

THÈSES ACCESSOIRES

1. La fatigue du muscle squelettique présente des composantes mécaniques, électriques et métaboliques.
2. La disparition de la contracture iodoacétique du muscle strié s'explique par des glissements plastiques et visqueux ; elle n'est donc pas comparable au relâchement qui suit une secousse ou un tétanos.
3. Le blocage de la transmission neuro-musculaire observé dans la myasthénie grave résulte d'une lésion neuro-chimique entravant la synthèse d'acétylcholine.

**LE MÉTABOLISME
DE LA PHOSPHORYLCRÉATINE
ET DE
L'ADÉNOSINE TRIPHOSPHATE
DURANT LA
CONTRACTION MUSCULAIRE**

*A monsieur et madame
E. Galland-Maréchal,
en hommage respectueux.*

UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE - PROFESSEUR X. AUBERT

**LE MÉTABOLISME
DE LA PHOSPHORYLCRÉATINE
ET DE
L'ADÉNOSINE TRIPHOSPHATE
DURANT LA
CONTRACTION MUSCULAIRE**

PAR

GEORGES MARÉCHAL

Chargé de Recherches du Fonds National de la Recherche Scientifique

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION DU
GRADE D'AGRÉGÉ DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ÉDITIONS ARSCIA S.A.
60, RUE DE L'ÉTUVE — BRUXELLES
1964

Université catholique de Louvain



10.069.776



*Tous droits de traduction,
d'adaptation et de reproduction
par tous procédés, y compris la
photographie et les microfilms,
réservés pour tous pays.*

© 1964 by ÉDITIONS ARSCIA S.A.

(Printed in Belgium)

*J*E remercie respectueusement Son Excellence Monseigneur H. van Waeyenbergh, Recteur Magnifique de l'Université de Louvain, Son Excellence Monseigneur A. Descamps, Recteur, et Monseigneur F. Litt, Pro-recteur, pour la bienveillance et les encouragements que ces Hautes Autorités Académiques ont bien voulu me témoigner. Je désire aussi exprimer ici ma profonde gratitude au professeur P. Lacroix, Doyen de la Faculté de Médecine, ainsi qu'à tous les autres professeurs de cette Faculté, auxquels je dois la base de ma formation.

C'est le professeur J.-P. Bouckaert qui m'a accueilli au laboratoire de Physiologie, et m'a orienté vers la physiologie musculaire. Pendant plus de dix années, je n'ai cessé de bénéficier de ses conseils et de son expérience au cours des nombreux séminaires et des réunions toujours si vivantes de son laboratoire, et je l'en remercie avec gratitude.

Mon Maître, le professeur X. Aubert, m'a initié à la recherche scientifique rigoureuse. Avec son esprit critique, et quelquefois caustique, il m'a enseigné le doute méthodique, cette arme logique indispensable au chercheur. Avec une longue patience, il m'a appris la minutie dans l'expérimentation, la rigueur dans le raisonnement, la concision et la clarté dans l'expression. Avec son sens aigu des réalités expérimentales, il m'a montré comment les techniques d'analyses statistiques et les appareillages électroniques et mécaniques doivent servir à vérifier les hypothèses.

C'est une joie pour moi de lui exprimer mes sentiments de reconnaissance, et de lui présenter ce mémoire, signe tangible que la confiance qu'il m'a témoignée n'aura pas été vaine.

Le professeur W.F.H.M. Mommaerts, directeur du Heart Association Research Laboratory au Brain Research Institute de l'Université de Californie, m'a chaleureusement reçu pendant huit mois. Il m'a initié à ses techniques raffinées, que j'ai largement utilisées au cours de ce travail. Il n'a ménagé ni ses louanges, ni ses critiques lucides. Son amitié m'honore, et je ne saurais assez le remercier.

J'ai eu le privilège de fréquenter pendant quelques mois le laboratoire de Biologie générale du professeur M. Dubuisson, Recteur de l'Université de Liège et un des pionniers de la biophysique et de la biochimie musculaire. J'y ai noué de très fécondes et amicales relations avec le professeur A. Distèche, qui a d'ailleurs apporté à ce travail de nombreuses et très utiles suggestions.

Le professeur G. Hers a examiné ce mémoire avec toute sa compétence; je le remercie vivement de ses critiques éclairées et de toute l'aide que lui et ses collaborateurs du département de Chimie physiologique m'ont apportées pendant l'élaboration de ce travail.

Je remercie également le Dr H. Dewulf qui a très soigneusement relu le manuscrit et a proposé un grand nombre d'améliorations, ainsi que le Dr J.-M. Gillis et M. F. Baguet qui m'ont donné leurs avis durant la rédaction de cette thèse.

Ce m'est un plaisir de souligner l'aide technique importante de Mlle G. Bleukx, qui a exécuté plus de mille dosages avec sourire et bonne humeur, MM. J. Remaut, R. Andries et J. Gilis ont construit l'appareillage électro-mécanique, M. F. Uytterhoeven a dessiné les figures et M. E. Galland a réalisé les photographies. Tous ont droit à mes remerciements cordiaux.

Il m'eut été impossible de mener à bien mes études puis mes recherches sans l'aide financière de la Fondation Universitaire et du Fonds National de la Recherche Scientifique, dont je m'honore d'avoir été Aspirant et Chargé de recherches. Mon séjour aux Etats-Unis a été rendu possible par l'intervention de la Fondation Rockefeller. Je remercie les conseils d'administration et les commissions scientifiques de ces institutions de la confiance qu'elles n'ont cessé de m'accorder.

Je ne pourrais assez dire ma gratitude à M. Christiaens qui a bien voulu prendre en charge la publication de cet ouvrage, ainsi qu'au Dr C. Pirson et à M. V. Guelton qui n'ont rien négligé pour sa présentation et sa diffusion.

G. M.

Laboratoire de Physiologie générale.
Louvain, mars 1964

TABLE DES MATIÈRES

Pages

PREMIÈRE PARTIE

Les relations générales entre le métabolisme musculaire et les phénomènes thermo-mécaniques de la contraction

Chapitre I. — Le problème de l'énergétique musculaire	15
Chapitre II. — La libération d'énergie mécanique et thermique provoquée par la contraction musculaire	19
Chapitre III. — Les réactions métaboliques durant la contraction musculaire .	23
Chapitre IV. — Position du problème	31

DEUXIÈME PARTIE

Les techniques et les méthodes

Chapitre I. — Le matériel physiologique	35
Chapitre II. — Les dispositifs électro-mécaniques	39
§ 1. Le stimulateur digital	41
§ 2. L'ergomètre pneumatique	42
§ 3. Mesure et enregistrement de la tension	46
§ 4. Multiélectrodes et chambre thermostatée	47
§ 5. Le congélateur rapide	48
§ 6. La programmation des expériences	51
Chapitre III. — Les dosages chimiques	53
§ 1. Préparation des extraits musculaires	53
§ 2. Détermination de la créatine libre et de la PC	54
§ 3. Détermination de l'adénosine triphosphate	55
Chapitre IV. — Les techniques statistiques	57
§ 1. Plan des expériences	57
§ 2. Analyses	58
§ 3. Ecart des expériences défectueuses	59

TROISIÈME PARTIE

Le métabolisme de la phosphorylcréatine et de l'adénosine triphosphate durant le tétanos musculaire

Chapitre I. — La PC et l'ATP du muscle au repos	63
§ 1. Effet de la position	64
§ 2. Effet saisonnier	66
§ 3. Variabilité des résultats	67
Chapitre II. — Le catabolisme de la PC et de l'ATP durant un tétanos isométrique	73
§ 1. Le métabolisme stable	73
A) Le métabolisme stable chez <i>Rana pipiens</i>	74
B) Le métabolisme stable chez <i>Rana temporaria</i>	77
C) Influence de la longueur du muscle sur le métabolisme stable	80
D) Discussion	84
§ 2. L'extramétabolisme	90
A) L'extramétabolisme chez <i>Rana pipiens</i>	90
B) L'extramétabolisme chez <i>Rana temporaria</i>	91
C) Discussion	93
Chapitre III. — Le métabolisme de la PC et de l'ATP associé au travail	99
§ 1. Le métabolisme du travail positif	100
A) Contractions à tension constante	101
B) Contractions à vitesse constante	102
C) Discussion	111
§ 2. Le métabolisme du travail négatif	115
A) Vitesse rapide d'allongement	116
B) Vitesse lente d'allongement	121
C) Discussion	131
Chapitre IV. — Les corrélations entre la PC et l'ATP	140
RÉSUMÉ	147
SUMMARY	153
TABLES ANNEXES	159
BIBLIOGRAPHIE	173

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SYMBOLES UTILISÉS

ATP	adénosine triphosphate
ADP	adénosine diphosphate
AMP	adénosine monophosphate
PC	phosphorylcréatine
C _L	créatine libre
C _T	créatine totale
P ₀	tension maximum d'un muscle, en kg/cm ²
l ₀	longueur de référence du muscle, selon HILL (1952)
W	travail fourni ou reçu par le muscle
Q _i	chaleur dégagée par le muscle en contraction isométrique
b _B	taux de chaleur de maintien stable selon AUBERT (1956a)
b _A	taux de chaleur de maintien labile initial selon AUBERT (1956 a)
α	raccourcissement du muscle
a	constante mécano-thermique de HILL
ΔH _j	enthalpie d'une réaction j
n _j	quantité de substrat transformé dans la réaction j
b	coefficient d'une régression linéaire
r	coefficient de corrélation linéaire de BRAVAIS-PEARSON
t	test « t » de STUDENT-FISCHER
P	probabilité qu'un événement soit dû au hasard
n	nombre d'expériences
Unités	
g	gramme de muscle
cm	centimètre
sec	seconde
mn	minute
gcm	gramme (masse) centimètre
mcal	millième partie de la calorie-gramme

Sauf indications contraires, la quantité de tous les substrats est exprimée en micromole par gramme de muscle (micromole/g), et toutes les énergies en millicalorie (gramme) par gramme de muscle (mcal/g)

PREMIÈRE PARTIE

**LES RELATIONS GÉNÉRALES
ENTRE LE MÉTABOLISME MUSCULAIRE
ET LES PHÉNOMÈNES
THERMO-MÉCANIQUES
DE LA CONTRACTION**

CHAPITRE I

LE PROBLÈME DE L'ÉNERGÉTIQUE MUSCULAIRE

L e muscle est un organe excitable qui transforme de l'énergie chimique en énergie mécanique. On peut le stimuler et lui faire produire du travail à volonté sous une grande variété de conditions contrôlées ; on peut observer son comportement mécanique, et le comparer aux changements chimiques et thermiques qui surviennent pendant ou après la contraction. Le muscle présente donc un matériel particulièrement adapté à l'étude des transformations de l'énergie dans les tissus vivants, et ce fait explique sans doute la continuité de l'intérêt que lui ont porté un grand nombre de physiologistes et de biochimistes.

Les transformations d'énergie dans le muscle présentent deux catégories de problèmes. La première catégorie comprend tous les problèmes d'énergétique : on s'inquiète de la nature des réactions chimiques qui mobilisent l'énergie, et on recense les formes, mécanique, thermique ou autres, sous lesquelles cette énergie se dégage du muscle. La seconde catégorie comprend les problèmes qui visent à élucider le mécanisme même de la contraction, c'est-à-dire la façon dont l'énergie mobilisée par les réactions chimiques préparatoires modifie la structure de la matrice protéique contractile.

Ce travail est une contribution à l'étude de l'énergétique musculaire, et vise à établir un bilan entre la mobilisation d'énergie chimique et le dégagement d'énergie thermique et mécanique dans plusieurs conditions très différentes.

Un premier problème se pose naturellement : celui de la possibilité, au moins théorique, d'établir un tel bilan. Observons un muscle au repos : sans doute forme-t-il un système ouvert en état stationnaire. Il est le siège de diverses réactions chimiques, il consomme de l'oxygène, synthétise de nouvelles protéines, et dégage de la chaleur à un taux très faible (chaleur de repos). Dès que le muscle est stimulé, il se contracte, souvent violemment, et soulève un poids ; sa production de chaleur augmente

plusieurs dizaines de fois, et un grand nombre de réactions chimiques ou physiques surviennent, soit simultanément, soit consécutivement. Les réactions thermiques et chimiques se poursuivent d'ailleurs bien longtemps après que la réaction mécanique est terminée. Si on attend suffisamment longtemps, le muscle semble regagner son état initial. La seule différence sera une modification chimique relativement peu importante : un peu de glycogène transformé en acide lactique, ou un peu de phosphorylcréatine hydrolysée en créatine et acide phosphorique. Comme aucun échange de matière n'a lieu pendant les courts moments que durent les expériences, mais que seuls surviennent des échanges d'énergie, le système est fermé, au sens thermodynamique du mot, et dès lors, il est possible de relier phénomènes chimiques et phénomènes physiques par un bilan d'énergie. Il faut que l'énergie dépensée, tant sous forme de travail (W) que sous forme de chaleur (Q) égale l'énergie chimique utilisée. Si $-\Delta H_j$ est la chaleur produite par la transformation d'une mole de substrat en une mole de produit dans la réaction j lorsqu'aucun travail n'est fourni, la chaleur dégagée par la transformation de n_j moles sera égale à $-n_j\Delta H_j$. Si k réactions interviennent, l'énergie totale libérée est égale à la somme des énergies libérées par chaque réaction, et le bilan énergétique peut s'écrire (WILKIE, 1960) :

$$W + Q = \sum_1^k - n_j \Delta H_j \quad (1)$$

Remarquons immédiatement qu'un tel bilan n'est pas seulement utilisable pour comparer l'état initial d'un système à son état final, mais qu'il doit être respecté à n'importe quel moment durant le passage du système d'un état à l'autre.

En considérant ce bilan, nous apercevons clairement les problèmes à investiguer et leurs rapports fondamentaux. Il faut d'abord évaluer le travail fourni pendant la contraction, ce qui ne présente en général guère de difficultés. Il faut ensuite mesurer la chaleur produite par le muscle : nous devons ici l'essentiel de nos connaissances au travail et à l'ingéniosité de A.V. HILL. Il faut identifier les k réactions : la difficulté est ici très réelle, car comment saurons-nous que *toutes* les réactions sont identifiées ? La méthode des bilans énergétiques peut être très précieuse : l'impossibilité d'établir un bilan équilibré peut être une indication qu'un poste important est omis, et, partant, qu'une réaction j est encore inconnue. Il faut mesurer les enthalpies $-\Delta H_j$: quoique ces mesures soient relativement aisées *in vitro*, il est beaucoup plus difficile d'extra-

poler ces résultats aux réactions qui surviennent *in vivo*, à cause de notre grande ignorance des conditions physico-chimiques qui règnent à l'intérieur de la cellule. Il faut enfin mesurer les n_i , les quantités de substrats qui ont réagi. Ces mesures sont très difficiles, à cause de la petitesse des effets et des grandes variations biologiques.

L'énergie chimique potentielle est toujours très concentrée, ce qui signifie qu'une quantité de substrat infime, de l'ordre du millionième de gramme, suffit pour dégager des énergies très appréciables, de plusieurs dizaines de grammes-centimètres. Les progrès en ce domaine sont liés à l'existence de méthodes de dosage chimique suffisamment sensibles. Or, il se fait que ces dernières années ont vu l'invention d'une méthode colorimétrique pour le dosage de la créatine (ENNOR et STOCKEN, 1948) et d'une méthode photométrique pour le dosage de l'adénosine triphosphate (STREHLER et TOTTER, 1952), deux substrats importants utilisés dans la contraction musculaire. La seconde difficulté, la variation biologique importante, masque les effets légers de la stimulation, parce que ces effets doivent être estimés par différence à partir d'un contrôle, qui ne reçoit pas le traitement étudié ; or les fluctuations de ce contrôle dépassent quelquefois beaucoup l'effet recherché. L'application des méthodes statistiques surtout développées par FISHER (1946) permet de résoudre ces difficultés.

L'étude de l'utilisation de ces deux métabolites importants au cours de la contraction musculaire forme l'essentiel de ce travail. Mais avant d'aborder le vif du sujet, il est sans doute utile de rappeler très sommairement quelques acquis, à la fois anciens et récents, qu'il conviendrait de garder présents à l'esprit. On trouvera des exposés plus détaillés de ces questions dans les travaux d'AUBERT (1963, 1956 a, 1956 b, 1951), DUBUISSON (1954), ERNST (1963), HAMOIR (1956), MOMMAERTS (1950), NEEDHAM (1960), REICHEL (1960), WEBER (1958), WEBER et PORTZEHL (1954), WILKIE (1954).

Nous étudierons successivement les deux aspects complémentaires symbolisés dans l'équation (1) : la libération d'énergie mécanique et thermique au cours de la contraction, et les sources chimiques de l'énergie mobilisable.

CHAPITRE II

LA LIBÉRATION D'ÉNERGIE MÉCANIQUE ET THERMIQUE PROVOQUÉE PAR LA CONTRACTION MUSCULAIRE

LE dégagement de chaleur ne survient pas seulement durant la contraction elle-même, mais persiste pendant plusieurs dizaines de minutes après que l'activité contractile est terminée (HILL, 1913). De là une première distinction, capitale, entre la chaleur retardée, produite après la contraction, et la chaleur initiale, produite pendant la contraction. Quoique la production de chaleur retardée dure longtemps, le taux de dégagement est faible, de sorte qu'au total la chaleur retardée est égale à la chaleur initiale. Si on supprime la fourniture d'oxygène au muscle, la chaleur retardée n'apparaît plus (WEISZÄCKER, 1914), mais ni la chaleur initiale ni les phénomènes mécaniques ne sont affectés par l'anaérobiose. Ce fait démontre que les phénomènes contractiles essentiels ne dépendent pas de l'apport d'oxygène, et sont provoqués par des réactions essentiellement anaérobies. On conçoit dès lors que les oxydations ne servent qu'à reconstituer les réserves d'énergie chimique entamées au cours de la contraction. A vrai dire, l'anaérobiose ne supprime pas entièrement la chaleur retardée : il en persiste une petite fraction (20 % au maximum), la chaleur retardée anaérobie de HARTREE (1929), que l'on attribue aux processus glycolytiques. En conditions anaérobies, on peut encore observer une légère absorption de chaleur qui survient durant quelques secondes après un tétanos court à 0°C, la chaleur négative retardée (HARTREE, 1932), qui ne dépasse pas 8 % de la chaleur initiale. D.K. HILL (1940 b), qui l'a aussi observée, l'attribue à la synthèse d'adénosine triphosphate (ATP) à partir de phosphorylcréatine (PC), réaction qui est légèrement endothermique.

La quantité d'énergie libérée par le muscle en contraction dépend essentiellement de deux facteurs principaux. Le premier facteur est la durée de l'activité contractile, le second est le mode de contraction.

Le muscle peut en effet être stimulé de telle sorte qu'une extrémité soit fixe et que l'autre soulève un poids ; le muscle se raccourcit et produit un travail mécanique mesuré par le produit du poids et du raccourcissement. La contraction est dite isotonique. On peut aussi stimuler le muscle en fixant ses deux extrémités : le muscle ne peut se raccourcir, mais, en revanche, il développe une tension élastique. La contraction est dite isométrique.

Examinons d'abord le cas d'une contraction isométrique, où le travail que produit le muscle ne se manifeste que sous forme de tension élastique et, quoique réel, est petit et négligeable en première approximation. Dans ce cas, le muscle ne libère de l'énergie que sous forme de chaleur, et, dès 1920, HILL et HARTREE démontraient que la quantité totale de chaleur initiale en conditions isométriques (Q_i) est une fonction simple de la durée de stimulation :

$$Q_i = A + Bt \quad (2)$$

La fraction A de la chaleur initiale comprend les libérations de chaleur associées à l'apparition de la tension (chaleur d'activation) et à sa disparition (chaleur de relâchement, HILL, 1961), tandis que la fraction B comprend la chaleur produite pendant le maintien d'une tension stable (ou légèrement décroissante à cause de la fatigue) et s'appelle pour cette raison la chaleur de maintien de la contraction. AUBERT (1956 a) a analysé très en détail la production de chaleur de maintien, et a montré qu'elle comportait en réalité deux parties d'évolutions temporelles distinctes. La première partie est une fonction linéaire du temps, comme l'admettaient HILL et HARTREE : le taux de production de cette chaleur est constant, et symbolisé par b_B . Le taux de la chaleur de maintien stable dépend naturellement de la grosseur du muscle, aussi la ramène-t-on à la tension P développée par le muscle et à sa longueur *in situ* l_0 . Le rapport $b_B/P l_0$ est très constant pour un muscle de grenouille et à 0°C vaut 0,083 sec⁻¹, si b_B est exprimé en gcm, P en g et l_0 en cm. (AUBERT, 1956 a ; HILL et WOLEDGE, 1962). La deuxième partie de la chaleur de maintien se caractérise par un taux de production qui diminue exponentiellement au cours du temps : $b_A e^{-at}$, où b_A est le taux initial extrapolé au temps zéro, et a une constante de vitesse d'environ 1 sec⁻¹ à 0°C. Le taux de production de la chaleur de maintien b est égal à la somme des taux de la chaleur de maintien stable et de la chaleur de maintien labile :

$$b = b_A e^{-at} + b_B \quad (3)$$

Il importe de remarquer que cette formule ne vaut que si la tension est stabilisée, c'est-à-dire qu'en pratique elle ne couvre pas la première demi-seconde de tétanisation d'un couturier de grenouille à 0°C. Les proportions relatives des taux de chaleurs de maintien sont importantes : $h_A/h_B \simeq 1$, et par conséquent le taux de production de chaleur de maintien diminue environ de moitié en 4 à 6 secondes. Le taux moyen de chaleur stable est estimé à 3,6 millicalories par gramme de muscle et par seconde de tétanisation pour un couturier de grenouille à 0°C, et la quantité de chaleur labile est au total de h_A/a , soit encore de 4,5 mcal/g.

Il est intéressant de noter au passage l'influence de la longueur du muscle sur le taux de production de la chaleur de maintien. On sait que la tension que développe un muscle diminue rapidement lorsqu'on stimule le muscle isométriquement à des longueurs de plus en plus courtes, et s'annule lorsque le muscle est raccourci à moins de 60 % de sa longueur *in situ* (AUBERT, ROQUET et VAN DER ELST, 1951). La production de chaleur de maintien diminue pourtant moins rapidement que la tension, de sorte qu'à la courte longueur où le muscle ne développe plus de tension mesurable, la production de chaleur de maintien, tant stable que labile, atteint encore 50 % de sa valeur maximum observée lorsque le muscle est stimulé à la longueur l_0 , égale à celle *in situ* (AUBERT, 1956 a).

Examinons maintenant le cas où le muscle se contracte dans des conditions isotoniques. Le muscle libère alors de l'énergie sous forme de travail et sous forme de chaleur. FENN, en 1923, a constaté que la chaleur totale dégagée est égale, ou à peine supérieure, à la chaleur que le muscle aurait dégagée s'il ne s'était pas raccourci. C'est-à-dire qu'en première approximation, le travail W fourni par un muscle apparaît *en supplément* de la chaleur isométrique Q_i , et que l'énergie totale (E) dégagée par le muscle est :

$$E = Q_i + W \quad (4)$$

Cette formulation est à vrai dire approximative, et il semble bien que la chaleur produite soit en fait plus grande que Q_i . HILL, en 1938, devait montrer qu'un muscle qui travaille produit un supplément de chaleur ax , proportionnel au raccourcissement x du muscle, et il proposait que l'énergie totale libérée par le muscle obéit à la loi :

$$E = Q_i + ax + W \quad (5)$$

Il faut pourtant reconnaître que si le terme ax apparaît certainement au cours de la contraction, il n'est pas certain qu'il devrait figurer dans le bilan final. Selon CARLSON et coll. (1963) la chaleur totale produite par un muscle lors de secousses isotoniques ne dépend guère de la charge : on pourrait en conclure que la chaleur de raccourcissement serait compensée par une diminution proportionnelle de la chaleur de relâchement. Selon HILL (1963) toutefois cette compensation ne serait due qu'à une coïncidence résultant de la sommation de plusieurs facteurs (cfr. p. 000). Il faut encore ajouter que la chaleur de maintien isométrique, qui est une fraction du terme Q_i , diminue avec la longueur du muscle. Si l'on n'y prend pas garde cette diminution de la chaleur de maintien peut surcompenser l'augmentation de l'énergie liée aux autres termes de l'équation (5), de telle sorte que l'on observe une inversion de l'effet FENN (AUBERT, 1946 ; TYGYI, 1959), le tétanos isotonique dégageant moins d'énergie que le tétanos isométrique.

Le dernier problème intéressant à examiner est celui des étirements forcés. FENN (1924) avait déjà remarqué que la chaleur dégagée par un muscle étiré de force durant la contraction n'est guère plus grande que celle qu'il dégage durant la contraction isométrique, et que le travail effectué sur le muscle ne paraît pas être dégradé en chaleur. En première approximation, la formule (4) est aussi applicable aux cas des allongements forcés. En 1951, ABBOTT, AUBERT et HILL montraient que 40 à 60 % du travail fourni au muscle pouvait disparaître lors de courts tétanos. En étudiant des allongements effectués à des vitesses extrêmement lentes, ABBOTT et AUBERT (1951) voient le travail disparaître intégralement, et détectent aussi une absorption de chaleur proportionnelle à l'allongement, qui serait peut être l'homologue de la chaleur positive de raccourcissement. Plus tard, HILL et HOWARTH (1959) établissent des bilans d'énergie pour chaque instant de la contraction : ils décrivent des expériences où le bilan total d'énergie est diminué, voire même annulé, au cours d'allongements forcés. La conclusion paraît inévitable : le travail fourni au muscle n'est pas dégradé en chaleur, mais provoque le renversement des réactions chimiques qui engendrent la tension et est dès lors emmagasiné sous forme d'énergie chimique potentielle. Ces liaisons chimiques seraient sans doute du même type que celles utilisées pour la production du travail positif, encore que ERNST (1963) ne partage pas cette opinion. La possibilité que le muscle puisse fonctionner comme un transformateur réversible d'énergie chimique en énergie mécanique apparaît fascinante, et l'intérêt d'une démonstration expérimentale d'un tel phénomène ne serait pas à justifier.

CHAPITRE III

LES RÉACTIONS MÉTABOLIQUES DURANT LA CONTRACTION MUSCULAIRE

LE nombre des réactions chimiques *identifiées* qui sont en rapport avec l'activité contractile du muscle est très élevé. L'établissement d'un bilan de toutes ces réactions, qui représenterait le dosage d'une centaine de substrats (au minimum), est une tâche formidable qui n'est pas près d'être réalisée. Heureusement, cela n'est pas nécessaire, car il est possible d'arrêter de nombreuses réactions secondaires sans déprimer la contractilité du muscle, et il est légitime d'en négliger d'autres à cause de l'infime mobilisation d'énergie qu'elles requièrent.

On peut répartir les réactions chimiques de la contraction en trois grandes classes : celles qui surviennent avant l'activité contractile et qui conditionnent l'excitation du muscle ; celles qui surviennent durant la contraction et qui engendrent les phénomènes mécaniques ; celles qui se déroulent après l'activité contractile, c'est-à-dire les réactions de restauration qui rechargent les réserves entamées par la contraction. Cette division commode et logique n'est toutefois pas aussi marquée dans les faits, car toutes ces réactions de signification différente peuvent se dérouler simultanément, comme, par exemple, durant un long tétanos.

L'excitation du muscle de squelette par un courant électrique provoque une dépolarisation locale de la membrane, qui se propage spontanément à toute la surface de la fibre. La membrane se repolarise ensuite rapidement. La phase principale de ce potentiel d'action ne dure que quelques millisecondes et ce phénomène électrique est terminé bien avant toute manifestation mécanique apparente. Les phénomènes physiques qui régissent ces variations de potentiel sont bien interprétés sur la base d'échanges ioniques $K^+ - Na^+$ suivant les gradients électro-chimiques (HODGKIN, 1951 ; HODGKIN et HOROWICZ, 1959). Les réactions chimiques qui sous-tendent les variations de perméabilité aux ions sont beaucoup moins bien connues (NACHMANSOHN 1960), de même que les mécanismes

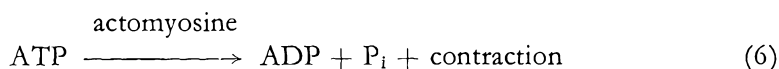
régénérateurs des gradients ioniques. L'énergie nécessaire à ces réactions provient en fin de compte de la glycolyse ou des oxydations, et semble être puisée dans des réserves communes avec celles de l'énergie utilisée pour la contraction (GILLIS, 1964). Du fait de la nature purement physique de l'équilibre ionique et des échanges sodium-potassium durant le « spike » du potentiel d'action il est possible d'évaluer l'énergie libre que doit fournir l'activité métabolique du muscle pour permettre ces processus : elle serait de l'ordre de 5,6 microcalories par gramme de muscle pour un potentiel d'action. Si l'on admet un rendement de 50 % des mécanismes restaurateurs et une cadence d'excitation de 24/sec, on calcule que l'énergie dépensée par l'excitation atteint environ 0,27 mcal/g/sec, soit environ 7 % de la chaleur de maintien stable. Cette énergie n'est pas couverte par le métabolisme au moment même de la contraction, mais pendant plusieurs dizaines de minutes après la stimulation, lors de la restauration des gradients ioniques. Comme nous congelons les muscles 2 à 3 minutes au plus après le premier tétanos, la restauration des gradients ioniques est arrêtée bien avant qu'elle ne soit complète. L'énergie dépensée dans les processus ioniques n'est donc qu'une faible fraction de l'énergie libérée pendant la contraction, probablement inférieure à 1 %. En conséquence, nous pouvons *ignorer* l'existence de ces réactions dans nos bilans.

Les réactions de restauration sont bien connues dans l'ensemble. Elles comportent deux phases principales dans les muscles de batraciens : le glycolyse, ou transformation du glycogène en acide pyruvique, et les oxydations, qui transforment l'acide pyruvique en CO_2 et H_2O via le cycle de l'acide citrique et la chaîne des cytochromes ; en l'absence d'oxygène, l'acide pyruvique est réduit en acide lactique. Les muscles des insectes, des oiseaux et des mammifères peuvent en outre oxyder des graisses, et cette source d'énergie est prépondérante chez les animaux migrants. Très heureusement, toutes ces réactions n'affectent pas *directement* la machinerie contractile. Pour des tétanos de courte durée (12 sec à 0°C) tout l'oxygène que consomme le muscle est utilisé *après* la contraction (D.K. HILL, 1940 a), et son absence totale ne modifie pas les phénomènes thermo-mécaniques de la contraction (HILL et HARTREE, 1920). Quant à la glycolyse, les célèbres travaux de LUNDSSGAARD (1930) ont démontré qu'elle pouvait être bloquée par l'iodoacétate, un poison thioloprive (BACQ, 1942, GODEAUX, 1950) qui bloque la triosephosphate déshydrogénase (RAPKINE, 1938) sélectivement si la concentration du poison est judicieusement choisie. Un muscle intoxiqué par l'iodoacétate paraît entièrement normal à première vue. La puissance

de contraction reste normale, avec des constantes de force et de vitesse identiques à celles du muscle sain (expériences personnelles) ; l'intoxication n'influence pas non plus la production de chaleur initiale (HARTREE 1931 ; FISCHER, 1931 ; AUBERT, 1956 a). On ne signale guère que deux effets précoces de l'intoxication iodoacétique : un raccourcissement de la période de latence qui s'écoule entre l'application de l'excitant et le développement de la tension (SANDOW et KARZMAR, 1950), et une augmentation de la fréquence d'excitation nécessaire à provoquer la fusion tétanique complète (AUBERT, MARÉCHAL, DERU et GILLIS, 1957). Cependant la répétition des excitants provoque l'apparition d'un double phénomène : la grandeur de la réponse musculaire décroît progressivement, tandis qu'une contracture se développe. Cette contracture a le caractère particulier de ne survenir qu'après une période d'excitation préalable. Si le muscle subit une série de secousses la contracture s'accroît régulièrement (LUNDGAARD, 1930), tandis qu'elle survient brutalement à la suite d'un long tétanos (SANDOW et SCHNEIDER, 1955 ; MARÉCHAL, 1958). A basse température (0 à 2°C) la contracture n'apparaît pas (GODEAUX, 1949) ou est très faible (MARÉCHAL, 1958), mais le muscle devient inexcitable. A 20°C un sartorius de *Rana temporaria* peut se contracter quasi normalement pendant 30 à 50 secondes. Nous pouvons donc choisir des conditions qui éliminent de nos bilans les réactions de la glycolyse et des oxydations : il suffit pour cela d'empoisonner le muscle par l'iodoacétate et de le placer en atmosphère d'azote.

Notre système est maintenant réduit aux réactions qui surviennent durant la contraction et qui en sont à l'origine directe. L'existence et la nature de ces réactions ont fait l'objet de nombreuses controverses, mais nous nous en tiendrons à la théorie classique, pour des raisons qui seront apparentes plus loin.

On admet classiquement l'existence de deux protéines principales, l'actine et la myosine, dont l'interaction avec l'adénosine triphosphate (ATP) produit la contraction. L'énergie de la contraction provient de l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine diphosphate (ADP) et en phosphate inorganique (P_i) :



Cette théorie est basée sur un faisceau d'arguments indirects. La protéine principale de la matrice contractile possède une activité enzymatique qui la rend capable d'hydrolyser l'ATP (ENGELHARDT et LJUBIMOVA, 1939), et cette activité est profondément modifiée par la combinaison

de la myosine avec l'actine. Le muscle extrait au glycérol se raccourcit sous l'action de l'ATP (SZENT-GYÖRGYI, 1951 ; WEBER et PORTZEHL, 1954), et il existe de très nombreuses études sur les interactions des protéines contractiles et de l'ATP *in vitro* qui tendent à démontrer que l'ATP est bien réellement la substance dont l'hydrolyse permet la contraction musculaire.

C'est alors que HILL (1950) lança son célèbre défi aux biochimistes. Rappelant qu'en 1929 la théorie qui attribuait à l'acide lactique le rôle principal dans la contraction musculaire était basée sur des expériences apparemment aussi fermes que celles qui soutiennent la théorie actuelle de l'ATP, il mit les biochimistes au défi de prouver l'applicabilité au muscle vivant de la théorie qu'ils avaient si bien construite sur des extraits non vivants. Les résultats furent décevants : la plupart des expériences ne purent mettre en évidence une déphosphorylation de l'ATP durant la contraction, ni durant une secousse (MOMMAERTS, 1954, 1955), ni durant un tétanos court ou une contracture par du KCl (FLECKENSTEIN, JANKE, DAVIES et KREBS, 1954 ; FLECKENSTEIN, 1956) ni durant une contracture par l'acétylcholine (FLECKENSTEIN, JANKE et DAVIES, 1956). L'incorporation de P^{32} dans l'ATP n'est pas augmentée à la suite de tétanos répétés (FLECKENSTEIN et JANKE, 1957 ; SACKS et CLELAND, 1960). L'incorporation d' O^{18} n'est pas non plus augmentée par la stimulation, quoiqu'elle augmente pendant la période de restauration qui la suit (FLECKENSTEIN, GERLACH, JANKE et MARMIER, 1960). Les variations de l'absorption des UV par la diphosphopyridine nucléotide semblait montrer, par une voie indirecte, que la quantité d'ADP produite durant la contraction était beaucoup plus faible que celle d'ATP théoriquement hydrolysée (CHANCE et CONNELLY, 1957). Bien plus, une série de travaux tendait à prouver que la contraction s'accompagnait d'une autre réaction que la déphosphorylation de l'ATP. GOODALL (1957) prétendit que la carnosine phosphate était le donneur d'énergie, ce qui fut infirmé par CAIN et coll. (1958) qui présentèrent la candidature d'un X-P hypothétique (DAVIES et coll. 1959). Quelques auteurs, pourtant, avaient signalé une déphosphorylation de l'ATP après une contraction de courte durée : à la suite d'une contracture à l'acétylcholine (LANGE, 1954, 1955), d'une secousse unique (WĄJZER, WEBER, LERIQUE et NEKHOROCHEFF, 1956) ou d'un tétanos de 0,5 sec (WĄJZER, NEKHOROCHEFF et DONDON, 1958) ; mais ces résultats ne soutenaient pas pour autant la théorie classique, parce que ces auteurs observaient que l'ATP était non seulement déphosphorylé, mais encore désaminé, de sorte que le produit final de la dégradation de l'ATP était l'inosine monophosphate. L'inter-

prétation de ces expériences n'est pas très claire, parce que, jusqu'alors, on n'avait jamais rencontré une désamination de l'ATP, sinon dans des muscles en état avancé de fatigue ou de rigor.

