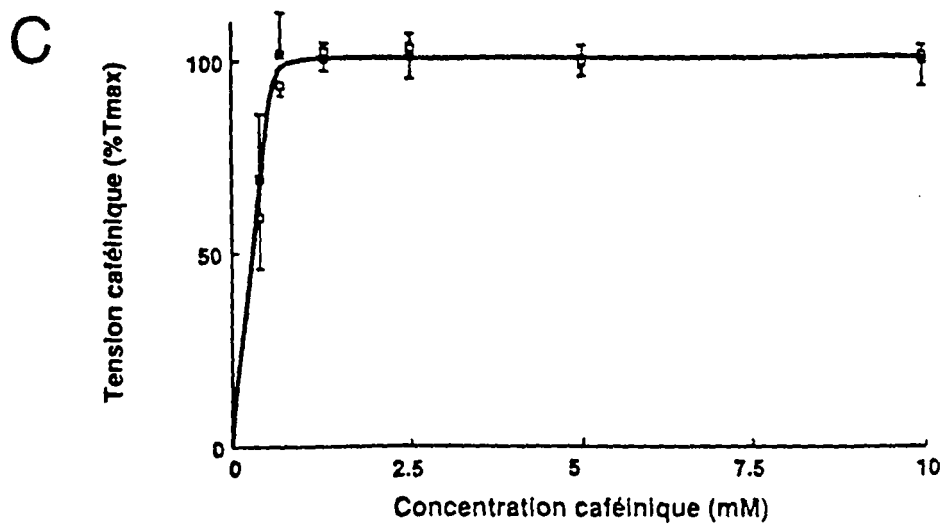
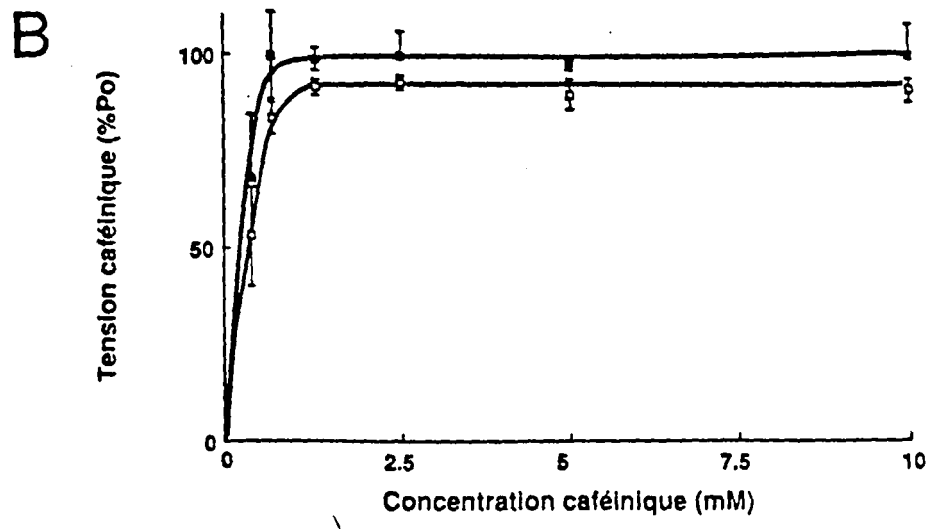
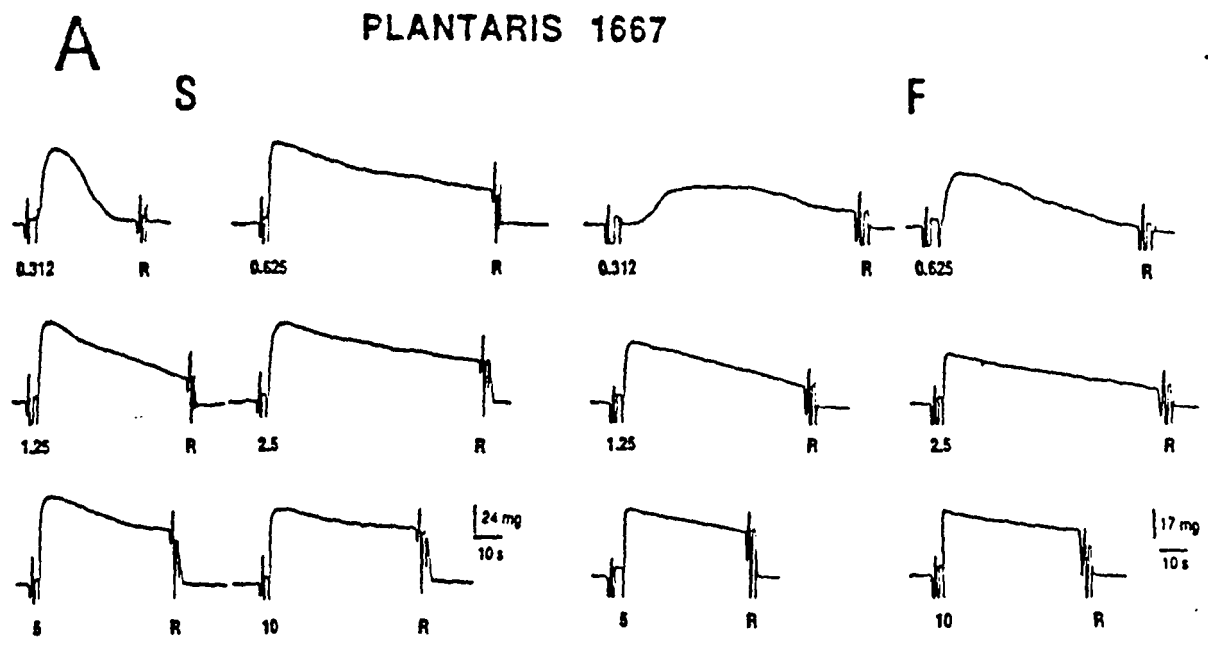


Figure 58 : Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine (A). Relation dose réponse : les tensions sont exprimées en % Po (B) et en % de la tension caféinique maximale (C). Animaux synchrones (■) et vol (□).

b) Vol 1667

Les enregistrements de la figure 58A montrent les contractions obtenues par différentes doses de caféine pour les animaux synchrone et vol. Pour 0.312 mM les contractions sont phasiques. Pour des valeurs supérieures les fibres se maintiennent de plus en plus longtemps en contraction. Après le vol, les tensions sont plus lentes à se développer. Cette observation est la plus visible pour les faibles concentrations. Néanmoins, les amplitudes sont sensiblement identiques et l'amplitude maximale est atteinte avec 0.625 mM pour les deux lots d'animaux, comme le montre la relation dose-réponse (figure 58B). Pour des valeurs de concentrations supérieures à 0.625 mM et jusqu'à 5 mM les amplitudes de tensions sont identiques.

Comme pour le vol précédent, la valeur de la tension maximale, exprimée en % P_0 , est plus faible après le vol (100 % et 89 % pour respectivement les animaux S et F), ce qui traduit une diminution de la quantité maximale de calcium pompé par le RS à partir du myoplasme.

Lorsque les tensions sont exprimées en % de la tension caféinique maximale (figure 58C), on constate qu'il n'y a pas de différence après ce vol et que la tension maximale est obtenue avec une dose de caféine égale à 1.25 mM pour les deux catégories d'animaux. La concentration de 5 mM pourra donc être utilisée pour l'expérience temps de charge aussi bien pour les rats synchrone que pour les rats vol.

2. Pompage calcique

a) Vol 1514

Pour cette étude, on fait varier le temps de charge du RS. La quantité de calcium pompé pendant cette période est ensuite estimée par l'amplitude de la tension induite par de la caféine 5 mM (concentration définie dans l'expérience dose réponse). La figure 59A présente des enregistrements de tension obtenus après 10 secondes et 180 secondes de charge pour les deux lots

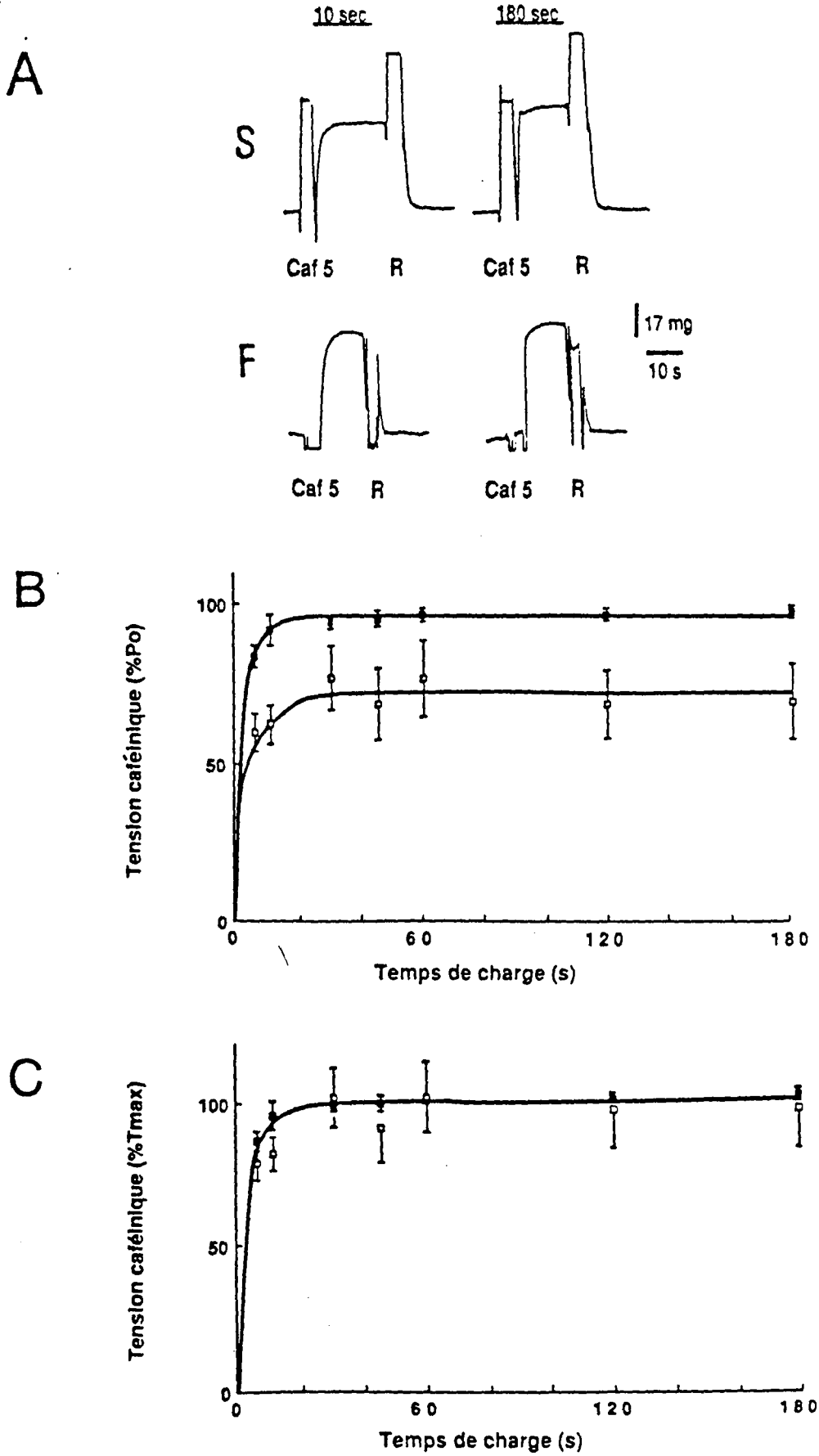


Figure 59 : Enregistrements des contractions obtenues pour différents temps de charge (A). Relation entre la tension et le temps de charge : les tensions sont exprimées en % P_o (B) et en % de la tension catéinique maximale (C). Animaux synchrones (■) et vol (□).

d'animaux S et F. On constate que pour les deux groupes, 10 secondes permettent une charge du RS quasi maximale puisque les tensions sont respectivement égales à 95 et 98 % de la tension caféinique obtenue après 180 secondes de charge.

L'ensemble des résultats est résumé par la relation entre la tension caféinique et le temps de charge (figure 59B). Comme nous l'avons décrit pour l'expérience dose réponse, la tension caféinique maximale, exprimée en % P_0 , est plus faible pour les animaux vol (74 % P_0) que pour les animaux synchrone (97 % P_0). La quantité maximale de calcium stockée par le RS est donc plus petite après le vol. En outre, le temps minimum nécessaire pour obtenir la charge maximale du RS est sensiblement le même pour les deux groupes, et est égal à 20 secondes. Pour des temps de charge inférieurs à 20 secondes, les tensions sont plus faibles après le vol suggérant une diminution de la vitesse de pompage du calcium par le RS. Cependant, de manière à tenir compte de la différence de tension maximale, les tensions présentées figure 59C, sont rapportées à la tension caféinique maximale (T_{max}). On constate alors que les différences entre les deux groupes disparaissent.

b) Vol 1667

L'activité de pompage est testée sur les deux groupes d'animaux après un vol de 7 jours. La figure 60A présente les enregistrements des contractions obtenues par la caféine 5 mM après différentes durées de charge. Après 3 secondes, les tensions sont égales à 40 et 30 % P_0 pour respectivement les animaux S et F. Pour des durées de charge plus grandes, l'amplitude de la tension augmente. Pour 30 secondes, la tension est quasi maximale pour les deux lots d'animaux. Les enregistrements montrent également que les tensions se développent plus lentement et se relâchent de façon moins importante après le vol. Ce résultat est en faveur d'une réduction du pompage calcique par le RS.

L'ensemble des résultats obtenus est résumé par les courbes de la figure 60B. L'amplitude des tensions caféiniques augmente pour des durées de charge comprises entre 0 et 40 secondes, au-delà desquelles la tension n'augmente plus. Les tensions plus

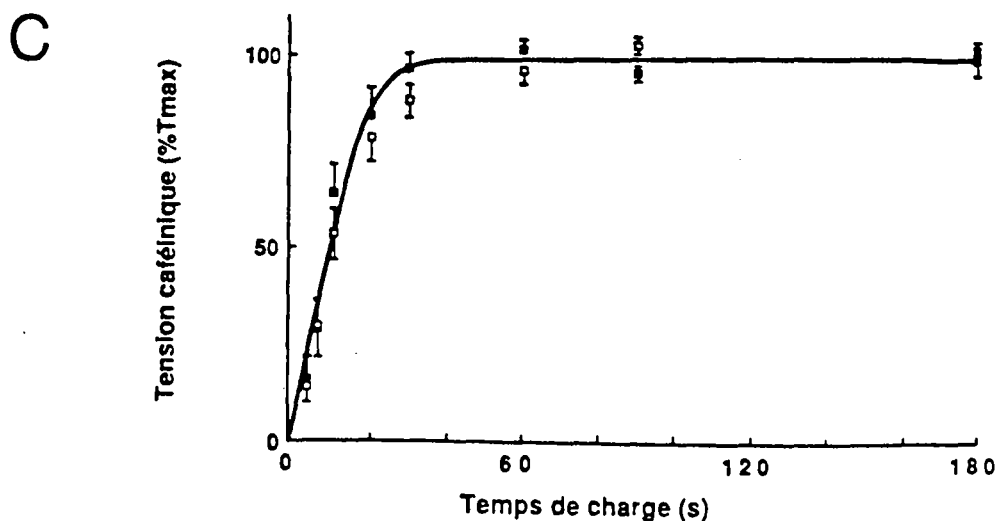
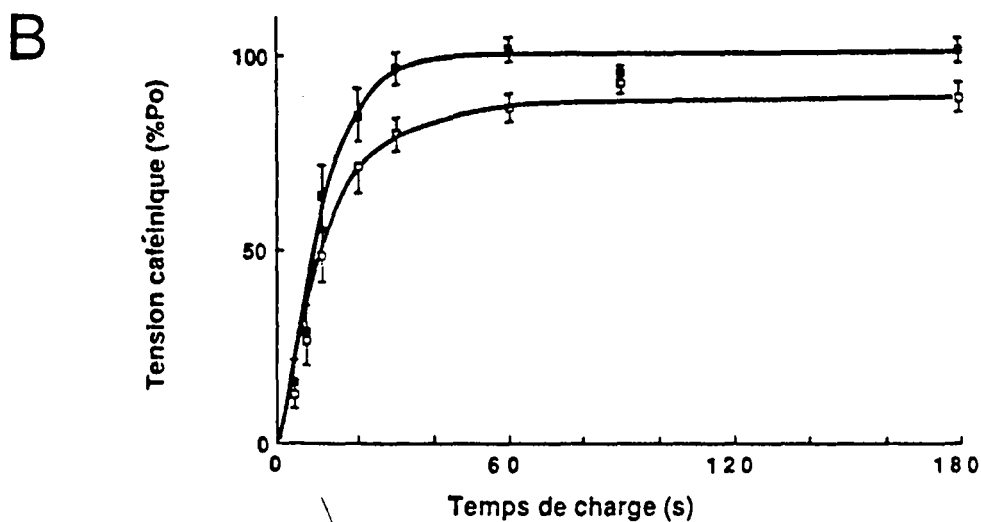
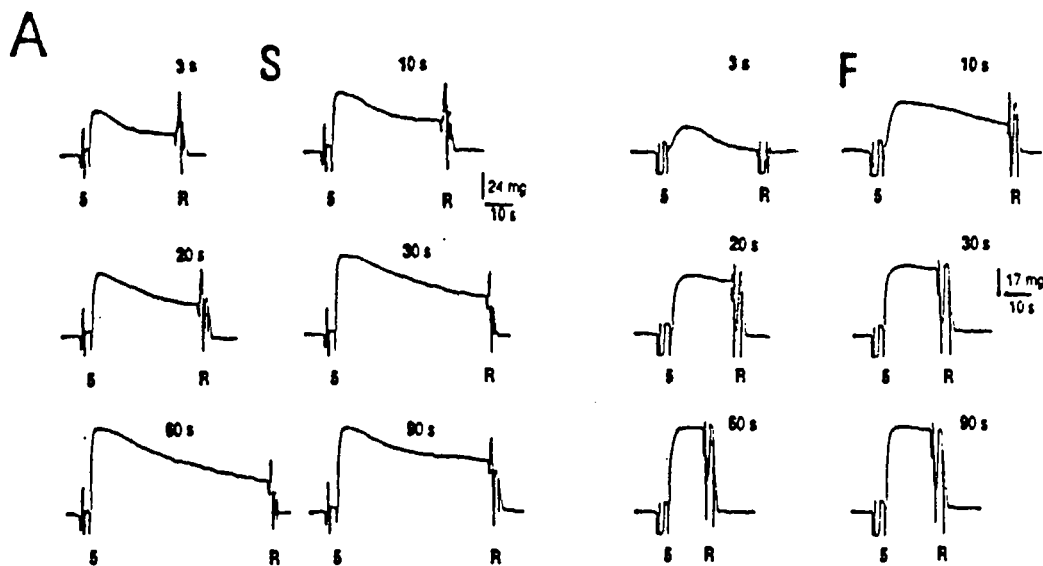


Figure 60 : Enregistrements des contractions obtenues pour différents temps de charge (A). Relation entre la tension et le temps de charge : les tensions sont exprimées en %Po (B) et en % de la tension caféinique maximale (C). Animaux synchrones (■) et vol (□).

faibles pour une même durée de temps indiquent une diminution de la vitesse de pompage par le RS.

Cependant, comme pour le vol 1514, la tension caféinique maximale est plus faible (chute de 100% P_0 à 88% P_0 pour respectivement S et F). La figure 60C présente la même relation exprimée en % de la tension caféinique maximale. On constate alors que les différences s'estompent et que 30 secondes constituent le temps minimum pour charger complètement le réticulum pour les deux lots d'animaux. Rappelons que pour le vol 1514 nous avons noté un temps de 20 secondes. La diminution apparente de la vitesse de pompage décrite ci-dessus est donc liée uniquement à une chute de la capacité de pompage du RS.

En conclusion, après un vol spatial de 5 ou 7 jours : 1) la quantité maximale de calcium stockée est plus faible après le vol ; 2) la vitesse de pompage ne semble pas altérée.

B - GASTROCNEMIEN LATERAL

1. Relation dose réponse

a) *Vol 1514*

La figure 61A présente les résultats obtenus sur le gastrocnémien latéral. Les enregistrements montrent les contractions induites par une faible (0.312 mM) et une forte (5 mM) concentration caféinique pour chaque lot d'animaux. La contraction induite par 0.312 mM sur les animaux synchrone est phasique et commence après 5 secondes de latence. Son amplitude est quasi maximale et est égale à 85 % P_0 . Pour les animaux vol, la contraction est également phasique mais le temps de latence entre l'application de la caféine 0.312 mM et le déclenchement de la contraction est nettement plus grand que pour les animaux synchrone. Il atteint 140 secondes. L'amplitude de la tension est plus petite que celle obtenue sur les animaux S (72 % P_0). La caféine 5 mM permet d'obtenir une tension maximale et les

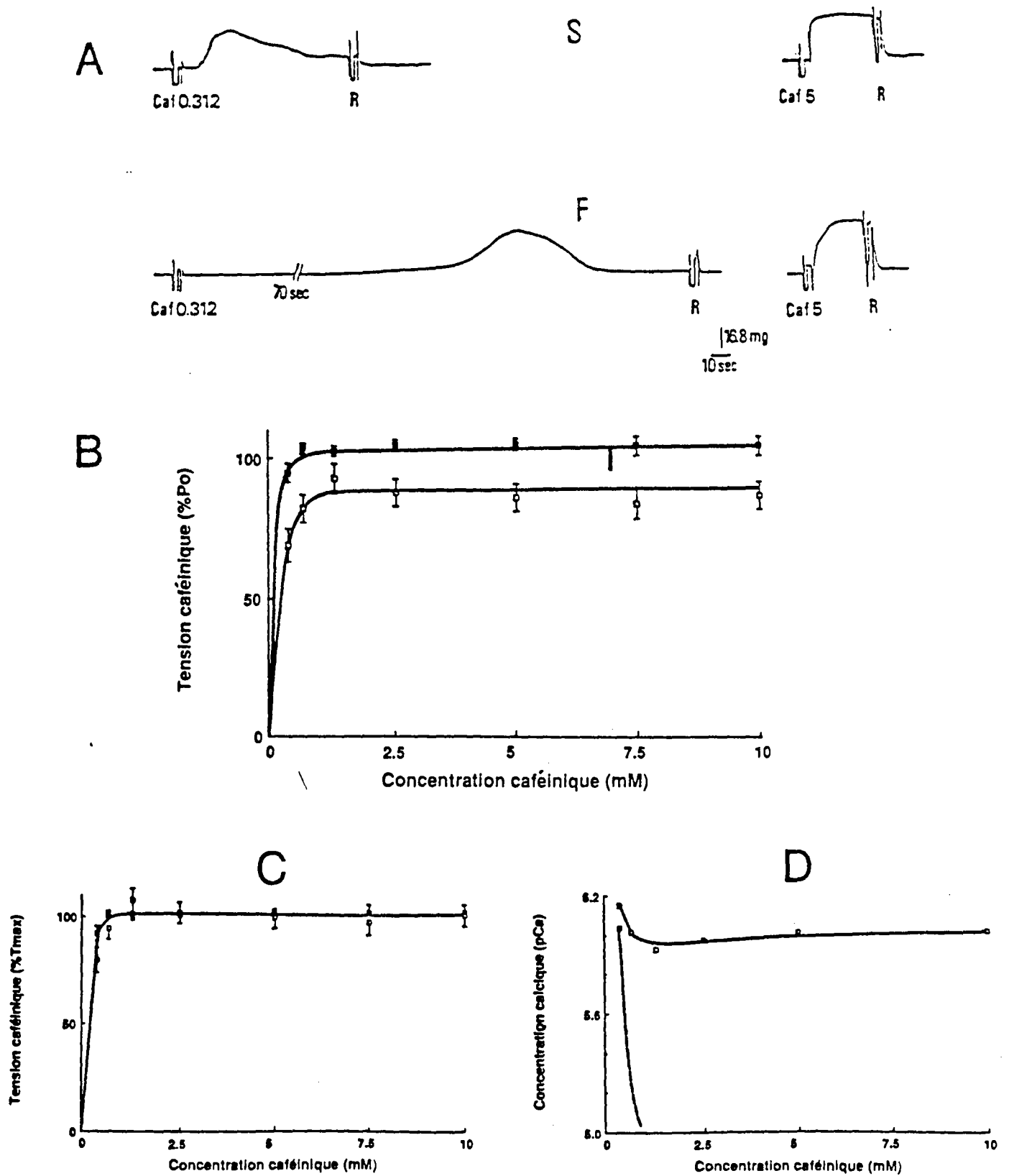


Figure 61 : Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine (A). Relation dose réponse : les tensions sont exprimées en % Po (B) et en % de la tension caféinique maximale (C) ; la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (D). Animaux synchrone (■) et vol (□).

enregistrements montrent que la mise sous tension est plus lente pour les animaux vol que pour les animaux synchrones.

Les résultats sont résumés par la relation dose-réponse (figure 61B). On constate alors que la tension caféinique maximale (exprimée en % P_0) obtenue pour les animaux vol est toujours inférieure à celle obtenue pour les animaux synchrones. Ce résultat similaire à celui observé pour le plantaris suggère que la capacité de pompage a été diminuée après un vol spatial. Lorsque les tensions sont normalisées par rapport à la tension caféinique maximale (figure 61C), on observe que les différences disparaissent : la sensibilité du RS à la caféine est identique pour les deux groupes S et F et la tension maximale est obtenue pour une concentration égale 0.625 mM. La valeur de 5 mM choisie pour la suite de nos expériences permettra donc d'obtenir une tension maximale.

Sur ce muscle une autre présentation des résultats est nécessaire. En effet, les tests concernant le réticulum sarcoplasmique sont basés sur une méthode indirecte utilisant la contraction et par conséquent les myofilaments. Pour le gastrocnémien, nous avons décrit dans le paragraphe concernant les protéines contractiles une diminution de la sensibilité calcique après le vol. Nous devons donc en tenir compte pour notre expérience sur le RS. C'est pourquoi nous avons estimé à partir des tensions caféiniques (exprimées en % P_0) et de la courbe tension/pCa, une valeur de la concentration calcique au niveau des myofilaments. Puisque le calcium est libéré à partir du RS, nous avons une estimation de la concentration du calcium préalablement pompé. Nous sommes conscients que cette méthode ne permet qu'une approche de la véritable concentration calcique et nous ne l'utiliserons que dans un but qualitatif. La figure 61D présente les résultats exprimés sous la forme de la concentration calcique estimée en fonction de la dose de caféine. Pour les animaux synchrones nous n'avons défini qu'un seul point correspondant à la dose de caféine 0.312 mM. En effet, pour des valeurs supérieures ou égales à 0.625 mM la tension est égale à 100 % P_0 , ce qui correspond à une concentration calcique supérieure ou égale à 5.4. Nous avons donc tracé la courbe des animaux synchrones en pointillés puisque nous n'avons pas de valeur exacte de la

concentration calcique. En revanche, pour les animaux vol, il a été possible d'associer à chaque tension une estimation de la concentration calcique puisqu'elles sont toujours inférieures à 100% P_0 . On constate alors que la concentration calcique estimée est, pour toutes les doses de caféine, inférieure pour les animaux vol que pour les animaux synchrone (les valeurs de pCa sont plus fortes) et confirme donc les résultats obtenus figure 61B, à savoir que la quantité du calcium pompé à l'intérieur du RS est plus faible après le vol.

Nous avons donc constaté que 5 mM permet d'obtenir, pour les deux lots d'animaux, une contraction maximale, même si la quantité totale de calcium pompé n'est pas la même. Nous conserverons donc cette concentration de 5 mM dans l'expérience de contrôle de l'activité de pompage calcique par le RS.

b) Vol 1667

La figure 62A montre les enregistrements des contractions induites par différentes doses de caféine. Pour les animaux synchrone, 0.312 mM permet d'obtenir une tension maximale qui se développe rapidement. En ce qui concerne les animaux vol, la même concentration engendre une tension qui se développe lentement et qui n'atteint que 81 % P_0 . Pour des valeurs de concentration égales à 10 mM la tension est généralement plus faible que celle obtenue par 5 mM.

L'ensemble des résultats est présenté par les courbes de la figure 62B. Pour les animaux synchrone, la tension est maximale dès 0.312 mM et reste égale jusqu'à 5 mM. Cependant, la tension est plus faible pour une concentration forte de 10 mM. Pour les animaux vol, 0.625 mM constitue la dose minimale pour obtenir l'activation maximale. Les tensions restent à un niveau identique jusqu'à 5 mM puis diminuent pour 10 mM. Cette diminution à forte concentration caféinique est probablement due à un effet direct de la caféine sur les protéines contractiles (WENDT et STEPHENSON, 1983).

La tension maximale (exprimée en % P_0) plus faible pour les animaux vol que pour les animaux synchrone, traduit, comme pour

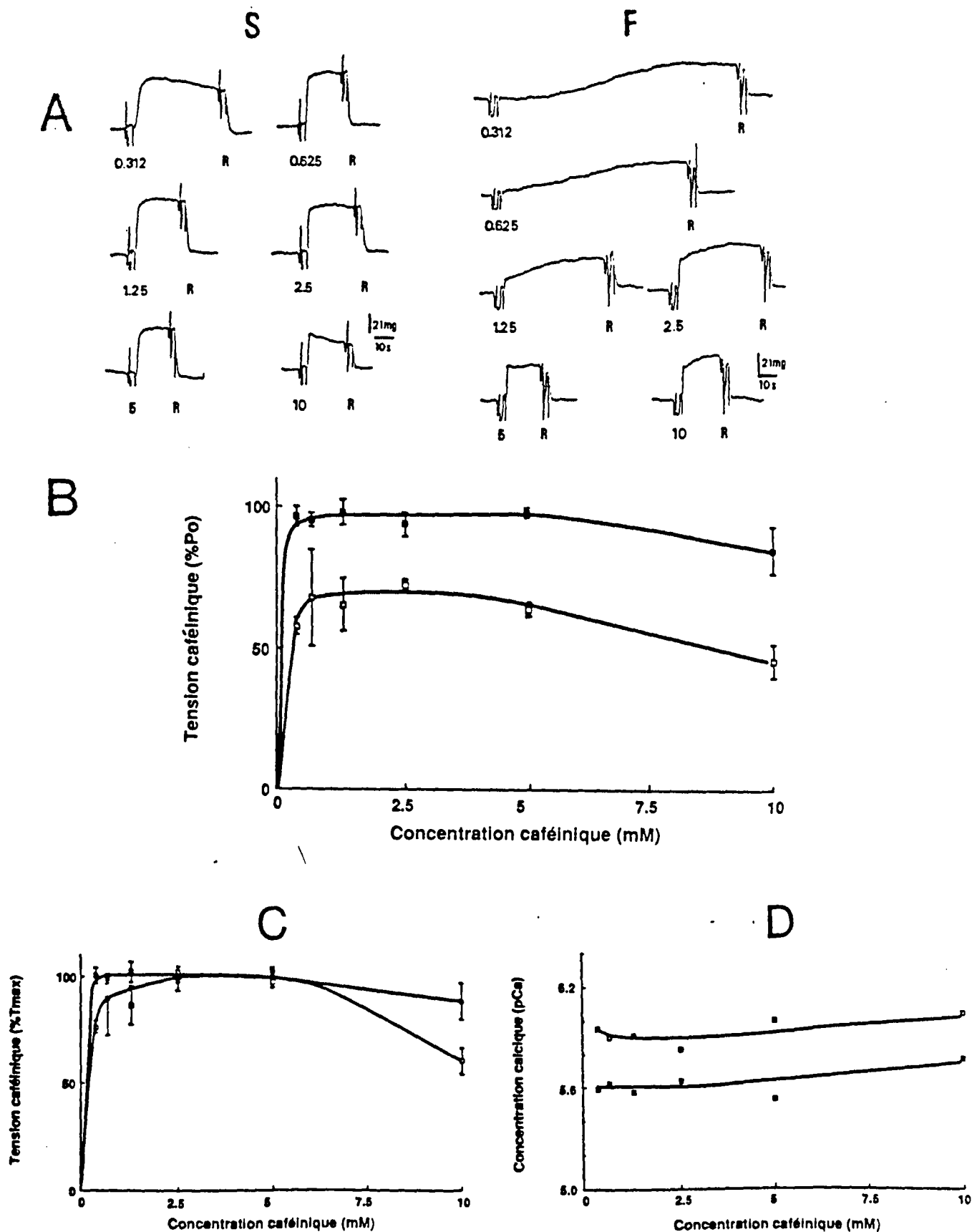


Figure 62 : Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine (A). Relation dose réponse : les tensions sont exprimées en % P_0 (B) et en % de la tension caféinique maximale (C) ; la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (D). Animaux synchrones (■) et vol (□).

le plantaris et le gastrocnémien du vol 1514, une diminution de la capacité de pompage du RS.

De la même façon que pour le vol 1514 nous devons présenter les résultats sous deux autres formes pour tenir compte de la différence de maximum et du déplacement de la relation T/pCa après le vol.

La figure 62C montre la relation quand les tensions sont normalisées à la tension caféinique maximale. On constate qu'une concentration de 0.312 mM est suffisante pour obtenir une tension maximale dans le cas des animaux synchrones. En revanche, pour les animaux vol, une dose de caféine égale à 2.5 mM est nécessaire suggérant une diminution de la sensibilité du RS à la caféine après le vol et donc un largage calcique moins facile. Une dose de 5 mM sera utilisée pour tester la capacité de pompage du gastrocnémien puisqu'elle induit pour les deux groupes d'animaux une tension maximale.

La figure 62D montre que la concentration calcique libérée, estimée à partir de la relation tension/pCa, est toujours inférieure pour les animaux vol (plateau à pCa 5.6 et 5.9 pour respectivement synchrones et vol). Ce résultat confirme que la capacité maximale de pompage du calcium est diminuée après le vol.

En conclusion : 1) la quantité de calcium pompé par le RS est réduite après un vol spatial de 5 ou 7 jours 2) une concentration de 5 mM est suffisante pour faire libérer tout le calcium dans le myoplasme et sera donc utilisée pour l'expérience de contrôle de pompage.

2. Pompage calcique

a) *Vol 1514*

La figure 63A illustre les résultats obtenus lorsque les fibres de gastrocnémien sont chargées avec une pCa 6.8 pendant des temps variables. Après 10 secondes de charge, la tension est égale à 85 % et 77 % P_0 pour respectivement les animaux S et F.

Les relations entre le temps de charge et la tension caféinique sont illustrées figure 63B. Le temps minimal nécessaire pour provoquer une contraction maximale est égal à 20 secondes pour les deux groupes d'animaux. Cependant, après 5 secondes de charge, la tension est plus faible pour les animaux vol. Ce qui signifie que pour une même durée, une quantité inférieure de calcium a été pompée (puis relarguée) par le RS. Ce résultat suggère une diminution de la vitesse de pompage du RS. Cependant, la quantité de calcium libérée (traduite par la tension caféinique) rapportée à la capacité maximale de pompage (tension caféinique maximale) est identique puisque les différences disparaissent lorsque la tension est rapportée à la tension maximale (figure 63C). De manière à vérifier que la baisse d'affinité des protéines contractiles pour le calcium ne modifie pas nos conclusions, la concentration calcique libérée a été estimée en utilisant la relation T/pCa . On constate alors (figure 63D) que la concentration maximale est effectivement plus importante pour les animaux synchrone que pour les animaux vol (la ligne pointillée montre la relation probable puisqu'il est impossible, pour des valeurs de tensions égale à 100 %, de donner une valeur exacte). En ce qui concerne les faibles temps de charge, on confirme que la différence de concentration pendant un temps donné ($\Delta pCa/\Delta t$) est diminuée après le vol. Ce qui suggère fortement que la vitesse apparente de pompage du RS est diminuée après le vol.

b) *Vol 1667*

Les enregistrements présentés à la figure 64A illustrent l'expérience de contrôle de l'activité de pompage par le réticulum

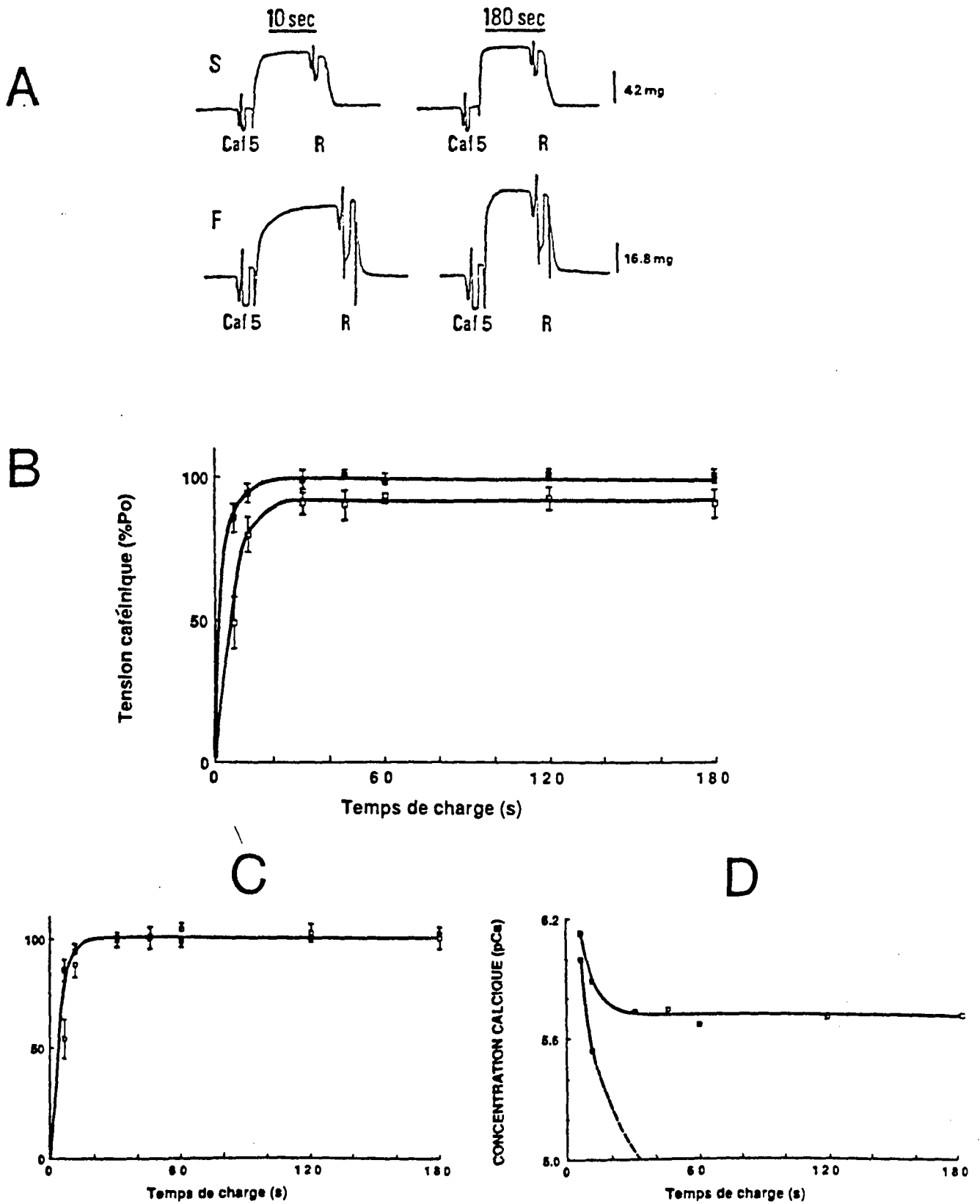


Figure 63 : Enregistrements des contractions obtenues pour différents temps de charge (A). Relation entre la tension et le temps de charge : les tensions sont exprimées en % Po (B) et en % de la tension catélinique maximale (C) ; la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (D). Animaux synchrones (■) et vol (□).