Il est possible d'expliquer dans le cadre de la théorie classique, que l'ATP ne semble pas varier au cours d'une contraction, si l'on admet que l'ATP hydrolysé pendant l'activité contractile est très rapidement resynthétisé aux dépens de la phosphorylcréatine (PC), qui serait dégradée en créatine libre (C_L) et en phosphate inorganique (P_i) suivant la réaction de LOHMANN (1934) :



Cette hypothèse est soutenue par trois ordres d'arguments.

a) L'enzyme qui catalyse la réaction de LOHMANN, la créatine phosphoryl-transférase, est extrêmement active. Son activité molaire dans le sens de la synthèse d'ATP peut atteindre 150.000 moles d'ATP/mole d'enzyme/mn (KUBY et coll., 1954). KUBY a estimé que tout l'ATP du muscle de lapin (4 micromoles/g) peut être resynthétisé en 30 milli-secondes, et que toute la PC (20 micromoles/g) pourrait être utilisée via l'ATP en 0,15 sec. La vitesse de resynthèse de l'ATP est beaucoup plus grande que sa vitesse d'utilisation, qui ne dépasse sans doute pas 5 micromoles/g par seconde (muscle de lapin à 37°C). L'activité de cet enzyme est donc suffisamment élevée pour assurer *in vivo* l'équilibre entre PC et ATP.

b) De nombreux auteurs observent effectivement que la stimulation abaisse le taux de PC (NACHMANSOHN, 1929 ; LUNDGAARD, 1930 ; FLECKENSTEIN, 1956 ; FLECKENSTEIN et coll., 1953, 1960, 1961 ; CARLSON et SIGER, 1960 ; CARLSON et coll., 1963 ; MOMMAERTS et coll., 1962 ; MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963). Cependant, si la durée de stimulation est inférieure à 1 ou 2 sec, la diminution de PC est très faible et ne peut aisément être démontrée (cfr 3^e partie, chapitre I) : dans ces conditions, FLECKENSTEIN et coll. (1954) et MOMMAERTS (1954, 1955) ne décèlent aucune variation de PC. Récemment encore, MOMMAERTS ne détecte une variation de PC que dans certains cas lorsque la durée de stimulation est courte : des tétanos de 0,4 sec entraînent une hydrolyse de PC si le sartorius utilisé provient d'une grenouille d'hiver, mais n'affectent pas la PC si le sartorius provient d'une grenouille d'été (MOMMAERTS, SERAYDARIAN et WALLNER, 1963) ; le sartorius de tortue consomme de la PC à la suite d'une secousse, mais le rectus femoris du même animal n'hydrolyse pas de PC durant une secousse (MOM-

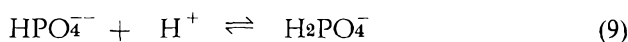
MAERTS, OLMSTED, SERAYDARIAN et WALLNER, 1963). S'il se pourrait que les tout premiers instants de la contraction n'impliquent pas de consommation de PC, il est certain toutefois qu'une stimulation de plus de 1 à 2 sec entraîne une diminution de la PC.

c) DAVIES a observé qu'il est possible de bloquer la créatine phosphoryltransférase avec du 1 fluoro 2-4 dinitrobenzène. La stimulation du muscle intoxiqué n'influence plus le taux de PC, mais abaisse le taux d'ATP (CAIN, INFANTE et DAVIES, 1962 ; CAIN et DAVIES, 1962 ; INFANTE et DAVIES, 1962). Ces expériences très importantes démontrent à la fois les deux aspects les plus controversés de la théorie classique, à savoir, que l'ATP est effectivement hydrolysé pendant la contraction (réaction 6) et qu'il est resynthétisé rapidement aux dépens de la PC (réaction 7).

Le résultat net de la combinaison des réactions 6 et 7 est une hydrolyse de PC :



La chaleur d'hydrolyse de la PC (réaction 8) serait de -11 kcal/mole suivant MEYERHOF, SCHULZ et SCHUSTER (1937), mais les estimations plus récentes de GELLERT et STURTEVANT (1960) ne donnent que $-9,0$ kcal/mole (pH 8 et 25°C). Il est difficile d'estimer les conditions ambiantes de l'hydrolyse de la PC dans le muscle vivant. Selon CARLSON et SIGER (1960), il faut réduire la valeur donnée par GELLERT et STURTEVANT à pH 6,9 et 0°C , en tenant compte uniquement de la chaleur d'ionisation de la réaction :



qui à 0°C et à force ionique 0,7 serait de $+7,6$ kcal/mole, suivant les équations de BERNHARD (1956). L'absorption de 0,5 mole d'ions H^+ qui accompagne l'hydrolyse d'une mole de PC entraîne une chaleur de neutralisation de $-3,8$ kcal/mole et la chaleur totale d'hydrolyse de la PC serait de $-12,8$ kcal/mole. Cette valeur ne tient pas compte des chaleurs de neutralisation dues aux mélanges tampons des liquides musculaires, que ces auteurs évaluent de $+3,2$ à $+1,3$ kcal/mole. Selon une autre estimation, due à DISTÈCHE (communication personnelle), il faut ajouter à l'enthalpie d'hydrolyse de la PC mesurée par GELLERT et STURTEVANT une chaleur d'ionisation de $+3,1$ kcal/mole due à l'ionisation du groupe phosphate libéré par l'hydrolyse, et $-3,35$ kcal/mole due à la neutralisation de 0,5 mole d'équivalent H^+ formé ; le total est alors de $-8,7$ kcal/mole. Cette dernière estimation serait

toutefois trop faible car elle est obtenue en estimant comme BERNHARD (1956) que 10 % des ions H^+ formés se combinent en bicarbonates, alors que selon DISTÈCHE au moins 30 % des ions H^+ se recombinaient en bicarbonates. La correction est cependant faible, et la chaleur d'hydrolyse passe à $-9,05$ kcal/mole. GELLERT (cité par CARLSON et SIGER, 1960) estime la chaleur d'hydrolyse de la PC *in vivo* à $-9,65$ kcal/mole. Quant à la variation d'énergie libre de la réaction 8 elle ne semble connue que par rapport à celle de l'hydrolyse de l'ATP en étudiant la réaction 7 de LOHMANN. Selon LEHMANN (1936) l'énergie libre de la réaction 8 serait de 1,1 kcal/mole supérieure à celle de l'hydrolyse de l'ATP à pH 7,7. Selon BURTON (1958), l'énergie libre libérée par l'hydrolyse de l'ATP dans les conditions qui règnent à l'intérieur de la cellule serait de -11 à -12 kcal/mole, peut-être même de $-12,5$ kcal/mole. On en conclurait que la variation d'énergie libre de l'hydrolyse de la PC serait de -12 à $-13,5$ kcal/mole. Mais ces estimations sont fort incertaines, car la variation d'énergie libre dépend des concentrations en Mg et en nucléotides qui influencent fort l'équilibre de la réaction de LOHMANN. Signalons en terminant que les propriétés de la PC ont fait l'objet d'une excellente étude de ENNOR et MORRISON (1958).

CHAPITRE IV

POSITION DU PROBLÈME

L'hydrolyse de la PC, et éventuellement de l'ATP, paraissent être les seules réactions qui couvrent les dépenses énergétiques du muscle, à condition de bloquer la glycolyse par l'iodoacétate et d'empêcher les oxydations par l'anaérobiose.

L'équation 1 se réduit à :

$$Q + W = -n_{PC} \Delta H_{PC} - n_{ATP} \Delta H_{ATP} \quad (10)$$

où ΔH_{PC} et ΔH_{ATP} représentent respectivement les chaleurs d'hydrolyse de la PC et de l'ATP.

Le problème est de vérifier expérimentalement cette équation. On voit que, essentiellement, il faut déterminer n_{PC} et n_{ATP} , c'est-à-dire la consommation de PC et d'ATP, dans trois conditions différentes. Dans la première, on s'efforce d'annuler W : on tétanise le muscle isométriquement. Dans la deuxième, on permet au muscle de fournir un travail positif, en le raccourcissant pendant le tétanos. Dans la troisième condition, on étire le muscle de force durant le tétanos, de sorte que le muscle reçoit du travail négatif. Dans nos expériences nous mesurons directement les termes n_{PC} , n_{ATP} et W . La grandeur de Q est estimée d'après les données de la littérature. Dans les cas où $n_{ATP} = 0$, qui sont les plus nombreux, on peut estimer un ΔH_{PC} apparent, qui doit naturellement correspondre à l'enthalpie d'hydrolyse théorique, estimée d'après les mesures *in vitro*.

DEUXIÈME PARTIE



LES TECHNIQUES ET LES MÉTHODES

CHAPITRE I

LE MATÉRIEL PHYSIOLOGIQUE

LES grenouilles, des *R. temporaria* de sexe mâle, sont réparties en groupes de six individus dans des boîtes en plastique dont le fond est recouvert d'eau. Elles sont placées dans une chambre froide et gardées à une température de 5°C, pendant au moins quatre jours. Dans quelques cas les grenouilles utilisées avaient été conservées dans un grand aquarium où coulait l'eau de distribution (environ 14°C). Des expériences où nous avons employé simultanément les grenouilles gardées suivant les deux méthodes n'ont révélé aucune différence dans le métabolisme de la phosphorylcréatine (PC) des deux lots. Aussi croyons-nous que ce facteur n'a guère d'importance dans le cas de *R. temporaria*. Il n'en est pas de même dans le cas de *R. pipiens* (MOMMAERTS et coll., 1963 a). On prépare en général six grenouilles simultanément. On injecte pour commencer 0,2 cc de D-tubo-curarine SQUIBB⁺ dans le sac lymphatique ventral, et les animaux sont placés dans la chambre froide. Une heure plus tard, on détruit la moelle avec un stylet, et on dissèque les muscles *sartorius*. On mesure la longueur des muscles *in situ* suivant la convention de HILL (1952) en plaçant les cuisses en abduction à 90°. Cette longueur est la longueur de référence l_0 . On lie un fil de coton sur les tendons distaux des *sartorius*, en faisant une petite boucle qui servira à accrocher le muscle. Mais on garde les tendons proximaux attachés à l'os coxal. On numérote les grenouilles successives en faisant des nœuds sur le fil du *sartorius* droit. De cette façon, il est aisé de connaître l'ordre dans lequel on a disséqué les animaux, et de reconnaître le muscle droit. On place la paire de muscles dans une solution de RINGER où barbote un courant d'oxygène. La composition du RINGER est la suivante (HILL et KUPALOV, 1930) : NaCl : 113, 5 mM ; KCl : 2,0 mM ; CaCl₂ : 1,8 mM ; tampon phosphate : 1,9mM pH : 7,3. Le phosphate est fourni sous forme

(+ fourni gracieusement par la firme Labaz, que nous remercions vivement).

d'une solution contenant 13,3 g/l de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et 3,5 g/l de NaH_2PO_4 anhydre, à raison de 2 ml pour 100 ml de solution. Dans beaucoup d'expériences, nous avons ajouté 5 mM de lactate au RINGER. Le lactate stimule les oxydations, et a probablement un effet favorable sur la réparation du muscle. Nous n'avons toutefois observé aucun effet attribuable à la présence de lactate. Les muscles disséqués reposent pendant une nuit dans le RINGER en chambre froide à 5°C. Le lendemain matin de la dissection, une heure avant l'expérience, on place les muscles successivement dans du RINGER additionné d'iodoacétate de sodium à concentration finale de 0,4 mM. Puis la paire de muscles est placée sur les électrodes après que l'on ait légèrement essuyé l'excès d'eau qui reste à leur surface. Suivant un plan randomisé, établi avant l'expérience, on place le muscle droit soit sur la rangée d'électrodes n° 1, soit sur la rangée d'électrodes n° 2. On accroche les tendons distaux à un fil d'acier relié au tensiomètre, et on fixe l'os coxal avec une pince en aluminium. Les muscles doivent reposer bien à plat sur les électrodes (cfr. fig. 1) On introduit les muscles dans la chambre thermostatée et on laisse

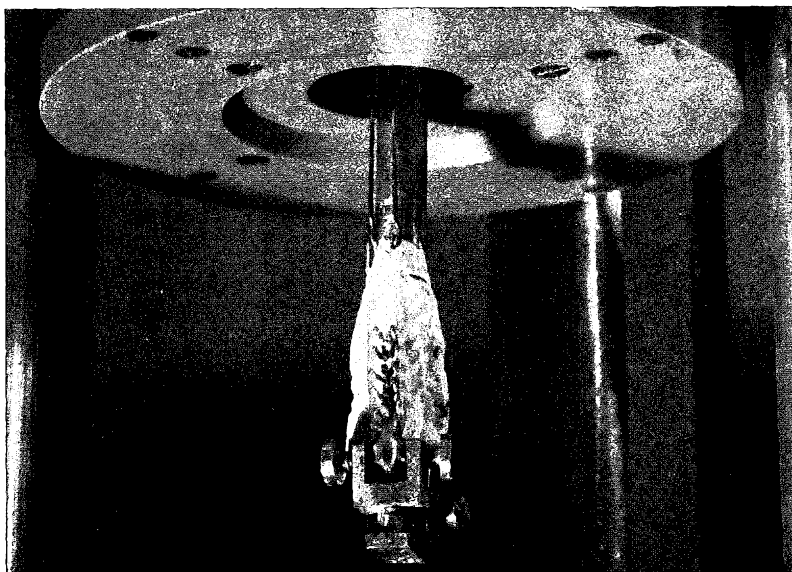


FIG. 1. Photographie d'une paire de muscles *sartorius* montée sur les multiélectrodes. On aperçoit au bas de la photo l'os coxal fixé dans la pince en aluminium. Au-dessus, la paire de muscles posés sur la double rangée d'électrodes. En haut, l'ouverture inférieure de la chambre thermostatée.

s'équilibrer la température durant 10 minutes dans un courant d'azote refroidi. On stimule alors les muscles suivant le programme préétabli et on les congèle en les immergeant dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide. Les muscles congelés sont rapidement enlevés des électrodes et jetés dans de l'azote liquide. A partir de ce moment on traite systématiquement les muscles dans l'ordre 1 et 2 des électrodes, et les paires dans l'ordre de dissection. Cette organisation simplifie les manipulations en les stéréotypant, et diminue les risques d'erreurs. Il n'est pas possible que cet ordre introduise un biais, puisque l'attribution des traitements aux positions 1 et 2 est parfaitement randomisée. Les muscles sont rapidement pesés et introduits dans une cartouche en acier inoxydable refroidie par l'azote liquide. On procède alors à la préparation des extraits et aux dosages de la créatine libre, de la créatine totale et de l'ATP.

CHAPITRE II

LES DISPOSITIFS ÉLECTRO-MÉCANIQUES

LA figure 2 présente une vue générale de notre installation. On y remarque à l'avant-plan le système de congélation rapide du muscle, similaire à celui de MOMMAERTS et SCHILLING (1955), et l'ergomètre pneumatique. De bas en haut, on voit successivement le piston du congélateur rapide qui est fixé en dessous de la table, puis le disque mobile sur les tiges latérales au-dessus de la table, le petit plateau qui doit recevoir le vase DEWAR (à l'avant-plan à droite) qui contient le liquide réfrigérant, les électrodes porte-muscles, au-dessus desquelles on aperçoit un gros cylindre, la chambre thermostatée ; au-dessus de la chambre thermostatée, on aperçoit le cylindre de l'ergomètre pneumatique avec les tensiomètres, et couronnant le tout, le cylindre régulateur de vitesse de l'ergomètre, avec à droite la vanne à huile qui permet de régler la vitesse du mouvement de l'ergomètre, et à gauche la vanne électromagnétique qui commande l'admission du gaz comprimé dans le maître-cylindre de l'ergomètre. Au deuxième plan, on aperçoit en dessous de la table, à gauche, la pompe qui fait circuler l'eau qui refroidit la chambre thermostatée, à droite, le réservoir à gaz avec sa vanne de sûreté, et à l'extrême-droite, les bouteilles d'azote comprimé. Toujours au deuxième plan, mais sur la table, on voit à gauche le réservoir qui contient l'eau glacée et à droite un châssis qui comporte de bas en haut, le système de cames mécaniques pour la programmation des expériences, le tableau de commande principal de la stimulation, de l'ergomètre, de la pompe circulante et du congélateur rapide, puis le stimulateur digital et l'enregistreur à double piste. Nous allons maintenant décrire ces différents éléments d'une façon un peu plus détaillée.

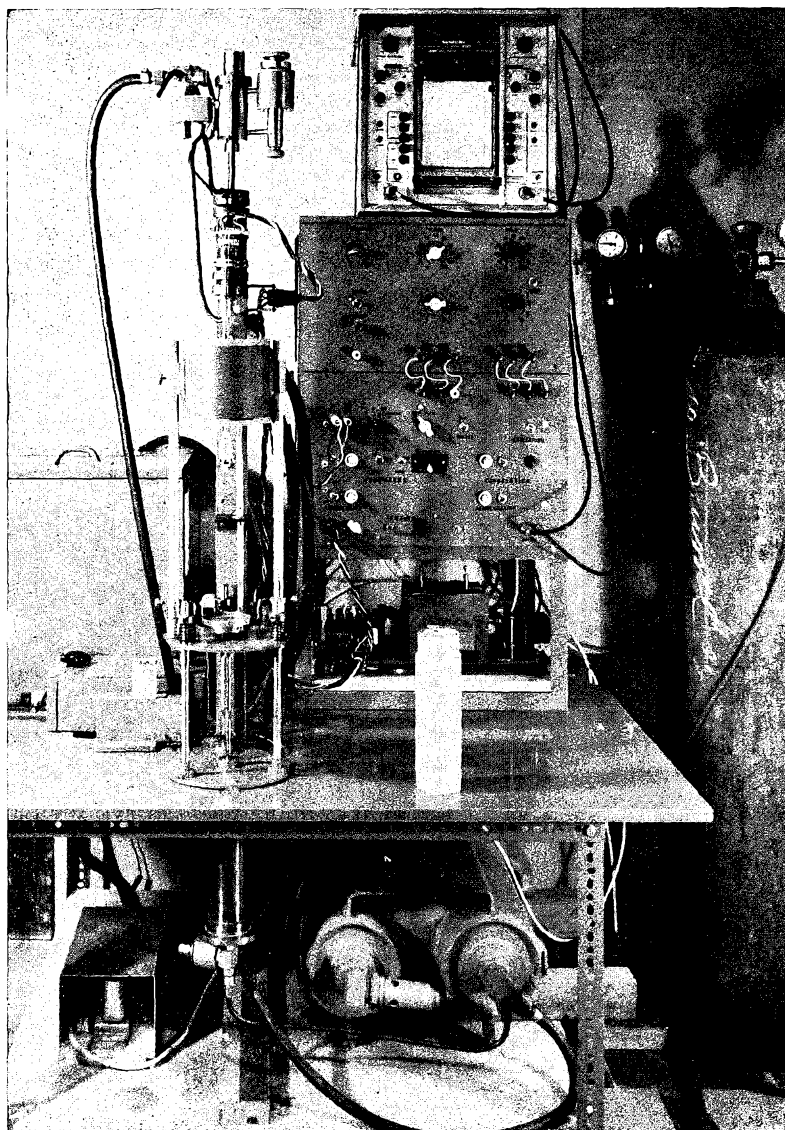


FIG. 2. Photographie de l'ensemble de nos dispositifs électro-mécaniques, comportant le congélateur rapide, l'ergomètre pneumatique et les tensiomètres, les électrodes et la chambre thermostatée, le stimulateur digital et les dispositifs électroniques auxiliaires, l'enregistreur à double canal.

§ 1. Le stimulateur digital.

Il est très important que le nombre de stimulus que reçoit le muscle soit parfaitement contrôlé. La plupart des stimulateurs contrôlent la durée pendant laquelle des impulsions à fréquence constante peuvent passer. Il est généralement difficile de maintenir le nombre de stimulus constant avec un tel type d'appareil, parce que le contrôle de la durée est continu, et qu'une légère modification de la position du potentiomètre de contrôle suffit à ajouter ou à retrancher un stimulus. Il faut alors vérifier à l'oscilloscope le nombre de stimulus avant d'exciter le muscle. Nous avons préféré construire un stimulateur transistorisé qui compterait le nombre de stimulus délivré. Un multivibrateur à transistors engendre une onde carrée qui fournit la fréquence de la stimulation. Un jeu de capacités fixes permet de choisir la fréquence de 100, 50, 24, 12, 5, 2, 1 ou 0,5 par seconde. Nous avons utilisé la fréquence de 24/sec pour toutes les expériences de ce travail. A la température de 2°C, une telle fréquence assure un téтанos bien fusionné. L'onde carrée du multivibrateur passe à travers une porte dont l'ouverture est contrôlée par la section de comptage, et attaque une bascule, qui oscille à la même fréquence que le multivibrateur. Cette bascule actionne via un transistor de puissance un relais polarisé rapide « Carpenter ». Dans une position, ce relais connecte à une pile de 30 à 60 V une capacité de 0,5 microfarad en série avec une résistance de 4.700 ohms ; dans l'autre position, le relais connecte ensemble les extrémités libres de la capacité et de la résistance. Les charges et décharges alternées de capacité sont appliquées au muscle à travers une résistance-série de 47.000 ohms. Outre la bascule d'excitation, l'onde du multivibrateur attaque également l'unité de comptage. Cette unité est composée de deux décades qui comptent les unités et les dizaines. Chaque décade comprend quatre bascules munies d'une contre-réaction qui n'autorise que 10 positions différentes des voltages des collecteurs. Deux combineurs à 10 positions (un pour les unités et un pour les dizaines) permettent de relier à travers des diodes les différents collecteurs, de telle sorte qu'il apparaisse à la sortie une pointe transitoire lorsque le nombre de stimulus prédéterminé est atteint. Un deuxième groupe de combineurs identiques est placé en parallèle sur le premier.

Deux nombres indépendants peuvent être choisis entre 0 et 99. Le plus petit des deux détermine le moment où se déclenche le phénomène mécanique : la pointe transitoire qui lui correspond culbute une bascule qui actionne un relais rapide Siemens. Ce relais modifie le courant dans

la vanne électro-magnétique qui contrôle l'entrée du gaz comprimé dans l'ergomètre pneumatique, ce qui provoque le raccourcissement ou l'allongement des muscles suivant la position d'un inverseur. Le plus grand des nombres choisis détermine une seconde pointe transitoire qui culbute une bascule qui ferme la porte d'admission des ondes provenant du multivibrateur. La fermeture de la porte arrête la stimulation des muscles et le comptage des stimulus. Un inverseur permet de renverser les bascules d'ergomètre et de porte, de remettre le compteur au zéro et de couper la connexion entre le multivibrateur d'une part, et le stimulateur et le compteur d'autre part. Le rétablissement de cette connexion provoque un nouveau cycle de tétanisation avec changement de longueur.

§ 2. L'ergomètre pneumatique.

Les variations de longueur du muscle sont imposées à l'aide d'un ergomètre pneumatique. L'ergomètre classique de LEVIN et WYMAN (1927) n'est pas très commode si l'on veut imposer au muscle des mouvements cycliques. C'est pourquoi nous avons construit un appareil basé sur un principe analogue à celui qu'utilisait DISTÈCHE (1960), et comme beaucoup d'éléments en sont originaux, et que son utilisation est très pratique, nous croyons utile de décrire l'ergomètre avec quelques détails. La figure 3 présente une vue générale de l'appareil, et la figure 4 en est une coupe longitudinale. L'ergomètre présente deux parties distinctes. Le cylindre inférieur (1) où on admet le gaz comprimé et qui constitue l'ergomètre proprement dit ; et un cylindre supérieur (10) muni d'une chambre latérale (13), tous deux remplis d'huile, qui servent à contrôler la vitesse du mouvement de l'ergomètre. Le cylindre inférieur (1) contient un piston en aluminium en forme de H (3). Ce piston est percé d'un trou central dans lequel passe la tige creuse (2). Cette tige traverse la paroi du cylindre par une fente dont le profil est dessiné à gauche du cylindre (1). C'est dans cette tige qu'on fixe le support des tensiomètres connectés aux muscles. La course utile du piston est de 2,5 cm. Deux paires de bagues (6) qui se vissent sur la paroi externe fileté du cylindre (1), permettent de régler l'amplitude du mouvement en limitant plus ou moins l'excursion de la tige (2). Deux orifices permettent d'aboucher la chambre supérieure (4) et la chambre inférieure (5) à deux des voies d'une vanne électromagnétique inverseuse Asco à quatre voies. Les deux autres voies sont connectées à un réservoir qui contient de l'azote sous pression de 4 à 6 kg/cm² et à l'air libre. Lorsque aucun courant ne traverse la vanne, le réservoir sous pression est con-

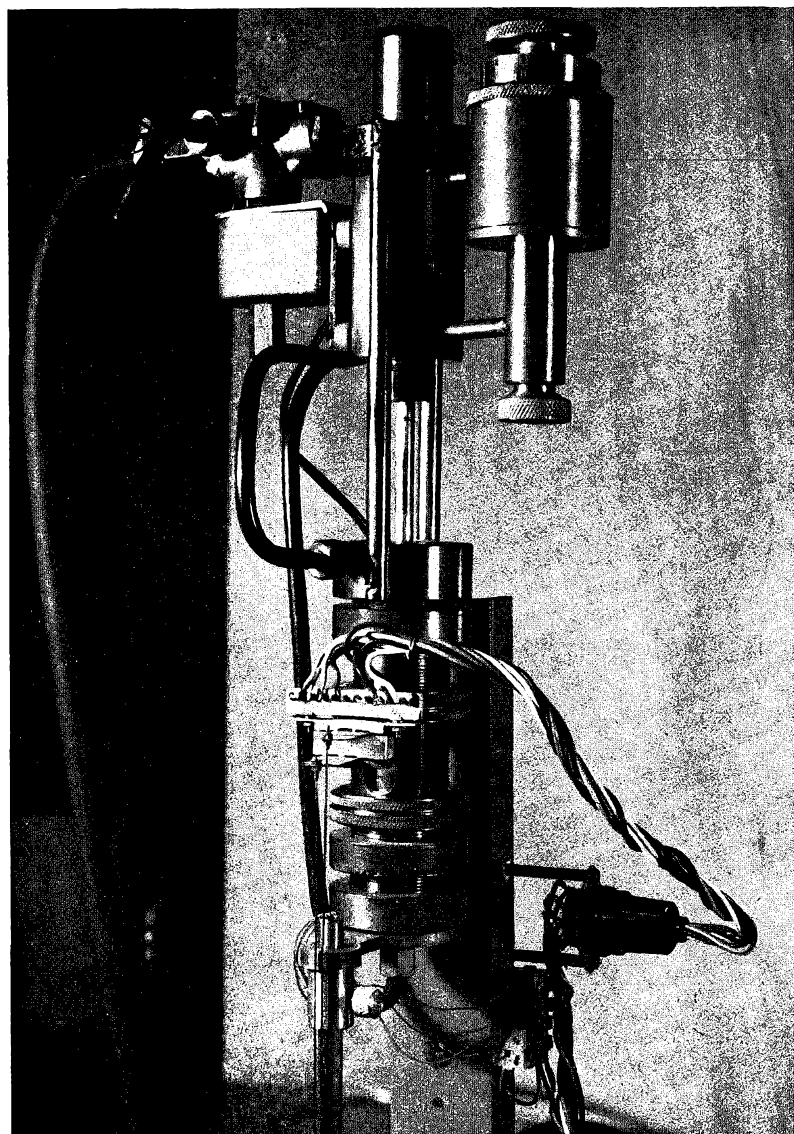


FIG. 3. Photographie de l'ergomètre pneumatique et des tensiomètres.

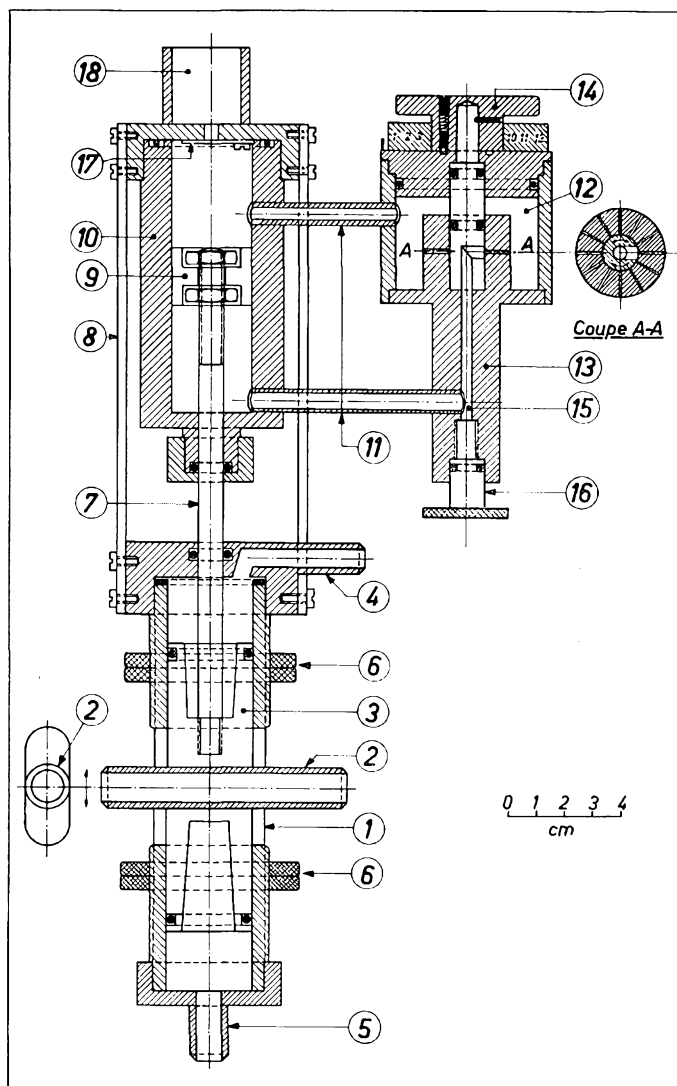


FIG. 4. Coupe demi-schématique de l'ergomètre pneumatique. Explication dans le texte.

necté à la chambre inférieure (5), et la chambre supérieure est reliée à l'air libre. Le piston est poussé vers le haut, et les muscles sont étirés à leur plus grande longueur. Si on admet du courant dans la vanne, la chambre inférieure est reliée à l'air libre et la chambre supérieure au réservoir sous pression. Le piston est alors repoussé vers le bas, et les muscles sont raccourcis. Le courant dans la vanne peut être contrôlé soit manuellement par un interrupteur, soit par le stimulateur digital au moyen du relais rapide Siemens que nous avons décrit au paragraphe 1. Il est ainsi très facile d'allonger ou de raccourcir les muscles à n'importe quel rythme.

La vitesse du mouvement et sa constance sont contrôlées par un frein à huile d'un modèle original. Le piston (3) est relié par l'axe (7) à un piston (9) qui glisse dans un cylindre (10) rempli d'huile (SAE 10), qui est fixé au cylindre (1) par deux tringles (8). Le mouvement du piston (9) force l'huile à s'écouler par les canaux (11) et (15) et la chambre (12). Le canal (15) aboutit dans la carotte d'un robinet (14), et se coude horizontalement. Au niveau A..A le bloc (13) est percé de douze canalicules disposés suivant les rayons d'une roue. Les canalicules ont 1 cm de long. Leur diamètre augmente régulièrement de 0,1 mm depuis le plus étroit de 0,4 mm jusqu'au plus large de 1,5 mm. Le robinet (14) est accessible de l'extérieur et en tournant sa tête, on peut amener un quelconque des canalicules en face de la portion horizontale du canal (15). La position exacte est assurée par une petite bille enfermée dans la tête, et qui, repoussée par un ressort, se cale dans une petite dépression. La vitesse avec laquelle l'huile traverse le canalicule dépend du diamètre, approximativement suivant la loi de POISEUILLE. Un avantage décisif de ce régulateur de vitesse sur le modèle à pointeau classique, réside en ce que la vitesse est parfaitement définie pour une position donnée du robinet. De plus la vitesse ne dépend pas du sens dans lequel coule l'huile, et on peut étirer ou raccourcir les muscles à la même vitesse. Enfin la vitesse est constante pendant toute la durée du mouvement. Sous une pression de 4 kg/cm² et une surface du piston (3) de 6,2 cm², l'éventail des vitesses dont on dispose s'étend de 0,23 cm/sec à 5,4 cm/sec. Il est possible d'obtenir des vitesses plus élevées en augmentant la pression ou en diminuant la viscosité de l'huile. Celle-ci peut être facilement vidangée par la bonde (16).

Comme l'huile a tendance à s'écouler le long de l'axe (7) lors de chaque mouvement, un peu d'air pourrait s'introduire dans le cylindre (10), provoquant un soubressaut au début du mouvement. Pour pallier ce défaut, le remplissage automatique du cylindre est assuré par la valve

(17) : c'est une simple lame obturant un trou qui fait communiquer le cylindre avec un réservoir d'huile auxiliaire (18). Cette vanne s'ouvre à chaque mouvement du piston (9) vers le bas, permettant éventuellement une arrivée d'huile supplémentaire. L'étanchéité des cylindres et des pistons est assurée par des « O-rings », marqués en coupe par des cercles noirs sur le dessin 4.

§ 3. Mesure et enregistrement de la tension.

L'extrémité distale de chaque muscle est accrochée à un fil d'acier recourbé, comme on peut le voir à la figure 1. Chaque fil d'un diamètre de 0,6 mm passe à travers le toit du thermostat et est fixé à la lame du tensiomètre par l'intermédiaire d'un axe fileté. Deux écrous vissés sur ce petit axe sont serrés de part et d'autre de la lame du tensiomètre : ils permettent de régler indépendamment la longueur de chaque muscle, avec un jeu de ± 3 mm. Cette fixation et le double tensiomètre s'aperçoivent à la figure 3, cachant en partie le cylindre inférieur de l'ergomètre. La lame du tensiomètre porte quatre jauges de contrainte, deux collées à la face supérieure, et deux à la face inférieure, près du point d'encastrement de la lame. Le support des lames est fixé dans la tige creuse (2) de l'ergomètre. Les quatre jauges (Philips PR9211 de 120 ohms de résistance) sont montées en pont de Wheatstone. Deux points opposés du pont sont reliés à une batterie de 2,4 volts. Une flexion de la lame provoque une variation de courant dans le pont, et une différence de potentiel entre les deux autres points du pont apparaît. Cette différence de potentiel est proportionnelle à la flexion de la lame, et par conséquent, à la tension que développe le muscle. La théorie de cette action est expliquée en détail dans AUBERT (1956 a, p. 51). Le signal est envoyé dans un préamplificateur différentiel à transistors, et est enregistré par un enregistreur Sanborn à deux pistes. La sensibilité du tensiomètre est mesurée avant et après chaque expérience, en suspendant un poids de 50 g à la place du muscle, et en enregistrant le signal correspondant.