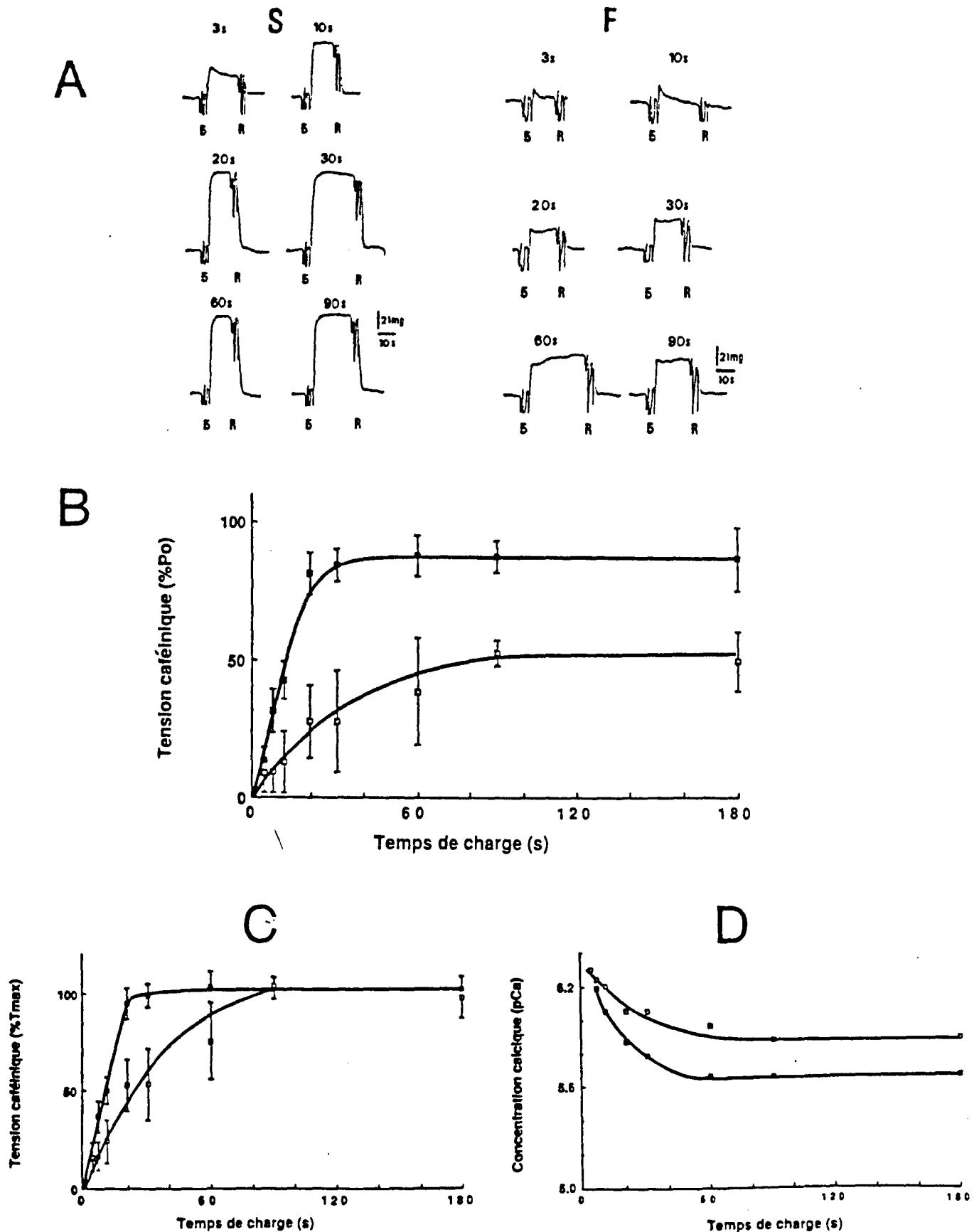


Figure 64 : Enregistrements des contractions obtenues pour différents temps de charge (A). Relation entre la tension et le temps de charge : les tensions sont exprimées en %Po (B) et en % de la tension caféinique maximale (C) ; la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (D). Animaux synchrones (■) et vol (□).

sarcoplasmique du gastrocnémien. Pour les animaux synchrones, 3 secondes de charge permettent d'engendrer une tension caféinique égale à 30 % de celle obtenue à 90 secondes. Les enregistrements montrent qu'après 10 secondes de charge, 60 % de la tension caféinique maximale est obtenue. La valeur du temps de charge pour laquelle la tension maximale est induite est égale à 20 secondes. En ce qui concerne les animaux vol, les enregistrements montrent qu'après 3 secondes une faible contraction se développe (25 % de la tension caféinique maximale). Pour des temps de charge plus élevés, les amplitudes des contractions caféiniques augmentent légèrement et sont égales à 43, 57 et 75% de la tension caféine maximale pour respectivement 10 sec, 20 sec et 30 sec. Le pompage du calcium par le RS se fait donc plus lentement. L'ensemble des résultats est présenté figure 64B. Pour les animaux synchrones, et pour des durées de charge comprises entre 0 et 30 secondes, plus le temps de charge est grand plus l'amplitude de la tension est élevée. Pour des durées supérieures à 30 secondes, la tension n'augmente plus. En revanche, pour les animaux vol, 90 secondes sont nécessaires pour obtenir une tension maximale, soit trois fois plus que pour les animaux synchrones. Ces résultats suggèrent une diminution de la vitesse de pompage du RS.

Lorsque les tensions sont rapportées à la capacité maximale de pompage (figure 64C), on constate que la différence entre les animaux vol et synchrones persiste.

De manière à tenir compte de la chute de la sensibilité calcique des protéines contractiles, nous avons estimé la concentration calcique dans la figure 64D. Cette illustration permet de confirmer que la quantité maximale de calcium libérée est plus faible après le vol et que la vitesse de pompage est réduite puisque la pente pour les faibles valeurs de temps de charge est diminuée.

C - SOLEUS (VOL 1667)

1. Relation dose réponse

Les résultats sont illustrés figure 65A. Les enregistrements obtenus sur fibres synchrones montrent que la concentration 0.312 mM induit une contraction phasique d'amplitude égale à 87 % P_0 . Avec 0.625 mM, la tension est maximale. Pour les animaux vol, 0.312 mM induit une contraction phasique après une période de latence de 60 secondes, d'amplitude égale à 40 % P_0 . Pour des valeurs de concentrations caféiniques supérieures, les tensions restent phasiques, et les latences diminuent. La concentration nécessaire pour obtenir des tensions caféiniques maximales est égale à 5 mM. Les résultats sont résumés dans la relation dose-réponse de la figure 65B. Les courbes confirment que 0.625 mM et 5 mM sont les doses minimales nécessaires à l'obtention d'une tension maximale pour respectivement les animaux S et F. La concentration de 5 mM choisie pour les animaux synchrones peut également être utilisée dans l'expérience de contrôle du pompage pour les animaux vol. Pour de faibles concentrations caféiniques, la quantité de calcium libérée semble plus faible. En revanche, pour les fortes concentrations, la quantité calcium pompée dans le RS semble identique pour les animaux S et F.

Cependant, comme nous l'avons présenté pour le muscle gastrocnémien (figure 61D) il est nécessaire de prendre en compte la baisse d'affinité des protéines contractiles pour le calcium (déplacement de la relation T/pCa). La figure 65C montre que le taux de calcium estimé varie peu sur les animaux synchrones en fonction de la concentration caféinique (ce qui confirme le plateau de la courbe, figure 65B). Par contre, après le vol, le taux de calcium est directement dépendant de la concentration caféinique. La concentration de 5 mM reste pour les deux groupes d'animaux une dose capable d'induire une libération maximale de calcium. Toutefois, la quantité libérée est plus importante après le vol (valeur maximale égale à pCa 5.45 et 5.50 pour les animaux synchrones et vol respectivement).

SOLEUS 1667

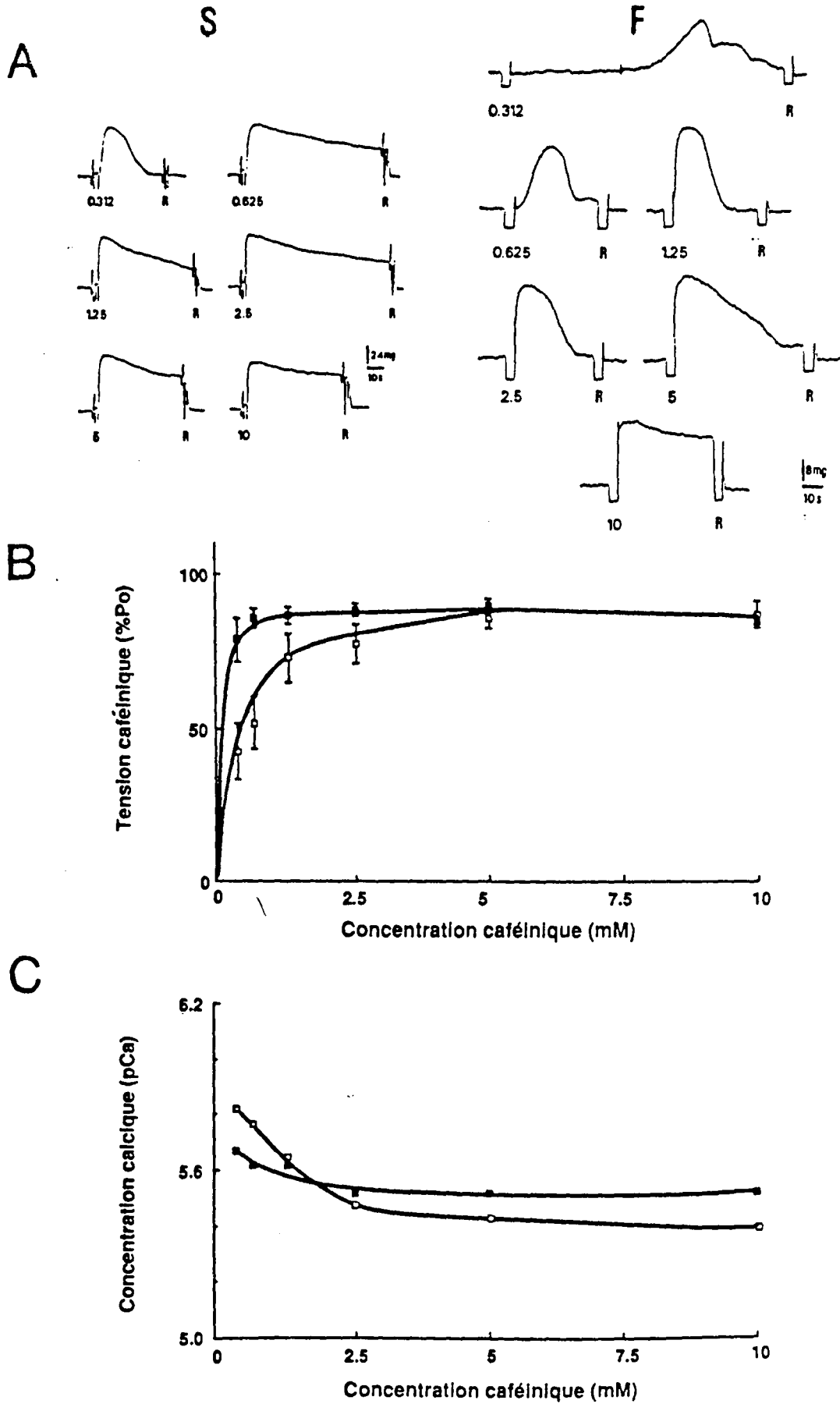


Figure 65 : Enregistrements des contractions obtenues par différentes doses de caféine (A). Relation dose réponse : les tensions sont exprimées en % Po (B) et la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (C). Animaux synchrone (■) et vol (□).

En conclusion, après un vol de 7 jours, contrairement aux muscles gastrocnémien et plantaris, il apparaît que la quantité maximale de calcium que peut pomper le RS est plus élevée après le vol.

2. Pompage calcique

Les résultats sont présentés figure 66A. Les contractions caféiniques (5 mM) enregistrées sur les fibres d'animaux synchrones ne se relâchent pas spontanément. Après 3 secondes de charge, le RS est fortement chargé, la tension caféinique étant égale à 73 % de la tension caféinique maximale. Pour des durées de charge plus élevées, l'allure de la contraction ne change pas mais l'amplitude croît. La tension maximale est atteinte pour une charge de 30 secondes. Pour les animaux vol, la forme de la contraction est phasique, et le développement de la tension est plus lent. La tension maximale est obtenue pour une durée de charge de 90 secondes.

Les courbes (figure 66B) confirment ces résultats. La valeur maximale égale à 89 % P_0 est identique pour les deux lots d'animaux. Cependant pour chacune des durées de charge comprise entre 0 et 90 secondes, en particulier pour les temps de charge très courts, l'amplitude des tensions pour les animaux vol est plus faible que celles des animaux synchrones.

Lorsque la baisse d'affinité calcique des protéines contractiles est considérée (déplacement de la tension/pCa) on observe que la quantité maximale de calcium libéré est supérieure après le vol (figure 66C). Il apparaît donc que la vitesse de pompage est plus rapide après un vol spatial de 7 jours. Ce qui corrobore notre observation d'un relâchement de la contraction plus rapide après le vol.

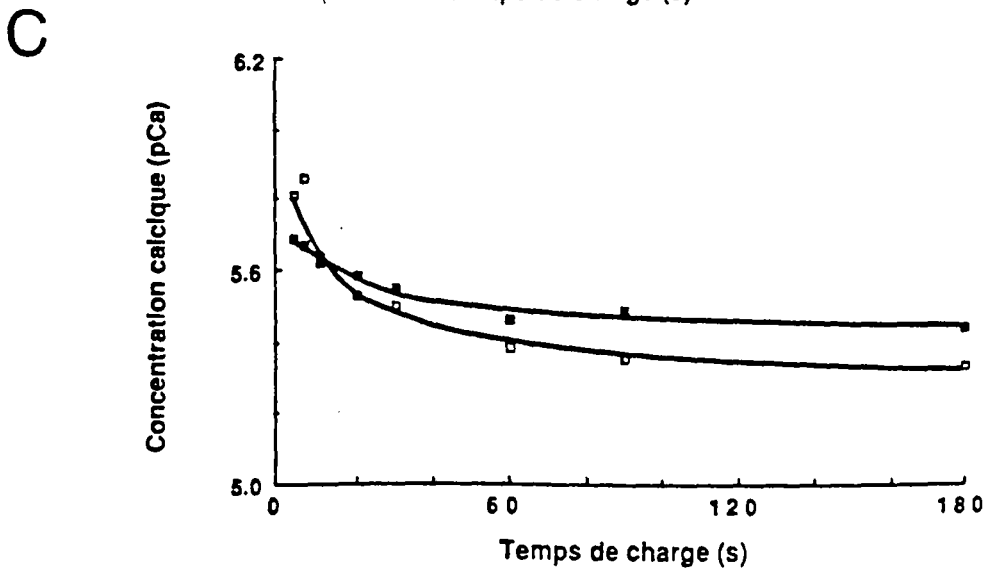
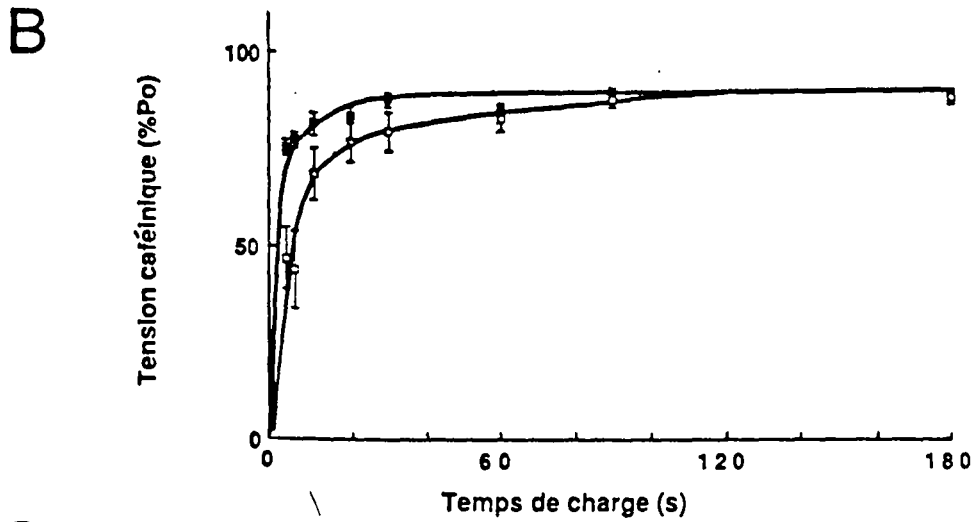
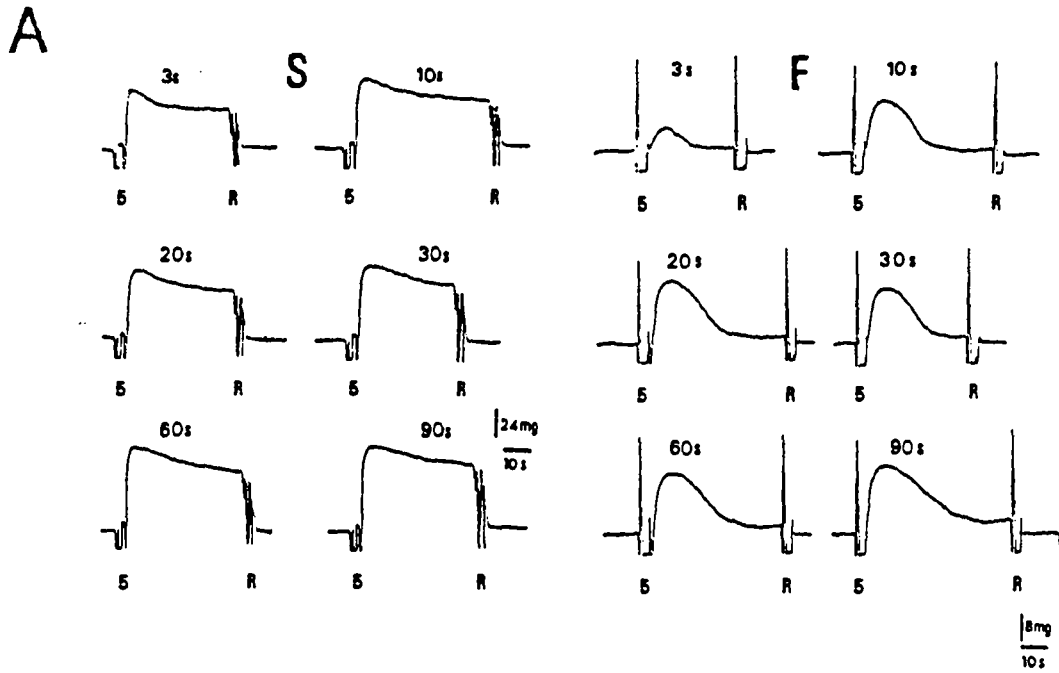