Il est important d'estimer le travail élastique que doit fournir le muscle pour déformer le tensiomètre. Il convient naturellement de mesurer la rigidité de tout le système d'attache, y compris de la boucle en fil de coton liée à l'extrémité supérieure du muscle. La déformation atteint 0,3 mm pour 100 g. Le travail élastique correspondant est donc de 1,5 gcm, ce qui pour un muscle de 125 mg représente un travail de 0,3 mcal/g.

§ 4. Multiélectrodes et chambre thermostatée.

Une tige creuse en laiton (n° 25 de la figure 5) est solidement fixée à sa partie supérieure (voyez la tige qui se détache à l'avant-plan au-dessus du bord inférieur de la figure 3 et représentée sur le diagramme 5 au n° 2), et porte à sa partie inférieure une pièce en méthacrylate (26, figure 5) dans laquelle sont implantées deux rangées de 6 électrodes en platine (voir figure 1). La rangée de gauche définit la position 1, celle de droite, la position 2. Ces électrodes en forme de L (27, figure 5) sont soudées aux quatre fils d'excitation. Ces fils amenés au-dehors par la tige creuse, vont à un relais qui connecte automatiquement les électrodes du muscle à exciter au stimulateur et court-circuite à la terre en même temps les électrodes de l'autre muscle. La pièce en méthacrylate et les bases des électrodes sont enrobées dans de l'Araldite 123B avec le durcisseur 953B (CIBA). L'os coxal de la paire de muscles est attaché dans la pince 29 (figure 5 ; voyez aussi la figure 1). Le système des électrodes permet de stimuler séparément chaque muscle et résiste très bien au violent choc thermique que constitue la plongée brutale dans de l'isopentane refroidi à -160°C . A la longue pourtant l'araldite se ramollit et se détache, et il est nécessaire de recouvrir les électrodes avec une nouvelle couche d'Araldite après 200 à 300 expériences.

La chambre thermostatée (3, figure 5) comporte d'abord une chambre cylindrique en cuivre à double paroi (22, figure 5). L'espace cylindrique interne reçoit le système muscles-électrodes, et est fermé à sa partie supérieure par un disque de cuivre percé de trois trous : un trou large qui laisse passer la tige creuse (2) du porte-électrodes, et deux trous plus petits qui livrent passage aux deux fils d'acier qui connectent les muscles aux tensiomètres ; cet espace est fermé à sa partie inférieure par un tiroir amovible (24). L'espace compris entre les deux parois de cuivre est ouvert vers l'extérieur par deux tuyaux (18 et 19) qui conduisent l'eau glacée, qui maintient la température du thermostat constante. Un tuyau plus mince en laiton (17) amène de l'azote, qui est refroidi en passant dans la spirale (23) avant d'atteindre la chambre interne et de baigner les muscles. La chambre en cuivre est enfouie dans un cylindre en chlorure de polyvinyle (« Covidur ») (20), fermé à ses deux extrémités par des disques également en « Covidur ». L'espace entre le cuivre et le « Covidur » est rempli de tournures de matière plastique (21). Le disque inférieur de « Covidur » est creusé d'une logette circulaire dans laquelle s'encastre le bord supérieur du vase Dewar qui contient le liquide réfrigérant (5). — L'eau glacée qui refroidit la chambre thermostatée provient

d'un réservoir de 20 litres rempli d'un tiers d'eau et de deux tiers de glace. Elle est mise en circulation par une pompe centrifuge. La température à l'intérieur du thermostat est maintenue entre 1,5 et 2°C.

La chambre thermostatée (3, figure 5) est attachée par trois montants (4) au plateau mobile du congélateur (8), qui peut glisser verticalement. En position « haut », la chambre se place au-dessus des électrodes qui sont alors accessibles (cfr figure 1) ; en position « bas », la chambre recouvre les électrodes et les muscles.

§ 5. Le congélateur rapide.

Les méthodes chimiques que nous utilisons pour détecter les variations de PC ou d'ATP du muscle à la suite de divers traitements exigent la destruction du muscle et la solubilisation de ses substrats. Il y a là naturellement un problème très difficile. Il est impératif de fixer l'image chimique du muscle à l'instant choisi par l'expérimentateur : pour cela, il faut arrêter aussi rapidement que possible les réactions chimiques qui sont toujours très actives dans le muscle, comme le démontrent les méthodes isotopiques (FLECKENSTEIN, 1960). Il existe trois méthodes pour détruire le muscle. La première, la plus ancienne, est de jeter le muscle dans un mortier refroidi à -20°C contenant un peu d'acide perchlorique congelé et de broyer le muscle au pilon. Bien appliquée, cette méthode donne de bons résultats reproductibles, mais elle nécessite le démontage du muscle et des manipulations qui risquent toujours d'entraîner une excitation mécanique incontrôlée ; de plus il y faut un certain tour de main, et elle exige assez bien de temps. La deuxième méthode est l'ingénieux moulin de LANGE et de NEKHOROCHEFF. Le muscle est placé dans une chambre spéciale, où on peut le stimuler et enregistrer la tension ; à un signal déterminé, un couteau tournoyant est poussé à grande vitesse dans la chambre, et hache menu le muscle à la manière d'un mixer ; en même temps une seringue injecte de l'acide perchlorique. NEKHOROCHEFF estime que la destruction et la dénaturation du muscle doivent être complètes en 0,5 seconde. Cette méthode donne des résultats différents des deux autres car ces auteurs observent une déphosphorylation et une désamination de l'ATP dans ces conditions (cfr 1^{re} partie, chapitre III). Nous avons choisi la troisième méthode, parce que c'est celle qui stoppe le plus rapidement possible les réactions musculaires.

L'idée centrale de cette méthode est de figer le muscle en le refroidissant très rapidement. La première impulsion est de plonger le muscle

dans de l'air liquide, de manière à obtenir un large gradient thermique entre le muscle et le liquide réfrigérant. Mais, comme EMBDEN et LAWACZECK (1922) l'ont montré, la rapidité de congélation est toujours trop faible, et les muscles congelés sont toujours plus ou moins raccourcis : le froid agit donc comme un stimulus intense, mais indéterminé. La raison en est qu'il se forme une couche de gaz isolante entre le muscle et l'air liquide qui retarde appréciablement la congélation du muscle. On peut éviter cet effet en utilisant un liquide réfrigérant refroidi bien au-dessous de son point d'ébullition. MOMMAERTS et SCHILLING (1955) préconisent de refroidir par l'air liquide le propane qui bout à -40°C . Plus tard cependant, MOMMAERTS a préféré utiliser l'isopentane qui a le grand avantage de bouillir à $+28^{\circ}\text{C}$ et donc d'être liquide à la température du muscle (2°C). Il devient assez visqueux à basse température et congèle à -160°C , c'est-à-dire qu'on risque facilement de le solidifier lorsqu'on le refroidit avec de l'azote liquide, qui bout à -196°C . Cet inconvénient est cependant fort mineur, surtout quand l'isopentane est d'une pureté suffisante. L'isopentane est assez inerte et n'interfère pas avec les dosages chimiques.

Nous avons construit un appareil pour congeler rapidement le muscle, basé sur le même principe que celui de MOMMAERTS et SCHILLING (1955). Dans cet appareil, le muscle est fixe et un vase de Dewar contenant l'isopentane refroidi est projeté vers lui par la détente de gaz comprimé dans un cylindre, de sorte que le muscle est immergé longitudinalement dans le liquide réfrigérant en 10 msec, et se trouve figé avant d'avoir pu manifester le moindre phénomène mécanique. Comme les deux faces du muscle sont bien dégagées, le refroidissement doit être très rapide. Selon des mesures thermo-électriques de MOMMAERTS, la température de l'intérieur du muscle descend en dessous de -10°C en 0,1 sec.

Notre congélateur rapide est photographié à la figure 2, et dessiné schématiquement à la figure 5. Une potence (1, figure 5) soutient les électrodes et les muscles (2) ainsi que l'ergomètre pneumatique et les tensiomètres, qui ne sont pas représentés sur la figure 5. Fixé à la table (9) le cylindre de laiton (12) contient un piston de « Vespa » (16) d'une course de 17,5 cm. Le piston est relié au plateau mobile (8) par la bielle (14, 15). Le plateau mobile (8) glisse le long des guides (6) ; son mouvement est limité par des butoirs (non représentés) qui garnissent l'extrémité des guides (6). A cause du poids des superstructures, ce plateau repose normalement sur la table (position « bas »). S'il est repoussé vers le haut manuellement ou par le piston, ce plateau accroche la butée (30) et est maintenu en position « haut ». Ce plateau mobile porte

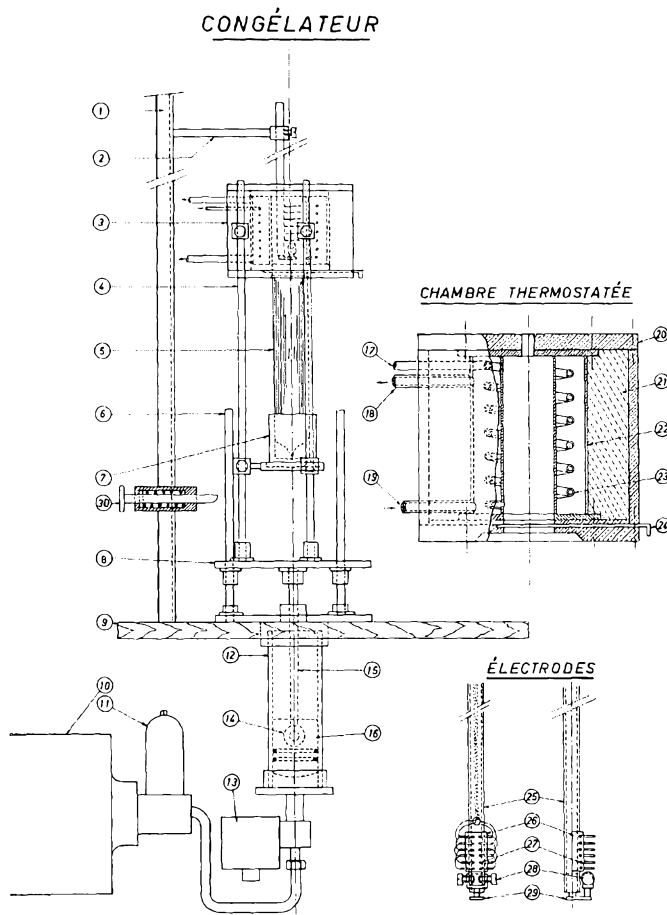


FIG. 5. Diagramme schématique du congélateur rapide. Explications dans le texte.

trois tiges (4) qui soutiennent la chambre thermostatée (3) et qui supportent un plateau plus petit (7) sur lequel est posé le Dewar qui contient le liquide réfrigérant ; l'autre extrémité du Dewar s'encastre dans le disque inférieur de la chambre thermostatée. Dans la figure 5, le système est représenté en position « bas » : la chambre thermostatée entoure les muscles, et le Dewar situé en dessous est séparé des muscles par le tiroir (24). Une vanne électromagnétique Asco à trois voies connecte le cylindre à l'air ambiant, si aucun courant ne la traverse. Dès qu'elle est excitée, la vanne connecte le cylindre au réservoir d'azote sous pression de 4 à 6 kg/cm² (10, muni de la valve de sécurité 11) : l'entrée du gaz

comprimé dans le cylindre propulse le piston, et le Dewar est violemment projeté vers le haut, et y reste à cause de la butée (30). Les muscles sont alors immergés dans l'isopentane, et la chambre thermostatée s'est relevée vers le haut. Il est évident qu'il faut retirer le tiroir (24) avant de procéder à la congélation ; pour éviter toute fausse manœuvre, le circuit d'excitation de la vanne électromagnétique est ouvert par un micro-interrupteur qui ne peut être fermé qu'en retirant le tiroir et en le plaçant dans une fente spécialement aménagée.

§ 6. La programmation des expériences.

Tous les appareils, stimulateur, ergomètre, congélateur ainsi que le déroulement du papier de l'enregistreur peuvent être commandés manuellement. Toutefois, le programme expérimental peut devenir tellement compliqué à réaliser que son exécution manuelle correcte serait fort aléatoire. Ce cas se présente surtout lorsqu'on impose au muscle un certain travail positif (cas des raccourcissements) ou négatif (cas des allongements). Dans ce type d'expérience, un muscle est raccourci ou étiré durant le tétanos ; l'autre muscle est stimulé isométriquement et alternativement aux deux longueurs courte et longue. Comme les deux muscles sont attachés au même ergomètre, il est nécessaire de les stimuler successivement, de sorte qu'un muscle soit activé en même temps que sa longueur change, tandis que l'autre reste au repos. Ce dernier est stimulé entre les variations de longueur, alternativement en position allongée ou raccourcie. Le cycle expérimental complet comporte donc les phases suivantes :

- 1) muscles *A* et *B* en position allongée au départ ;
- 2) le muscle *A* est excité, le muscle *B* reste au repos, et les deux muscles sont raccourcis : dans ces conditions le muscle *A* produit du travail en contraction ;
- 3) le muscle *B* est excité en position raccourcie ;
- 4) les deux muscles au repos sont ramenés à la grande longueur ;
- 5) le muscle *A* est excité, le muscle *B* reste au repos, et les deux muscles sont raccourcis (idem 2) ;
- 6) les deux muscles au repos sont allongés (idem 4) ;
- 7) le muscle *B* est excité en position allongée.

Le programme est semblable, *mutatis mutandis*, lorsqu'on étudie les effets de l'allongement du muscle actif.

Un interrupteur rotatif multiple a permis une automatisation partielle du programme expérimental. Un système de cinq cames entraînées par

un moteur synchrone permet d'actionner cinq interrupteurs suivant un cycle déterminé. La première came déclenche le stimulateur digital quatre fois par cycle, ce qui provoque chaque fois un train de charges et décharges de capacité dont le nombre et la fréquence sont réglés d'avance ; le stimulateur actionne l'ergomètre après un nombre déterminé de stimulus, pour autant que son action ne soit pas bloquée par le jeu des deux dernières comes. La deuxième came remet le compteur d'impulsion au zéro après chaque comptage. La troisième aiguille les stimulus alternativement vers le muscle en position 1 et vers le muscle en position 2 : chaque muscle se contracte donc deux fois par cycle. Les deux dernières comes permettent de bloquer l'ergomètre en position haute ou en position basse. Leur action est double : elles ajustent la longueur du muscle avant la stimulation et, éventuellement, inhibent le signal du stimulateur vers l'ergomètre, de façon à obtenir un tétanos isométrique.

CHAPITRE III

LES DOSAGES CHIMIQUES

§ 1. Préparation des extraits musculaires.

APRÈS la congélation rapide, les muscles sont enlevés des électrodes et jetés dans de l'azote liquide ; ils sont rapidement pesés, broyés dans une cartouche en acier inoxydable et extraits à l'acide perchlorique. Voici le détail de ces opérations.

1. — PESÉE.

Une feuille de « glassine » (LILLY) est pesée sur la balance Mettler H15. Le muscle est posé sur la feuille, et son poids est obtenu par différence. Le muscle est ensuite remis dans l'azote liquide. Il est très important de mener cette pesée très rapidement (en 15 secondes au plus) et de ne manipuler le muscle qu'avec des pincettes préalablement refroidies dans l'azote liquide, de façon à éviter *a*) une décongélation totale ou partielle du muscle, qui conduirait à une hydrolyse rapide de la PC et *b*) une condensation d'eau sur le muscle qui conduirait à surestimer son poids.

2. — BROYAGE.

Le muscle est ensuite introduit dans une cartouche en acier inoxydable, préalablement refroidie à l'azote liquide. Ces cartouches, d'un modèle semblable à celui décrit par SERAYDARIAN et coll. (1961), sont formées d'un corps cylindrique (diamètre interne de 10 mm et longueur de 25 mm) dont le fond est une calotte sphérique et d'un couvercle à visser, également creusé d'une calotte hémisphérique. Une bille en acier de 4 mm de diamètre est déposée à l'intérieur. Après séjour dans l'azote liquide, on place la cartouche, chargée d'un muscle, sur un appareil broyeur qui la secoue violemment dans les trois directions de l'espace (Micro-Mixer Mill de Glen Creston, Stanmore, U.K.). Après 15 secondes d'agitation, on replonge la cartouche dans l'azote liquide. Le broyage

est recommencé trois fois. À ce stade, une fine poudre blanche de muscle adhère aux parois de la cartouche. On réchauffe la cartouche à -15°C en la plaçant au deep-freezer.

3. — EXTRACTION.

On introduit 1 ml d'acide perchlorique 0,25 N froid ($3-5^{\circ}\text{C}$) dans la cartouche. Après trente secondes d'agitation, on vide la cartouche dans un tube à centrifuger conique, en prenant soin de ne pas y laisser tomber la bille d'acier. On répète une fois cette opération. Entre toutes les manipulations, les cartouches et les tubes reposent dans de la glace pilée. Après centrifugation à froid pendant 10 mn, le surnageant est versé dans un vase de Berlin (placé dans la glace) et neutralisé par addition de 1,0 N KOH. La neutralisation est contrôlée au papier pH. Le pH du liquide ne peut pas dépasser 8, sinon l'ATP devient trop instable. On porte le volume à 10 ml, puis on centrifuge pour se débarrasser du KClO_3 qui est peu soluble. L'extrait est conservé à 3°C . On dose la PC le jour même, et l'ATP le lendemain.

§ 2. Détermination de la créatine libre et de la PC.

PRINCIPE.

La créatine libre forme un complexe coloré en rose carmin en présence de diacétyl et d'alpha-naphtol (réaction de BARRETT). Nous avons utilisé une modification de cette méthode par ENNOR et STOCKEN (1948). Une hydrolyse acide ménagée libère la créatine de la PC : on détermine la créatine totale de l'extrait. La PC est la différence : créatine totale — créatine libre.

RÉACTIFS.

Diacétyl (Light) : solution stock aqueuse à 1 % ; à diluer 25 fois au moment de l'emploi ;

Solution alcaline : NaOH 30 g ; Na_2CO_3 80 g ; H_2O ad 500 ml ;

Alpha-naphtol (Merck) : 5 g dissous dans 50 ml de solution alcaline ; cette solution brunit rapidement à l'air et doit être préparée au moment de l'emploi ;

Etalon de créatine (Merck) : 1,31 g/l.

OPÉRATIONS.

À 2 ml d'extrait de muscle on ajoute 5 ml d'eau distillée ; puis 2 ml de la solution d'alpha-naphtol. Après une agitation vigoureuse, on ajoute 1 ml de diacétyl 1 % dilué 25 fois dans l'eau, et on complète le volume

à 10 ml. La coloration se développe en 15 mn à l'obscurité et on lit l'extinction à une longueur d'onde de 520 millimicrons au moyen d'un spectrophotomètre Beckmann modèle B. Un blanc et un étalon de créatine accompagnent chaque série de dosages.

Pour déterminer la créatine totale, on ajoute 0,4 ml d'HCl 2N à 1 ml d'extrait de muscle. On chauffe 9 mn à 65°C, on refroidit rapidement et on neutralise avec 0,4 ml de NaOH 2 N. On dose ensuite la créatine. Un blanc et un étalon accompagnent également toutes les déterminations de créatine totale.

Des standards internes ont donné une récupération de 95 à 100 % de la créatine, avec ou sans hydrolyse acide. La transformation de créatine en créatinine durant l'hydrolyse acide telle que l'ont signalé ENNOR et STOCKEN (1948) ne survient pas dans nos conditions expérimentales, et nous n'avons pas appliqué la correction qu'ils préconisent.

COMMENTAIRES.

La réaction au diacétyl est simple d'exécution et précise. Elle permet donc d'effectuer un grand nombre de déterminations, et de procéder à une étude statistique rendue nécessaire à cause de la variabilité du matériel biologique. Par ailleurs, cette réaction n'est pas très sélective. L'arginine, la guanidine, la glycocylamine et quelques acides aminés réagissent avec le diacétyl et l'alpha-naphtol mais la coloration produite par ces substances est 10 fois moins intense que celle produite par la créatine. Le taux de ces substances est très faible dans le muscle, et il ne faut pas en tenir compte lors des déterminations de créatine (ENNOR et MORRISON, 1958). La réaction est inhibée par les composés sulfhydryles, et cette interférence peut être supprimée par le p-chloromercuribenzoate ; comme nos extraits ne contiennent pas de composés sulfhydryles, il n'est pas nécessaire de tenir compte de cette interférence.

Il faut aussi noter que la créatine se transforme spontanément en créatinine. La créatinine ne réagit pas avec le diacétyl et l'alpha-naphtol : c'est pourquoi nos extraits musculaires sont conservés à 3°C, et la créatine (libre et totale) est mesurée au plus tard un jour après la préparation de l'extrait.

§ 3. Détermination de l'ATP.

La détermination de l'ATP est basée sur une réaction décrite par MC ELROY (1947) : l'émission lumineuse de la luciole américaine *Photinus pyralis*. La luciférine réduite réagit avec l'ATP et l'oxygène sous l'influence de la luciférase, et se transforme en luciférine oxydée

activée, tandis que l'ATP est hydrolysé en AMP et en pyrophosphate. Chaque molécule de luciférine activée émet un photon d'environ 562 millimicrons et retourne à l'état basal. L'intensité lumineuse est proportionnelle à la concentration d'ATP. La préparation de ce système et le dosage de l'ATP sont opérés suivant MC ELROY et STREHLER (1949) et STREHLER et TOTTER (1952).

DOSAGE DE L'ATP.

On mélange 0,2 ml de l'extrait de muscle, 1,8 ml d'un mélange tampon arsénate (50 ml de 0,5 M Na_2SO_4 ; 10 ml de 0,2 M MgSO_4 et 20 ml de 0,2 M Na_2HAsO_4). On ajoute 25 microlitres d'extrait de luciole et on mesure l'intensité de l'émission lumineuse au moyen d'un fluoromètre Farrand, modèle « A ». Le fluoromètre est en fait utilisé comme photomètre : la lampe d'excitation est éteinte, les filtres sont enlevés. Le photomultiplicateur incorporé mesure l'intensité de l'émission lumineuse. Après addition de l'extrait de luciole, le signal atteint un maximum en 5 à 10 secondes environ, puis diminue lentement. On mesure le signal systématiquement une minute après l'addition de l'enzyme. Dans ces conditions, la lumière émise est proportionnelle à la concentration d'ATP de 0 à $20 \cdot 10^{-6}\text{M}$.

L'extrait de luciole possède une activité myokinase. L'ADP présent dans l'extrait musculaire peut donc être transformé en AMP et APT. L'activité myokinase est toutefois tellement réduite par la dilution qu'il faut des concentrations d'ADP très élevées pour troubler gravement la détermination de l'ATP. Nous nous sommes assurés que ce facteur peut être négligé en pratique dans tous les cas où la quantité d'ATP du muscle reste supérieure à 1,0 micromole/g.

PRÉPARATION DE L'EXTRAIT DE LUCIOLE.

Cent mg d'« abdomens » desséchés de luciole (*fireflies dessicated tails*, Sigma chemical Co, St-Louis) sont introduits dans une cartouche en acier inoxydable refroidie à 0°C, et sont broyées pendant 30 secondes au Micro-Mixer Mill. On ajoute 1 ml d'eau distillée et 0,1 ml de tampon phosphate 0,2 M, pH 7,6. On agite vigoureusement la cartouche trois fois 30 secondes au Mill à intervalles de 5 mn, pendant lesquels la cartouche repose dans de la glace pilée. On transvase en tube conique, on rince la cartouche avec 0,5 ml d'eau distillée froide que l'on ajoute au tube et on centrifuge à froid 10 mn à 4.000 t/mn. On divise le surnageant en aliquots de 0,5 ml que l'on répartit dans des petits tubes. Les extraits sont conservés à -20°C. Le contenu d'un tube suffit pour effectuer environ 20 dosages d'ATP.

CHAPITRE IV

LES TECHNIQUES STATISTIQUES

§ 1. Plan des expériences.

TRAITEMENTS.

On peut considérer les deux sartorius d'une grenouille comme deux unités d'un bloc statistique. Un tel bloc permet de comparer aisément deux traitements, par exemple un muscle stimulé et un muscle au repos. Pour comparer plus de deux traitements avec une précision équivalente, nous avons utilisé le plan dit des « blocs balancés incomplets ». Un exemple en est détaillé à la 3^e partie, chapitre III paragraphe 2. Les méthodes de calcul sont décrites par FISHER et YATES (1948).

RANDOMISATION.

Lors de l'application des techniques statistiques, il est extrêmement important d'éviter tout biais systématique. Nous avons soumis toutes nos expériences à une triple randomisation effectuée suivant un plan établi d'avance d'après les tables de nombres randomisés de FISHER et YATES (1948). En un premier temps, on randomise la position des muscles sur les électrodes : le muscle droit de la grenouille est monté au hasard en position 1 ou en position 2 sur les électrodes. En un second temps on attribue au hasard un traitement au muscle en position 1 ou en position 2. En troisième lieu, le choix du premier muscle à exciter est également laissé au hasard. En général, 4 à 6 paires de muscles sont traités le même jour. Ces muscles sont soumis aux manipulations chimiques dans *l'ordre* d'utilisation, et le muscle en position 1 est toujours traité avant le muscle en position 2. De cette façon, les manipulations chimiques sont stéréotypées, ce qui limite les chances d'erreur, surtout des erreurs d'étiquetage. Les résultats des dosages sont attribués aux divers traitements particuliers par un décodage effectué d'après le plan de randomisation. L'opérateur ne connaît donc pas la nature des traite-

ments infligés aux muscles qu'il analyse. L'analyse statistique de l'effet position 1 ou position 2 permet de détecter toute espèce de biais dû à la géométrie des électrodes ou aux manipulations de dosage. Nous en donnons plusieurs exemples dans la 3^e partie. Il n'y a aucun biais systématique dû à ces éléments.

§ 2. Analyses.

Nous avons analysé les résultats de nos expériences au moyen des techniques statistiques classiques (cfr. FISHER, 1946). Nous en donnons ci-après un bref résumé.

Soit X une mesure d'un phénomène. La moyenne de n mesures, $\bar{X}$, est $S(X)/n$. Nous appelons $x = X - \bar{X}$.

L'écart-type d'une mesure est :

$$\sqrt{\frac{Sx^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{S(X^2) - (SX)^2/n}{n-1}}$$

L'écart-type de la moyenne (erreur standard) est :

$$\sqrt{\frac{Sx^2}{n(n-1)}}$$

Si X est mesuré dans deux conditions, 1 et 2, l'effet du traitement 2 est la différence des moyennes des mesures prises dans les deux conditions : (moyenne des X_1) — (moyenne des X_2).

L'erreur standard de la différence est égale à

$$s_d = \sqrt{\frac{Sx_1^2 + Sx_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

mais si X_1 et X_2 forment des paires de mesures dont on peut calculer la différence individuelle D , l'erreur standard de la différence est :

$$s_d = \sqrt{\frac{S(D^2) - (SD)^2/n}{n(n-1)}}$$

Le rapport « t » du test de Student est défini par :

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_d}$$

Les tables de FISCHER et YATES (1948) donnent les valeurs critiques de « t » et, par là, le degré de signification des différences.

Si Y et X forment une paire de mesures de deux grandeurs différentes on définit :

$$Sx^2 = S(X)^2 - (SX)^2/n ; Sy^2 = S(Y)^2 - (SY)^2/n ;$$

$$Sxy = SXY - (SXS Y)/n$$

$$\text{le coefficient de corrélation } r = \frac{Sxy}{\sqrt{Sx^2 \cdot Sy^2}}$$

$$\text{le coefficient de régression linéaire de } Y \text{ sur } X : b = \frac{Sxy}{Sx^2}$$

dont l'erreur standard est

$$s_b = \sqrt{\frac{1}{n-2} (Sy^2 - bSxy)}$$

Dans un cas, nous avons effectué une analyse de régression multiple à 3 variables : on en trouvera la méthode de calcul dans FISCHER (1946).

§ 3. Ecart des expériences défectueuses.

Le problème de l'écart des expériences défectueuses est difficile. Il faut, de toute évidence, écarter les résultats erronés que fausseraient certainement les moyennes générales, et, partant, les conclusions qu'on en pourrait tirer. Par ailleurs, il faut se garder d'introduire des corrections subjectives et systématiques, qui fausseraient plus sûrement encore les résultats. On ne peut dès lors écarter des résultats que si l'on possède un critère objectif permettant de juger de leur validité. Deux critères différents peuvent servir à écarter des expériences : un critère technique, un critère physiologique. Le critère technique est évident : une erreur grossière de manipulation peut amener la perte d'un résultat ou son altération, comme, par exemple, une erreur de stimulation attestée par le mécanogramme de sorte que le muscle n'est pas excité suivant le programme préétabli ; une décongélation accidentelle du muscle, ce qui entraîne une contracture de décongélation et une perte de PC qu'il est impossible d'évaluer ; une contamination de l'extrait ou sa perte à la suite d'un bris de verrerie ; une erreur dans l'addition des réactifs servant aux dosages. Dans tous ces cas, les résultats obtenus sont naturellement suspects, et leur rejet ne soulève aucun problème. Le critère physiologique est plus difficile à définir : s'il est certain qu'un « mauvais » muscle ne doit pas être utilisé, il est plus délicat de déterminer en quoi un muscle est « mauvais » sans se laisser aveugler par un jugement sub-

jectif. Les résultats des analyses chimiques peuvent présenter des déviations parfois considérables. Il est très dangereux de vouloir fixer des limites à ces variations, et de rejeter les résultats qui tomberaient en dehors de ces limites. Dans le cas présent, en effet, ces limites de variations que l'on considérerait comme « normales » ne pourraient être déterminées qu'*a posteriori*, et dès lors, on court un risque énorme d'écarter des résultats exceptionnels pour des raisons subjectives. Nous n'avons donc écarté aucun résultat sur cette base. Le mécanogramme est toutefois mieux connu, et l'on sait qu'un muscle sartorius de grenouille développe 2 à 3 kg/cm². Il existe ici une possibilité de définir *a priori* une zone de variation que l'on qualifierait de « normale ». On pourrait, par exemple, décider d'avance que les muscles qui développeraient une tension de moins de 1 kg/cm² doivent être écartés. Nous n'avons rencontré que 4 cas sur 245 muscles stimulés isométriquement. Nous avons finalement estimé qu'il valait mieux ne pas rejeter ces expériences. Nous avons donc tenu compte de *tous* nos résultats, pour autant qu'ils n'étaient pas gâtés par une erreur technique grossière.

TROISIÈME PARTIE

**LE MÉTABOLISME
DE LA PHOSPHORYLCRÉATINE
ET DE L'ADÉNOSINE TRIPHOSPHATE
DURANT LE TÉTANOS**

CHAPITRE I

LA PC ET L'ATP DU MUSCLE AU REPOS

L'étude des taux de phosphorylcréatine (PC) et d'adénosine triphosphate (ATP) du muscle au repos est importante à plusieurs égards. Tout d'abord, la comparaison de ces quantités dans deux muscles homologues du même animal fournit une mesure de la variabilité des résultats, que l'on peut rendre quantitative grâce à une analyse statistique. Cette variabilité résulte des erreurs de dosage, des effets des traitements différents que les muscles pourraient avoir subis et des variations proprement biologiques entre les muscles d'un même animal. Ces analyses permettent de détecter des erreurs systématiques éventuelles. Enfin, la comparaison des taux de PC et d'ATP et de leurs variations avec les données de la littérature permet d'apprécier la valeur des dispositions expérimentales et des déterminations chimiques.

D'une manière générale, chaque série d'expériences comporte un certain nombre de paires de muscles au repos. Ces muscles sont disséqués, baignés dans la solution de Ringer, empoisonnés par du monoiodoacétate 0,4 mM et montés sur les électrodes dans la chambre à température constante exactement comme les muscles téтанisés. Les muscles sont congelés rapidement en les immergeant dans l'isopentane refroidi. Le mécanogramme, enregistré durant la congélation, ne montre aucune variation de tension. Quatre à six paires de muscles sont utilisées ensemble, et constituent un bloc expérimental qui subit toutes les manipulations simultanément ou presque. Tout le bloc peut être constitué de muscles au repos : c'est le cas des séries expérimentales n° 9 à 36 et n° 172 à 207. Dans d'autres cas il n'y a qu'une paire de muscles contrôles au repos par bloc, les autres étant stimulés suivant des plans divers : c'est le cas des séries expérimentales n° 58 à 96 et n° 219 à 306. Enfin, la série expérimentale de 329 à 418 présente un cas particulier : il s'agit de blocs balancés incomplets où les muscles d'une paire reçoivent des traitements différents (cfr 3^e partie, chap. III, § 2).

Les tableaux 1, 2 et 3 résument l'ensemble des observations respectivement pour la créatine libre, la phosphorylcréatine et l'ATP.

TABLEAU 1
Créatine libre en micromoles/g ; muscles au repos

Grou- pes	Date	Position du muscle 1 2		Différen- ces entre muscles 1 et 2	Moyennes	Ecart- type	n
9-36	Du 7 sept. au 27 sept. 1962	7,54 $\pm 0,70$	7,51 $\pm 0,69$	+ 0,03 $\pm 0,39$	7,52 $\pm 0,49$	3,32	46
58-96	Du 5 nov. au 3 déc. 1962.	4,79 $\pm 0,35$	5,26 $\pm 0,48$	— 0,48 $\pm 0,18$	5,03 $\pm 0,29$	1,17	16
172-207	Du 21 janv. au 20 fév. 1963.	6,19 $\pm 0,46$	6,56 $\pm 0,46$	— 0,37 $\pm 0,32$	6,74 $\pm 0,23$	1,49	42
219-306	Du 18 mars au 15 mai 1963	7,22 $\pm 0,75$	6,55 $\pm 0,73$	+ 0,67 $\pm 0,80$	6,88 $\pm 0,52$	2,84	30
329-418	Du 26 juin au 19 août 1963.				7,34* $\pm 0,39$	2,83	39

* Blocs balancés incomplets. Les moyennes sont suivies de leurs erreurs standards respectives.

§ 1. Effet de la position.