Figure 66 : Enregistrements des contractions obtenues pour différents temps de charge (A). Relation entre la tension et le temps de charge : les tensions sont exprimées en %Po (B) et la concentration calcique est estimée à partir de la valeur de la tension (C). Animaux synchrones (■) et vol (□).

D - RESUME

Les expériences ont été réalisées sur le plantaris (5 et 7 jours), le gastrocnémien latéral (5 et 7 jours) et le soleus (7 jours) de rat après un séjour dans l'espace de 5 (Biocosmos 1514) et 7 jours (Biocosmos 1667). Les résultats sont les suivants :

1. Plantaris

- La capacité de pompage est réduite pour les deux vols,
- la sensibilité caféinique est diminuée après le vol 1514,
- la vitesse de développement des contractions est plus faible,
- les contractions deviennent maintenues en tension
- la cinétique de pompage reste inchangée.

2. Gastrocnémien

- la capacité de pompage est réduite,
- les performances du RS sont réduites (ralentissement de la vitesse de pompage du calcium),
- la sensibilité caféinique est légèrement diminuée pour le vol 1667,
- un temps de latence important apparait pour les tensions induites par de faibles concentrations caféiniques,
- le développement des contractions est plus lent après le vol,
- les contractions deviennent maintenues.

3. Soleus

Contrairement aux résultats obtenus pour les deux muscles rapides plantaris et gastrocnémien :

- l'activité de pompage est augmentée pour ce muscle lent,
- un temps de latence apparait,
- le développement des contractions est plus lent,
- les tensions se relâchent plus rapidement (ce qui se manifeste par des tracés d'allure phasique).

DISCUSSION

I - DIFFERENCES ENTRE MUSCLES NORMAUX LENT ET RAPIDE

En prenant l'exemple du plantaris comme muscle rapide et du soleus comme muscle lent, nous avons pu montrer :

- que la force maximale développée par les muscles lents est inférieure à celle produite par les muscles rapides,
- que le seuil d'activation des protéines contractiles par le calcium est plus bas pour les muscles lents,
- que la valeur de la pCa_{50} est plus faible pour les muscles lents ce qui se traduit par un décalage vers la droite sur l'axe des concentrations calciques de la relation tension/ pCa ,
- que la pente de la relation tension/ pCa est plus faible dans le cas des muscles lents,
- que la cinétique de contraction est plus lente pour le soleus que pour le plantaris,
- que le profil électrophorétique d'un muscle lent est différent de celui d'un muscle rapide.

Le rôle activateur de tension joué par l'ion calcium est maintenant bien accepté et s'inscrit dans le modèle général de la levée du blocage stérique établi par les sous unités des myofilaments (GULATI et PODOLSKY, 1978). Dans ce modèle, la modulation de la force peut être simplement reliée au nombre de "générateurs de force". L'amplitude de la tension est alors proportionnelle au nombre de liaisons actine-myosine. Ce nombre peut ensuite être gradué par une activation partielle, dépendant de la concentration calcique (BRENNER et YU, 1983).

La tension maximale (calculée sur des contractions induites par pCa 4.8) développée par les fibres du plantaris est supérieure en mg (de 20%) ou en $kg.cm^{-2}$ (de 34%) à celle du soleus. Cette différence avait déjà été notée par GULATI (1976) qui trouvait que la tension maximale obtenue sur un EDL (autre muscle typiquement rapide) était supérieure d'environ 20 % à celle observée sur un soleus. En outre, les tensions maximales sont obtenues par l'application d'une solution calcique de pCa 5.0 pour les fibres de

soleus alors qu'une pCa 5.2 est suffisante dans le cas des fibres de plantaris.

Plus généralement, les tensions sous-maximales (exprimées en mg ou en %Po) sont également plus élevées pour le plantaris que pour le soleus. La relation T/pCa est décalée de 0.16 unités pCa vers des valeurs plus élevées de pCa pour le muscle rapide. Il s'agit alors de contractions induites par des concentrations calciques comprises entre pCa 5.0 et pCa 6.4. En revanche, quand les points expérimentaux sont ajustés grâce à la relation de Hill, la courbe tension/pCa montre que pour des valeurs de concentration calcique faibles (valeurs supérieures à pCa 6.4) le muscle lent développe une plus grande tension que le muscle rapide. Le muscle lent se caractérise donc par un seuil d'activation calcique plus faible que celui d'un muscle rapide, c'est-à-dire que les protéines contractiles du soleus sont sensibles à de plus faibles concentrations de calcium que celles du plantaris. Ce résultat qui avait déjà été observé par KERRICK et coll. (1976), TAKAGI et ENDO (1977) suggère à lui seul une différence de structure des protéines contractiles.

La position de la relation tension/pCa est classiquement associée à la sensibilité calcique des myofilaments. En effet, une augmentation de la tension isométrique sur fibre pelée est supposée refléter la liaison du calcium avec les sites régulateurs de la troponine C (KERRICK et coll., 1980). Il a été rapporté par BREMMEL et WEBER (1972) que l'augmentation de l'affinité de la troponine C pour le calcium fait croître le nombre de ponts actine-myosine. Le décalage vers la gauche pour le plantaris signifie donc une augmentation de l'affinité apparente de la troponine C plus grande pour les muscles rapides que pour les muscles lents (illustrée par la valeur plus grande de pCa₅₀). Toutefois, tous les auteurs ne semblent pas d'accord avec le positionnement relatif de la courbe tension/pCa. Cependant, des variations de conditions expérimentales peuvent souvent expliquer ces différences. A partir des études de STEPHENSON et WILLIAMS (1981), il apparaît qu'il existe d'importantes fluctuations de la sensibilité calcique des fibres musculaires (lentes ou rapides) selon la température. Ils

montrent que la sensibilité diminue quand la température augmente de 5° à 25°C et que la position relative des courbes tension/pCa des fibres lentes et rapides change également. Cette étude prouve donc que la température joue un rôle décisif dans la sensibilité calcique des protéines et peut ainsi expliquer certaines différences observées selon les auteurs.

Il a été décrit que la sensibilité calcique est plus grande pour les fibres II_B que pour les fibres II_A (STEPHENSON et WILLIAMS, 1982 ; GREASER et coll., 1988). Un effet de la longueur des sarcomères peut également être impliqué dans les différences de sensibilité. En effet, il a été rapporté par STEPHENSON et WILLIAMS (1982) que l'augmentation de la longueur de sarcomère (de 2.2 à 3.6 μm) déplace la courbe T/pCa pour les deux types de fibres vers des valeurs de pCa plus faibles sans toutefois en modifier la pente.

Dans la relation T/pCa définie par l'équation de Hill, la pente plus élevée pour le muscle plantaris est caractérisée par une valeur du coefficient n_H plus grande ($n_H = 3.12$) comparée à celle du soleus ($n_H = 2.05$). Cette différence suggère une plus grande coopérativité pour les muscles rapides. Dans la conception première de la coopérativité les auteurs ne faisaient intervenir que la troponine C et le calcium. La valeur de n ne pouvait alors théoriquement être supérieure à 4, nombre qui correspond au nombre maximal de sites calciques de la troponine C. Plus récemment, les caractéristiques de la relation T/pCa (tant la position que la pente) sont corrélées à des différences de types de troponines C, surtout en ce qui concerne leurs sites calciques à faible affinité. En effet, il a été montré que les troponines C de type rapide ont deux sites à faible affinité alors que les troponines de type lent de même que celles du muscle cardiaque n'en n'ont qu'un seul (POTTER et GERGELY, 1975). Des expériences de substitution ont montré clairement que le type de troponine présent dans le muscle avait un rôle prédominant dans la relation entre la contraction et le calcium. Cette technique consiste à enlever la troponine C endogène d'un muscle et à la remplacer par une TnC d'un autre type musculaire (MOSS et coll., 1986 ; BABU et coll., 1987 ; GULATI et coll., 1988). La relation T/pCa est alors transformée et s'approche ou devient identique à celle du type de

fibre auquel appartient la troponine C. Ceci est vrai aussi bien pour la pente que pour la position le long de l'axe de la concentration calcique.

Toutefois, le mécanisme de coopérativité tel que nous venons de le décrire ne peut expliquer tous les résultats. En effet, d'autres auteurs (BRANDT et coll., 1980, 1982, 1984) trouvent des valeurs de n_H supérieures à 4 (5.0 et 5.6). Selon BRANDT et coll. (1982), ces variations pourraient être expliquées par des différences au niveau des durées des phases successives (phases attachées et réfractaires) impliquées dans le mécanisme cyclique de la contraction. En addition, des différences des valeurs des constantes de liaison pourraient intervenir. Plus récemment, BRENNER et coll. (1988) ont suggéré que la pente de la relation T/pCa pouvait être affectée par les valeurs de la cinétique des mouvements d'attachement et de détachement actine-myosine. Une explication supplémentaire donnée par MOSS et coll. (1986) adopte l'idée d'une interaction de type coopératif avec les tropomyosines adjacentes. En accord avec SCHACHAT et coll. (1987) la réponse de la fibre musculaire serait également déterminée par la composition du complexe troponine T tropomyosine (Tn-TM).

Nos résultats concernant la position et la pente de la relation tension/pCa sont en accord avec ceux présentés par MOSS et coll. (1986) qui trouvaient que la substitution de la troponine C de muscle rapide de lapin par une troponine d'origine cardiaque modifiait l'allure de la relation T/pCa. La pente de la relation d'un muscle rapide est plus forte que celle observée pour un muscle lent, le seuil d'activation calcique est plus élevé et la courbe est déplacée vers des concentrations calciques plus basses. Toutefois, certains auteurs trouvent des résultats apparemment contraires. En effet, BABU et coll. (1987) observent une diminution de la sensibilité calcique après substitution de troponines lentes par des troponines C de type rapide. Cependant, MOUNIER et coll. (1989) proposent une explication en montrant que les conditions expérimentales des auteurs étaient différentes en ce qui concernait la température qui, comme nous l'avons déjà mentionné, joue un rôle décisif dans le positionnement de la relation T/pCa (STEPHENSON et WILLIAMS, 1981).

Un autre paramètre permettant de comparer les muscles lents et les muscles rapides est la vitesse de contraction. A partir des mesures, d'une part, du temps nécessaire pour atteindre l'état stable de la contraction et, d'autre part du paramètre P/t_{max} , nous avons trouvé que les fibres du soleus se contractaient plus lentement que celle du plantaris. Cette différence de vitesse de contraction avait déjà été observée par STEPHENSON et WILLIAMS (1982) également sur fibre pelée. Des études de la vitesse de raccourcissement des fibres (technique de "slack test") confirment ces résultats et montrent que les fibres I se contractent plus lentement que les fibres II_A et II_B (SWEENEY et coll., 1986). En outre, depuis que le concept de la composante élastique série a été introduit par HILL (1938), de nombreux travaux ont confirmé l'importance du rôle fonctionnel que cette composante pouvait être amenée à jouer au niveau du muscle (CAVAGNA, 1977 ; GOUBEL, 1987). Il est maintenant prouvé qu'une fraction "active" de cette composante élastique est localisée au niveau des cross-bridges (FORD et coll., 1981), l'autre partie résidant dans une fraction passive comprenant le tendon. Il est donc admis que cette composante joue un rôle dans l'étude des vitesses de contraction des fibres musculaires mais la part de celle-ci dans la différence muscle lent/muscle rapide reste à approfondir.

De nombreuses études ont été réalisées afin de savoir à quelles sous-unités de la myosine il fallait attribuer ces différences de performances. Ce point n'est pas encore complètement élucidé. MOSS et coll. (1982) montrent l'importance de la chaîne LC₂ sur la vitesse de contraction. En effet après avoir réalisé une extraction de 1/3 du contenu de la LC₂, ils constatent que la vitesse de contraction chute de 50 % sans altérer la force développée. Ils concluent alors à un rôle modulateur de la LC₂ dans la cinétique d'interaction de la myosine avec l'actine. Cependant, d'après REISER et coll. (1985 a,b), la vitesse de raccourcissement est fortement corrélée au type de la chaîne lourde de la myosine.

En conclusion, sur fibre pelée il est possible de différencier le type de fibre à partir de la relation T/pCa . Le paramètre le plus

important est comme nous l'avons vu la valeur de la pente. Une pente élevée caractérise une fibre de type rapide alors qu'une valeur faible désigne une fibre de type lent. Les autres paramètres : seuil d'activation, valeur de la pCa_{50} et vitesse de contraction complètent la classification.

II - EFFET DES VOLS SPATIAUX

ATROPHIE MUSCULAIRE

Il est maintenant bien connu que les vols spatiaux induisent une atrophie musculaire. Cependant, la grande majorité des résultats ont été obtenus pour des durées de vols comprises entre 18 et 20 jours (CHUI et CASTELMAN, 1980 ; ILYINA-KAKUEVA et coll., 1976 ; OGANOV et coll., 1980 a, b). Un des points importants de notre étude a donc été de montrer que l'atrophie musculaire peut également être observée après des vols de courtes durées (5 ou 7 jours ; HOLY et coll. 1986a,b ; HOLY et MOUNIER, 1990a) ou intermédiaires (13 jours ; HOLY et coll., 1990b). L'hypothèse d'une atrophie apparaissant pour des vols courts est supportée par les travaux de THOMASON et coll. (1987) sur le modèle du rat suspendu, qui montrent que la demi-vie des protéines myofibrillaires est égal à 4.1 jours et que celui de la myosine lente est égal à 3.6 jours. Ces chiffres sont compatibles avec une chute de la masse musculaire après 5 ou 7 jours d'hypodynamie.

L'atrophie se caractérise par une chute de la masse musculaire. Elle a été par ailleurs décrite dans des cas d'immobilisation, d'immersion ou d'alitement prolongé, de dénervation et de ténotomie. La plupart des auteurs expliquent la chute de la masse musculaire par une diminution du diamètre des fibres plutôt que par une diminution du nombre des fibres dans le muscle. STEFFEN et MUSACCHIA (1984) montrent sur les muscles atrophiés d'animaux suspendus, qu'il n'y a pas de perte de la quantité totale d'ADN dans le muscle et en concluent qu'il n'y a pas de diminution du nombre de fibres. Ils observent le même résultat après le vol spatial spacelab 3 (SL3) (STEFFEN et MUSACCHIA, 1986). La chute de la surface de section des fibres musculaires est alors associée à une diminution du contenu en protéines contractiles résultant d'une réduction de la synthèse des protéines et/ou d'une augmentation du processus de dégradation (BOOTH et KELSO, 1979).

Quand la fonte musculaire observée après les vols spatiaux ne peut pas être directement corrélée à une diminution de la taille des fibres (cas du plantaris après le vol 1667), elle est souvent attribuée à une perte d'eau tissulaire du muscle (VOROBYOV et coll., 1983 ; JASPERS et TISCHLER, 1984). Cette hypothèse peut aussi expliquer en partie pourquoi nous n'avons pas mesuré de chute de la masse musculaire du soleus après le vol 1887. En effet, la période dite "de récupération" ne peut pas avoir induit un retour de la masse protéique à un niveau normal en deux jours. En revanche, on peut concevoir que la masse de l'eau tissulaire puisse être récupérée en un tel laps de temps, d'autant plus que l'apesanteur qui conduit à un déplacement des liquides vers les parties thoraco-céphaliques de l'organisme se trouvait alors supprimée. En outre, une autre explication consiste à prendre en compte le développement abondant du tissu conjonctif pendant le vol. En effet, il apparaît clairement à l'expérimentation au moment de la dissection de la fibre que le tissu conjonctif est plus développé dans les muscles de rats soumis à la microgravité que dans ceux des témoins. On peut donc légitimement supposer que l'augmentation du tissu conjonctif associée à un retour de l'eau tissulaire peut masquer, au moins en partie, la chute de la masse musculaire alors qu'il se produit une diminution de la surface de section des fibres.

Un autre point très important de notre étude est que le degré d'atrophie dépend beaucoup du type de muscle. Dans nos expériences, il est observé principalement pour le soleus et pour le gastrocnémien alors que le plantaris semble moins affecté. Ce résultat est en accord avec la littérature concernant les vols spatiaux puisque les auteurs montrent que la masse du muscle lent soleus peut chuter jusqu'à 40 % (ILYINA-KAKUEVA et coll., 1976 ; RAPSAC et coll., 1983) mais que la masse du muscle rapide EDL ne varie pratiquement pas (OGANOV et coll., 1980). Il apparaît donc clairement à partir de nos résultats qu'indépendamment du typage les modifications sont plus importantes a) pour les muscles lents que pour les muscles rapides et b) pour les muscles impliqués dans la fonction antigravitaire que pour les muscles impliqués dans le mouvement.

LES PROTEINES CONTRACTILES

Une diminution de la force maximale P_0 exprimée en mg a systématiquement été observée pour le soleus ce qui confirme les résultats d'OGANOV et coll. (1980 a,b) obtenus sur fibres glycérolées pour le biocosmos 936 (18,5 jours). Pour le gastrocnémien, les résultats sont plus hétérogènes. En effet, la force musculaire maximale développée diminue pour les vols 1514 et 1667 mais pas pour le vol 1887. En revanche, P_0 mesurée pour le plantaris ne varie pour aucun des vols confirmant les résultats d'OGANOV et coll. (1980 a,b) puisqu'ils rapportent que la tension maximale développée par les fibres d'EDL, un autre muscle typiquement rapide, ne change pas après le vol 936 et augmente même après le vol 1129. Dans tous les cas, la diminution de la tension maximale absolue (exprimée en mg) mesurée après le vol spatial disparaît quand la tension est rapportée à l'unité de surface de la section de la fibre ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$). Ceci implique que la chute de la force observée chez les animaux vol est directement corrélée à la diminution de la section de la fibre, par conséquent au contenu en protéines contractiles. Quand la force maximale développée décroît, l'explication est donc en faveur d'une diminution du nombre de ponts formés entre l'actine et la myosine plutôt que d'une modification de la densité des myofilaments ou que d'une chute de la force unitaire par pont. Cette idée est en accord avec les travaux de STEFFEN et MUSACCHIA (1986) qui rapportent qu'il y a pour le soleus une diminution de la quantité totale de protéines mais pas de leur concentration.

Sur d'autres modèles inducteurs d'atrophie (immobilisation ou rat suspendu), une diminution de force/surface de section a été décrit sur muscle entier (WITZMANN et coll., 1983 ; WINIARSKI et coll., 1987, FALEMPIN et coll., 1988). Néanmoins, l'amplitude de la diminution est différente selon que la mesure a été effectuée à partir de la secousse musculaire ou à partir de la tension téanique. Ce résultat suggère une modification des éléments élastiques dans les cas d'atrophie. Les résultats obtenus à partir

des tensions tétaniques s'approchent d'avantage des valeurs observées sur fibre unique. Ceci peut s'expliquer par l'intervention réduite des éléments élastiques dans ces deux cas. Sur fibre unique REISER et coll. (1987) et STEVENS et coll. (1990) observent après suspension une diminution de P_0 /surface de section toujours plus faible (12-15%) que sur le muscle entier. En outre, il est bien connu que l'atrophie est associée à un élargissement des espaces extracellulaires par prolifération du tissu conjonctif (TEMPLETON et coll., 1984 a,b). La surface musculaire utile au développement de la contraction P_0 est alors surévaluée puisqu'elle est assimilée à la surface de section du muscle et le calcul de P_0 /surface de section donne des valeurs plus faibles. La variation entre nos résultats et ceux de REISER et coll. (1987) peuvent s'expliquer par la différence des techniques utilisées. En effet, REISER et coll. (1987) déterminent la section des fibres en utilisant un programme informatique et en attribuant une circonférence elliptique à la fibre. De notre côté, nous avons mesuré la fibre en utilisant un micromètre placé sur une loupe binoculaire. En revanche nos résultats sont en accord avec ceux de STEVENS et coll. (1990) qui ont utilisé sur animal suspendu les mêmes techniques que celles employées pour cette étude.

Nos résultats ont montré que la relation tension/pCa est modifiée après les vols 1667 et 1887 pour le soleus et après les vols 1514 et 1667 pour le gastrocnémien. En revanche, aucune altération n'a été trouvée pour le muscle gastrocnémien à l'issue du vol 1887 et à aucun des vols en ce qui concerne le muscle plantaris. La différence de résultats observée pour le gastrocnémien pourrait s'expliquer de deux façons : la première fait intervenir l'idée d'une récupération pendant les deux jours. Toutefois, comme nous n'avons pu réaliser d'expériences contrôles, il ne nous est pas possible d'en estimer le degré. Malgré tout, les expériences faites sur le soleus montraient qu'il n'y avait pas de récupération significative, et il est possible d'admettre qu'il en est de même pour le gastrocnémien. L'autre hypothèse, pourrait mettre en cause l'hétérogénéité du muscle gastrocnémien et la nature des fibres interrogées. Récemment, nous avons participé à un nouveau vol spatial de 15 jours (vol 2044). Les expériences sont en cours au moment de la

réduction de ce mémoire mais il apparaît un déplacement de la relation T/pCa vers la droite de 0.11 unité pCa tout comme les vols 1514 et 1667.

La réponse à un séjour en microgravité se manifeste pour les muscles soleus et gastrocnémien par l'augmentation du seuil d'activation des protéines contractiles par le calcium. Nous avons précédemment montré et discuté que le seuil d'activation était plus élevé pour un muscle rapide que pour un muscle lent. Ce résultat suggère qu'après le vol, les fibres du soleus se comportent comme des fibres rapides. Nous avons également vu que la valeur de pCa_{50} était plus élevée pour un muscle rapide ce qui est contraire à une transformation complète des fibres lentes I en fibres rapides II_B. L'explication alternative réside dans l'existence de fibres intermédiaires. GREASER et coll. (1988) montrent sur fibres pelées qui seront ensuite caractérisées histochimiquement, que la relation T/pCa des fibres II_A est déplacée vers la droite par rapport aux fibres I et II_B. Ces résultats suggèrent que les fibres de soleus testées ressemblent plus à celles observées pour un muscle rapide et que les fibres rapides du gastrocnémien modifient leurs caractéristiques vers un type intermédiaire. Cette interprétation est en accord avec les travaux réalisés sur le modèle de rat suspendu puisque DESPLANCHES et coll. (1987a) décrivent alors des fibres lentes de type intermédiaire (I_{int}) révélées par technique histochimique dérivée de celle de BROOKE et KAISER (1969). Enfin, nous avons vérifié une nouvelle fois que le plantaris n'est pas touché par la microgravité.

La position de la relation T/pCa est directement associée aux propriétés de liaison du calcium avec les protéines. En effet, une augmentation de la tension isométrique des fibres pelées est supposée refléter la liaison du calcium avec les sites régulateurs de la troponine C (KERRICK et coll., 1980). Ainsi, le déplacement de la courbe T/pCa vers la droite, observé après les vols spatiaux pour les muscles soleus et gastrocnémien est supposé refléter une diminution de l'affinité calcique apparente de la troponine C. Un autre résultat découle du calcul des coefficients de Hill. Il est maintenant bien établi que deux coefficients sont nécessaires pour représenter la relation tension/pCa : n_1 et n_2 représentent la

coopérativité des sites calciques le long du filament fin pour de fortes et de faibles concentrations en calcium respectivement. Une pente plus forte de la relation T/pCa est traduite mathématiquement par une augmentation de la valeur du coefficient de Hill. Après les vols spatiaux, la valeur du coefficient est plus élevée pour le soleus, principalement pour les faibles concentrations calciques. Ce résultat implique une augmentation du degré de coopérativité qui s'apparente alors à celui d'un muscle plus rapide. En revanche, la diminution de n_2 observée pour le gastrocnémien après les vols 1667 et 1887 dénote un degré de coopérativité plus faible et comparable à celui d'un muscle plus lent ou intermédiaire. Pour le plantaris, nous avons observé qu'il n'y avait pas de changement significatif de la pente de la relation T/pCa . Des expériences de substitution avec des troponines C d'un autre type montrent nettement que la position et la pente de la courbe tension/ pCa sont fortement dépendantes du type de troponine C présent dans le muscle (BRANDT et coll., 1982 ; KERRICK et coll., 1985 ; MOSS et coll., 1985). Ceci indique que la troponine C joue un rôle direct dans le mécanisme coopératif (BRANDT et coll., 1982). Nos résultats obtenus à partir des électrophorèses de type dénaturant montrent dans le soleus l'apparition de la troponine C de type rapide après un vol spatial de 13 jours. Cette donnée peut expliquer pourquoi la relation T/pCa d'un muscle lent s'apparente à celle d'un muscle rapide .

Cependant, sur des muscles témoins, nos valeurs de n_2 , particulièrement pour les muscles rapides, aussi bien que les valeurs de n_H trouvées par BRANDT et coll. (1984) sur le psoas de lapin (n_H égal de 5.0 à 5.6), sont beaucoup trop grandes pour être expliquées par un mécanisme de contrôle gouverné exclusivement par la liaison calcique. C'est pourquoi il a été suggéré (BRANDT et coll., 1984) que la réponse de la fibre musculaire au calcium est aussi déterminée par la composition du complexe régulateur troponine-tropomyosine. Il est donc probable que la troponine C ne soit pas la seule protéine régulatrice modifiée par les vols spatiaux. En outre, la liaison actine-myosine peut aussi être impliquée dans le mécanisme coopératif puisque la relation tension/ pCa est le résultat de la contraction dans son ensemble et pas seulement le résultat de la liaison du calcium avec la

troponine C. En effet, bien que le mécanisme soit possible même en absence de la liaison actine-myosine HILL (1983), TOBACMAN (1987) montrent que le calcium se lie plus facilement sur la troponine quand le cross-bridge est déjà formé.

Après les vols spatiaux, la vitesse de développement de la tension est altérée pour tous les muscles : elle est augmentée pour le soleus et diminuée pour le plantaris et le gastrocnémien. Il est important de noter ici que ce paramètre est la première modification que nous observons pour le muscle plantaris. Nos résultats confirment les travaux d'OGANOV et coll. (1980 a,b) qui rapportent une tendance à une diminution du temps de développement de la tension (accélération de la tension) pour le soleus et une tendance inverse pour l'EDL. Sur le modèle de rat suspendu, il a été décrit une accélération significative de la vitesse maximale du soleus (REISER et coll., 1987) et de la vitesse de développement des tensions (STEVENS et coll., 1990). Ces modifications peuvent être expliquées d'au moins deux façons : un changement de la vitesse de la liaison entre le calcium et la TnC et/ou une transformation d'une ou plusieurs constantes d'association impliquées dans le mécanisme cyclique de la liaison actine-myosine. Ces hypothèses suggèrent fortement un changement des protéines responsables de la contraction : de la troponine pour la première hypothèse et de la myosine pour la seconde. En effet, REISER et coll. (1987), SCHACHAT et coll. (1987) décrivent une relation entre la vitesse de contraction et les isoformes de la myosine qui existent dans la fibre testée. Sur le modèle de rat suspendu, TEMPLETON et coll. (1984) montrent que la quantité de myosine lente diminue de 50 % après une suspension de 4 semaines alors que celle de type rapide ne varie pas. Exprimée en pourcentage, la myosine de type lent diminue donc. Le rôle éventuel respectif des sous unités légères et lourdes dans la régulation des cinétiques de l'interaction avec la myosine est encore mal connu. Pour REISER et coll. (1985, 1987), la vitesse maximale de contraction est hautement corrélée avec la proportion des chaînes lourdes rapides. Toutefois, d'autres auteurs montrent l'importance des chaînes légères et particulièrement des chaînes légères phosphorylables dans la cinétique de contraction (MOORE et STULL, 1984). De plus, les chaînes légères sont supposées se transformer

plus rapidement que les chaînes lourdes (PETTE et VRBOVA, 1985). C'est pourquoi nous avons choisi d'étudier leur évolution après un vol spatial. Nos résultats ont alors montré l'apparition de chaînes légères de type rapide LC_{3f} dans les fibres de soleus apportant ainsi une possible explication à l'augmentation de la vitesse de développement de la contraction des fibres. En revanche, sur le plantaris aucune chaîne supplémentaire n'a été observée mais la chaîne LC₃ caractéristique d'un muscle rapide disparaît après le vol, ce qui pourrait être corroboré au ralentissement de la contraction.

En conclusion, les perturbations que nous avons observées au niveau des protéines contractiles sont plus importantes pour les muscles à fonction antigravitaire que pour ceux impliqués dans les mouvements. En outre, les modifications se caractérisent par une transformation des propriétés physiologiques et structurales d'un type lent vers un type plus rapide et une transformation partielle d'un type rapide vers un type lent.

LE RETICULUM SARCOPLASMIQUE

PROPRIETES DE POMPAGE

Après les vols spatiaux de 5 et 7 jours, nous avons observé pour les muscles rapides plantaris et gastrocnémien une diminution de la quantité maximale de calcium libérée dans le myoplasme (GOBLET et coll., 1984). Ce fait qui traduit une diminution de la capacité de pompage du calcium par le RS peut être expliqué par trois phénomènes : une réduction du volume du RS par unité de volume de fibre et/ou une modification de la densité et du fonctionnement des ATPases, enfin et/ou une diminution de la capacité de fixation du calcium à l'intérieur du RS.

Une réduction du volume de RS par volume de fibre peut avoir lieu si le volume du RS diminue et/ou si le volume de fibre augmente. Or, nous avons constaté que le diamètre des fibres ne variait pas pour le plantaris et diminuait pour le gastrocnémien, ce qui est davantage en faveur de l'hypothèse de la diminution du volume du RS. Ceci suggère une augmentation de la dégradation et/ou une diminution de la synthèse des composants du RS et en particulier des phospholipides. Il est bien connu que les fibres de type II_A et surtout de type I possèdent un RS moins développé que les fibres II_B (MARTONOSI, 1982). En outre, la capacité du RS à stocker le calcium est plus faible pour le type I que pour le type II et cette différence est parallèle au contenu en pompes calciques ATP dépendantes (ATPases) (MARGRETH et coll., 1973 ; HEILMANN et coll., 1977 ; DULHUNTY et coll., 1987). En effet, FERGUSON et FRANZINI-AMSTRONG (1988) précisent une différence dans la densité des Ca-ATPases ($32000\mu\text{m}^2$ et $25000\mu\text{m}^2$ pour les muscles rapide et lent respectivement). Ceci est confirmé par le fait que la relaxation des tensions caféiniques devient, après le vol, plus lente pour le plantaris et pour le gastrocnémien.

La deuxième hypothèse (modification de la densité et du fonctionnement des Ca ATPases) repose sur des travaux qui établissent des corrélations entre ces paramètres et l'état d'atrophie de fibres dénervées (PALEXAS et coll., 1981 ; HEINER et

coll., 1984 ; DULHUNTY et coll., 1987) ou dystrophiques (VERJOVSKI-ALMEIDA et INESI, 1979). En outre, des expériences d'innervation croisée (SRETER et coll., 1975) ont permis de prouver que la capacité et le taux de pompage du calcium des muscles rapides sont diminués jusqu'à des valeurs semblables à celles observées pour les muscles lents et vice-versa. Il est donc possible d'envisager que, sur les muscles rapides après le vol spatial, une quantité moindre de RS soit présente ou qu'une quantité identique ait une fonctionnalité diminuée. Le fonctionnement modifié des ATPases du RS pourraient également rendre compte des cinétiques différentes de pompage. Sur le muscle gastrocnémien, nous avons noté une diminution significative de la vitesse de pompage, résultat qui renforce l'hypothèse d'une intervention réduite du RS après un vol spatial.

La troisième hypothèse de réduction de la capacité de fixation du calcium à l'intérieur du RS semble dans l'état actuel des connaissances bibliographiques moins vraisemblable dans la mesure où l'un des composants majeurs intraréticulaires, la calsequestrine, est présente à des taux équivalents dans les différents type de fibres (SALVIATI et coll., 1988). Toutefois, nous ne disposons pas de données relatives à des variations possibles des quantités de protéines intraréticulaires et de leur propriétés de liaison avec le calcium dans des cas d'atrophie.

Le soleus présente des résultats inverses à ceux obtenus sur les deux muscles rapides. En effet, la quantité de calcium libérée dans le myoplasme par rapport au volume de la fibre est augmentée. Cette donnée peut être expliquée par l'atrophie musculaire qui réduit le volume de la fibre et/ou par l'augmentation du volume du RS. On sait que les fibres sont atrophiées et par conséquent leur volume est diminué. Une partie des résultats observés sur le RS peut donc être expliquée. Il est néanmoins également possible que le volume du RS augmente. Ces arguments seraient en accord avec une transformation des fibres lentes du soleus en fibres plus rapides. Ceci est conforté par la vitesse de relâchement de la tension caféinique nettement plus rapide après le vol.

Ces résultats sont en accord avec les résultats de PATTERSON et DETTBARN (1985) qui montrent que la capacité de pompage du RS de l'EDL (autre muscle rapide) chute de 10% après deux semaines de suspension. En revanche, ils trouvent une augmentation du même paramètre de 50% pour le soleus. Ils concluent à une conversion des fibres I vers II et vice-versa. Ces résultats sont également confirmés par des études réalisées après immobilisation puisque KIM et coll. (1982) montrent sur des vésicules de RS des altérations des fonctions spécifiques des fibres du soleus.

PROPRIETES DE LARGAGE

Nous ne disposons que de peu d'arguments expérimentaux concernant les propriétés de largage des fibres musculaires après les vols spatiaux. Ceci vient du fait que l'étude du largage ne peut être réalisée, dans nos conditions, que par le biais du fonctionnement des protéines contractiles qui elles-mêmes sont modifiées par la microgravité. Toutefois, nous avons pu mentionner dans des situations expérimentales favorables certains indices relatifs au largage calcique par le RS. Ainsi, sur les muscles rapides plantaris et gastrocnémien, une latence importante apparaît et les cinétiques de développement de contraction sont ralenties, phénomènes indicateurs d'une diminution de la capacité de largage du calcium par le RS. Sur le muscle soleus lent, le même effet est observé. Par conséquent, quel que soit le type de muscle il semble que le phénomène de largage calcique soit diminué après un vol spatial.