Le premier facteur important est la position des muscles sur les électrodes. En effet, dans notre dispositif expérimental les deux muscles d'une paire sont placés ensemble dans la même enceinte thermostatée, et reposent chacun sur une rangée de six électrodes : les muscles sont très proches l'un de l'autre, mais sont néanmoins séparés (voyez la figure 1). Cette disposition permet de stimuler séparément les deux muscles, tout en assurant une conformité d'environnement. Cette conformité n'est toutefois pas parfaite, car il existe nécessairement deux posi-

TABLEAU 2

Phosphorylcréatine en micromoles/g ; muscles au repos

Groupes	Position du muscle 1 2		Différences entre muscles 1 et 2	Moyennes	Ecart-type	n
9 à 36	17,83 ± 0,68	17,25 ± 0,81	+ 0,58 ± 0,61	17,54 ± 0,53	3,56	46
58 à 96	16,64 ± 0,78	15,81 ± 0,87	+ 0,83 ± 0,43	16,23 ± 0,58	2,27	16
172 à 207	17,70 ± 0,44	17,52 ± 0,53	+ 0,18 ± 0,35	17,61 ± 0,34	2,21	42
219 à 306	19,79 ± 0,91	20,69 ± 1,00	— 0,91 ± 0,68	20,24 ± 0,67	3,67	30
329-418*				18,64 ± 0,42	2,38	39

* Blocs balancés incomplets. — Les moyennes sont suivies de leurs erreurs standards respectives.

tions différentes des muscles, correspondantes aux deux rangées d'électrodes. Les tableaux montrent que les moyennes de C_L , de PC et d'ATP ne dépendent pas de la position 1 ou 2 des muscles sur les électrodes. Les différences entre ces moyennes sont en général inférieures aux erreurs standards respectives, sauf dans la série expérimentale n° 58 à 96. Cette série montre une différence de $-0,48 \pm 0,18$ micromole/g pour C_L ($n = 16$), ce qui est indiscutablement un effet significatif ($t = 2,66$; $P = 2\%$), et une différence de $+0,83 \pm 0,43$ micromole/g pour PC, ce qui est un effet léger ($t = 1,96$; P entre 5 et 10 %). Les muscles en position 2 ont donc environ 0,5 micromole/g de PC en moins que ceux qui sont en position 1. C'est une excellente illustration de la façon dont un biais peut s'introduire dans une expérience. L'origine de ce biais reste obscure. Après cette série expérimentale, les électrodes d'excitation furent refaites, et le stimulateur légèrement modifié de telle sorte que toutes les électrodes soient connectées à la terre, sauf durant la

stimulation d'un muscle. Les séries expérimentales suivantes ne montrent plus un tel biais. Mais ce fait ne démontre certes pas que ce biais trouve son origine dans une stimulation aléatoire du muscle qui surviendrait en position 2, puisque la première série expérimentale n'en montre aucun, alors que les muscles reposaient sur l'appareil non modifié. Quoi qu'il en soit, il faut remarquer que ce biais n'a pas affecté d'une façon systématique les effets des traitements que reçoivent les muscles téτανisés, parce que ces traitements sont distribués au hasard entre les muscles en position 1 ou 2. Dans le cas où la randomisation est parfaite, le seul effet du biais sera d'augmenter la variabilité des résultats. Cet incident démontre en tous cas la nécessité absolue de n'introduire aucun ordre systématique dans les traitements que reçoivent les muscles.

Les données pour l'ATP sont malheureusement beaucoup moins nombreuses. Il n'existe aucun biais décelable provoqué par la position du muscle, la différence due à cet effet ne s'élevant qu'à $0,11 \pm 0,18$ micromole/g. Les moyennes des deux séries expérimentales sont $4,75 \pm 0,15$ et $4,91 \pm 0,20$, et ne sont pas donc différentes.

TABLEAU 3

ATP en micromoles/g ; muscles au repos

Groupes	Position du muscle 1 2	Différences entre muscles 1 et 2	Moyennes	Ecart-type	n
219 à 306	4,69 4,80 $\pm 0,27$ $\pm 0,31$	$-0,11$ $\pm 0,18$	4,75 $\pm 0,20$	1,11	30
329 à 418*			4,91 $\pm 0,15$	0,811	39

* Blocs balancés incomplets.

§ 2. Effet saisonnier.

Si l'on examine à présent les moyennes de chaque série expérimentale, on constate immédiatement qu'elles présentent des variations importantes, allant de 5,03 à 7,52 micromoles/g pour la C_L , et de 16,23 à 20,24 micromoles/g pour la PC.

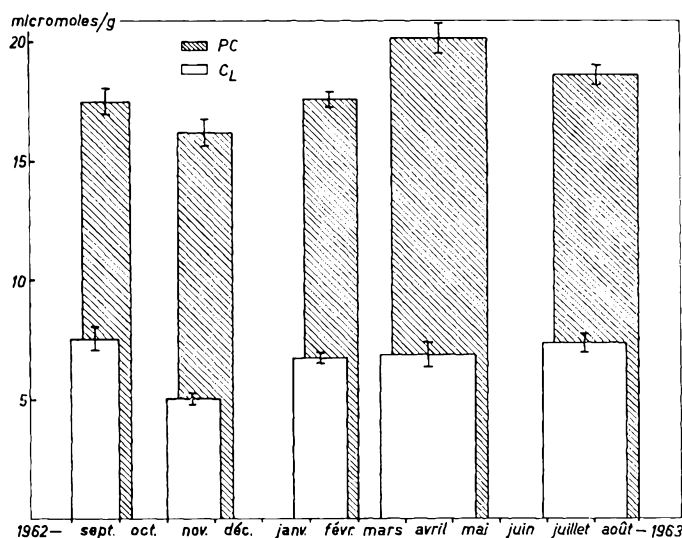


FIG. 6. Les variations saisonnières de la créatine libre (blocs blancs) et de la phosphorylcréatine (blocs hachurés) en micromoles par gramme de muscle ; le trait vertical représente l'erreur standard de la moyenne. En abscisse, la période de l'année en mois.

Ces variations sont apparemment saisonnières : la figure 6 représente les taux de C_L et de PC en fonction de l'époque de l'année pendant laquelle les expériences furent effectuées. La PC est maximum en avril et minimum en novembre ; la C_L est minimum en novembre. Ce qui est remarquable, c'est la tendance de PC à varier dans le même sens que C_L. Il en résulte que la quantité totale de créatine varie également au cours de l'année, étant maximum en avril et minimum en novembre. Une telle variation cyclique a aussi été observée par BRINER et coll. (1959). Ce type de variation est tout à fait différent de celle que l'on observe à la suite de la stimulation du muscle : dans ce cas la PC diminue à peu près dans la mesure où la C_L augmente. On ne peut donc attribuer ces variations saisonnières à des variations des conditions expérimentales qui auraient provoqué des stimulations plus ou moins grandes des muscles.

§ 3. Variabilité des résultats.

Le dernier point d'intérêt concerne la variabilité des résultats, qui est mesurée par l'écart-type d'une seule détermination (avant-dernière colonne des tableaux 1, 2 et 3). Il est en effet plus instructif de comparer les écarts-types de diverses expériences plutôt que les erreurs standards

des moyennes. La raison en est que les écarts-type ne dépendent guère du nombre d'expériences effectuées, alors que les erreurs standards en dépendent très directement. L'examen des tables révèle deux aspects intéressants. On est tout d'abord frappé par la grandeur élevée de ces écarts-types : les plus petits n'atteignent que 1,17 micromoles/g pour C_L (en novembre) 2,21 pour PC (en janvier) et 0,81 pour l'ATP. En second lieu, les variations de ces écarts-types sont grandes, oscillant entre 1,17 et 3,32 pour C_L , et 2,21 et 3,67 pour PC. Un test de F montre que cet écart est significatif pour C_L ($F = 2,84$; $P = 5\%$) et un peu moins pour PC ($F = 1,64$; P entre 5 et 10 %). Les expériences menées entre novembre et janvier ont donc une variabilité moindre que les autres.

La connaissance de l'écart-type permet de prédire quel est l'effet minimum détectable pour un nombre d'expériences donné. Si on choisit la meilleure possibilité, soit un écart-type de 1,17 micromoles/g, on calcule qu'avec 4 expériences on pourrait détecter un effet de 1,86 micromoles/g au palier de 5 % ; avec 16 expériences, 0,62 ; avec 40 expériences, 0,38 et avec 120 expériences 0,21. En fait pourtant l'écart-type sera plutôt de 2 à 3 (cfr tableau 4), et les valeurs limites détectables doivent être au moins doublées. On voit donc qu'en pratique il est difficile de détecter un effet de 1,0 micromole/g de PC ou de C_L , et que la détection de 0,5 micromole/g est quasi impossible. Pour l'ATP l'écart-type de 0,81 permet de détecter aisément des effets de 0,43 ($n = 16$) à 0,26 ($n = 40$) micromole/g.

Cette conclusion a une importance pratique considérable, car de nombreux expérimentateurs se sont efforcés de détecter des effets qui sont inférieurs à ceux qu'il est possible de déceler par des méthodes chimiques. Il reste naturellement à vérifier que les techniques utilisées dans ce travail donnent des résultats qui soutiennent la comparaison avec ceux obtenus par d'autres auteurs. Le tableau 4 est une compilation de résultats tirés de la littérature. Les seuls résultats directement comparables à ceux des tableaux 2 et 3 sont ceux de HERMANS (1955) qui trouve 16,42 micromoles/g de PC et 4,08 micromoles/g d'ATP, sur des sartorius de *Rana temporaria*. Ces valeurs, obtenues par une technique de chromatographie sur papier suivie de minéralisation et de dosage du phosphate, sont légèrement inférieures aux résultats rapportés aux tableaux précédents. Vu les différences très considérables des méthodes expérimentales, l'accord entre les deux séries d'expériences doit être considéré comme très bon. Le sartorius de *Rana pipiens* paraît contenir plus de PC et moins d'ATP que celui de *Rana temporaria* (CARLSON et SIGER,

TABLEAU 4
Taux moyens de PC et d'ATP de muscles au repos

Type de muscle	Phosphorylcréatine taux micromoles/g	Ecart type	ATP Taux micromoles/g	Ecart type	Auteurs
Gastrocnémien <i>RE</i>	11,82	—	—	—	LUNDGAARD, 1930
Gastrocnémien <i>RT</i>	10,19	—	—	—	LUNDGAARD, 1930
Gastrocnémien <i>RT</i>	9,06 à 18,71 (4)	—	3,05 à 5,42 (4)	—	CALDWELL, 1953
<i>Sartorius</i> <i>RT</i>	16,42 (12)	—	4,08 (12)	—	HERMANS, 1955
<i>Sartorius RE et RT</i>	10,3	—	3,62	—	FEUER, 1955
Gastrocnémien <i>RE et RT</i>	13,7	—	3,25	—	FEUER, 1955
<i>Rectus abdominis</i> <i>RT</i>	8,14 (16)	—	1,88 (27)	—	FLECKENSTEIN et JANKE, 1953
<i>Rectus abdominis</i> <i>RT</i>	12,23 (24)	—	2,78 (24)	—	FLECKENSTEIN, 1956
<i>Rectus abdominis</i> <i>RE</i>	14,78 (14)	1,68	2,032 (14)	0,120	FLECKENSTEIN et coll., 1956
<i>Rectus abdominis</i> <i>RE</i>	13,33 (22)	2,44	1,688 (22)	0,136	FLECKENSTEIN et coll., 1957
<i>Rectus abdominis RE et RT</i>	14,76 (14)	2,43	2,519 (14)	0,426	FLECKENSTEIN et coll., 1960
<i>Rectus abdominis</i> <i>RE</i>	16,50 (18)	1,40+	2,380+ (18)	0,297+	FLECKENSTEIN et coll., 1961
<i>Rectus abdominis</i> <i>RP</i>	—	—	1,25 (9)	—	CAIN et coll., 1962
<i>Sartorius</i> <i>RP</i>	—	—	2,92 (26)	0,56	INFANTE et DAVIES, 1962
<i>Sartorius</i> <i>RP</i>	24,97+ (141)	5,46+	2,24+ (128)	0,895+	CARLSON et SIGER, 1959
<i>Sartorius</i> <i>RP</i>	26,80 (34)	1,46	2,40 (34)	0,58	CARLSON et SIGER, 1960
<i>Sartorius</i> <i>BM</i>	5,7 à 11,8	—	4,5 à 7,5	—	BRINER et coll., 1959
<i>Sartorius</i> <i>RP</i>	12,88+ (93)	4,64+	—	—	MOMMAERTS et coll., 1962
<i>Sartorius</i> <i>RP</i>	19,85+ (44)	2,86+	—	—	MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963
<i>Sartorius</i> (hiver) <i>RP</i>	20,04 (25)	3,35	—	—	MOMMAERTS et coll., 1963
<i>Sartorius</i> <i>BM</i>	21,1	—	—	—	JÖBSIS, 1963
<i>Sartorius</i> <i>RT</i>	12,60 (16)	2,32	—	—	SPRONCK, 1962

Le nombre entre parenthèses est le nombre de détermination. Les différentes espèces sont désignées : *Rana esculenta* : *RE*; *Rana temporaria* : *RT*; *Rana pipiens* : *RP*; *Bufo marinus* : *BM*. Les résultats marqués d'un astérisque sont ceux calculés par l'auteur ; les autres sont calculés à partir des données publiées.

1959, 1960). Les autres matériels, rectus abdominis et gastronémiens de *Rana temporaria* et de *Rana esculenta* possèdent des taux de PC et d'ATP inférieurs à ceux du sartorius de *Rana temporaria*. Les quantités de PC et d'ATP que nous avons trouvées dans les muscles au repos sont donc parmi les plus élevées de la littérature, ce qui semble indiquer que les manipulations expérimentales n'entraînent pas ou peu de perte de ces substances très labiles. Quant à la variabilité de ces résultats tirés de la littérature, il est souvent difficile de s'en faire une idée précise, car beaucoup d'auteurs ne mentionnent pas les erreurs standards des moyennes, ni les écarts-types. Dans quelques cas où les résultats complets sont reproduits, j'ai calculé leurs écarts-types ainsi que les erreurs standards (cfr tableau 4). Les meilleures déterminations sont celles de FLECKENSTEIN, qui les obtient d'ailleurs à l'aide d'une technique chromatographique fort élaborée. L'écart-type de ses dosages oscille de 1,40 à 2,44, pour la PC, et de 0,120 à 0,426 pour l'ATP : ses résultats offrent donc une variabilité inférieure aux nôtres. Les autres auteurs obtiennent des écarts-types pour l'ATP et la PC qui sont du même ordre ou plus grands que ceux obtenus dans ce travail (CARLSON et SIGER, 1959, 1960 ; MOMMAERTS et coll., 1961, 1962, 1963 a). La conclusion est claire. La variabilité de la PC est voisine chez beaucoup d'auteurs, et est telle qu'elle exclut la détection d'effets de l'ordre de 0,5 micromole/g ou moins. La variabilité de l'ATP est également la même chez beaucoup d'auteurs ; chez FLECKENSTEIN pourtant l'écart-type tombe en-dessous de 0,3 micromole/g. *Nos techniques sont donc acceptables, et la variabilité de nos résultats est normale.*

Il existe certains artifices pour augmenter la précision des expériences. On peut, comme l'ont fait MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) soumettre une série de muscles à des tétanos de durée croissante : la régression de la PC hydrolysée en fonction de la durée du tétanos procure une estimation de la vitesse d'utilisation de la PC supérieure à celle que l'on tirerait d'une comparaison unique entre deux traitements. Un autre moyen plus général, est préconisé par CARLSON et SIGER (1959, 1960). Ces auteurs proposent de rapporter la PC et l'ATP non pas au poids du muscle mais à la quantité de créatine totale. Les résultats de la première série expérimentale ont été recalculés de cette manière (tableau 5). Le coefficient de variation de la moyenne est de 3,8 et 4,7 %, exprimé en micromole par gramme de muscle. Si on l'exprime en micromole par micromole de créatine totale, ce coefficient diminue à 3,0 et 2,6 %. Cette méthode d'exprimer les résultats augmente donc appréciablement leur précision, dans ce cas particulier ; mais nous n'avons pas retrouvé cet

TABLEAU 5

	Micromoles de PC par gramme de muscle	Coefficient de variation de la moyenne	Micromoles de PC par micro- mole de Cr	Coefficient de variation de la moyenne
Position 1	17,83 $\pm$ 0,68	3,8 %	0,713 $\pm$ 0,021	3,0 %
du muscle 2	17,25 $\pm$ 0,81	4,7 %	0,704 $\pm$ 0,018	2,6 %
Différences	0,58 $\pm$ 0,61	3,5 %	0,009 $\pm$ 0,014	2,0 %

effet dans une autre série expérimentale (n° 251 à 316). Nous n'avons pas utilisé cette méthode pour exprimer les résultats de ce travail. La raison en est que s'il est très probable que les divers traitements appliqués aux muscles (tétanisation plus ou moins longue, raccourcissement ou étirement forcé) ne modifient pas le poids du muscle, il semble bien qu'une tétanisation plus ou moins prolongée augmente la teneur du muscle en créatine totale (cfr 3^e partie, chap. II, § 1).

CHAPITRE II

LE CATABOLISME DE LA PC ET DE L'ATP DURANT UN TÉTANOS ISOMÉTRIQUE

Au cours d'un tétanos isométrique le muscle manifeste de la tension, libère de la chaleur, et transforme des substrats par une chaîne de réactions chimiques, qui se prolongent d'ailleurs un temps appréciable après la fin de la contraction proprement dite (cfr première partie). Le déroulement de ces réactions est fortement simplifié et raccourci par l'anaérobiose, qui supprime toutes les réactions oxydatives, et par le monoiodoacétate, qui bloque la glycolyse. Dans ces conditions l'effet le plus clair de la tétanisation est de provoquer une hydrolyse de PC en C_L et phosphate inorganique. Le taux d'ATP ne paraît guère affecté de prime abord. Deux facteurs importants déterminent la quantité de PC qui est consommée au cours d'une expérience : d'une part la *durée totale* de la stimulation, et d'autre part le *nombre* de tétanos. On peut diviser le métabolisme de la PC en deux fractions correspondantes, que j'ai appelées : le *métabolisme stable* et l'*extramétabolisme* (MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963). Ces deux postes représentent la contre-partie au niveau des phénomènes chimiques de la chaleur de maintien (fraction Bt de l'équation 2, 1^{re} partie) et des chaleurs d'activation et de relâchement (fraction A de l'équation 2).

§ 1. Le métabolisme stable.

On peut obtenir une mesure satisfaisante du métabolisme stable en administrant à des groupes de muscles, des tétanos de durée variable et en calculant la moyenne de PC correspondant à chaque durée de tétanisation : le métabolisme stable correspond à la pente de la droite de régression de la PC sur la durée de stimulation. Deux observations s'imposent. Le métabolisme stable ne peut être obtenu en comparant le taux de PC d'un muscle stimulé au taux de PC d'un muscle au repos :

cette différence inclut en effet l'extramétabolisme. En second lieu, le métabolisme stable ne dépend pas du nombre de tétanos administrés ; on peut donc répartir la durée de stimulation en plusieurs tétanos mais, dans ce cas, il faut naturellement que le nombre de tétanos soit identique dans chaque groupe de muscles. L'augmentation du nombre de tétanos déplace la régression PC-durée de stimulation dans le sens d'une augmentation de l'hydrolyse de la PC, sans changer la pente de la régression (cfr figure 11).

Deux campagnes d'expériences ont été menées. La première chez le Prof. W. MOMMAERTS à Los Angeles (USA) sur sartorius de *Rana pipiens* ; et la seconde chez le Prof. X. AUBERT à Louvain (Belgique) sur sartorius de *R. temporaria*. Des résultats qualitativement semblables, mais quantitativement différents, indiquent une plus grande intensité du métabolisme stable de *R. temporaria* comparée à celui de *R. pipiens*. Il nous faudra donc examiner séparément les résultats obtenus chez les deux espèces.

A) LE MÉTABOLISME STABLE CHEZ *R. pipiens*.

Dans ces expériences dont on trouvera un exposé complet dans MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963), on a comparé le taux de créatine libre, C_L , après différentes durées de stimulation (de 0 à 60 sec. à 1-2°C), administrées en un seul tétanos. La quantité de PC hydrolysée est calculée en soustrayant la C_L du muscle au repos de la C_L du muscle stimulé, et les résultats de six séries expérimentales sont représentés à la figure 7. Les pentes des six régressions s'élèvent respectivement à 0,27 ; 0,33 ; 0,29 ; 0,30 ; 0,26 et 0,22 micromole/g/sec. Ces valeurs sont pratiquement identiques, quoique certaines séries ne comportent que des tétanos relativement courts, et d'autres des tétanos relativement longs. La valeur moyenne générale pesée du métabolisme stable est de 0,28 micromole/g/sec. Toutefois, une certaine baisse de tension s'observe durant ces expériences, particulièrement durant les tétanos les plus longs, et si l'on applique une correction raisonnable (cfr discussion), l'estimation du métabolisme stable augmente légèrement et passe à 0,32 micromole/g/sec. Il n'est pas certain que la quantité de PC hydrolysée soit une fonction linéaire de la durée de stimulation, et une certaine diminution de l'intensité du métabolisme stable pourrait être compatible avec les données, sans qu'il soit possible de préciser une éventuelle relation curvi-linéaire. Par ailleurs, il existe certainement une augmentation temporaire de l'hydrolyse de la PC au début ou à la fin du tétanos (extramétabolisme),

comme l'indique le fait que la régression tracée à la figure 7 coupe l'ordonnée à 0,38 micromole/g.

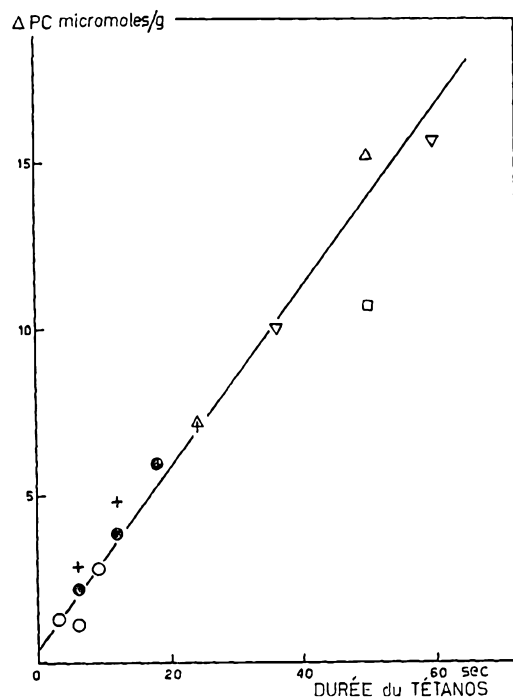


FIG. 7. Hydrolyse de la PC durant un tétanos unique (Sartorius de *R. pipiens*), calculée en soustrayant la C_L du muscle au repos de la C_L du muscle stimulé. Six séries expérimentales : ○ tétanos de 3, 6 et 9 secondes ; chaque point est la moyenne de 6 déterminations, $n = 6$; ● tétanos de 6, 12 et 18 secondes, $n = 12$; + tétanos de 6, 12 et 24 secondes, $n = 12$; △ tétanos de 24 et 50 secondes, $n = 4$; ▽ tétanos de 36 et 60 secondes, $n = 7$; □ tétanos de 50 secondes, $n = 4$. La droite représente la régression moyenne, non corrigée pour la chute de tension, de 0,28 micromole/g/sec. (tiré de MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963).

Il n'existe aucune autre étude récente et systématique du métabolisme de la PC durant un tétanos du muscle de *R. pipiens*. Seules existent quelques données fragmentaires. En premier lieu citons un travail de CAIN, INFANTE et DAVIES (1962) sur rectus abdominis. Ces auteurs stimulent isotoniement une série de muscles durant des temps variables, et estiment trouver une corrélation satisfaisante entre la PC hydro-

lysée et le travail fourni, soit 2,6 kcal/mole. Toutefois l'augmentation du travail musculaire s'obtient en allongeant la durée de téτανisation : c'est dire que les deux facteurs sont inextricablement mélangés. D'ailleurs, on trouve une bonne corrélation entre la PC hydrolysée et la durée de téτανisation, comme l'illustre la figure 8, qui est construite à partir des résultats publiés par CAIN et coll. (1962). La droite tracée de 0,28 micromole/g/sec se conforme aux points expérimentaux d'une façon satisfaisante, surtout si l'on tient compte qu'aucune correction n'est appliquée pour le travail fourni par le muscle. Ce travail varie de 20 à 120 gcm/g ; si l'on admet une équivalence mécano-chimique de — 11 kcal/mole (cfr chapitre III), on calcule une hydrolyse de PC supplémentaire liée à la production de travail de 0,05 à 0,30 micromole/g ; cette quantité

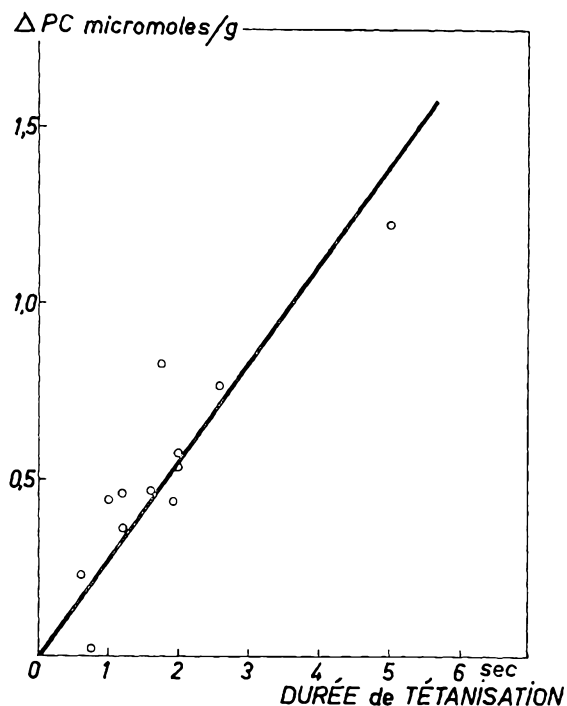


FIG. 8. Le métabolisme stable du rectus abdominis de *R. pipiens*. Quantité de PC hydrolysée en fonction de la durée de stimulation. Les points sont tirés des résultats publiés par CAIN, INFANTE et DAVIES (1962). La droite représente le métabolisme stable théorique de 0,28 micromole PC/g/sec.

doit s'ajouter au métabolisme stable, et les points expérimentaux doivent donc se trouver de 0,05 à 0,3 micromole/g au-dessus de la droite de pente 0,28 micromole/g/sec. Cette considération ne prouve nullement l'existence d'un métabolisme particulier lié à la production de travail, car le décalage des points expérimentaux pourrait s'expliquer tout aussi bien par la présence d'un extramétabolisme ; mais comme nous ne connaissons pas le nombre de contractions qu'ont reçu ces muscles, nous ne pouvons pas estimer l'extramétabolisme du *rectus abdominis*. Nous trouvons donc dans ces expériences une confirmation intéressante de nos résultats. Signalons pour terminer que WILKIE et CARLSON (communication personnelle) trouvent également un métabolisme stable chez *R. pipiens* qui est du même ordre que celui décrit ci-dessus.

Nous ne connaissons aucune donnée sur le métabolisme de l'ATP durant un tétanos isométrique de *R. pipiens*.

B) LE MÉTABOLISME STABLE CHEZ *R. temporaria*.

Il existe trois séries d'expériences qui permettent d'estimer l'intensité du métabolisme stable chez *R. temporaria*. La structure générale de ces expériences est la suivante : les deux muscles d'une même paire restent au repos ou reçoivent un nombre constant (4 ou 6) de tétanos de durée égale ; un muscle est excité isométriquement ; l'autre reçoit un traitement variable (isométrique, raccourci ou allongé). La durée totale de stimulation peut changer d'une paire à l'autre et nous étudierons ici l'effet de cette variation en comparant les muscles excités isométriquement. Les effets des autres traitements sur les muscles homologues seront étudiés plus loin (chapitre III). Comme les comparaisons se font entre des muscles d'animaux différents, la précision de ces expériences est souvent inférieure à celles effectuées sur *R. pipiens* où les comparaisons se faisaient entre les muscles du même animal, mais elle reste suffisante pour que l'on puisse affirmer que le métabolisme stable de *R. temporaria* est appréciablement plus élevé que celui de *R. pipiens*.

1. *La première série d'expériences* (n° 56 à 109) comporte dix groupes de quatre paires de muscles chacun, soit quarante paires de muscles en tout. Les muscles d'un groupe subissent ensemble toutes les manipulations. Chaque groupe comprend quatre des cinq traitements suivants : repos ou six tétanos de 0,5, 1, 2 ou 4 secondes ; ces traitements sont combinés de telle sorte que huit paires de muscles au total subissent le même traitement. L'intervalle entre les tétanos est de 5 secondes pour un muscle et de 60 secondes pour le muscle homologue. On commentera plus loin l'effet de la variation de l'intervalle (ce chapitre § 2, C). Comme

cet effet est faible, on a simplement calculé les moyennes qui figurent au tableau 6 en négligeant ce facteur. La régression de la créatine libre sur la durée totale de stimulation est de $0,494 \pm 0,026$ micromole/g/sec. La régression de la PC sur la durée de stimulation est de $-0,432 \pm 0,016$ micromole/g/sec. Cette dernière régression figure en trait plein sur le

TABLEAU 6
Première estimation du métabolisme stable

Durée totale de tétanisation en sec	0	3	6	12	24	s_m	b	n
C_L micromoles/g	5,03	11,86	14,74	18,38	22,69	0,41	$0,494 \pm 0,026$	16
PC micromoles/g	16,22	11,17	8,96	5,10	1,85	0,26	$0,432 \pm 0,016$	16
C_T micromoles/g	21,25	23,03	23,70	23,48	24,54			
Tension-temps kg sec/cm ²	0	7,11	12,39	23,58	44,27	0,41		
Tension moy- enne kg/cm ²	0	2,37	2,07	1,97	1,84			
Poids moyen mg	78,06	80,30	70,05	67,25	84,44			

Expériences n° 56 à 109. Chaque muscle reçoit 6 tétanos, chacun d'une durée égale au sixième de la durée totale de tétanisation ; s_m est l'erreur standard de la moyenne, qui est basée sur n déterminations ; b est le coefficient de régression linéaire de PC ou de C_L en fonction de la durée de tétanisation, en omettant les moyennes des muscles au repos.

graphique 9, où l'on a représenté la PC hydrolysée en fonction de la durée de tétanisation (cercles noirs). La différence entre les deux coefficients de régression est de $0,062 \pm 0,031$; le t atteint le palier de 5 % ($n = 64$) ; nous devons donc admettre que les deux estimations du métabolisme stable sont *différentes*.

2. Dans la *deuxième série d'expériences* (n° 216 à 316) présentée au tableau 7, on tétanise 72 paires de muscles : un muscle de la paire en

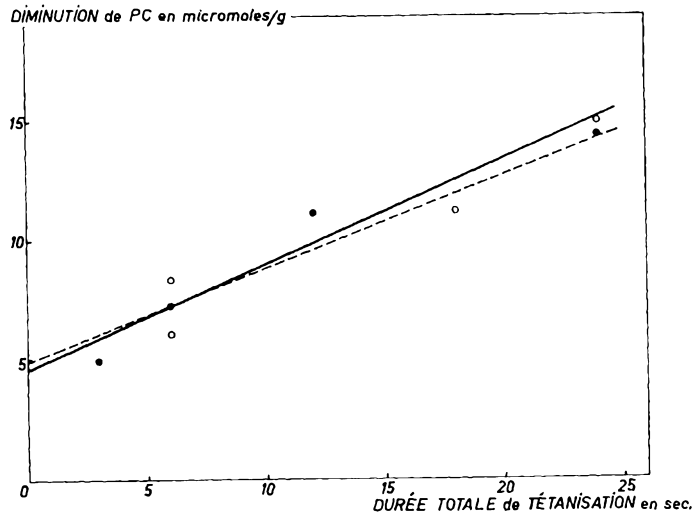


FIG. 9. Le métabolisme stable du sartorius de *R. temporaria*. La quantité de PC hydrolysée est obtenue en soustrayant la PC du muscle tétanisé de la PC du muscle au repos, et est pointée en fonction de la durée totale de stimulation. Cercles noirs : expériences n° 56 à 109, en trait plein, la régression y afférente de 0,432 micromole/g/sec. Cercles blancs : expériences n° 216 à 316, avec la droite de régression en trait interrompu de pente 0,39 micromole/g/sec.

conditions isométriques, tandis que l'autre reçoit un autre traitement que nous étudierons plus loin. Trente paires de muscles servent en outre de contrôles non-stimulés. La régression de la C_L sur la durée de stimulation est de $0,656 \pm 0,086$ micromole/g/sec ; celle de la PC, de $-0,369 \pm 0,057$ micromole/g/sec est représentée au graphique 9 par le trait interrompu (cercles blancs). La différence entre les deux régressions est de $0,287 \pm 0,103$; un test de t nous informe que cette différence ne peut guère s'expliquer par le jeu du hasard ($t = 2,78$; $P \simeq 1\%$). L'ATP ne paraît pas être affecté par la durée de stimulation (cfr tableau 7).

3. La troisième série d'expériences est décrite en détail au paragraphe suivant (ce chapitre C). On en tire (cfr tableau 9) une estimation du métabolisme stable de $-0,58 \pm 0,07$ micromole/g/sec, basée sur la différence en PC de muscles tétanisés 6 et 18 secondes. L'estimation basée sur la créatine libre donne $0,55 \pm 0,09$ micromole/g/sec. Les deux estimations ne sont pas sensiblement différentes, et on peut calculer une estimation moyenne de $0,565 \pm 0,08$ micromole/g/sec. L'ATP ne change pas entre 6 et 18 secondes de stimulation.

TABLEAU 7

Deuxième estimation du métabolisme stable

N° des expériences	Type de stimulation	<i>n</i>	C _L micromoles/g	PC micromoles/g	ATP micromoles/g	Tension kg/cm ²
251-316	6 tétanos de 1 sec.	17	15,81 ± 1,61	14,12 ± 0,98	4,64 ± 0,22	1,94
216-249	6 tétanos de 1 sec.	29	15,07 ± 0,93	11,82 ± 0,62	4,30 ± 0,23	1,92
294-313	6 tétanos de 3 sec.	16	25,46 ± 1,15	9,13 ± 0,68	4,43 ± 0,31	1,92
275-292	6 tétanos de 4 sec.	10	25,23 ± 0,41	5,26 ± 0,32	4,61 ± 0,17	1,95
	Repos	(30)	6,88 ± 0,52	20,24 ± 0,67	4,75 ± 0,20	—
Estimation du métabolisme stable micromole/g/sec.		72	0,66 ± 0,09	0,37 ± 0,06		
Estimation de l'extramétabolisme micromole/g/tétanos			0,77 ± 0,18	0,82 ± 0,11		

Expériences n° 216 à 316. Muscles stimulés en conditions isométriques. Les moyennes, basées sur *n* estimations, sont suivies de leurs erreurs standards. Les coefficients des régressions de C_L ou de PC sur la durée totale de stimulation sont calculés en omettant les moyennes des muscles au repos.

C) INFLUENCE DE LA LONGUEUR DU MUSCLE SUR LE MÉTABOLISME STABLE.

Dans toutes les expériences décrites précédemment, la longueur du muscle est à peu près la longueur dite standard, *l*₀, où tension et chaleur de maintien sont maximales. Si l'on raccourcit le muscle, le dégagement de chaleur et la tension diminuent avec la longueur, mais non d'une façon proportionnelle : à une longueur suffisamment courte la tension disparaît et la chaleur de maintien atteint encore la moitié de son taux maximum (AUBERT, 1956 a). Nous montrerons que le métabolisme stable est également réduit de moitié lorsque le muscle est stimulé à une longueur très courte.