A ce stade de la discussion, nous pouvons nous poser la question de savoir si un vol spatial de courte durée (5 ou 7 jours) peut être un élément décisif pour des transformations de fonctionnement du RS. Sur le myocyte mature, l'expansion nette de RS est stoppée et le turnover est ralenti ($t_{1/2} = 2$ semaines ; MARTONOSI et coll., 1972) puisqu'il y a peu de demande en phospholipides et en ATPases. En revanche, sur des muscles en

développement, la littérature décrit des réactions beaucoup plus rapides : 10 et 40 fois plus rapide pour des embryons de 12 jours, et pour des poulets de 3 jours respectivement (CORNEL et MAC LENNAN, 1985). Sur des cultures de cellule, la demi-vie de la Ca ATPase est égale à 20 heures (HOLLAND et MAC LENNAN, 1976), celle des protéines calciques à haute affinité du cytosol égale à 10 heures (MICHALAK et MAC LENNAN, 1980) et celle de la calsequestrine égale à 23 heures (ZUBRZYCKA et MAC LENNAN, 1976). La transformation d'un muscle lent en muscle rapide par stimulation électrique ne se développe pas avec la même vitesse pour tous les éléments cellulaires du myocyte (PETTE et VRBOVA, 1985). En premier lieu, interviennent les changements de la densité capillaire, des activités enzymatiques, concentration en parvalbumine et de la composition du RS. Ces modifications sont visibles dès 4 jours de stimulation (KLUG et coll., 1983). Dans ce même temps il a été décrit des transformations des temps de mise sous tension et de la relaxation des secousses musculaires. Tous ces changements précèdent ceux décrits pour les protéines myofibrillaires. En effet, pour des périodes plus longues de stimulation, les modifications sont alors imputables à des changements de l'activité des ATPases de la myosine et donc de la composition de la myosine : tout d'abord les chaînes légères et ensuite les chaînes lourdes. Il apparaît donc clairement que nos résultats montrant des modifications rapides du RS (au niveau de la capacité de pompage) observées au bout de 5 et 7 jours sont parfaitement compatibles avec la littérature.

PETTE et VRBOVA (1985) émettent l'hypothèse que les modifications de la capacité de la fibre musculaire à lier et stocker le calcium cytoplasmique pourrait être l'événement précoce qui initialiserait des modifications plus tardives (changement de myosine). En effet, on sait que le rôle des protéines cytoplasmiques liant le calcium est très important dans la différenciation lent-rapide. La concentration de parvalbumine chute de trois fois sur le muscle rapide EDL réinnervé par le nerf du soleus et de 20% après quatre jours de dénervation (MUNTENER et coll., 1985). Il est en effet bien connu que la parvalbumine

(protéine cytoplasmique) existe en forte concentration dans les muscles rapides mais qu'elle est pratiquement inexistante dans les muscles lents (BLUM et coll., 1977 ; CELIO et HEIZMANN, 1982). La modification du taux de calcium cytoplasmique pourrait constituer un maillon de la différenciation observée après les vols spatiaux.

CONCLUSIONS

Notre étude sur les trois vols spatiaux 1514, 1667 et 1887 a permis de conclure à une transformation partielle des muscles lents vers un type plus rapide et des muscles rapides vers un type intermédiaire. En outre, les résultats sont clairement plus prononcés pour les muscles antigravitaires. Cependant, la conversion n'est pas complète puisque toutes les caractéristiques spécifiques d'un type musculaire ne sont pas transformées. Il est possible que les vols soient trop courts et/ou que des mécanismes encore inconnus interviennent. L'hypothèse la plus évidente concernant l'origine des perturbations met en cause une modification de la commande nerveuse (origine neurogène).

Comme nous l'avons largement décrit dans l'introduction, le typage d'un muscle est fortement dépendant de son innervation. Nous pouvons donc supposer que la commande nerveuse est perturbée et que cela entraîne les modifications musculaires observées. L'origine neurogène liée aux vols spatiaux est étayée par les mesures des EMG réalisés sur l'homme (CLEMENT et coll., 1984). L'hypothèse est alors la suivante : le vol spatial induit une modification de la réponse des récepteurs musculaires et tendineux et la commande nerveuse est modifiée par réflexe. Cette hypothèse explique alors facilement pourquoi les muscles antigravitaires sont plus touchés que les autres. Cependant, l'enchaînement des processus est encore mal connu.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K. & WATSON J.D. 1986
In Molecular biology of the cell. Ed. Flammarion Medecine Sciences France.
1146p.
- ALLEN G., TRINNAMAN B. & GREEN N.M. 1980
The primary structure of the calcium ion transporting adenosine
triphosphatase protein of rabbit skeletal sarcoplasmic reticulum.
Biochem. J., 187, 591-616.
- ANDERSEN J.P. & JORGENSEN P.C. 1985
Conformational states of Ca^{2+} ATPases.
J. Memb. Biol., 88, 187-198.
- ANSORGUE W. 1983
Fast visualization of protein bands by impregnation in potassium
permanganate and silver nitrate.
Electrophoresis, 82, 236-242.
- APPEL H.J. 1986
Skeletal muscle atrophy during immobilization.
Int. J. Sports Med., 7, 1-5.
- ARMSTRONG R.B. & PHELPS R.O. 1984
Muscle fiber type composition of the rat hindlimb.
Amer. J. Anat., 171, 259-269.
- ASHLEY C.C. & MOISESCU D.G. 1977
Effect of changing the composition of the bathing solutions upon the isometric
tension-pCa relationship in bundles of crustacean myofibrils.
J. Physiol. (London), 270, 627-652.
- BABU A., SCORDILIS S.P., SONNENBLICK E.H. & GULATI J. 1987
The control of myocardial contraction with skeletal fast muscle troponin C.
J. Biol. Chem., 262, 5815-5822.
- BAR A., SIMONEAU J.A. & PETTE D. 1989
Altered expression of myosin light-chain isoforms in chronically stimulated
fast-twitch muscle of the rat.
Eur. J. Biochem., 178, 591-594.
- BARANSKI S. & MARCINIAK M. 1979.
Stereological ultrastructural analysis of the axonal ending in the
neuromuscular junction of rats after a flight on biosputnik 782.
Aviat. Space Environ. Med., 50, 14-17.
- BARANY M. & CLOSE R. 1971
The transformation of myosin in cross-innervated rat muscles.
J. Physiol. (London), 213, 455-474
- BARNARD R.J., EDGERTON V.R., FURUKAWA T. & PETER J.R. 1971
Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white and
intermediate fibers.
Amer. J. Physiol., 220, 410-414.

- BIANCHI C.P. 1968
Pharmacological actions on excitation-contraction coupling in striated muscle.
Fed. Proc., 27, 126-131.
- BLOOM & FAWCETT 1968
A textbook of histology 9th ed. Saunders.
- BLUM H.E., LEHKY P., KOHLER L., STEIN E.A. & FISCHER E.H. 1977
Comparative properties of vertebrate parvalbumins.
J. Biol. Chem., 252, 2834-2838.
- BOOTH F.W. & KELSO J.R. 1973
Effect of Hind-limb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle.
Pflügers Arch., 342, 231-238.
- BOOTH F.W. & KELSO J.R. 1979
Recovery of skeletal muscle after 3 months of hindlimb immobilization in rats.
J. Appl. Physiol., 47, 435-439.
- BRANDT P.W., COX R.N., KAWAI M. 1980
Can the binding of Ca^{2+} to two regulatory sites on troponin C determine the steep pCa/tension relationship of skeletal muscle ?
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4717-4720.
- BRANDT P.W., COX R.N., KAWAI M. & ROBINSON, T. 1982
Regulation of tension in skinned muscle fibers. Effect of cross-bridge kinetics on apparent Ca^{2+} sensitivity.
J. Gen. Physiol., 79, 997-1016.
- BRANDT P.W., DIAMOND M.S. & SCHACHAT F.H. 1984
The thin filament of vertebrate skeletal muscle cooperativity activates as a unit.
J. Mol. Biol., 180, 379-384.
- BRANDT P.W., GLUCK B., MINI M. & CERRI C. 1985
Hysteresis of the mammalian pCa/tension relation is small and muscle specific.
J. Muscle Res. Cell Motil., 6, 197-205.
- BREMEL R.D. & WEBER A. 1972
Cooperation within actin filament in vertebrate skeletal muscle.
Nature, 238, 97-101.
- BRENNER B. & YU L.C. 1983
Equatorial X ray diffraction from single skinned rabbit psoas fibers during various degrees of activation.
Biophys. J., 41, 257A.
- BRENNER B. 1988
Effect of Ca^{2+} on cross-bridge turnover kinetics in skinned single rabbit psoas fibers : implications for regulation of muscle contraction.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 3265-3269.

- BROOKE M.J. & KAISER K.K. 1969.
Some comments on the histochemical characterisation of muscle adenosine-triphosphatase.
J. Histochem. Cytochem., 17, 431-432.
- BULLER A.J., ECCLES J.C. & ECCLES R.M. 1960
Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses.
J. Physiol. (London), 150, 417-439.
- BURKE R.E., LEVINE D.N., TSAIRIS P. & ZAJAC P.E. 1973
Physiological types and histochemical profiles in motor units of cat gastrocnemius.
J. Physiol. (London), 234, 723-748.
- BUTCHER R.W. & SUTHERLAND E.W. 1962
Adenosine 3', 5'-phosphate in biological material. I Purification and properties of cyclic 3', 5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3', 5'-phosphate in human urine.
J. Biol. Chem., 237, 1244-1250.
- CAVAGNA G.A. 1977
Storage and utilization of elastic energy in skeletal muscle.
Exerc. Sports Sci. Rev., 5, 89-129.
- CELIO M.R. & HEIZMANN C.W. 1982
Calcium-binding protein parvalbumin is associated with fast contracting fibres.
Nature, 201, 535-539.
- CHEREPAKHIN M.A. & PERVUSHIN V.I. 1971
Space flight effect on the neuromuscular system of cosmonauts.
Space Biol. Med., 4, 64-69.
- CHIESI M. 1984
Cross-linking agents induce rapid calcium release from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum.
Biochemistry, 23, 3899-3907.
- CHOCK S.P., CHOCK P.B. & EISENBERG E. 1976
Pre-steady-state kinetic evidence for a cyclic interaction of myosin subfragment one with actin during the hydrolysis of ATP.
Biochemistry, 15, 3244-3253.
- CHUI L.A. & CASTLEMAN K.R. 1980
Morphometric analysis of rat muscle fiber following spaceflight and hypogravity.
The Physiologist, 23, S76-S78.
- CLEMENT G., GURFINKEL V.S., LESTIENNE F., LIPSHITS M.I. & POPOV K.E. 1984
Adaptation of postural control to weightlessness.
Exp. Brain Res., 57, 61-72.
- CLOSE R. 1964
Dynamic properties of fast and slow skeletal muscles of the rat during development.
J. Physiol. (London), 173, 74-95.

- CLOSE R. 1969
Dynamic properties of fast and slow skeletal muscles of the rat after nerve cross-union.
J. Physiol. (London), 204, 331-346.
- CLOSE R. 1972
Dynamic properties of Mammalian skeletal muscles.
Physiol. Rev., 52, 129-197.
- CORNELL R. & MAC LENNAN D.H. 1985
The capacity of the reticulum sarcoplasmic for phospholipid synthesis : a developmental study.
Biochem. Biophys. Acta, 835, 567-576.
- COSTANTIN, L.L, FRANZINI-ARMSTRONG C. & PODOLSKY R.J. 1964
Localization of calcium accumulating structures in striated muscle fibers.
Science, 147, 158-159.
- COSTANTIN, L.L. & PODOLSKY R. J. 1967
Depolarization of the internal membrane system in the activation of frog skeletal muscle.
J. Gen. Physiol., 50, 1101-1124.
- COSTELLO B., CHADWICK C., SAITO A., CHU A., MAURER A. & FLEISCHER S. 1986
Characterization of the junctional face membrane from terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum.
J. Cell. Biol. 103, 741-753.
- D'ALBIS A. & GRATZER W.B. 1973
Electrophoretic examination of native myosin.
FEBS lett., 29, 292-296.
- D'ALBIS A., PANTALONI C. & BECHET J.J. 1979
An electrophoretic study of native myosin isozymes and of their subunit content.
Eur. J. Biochem., 99, 261-272.
- D'ALBIS A., WEINMAN J., MIRA J.C., JANMOT C. & COUTEAUX R. 1987
Rôle régulateur des hormones thyroïdiennes dans la myogénèse. Analyse des isoformes de la myosine dans la régénération musculaire.
C.R. Acad. Sci., 305, 697-702.
- DE MEIS L. & VIANNA A.L. 1979
Energy interconversion by the Ca²⁺ dependent ATPase of the sarcoplasmic reticulum.
Ann. Rev. Biochem., 48, 275-292.
- DESPLANCHES D., MAYET M.H., SEMPORE B. & FLANDROIS R. 1987
Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle.
J. Appl. Physiol., 63, 558-563.
- DESPLANCHES D., MAYET M.H., SEMPORE B., FRUTOSO J. & FLANDROIS R. 1987
Effect of spontaneous recovery or retraining after hindlimb suspension on aerobic capacity.
J. Appl. Physiol. 63, 1739-1743.

- DHOOT G.K., PERRY S.V. & VRBOVA G. 1981
Changes in the distribution of the components of the troponin complex in muscle fibers after cross innervation.
Exp. Neurol., 513-530
- DIETLEIN L.F. 1975
Summary and conclusions.
in : Johnston R.S. ; Dietlein L.F., Berry C.A. ; eds. Biomedical results from Apollo. NASA 5p-368-Washington DC : National Aeronautics and space administration, p. 573-579.
- DONALDSON S.K.B. 1985
Peleed mammalian skeletal muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 86, 501-525.
- DULHUNTY A.F. & DLUTOWSKI M. 1979
Fiber types in red and white segments of rat sternomastoid muscle.
Amer. J. Anat., 156, 51-61.
- DULHUNTY A.F., BANYARD M.R.C. & MEDCECZKY C.J. 1987
Distribution of calcium ATPases in the sarcoplasmic reticulum of fast and slow muscles determined with monoclonal antibodies.
J. Membrane Biol., 99, 79-92.
- DUPONT Y. 1983
Is Ca-ATPase a water pump ?
FEBS Lett., 161, 14-20.
- DUVAL A. & LEOTY C. 1980
Ionic currents in slow twitch skeletal muscle in the rat.
J. Physiol. (London), 307, 23-41.
- DUX L. & MARTONOSI A. 1983
The regulation of ATPase-ATPase interaction in sarcoplasmic reticulum membrane II. The influence of membrane potential.
J. Biol. Chem., 258, 11903-11907.
- EBASHI S. & ENDO M. 1968
Calcium and muscle contraction.
in Progress in Biophysics and Molecular Biology, 18, 123-183.
- EBASHI S. & LIPMANN F. 1962
Adenosine triphosphate-linked concentration of calcium ions in a particulate fraction of rabbit muscle.
J. Cell. Biol., 14, 389-400.
- EDDINGER T.J. & MOSS R.L. 1987
Mechanical properties of skinned single fibers of identified type from rat diaphragm.
Amer. J. Physiol., 253, C210-C218.
- EISENBERG B.R. & EISENBERG R.S. 1982
The T-SR junction in contracting single skeletal muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 79, 1-9.

- EISENBERG E. & MOSS C. 1968
The ATPase activity of acto-heavy meromyosin. A kinetic analysis of actin activation.
Biochemistry, 7, 1486-1489.
- EISENBERG E. & GREENE L.E. 1980
The relation of muscle biochemistry to muscle physiology.
Ann. Rev. Physiol., 42, 293-309.
- EISENBERG E. & HILL T.L. 1985
Muscle contraction and free energy transduction in biological systems
Science, 227, 999-1006.
- ENDO, M. & NAKAJIMA, Y. 1973
Release of calcium induced by "depolarization" of the sarcoplasmic reticulum.
Nature new biol., 246, 216-218.
- ENDO M., YAGI S. & IINO M. 1982
Tension-pCa relation and sarcoplasmic reticulum responses in chemically skinned smooth muscle fibers.
Fed. Proc., 41, 2245-2250.
- FABIATO A. & FABIATO F. 1972
Excitation-contraction coupling of isolated cardiac fibres with disrupted or closed sarcolemmas. Calcium dependent cyclic and tonic contractions.
Circulation Res., 31, 293-307.
- FABIATO A. & FABIATO F. 1979
Calculator programmes for computing the composition of the solutions containing multiple metals and ligands used for experiments in skinned muscle cells.
J. Physiol. (Paris), 75, 463-505.
- FABIATO A. 1981
Effects of cyclic AMP and phosphodiesterase inhibitors on the contractile activation and the calcium transient detected with aequorin in skinned cardiac cells from rat and rabbit ventricles.
J. Gen. Physiol., 78, 15a-16a.
- FABIATO A. 1982
Fluorescence and differential light absorption recordings with calcium probes and potential-sensitive dyes in skinned cardiac cells.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 66, 556-567.
- FALEMPIN M., HOLY X., LECLERCQ T., MOUNIER Y. & STEVENS L. 1988
Contractile properties of rat soleus muscle after two weeks hind limb suspension : studies on in situ muscle and isolated skinned fibers.
J. Physiol. (London), 406, 45p.
- FALEMPIN M. & LETERME D. 1989
Effets de la dénervation sur les propriétés mécaniques du muscle soleus de rat en conditions normales et après atrophie.
3ème Colloque national de la Société Française des Neurosciences, Montpellier, mai 1989.

- FALEMPIN M., LECLERCQ T., LETERME D. & MOUNIER Y. 1990
Time course of muscle - change in and - recovery from disuse atrophy.
The Physiologist, 33, 88-89.
- FARDEAU M. 1973.
Caractéristiques cytochimiques et ultrastructurales des différents types de fibres musculaires squelettiques extrafusale.
Annales d'Anatomie Pathologique, 18, 1-32.
- FERGUSON D.G. & FRANZINI-ARMSTRONG C. 1988
The Ca²⁺ ATPase content of slow and fast twitch fibers of guinea pig.
Muscle Nerve, 11, 561-570.
- FILL M. & BEST P. 1988
Contractile activation and recovery in skinned frog muscle stimulated by ionic substitution.
Amer. J. Physiol., 254, C107-C114.
- FINK R.H.A., STEPHENSON D.G. & WILLIAMS 1986
Potassium and ionic strength of the isometric force of skinned twitch muscle fibres of the rat and toad.
J. Physiol. (London), 370, 317-337.
- FITTS R.H., METZGER J.M., RILEY D.A. & UNSWORTH B.R. 1986.
Models of disuse : a comparison of hindlimb suspension and immobilization.
J. Appl. Physiol., 60, 1946-1953.
- FITZIMONS R.B. & HOH J.F.Y. 1981
Isomyosins in human type 1 and 2 skeletal muscle fibers.
Biochem. J., 193, 229-233.
- FITZIMONS R.B. & HOH J.F.Y. 1982
Embryonic and foetal myosins in human skeletal muscle.
J. Neurol. Sci., 52, 367-384.
- FORD L.E. & PODOLSKY R.J. 1972
Intracellular calcium movements in skinned muscle fibres.
J. Physiol. (London), 223, 21-33.
- FORD L.E., HUXLEY A.F. & SIMMONS R.M. 1981
The relation between stiffness and filament overlap in stimulated frog muscle fibres.
J. Physiol. (London), 311, 219-149.
- FRANZINI-ARMSTRONG C. 1970
Studies of the triad structures of the junction in frog twitch fibers.
J. Cell. Biol., 47, 488-499.
- FRANZINI-ARMSTRONG C. 1975
Membranes particles and transmission at the triad.
Fed. Proc., 34, 1382-1389.
- FRANZINI-ARMSTRONG C, KEMVEY L.J. & VARRIANO-MATSON E. 1987
The structure of calsequestrin in triads of vertebrate skeletal muscle : a deep-etch study.
J. Cell Biol., 105, 49-56.