Dans les expériences n° 420 à 448, deux facteurs différents déterminent la quantité de PC hydrolysée : la longueur du muscle et la durée de téτανisation. Comme on désire obtenir le maximum de précision pour déterminer l'effet d'un changement de longueur, on stimule les deux muscles d'une même paire par un seul téτανos l'un à 105 % l_0 et l'autre à 55 % l_0 . L'effet de la durée de téτανisation est obtenu en stimulant treize paires de muscles durant 6 secondes et treize autres paires durant 18 secondes. La variation due à la différence de la durée de stimulation s'ajoute ainsi à la variation entre les animaux (« confounding ») mais il n'en résulte aucun inconvénient étant donné que l'effet de la stimulation est très important. Les résultats complets figurent sur le graphique 10.

Rappelons qu'on place les muscles au hasard sur les électrodes, en position 1 ou 2, et que les traitements sont également répartis au hasard, selon un plan randomisé établi *avant* l'expérience. Dans la figure 10, les cercles noirs symbolisent les muscles en position 1, les cercles blancs ceux en position 2 : il n'y a pas d'effet visible de la position, ce qui exclut

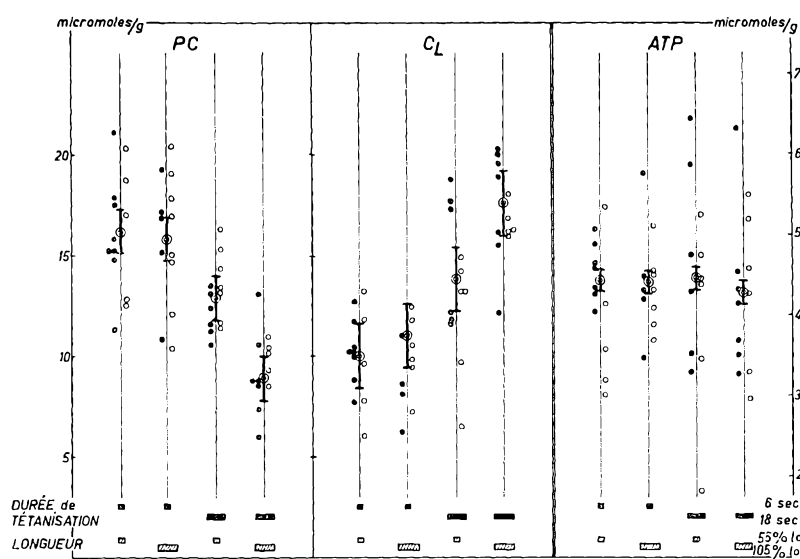


FIG. 10. Influence de la longueur du muscle sur le métabolisme stable. Expériences n° 420 à 448. Les muscles reçoivent un téτανos de 6 ou de 18 secondes à une longueur de 55 % ou de 105 % l_0 . Les cercles sont les résultats individuels ; noirs : muscles en position 1 ; blancs : muscles en position 2. Les doubles points sont les moyennes générales pourvues d'un trait qui délimite l'intervalle de confiance à 95 %.

l'existence d'un biais lié aux manipulations expérimentales. La dispersion des résultats est considérable, mais ne dépasse pas celle que l'on observe lorsqu'on compare des muscles au repos entre eux, et elle doit être considérée comme normale (cfr chapitre I, 3^e partie). Un bref examen de la figure 10 nous convainc que la durée de téτανisation et la longueur du muscle influencent le taux de PC et de C_L , mais pas celui d'ATP. Le tableau 8 résume l'analyse statistique de ces données. Com-

TABLEAU 8

Résumé de l'analyse de variance des expériences n° 420 à 448
relatives à l'effet de la longueur sur le métabolisme de maintien

Variations	Degrés de liberté	Variance C_L (micro-moles/g) ²	Variance PC (micro-moles/g) ²	Variance ATP (micro-moles/g) ²	Variance tension-temps (10 ³ × gsec/cm ²) ²
Longueur	1	71,51 <1‰	58,81 <1‰	0,149 NS	6502 <1‰
Durée	1	353,60 <1‰	335,59 <1‰	0,031 NS	2322 <1‰
Animaux	24	10,84 NS	9,55 NS	1,54 <1%	7 NS
Interaction LD	1	29,53 NS	44,49 <1‰	0,27 NS	1267 <1‰
Résidu	24	7,65	4,10	0,30	11
Total	51				

Les nombres après la variance indiquent la probabilité d'un effet de la variation provoquée : NS, non significativement différent de l'erreur ; < 1%, < 1‰, probabilité de l'existence d'un effet supérieur à un pour cent, ou à un pour mille. Les variances sont testées contre la variance du « résidu » par un test de F.

parées à l'estimation appropriée de l'erreur de mesure (résidu pour longueur et interaction L.D. ; animaux pour durée), les variances de PC et de C_L afférentes à l'effet de la longueur du muscle et à l'effet de la durée de stimulation sont très élevées : il faut en conclure que ces deux facteurs influencent très nettement les taux de PC et de C_L , mais n'affectent pas le taux d'ATP, dont les variances sont de l'ordre de celle de l'erreur de mesure. La variance de l'interaction longueur-durée est très élevée pour PC, mais faible pour C_L : ce fait indique que la variation

de PC provoquée par une augmentation de la durée de tétanisation dépend de la longueur du muscle, autrement dit, que le taux de métabolisme stable est différent aux deux longueurs étudiées. Enfin, il est intéressant de noter au passage que la variance due au fait que l'on utilise des animaux différents n'est pas significativement différente du résidu pour PC et pour C_L , mais l'est pour l'ATP. Ceci signifie que les variations de PC ou de C_L entre des muscles d'animaux différents ne sont guère supérieures ici aux variations mesurées entre les muscles homologues du même animal.

TABLEAU 9

Influence de la longueur du muscle sur le métabolisme stable

Longueur du muscle	105 % l_0				55 % l_0			
Durée du tétanos	6 sec	18 sec	Différence	Taux d'hydrolyse micro-mole/g/sec	6 sec	18 sec	Différence /	Taux d'hydrolyse micro-mole/g/sec
PC micromoles/g	15,89 ± 0,56	8,95 ± 0,56	— 6,94 ± 0,79	— 0,58 ± 0,07	16,16 ± 0,56	18,93 ± 0,56	— 3,24 ± 0,79	— 0,27 ± 0,07
C_L micromoles/g	11,01 ± 0,75	17,63 ± 0,75	6,62 ± 1,1	0,55 ± 0,09	10,01 ± 0,75	13,82 ± 0,75	3,81 ± 1,1	0,32 ± 0,09
ATP micromoles/g	4,41 ± 0,26	4,28 ± 0,26	— 0,13 ± 0,37		4,44 ± 0,26	4,47 ± 0,26	+ 0,03 ± 0,37	
Tension moyenne kg/cm ²	2,42	2,10			0,34	0,31		
Tension temps 10 ³ gsec/cm ²	14,50 ± 0,92	37,74 ± 0,92	+ 23,24		2,01 ± 0,92	5,50 ± 0,92	+ 3,49	

Expérience n° 420 à 448. Comparaisons de paires de muscles excités un temps identique à des longueurs différentes. Nombres de muscles recevant un quelconque des quatre traitements : 13 ; nombre total de muscles utilisés : 52.

Le tableau 9 reproduit les moyennes calculées affectées de leurs erreurs standards. On évalue le métabolisme stable en divisant par 12 la différence entre les moyennes de PC ou de C_L obtenues après 6 ou 18 secondes de téτανisation. Les estimations basées sur C_L sont de $0,55 \pm 0,09$ micromole/g/sec à la longueur de 105 % l_0 , et de $0,32 \pm 0,09$ micromole/g/sec à la longueur de 55 % l_0 . Les estimations basées sur PC sont respectivement de $-0,58 \pm 0,07$ micromole/g/sec à 105 % l_0 et de $-0,27 \pm 0,07$ micromole/g/sec à 55 % l_0 . Le métabolisme stable à 55 % l_0 atteint donc la moitié du métabolisme stable à 105 % l_0 , tandis que la tension développée dans les deux cas est respectivement de 2,1 kg/cm² à 105 % l_0 et de 0,31 kg/cm² à 55 % l_0 .

D) DISCUSSION.

1) Evaluation du métabolisme stable.

a. — Chez *R. temporaria*, l'évaluation du métabolisme stable basée sur l'apparition de C_L en fonction de la durée de téτανisation est appréciablement plus élevée que celle basée sur la diminution de PC dans deux séries expérimentales sur trois (cfr tableau 10, qui résume les résultats). Dans une expérience que nous décrirons ultérieurement (chapitre III, § 2, B), nous avons observé qu'un muscle stimulé par 6 téτανos de 3 secondes libère $14,29 \pm 0,55$ micromoles de C_L /g, mais qu'il n'hydrolyse que $12,41 \pm 0,59$ micromoles de PC/g : la différence entre les deux estimations est de $1,87 \pm 0,82$, et est très nette avec un t de 2,28 ($P < 0,05$; $n = 39$). Nous devons donc admettre que, apparemment, un muscle libère plus de C_L durant un téτανos qu'il ne consomme de PC. D'ailleurs, on observe que la créatine totale du muscle augmente avec la durée de téτανisation ; dans les expériences n° 56 à 109, la C_T augmente d'environ 0,07 micromole/g/sec, et dans les expériences n° 216 à 316, elle augmente de 0,245 micromole/g/sec et compense presque exactement les différences entre les variations de C_L et de PC, qui sont respectivement de 0,06 micromole/g/sec et de 0,287 micromole/g/sec (cfr tableau 10).

Comme la C_T est exprimée par gramme de muscle, on pourrait concevoir que son augmentation au cours de la téτανisation s'explique parce que le poids du muscle stimulé diminuerait. En fait, dans les expériences décrites au tableau 6, on ne remarque aucune corrélation entre le taux de C_T et le poids des muscles, quoique les poids moyens des muscles des différents groupes varient appréciablement. Dans les expériences décrites au tableau 24, les poids moyens des muscles groupés

TABLEAU 10

Estimations du métabolisme stable du sartorius de *R. temporaria*
en micromole/g/sec

Sources des estimations expériences n°	Estimations basées sur les variations de C _L	Estimations basées sur les variations de PC	Différences	n
56 à 109	0,49 ± 0,03	— 0,43 ± 0,02	0,062 ± 0,031	64
216 à 316	0,66 ± 0,09	— 0,37 ± 0,06	0,287 ± 0,103	72
420 à 448	0,55 ± 0,07	— 0,58 ± 0,08	0,030 ± 0,080	26
Moyenne générale pesée :	0,51 ± 0,07	— 0,43 ± 0,06	0,08 ± 0,08	162

selon le traitement qu'ils reçoivent, sont très voisins à cause de la structure particulière de cette expérience (blocs balancés incomplets) : il n'y a pas non plus de corrélation entre la C_T des muscles et leur poids, quoique les muscles stimulés possèdent plus de C_T que les muscles au repos.

Tout se passe donc comme si la C_T du muscle augmentait avec la durée de stimulation. Il n'est pas possible d'interpréter ce fait à l'heure actuelle. Une erreur systématique paraît peu probable, à cause de la randomisation poussée des expériences. Il se pourrait que cette augmentation apparente de C_T résulte de certaines particularités mal connues de la réaction d'identification que nous avons utilisée. La réaction de la créatine avec l'alpha-naphtol et le diacétyl est inhibée par les composés sulfhydryles. Sans doute, n'y a-t-il pas de tels composés sulfhydryles, dans nos extraits de muscle, mais il est fort concevable que d'autres substances agissent d'une façon semblable. Il faudrait alors admettre que la stimulation diminue le taux de ces substances dans les extraits musculaires. Cette hypothèse paraît peu plausible, car les extraits de muscle au repos ne contiennent pas d'inhibiteurs de la réaction du diacétyl, puisque la créatine ajoutée à l'extrait est entièrement récupérée. Par ailleurs, l'hydrolyse acide que nous utilisons pour scinder la PC n'est pas très spécifique et pourrait peut-être influencer des substances libérées au cours de l'activité musculaire. Une dernière possibilité est qu'une substance X soit libérée par la stimulation ; cette substance

pourrait être présente dans l'extrait brut de muscle soit sous une forme libre, soit sous une forme liée. Si elle se trouve sous forme libre, elle serait dosée avec la C_L , et en gonflerait l'évaluation ; si elle se trouve sous forme liée, elle serait libérée durant l'hydrolyse acide de la PC (cfr méthodes de dosage, 2^e partie, chapitre III, § 2) et augmenterait l'évaluation de la C_T . Comme la PC est, par définition, la différence $C_T - C_L$, on comprend que dans ce cas les variations réelles de PC soient amorties. La nature de X est indéterminée ; tout ce que nous pouvons affirmer est que X réagit avec l'alpha-naphtol et le diacétyl, comme la créatine. Il se pourrait naturellement que ce soit effectivement de la créatine ou de la phosphorylcréatine. De toute façon, il y a là un problème intéressant qui mériterait une investigation particulière.

Cette incertitude quant à la signification de l'augmentation de la C_T au cours de la stimulation nous empêche de déterminer quelle est la meilleure estimation du métabolisme stable de la PC. Nous ne possédons aucun critère qui permette de déterminer si la meilleure estimation du métabolisme stable est celle basée sur les variations de C_L , soit 0,51 micromole/g/sec, ou si ce n'est pas plutôt celle basée sur la différence $C_T - C_L$, qui est de 0,43 micromole/g/sec.

Il est intéressant de souligner que ce désaccord entre les estimations selon les variations de C_L et celles selon les variations de PC ne survient que lorsqu'on varie la durée de stimulation. L'estimation de l'extramétabolisme selon les variations de C_L est peut-être un peu plus élevée que celle estimée d'après les variations de PC (cfr chapitre II, § 1) : l'existence d'un extramétabolisme de la C_T est possible, mais elle n'est certes pas démontrée. Quant à l'effet des variations de longueur du muscle durant le téтанos, il semble exister une tendance de la C_T à augmenter durant le raccourcissement et à diminuer durant l'allongement (qu'il soit rapide ou lent) : ces variations sont toutefois faibles et pourraient être purement accidentelles.

b. — Chez *R. pipiens*, l'intensité du métabolisme stable estimée d'après les variations de C_L en fonction de la durée de stimulation n'atteint que 0,28 micromole/g/sec, soit 55 % seulement de l'estimation correspondante pour *R. temporaria*. Nous ne possédons guère de données sur les variations de la PC estimées d'après la différence $C_T - C_L$.

2) Evolution temporelle du métabolisme stable.

Le muscle sartorius hydrolyse de la PC à une vitesse sensiblement constante durant un téтанos isométrique. Par ailleurs, la tension téтанique que développe le muscle ne reste pas constante, surtout si le téтанos est prolongé.

Après 30 à 40 secondes, on observe une chute brutale de la tension chez *R. temporaria*. Cet effondrement de la tension est plus tardif chez *R. pipiens*, où il ne survient qu'après 60 secondes. Il est probable que cette chute est directement liée au niveau de la PC (ou de l'ATP ?) qui doit baisser en dessous de 2 micromoles/g après de tels tétanos. La résistance différente à l'effondrement que présentent les deux espèces s'explique sans doute par le jeu additif de deux facteurs : le taux initial de PC est légèrement supérieur chez *R. pipiens* (18 à 21 micromoles/g) que chez *R. temporaria* (16 à 20 micromoles/g), et cette réserve est épuisée moins rapidement chez *R. pipiens* que chez *R. temporaria* à cause de son métabolisme stable moins élevé.

Nous avons admis jusqu'ici dans toutes nos analyses que la quantité de PC hydrolysée est une fonction linéaire du temps. Il convient d'examiner plus critiquement cette hypothèse. D'abord, du côté des faits : nos résultats s'expliquent certes entièrement par une telle fonction linéaire, mais leur précision n'est pas suffisante pour *exclure* la possibilité d'une relation curvi-linéaire. Car du côté théorique, on se heurte en effet à une difficulté. Le rapport h_B/Pl (où h_B est le taux de production de chaleur de maintien, P la tension du muscle et l sa longueur) reste constant au cours d'un tétanos même prolongé (FENG, 1931 ; AUBERT, 1956 a) ; ce fait implique que le taux de production de chaleur de maintien doit diminuer proportionnellement à la tension. Or, durant les tétanos prolongés que subissent les muscles la tension diminue progressivement, avant même d'atteindre le point d'effondrement que nous décrivions plus haut. Une alternative s'ouvre. Ou bien nous considérons que la vitesse d'hydrolyse de PC est réellement constante au cours d'un tétanos prolongé, bien que tension et débit de chaleur diminuent : dans ce cas il faut admettre l'apparition d'une réaction endothermique d'intensité proportionnelle au déficit de tension. Ou bien il faut admettre que la vitesse d'hydrolyse de PC n'est pas constante, mais diminue d'une façon proportionnelle à la tension de la même manière que h_B . Cette dernière interprétation paraît la plus simple, sinon la plus probable. Elle revient à admettre qu'au cours du temps un nombre croissant d'unités contractiles cessent de fonctionner, ce qui entraîne une diminution concomitante de la tension, de la thermogénèse et du métabolisme stable de PC. Dès lors, il convient de corriger le métabolisme stable de la PC pour la chute de tension, ce qui revient à évaluer l'intensité du catabolisme de la PC en supposant que la tension du muscle n'ait pas changé. Une façon naturelle d'opérer cette correction est de multiplier la PC hydrolysée après un temps t de tétanisation par le

rapport de la tension au temps t à la tension au début de la téτανisation, et de réévaluer la régression PC-durée à partir de ces nouvelles valeurs. Après une correction de cette sorte, le métabolisme stable de *R. pipiens* passe de 0,28 à 0,32 micromole/g/sec (MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963). Quant à *R. temporaria* la correction pour la tension dans la première série d'expériences augmente le métabolisme stable de 0,49 à 0,70 micromole C_L /g/sec et de 0,43 à 0,65 micromole PC/g/sec. La deuxième série d'expériences ne soit subir aucune correction, puisque la tension moyenne ne varie guère : le métabolisme stable y est de 0,66 micromole C_L /g/sec ou de 0,37 micromole PC/g/sec. Dans la troisième série d'expériences, l'estimation du métabolisme stable passe à 0,67 micromole C_L /g/sec et 0,63 micromole PC/g/sec. On peut admettre qu'après correction pour la diminution de tension durant le téτανos, le métabolisme stable de *R. temporaria* est de 0,60 micromole/g/sec ou de 0,70 micromole/g/sec, selon qu'on l'estime d'après les variations de PC ou d'après les variations de C_L .

3) Comparaison du métabolisme stable et de la chaleur de maintien.

Le taux de production de la chaleur de maintien de la contraction isométrique à 0°C chez *R. temporaria* en Ringer phosphate est de 3,6 mcal/g/sec en moyenne (AUBERT 1956 a, tableau XII, p. 48). Ce taux n'est pas affecté par l'intoxication monoiodoacétique (FENG, 1931 ; AUBERT, 1956 a). Quelques expériences que j'avais entreprises pour étudier ce fait avaient semblé plaider en faveur d'une diminution de la chaleur de maintien sous l'effet de l'intoxication iodoacétique, mais elles furent infirmées par des expériences ultérieures plus soignées. On peut donc calculer l'enthalpie apparente de l'hydrolyse de PC *in vivo*. Il faut toutefois tenir compte de ce que la température durant nos expériences est d'environ 2°C, et que le Q_{10} de la chaleur de maintien par gramme de muscle est très élevé, de l'ordre de 5 (AUBERT, 1956 a). Le taux de production de la chaleur de maintien augmente donc de 3,6 mcal/g/sec à 0°C à 4,9 mcal/g/sec à 2°C. L'enthalpie apparente de l'hydrolyse de la PC s'obtient en divisant ce chiffre par l'estimation moyenne de PC hydrolysée soit — 0,60 micromole/g/sec ou — 0,70 micromole/g/sec. On trouve — 8,2 kcal/mole (estimé selon PC) ou — 7,0 kcal/mole (estimé selon C_L).

Cette estimation est inférieure à celle de CARLSON et SIGER (1960) de — 9,6 à — 11,5 kcal/mole, et à celle de MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) de — 10 kcal/mole ; mais ces différences peuvent peut-être s'expliquer par le fait que ces auteurs mesurent la PC hydrolysée sur

sartorius de *R. pipiens* et la comparent à des données de thermogénèse obtenues sur *R. temporaria*. Or nous avons montré plus haut que le métabolisme stable de la PC diffère appréciablement dans les deux espèces : il faut donc éviter de combiner des données recueillies sur des espèces différentes. CARLSON, HARDY et WILKIE (1962) ont mesuré simultanément sur des *sartorius* de *R. pipiens* la chaleur dégagée au cours de contractions isométriques et la PC hydrolysée. Ils trouvent une enthalpie de $-9,65$ kcal/mole pour 30 secousses isométriques, ce qui est une valeur qui peut être considérée comme en bon accord avec la nôtre. Mais ils trouvent $-14,5$ kcal/mole pour un tétanos de 30 secondes. De cette différence observée entre secousses et tétanos, ils concluent qu'il existerait une seconde réaction exothermique à côté de l'hydrolyse de PC durant un tétanos isométrique. Il est possible que la réaction que postulent ces auteurs soit précisément celle qui provoque une augmentation de la C_T dans nos expériences. Mais nous croyons que nos résultats s'accordent difficilement avec une telle interprétation. En effet, l'enthalpie de -7 à $-8,2$ kcal/mole que nous trouvons est déjà fort basse, comparée aux -10 à -12 kcal/mole que l'on calcule à partir des données théoriques (cfr 1^{re} partie). Si l'on admettait qu'une autre réaction exothermique se superpose à l'hydrolyse de la PC, l'enthalpie de cette dernière devrait être inférieure à $-8,2$ kcal/mole et l'écart entre les valeurs expérimentales et théoriques de $-\Delta H$ deviendrait inadmissible. Par ailleurs, on pourrait critiquer notre évaluation du métabolisme stable et la trouver trop grande. Pourtant, même si l'on utilise la plus petite valeur que nous ayons observée, soit $0,37$ micromole/g/sec, l'évaluation de l'enthalpie ne monterait qu'à $-4,9/0,37$ soit $-13,7$ kcal/mole, valeur qui laisse peu de place à l'existence d'une seconde réaction exothermique.

L'influence de la longueur du muscle sur le métabolisme stable corrobore encore cette opinion. Une diminution suffisante de la longueur du muscle abaisse le taux de chaleur de maintien et le taux d'hydrolyse de la PC dans une même proportion, soit environ de moitié. En effet, le métabolisme stable, correction faite pour la diminution de tension, est de $0,63$ micromole PC/g/sec à 105% l_0 , et de $0,31$ micromole PC/g/sec à 55% l_0 . Le taux de chaleur de maintien, corrigé pour une température de 20°C , est de $4,9$ mcal/g/sec à 105% l_0 , et de $1,7 \times 1,38$ soit $2,3$ mcal/g/sec à la courte longueur (d'après AUBERT 1956 a, p. 175, tableau XVII ; le facteur $1,38$ résulte du $Q_{10} = 5$ du taux de la chaleur de maintien). Les enthalpies sont donc quasi égales aux deux longueurs : $-4,9/0,63 = -7,8$ kcal/mole à la grande longueur, et $-2,3/0,31 = -7,4$ kcal/mole à la longueur courte.

Nous concluons que l'hydrolyse de la PC suffit à expliquer la chaleur de maintien, et que l'enthalpie de cette réaction *in vivo* est de $-7,0$ à $-8,2$ kcal/mole chez *R. temporaria* dans nos conditions expérimentales.

§ 2. L'extramétabolisme.

La quantité de PC hydrolysée durant une série de tétanos ne dépend pas seulement de la durée totale de la stimulation, comme nous l'avons étudié au paragraphe précédent, mais encore du nombre de tétanos. Il existe deux méthodes générales pour mesurer cet effet. Dans la première méthode, on extrapole une régression PC-durée de tétanisation au temps zéro : la différence entre la PC du muscle au repos et l'extrapolation est divisée par le nombre de tétanos et égale l'extramétabolisme. Dans la seconde on tétanise les deux muscles de la même paire par des tétanos de durées différentes combinés de telle sorte que la durée totale de stimulation reste constante. Le muscle qui reçoit le plus grand nombre de tétanos est aussi celui qui hydrolyse le plus de PC. L'excès de PC hydrolysée divisé par la différence du nombre de tétanos est une mesure moyenne de l'extramétabolisme.

Nous avons étudié l'extramétabolisme chez *R. pipiens* et *R. temporaria*. Nous exposerons successivement les résultats obtenus chez les deux espèces.

A) L'EXTRAMÉTABOLISME CHEZ *R. Pipiens*.

Dans une première série d'expériences, on a simplement stimulé un muscle par un tétanos de 6 secondes, et le muscle homologue par six tétanos de une seconde. La créatine libre moyenne de 17 expériences atteignait 11,5 micromoles/g dans le premier cas, contre 14,1 micromoles/g dans le second. La différence de 2,6 micromoles/g divisée par la différence du nombre de tétanos, soit 5, égale 0,52 micromole C_L /g/tétanos. C'est l'estimation la plus élevée que nous ayons observée chez *R. pipiens*. Dans une autre série expérimentale, on a comparé les huit traitements suivants : muscle au repos ; un seul tétanos de 36 ou de 60 secondes ; six tétanos de 2, 4, 6, 8 ou 10 secondes. Les moyennes de 7 muscles par traitement figurent au graphique 11. On calcule les deux régressions afférentes aux moyennes qui ont le même nombre de tétanos ; les pentes des deux régressions sont identiques et égales à 0,27 micromole/g/sec. La différence des ordonnées à l'origine est de 1,25 micromoles/g, ce qui indique un extramétabolisme de 0,25 micromole/g/tétanos. MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963), auxquels nous

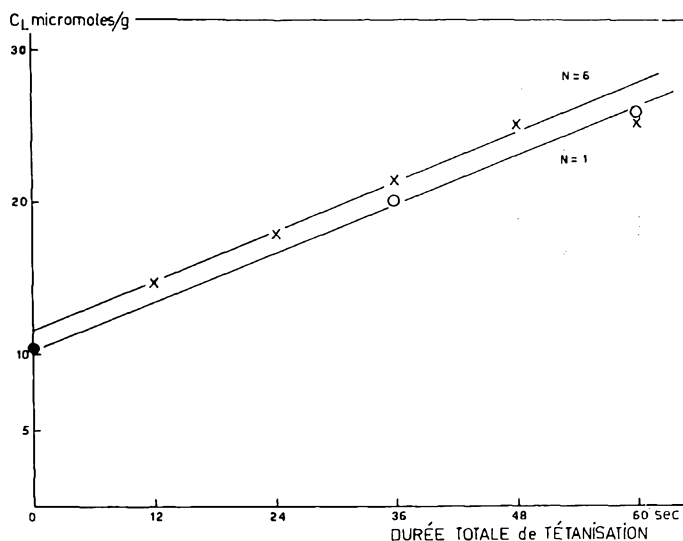


FIG. 11. Effet du nombre de tétanos sur l'hydrolyse de la PC (Sartorius de *R. pipiens*). Chaque point est la moyenne de la créatine libre de 7 muscles, et a une déviation standard de 1,31. ● : muscles au repos ; O : muscles qui reçoivent un seul tétanos de 36 ou de 60 secondes ; X : muscles qui reçoivent six tétanos de 2, 4, 6, 8 ou 10 secondes. Les deux droites sont parallèles, avec une pente de 0,27 micromole/g/sec. (d'après MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963).

empruntons la brève description des expériences qui précèdent, rapportent encore d'autres expériences, d'où il ressort que l'extramétabolisme moyen chez *R. pipiens* est de 0,33 micromole/g/tétanos, avec des écarts assez importants, allant de 0,11 à 0,52 micromole/g/tétanos.

B) L'EXTRAMÉTABOLISME CHEZ *R. temporaria*.

Trois séries d'expériences permettent d'évaluer l'extramétabolisme de *R. temporaria*. Les deux premières ont déjà servi à évaluer le métabolisme stable de la PC, et ont été décrites en détail à ce propos (cfr § 1 de ce chapitre). Nous nous bornerons à exposer brièvement comment on peut évaluer l'extramétabolisme dans ces expériences.

1. — La première série expérimentale (expériences n° 56 à 109) comporte cinq traitements administrés chacun à huit paires de muscles. Les moyennes des muscles stimulés par six tétanos de $\frac{1}{2}$, 1, 2 et 4 secondes permettent de calculer les régressions de PC et de C_L en fonction de la durée de tétanisation (cfr tableau 6). L'extrapolation à l'origine

de la droite de régression relative à PC est de 11,63 micromoles/g, soit 4,59 micromoles/g en moins que la quantité de PC du muscle au repos (tableau 11). Cet excès résulte de la sommation de l'extramétabolisme de six tétanos ; l'extramétabolisme par tétanos est donc de 0,77 micromole/g. De manière analogue, la régression de la C_L sur la durée fournit une extrapolation à l'origine de 6,33 micromoles/g, soit un extramétabolisme de 1,05 micromoles/g/tétanos. La différence entre les deux estimations est de $0,28 \pm 0,23$ et est de l'ordre des erreurs de mesure. L'estimation moyenne de l'extramétabolisme est de $0,91 \pm 0,17$ micromole/g/tétanos.

TABLEAU 11

Première estimation de l'extramétabolisme ; expériences n° 56 à 109

Sources de l'estimation	Taux du muscle au repos micromoles/g	Extrapolation des régressions à l'origine micromoles/g	Différences	Extramétabolisme micromoles/g pour 1 tétanos
D'après C_L	$5,03 \pm 0,41$	$11,36 \pm 1,10$	$+ 6,33 \pm 1,18$	$1,05 \pm 0,20$
D'après PC	$16,22 \pm 0,26$	$11,63 \pm 0,69$	$- 4,59 \pm 0,74$	$0,77 \pm 0,12$
Moyenne				$0,91 \pm 0,17$

2. — La deuxième série expérimentale (n° 216 à 316) comporte comme la première un groupe de muscles au repos, et un groupe de muscles téтанisés suivant des modalités diverses : six tétanos de une seconde, de 3 sec ou de 4 sec (cfr tableau 7). L'extrapolation des régressions et le calcul de l'extramétabolisme se fait comme pour la série précédente. L'évaluation basée sur PC est de $0,82 \pm 0,11$ micromole/g/tétanos et celle basée sur C_L atteint $0,77 \pm 0,18$ micromole/g/tétanos. Les deux évaluations sont en bon accord, et on estime l'extramétabolisme moyen à $0,79 \pm 0,15$ micromole/g/tétanos.

3. — La troisième évaluation de l'extramétabolisme s'obtient d'une manière toute différente, à partir des expériences n° 329 à 418 et 420 à 448. On compare l'effet de 6 tétanos de 3 secondes à celui d'un tétanos de 18 secondes (tableau 12). Dans le premier cas, la C_L est de 21,63 micromoles/g et la PC de 8,95 micromoles/g. L'augmentation du nombre

TABLEAU 12

Troisième estimation de l'extramétabolisme d'après les expériences n° 329 à 418 et 420 à 448

Comparaison	6 tétanos de 3 secondes (329-418)	1 tétanos de 18 secondes (420-448)	Différences	Extramétabolisme micromole/g pour 1 tétanos
C_L micromoles/g	$21,63 \pm 0,39$	$17,63 \pm 0,77$	$-4,00 \pm 0,86$	$0,80 \pm 0,17$
PC micromoles/g	$6,22 \pm 0,46$	$8,95 \pm 0,56$	$+2,73 \pm 0,72$	$0,55 \pm 0,12$
Moyenne				$0,68 \pm 0,15$

de tétanos à durée totale de tétanisation constante, provoque donc une consommation accrue de 2,73 micromoles PC/g ou une production accrue de 4,0 micromoles C_L /g. Divisant cet excès par la différence des nombres de tétanos, on évalue l'extramétabolisme à 0,55 micromole PC/g/tétanos ou 0,80 micromole C_L /g/tétanos. La différence des estimations, $0,25 \pm 0,21$, n'est pas significative. La meilleure estimation de l'extramétabolisme est donc la moyenne $0,68 \pm 0,15$ micromole/g/-tétanos.

Le tableau 13 rassemble les diverses estimations de l'extramétabolisme. On calcule que la moyenne pesée de l'extramétabolisme s'élève à $0,78 \pm 0,15$ micromole/g/tétanos.

Il importe de remarquer que ce concept d'extramétabolisme ne s'applique qu'au catabolisme de la PC. Nous ne possédons aucune information sur l'existence ou la possibilité d'un extramétabolisme de l'ATP.

C) DISCUSSION.

L'existence d'un catabolisme particulier de la PC associé au nombre de tétanos implique une exacerbation des dépenses énergétiques au moment de l'apparition de la tension, ou une continuation de l'hydrolyse de la PC pendant la relaxation, voire même pendant un certain temps après la contraction.

TABLEAU 13

Moyennes générales des diverses estimations de l'extramétabolisme
en micromoles/g pour 1 tétanos

Source de l'estimation expériences n°	D'après les variations de créatine libre	D'après les variations de phospho- rylcréatine	Moyennes	Nombre de muscles
56 à 109	1,05 ± 0,20	0,77 ± 0,12	0,91 ± 0,17	32
216 à 316	0,77 ± 0,18	0,82 ± 0,11	0,79 ± 0,15	72
329 à 448	0,80 ± 0,17	0,55 ± 0,12	0,68 ± 0,15	52
Moyenne générale pesée			0,78 ± 0,15	156

Il est possible d'évaluer théoriquement la grandeur des dépenses énergétiques qui *ne sont pas* associées aux dépenses de maintien durant un tétanos (fraction A de l'équation 2, 1^{re} partie). Tout d'abord le muscle doit fournir du travail élastique pour développer sa tension. Ce travail sert à étirer les éléments élastiques-séries du muscle lui-même et le système d'enregistrement de la tension ; si on suppose que le muscle développe une tension de 100 g, on peut estimer ces deux postes respectivement à 0,4 mcal/g et à 0,3 mcal/g. Ce travail est intégralement dissipé en chaleur lors de la relaxation, et doit donc être couvert par une hydrolyse de PC (cfr chapitre III). Les chaleurs thermoélastiques résultent de phénomènes physiques réversibles, et il ne faut donc pas en tenir compte. La chaleur de raccourcissement durant un tétanos isométrique est faible, de 0,2 mcal/g (HILL, 1961), mais il est au moins douteux qu'une hydrolyse de PC lui corresponde (CARLSON, HARDY et WILKIE, 1963). Il vaut mieux négliger ce poste : il est d'ailleurs peu important et son inclusion ou son exclusion ne modifie guère l'extramétabolisme théorique. Après le dernier stimulus il y a une quantité appréciable de chaleur qui est dégagée en sus de la dégradation du travail élastique (cfr AUBERT 1956 a, p. 118). L'évaluation exacte de cette chaleur résiduelle de maintien, comme HILL (1961) l'appelle, est très aléatoire. Cela est d'autant plus regrettable qu'il s'agit d'un poste énergétique important, de l'ordre de 1,8 mcal/g selon HILL (1961). Le total des

différentes dépenses énergétiques à couvrir par l'extramétabolisme de la PC s'élève jusqu'ici à 2,5 mcal/g/tétanos. Cette estimation vaut pour le *sartorius* de *R. temporaria* à 0°C, et il est sans doute fort dangereux de l'extrapoler au *sartorius* de *R. pipiens* comme l'on fait MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963). Par ailleurs, il ne semble pas nécessaire d'appliquer à cette évaluation une correction de température car le Q_{10} de la chaleur résiduelle de maintien semble très voisin de 1 (HILL, 1961). L'extramétabolisme théorique de 2,5 mcal/g/tétanos ne peut suffire à expliquer l'extramétabolisme de la PC qui est de 0,78 micromole/g/tétanos, car l'enthalpie d'hydrolyse ne serait que de — 3,2 kcal/mole, ce qui est inacceptable. On pourrait penser que l'extramétabolisme de la PC est surestimé ; son erreur de mesure est de 0,15 et un extramétabolisme de 0,48 micromole/g/tétanos serait en dehors de l'évaluation correcte avec 95 % de chance. Pourtant l'enthalpie calculée à partir de cette valeur n'atteindrait encore que — 5,2 kcal/mole, ce qui est encore insuffisant.

Un poste théorique supplémentaire pour l'extramétabolisme est fourni par la chaleur labile de maintien d'AUBERT (1956 a). Cet auteur a montré que la chaleur de maintien n'est pas constante dès le début du téτανos, mais diminue exponentiellement d'une valeur $b_A + b_B$ initiale vers un plateau b_B . Le taux de la chaleur de maintien est une fonction du temps de la forme (eq. 3, 1^{re} partie) :

$$b = b_A e^{-at} + b_B \quad (3)$$

Le terme $b_A e^{-at}$ est la chaleur de maintien labile : sa grandeur totale b_A/a est de l'ordre de 4,5 mcal/g (AUBERT 1956 a, tableau XII, p. 148). Si cette chaleur labile survenait identique à chaque téτανos consécutif, l'extramétabolisme serait de 2,5 + 4,5 soit 7,0 mcal/g/tétanos. L'enthalpie d'hydrolyse de la PC serait de — 9,0 kcal/mole, ce qui est une estimation très raisonnable.

Cette interprétation se heurte malheureusement à une très grande difficulté. La chaleur labile de maintien présente une fatigabilité remarquable. Elle est quasi absente d'un téτανos qui suit à moins de 20 secondes un premier téτανos conditionnant, puis elle réapparaît progressivement lorsque l'intervalle entre les deux téτανos consécutifs est prolongé. Sa réparation complète, quoique fort avancée en l'espace de deux minutes, exige dix à vingt minutes (AUBERT et MARÉCHAL, 1963 a ; AUBERT, 1964). Or, dans les expériences qui ont servi de base à l'évaluation de l'extramétabolisme de la PC, on répète les téτανos à des intervalles relativement courts, 30 secondes généralement. S'il est quasi certain que le

premier tétanos de la série présente une chaleur labile de maintien, on peut douter que les tétanos suivants la montrent au même degré. Dès lors, la chaleur labile de maintien ne peut guère contribuer à l'extramétabolisme que pour une faible fraction qui ne dépasse sans doute pas 1 mcal/g, si l'on admet que l'effet de la chaleur labile de maintien du premier tétanos est réparti dans la série des 6 tétanos habituels. Nous restons donc avec un excès de PC hydrolysée relatif à l'énergie dépensée par le muscle.

Dans un effort pour éclaircir cette question, nous avons étudié l'effet d'une variation de l'intervalle entre les tétanos sur l'extramétabolisme de la PC. Trente-deux paires de muscles reçoivent un nombre égal de tétanos identiques. L'intervalle entre les tétanos est de 5 secondes pour un muscle, et de 60 secondes pour le muscle homologue. Le tableau 14 groupe les résultats obtenus. Les muscles stimulés à de longs intervalles ont *plus* de PC que ceux stimulés à de courts intervalles. L'effet est donc en sens contraire de celui attendu : car si la chaleur de maintien labile avait quelque peu réapparu durant l'intervalle de 60 secondes, il aurait fallu que la consommation de PC soit plus forte lorsque l'intervalle est plus long. L'effet opposé que l'on observe pourrait tenir peut-être à la légère différence des tensions moyennes : la forme des myogrammes est en effet assez différente dans les deux séries.

TABLEAU 14

Influence de l'intervalle entre 6 tétanos consécutifs sur
l'utilisation de la phosphorylcréatine

	C _L micromoles/g	PC micromoles/g	Tension moyenne kg/cm ²	Poids mg	"
Intervalles de 60 sec	16,55	7,03	2,15	75,6	32
Intervalles de 5 sec	17,33	6,51	2,22	75,7	32
Différences	- 0,78 ± 0,41	+ 0,52 ± 0,25			

Expériences n° 59 à 109. La différence en C_L n'est pas significativement différente de zéro ; la différence en PC l'est au palier de 5 %.

L'extra-énergie dégagée durant le tétanos ne paraît devoir rendre compte que d'une fraction de l'extramétabolisme de la PC. Si nous admettons une enthalpie d'hydrolyse de la PC de $-8,2$ kcal/mole (cfr § 1 du présent chapitre), la chaleur dégagée devrait s'élever à $6,4$ mcal/g. Or l'extra-énergie libérée durant le tétanos atteint à peine $2,8$ mcal/g, et peut-être 4 mcal/g si on y inclut la chaleur de maintien labile. Il subsiste un désaccord d'au moins 2 à 3 mcal/g.

Il n'existe guère que deux possibilités d'interpréter ce désaccord. Ou bien nous sous-estimons l'énergie dépensée durant le tétanos sous forme de chaleur ou de travail ; ou bien nous surestimons la quantité de PC consommée durant le tétanos, ce qui implique forcément qu'une partie de la PC hydrolysée est utilisée après le tétanos.

Le seul poste de l'extra-énergie qui pourrait sérieusement être sous-estimé est la chaleur résiduelle de maintien qui suit le dernier stimulus. La vitesse de relaxation diminue lorsqu'on répète les tétanos : dans nos tracés la relaxation du dernier tétanos exige $0,5$ à 1 seconde, alors que la relaxation du premier tétanos est complète en $0,5$ seconde. Il est fort concevable que la prolongation du maintien de la tension s'accompagne d'une hydrolyse correspondante de PC. Mais dans l'ignorance où nous sommes de l'évolution de la chaleur de relâchement lors de tétanos répétés, il n'est pas possible de pousser l'analyse plus loin.

Quant à l'existence d'une hydrolyse post-contractile de la PC, elle n'est pas démontrée sans ambiguïté. Déjà LUNDGAARD (1930) avait observé une hydrolyse de PC consécutive à l'activité du muscle. Selon DISTÈCHE (1960) l'alcalinisation du muscle augmente brutalement à la fin d'un tétanos et se poursuit pendant quelques secondes ; il est d'avis que cette alcalinisation reflète une hydrolyse post-contractile de la PC. Par ailleurs SPRONCK (1962) a trouvé une hydrolyse de $0,9$ micromole de PC endéans les 60 secondes qui suivent cinq secousses. Il explique une partie de cette hydrolyse de PC par une estérification des hexoses monophosphates en hexoses diphosphates, dont la concentration augmente parallèlement de $0,3$ micromole/g. On pourrait expliquer le déficit signalé plus haut, à condition qu'une telle estérification survienne après chaque tétanos. Il faut pourtant ajouter que nos expériences personnelles plaident contre une telle conception. L'allongement de l'intervalle entre les tétanos voit plutôt augmenter la concentration en PC (cfr tableau 14), ce qui implique une réduction de l'hydrolyse. De plus, MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) ne trouvent aucune différence de PC hydrolysée lorsque le muscle est congelé 1 , 10 , 100 ou 1000 secondes après la tétanisation.

En conclusion, il semble bien que l'extramétabolisme de la PC du *sartorius* de *R. temporaria* ne puisse pas s'expliquer dans son entièreté. Les dépenses énergétiques associées à l'activation et à la relaxation exigent l'hydrolyse d'une quantité de PC à peine supérieure à la moitié de celle que l'on observe effectivement. Le reste est utilisé au cours de processus qui sont encore indéterminés.

CHAPITRE III

LE MÉTABOLISME DE LA PC ET DE L'ATP ASSOCIÉ AU TRAVAIL

LE muscle en tétanos isométrique est le siège d'un catabolisme très actif de la PC et de l'ATP. Comme le muscle ne produit aucun travail (si ce n'est celui qui consiste à allonger au début du tétanos les éléments élastiques en série avec la machinerie contractile), toute l'énergie libérée par l'hydrolyse de la PC et de l'ATP est dégradée en chaleur. Il n'en va pas de même si la longueur du muscle change durant le tétanos, car l'énergie est alors échangée non seulement sous forme de chaleur, mais aussi sous forme de travail, et il est particulièrement intéressant d'étudier les variations concomitantes des bilans d'énergie et du métabolisme de la PC et de l'ATP.

On peut distinguer deux cas, suivant que l'on permet au muscle de se raccourcir durant le tétanos, ou qu'on l'étire de manière forcée.

Le muscle qui se raccourcit durant le tétanos produit du travail (travail positif) et, simultanément, augmente légèrement sa production de chaleur (cfr 1^{re} partie). La libération d'énergie supplémentaire durant le raccourcissement (effet FENN) doit être couverte par une hydrolyse supplémentaire de PC que nous avons effectivement retrouvée.

Durant un allongement forcé le muscle reçoit du travail (travail négatif). Le sort de ce travail négatif dépend de la vitesse à laquelle on étire le muscle.

A vitesse modérée d'allongement, on observe que le travail effectué contre le muscle n'est pas totalement dégradé en chaleur : une fraction importante peut disparaître. Corrélativement, nous trouvons que le muscle allongé consomme moins de PC que son contrôle stimulé isométriquement : le travail disparu a donc entraîné une économie de PC.

Si l'on étire rapidement un muscle, la production globale d'énergie (somme de la thermogénèse et du travail négatif) peut devenir nulle

au cours de l'allongement d'après HILL et HOWARTH (1959). Ces auteurs croient que les phénomènes qu'ils ont observés apportent la preuve que les phénomènes thermomécaniques de la contraction sont complètement réversibles. Néanmoins, le muscle étiré rapidement consomme plus de PC que le contrôle isométrique : si le travail est réellement absorbé durant un étirement rapide semblable à celui qu'utilisent HILL et HOWARTH (1959), il ne se retrouve pas sous forme d'une économie de PC.

Ce chapitre est divisé en deux parties qui traitent, la première, de l'effet de la production de travail positif sur le métabolisme de la PC et de l'ATP ; la seconde, de l'effet de la réception de travail négatif sur ces métabolismes.

§ 1. Le métabolisme du travail positif.

On peut contrôler la production de travail par le muscle de deux manières. Dans le premier mode on suspend un poids au muscle, la longueur du muscle entre les tétanos étant fixée par un taquet. Le muscle soulève le poids dès que la tension provoquée par la stimulation est suffisante, et la contraction s'opère à tension constante (contraction isotonique avec « *afterload* »). Dans le deuxième mode, on tétanise le muscle isométriquement et, dès que la tension maximum est atteinte, on laisse le muscle se raccourcir à une vitesse constante (tétanos avec détente). Nous examinerons séparément ces deux groupes d'expériences. Les résultats obtenus sont les mêmes dans les deux cas : la quantité de PC hydrolysée augmente avec le travail que produit le muscle.

Comme un muscle ne peut fournir du travail qu'en changeant sa longueur, il est possible de concevoir *a priori* que le métabolisme de la PC dépend du travail ou du raccourcissement ou des deux. Nous définissons sous le terme de constante mécano-chimique du travail le rapport du travail fourni par le muscle à la quantité de PC hydrolysée correspondante, et sous le terme de *constante* mécano-chimique du raccourcissement le rapport du raccourcissement du muscle à la quantité de PC hydrolysée correspondante. Dans les cas où il n'est pas possible de dissocier l'hydrolyse de la PC associée à la production de travail de celle associée au raccourcissement, nous appellerons *coefficient* mécano-chimique du travail le rapport du travail produit à la quantité de PC hydrolysée, sans distinguer si une fraction de cette PC est associée au raccourcissement.

A) CONTRACTION A TENSION CONSTANTE.

Nonante-trois paires de *sartorius* de *R. pipiens* sont montées sur l'appareil à congélation rapide de MOMMAERTS et SCHILLING (1955) et reliées à un levier isotonique à capacité variable construit par SCHILLING (1960). Un muscle de la paire est laissé en repos, et l'autre reçoit 12 téтанos de 400 msec. On change le poids appendu au levier isotonique d'une paire à l'autre, et on mesure le raccourcissement du muscle, le travail produit, la créatine libre et la créatine totale. Les résultats complets sont publiés dans MOMMAERTS, SERAYDARIAN et MARÉCHAL (1962). Le tableau 15 résume les observations globales. Il n'est pas possible de

TABLEAU 15

Métabolisme de la PC durant des téтанos isotoniques
de *sartorius* de *R. pipiens*

	Créatine libre micromoles/g	Créatine totale micromoles/g	Travail mcal/g	Raccourcisse- ment cm/cm
Muscles contrôles	7,42 ± 0,20	27,50 ± 0,34		
Muscles stimulés	14,62 ± 0,34	27,74 ± 0,35	18,08 ± 1,1	0,233 ± 0,013

Tableau tiré de MOMMAERTS, SERAYDAIN et MARÉCHAL (1962)

déduire de ces moyennes une influence quelconque du travail, parce que son effet est confondu avec l'effet de la téтанisation elle-même. Aussi avons-nous soumis les résultats individuels à une *analyse de régression multiple*. Selon HILL (1938), l'énergie totale que produit un muscle est :

$$E = Q_i + ax + W \quad (5)$$

où Q_i est l'énergie d'activation et de maintien, fonction de la longueur du muscle et de la durée de téтанisation, ax est la chaleur du raccourcissement x et W le travail produit. On peut supposer que chacun de ces postes doit être couvert par une mobilisation d'énergie provenant de l'hydrolyse de la PC, et que la quantité de PC hydrolysée est une fonction de la forme :

$$\Delta PC = B + b_s x + b_w W \quad (11)$$

où B est le métabolisme d'activation et de maintien, b_s l'inverse de la constante mécano-chimique du raccourcissement x , et b_w l'inverse de la constante mécano-chimique du travail W . Les résultats de l'analyse de régression multiple peuvent se décrire par :

$$\Delta PC = 5,42 + (0,896 \pm 2,16) x + (0,1095 \pm 0,00294) W \quad (12)$$

Si le raccourcissement x est exprimé en cm par cm de muscle, et si W est en mcal/g, ΔPC est donné en micromoles/g. Le premier terme représente le métabolisme « isométrique » des 12 tétanos. D'après les données du chapitre deux (3^e partie), on pourrait prévoir ce métabolisme « isométrique » : il devrait évaluer 12 fois le métabolisme de maintien d'un tétanos de 0,4 sec soit $12 \times 0,4 \text{ sec} \times 0,28 \text{ micromole/g/sec} = 1,34 \text{ micromoles/g}$, augmenté de l'extramétabolisme de $12 \times 0,33 = 3,96 \text{ micromoles/g}$, soit en tout, 5,30 micromoles par g. L'accord entre la prévision théorique (5,30) et la détermination expérimentale (5,42) est excellent. Le coefficient $0,896 \pm 2,16$ n'est pas statistiquement différent de zéro, et l'origine métabolique de la chaleur de raccourcissement reste problématique. En revanche, le coefficient du travail est très nettement significatif : $0,1095 \pm 0,00294$. La PC hydrolysée *en sus* du métabolisme « isométrique » produit 9,1 kcal de travail par mole de PC consommée.

B) CONTRACTIONS A VITESSE CONSTANTE.

Les expériences décrites au paragraphe A précédent souffrent toutefois de défauts qui affaiblissent la solidité des conclusions. On y compare des muscles qui se raccourcissent à des muscles au repos, et dès lors on confond le métabolisme « isométrique » et celui du travail : il serait souhaitable de comparer les muscles raccourcis à des muscles stimulés isométriquement, de façon à séparer nettement les deux métabolismes. En second lieu, les différents muscles soulèvent des poids différents et se raccourcissent d'autant moins que le poids est plus lourd ; le travail dépend donc du produit de ces deux facteurs, et par ailleurs le métabolisme « isométrique » dépend de la longueur du muscle (cfr chapitre II, C). Les différents facteurs sont tellement enchevêtrés qu'il est impossible de déduire l'effet du travail d'une façon directe. Nous avons été obligés de recourir à une analyse statistique compliquée, et on pourrait objecter que la séparation des différents facteurs ainsi réalisée ne soit après tout fort artificielle. Les postulats sur lesquels se base une telle analyse statistique ne sont d'ailleurs pas nécessairement vérifiés dans ces expériences, puisqu'on ne songe à faire l'analyse qu'après que les

expériences (décrites sous A) eussent été faites. Pour toutes ces raisons, nous avons pensé qu'une nouvelle investigation était nécessaire, où ces différents facteurs recevraient l'attention qu'ils méritent.

Nous avons réalisé deux nouvelles séries d'expériences sur *R. temporaria*. Dans les deux cas, on stimule les muscles isométriquement pendant quelques dixièmes de seconde, puis on les raccourcit de 0,5 cm (dans quelques cas de 1,0 cm) à une vitesse constante. Par ailleurs, d'autres muscles reçoivent des tétanos isométriques identiques en nombre et en durée à ceux des muscles qui se raccourcissent. Pour pallier la diminution du métabolisme avec la longueur, deux mesures sont prises. D'abord on choisit une zone de longueur où le métabolisme isométrique ne varie guère avec la longueur : c'est pourquoi on stimule les muscles à une longueur d'environ 105 % l_0 , et on les raccourcit de 0,5 cm jusqu'à une longueur d'environ 90 % l_0 . Dans cette zone de longueur, la tension isométrique ne change guère (AUBERT, ROQUET et VAN DER ELST, 1951) et la chaleur de maintien non plus (AUBERT, 1956 a). En second lieu les tétanos isométriques des muscles contrôles sont distribués par moitié à la longueur « longue » de 105 % l_0 , et par moitié à la longueur « courte » de 90 % l_0 : on réalise de cette façon une sorte de moyenne des métabolismes entre les longueurs extrêmes. Dans ces conditions toute différence entre muscles isométriques et muscles raccourcis doit être attribuée à la production de travail et, éventuellement, à la chaleur de raccourcissement (qui est constante dans nos conditions puisque l'amplitude de raccourcissement est constante).

1. — *La première série d'expériences* groupe les paires n° 216 à 249. Nous avons stimulé alternativement les deux muscles de la même paire par six tétanos de 1 seconde à 24 stimulus par seconde. Un muscle choisi selon un plan randomisé établi *avant* l'expérience, est raccourci de 0,5 cm à une vitesse constante de 0,9 cm/sec (n° 216 à 238) ou de 1,0 cm à une vitesse constante de 1,2 cm/sec (239 à 249). Le raccourcissement débute 200 msec après le premier stimulus et se termine avant la fin du tétanos. Les tétanos se suivent à intervalles de 1 mn. L'autre muscle de la même paire reçoit les tétanos isométriques alternativement aux deux longueurs extrêmes à intervalles de 1 mn. Les deux séries de tétanos sont imbriquées de telle sorte que le tétanos isométrique d'un muscle suit ou précède le tétanos avec détente de l'autre muscle à un intervalle de 30 sec. Le choix du muscle stimulé le premier est fixé par le plan randomisé, et la congélation rapide a lieu 30 sec après le dernier tétanos. De cette façon l'intervalle de congélation

est le même en moyenne pour les muscles isométriques et pour les muscles raccourcis. Six paires de muscles au repos sont en outre dispersées parmi les paires téтанisées.

La figure 12 et le tableau 16 résument l'ensemble des résultats. Chaque point de la figure représente la PC et l'ATP d'un muscle unique. Les muscles au repos (croix) ont nettement plus de PC que les muscles isométriques (cercles blancs), et les muscles isométriques ont à leur tour plus de PC que les muscles raccourcis (cercles noirs). L'ATP n'est

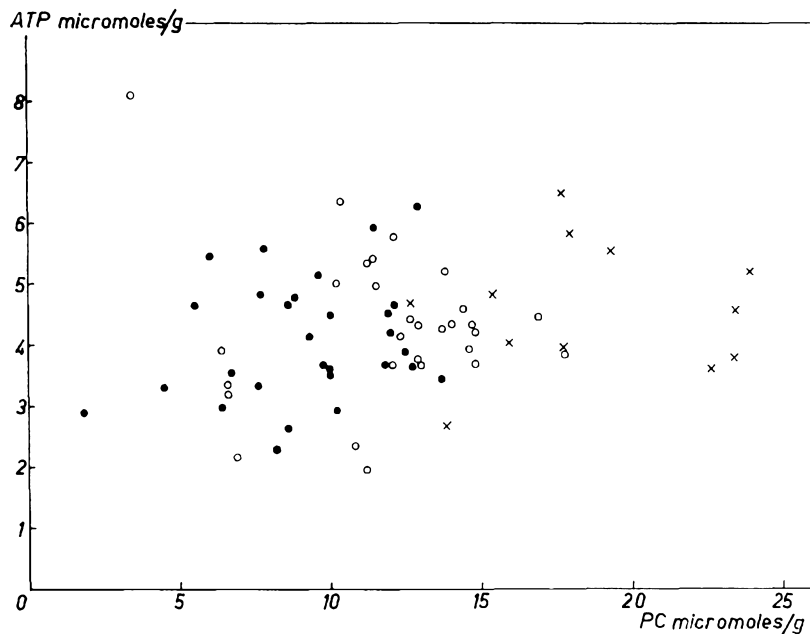


FIG. 12. L'effet du raccourcissement sur la PC et l'ATP de *R. temporaria* (expériences n° 216 à 249). Croix : muscles au repos ; cercles blancs : muscles stimulés par six téтанos isométriques de 1 sec ; cercles noirs : muscles stimulés six fois 1 sec et raccourcis de 0,5 cm à 0,9 cm/sec, de 1,0 cm à 1,2 cm/sec, 200 msec après la premier stimulus.

pas affecté par la stimulation, isométrique ou non. La variabilité des résultats est considérable, mais ce mode de représentation néglige les comparaisons que l'on peut faire entre muscles homologues de la même paire, et qui sont naturellement plus précises. Le tableau confirme

TABLEAU 16
Métabolisme de la PC et de l'ATP durant des tétanos avec raccourcissement

	Créatine libre micromoles/g	Phosphorylcréatine micromoles/g	ATP micromoles/g	Tension moyenne kg/cm ²	Travail recueilli mcal/g	Nombre de muscles
Isométriques	15,07 ± 0,93	11,82 ± 0,62	4,30 ± 0,23	1,92		29
Raccourcis	17,76 ± 0,70	9,24 ± 0,52	4,11 ± 0,19		+ 30,2 ± 0,20	29
Différences	+ 2,69 ± 0,75	— 2,57 ± 0,71	— 0,19 ± 0,28			29

Les muscles reçoivent 6 tétanos de 1 sec ; un muscle est stimulé isométriquement, l'autre est raccourci de 0,5 cm à 0,9 cm/sec (n° 216 à 239) ou de 1,0 cm à 1,2 cm/sec (n° 239 à 249).

l'impression que suggère la figure. Les muscles qui ont travaillé possèdent $2,57 \pm 0,71$ micromoles PC/g *en moins* que les muscles isométriques, et $2,69 \pm 0,75$ micromoles de créatine libre/g *en plus*. Ces différences sont très significatives, comme un test de *t* permet de l'établir. Pour Δ PC, $t = 2,57/0,71 = 3,62$, $P < 0,002$; pour ΔC_L , $t = 2,69/0,75 = 3,60$, $P < 0,002$. Il n'y a pas de variation d'ATP établie, puisque la différence moyenne d'ATP de $0,19$ micromole/g a une erreur type de $0,28$. Le travail produit est de $30,2 \pm 0,2$ mcal/g. Le coefficient mécano-chimique du travail est donc de $11,7$ kcal/mole. L'intervalle de confiance à 95 % de ce coefficient couvre une plage très large, de $30,9$ à $6,35$ kcal/mole.

Au lieu de comparer les moyennes générales des expériences pour en tirer une estimation du coefficient mécano-chimique du travail, on peut aussi étudier les résultats individuels, et en déduire une autre estimation de ce coefficient par une analyse de covariance.

La corrélation entre le travail fourni par le muscle raccourci et son taux de PC est assez élevée, $-0,337$; la corrélation entre le travail fourni et la *différence* entre muscles « isométriques » et muscles « raccourcis » est également assez élevée, $0,329$. Pour $n = 27$, la probabilité que de telles corrélations soient dues au hasard, est de 5 à 10 %.

La régression du taux de PC sur le travail produit est de $-0,094 \pm 0,050$ micromole/mcal, et celle du travail sur la différence en PC entre muscles isométriques et raccourcis est de $0,125 \pm 0,069$ micromole/mcal. Les inverses de ces pentes donnent deux estimations des coefficients mécano-chimiques du travail de $10,6$ et $8,0$ kcal/mole : ces estimations sont du même ordre que celles évaluées à partir des moyennes générales, mais elles sont moins précises.

TABLEAU 17
Covariance entre PC et travail produit

Corrélation	<i>r</i>	<i>b</i> micromole/mcal	<i>n</i>
PC et travail	$-0,337$	$-0,094 \pm 0,050$	29
Différences de PC entre muscles isométriques et raccourcis, et travail	$0,329$	$0,125 \pm 0,069$	29

Expériences n° 216-249.

2. — La deuxième série d'expériences groupe les paires n° 329 à 418. La structure de ces expériences est particulière, et sera décrite en détail plus loin (voir p. 122) ; il s'agit de blocs balancés incomplets. L'avantage d'un tel plan expérimental réside dans la possibilité de comparer plusieurs traitements avec une précision équivalente alors que l'on ne peut les comparer directement que deux à deux. Nous avons comparé quatre traitements dans ces expériences : muscles au repos, muscles stimulés isométriques, raccourcis ou allongés. Nous ne nous intéresserons ici qu'à l'effet du raccourcissement comparé à l'isométrie. Le muscle « isométrique » reçoit six tétanos de 3 sec (72 stimulus à 24/sec) à 1 mn d'intervalle, alternativement à la longueur de $l_0 + 2$ mm et de $l_0 - 3$ mm. Le muscle « raccourci » reçoit également six tétanos de 3 sec à 1 mn d'intervalle, mais il est raccourci de 0,5 cm à partir de la longueur $l_0 + 2$ mm 500 msec après le début de chaque tétanos, à la vitesse constante de 0,23 cm/sec. Ces tétanos sont intercalés entre les tétanos administrés à l'autre muscle de la paire, lorsque celui-ci est stimulé, de telle sorte que l'un ou l'autre muscle soit tétanisé alternativement à intervalles de 30 sec. Il importe de remarquer que la structure expérimentale en blocs balancés incomplets permet au muscle homologue de recevoir un quelconque des trois autres traitements décrits plus haut. Enfin, la congélation a toujours lieu 30 sec après le dernier tétanos.

La figure 13 rassemble tous les résultats individuels. Les cercles blancs symbolisent les muscles en position 1, les cercles noirs ceux en position 2 : il n'y a pas d'effet de position appréciable (cfr p. 64). Le double cercle indique les moyennes, qui sont rapportées au tableau 18, et la barre verticale délimite l'intervalle de confiance à 95 %. Les muscles raccourcis possèdent nettement plus de C_L et moins de PC et d'ATP que les muscles isométriques. Pour un travail produit moyen de $33,7 \pm 1,6$ mcal/g, la consommation supplémentaire de PC est de $2,17 \pm 0,59$ micromoles/g, ce qui permet de calculer un coefficient mécano-chimique du travail de 15,5 kcal/mole. Cette estimation n'est qu'approximative, car il faut encore tenir compte de ce que le taux d'ATP a diminué de $0,88 \pm 0,21$ micromole/g. La façon la plus simple de prendre ce fait en considération est d'admettre que ce déficit d'ATP aurait dû être couvert par un transfert de phosphate en provenance de la PC. Le coefficient mécano-chimique du travail corrigé pour l'ATP est dès lors de 11,1 kcal/mole.

La corrélation entre le taux de PC des muscles raccourcis et le travail fourni est illustrée par la figure 14 : elle est très nette car le coefficient de corrélation atteint $-0,561$, avec une $P < 0,001$ ($n = 39$). La pente

TABLEAU 18

Métabolisme de la PC et de l'ATP durant des tétanos avec raccourcissements ; expériences n° 329 à 418

	C _L micromoles/g	PC micromoles/g	ATP micromoles/g	Tension kg/cm ²	Travail mcal/g	Nombre de muscles
Tétanos isométriques	21,63 ± 0,39	6,22 ± 0,42	4,19 ± 0,15	1,87 ± 0,06		39
Tétanos avec raccourcisse- ment	23,87 ± 0,39	4,05 ± 0,42	3,31 ± 0,15		+ 33,7 ± 1,6	39
Différences	+ 2,24 ± 0,55	— 2,17 ± 0,59	— 0,88 ± 0,21			

Les muscles reçoivent 6 tétanos de 3 sec à 24 stimulus/sec. Les traitements sont distribués suivant des blocs balancés incomplets.

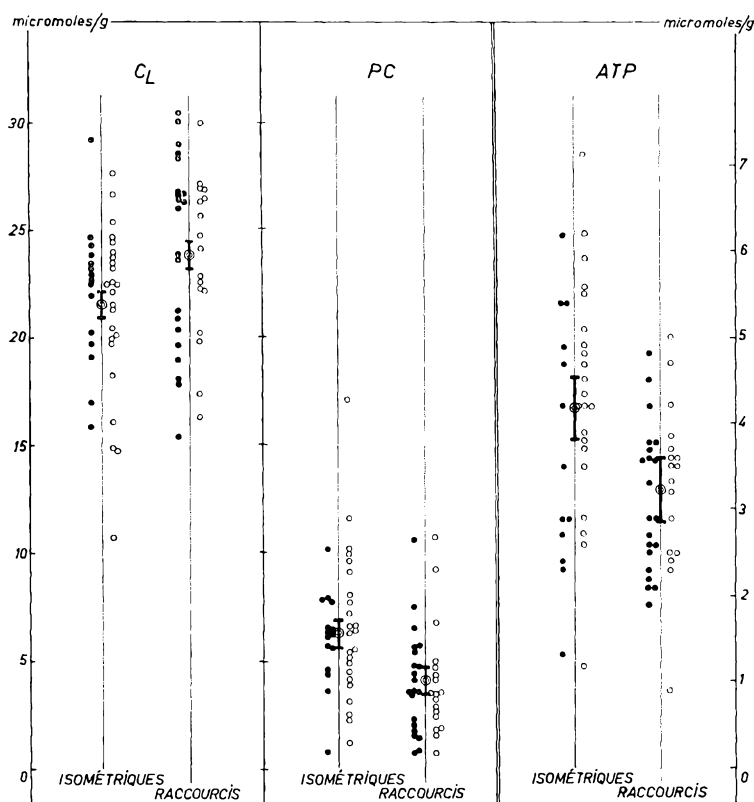


FIG. 13. Effet du raccourcissement sur le taux de la C_L , de la PC et de l' ATP (expériences n° 329 à 418). Les muscles « isométriques » reçoivent six tétanos de 3 sec. Les muscles « raccourcis » reçoivent également six tétanos de 3 sec et sont raccourcis de 0,5 cm à la vitesse constante de 0,23 cm/sec, 500 msec après le premier stimulus. Cercles noirs : muscles sur les électrodes n° 1, cercles blancs : muscles sur les électrodes n° 2. Double cercle : moyenne ; la barre verticale délimite l'intervalle de confiance de la moyenne à 95 %.

calculée de la régression de la PC sur le travail est de $-0,142 \pm 0,035$ micromole $PC/mcal$: si l'on ignore l'intervention de l' ATP le coefficient mécano-chimique du travail est estimé à 7,04 kcal/mole.

Le tableau 19 rassemble toutes les estimations du coefficient mécano-chimique du travail. La plage de variation de ces coefficients est très large : l'intervalle de confiance à 95 % s'étend d'environ 4 kcal/mole à environ 20 kcal/mole.

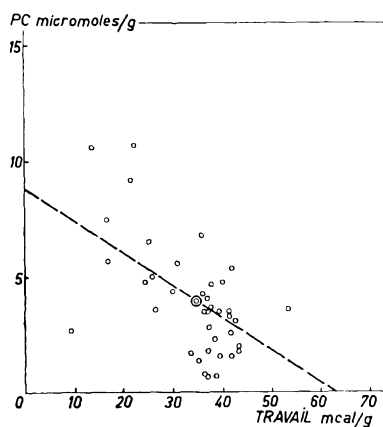


FIG. 14. Corrélation entre la PC et le travail fourni par les muscles (expériences n° 329 à 418). Les muscles reçoivent six tétanos de 3 sec et sont raccourcis de 0,5 cm à la vitesse constante de 0,23 cm/sec, 500 msec après le premier stimulus. La droite représente la régression calculée, de pente $-0,142$ micromole PC/mcal. Le double cercle est la double moyenne des PC et des travaux.

TABLEAU 19

Tableau général des diverses estimations du coefficient ou de la constante mécano-chimique du travail

Sources de l'estimation	Données utilisées pour l'estimation			
	PC	PC + ATP	Régression PC/travail	Régression Δ PC/travail
Mommaerts et coll. 1962 (<i>R. pipiens</i>) N° 216 à 249	9,1			
(<i>R. temporaria</i>)	11,7	10,9	10,6	8,0
N° 329 à 418	15,5	11,1	7,0	
(<i>R. temporaria</i>)	15,5	11,1	7,0	

Nous considérons que 11,0 kcal/mole est une estimation acceptable du coefficient mécano-chimique du travail.

C) DISCUSSION.

Un muscle qui se raccourcit durant un tétanos dégage de l'énergie sous forme de chaleur et sous forme de travail. La chaleur produite est légèrement supérieure à la chaleur Q_i que le muscle aurait produit s'il avait été stimulé en conditions isométriques : cet excédent de chaleur, proportionnel à l'étendue du raccourcissement x , est la chaleur de raccourcissement. Le travail W fourni par le muscle apparaît *en supplément* de la chaleur isométrique Q_i : cet effet FENN, comme on l'appelle, trouve une contrepartie au niveau de l'utilisation des substrats. Il convient d'examiner successivement le métabolisme de la PC associé au travail, celui de l'ATP, et la question de l'existence éventuelle d'un métabolisme particulier de ces substrats qui serait associé à la chaleur de raccourcissement.

1. — Nos expériences démontrent de manière péremptoire qu'un muscle qui se raccourcit consomme un supplément de PC proportionnel au travail fourni. Le supplément de PC hydrolysée reste du même ordre que ce travail soit fourni à vitesse constante ou à tension constante, et ne paraît pas dépendre de l'espèce de grenouille utilisée (*R. temporaria* ou *R. pipiens*). Il y a ici un contraste net avec le métabolisme de la contraction isométrique qui est fort influencé par l'espèce de l'animal. Ce supplément n'est guère modifié si l'on administre au muscle des secousses au lieu de tétanos, comme le démontre le fait que CARLSON, HARDY et WILKIE (1963) trouvent dans ces conditions un coefficient mécano-chimique de 9,83 kcal/mole, très voisin de ceux que nous estimons (de l'ordre de 11 kcal/mole). CAIN et coll. (1962) ont également mesuré le métabolisme du travail, et l'estiment à 2,6 kcal/mole ; cependant, leur estimation se rapporte au rectus abdominis et elle est d'ailleurs entachée du fait que la durée des tétanos n'est pas constante, ce qui pourrait tout aussi bien expliquer les variations qu'ils observent (cfr chapitre II, § 1, 3^e partie).