- FRANZINI-ARMSTRONG C., FERGUSON D.G. & GHAMP C. 1988
 Discrimination between fast- and slow-twitch fibres of guinea-pig skeletal muscle using the relative surface density of junctional transverse tubule membrane.
J. Muscle Res. Cell Motil., 9, 403-414.
- GAUTHIER, G.F. 1974
 Some ultrastructural and cytochemical features of fiber population in the soleus muscle.
Anat. Rec., 180, 551-564.
- GAZENKO O.G., GENIN A.M., ILYN E.A., OGANOV V.S. & SEROVA L.V. 1980
 Adaptation to weightlessness and its physiological mechanisms (Results on animal experiments aboard biosatellites).
The Physiologist, 23, S11-S15.
- GERDAY C. & GILLIS J.M. 1976
 The possible role of parvalbumins in the control of contraction.
J. Physiol. (London), 258, 96 P - 97 P.
- GHARIB, GUELL, POURCELOT L. & BOST R. 1985.
 Les modifications circulatoires et hormonales induites par la microgravité.
J. Physiol. (Paris), 80, 182-188.
- GIOMETTI C.S., DANON M.J. & ANDERSON N.G. 1983
 Human muscle proteins : analysis by two-dimensional electrophoresis.
Neurol., 33, 1152-1156.
- GOBLET C., HOLY X. & MOUNIER Y. 1984
 Intramuscular calcium movements : experiments from the soviet biosatellite (Biocosmos 1514).
Adv. Space Res., 4, 47-53.
- GOBLET C. & MOUNIER Y. 1986
 Calcium-induced Calcium-release mechanism from the sarcoplasmic reticulum in skinned crab muscle fibres.
Cell Calcium, 7, 61-72.
- GOLDSPINK D.F., MORTON A.J., LOUCHNA P. & GOLDSPINK G. 1986
 The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat.
Pflügers Arch., 407, 330-340.
- GOUBEL F. 1987
 Muscle mechanics : fundamental concepts in stretch-shortening cycle.
Med. Sport Sci., 26, 34-35.
- GREASER M.L., GERGELY J 1971
 Reconstitution of troponin activity from three protein components.
J. Biol. Chem., 246, 4226-4233.
- GREASER M.L. & GERGELY J 1973
 Purification and properties of the components from troponin.
J. Biol. Chem., 248, 2125-2133.

- GREASER M.L., MOSS R.L. & REISER P.J. 1988
Variations in contractile properties of rabbit single muscle fibres in relation to Troponin T isoforms and myosin light chains.
J. Physiol. (London), 406, 85-98.
- GREEN E.C. 1968
Anatomy of the rat.
HAFNER PUBLISHING COMPANY, INC.
New York and London. Vol. XXVII, 370 pages.
- GULATI J. 1976
Force-velocity characteristics for calcium-activated mammalian slow-twitch and fast-twitch skeletal fibers from the guinea pig.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 4693-4697.
- GULATI J. & PODOLSKY R.J. 1978
Contraction transients of skinned muscle fibres. Effects of calcium and ionic strength.
J. Gen. Physiol., 72, 701-715.
- GULATI J., SCORDILIS S.P. & BABU A. 1988
Effect of troponin C on the cooperativity in calcium activation of cardiac muscle.
FEBS Lett., 236, 441-444.
- GUPTA R.C., MISULIS K.E. & DETTBARN W.D. 1985
Changes in the cholinergic system of rat sciatic nerve and skeletal muscle following suspension induced disuse.
Exp. Neurol., 89, 622-633.
- GUTH L. 1968
"Trophic" influences of nerve on muscle.
Physiol. Rev., 48, 645-687.
- GUTH L., WINNIKIES K. & POTTER J.D. 1986
Cycling crossbridges increase the Ca^{2+} affinity of TnC.
Biophys. J., 49, 270 a.
- HASSELBACH W. & MAKINOSE M. 1961
Die calcium pumpe der "erschlauffungsgrana" des muskels und ihre abkangigkeit von der ATP spaltung.
Biochem. Z., 333, 518-528.
- HASSELBACH W. 1981
Calcium activated ATPase of the sarcoplasmic reticulum membranes.
In : Membrane transport bounting, De Pont Ed., Elsevier/North Holland Biomedical Press, 183-207.
- HEILBRUNN L.V. & WIERCINSKI F.J. 1947
The action of various cations on protoplasm.
J. Cell Comp. Physiol., 29, 15-32.
- HEILMANN C., BRDICZKA D., NICKEL E. & PETTE D. 1977
ATPases activities, Ca^{2+} transport and phosphoprotein formation in sarcoplasmic reticulum subfractions of fast and slow rabbit muscles.
Eur. J. Biochem., 81, 211-222.

- HEINER L., DOMONKOS J. & VARHA M. 1984
Role of the nervous system in the regulation of the sarcoplasmic membrane function in different muscle fibres.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 64, 129-133.
- HENNIG R. & LOMOT T. 1985
Firing pattern of motor units in normal rats.
Nature, 314, 164-166.
- HENNIG R. & LOMOT T. 1987
Effects of chronic simulation on the size and speed of long-term denervated and innervated rat fast and slow muscles.
Acta Physiol. Scand., 130, 115-131.
- HERBETTE L., DEFOOR P., FEICHER S., PASCOLINI D., SCARPA A. & BLASIC J.K. 1985
The separate profile structures of the functional calcium pump protein and the phospholipid bilayer within isolated sarcoplasmic reticulum membranes determined by X ray and neutron diffraction.
Biochem. Biophys. Acta, 817, 103-122.
- HERMANSEN L., VOLLESTAD N.K., STAFF P.H., DALJORD O.A. & GRONNEROD O. 1983.
The effect of immobilisation and training on strength and composition of human skeletal muscles.
in : "Physiologie spatiales" Congrès de Toulouse, ed. Cepadues, 255-266
- HILL A.V. 1938
The heat of shortening and dynamic constants of muscle.
Proc. Royal Soc., B, 126, 136-195.
- HILL T.L. 1983
Two elementary models for the regulation of skeletal muscle contraction by calcium.
Biophys. J., 44, 383-396.
- HOH J.F.Y. 1975
Neural regulation of mammalian fast and slow muscle myosins : an electrophoretic study.
Biochemistry, 14, 742-747.
- HOH J.F.Y., Mc GRATH P.A. & WHITE R.I. 1976
Electrophoretic analysis of multiple forms of myosin in fast-twitch and slow-twitch muscle of the chick.
Biochim. J., 157, 87-95.
- HOH, J.F.Y. 1978
Light chain distribution of chicken skeletal muscle myosin isoenzymes.
FEBS lett., 90, 297-300.
- HOH F.J.Y. & YEOH G.P.S. 1979
Rabbit skeletal myosin isoenzymes from foetal, fast-twitch and slow-twitch muscles.
Nature, 280, 321-323.
- HOLLAND P.C. & MAC LENNAN D.H. 1976
Assembly of sarcoplasmic reticulum. Biosynthesis of the adenosine triphosphatase in rat skeletal muscle cell culture.
J. Biol. Chem., 251, 2030-2036.

- HOLROYLE M.J., ROBERTSON S.P., JOHNSON J.D., SOLARO R.J. & POTTER J.J. 1980
The calcium and magnesium binding sites on cardiac troponin and their role in the regulation of myofibrillar adenosine triphosphatase.
J. Biol. Chem., 275, 11688-11693.
- HOLY X., MOUNIER Y. & GOBLET C. 1986
Microgravity effects on contractile proteins in rat muscles.
In : "Space Physiology", Cepadues Ed., 61-65.
- HOLY X., OGANOV V., MOUNIER Y. & SKURATOVA S. 1986
Comportement des protéines contractiles des fibres musculaires de rat soumis à la microgravité.
C.R. Acad. Sc. Paris, 303, 229-233.
- HOLY X. & MOUNIER Y. 1990
Effects of short spaceflights on mechanical characteristics of rat muscles.
Muscle Nerve, Sous presse.
- HOLY X., STEVENS L. & MOUNIER Y. 1990
Compared effects of a 13 day spaceflight on the contractile proteins of soleus and plantaris rat muscles.
The Physiologist, 33, 80-81.
- HUERTA M. & STEFANI E. 1981
Potassium and caffeine contracture in fast and slow muscles of the chicken.
J. Physiol. (London), 318, 181-189.
- HUXLEY A.F. & NIEDERGERKE, R. 1954
Interference microscopy of living muscle fibres.
Nature, 173, 971-973.
- HUXLEY A.F. 1957
Muscle structure and theories of contraction.
Brog. Biophys. Chem., 7, 255-318.
- HUXLEY A.F. 1980
Reflexion on muscle.
Princeton University Press, Princeton, NJ 44-68.
- HUXLEY H.E. 1969
The mechanism of muscular contraction.
Science, 164, 1356-1366.
- ILYINA-KAKUEVA E.I., PORTUGALOV V.V. & KRIVENKOVA N.P. 1976.
Spaceflight effects on the skeletal muscles of rats.
Aviat. Space Environ. Med., 47, 700-703.
- JASPERS S.R. & TISCHLER M.E. 1984
Atrophy and growth failure of rat hindlimb muscles in tail cast suspension.
J. Appl. Physiol., 57, 1472-1479.
- JOLESZ F & SRETER F.A. 1981
Development, innervation and activity-pattern induced changes in skeletal muscle.
Ann. Rev. Physiol., 43, 531-552.

- JORGENSEN A.O., SHEN A.C.Y., CAMPBELL K.P. & MAC LENNAN D.H. 1983
Ultrastructural localization of calsequestrin in rat skeletal muscle by immuno ferritin labeling of ultrathin frozen sections.
J. Cell. Biol., 97, 1573-1581.
- KERRICK W.G.L., SECRIST D., COBY R., & LUCAS S. 1976
Development of differences between red and white muscles in sensitivity to Ca^{2+} in the rabbit from embryo to adult.
Nature, 260, 440-441.
- KERRICK W.G.L., MALENCIK D.A., HUAR P.E., POTTER J.D., COBY R.L., POCINWONG S. & FISCHER E.H. 1980
 Ca^{2+} and Sr^{2+} activation : comparison of cardiac and skeletal muscle contraction models.
Pflügers Arch., 386, 207-213.
- KERRICK W.G.L., ZOT H.G., HUAR P.E. & POTTER J.D. 1985
Evidence that the Sr^{2+} activation properties of cardiac troponin C are altered when substituted into skinned skeletal muscle fibers.
J. Biol. Chem., 257, 7678-7683.
- KIM D.H., WITZMANN F.A. & FITTS R.H. 1982
Effect of disuse on sarcoplasmic reticulum in fast and slow skeletal muscle.
Amer. J. Physiol., 243, C156-C160.
- KLUG G., WIEHRER W., REICHMANN H., LEBERER E. & PETTE D. 1983
Relationships between early alterations in parvalbumins, sarcoplasmic reticulum and metabolic enzymes in chronically stimulated fast twitch muscle.
Pflügers Arch., 399, 280-284.
- KUREBAYASHI N. & OGAWA Y. 1984
Calcium releasing action of quercetin on sarcoplasmic reticulum from frog skeletal muscle.
J. Biochem., 96, 1249-1255.
- LASZEWSKI-WILLIAMS, B., LUFF R.L. & GORDON A.M. 1989
Influence of fiber type and muscle source on Ca^{2+} sensitivity of rat fibers.
Amer. J. Physiol., 256, C420-C427.
- LOMO T. 1985
The firing pattern of motor units in freely moving rats : relation to motor control and muscle contractile properties.
Acta Physiol. Scand., 124, 576.
- LOUGHNA P., GOLDSPINK G. & GOLDSPINK D.F. 1986
Effect of inactivity and passive stretch on protein turnover in phasic and postural rat muscles.
J. Appl. Physiol., 61, 173-179.
- LOUGHNA P., GOLDSPINK D.F. & GOLDSPINK G. 1987
Effects of hypokinesia and hypodynamiq upon protein turnover in hindlimb muscles of the rat.
Aviat. Space Environ. Med., 58, (Suppl) 133-138.

- LUDESCHER R.D. 1988
When the left hand doesn't know...
Nature, 333, 24.
- LUFF A.R. & ATWOOD H.L. 1971
Changes in the sarcoplasmic reticulum and transverse tubular system of fast and slow skeletal muscles of the mouse during postnatal development.
J. Cell Biol., 51, 369-383.
- LUTTGAU H.C. & OETLIKER H. 1968
The action of caffeine on the activation of the contractile mechanism in striated muscle fibres.
J. Physiol.(London), 194, 51-74.
- LUTTGAU H.C. & STEPHENSON G.D. 1986
Ion movements in skeletal muscle in relation to the activation of contraction.
In : Androli T.E., Hoffman J.F. Fanestil DD, Schultz SG (eds). Physiology of membrane disorders.
Plenum, New York, 449-468.
- LYMN R.W. & TAYLOR E.W. 1971
Mechanism of adenosin triphosphate hydrolysis by actomyosin.
Biochemistry, 10, 4617-4624.
- MAC ARDLE J.J. 1983
Molecular aspect of the trophic influences of nerve on muscle.
Prog. Neurobiol., 21, 135-198.
- MAC LENNAN G.B. & WONG P.T.S. 1971
Isolation of a calcium sequestering protein from sarcoplasmic reticulum.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68, 1231-1235.
- MAC LENNAN G.B. & WINEGRAD S.J. 1978.
The regulation of the calcium sensitivity of the contractile system in mammalian cardiac muscle.
J. Gen. Physiol., 72, 737-764.
- MARECHAL G., SCHWARTZ, K., BECKERS-BLEUKX G. & GHINS E. 1984
Isozymes of myosin in growing and regenerating rat muscles.
Eur. J. Biochem., 138, 421-428.
- MARGRETH A., SALVIATI G. & CARRARO U. 1973
Neural control on the activity of the calcium transport system in sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle.
Nature, 241, 285-286.
- MARTIN T.P., EDGERTON V.R. & GRINDELAND R.E. 1988.
Influence of spaceflight on rat skeletal muscle.
J. Appl. Physiol., 65, 2318-2325.
- MARTONOSI A. & HALPIN R.A. 1972
The biosynthesis of sarcoplasmic reticulum membranes and the mechanism of calcium transport.
Arch. Biochim. Biophys., 152, 440-450.

- MARTONOSI A. 1982
The development of sarcoplasmic reticulum membranes.
Ann., Rev. Physiol., 44, 337-355.
- MICHALAK M. & MAC LENNAN D.H. 1980
Assembly of the sarcoplasmic reticulum. Biosynthesis of the high affinity calcium binding protein in rat skeletal muscle cell cultures.
J. Biol. Chem., 255, 1327-1334.
- MOISCESCU D.G. & THIELECZEK R. 1979
Sarcomere length affects of the Sr^{2+} and Ca^{2+} activation curves in skinned frog muscle fibres.
Biochem. Biophys. Acta, 546, 64-76.
- MOORE G.E. & SCHACHAT F.H. 1985
Molecular heterogeneity of histochemical fibre types : a comparison of fast fibres.
J. Muscle Res. Cell Motil., 6, 513-524.
- MOORE R.L. & STULL J.T. 1984
Myosin light chain phosphorylation in fast and slow skeletal muscle in situ.
Amer. J. Physiol., 247, C462-C471.
- MOREY E.R. 1979
Spaceflight and bone turnover : correlation with a new rat model of weightlessness.
BioScience, 29, 168-172.
- MOREY-HOLTON E. & WRONSKI T.J. 1981
Animal models for simulating weightlessness.
The Physiologist, 24, S45-S48.
- MOSS R.L., GIULIAN G.G. & GREASER M.L. 1982
Physiological effects of accompanying the removal of myosin LC₂ from skinned skeletal muscle fibers.
J. Biol. Chem., 257, 8588-8591.
- MOSS R.L., GIULIAN G.G. & GREASER M.L. 1985
The effects of partial extraction of TnC upon the tension-pCa relationship in rabbit skinned skeletal muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 86, 585-600.
- MOSS R.L., LAUER M.R., GARY G.G. & GREASER M.L. 1986
Altered Ca^{2+} dependence of tension development in skinned skeletal muscle fibres following modification of troponin by partial substitution with cardiac troponin C.
J. Biol. Chem., 261, 6096-6099.
- MOUNIER Y. & GOBLET C. 1983
Calcium permeability of sarcoplasmic reticulum in human muscle fibers.
In : "Space Physiology", Cepadues Ed., 299-305.
- MOUNIER Y., HOLY X. & STEVENS L. 1989
Compared properties of the contractile system of skinned slow and fast rat muscle fibres.
Pflügers Arch., 415, 136-141.

- MUNTENER M., BERCHTOLD M.W. & HEIZMANN C.W. 1985
Parvalbumin in cross-reinnervated and denervated muscles.
Muscle Nerve, 8, 132-137.
- MUSACCHIA X.J., DEEVERS D.R., MEININGER G.A. & DAVIS T.P. 1980
A model for hypokinesia effects on muscle atrophy in the rat.
J. Appl. Physiol., 48, 479-486.
- MUSACCHIA X.J., STEFFEN J.M. & DEEVERS O.R. 1983
Rat hindlimb muscle responses to suspension hypokinesia/hypodynamia.
Aviat. Space Environ. Med., 54, 1015-1020.
- NATORI R. 1954
The property and contraction process of isolated myofibrils.
Jikeikai Med. J., 1, 119-126.
- NATORI R. 1975
The electrical potential change of internal membrane during propagation of contraction of skinned fibre of toad skeletal muscle.
Jpn. J. Physiol., 25, 51-63.
- NIEDERGERKE R. 1955
Local muscular shortening by intracellularly applied calcium.
J. Physiol. (London), 128, 12-13.
- NIEDERGERKE R. & PAGE S. 1981
Analysis of caffeine action in single trabeculae of the frog heart.
Proc. R. Soc. Lond., 213, 303-324.
- OETLIKER H. 1982
An appraisal of the evidence for the sarcoplasmic reticulum membrane potential and its relation to calcium release in skeletal muscle.
J. Muscle Res. Cell. Motil., 3, 247-272.
- OGANOV V.S. & POTAPOV A.N. 1976
The mechanisms of changes in skeletal muscles in the weightlessness environment.
Life Sci. Space Res., 19, 136-143.
- OGANOV V.S., SKURATOVA S.A., POTAPOV A.N. & SHIRVINSKAYA M.A. 1980
Physiological mechanisms of adaptation of rat skeletal muscles to weightlessness and similar functional requirements.
The Physiologist, 23, S16-S21.
- OGANOV V.S., POTAPOV A.N., SKURATOVA S.A. & SHIRVINSKAYA M.A. 1980.
Variability of physiological properties of rat skeletal muscles at different gravity levels.
The Physiologist, 23, S71-S74.
- ORENTLICHER, M., BRANDT P.W. & REUBEN J.P. 1977
Regulation of tension in skinned muscle fibers : effect of high concentrations of Mg ATP.
Amer. J. Physiol., 233, 127-134.
- PADYKULA H.A. 1952
The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat.
Amer. J. Anat., 91, 107-146.