2. — Le taux d'ATP paraît influencé par le raccourcissement et la production de travail. Dans la première série d'expériences à vitesse constante, les muscles raccourcis en contiennent en moyenne $0,19 \pm 0,28$ micromole/g en moins que les muscles isométriques ; à lui seul un tel résultat ne démontrerait certes pas que le raccourcissement requiert une consommation supplémentaire d'ATP, mais il n'est pas incompa-

tible avec une certaine consommation supplémentaire de l'ordre de 0,5 micromole/g. Si cette expérience n'est pas concluante, le résultat est très net en revanche dans la seconde série d'expériences : les muscles raccourcis en contiennent $0,88 \pm 0,21$ micromole/g en moins que les muscles isométriques. Un test de *t* nous apprend qu'une telle différence a moins d'une chance sur mille de survenir par hasard. Nous sommes obligés d'admettre ce fait, mais quelle peut en être la signification ?

Si l'on admet la théorie classique selon laquelle l'ATP s'hydrolyse au contact des protéines contractiles puis est resynthétisé aux dépens de la PC, on comprend que l'on observe une variation du taux de la PC à la suite d'une stimulation tandis que le taux d'ATP reste constant. Le métabolisme de la PC et de l'ATP que nous avons observé durant un tétanos isométrique s'accorde parfaitement avec un tel concept (cfr chapitre II, 3^e partie). On peut même admettre que le raccourcissement provoque une mobilisation accrue d'ATP, mais ce supplément d'ATP hydrolysé doit être immédiatement rephosphorylé par la myokinase ou par l'enzyme de LOHMANN. De fait, on observe une hydrolyse supplémentaire de 2,17 micromoles PC/g, mais on observe aussi une diminution de 0,88 micromole ATP/g. Plus du quart de l'ATP hydrolysé n'a donc pas été resynthétisé, bien que la congélation ait eu lieu 30 secondes après le dernier tétanos. Il semble difficile d'admettre que l'ATP hydrolysé pendant la phase tétanique de la contraction soit rapidement resynthétisé tandis que l'ATP hydrolysé pendant la phase de raccourcissement ne le soit qu'aux trois quarts. L'hypothèse d'une répartition de l'ATP en différents compartiments est également peu attrayante. On pourrait à la rigueur admettre l'existence de deux compartiments d'ATP : le premier en équilibre avec la PC et qui serait rapidement rephosphorylé, le second séparé de la PC qui ne serait rephosphorylé que lentement. Mais comment se persuader que durant le raccourcissement l'énergie nécessaire au travail soit prélevée à la fois dans les deux compartiments ? Une dernière explication, qui est celle que nous préconisons faute d'une meilleure, est que l'ATP et la PC sont en équilibre enzymatique vrai grâce à la réaction myokinase et à la réaction de LOHMANN. Une diminution du taux de PC doit déterminer une diminution corrélative du taux d'ATP dont la grandeur dépend des constantes d'équilibre des réactions (cfr chapitre IV, 3^e partie). Dans la deuxième série d'expériences, le taux de PC des muscles raccourcis est de 4,05 micromoles/g, donc relativement bas, ce qui devrait entraîner une variation perceptible du taux d'ATP. En revanche, dans la première série d'expériences les muscles sont stimulés moins longtemps, et le taux

de PC est assez élevé même dans les muscles raccourcis, 9,24 micromoles/g : en conséquence la variation d'ATP est faible.

3. — La *chaleur de raccourcissement* $a\alpha$ présente un problème particulier. Dans notre première série d'expériences, en collaboration avec MOMMAERTS et SERAYDARIAN, la régression relative à l'effet de l'étendue du raccourcissement sur la quantité de PC hydrolysée avait un coefficient statistiquement égal à zéro. Dans la seconde série d'expériences l'amplitude du raccourcissement est gardée constante, et son effet, s'il existe, doit s'ajouter simplement au métabolisme associé au travail : les effets des deux facteurs sont confondus. On peut naturellement évaluer la grandeur théorique de l'effet dû à la chaleur de raccourcissement dans le cas où elle reconnaîtrait une origine métabolique. Le raccourcissement α égale 0,5 cm soit $l_0/6$ environ : le coefficient a est de l'ordre de $0,25 P_0$ (HILL, 1938) si P_0 est la tension maximum du muscle ; $a\alpha$ vaut donc $P_0 l_0/24$, c'est-à-dire 80 gcm/g ou 480 gcm/g pour six tétanos avec détente, ou 11 mcal/g, ce qui correspond à 1,1 micromoles PC/g, si l'on admet une chaleur d'hydrolyse de la PC de -10 kcal/mole. Le métabolisme du travail serait alors égal à la différence moyenne entre muscles « raccourcis » et « isométriques » diminuée du métabolisme du raccourcissement, soit environ $2,3 - 1,1 = 1,2$ micromoles/g. Par cette correction on obtiendrait la vraie constante mécano-chimique du travail. Par ailleurs les estimations de cette constante basée sur la régression de la PC (ou de ΔPC) sur le travail ne doivent pas être corrigées pour le métabolisme du raccourcissement puisque celui-ci est constant et donc indépendant du travail fourni par le muscle. On s'attendrait donc à ce que la constante mécano-chimique estimée d'après ces régressions soit la moitié du coefficient estimé d'après les moyennes. L'examen du tableau 19 nous montre que les constantes estimées d'après les régressions sont effectivement un peu plus faibles que les coefficients estimés d'après les moyennes sans toutefois que ces petites différences soient statistiquement valables.

Il faut donc conclure par un constat négatif : rien dans nos expériences ne permet d'affirmer que la chaleur de raccourcissement ait un équivalent métabolique ; mais il est juste d'ajouter que nos expériences ne prouvent pas non plus que la chaleur de raccourcissement n'est pas d'origine métabolique. Selon CARLSON, HARDY et WILKIE (1963) il n'y a aucun poste relatif à la chaleur de raccourcissement dans le bilan global de la PC hydrolysée durant des secousses isotoniques. Dès lors l'énergie totale dégagée par le muscle n'est plus représentée par l'équation de

HILL (1938) déjà décrite précédemment (1^e partie, éq. 5) :

$$E = Q_i + ax + W \quad (5)$$

mais par une équation modifiée (HILL, 1963)

$$E = Q_i + ax + W + b \quad (13)$$

où b représenterait une chaleur survenant pendant la relaxation. Cette chaleur serait une fonction de la tension que le muscle soutient durant la relaxation. Comme la tension à la fin du téтанos est forte si le muscle n'est pas raccourci, mais qu'elle est faible si le muscle s'est beaucoup raccourci, le terme b varierait en sens inverse du terme ax , de sorte que $ax + b$ serait pratiquement une constante indépendante des variations de longueur. Toutes ces considérations ne résolvent en rien la nature de la chaleur de raccourcissement. On peut concevoir qu'elle soit payée par une hydrolyse de PC et que cette dette soit remboursée durant la relaxation par une diminution de la chaleur de maintien résiduelle. On peut encore concevoir qu'elle soit une sorte de chaleur de changement d'état, analogue à la chaleur de cristallisation (AUBERT, 1956 a, p. 208), qui serait compensée au cours du relâchement par une chaleur négative analogue à la chaleur de fusion. Quoi qu'il en soit de la nature de la chaleur de raccourcissement, il semble justifié de ne pas en tenir un compte séparé dans l'établissement de nos bilans : par conséquent, nos déterminations de la constante mécano-chimique du travail ne doivent subir aucune correction due à l'intervention de la chaleur de raccourcissement.

4. — Toutes ces spéculations nous font sentir combien il serait souhaitable de disposer d'une méthode qui permettrait de suivre les variations d'ATP et de PC au cours même de la contraction. Une telle méthode n'existe pas à l'heure actuelle. La mesure des variations de pH à l'aide d'une électrode de verre (DUBUISSON, 1938) est sans doute ce qui se rapproche le plus de cette méthode idéale. DISTÈCHE (1960) auquel nous empruntons toutes les considérations qui vont suivre, a porté cette méthode à un grand degré de perfection. Durant un téтанos isométrique, la variation de pH, qui est généralement dans le sens d'une alcalinisation, résulte d'un équilibre entre une acidification, que l'on attribue à l'hydrolyse de l'ATP (*phase b*) et une alcalinisation, attribuée à l'hydrolyse de la PC (*phase c*). Il en résulte qu'une variation de la phase alcaline durant un téтанos n'entraîne pas une interprétation univoque. DISTÈCHE (1960) observe qu'une détente provoque une variation acide initiale rapide, suivie d'une reprise de la variation alcaline

qui se déroulait avant le raccourcissement. Pourtant la pente de la variation alcaline est moins grande durant le raccourcissement que durant la période de contraction isométrique qui la précède. Il est donc possible que le muscle accumule une « dette » d'ATP durant le raccourcissement. Comme la variation alcaline augmente brutalement à la fin du téтанos, on conçoit que cette dette pourrait être remboursée aux dépens de la PC durant le relâchement ou les quelques secondes qui suivent. Cette vue laisse un doute sérieux quant à l'existence durant le raccourcissement d'un équilibre ATP-PC du type postulé plus haut. L'étude de muscles congelés durant le raccourcissement lui-même pourrait révéler des surprises à cet égard.

Le point important qui ressort de ces expériences est que le maintien de la contraction et la production de travail sont alimentés par la même source d'énergie chimique, à savoir celle résultant de l'hydrolyse de la PC et de l'ATP.

§ 2. Le métabolisme du travail négatif.

Le travail effectué sur un muscle que l'on étire d'une manière forcée durant le téтанos peut disparaître au moins en partie. Lorsqu'on cherche à préciser quelles seraient les conditions qui permettraient d'obtenir l'absorption maximum de ce travail en étudiant les résultats des mesures mécaniques et thermiques simultanées que l'on peut trouver dans la littérature, on se heurte à deux groupes d'expériences dont les résultats paraissent contradictoires. D'une part, ABBOTT et AUBERT (1951) et AUBERT (1956 a) trouvent que la fraction absorbée du travail négatif est d'autant plus grande que la vitesse d'étirement est plus lente ; ils en arrivent à préconiser des vitesses d'allongement extrêmement lentes, de moins d'un millimètre par seconde. D'autre part, HILL et HOWARTH (1959) ont observé que l'énergie globale que produit le muscle peut être annulée par des étirements relativement rapides, de 0,7 à 1,1 cm/sec. Ces vitesses sont de l'ordre de la constante de vitesse b des muscles *sartorius* de *Bufo bufo* qu'ils utilisent, et les vitesses d'étirement correspondantes pour des *sartorius* de *R. temporaria* devraient atteindre 1,5 à 1,8 cm/sec.

Devant ces résultats apparemment contradictoires, il convenait naturellement de réaliser deux groupes d'expériences.

Dans le premier groupe, nous avons étiré des muscles à la vitesse rapide de 1,8 cm/sec, équivalente à celle que HILL et HOWARTH ont utilisée.

Dans le second groupe, nous avons étiré les muscles à une vitesse de 0,2 à 0,4 cm/sec. Ces vitesses sont sensiblement plus élevées que celles que préconisent ABBOTT et AUBERT (1951) et AUBERT (1956 a). Leurs méthodes myothermiques sont tellement sensibles qu'un allongement unique de quelques mm impose au muscle un travail dont ils peuvent mesurer l'absorption. Mais nos méthodes chimiques sont, et de loin, beaucoup moins sensibles, et il nous serait totalement impossible de détecter l'effet que les méthodes physiques permettent de mesurer avec précision. Nous devons imposer au muscle une quantité de travail négatif beaucoup plus grande que celle qui suffisait à ABBOTT et AUBERT. On peut naturellement songer à prolonger l'étirement ; mais les durées nécessaires de téτανisation sont prohibitives. Il ne faut pas oublier en effet qu'à la suite de l'intoxication iodoacétique le muscle ne peut mobiliser d'autres réserves que la PC, qui suffit à peine à 40 secondes d'activité téτανique maximale. Nous nous sommes résolus à augmenter la vitesse d'étirement. La fraction du travail qui est absorbée aux vitesses utilisées est sans doute plus faible, la moitié environ, que celle qui est absorbée aux vitesses les plus lentes. Mais cette perte de rendement est compensée, et au-delà, par l'augmentation considérable de la quantité de travail négatif que l'on peut imposer au muscle en un temps donné. Adoptant une durée de téτανos de 3 à 4 sec, il est possible d'allonger le muscle de 0,5 cm à 0,2 cm/sec, et de répéter six fois un tel téτανos. La quantité de travail négatif dépasse alors 70 mcal/g ce qui représente l'énergie libérée par 20 secousses : même si le rendement d'absorption du travail n'atteint que 20 %, nous pourrions encore détecter assez facilement la variation correspondante de PC, qui équivaut au signe près à celle que provoqueraient 4 à 5 secousses.

A) VITESSE RAPIDE D'ALLONGEMENT.

Nous avons réalisé deux séries d'expériences dont la structure générale est identique. On stimule les deux muscles d'une paire avec un nombre égal de téτανos de même durée. Le nombre de téτανos est généralement de six : quelques paires reçoivent un autre nombre de téτανos (cfr les tables annexes), mais cela n'a aucune importance dans le présent contexte. On choisit, suivant un plan randomisé, un muscle que l'on stimule alternativement à la longueur de $l_0 - 3$ mm et à la longueur de $l_0 + 2$ mm, à intervalles constants de 1 mn. De cette façon on obtient une sorte de moyenne entre les métabolismes de maintien aux longueurs extrêmes (cfr chapitre III, §1). Le muscle homologue est téτανisé isométriquement à la longueur de $l_0 - 3$ mm, puis il est étiré de 0,5 cm à une

vitesse constante de 1,8 cm/sec. Le mouvement débute 200 msec après le premier stimulus, à un moment où la tension tétanique a presque atteint son plateau : de cette façon, pour manifester sa tension, le muscle étiré doit dépenser un travail élastique identique à celui du muscle homologue. Ce détail est important, car si l'étirement débute trop tôt, le travail élastique est fourni par l'ergomètre, et non plus par le muscle. On pourrait alors observer une économie apparente de PC, sans véritable absorption du travail négatif. Les tétanos avec et sans étirement sont réalisés alternativement à intervalle de 30 sec. La congélation survient 30 sec après le dernier tétanos.

1. — La *première série d'expériences* comporte 44 paires de muscles (n° 110 à 170). Le nombre de tétanos distribués à chaque paire n'est pas constant (cfr tables annexes) et le nombre moyen de tétanos est de 5,1, chacun d'une durée moyenne de 4,1 sec. Le tableau 20 résume les résultats. La tension moyenne des muscles « isométriques » est élevée : 2,46 kg/cm², et le travail reçu par les muscles « allongés » est en moyenne

TABLEAU 20

Influence d'un étirement rapide ($\Delta l = 0,5$ cm ; vitesse 1,8 cm/sec) sur le métabolisme de la phosphorylcréatine ; expériences n° 110 à 170

	Créatine libre micromoles/g	Phosphoryl- créatine micromoles/g	Tension moyenne kg/cm ²	Travail reçu mcal/g	Nombre de muscles
Isométriques	13,19 $\pm$ 0,57	11,46 $\pm$ 0,64	2,46 $\pm$ 0,05		44
Allongés	14,02 $\pm$ 0,83	10,51 $\pm$ 0,63		68,0 $\pm$ 6,1	44
Différences	0,83 $\pm$ 0,49	-0,95 $\pm$ 0,35			

de 68 mcal/g. Les muscles « allongés » possèdent plus de créatine libre (0,83 micromole/g) et moins de PC (0,95 micromole/g) que les muscles isométriques. La différence en C_L est à peine significative, ($t = 1,69$, $P \approx 10\%$) mais celle en PC est très valable ($t = 2,7$; $P \approx 1\%$).

On peut se demander si la comparaison entre le travail reçu 68 mcal/g et l'excès de PC hydrolysée, 0,95 micromole/g, a un sens quelconque.

Si on admet une chaleur d'hydrolyse de 7,4 kcal/mole, 0,95 micromole PC/g libère 7,0 mcal/g, soit environ le dixième du travail reçu. Il est possible d'étudier une éventuelle corrélation entre ces deux facteurs. Les résultats individuels sont pointés dans la figure 15 où la différence

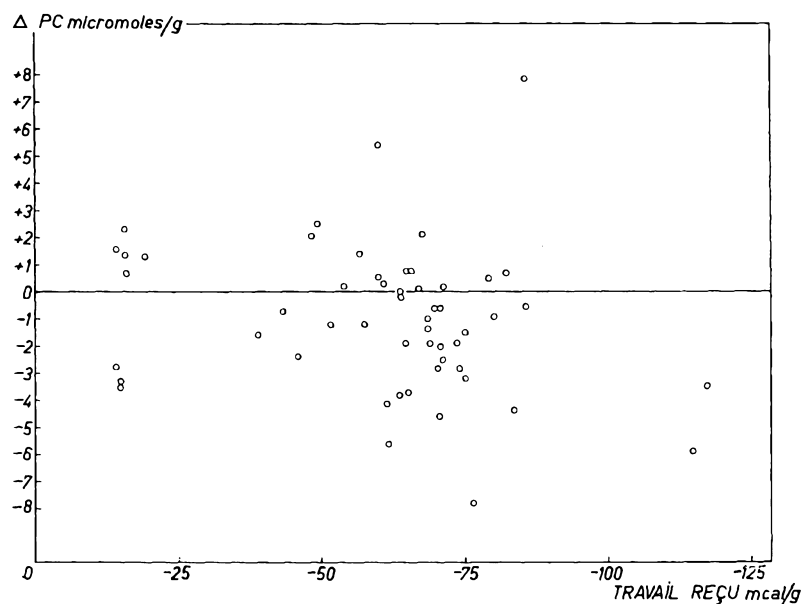


FIG. 15. Différence de PC entre muscle allongé rapidement (0,5 cm à 1,8 cm/sec) et muscle isométrique en fonction de la quantité de travail négatif imposé. Expériences n° 110 à 170.

de PC entre muscle allongé et muscle isométrique est portée en fonction du travail reçu. Si les points tendent bien en bloc à démontrer un déficit de PC, il n'y a aucune indication que ce déficit dépende de la grandeur du travail reçu. Le coefficient de corrélation calculé n'atteint que 0,161. L'excès de PC hydrolysée pendant un étirement rapide est indépendant du travail reçu.

2. — La *deuxième série d'expériences* ne comporte que 17 paires de muscles (n° 251 à 316). La structure de ces expériences est exactement la même que celle de la première série. Chaque paire de muscles reçoit six tétanos de 1 sec ; un muscle est stimulé isométriquement, l'autre est étiré de 0,5 cm à la vitesse de 1,8 cm/sec après un délai de 200 msec. Les muscles « allongés » ont en moyenne 1,00 micromole/g de C_L en

TABLEAU 21

Métabolisme de la PC et de l'ATP durant des tétanos avec allongements rapides de 1,8 cm/sec.

	Créatine libre micromoles/g	Phosphorylcréatine micromoles/g	ATP micromoles/g	Tension moyenne kg/cm ²	Travail reçu mcal/g	Nombre de muscles
Isométriques	15,81 ± 1,61	14,12 ± 0,98	4,642 ± 0,219	1,94 ± 0,09		17
Allongés	16,81 ± 1,46	12,65 ± 0,82	4,642 ± 0,232		79,9 ± 7,8	17
Différences	+ 1,00 ± 1,05	— 1,48 ± 0,84	0,000 ± 0,192			

Les muscles reçoivent 6 tétanos de 1 sec ; un muscle est stimulé isométriquement ; l'autre est étiré de 0,5 cm à 1,8 cm/sec. Expériences n° 251 à 316.

TABLEAU 22
Métabolisme de la PC et de l'ATP durant un allongement lent

	Créatine libre micromoles/g	Phosphorylcréatine micromoles/g	ATP micromoles/g	Tension moyenne kg/cm ²	Travail reçu mcal/g	n
Isométriques	25,37 ± 0,73	7,64 ± 0,60	4,50 ± 0,24	1,93 ± 0,04	67,5 ± 2,3	26
Allongés	23,69 ± 0,59	9,16 ± 0,64	4,86 ± 0,29			26
Différences	- 1,68 ± 0,72	+ 1,52 ± 0,56	+ 0,36 ± 0,18			

Expériences n° 275 à 313.

Les muscles reçoivent 6 tétanos de 3,4 sec de durée moyenne ; amplitude de l'allongement : de $l_0 - 3$ mm à $l_0 + 2$ mm ; vitesse : 0,4 cm/sec.

plus que les muscles « isométriques », et 1,48 micromoles/g de PC en moins, mais exactement le même taux d'ATP (cfr tableau 21). La différence en C_L est grevée d'une erreur considérable de 1,05 micromoles/g, ce qui la rend insignifiante ; mais la différence en PC, avec une erreur de 0,84 a un t de 1,76, et atteint le palier de 10 % de probabilité. Il n'y a aucune corrélation entre la PC ou la ΔPC et le travail négatif reçu par le muscle ; les coefficients respectifs de corrélation n'atteignent que 0,126 et 0,256. Sans être très démonstratives, ces expériences confirment les conclusions tirées des résultats de la première série.

La moyenne pesée des effets de l'allongement rapide, calculée d'après les moyennes de C_L et de PC des deux séries expérimentales atteint $0,988 \pm 0,616$ micromole PC/g ($t = 1,60$, $n = 61$, $P \simeq 10\%$), pour un travail moyen reçu de $71,3 \pm 6,6$ mcal/g.

B) VITESSE LENTE D'ALLONGEMENT.

Nous avons réalisé deux séries d'expériences où nous avons étiré les muscles durant les tétanos à une vitesse modérée de 0,40 et 0,23 cm/sec. La structure générale de la première série est semblable à celle des expériences précédentes, où la vitesse d'étirement est rapide. La deuxième série d'expériences a une structure particulière, dite en blocs balancés incomplets.

1. — La *première série d'expériences* groupe 26 paires de muscles (n° 275 à 313). Chaque muscle de la paire reçoit 6 tétanos à intervalles de 1 mn : les 12 tétanos sont administrés alternativement aux deux muscles à intervalles de 30 sec, et la paire est congelée 30 sec après le dernier tétanos. On tétanise un muscle de façon isométrique alternativement à la longueur $l_0 - 3$ mm et à la longueur $l_0 + 2$ mm ; l'autre muscle est allongé de 0,5 cm après un délai de 0,5 sec à une vitesse de 0,4 cm/sec. La durée des tétanos varie quelque peu d'une paire à l'autre (cfr tables annexes), et elle est en moyenne de 3,4 sec. Le tableau 22 résume l'ensemble des résultats. Les muscles allongés contiennent moins de C_L que les muscles isométriques — $1,68 \pm 0,72$ micromoles/g ($t = 2,33$; $P < 5\%$), et ils contiennent plus de PC, $1,52 \pm 0,56$ micromoles/g ($t = 2,71$; $P < 2\%$). Ils contiennent aussi plus d'ATP : $0,36 \pm 0,18$ micromoles/g ($t = 2,0$; $P = 5$ à 10%) ; il y a là une indication sérieuse, mais qui n'est pas confirmée par les résultats ultérieurs (voir plus loin, les résultats de la 2^e série).

L'analyse de covariance entre le niveau absolu de PC et le travail négatif imposé aux muscles étirés ne révèle aucune corrélation notable : le coefficient de corrélation n'atteint que 0,299, et n'est pas significatif.

La figure 16 représente les différences de PC entre les muscles stimulés isométriquement et ceux qui sont allongés, en fonction du travail reçu. L'ensemble des points se situe au-dessus de l'abscisse, ce qui traduit l'économie en PC qu'ont réalisée les muscles allongés, mais il n'existe aucun indice permettant de soupçonner que cette économie varie avec la quantité de travail reçu. Le coefficient de corrélation calculé ne s'élève d'ailleurs qu'à $-0,023$.

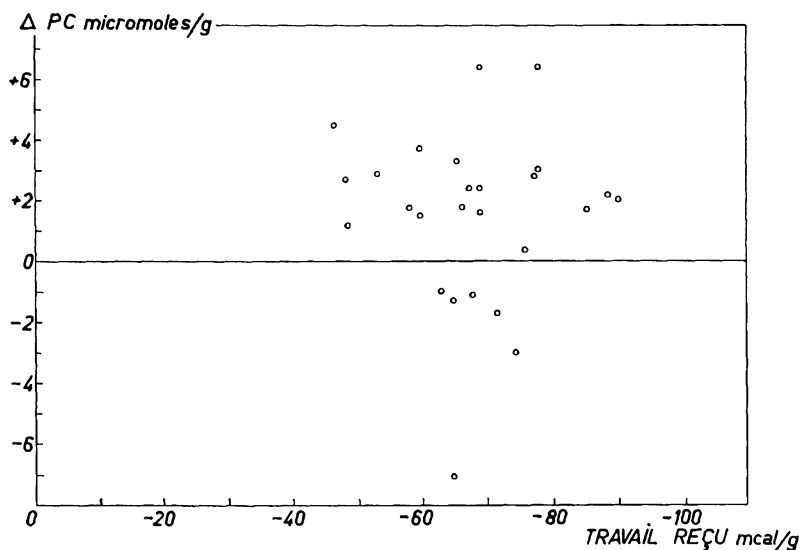


FIG. 16. Absence de corrélation entre la PC économisée à la suite d'un allongement lent et le travail négatif reçu par le muscle. Les muscles reçoivent six tétanos ; un muscle est tétanisé isométriquement, l'autre est allongé de 0,5 cm à la vitesse constante de 0,4 cm/sec. En ordonnée la différence entre la PC du muscle allongé et celle du muscle « isométrique » ; en abscisse, le travail imposé au muscle. Expériences n° 275 à 313.

2. — La deuxième série d'expériences groupe 78 paires de muscles. Son intérêt débordé à vrai dire le cadre des allongements forcés, qui est celui de ce paragraphe. Grâce à la technique statistique des « blocs balancés incomplets », il nous a été possible de comparer les effets de quatre « traitements » quasi simultanément avec une précision constante. C'est pourquoi nous décrirons ces expériences fort en détail, en même temps que nous récapitulerons les résultats antérieurs. Les quatre « traitements » principaux que nous étudions dans ce mémoire sont les

conditions expérimentales suivantes : le muscle au repos ; le muscle stimulé par des tétanos isométriques ; le muscle stimulé qui produit du travail en se raccourcissant ; le muscle qui reçoit du travail qu'on lui impose par un allongement lent et forcé, et qui absorbe ce travail en partie. Nous avons jusqu'ici étudié ces différentes conditions en les comparant deux à deux. Cette division s'impose tout naturellement parce que la grenouille ne possède que deux sartorius, ce qui ne permet de faire commodément qu'une comparaison entre deux traitements. Il serait sans nul doute intéressant de réaliser une expérience où l'on pourrait comparer simultanément sur un groupe homogène les quatre grands types de traitements et faire ressortir plus nettement les contrastes entre leurs effets.

Il est possible d'approcher de cet idéal par la technique des blocs balancés incomplets. Chaque traitement est combiné avec un autre traitement suivant toutes les combinaisons de quatre objets pris deux à deux. Il existe six combinaisons distinctes, si nous considérons que l'ordre des objets est sans importance. Un animal constitue un bloc expérimental qui peut s'accommoder de deux traitements ; six animaux sont donc nécessaires pour que les six combinaisons soient représentées. Chaque bloc-animal ne compte que deux traitements sur les quatre, c'est pourquoi on l'appelle un bloc incomplet ; mais l'ensemble des six blocs-animaux forme un superbloc où tous les traitements sont représentés trois fois d'une façon balancée. Vu sa taille réduite, il est possible de traiter un superbloc en une seule fois. Les six animaux sont disséqués ensemble ; les six paires de sartorius passent la nuit ensemble dans du Ringer à 5°C ; chaque paire est intoxiquée par l'iodoacétate, et le muscle droit est placé sur l'électrode 1 ou 2 suivant un plan randomisé. Chaque paire de traitements est attribuée au hasard à chaque paire de muscles, et chacun des deux traitements d'une paire est attribué au hasard au muscle qui est en position 1 ou en position 2. On opère donc une double randomisation : celle des muscles sur les électrodes, celle des traitements appliqués aux muscles. Le plan de randomisation est systématiquement établi d'avance grâce aux tables de nombres randomisés de FISHER et YATES. Les six paires de muscles subissent ensemble toutes les manipulations chimiques. Nous croyons que nous avons ainsi pris toutes les précautions pour assurer l'homogénéité des expériences et l'équilibre entre les divers traitements. Nous possédons treize superblocs de six animaux chacun. Chaque traitement est donc répété trente-neuf fois.

Les quatre traitements comparés dans cette série d'expériences sont appliqués comme suit. Les muscles au repos sont traités exactement

comme les autres, sauf qu'ils ne sont pas stimulés. Les muscles « isométriques » reçoivent six tétanos de 3 sec à 1 mn d'intervalle ; ces muscles sont stimulés alternativement à la longueur $l_0 - 3$ mm et $l_0 + 2$ mm, de manière à réaliser une moyenne des métabolismes isométriques aux longueurs extrêmes. Les muscles « raccourcis » reçoivent également six tétanos de 3 sec à 1 mn d'intervalle ; 500 msec après le premier stimulus, ils sont raccourcis de $l_0 + 2$ mm à $l_0 - 3$ mm à la vitesse constante de 0,23 cm/sec. Les muscles « allongés » sont aussi tétanisés six fois 3 sec à 1 mn d'intervalle, mais ils sont étirés 500 msec après le premier stimulus de $l_0 - 3$ mm à $l_0 + 2$ mm à la vitesse constante de 0,23 cm/sec. Lorsqu'il faut tétaniser les deux muscles de la même paire, on stimule alternativement chaque muscle à 30 sec d'intervalle, et on congèle les muscles 30 sec après le dernier tétanos. Le choix du premier muscle à exciter est laissé au hasard. Après préparation des extraits musculaires, on dose la C_L , la PC et l'ATP ; le travail qu'a produit ou qu'a reçu le muscle se mesure sur les enregistrements de la tension.

Le tableau 23 résume l'analyse de variance des résultats. Puisqu'il y a 156 muscles en tout, le nombre total de comparaisons possibles est de 155. Ces 155 degrés de liberté sont répartis en : 3 degrés de liberté pour les comparaisons entre les quatre traitements ; 77 degrés de liberté pour les comparaisons entre les 78 animaux ; les 75 degrés de liberté qui restent représentent les comparaisons entre les muscles qui ne sont pas des effets des traitements : c'est le résidu qui servira à estimer l'erreur. Les comparaisons entre les sommes des déterminations faites sur les deux muscles de la même paire peuvent elle-mêmes être subdivisées. Il est possible en effet d'estimer les effets des quatre traitements d'après ces totaux : en conséquence on subdivise les 77 degrés des blocs-animaux en 3 degrés de liberté pour les traitements (estimés entre les blocs), et 74 degrés de liberté pour le résidu entre les blocs-animaux. L'analyse de variance est conduite de manière à récupérer l'information contenue dans les comparaisons entre les blocs, et à l'introduire dans les comparaisons intrablocs entre traitements. C'est pourquoi, les effets des traitements estimés d'après les comparaisons entre les blocs-animaux ont des variances voisines de celles des résidus entre les blocs, tant pour la C_L que la PC et l'ATP (2 premières lignes du tableau 23) : ce fait démontre l'efficacité de l'élimination de l'effet des traitements : en fait, cet effet est intégré dans les comparaisons entre traitements (ignorant les blocs) qui sont composées à la fois des comparaisons intra-animaux et des comparaisons entre les animaux. Les variances des traitements sont très élevées comparées aux résidus intrablocs, et cela tant pour C_L que PC

TABLEAU 23

Analyse de variance de blocs randomisés incomplets comportant la comparaison de quatre traitements : muscles au repos, en contraction isométrique, en contraction avec raccourcissement et en contraction avec étirement

Variation	Degrés de liberté	Créatine libre (micro-moles/g) ²	Phosphoryl créatine (micro-moles/g) ²	ATP (micro-moles/g) ²
Blocs (traitements éliminés)				
Traitements	3	12,515	4,332	1,102
Résidu	74	18,895	14,164	2,469
Total	77	18,647	13,781	2,416
Traitement (ignorant les blocs)	3	2203,909	1618,351	18,837
Erreur (intrabloc)	75	8,026	5,640	0,657
Total	155	55,804	40,820	1,883

Expériences n° 329 à 418.

et ATP. Au terme de cette analyse, nous pouvons conclure que les traitements influencent certainement les taux de C_L, de PC et d'ATP.

Passons maintenant à l'examen des résultats eux-mêmes. Tous les résultats individuels sont représentés sur la figure 17 en ce qui concerne la PC, et 18 en ce qui concerne l'ATP. Les résultats sont divisés en deux groupes : les cercles noirs représentent les muscles qui sont placés sur l'électrode 1, les cercles blancs ceux placés sur l'électrode 2. Rappelons que ces chiffres indiquent aussi l'ordre dans lequel les muscles sont soumis aux manipulations chimiques. On ne distingue aucune différence dans la hauteur moyenne ou dans l'extension des cercles blancs et des cercles noirs, à l'intérieur d'un traitement déterminé : il n'y a donc pas de biais systématique introduit par la géométrie des électrodes ou par les manipulations chimiques consécutives à la congélation. En revanche l'effet des différents traitements est net : les muscles au repos contiennent plus de PC et plus d'ATP que les muscles stimulés isométriquement ; ceux-ci, à leur tour, contiennent plus de PC et plus d'ATP que les muscles raccourcis, mais contiennent moins de PC et autant

d'ATP que les muscles allongés. La variabilité des résultats semble très grande, mais il ne faut pas oublier que le mode de représentation des figures cumule la variabilité entre les muscles homologues de la même paire et la variabilité entre les paires de muscles provenant d'animaux différents : cette dernière source de variabilité est relativement grande, comme en témoigne l'analyse de variance du tableau 23, où les résidus entre blocs sont manifestement plus grands que les résidus intrablocs. La précision réelle des expériences est supérieure à celle déduite de la simple inspection des figures 17 et 18.

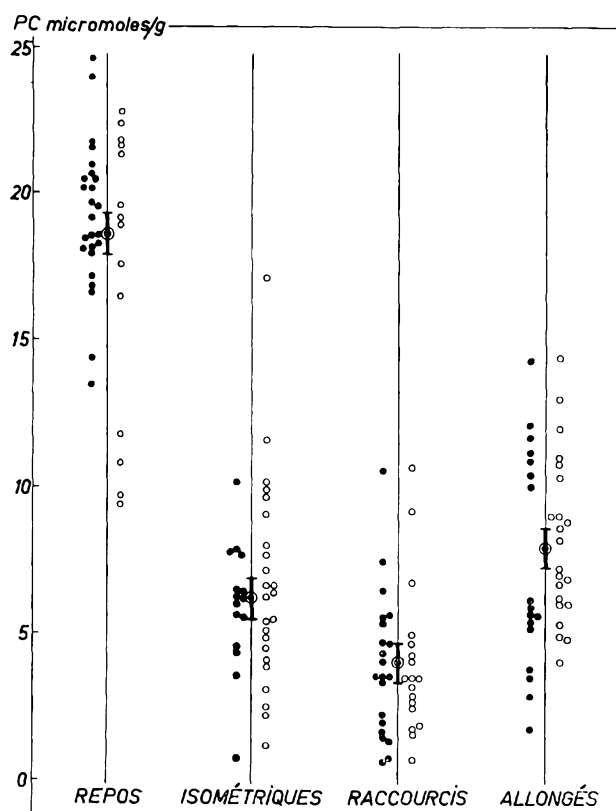


FIG. 17. Taux de PC du muscle après divers traitements. Doubles cercles : moyennes corrigées (cfr. tableau 24). La barre délimite l'intervalle de confiance à 95 % de la moyenne. Cercles noirs : muscles en position 1 ; cercles blancs : muscles en position 2. Expériences n° 329 à 416.