- PADYKULA H.A. & GAUTHIER G.F. 1970
The ultrastructure of the neuromuscular junction of mammals red, white and intermediate skeletal muscle fibers.
J. Cell. Biol., 46, 27-41.
- PALEXAS G.N., SAVAGE N. & ISAACS H. 1981
Characteristics of sarcoplasmic reticulum from normal and denervated rat skeletal muscle.
Biochem. J., 200, 11-15.
- PATTERSON G.T. & DETTBARN W.D. 1985
Changes in skeletal muscle properties following hindlimb suspension.
The Physiologist, 28, S133-S134.
- PERIASAMY M., WIECZOREK D.F. & NADAL-GINARD B. 1984
Characterization of developmentally regulated perinatal myosin heavy-chain gene expressed in skeletal muscle.
J. Biol. Chem., 259, 13573-13578.
- PESTOV I.D. & GERALTEWOHL S.J. 1975
Weightlessness. In : CALVIN M., GAZENKO O.G., general eds. Foundation of Space Biology and Medicine. Vol. 2. Washington, DC : National Aeronautics and Space Administration, p. 305-354.
- PETER J.B., BARNARD R.J., EDGERTON V.R., GILLESPIE C.A. & STEMPEL K.E. 1972
Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits.
Biochemistry, 11, 2627-2634.
- PETTE D. & VRBOVA G. 1985
Neural control of phenotypic expression in mammalian muscle fibres.
Muscle Nerve, 8, 676-689.
- PLYLEY M.J. & GROOM A.C. 1975
Geometrical distribution of capillaries in mammalian striated muscle.
Amer. J. Physiol., 228, 1376-1383.
- PODOLSKY R.J. & COSTANTIN L.L. 1964
Regulation by calcium of the contraction and relaxation of muscle fibers.
Fed. Proc., 23, 933-939.
- PORTUGALOV V.V. & PETROVA N.V. 1976
LDH isoenzymes of skeletal muscles of rats after spaceflight and hypokinesia.
Aviat. Space Environ. Med., 47, 834-838.
- POTTER J.D. & GERGELY J. 1974
Troponin, tropomyosin and actin interactions in the Ca regulation of muscle contraction.
Biochemistry, 13, 2697-2703.
- POTTER J.D. & GERGELY J. 1975
The calcium and magnesium binding sites on troponin and their role in the regulation of myofibrillar adenosine triphosphatase.
J. Biol. Chem., 250, 4628-4633.

- RANVIER L. 1874
De quelques faits relatifs à l'histologie et à la physiologie des muscles striés.
Arch. Physiol. Norm. Path., 2, 5-15.
- RAPCSAK M., OGANOV V.S., SZOOR A., SKURATOVA S.A., SZILAGYI T. & TAKACS O. 1983
Effect of weightlessness on the function of rat skeletal muscles on the biosatellite "COSMOS 1129".
Acta Physiol. Hung., 62, 225-228.
- REISER P.J., MOSS R.L., GIULIAN G.G. & GREASER M.L. 1985
Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition.
J. Biol. Chem., 260, 9077-9080.
- REISER P.J., MOSS R.L., GIULIAN G.G. & GREASER M.L. 1985
Shortening velocity and myosin heavy chains of developing rabbit muscles fibers.
J. Biol. Chem., 260, 14403-14405.
- REISER P.J., KASPER C.E. & MOSS R.L. 1987
Myosin subunits and contractile properties of single fibers from hypokinetic rat muscles.
J. Appl. Physiol., 63, 2293-2300.
- 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., WOOD D.S. & EASTWOOD A.N. 1977
Adaptation of single fiber technics for the study of human muscle.
in Rowland LP Ed., Excerpta Medica, Amsterdam, 259-269.
- RUEGG J.C. 1986
in calcium in muscle activation.
Springer-Verlag, Berlin (Zoophysiology, vol. 19), 300 pages.
- SAIDA K. 1982
Intracellular Ca release in skinned smooth muscle.
J. Gen. Physiol., 80, 191-202.
- SAITO A., SEILER S., CHU A. & FLEISCHER S. 1986
Preparation and morphology of sarcoplasmic reticulum terminal cisternae from rabbit skeletal muscle.
J. Cell. Biol., 99, 875-885.
- SALMONS S. & SRETER F.A. 1976
Significance of impulse activity in the transformation of skeletal muscle type.
Nature, 263, 30-34.
- SALVIATI G., BETTO R. & DANIELI BETTO D. 1982
Polymorphism of myofibrillar proteins of rabbit skeletal-muscle fibres.
Biochem. J., 207, 261-272.

- SALVIATI G., BETTO R., DANIELI BETTO D. & ZEVIANI M. 1983
Myofibrillar-protein isoforms and sarcoplasmic-reticulum Ca^{2+} -transport activity of single human muscle fibres.
Biochem. J., 224, 215-225.
- SALVIATI G. & VOLPE P. 1988
Calcium release from sarcoplasmic reticulum of skinned fast and slow twitch muscle fibres.
Amer. J. Physiol., 254, C459-C465.
- SANDOW A. 1965
Skeletal muscle.
Ann. Rev. Physiol., 32, 87-138.
- SCHACHAT F.H., DIAMOND M.S. & BRANDT P.W. 1987.
Effect of different troponin T-tropomyosin combinations on thin filament activation.
J. Mol. Biol., 198 : 551-554.
- SCHMITT T. & PETTE D. 1985
Increased mitochondrial creatine kinase in chronically stimulated fast-twitch rabbit muscle.
FEBS Lett., 188, 341-344.
- SCHNEIDER M.F. & CHANDLER W.K. 1973
Voltage dependent charge movement in skeletal muscle : a possible step in excitation-contraction coupling.
Nature, 242, 244-246.
- SHAW S.R., VAILAS A.L., GRINDELAND R.E. & ZERNICKE R.F. 1988.
Effects of a 1 week spaceflight on morphological and mechanical properties of growing bone.
Amer. J. Physiol., 254, R78-R83.
- SHEELER P. & BIANCHI D.E. 1980
In Cell Biology : Structure, biochemistry and function, John Wiley and sons eds., New York.
- SHIGEKAWA M., WARABAYASHI S. & NAKAMURA H. 1983.
Reaction mechanism of calcium dependent adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum ATP hydrolysis with CaATP as a substrate and role of divalent cation.
J. Biol. Chem., 258, 8698-8707.
- SILLAU A.H. & BANCHERO 1978
Skeletal muscle fibres size and capillary.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 158, 288-291.
- SIMMONS D.J., RUSSEL J.E., WINTER F., TRAN VAN P., VIGNERY A., BARON R., ROSENBERG G.D. & WALKER W.V. 1983.
Effect of spaceflight on the non-weight-bearing bones of rat skeleton.
Amer. J. Physiol., 244, R319-R326.
- SOMLYO A.V. & SOMLYO A.P. 1968
Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 159, 129-145.

- SORENSEN M.M., REUBEN J.P., EASTWOOD A.N., ORENTLICHER M. & KATZ G.M. 1980
Functional heterogeneity of the sarcoplasmic reticulum within sarcomeres of skinned muscle fibres.
J. Membrane Biol., 53, 1-17.
- SRETER F.A., LUFF A.R. & GERGELY J. 1975
Effect of cross-reinnervation on physiological parameters and on properties of myosin and sarcoplasmic reticulum of fast and slow muscles of the rabbit.
J. Gen. Physiol., 66, 811-821.
- STEFFEN J.M. & MUSACCHIA X.J. 1984
Effects of hypokinesia and hypodynamia on protein, RNA and DNA in rat hindlimb muscles.
Amer. J. Physiol., 247, R728-R732.
- STEFFEN J.M. & MUSACCHIA X.J. 1986
Spaceflight effects on adult rat muscle protein, nucleic acids and amino acids.
Amer. J. Physiol., 251, R1059-R1063.
- STEIN LA., SCHWARZ R., CHOCK P.B. & EISENBERG 1979
The mechanism of actomyosin ATPase : evidence that ATP hydrolysis can occur without dissociation of the actomyosin complex.
Biochemistry, 18, 3895-3909.
- STEPHANO J.L., GULD M. & ROJAS-GALICIA L. 1986
Advantages of picrate fixation for staining polypeptides in polyacrylamide gels.
Anal. Biochem., 152, 308-313.
- STEPHENSON D.G. & WILLIAMS D.A. 1981
Calcium activated forces responses in fast and slow twitch skinned muscle fibres of the rat at different temperature.
J. Physiol. (London), 317, 281-302.
- STEPHENSON D.G. & WILLIAMS D.A. 1982
Effects of sarcomere length on the force-pCa relation in fast and slow-twitch skinned muscle fibres from the rat.
J. Physiol. (London), 333, 637-653.
- STEPHENSON D.G. & WILLIAMS D.A. 1985
Temperature-dependent calcium sensitivity changes in skinned muscle fibres of rat and toad.
J. Physiol. (London), 360, 1-12.
- STEPHENSON E.W. & PODOLSKY R.J. 1977
Regulation by magnesium of intracellular calcium movement in skinned muscle fibers.
J. Gen. Physiol., 69, 1-16.
- STEPHENSON E.W. 1981
Activation of fast skeletal muscle : contributions of studies on skinned fibers.
Amer. J. Physiol., 240, C1-C19.

- STEVENS L. & MOUNIER Y. 1989
Hindlimb suspension induced slow-to-fast changes of the contractile activity of rat soleus skinned fibers.
Proceedings of the International Union of Physiological Sciences, Helsinki, juillet 1989.
- STEVENS L. & MOUNIER Y. 1990
Evidences for slow to fast changes in the contractile proteins of rat soleus muscle after hindlimb suspension : studies on skinned fibers.
The Physiologist, 33, 90-91.
- STEVENS L., MOUNIER Y., HOLY X. & FALEMPIN M. 1990
Contractile properties of rat soleus muscle after fifteen days of suspension hypokinesia/hypodynamia.
J. Appl. Physiol., 68, 334-340.
- STIENEN G.J.M. & BLANGE T. 1985
Tension development and calcium sensitivity in skinned muscles fibres of the frog.
Pflügers Arch., 405, 19-25.
- SWEENEY H.L., KUSHMERICK M.J., MABUCHI K., GERGELY J. & SRETER F.A. 1986
Velocity of shortening and myosin isozymes in two types of rabbit fast-twitch muscle fibers.
Amer. J. Physiol., 251, C431-C434.
- SWYNGHEDAUW B. 1986
Develomental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles.
Physiol. Rev., 66, 710-771.
- SZENT-GYORGY A. 1949
Free-energy relations and contractions of actomyosin.
Biol. Bull., 96, 140-161.
- TADA M., YAMAMOTO T. & TONOMURA 1978
Molecular mechanism of active calcium transport by sarcoplasmic reticulum.
Physiol. Rev., 58, 1-79.
- TAKACS O., RAPCSAK M., SZOOR A., OGANOV V.S., STILAGYI T., OGANESYAN S.S. & GUBA F. 1983
Effect of weightlessness on myofibrillar proteins of rat skeletal muscle with different functions in experiment of biosatellite "COSMOS 1129".
Acta Physiol. Hung., 62, 228-233.
- TAKAGI A. & ENDO M. 1977
Guinea pig soleus and extensor digitorum longus : A study of single-skinned fibers.
Exp. Neurol., 55: 95-101.
- TAYLOR K.A. & AMOS L.A. 1981
A new model for the geometry of the binding of myosin cross bridges to muscle thin filaments.
J. Mol. Biol., 147, 297-324.

- TEMPLETON G.H., PADALINO M., MANTON J., GLASBERG M., SILVER C.J., SILVER P., DE MARTINO G., LE CONEY T., KLUG G., HAGLER H. & SUTKO J.L. 1984
Influence of suspension hypokinesia on rat soleus muscle.
J. Appl. Physiol., 56, 278-286.
- TEMPLETON G.H., PADALINO M., MANTON J., LE CONEY T., HAGLER H. & GLASBERG M. 1984
The influence of rat suspension-hypokinesia on the gastrocnemius muscle.
Aviat. Space Environ. Med., 55, 381-386.
- THOMASON D.B., HERRICK R.E., SURDYKA D. & BALDWIN K.M. 1987
Time course of soleus muscle myosin expression during hindlimb suspension and recovery.
J. Appl. Physiol., 63, 130-137.
- THORNTON W.E. & RUMMEL J.A. 1977.
Muscular deconditioning and its prevention in space flight.
In Johnston R.S., Dietlein, L.F. Eds. Biomedical results from skylab. NASA SP-377. Washington, DC : National Aeronautics and Space Administration, 191-197.
- TILLACK T.W., BOLAND R. & MARTONOSI A. 1974
The ultrastructure of developing sarcoplasmic reticulum.
J. Biol. Chem., 249, 624-633.
- TOBACMAN L.S. 1987
Activation of actin-cardiac myosin subfragment 1 Mg ATPase rate by Ca^{2+} shows cooperativity intrinsic to the myofilament.
Biochemistry, 26, 492-497.
- TRUEBLOOD E., WALSH T.P. & WEBER A 1982
Is the steric model of tropomyosine action valid ?
In : Basic biology of muscles : a comparative approach.
Twarog BM, Levine RJC and Dewey Eds., Raven Press New York, 223-241.
- VANDERKOOI J.M., JEROKOMAS A., NAKAMURA H. & MARTONOSI A. 1977
Fluorescence energy transfer between Ca^{2+} transfer ATPase molecule in artificial membranes.
Biochemistry, 16, 1262-1267.
- VENTURA -CLAPIER R., MEKHFI H. & VASSORT G. 1987
Role of creatin kinase in force development in chemically skinned rat cardiac muscle.
J. Gen. Physiol., 89, 815-837.
- VERGARA J. & ASOTRA K. 1987
The chemical transmission mechanism of excitation-contraction coupling in skeletal muscle.
NIPS, 2, 182-186.
- VIBERT P. & COHEN C. 1988
Domains, motions and regulation in the myosin head.
J. Muscle Res. Cell Motil., 9, 296-305.

- VICO L., CHAPPARD D., PALLE S., BAKULIN A.V., NOVIKOV V.E. & ALEXANDRE C. 1988.
Trabecular bone remodeling after seven days of weightlessness exposure
(Biocosmos 1667).
Amer. J. Physiol., 255, R243-R247.
- VERJOVSKI-ALMEIDA S. & INESI G. 1979.
Rapid kinetics of calcium ion transport and ATPase activity in the
sarcoplasmic reticulum of dystrophic muscle.
Biochem. Biophys Acta, 558, 119-125.
- VOLPE P., BIRAL D., DAMIANI E. & MARGRETH A. 1981
Characterization of human muscle myosins with respect to the light chains.
Biochem. J., 195, 251-258.
- VOROBYOV E.I., GAZENKO O.G., GENIN A.M. & EGOROV A.D. 1983.
Medical results of salyut 6 manned spaceflights.
Aviat. Space Environ. Med., 54, S31-S40.
- WAN K.K. & BOEGMAN R.J. 1981
Responses of rat skeletal muscle to neural application of batrachotoxin :
effects on sarcoplasmic reticulum.
Exp. Neurol., 74, 439-446.
- WEBER A., HERZ, R. & REISS, I. 1966
Studies of the kinetics of calcium transport by isolated fragmented reticulum.
Biochem. Z., 345, 329-369.
- WENDT I.R. & STEPHENSON, D.G. 1983
Effects of caffeine on Ca-activated force production in skinned cardiac and
skeletal muscle fibres on the rat.
Pflügers Arch., 398, 210-216.
- WHALEN R.G., SELL S.M., BUTLER-BROWNE G.S., SCHWARTZ K., BOUVERE T.P. &
PINSET-HARSTROM I. 1981
Three myosin heavy-chain isoenzymes appear sequentially in rat muscle
development.
Nature, 292, 805-809.
- WILKINSON J.M. 1980
Troponin C from rabbit slow skeletal and cardiac muscle is the product of a
single gene.
Eur. J. Biochem., 103, 179-188.
- WINEGRAD S. 1968
Intracellular calcium movements of frog skeletal muscle during recovery
from tetanus.
J. Gen. Physiol., 51, 65-83.
- WINEGRAD S. 1971
Studies of cardiac muscle with a high permeability to calcium produced by
treatment with ethylenediamine-tetraacetic acid.
J. Gen. Physiol., 58, 71-93.
- WINIARSKI A.M., ROY R.R., ALFORD P.C., CHIANG P.C. & EDGERTON V.R. 1987
Mechanical properties of rat skeletal muscle after hind limb suspension.
Exp. Neurol., 96, 650-660.

- WITZMANN F.A., KIM D.H. & FITTS R.H. 1983
Effect of hindlimb immobilization on the fatigability of skeletal muscle.
J. Appl. Physiol., 54, 1241-1248.
- WOOD D.S., ZOLLMAN J.R., REUBEN J.P. & BRANDT P.W. 1975
Human skeletal muscle : Properties of the "chemically skinned" fiber.
Science, 187, 1075-1076.
- WOOD D.S. 1978
Human skeletal muscle : analysis of Ca^{2+} regulation in skinned fiber caffeine.
Exp. Neurol., 58, 218-230.
- WRONSKI T.J. & MOREY-HOLTON E.R. 1987
Skeletal response to simulated weightlessness : a comparison of suspension techniques.
Aviat. Space Environ. Med., 58, 63-68.
- ZERATH E., NOGUES C., BORNE M. & SOURDAINE P. 1990
Bone effects of 13 days of weightlessness on rat and monkey. Some results of Bioscosmos 1887 and ground simulations.
The Physiologist, 33, S94-S95.
- ZOT H.G. & POTTER J.D. 1982
A structural role for the Ca^{2+} - Mg^{2+} sites on troponin C in the regulation of muscle contraction.
J. Biol. Chem., 257, 7678-7683.
- ZOT H.G., GUTH K. & POTTER J.D. 1985
Measurement of fluorescence and tension development in skinned skeletal muscle fibers reconstituted by TnC DANZ.
Biophys. J., 47, 473 a.
- ZOT H.G., GUTH K. & POTTER J.D. 1986
Fast skeletal muscle skinned fibers and myofibrils reconstituted with N-terminal fluorescent analogues of troponin C.
J. Biol. Chem., 261, 15883-15890.
- ZUBRZYCKA E. & MAC LENNAN D.H. 1976
Assembly of the sarcoplasmic reticulum. Biosynthesis of calsequestrin in rat skeletal muscle cell cultures.
J. Biol. Chem., 251, 7733-7738.