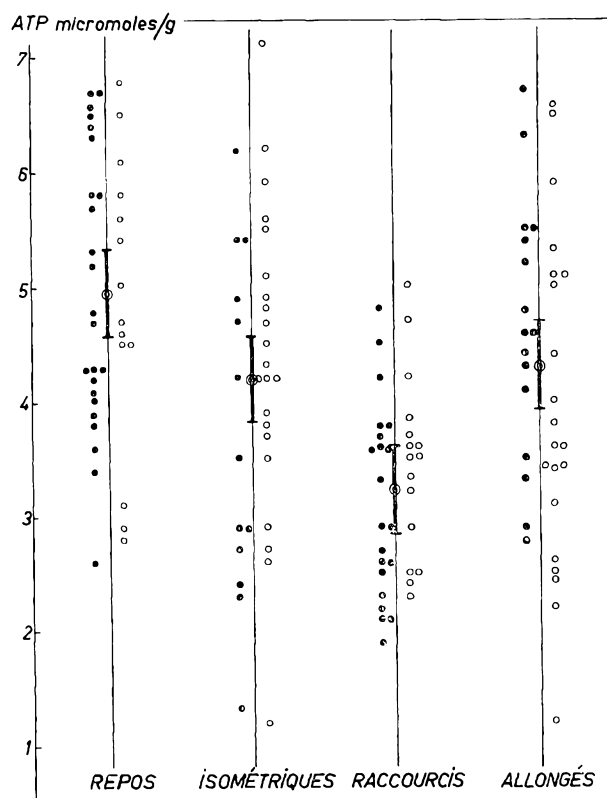


FIG. 18. Taux d'ATP du muscle après divers traitements. Doubles cercles : moyennes corrigées (tableau 24). La barre délimite l'intervalle de confiance à 95 % de la moyenne. Cercles noirs : muscles en position 1 ; cercles blancs : muscles en position 2. Expériences n° 329 à 416.

La mesure exacte des effets des traitements est donnée par les moyennes du tableau 24. Nous y donnons deux moyennes. La première est la moyenne arithmétique de tous les résultats afférents à un traitement déterminé. La deuxième est une moyenne corrigée : en effet, comme nous l'avons déjà dit plus haut, il est possible d'estimer les effets des traitements en comparant les sommes des résultats obtenus sur deux muscles homologues de la même paire. Si l'on tient compte de ces comparaisons « entre animaux », il faut modifier légèrement la valeur de la moyenne arithmétique (cfr FISHER et YATES pour les procédés de calcul). Une conséquence importante de la récupération de cette information réside

dans la diminution des erreurs standards de la moyenne (cfr tableau 24, 6^e colonne). La précision avec laquelle ces moyennes sont connues augmente ainsi de 10 à 20 %. Ces moyennes corrigées sont représentées par les doubles cercles dans les figures 17 et 18. La barre qui traverse le double cercle indique l'intervalle de confiance à 95 %, qui est l'erreur standard de la moyenne multipliée par la valeur de *t* pour une probabilité de 5 % avec *n* = 38. Les moyennes dont les barres ne chevauchent pas doivent être considérées comme très nettement différentes. Les conclusions précédentes sont confirmées et renforcées : les isométriques ont nettement moins de PC que les muscles au repos et que les muscles allongés, et plus de PC que les muscles raccourcis ; ils ont moins d'ATP que les muscles au repos, plus d'ATP que les muscles raccourcis, et autant d'ATP que les muscles allongés.

TABLEAU 24

Comparaison simultanée de quatre traitements (muscle au repos, en contraction isométrique, avec raccourcissement ou avec allongement) par la technique des blocs randomisés incomplets ; expériences n° 329 à 418.

	Muscles au repos	Muscles isomé- triques	Muscles raccour- cis	Muscles étirés	Erreur standard des moy- ennes	Inter- valle de con- fiance à 95 %
Créatine libre moyennes :	7,159	21,577	24,113	19,362	0,555	± 0,784
moyennes corrigées :	7,340	21,625	23,869	19,374	0,388	
Phosphorylcréatine moyennes :	18,567	6,392	3,995	7,867	0,458	± 0,852
moyennes corrigées	18,638	6,224	4,054	7,903	0,422	
ATP : moyennes	4,905	4,181	3,224	4,295	0,158	± 0,301
moyennes corrigées	4,907	4,192	3,308	4,199	0,149	
P _o kg/cm ²		1,866			0,059	
Travail positif mcal/g			33,794		1,546	
Travail négatif mcal/g				65,222	3,138	
Poids mg	65,54	64,08	67,08	67,41	1,42	
Nombre de muscles	39	39	39	39		

Les grandeurs des effets des différents traitements sont obtenues en comparant les moyennes corrigées, dont les différences sont reportées au tableau 25. On peut étudier successivement ces trois effets intéressants.

TABLEAU 25

Estimation de l'effet de quatre traitements différents sur la teneur en PC et en ATP ; expériences n° 329 à 418

	Créatine libre micromoles/g	Phosphoryl- créatine micromoles/g	Différences $C_L - PC$ micromoles/g	ATP micromoles/g
Différences entre muscles en repos et isométriques	+ 14,285	— 12,414	1,871	— 0,715
Différences entre isométriques et raccourcis	+ 2,244	— 2,170	0,074	— 0,884
Différences entre isométriques et allongés	— 2,251	+ 1,679	0,572	+ 0,007
Erreur type des différences	0,547	0,587	0,815	0,210

Le **métabolisme isométrique** (différence entre muscles au repos et muscles stimulés isométriquement) est de + 14,29 micromoles C_L /g ou de — 12,41 micromoles PC/g. Il est à noter que la différence entre l'effet C_L et l'effet PC est de $1,871 \pm 0,815$ micromoles/g et est significativement différente de zéro. La signification de cette différence a déjà été discutée (cfr chapitre II, D, 3^e partie). On pourrait calculer théoriquement la grandeur du métabolisme isométrique d'après les données développées au chapitre II à la suite d'expériences indépendantes de celles-ci. Le métabolisme stable de 6 tétanos de 3 sec est estimé à $18 \times 0,43$ soit 7,7 micromoles/g si on utilise l'évaluation du métabolisme stable basée sur les variations de PC, et à $18 \times 0,51$ soit 9,2 micromoles C_L /g si on utilise l'évaluation du métabolisme stable basée sur C_L ; l'extramétabolisme est estimé à $6 \times 0,78$ soit 4,68 micromoles/g ; les

totaux de 12,38 micromoles PC/g ou de 13,88 micromoles C_L /g s'accordent bien avec les variations de PC (12,41 micromoles/g) et les variations de C_L (14,29 micromoles/g) effectivement observées. On observe en outre une variation d'ATP de $-0,72 \pm 0,21$ micromole/g, donc très nette ($t = 3,42$; $P < 0,002$). Cette observation est intéressante, car dans une autre série expérimentale rapportée au tableau 7, les muscles au repos présentent un taux d'ATP supérieur à celui des muscles stimulés isométriquement, mais la différence n'est pas significativement différente de zéro.

Le métabolisme du travail positif est de $+ 2,24$ micromoles C_L /g ou de $- 2,17$ micromoles PC/g, avec une diminution d'ATP de $- 0,88$ micromole/g. Ces résultats ont déjà été discutés au paragraphe précédent (cfr p. 111).

L'allongement lent du muscle marque une économie de $+ 1,68 \pm 0,59$ micromoles PC/g ($t = 2,84$; $P < 0,01$) ou de $2,25 \pm 0,55$ micromoles C_L /g ($t = 4,1$; $P < 0,001$) ; la différence de $0,572 \pm 0,815$ entre ces deux estimations est pratiquement négligeable. Le taux d'ATP ne

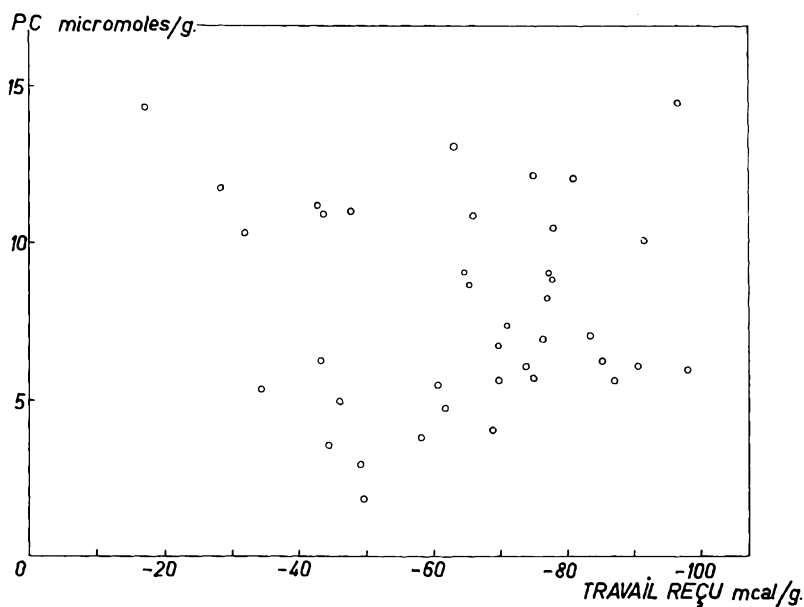


FIG. 19. Absence de corrélation entre l'économie réalisée de PC par un muscle allongé de 0,5 cm/sec à la vitesse de 0,23 cm/sec, et le travail négatif reçu par le muscle. Expériences n° 329 à 416.

change pas ici, alors que la première série d'expérience révélait une tendance à l'économie (cfr tableau 22).

Cette économie de PC de l'allongement ne dépend pas du travail reçu par le muscle. Globalement ce travail est de $-65,2 \pm 3,14$ mcal/g, mais les variations individuelles sont assez grandes, depuis -18 mcal/g jusqu'à -98 mcal/g. Pourtant, comme l'illustre la figure 19, il n'y a aucune corrélation perceptible entre le taux de PC d'un muscle et le travail négatif que ce muscle a reçu. Le coefficient de corrélation calculé est de $-0,050$.

C) DISCUSSION.

1. — *La réponse du muscle tétanisé à un étirement.*

La réponse du muscle tétanisé à un étirement forcé dépend de la vitesse du mouvement.

Si la vitesse de l'étirement est très grande, c'est-à-dire, si elle est nettement supérieure à la constante de vitesse b caractéristique du muscle (qui est de 1,5 à 1,8 cm/sec pour un *sartorius* de *R. temporaria* à 0°C), la tension croît très rapidement au début du mouvement, puis se stabilise à un niveau égal à 1,5 à 2 fois le niveau de la tension isométrique ; si l'étirement est excessivement rapide, la tension peut d'ailleurs s'effondrer brutalement pendant ou immédiatement après l'étirement (GASSER et HILL, 1924 ; KATZ, 1939), preuve que la structure contractile « décroche » si la déformation qu'elle doit supporter devient trop rapide. Simultanément, le muscle dégage une grande quantité de chaleur, qui provient sans doute de la dégradation du travail qu'on lui a imposé. Il n'existe toutefois à notre connaissance aucune étude des bilans énergétiques durant de tels étirements très rapides, et nous n'avons pas étudié le métabolisme de la PC ou de l'ATP dans de telles conditions.

Si la vitesse de l'étirement est plus modérée, de l'ordre de la constante de vitesse du muscle, la tension croît appréciablement au début du mouvement, puis n'augmente plus que lentement. Dès que cesse l'étirement, la tension redescend vers un niveau qui est d'autant plus élevé au-dessus du niveau isométrique correspondant que la vitesse de l'allongement a été plus faible (ABBOTT et AUBERT, 1952, AUBERT, 1956 a). Durant des étirements semblables, HILL et HOWARTH (1959) ont observé que le travail négatif fourni pouvait compenser presque exactement la chaleur produite par le muscle, de sorte que le bilan net des échanges d'énergie était momentanément annulé. Le tableau 26 montre pourtant

TABLEAU 26
Tableau général des effets d'étirements sur le métabolisme de la PC et de l'ATP

	Différences en C_L micromoles/g	Différences en PC micromoles/g	Différences en ATP micromoles/g	Travail reçu mcal/g	n
Etirements rapides exp. n° 110 à 170 exp. n° 251 à 316	+ 0,83 ± 0,49	— 0,95 ± 0,35	—	68,0	44
	+ 1,00 ± 1,05	— 1,48 ± 0,84	0,00 ± 0,19	79,9	17
Etirements lents exp. n° 275 à 313 exp. n° 329 à 418	— 1,68 ± 0,72	+ 1,52 ± 0,56	+ 0,36 ± 0,18	67,5	26
	— 2,25 ± 0,55	+ 1,68 ± 0,59	+ 0,01 ± 0,21	65,2	39

que la quantité de PC hydrolysée par des muscles étirés rapidement (1,8 cm/sec) est nettement plus élevée que celle consommée par les contrôles isométriques correspondants ; cette différence atteint 0,83 micromole C_L /g ou — 0,95 micromole PC/g pour un travail négatif de 68,0 mcal/g dans la série des expériences n° 110 à 170, et elle atteint 1,00 micromole C_L /g ou — 1,48 micromoles PC/g pour un travail négatif de 79,9 mcal/g dans la série d'expériences n° 251 à 316. Nous n'avons observé aucune variation d'ATP. Loin de trouver une diminution des dépenses chimiques du muscle, voire même leur annulation, comme les expériences de HILL et HOWARTH le suggèreraient, nous trouvons au contraire une exacerbation du catabolisme de la PC chez les muscles étirés rapidement.

Si la vitesse d'étirement est lente, inférieure au tiers de la constante de vitesse b , la tension augmente lentement durant l'allongement sans atteindre de plateau, et n'est que de peu (10 à 20 %) supérieure à la tension isométrique tétanique (KATZ, 1939) ; la thermogénèse n'est que faiblement augmentée (FENN, 1924 ; ABBOTT, AUBERT et HILL, 1951) durant l'allongement ; elle peut même tomber en dessous du niveau isométrique au cours d'allongements très lents (ABBOTT et AUBERT, 1951) : le travail effectué sur le muscle n'est donc pas entièrement dégradé en une chaleur qui s'ajouterait à la chaleur de maintien d'un tétanos isométrique. Corrélativement, nous trouvons qu'un muscle allongé lentement consomme moins de PC que son homologue stimulé isométriquement (tableau 26). Dans la série d'expériences n° 275 à 313, l'économie de PC est de 1,52 micromoles/g, ou de 1,68 micromoles/g si on l'estime d'après les variations de C_L ; le travail négatif reçu par le muscle atteint 67,5 mcal/g. Il existe aussi une légère économie d'ATP, $0,36 \pm 0,18$ micromole/g, mais qui n'est pas statistiquement significative. Dans la seconde série d'expériences (n° 329 à 418), l'économie de PC est de 1,68 micromoles, ou de 2,25 micromoles/g si on l'estime d'après les variations de C_L ; le travail négatif correspondant reçu par le muscle est de 65,2 mcal/g ; la variation d'ATP est très faible.

Nos résultats démontrent donc nettement qu'un muscle allongé lentement économise de la PC, mais qu'un muscle allongé rapidement augmente sa consommation de PC.

2. — *L'économie de PC durant des allongements lents.*

a. — *Evaluation de l'énergie économisée.* La quantité moyenne de PC qu'ont économisée les muscles allongés lentement est d'environ 1,8 micromoles/g. L'étude du métabolisme de la PC durant un

raccourcissement (§ 1 de ce chapitre) nous a appris que le muscle peut fournir 11 kcal de travail positif en hydrolysant 1 mole de PC. Par conséquent, l'économie d'environ 1,8 micromoles/g qu'ont réalisée les muscles allongés lentement leur permettrait de fournir un travail positif de 19,8 mcal/g. Ce travail économisé représente environ 30 % du travail négatif de 66 mcal/g imposé au muscle : en ce sens, nous pouvons affirmer que 30 % du travail négatif imposé au muscle sont absorbés. Cette estimation cadre bien avec les expériences d'AUBERT (1956 a) qui a démontré par ses mesures thermo-mécaniques que 20 à 40 % du travail négatif était absorbé par le muscle lorsque la vitesse de l'étirement est de l'ordre de celle que nous avons utilisée dans nos expériences.

b. — Des limites de la réversibilité. Nous avons séparé assez nettement dans nos expériences le métabolisme stable, qui est le reflet de l'activité soutenue du muscle durant un tétanos, et le métabolisme du travail (positif ou négatif), qui dépend des échanges d'énergie entre le muscle et le milieu extérieur. On peut concevoir de deux manières les relations entre ces deux métabolismes : *a*) le métabolisme du travail n'a pas d'existence propre, mais résulte de la modulation du métabolisme stable associée à la production de travail ; *b*) le métabolisme du travail est l'expression de réactions mécano-chimiques distinctes des réactions qui se trahissent par le métabolisme du maintien.

L'intérêt de la distinction entre ces deux modèles réside dans les limites différentes qu'ils posent à la réversibilité des phénomènes de la contraction. On peut concevoir, en effet, qu'un étirement du muscle puisse renverser totalement les réactions mécano-chimiques. Dans le cas *a*, il pourrait être possible d'annuler complètement le bilan d'énergie du muscle ; la contraction serait alors complètement réversible : c'est ce que prétendent HILL et HOWARTH (1959), mais nos expériences ne confirment pas l'interprétation que ces auteurs donnent de leurs résultats (cfr plus loin, 3). Dans le cas *b*, l'étirement ne pourrait pas renverser toutes les réactions qui surviennent durant la contraction, mais seulement celles qui sont directement associées aux phénomènes mécaniques ; même si les réactions mécano-chimiques étaient entièrement renversées par un allongement, les autres réactions ne seraient pas modifiées, et la contraction musculaire ne serait que partiellement réversible.

On peut concevoir assez facilement que la vitesse de ces phénomènes mécano-chimiques ne puisse pas dépasser une certaine limite. Cette limite serait par exemple la puissance maximum que le muscle peut dépenser en se raccourcissant, puissance maximum que HILL (1938) évalue à

0,1 P_0V_0 (P_0 est la tension maximum, et V_0 est la vitesse maximum de raccourcissement sous charge nulle). Puisque $P_0 = 2.250 M/l_0$ (où M est le poids du muscle) et que $V_0 = 4b = 4l_0/3$ (où b est la constante de vitesse), la puissance maximum est de l'ordre de 300 gcm/g/sec, soit environ 7 mcal/g/sec. Lors d'un étirement, le muscle ne peut sans doute absorber une puissance supérieure à celle qu'il peut dépenser. La puissance des étirements rapides est de — 48 mcal/g/sec (expériences n° 251 à 316) et de — 60 mcal/g/sec (expériences n° 110 à 170) ; elle est très supérieure à la puissance maximum du muscle, ce qui pourrait peut-être expliquer pourquoi on observe dans ces conditions une accélération de l'hydrolyse de la PC. Mais la puissance exercée sur le muscle lors de nos étirements lents est de — 5 et de — 9 mcal/g/sec. Comme 30 % de cette puissance est absorbée, il faudrait admettre que la puissance maximum que le muscle pourrait absorber serait de — 1,5 à — 3,0 mcal/g/sec, ce qui paraît raisonnable comparé à la puissance maximum qu'il peut dépenser en travail positif (7 mcal/g/sec). L'absence de corrélation entre le travail imposé et l'économie de PC qui en résulte s'explique dans cette hypothèse parce que lors de nos allongements lents, la capacité d'absorption du travail est dépassée dans presque toutes les expériences, de sorte que l'excès de travail qui n'est pas absorbé est dégradé en chaleur. Cette hypothèse explique parfaitement pourquoi la fraction du travail absorbé est d'autant plus grande que l'allongement est plus lent, fait sur lequel insistent beaucoup ABBOTT et AUBERT (1951) et AUBERT (1956 a).

3. — *Le problème de l'allongement rapide.*

Selon HILL et HOWARTH (1959), le bilan net d'énergie thermique et mécanique peut devenir nul durant un allongement à une vitesse modérément rapide : ils en concluent que la contraction musculaire pourrait être parfaitement réversible. Nos expériences ne supportent pas leurs conclusions : nous trouvons que le muscle allongé à une telle vitesse consomme plus de PC que son homologue stimulé isométriquement.

On peut formuler les hypothèses suivantes :

- a) le muscle absorbe le travail fourni par l'étirement, comme le veulent HILL et HOWARTH ; l'énergie absorbée est mise en réserve a1) sous forme de PC ou a2) sous une autre forme que de la PC ;
- b) le muscle n'absorbe pas de travail fourni par l'étirement, mais, au contraire, augmente sa consommation de PC durant l'étirement ;
- c) l'étirement rapide déclenche des réactions qui utilisent de la PC.

Si l'on admet l'hypothèse a_1 , il reste à expliquer pourquoi l'énergie absorbée ne se manifeste pas effectivement sous forme d'une économie de PC, comme nous l'observons dans le cas des allongements lents. Le travail négatif est quasiment le même dans les deux cas (cfr tableau 26) et l'évolution de la tension après l'étirement rapide est semblable à celle qui suit un allongement lent. Pour autant que nous puissions en juger, les conditions expérimentales sont identiques lorsque nous allongeons les muscles : seule change la vitesse d'étirement, qui peut être lente ou rapide. Il semble qu'il faille rejeter l'hypothèse a_1 .

Si l'on admet l'hypothèse a_2 , que l'énergie n'est pas mise en réserve sous forme d'ATP ou de PC, il faut alors expliquer pourquoi on trouve une économie de PC à la suite d'allongements lents.

Admettre l'hypothèse b revient à nier l'interprétation que HILL et HOWARTH donnent de leurs expériences. On calcule que si l'excès de consommation de PC se place durant les allongements la vitesse d'hydrolyse de la PC devrait augmenter de 0,85 micromole PC/g/sec (expériences n° 110 à 170), ou de 0,90 micromole PC/g/sec (expériences n° 251 à 316), *en sus* du métabolisme stable de 0,5 micromole PC/g/sec. Il est tout à fait invraisemblable que HILL et HOWARTH (1959) n'auraient pas détecté une augmentation de 200 % du métabolisme de maintien.

Il reste à examiner l'hypothèse c : l'étirement rapide déclencherait des réactions qui consommeraient de la PC. Il serait possible de concilier les résultats de HILL et HOWARTH (1959) avec les nôtres si l'on admet que l'absorption de travail durant l'étirement rapide est plus que compensée par une dilapidation des réserves de PC qui surviendrait après l'étirement. DISTÈCHE (1960) a observé que la vitesse d'alcalinisation du muscle augmente deux à trois fois après un étirement rapide (cfr sa figure 72) : ce fait pourrait trahir une accélération du catabolisme de la PC dans les instants qui suivent l'étirement ; cette accélération semble suffisamment grande pour expliquer l'augmentation de l'hydrolyse de PC que nous avons observée. Cette hypothèse est intéressante, mais se heurte à la difficulté que HILL et HOWARTH (1959) ne signalent aucune production accrue de chaleur après l'étirement durant le téтанos. Une dernière possibilité est que l'augmentation du catabolisme de la PC survienne durant les intervalles entre les téтанos.

Toutes ces hypothèses sont bien peu satisfaisantes. Il subsiste au moins un sérieux doute quant à la possibilité de renverser complètement les réactions mécano-chimiques de la contraction musculaire, comme le prétendent HILL et HOWARTH (1959).

4. — *La réversibilité de la contraction musculaire et le principe teinochimique.*

Récemment, KUHN a ouvert une nouvelle voie d'approche vers le problème de la réversibilité de la contraction musculaire en appliquant à des fibres glycérolées en contraction ce qu'il appelle le principe teinochimique (KUHN et coll., 1963).

Selon ce principe, l'énergie chimique peut être transformée directement en énergie mécanique d'une manière réversible. Soit une fibre glycérolée suspendue dans un milieu contenant de l'inosine triphosphate et du Ca^{++} . Les conditions sont choisies de telle sorte que la fibre est en état de contraction et hydrolyse à vitesse continue de l'inosine triphosphate (que la fibre peut utiliser à la place d'ATP). Le Ca^{++} se répartit en Ca^{++} libre dans la solution ambiante et en Ca^{++} lié à la fibre. L'addition de Ca^{++} au bain provoque un raccourcissement de la fibre et la production d'un certain travail : l'énergie mécanique ainsi libérée provient de la diminution de l'activité du Ca^{++} qui se fixe sur la fibre. Si l'on garde constante la quantité totale de Ca^{++} du système, l'étirement de la fibre s'accompagne d'un déplacement du Ca^{++} qui passe de la fibre dans la solution. Le travail (négatif) fourni à la fibre se retrouve sous forme d'énergie chimique : l'augmentation de la concentration du Ca^{++} libre de la solution. Inversement, le raccourcissement de la fibre et la production de travail (positif) requiert une fixation de Ca^{++} sur la fibre et une diminution de la concentration du Ca^{++} dans le milieu ambiant. Ces réactions sont relativement réversibles : 70 % du Ca^{++} libéré par un étirement peut être fixé lors d'un raccourcissement équivalent. Ces phénomènes sont régis par la loi :

$$-\left(\frac{\delta n_{\text{tot}}}{\delta L}\right)_{K=\text{const}} = \left(\frac{\delta K}{\delta L}\right)_{n_{\text{tot}}=\text{const}} - \frac{1}{RT} \left(\frac{\delta \ln a}{\delta L}\right)_{n_{\text{tot}}=\text{const}} \quad (14)$$

où L est la longueur de la fibre et K sa tension ; n_{tot} la quantité totale de Ca^{++} présent dans le système, et a son activité.

Ces expériences présentent deux aspects intéressants :

a) la fibre glycérolée présente un équivalent du métabolisme stable du muscle entier, l'hydrolyse continue d'inosine triphosphate, et un équivalent du métabolisme du travail, la fixation réversible des ions Ca^{++} , phénomène qui pourrait être l'équivalent de l'effet FENN. Nous avons déjà avancé plus haut (cette discussion, 2 b) que l'on pourrait concevoir une certaine dissociation entre le métabolisme de maintien et le métabolisme du travail. Les expériences de KUHN et coll. (1963)

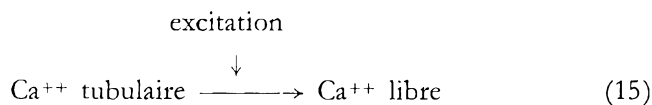
apportent une base physicochimique très intéressante en faveur de cette hypothèse.

b) les échanges de Ca^{++} entre la fibre glycérolée et le milieu ambiant sont réversibles et couplés avec les échanges de travail entre la fibre et l'extérieur : le principe teinochimique exige que la contraction de la fibre soit réversible. Mais l'hydrolyse continue d'inosine triphosphate n'est pas réversible : elle représente le prix à payer pour maintenir le muscle dans l'état de contraction.

5. — Une hypothèse.

Les faits que nous venons de décrire nous suggèrent l'hypothèse suivante.

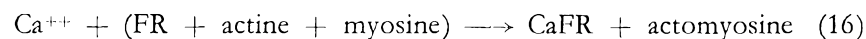
L'excitation de la membrane libérerait le Ca^{++} des tubules du reticulum endoplasmique dans le cytoplasme :



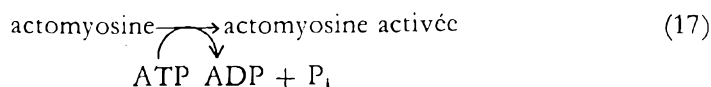
ce Ca^{++} libre jouerait alors un double rôle :

a) Activation du muscle.

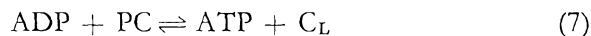
Le Ca^{++} inhiberait le facteur de relâchement (FR), peut-être en le relargant de l'une des protéines contractiles par une action de masse comme le suggère BOZLER (1954), et permettrait la combinaison de l'actine avec la myosine :



l'actomyosine serait activée en hydrolysant de l'ATP :



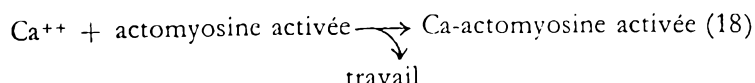
Cette activation nécessite une hydrolyse continue d'ATP. Cet ATP est resynthétisé aux dépens de la PC par la réaction de LOHMANN :



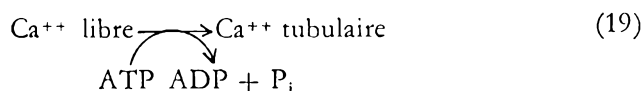
Cette consommation continue de PC forme l'essentiel de ce que nous avons désigné sous le terme de métabolisme stable, et la libération de chaleur y afférente forme la plus grande partie de la chaleur de maintien de la contraction.

b) Production de travail.

Le Ca^{++} serait en équilibre teinochimique avec l'actomyosine activée :



Le raccourcissement du muscle provoque une fixation de Ca^{++} sur l'actomyosine activée ; le niveau de Ca^{++} est maintenu constant par une sortie supplémentaire de Ca^{++} hors des tubules : par conséquent lors d'un raccourcissement la quantité totale de Ca^{++} qui sort des tubules augmente d'autant plus que le muscle fournit plus de travail (positif). Lors d'un étirement forcé, l'actomyosine activée libère du Ca^{++} : la sortie du Ca^{++} tubulaire en est diminuée d'autant. Ces échanges de Ca^{++} associés au travail positif ou négatif formeraient la base chimique du métabolisme du travail. Lors du relâchement, le Ca^{++} est pompé activement vers l'intérieur des tubules par un processus qui exige de l'ATP (HASSELBACH et MAKINOSE, 1960).



et l'ATP hydrolysé est rephosphorylé par la PC. Le processus forme sans doute une partie du métabolisme stable et de l'extramétabolisme. Mais la quantité de Ca^{++} à pomper dépend aussi du travail fourni ou reçu par le muscle. Ces variations provoqueraient une utilisation accrue de PC (cas du travail positif) ou une économie de PC (cas du travail négatif avec allongements lents) que nous avons observée.

CHAPITRE IV

La corrélation entre la PC et l'ATP.

LE taux de PC du muscle dépend nettement d'un certain nombre de facteurs : la durée de stimulation, le nombre de tétanos et les variations de longueur du muscle durant le tétanos (raccourcissements ou allongements). Le taux d'ATP varie quelquefois lorsqu'on soumet le muscle à l'un ou l'autre traitement, mais ces variations ne sont pas systématiquement liées à la nature du traitement infligé au muscle. Lorsque des variations notables d'ATP existent, elles vont toujours dans le même sens que les variations de PC.

En dehors de toute idée préconçue, nous avons d'abord recherché s'il y avait une corrélation quelconque entre la PC et l'ATP. Nous avons donc calculé les coefficients de corrélation entre PC et ATP dans nos expériences. Ces coefficients r sont tous très faibles (cfr tableau 27), et la plupart tombent en dessous du niveau de signification. Ces coefficients sont positifs, sauf trois. De ces trois coefficients négatifs, deux sont très faibles et sans portée aucune, mais le troisième assez élevé frôle le palier de 5 % de signification : il correspond aux expériences avec allongements rapides. Il y a là une indication sérieuse que le métabolisme de l'ATP pourrait être modifié par un tel traitement, quoique en moyenne on ne perçoive aucune différence entre les taux d'ATP des muscles étirés rapidement et celui des muscles stimulés isométriquement. Très malheureusement, nous ne possédons qu'une seule expérience de ce type. En l'absence de certitude ferme, nous négligerons ce point dans la discussion qui va suivre. Des autres coefficients r positifs, deux seulement atteignent une valeur assez élevée pour dépasser le cap des 10 % de probabilité. Nous avons calculé les coefficients de régression ATP/PC de toutes les séries expérimentales dont les r dépassent 0,2. Si nous excluons le b afférent aux allongements rapides, les 5 b obtenus sont étonnamment voisins. Quoique trois de ces coefficients ne soient pas statistiquement différents de zéro, nous croyons

TABLEAU 27

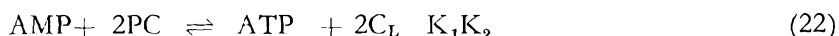
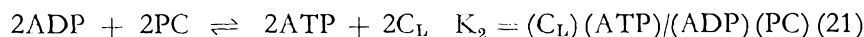
Les corrélations entre l'ATP et la PC

Type	Exp. n°	<i>r</i> <i>n</i>			<i>b</i> micromole ATP/g
					micromole PC/g
Repos	219 à 306	+ 0,273	30	NS	0,083 ± 0,611
Isométriques	216 à 249	+ 0,104	29	NS	—
Raccourcis	216 à 249	+ 0,244	29	NS	0,091 ± 0,070
Isométriques	275 à 313	+ 0,201	16	NS	0,091 ± 0,152
Allongements lents	275 à 313	— 0,017	26	NS	—
Isométriques	251 à 316	— 0,004	17	NS	—
Allongements rapides	251 à 316	— 0,486	17	< 5 %	— 0,137 ± 0,071
Repos, isométriques allongés et rac- courcis	328 à 406	+ 0,387	156	< 1 %	+ 0,083 ± 0,017
Isométriques	428 à 448	+ 0,244	52	< 10 %	+ 0,058 ± 0,034

qu'il y a là une indication sérieuse que l'ATP et la PC varient en phase l'un avec l'autre, et que l'ATP change environ 12 à 15 fois moins vite que la PC. Il est spécialement intéressant de souligner que cette dépendance paraît la même, qu'on l'analyse sur des muscles qui ont reçu le même traitement ou sur des groupes de muscles qui ont reçu divers traitements (avant-dernière ligne du tableau). Les variations d'ATP que nous avons observées dans nos expériences pourraient donc être reliées aux variations de PC provoquées par la stimulation. Il n'y a aucune raison de croire que l'un quelconque de nos traitements (stimulation isométrique, avec raccourcissement ou avec allongement) s'accompagne d'un métabolisme particulier de l'ATP.

Nous ne pouvons maintenant poursuivre cette analyse sans un guide théorique. Celui-ci nous est fourni par CARLSON et SIGER (1959). Ces auteurs ont montré que le taux de PC et d'ATP dans le muscle pourrait s'expliquer par un équilibre enzymatique relativement simple. Ils supposent que dans un muscle intoxiqué à l'iodoacétate, les seules réactions qui surviennent sont l'hydrolyse de l'ATP durant la contraction et sa resynthèse par la réaction de LOHMANN et myokinase :





Si on admet que le système est fermé :

$$(\text{C}_L) + (\text{PC}) = \text{C}_T, \quad \text{une constante} \quad (23)$$

$$(\text{ATP}) + (\text{ADP}) + (\text{AMP}) = \text{A}_T, \quad \text{une constante} \quad (24)$$

on peut déduire l'équation suivante :

$$1/(\text{ATP}) = (1/K_2) (\text{A}_T) [(K_2 - 1) + (\text{C}_T/(\text{PC}))] \quad (25)$$

à la condition que $K_1 K_2 \gg 1$, ce qui est justifiable puisque $K_2 > 20$ (KUBY et coll., 1954) et $K_1 = 2,3$ (EGGLESTON et HEMS, 1952). CARLSON et SIGER déterminent expérimentalement que $K_2 = 19 \pm 3$; nous évaluons C_T à 25 micromoles/g dans nos expériences (négligeant la petite variation de C_T que nous avons observée) et A_T à 5 micromoles/g, de sorte que l'équation (25) se réduit à :

$$1/(\text{ATP}) = 0,19 + 0,26/(\text{PC}) \quad (26)$$

Nous avons choisi d'analyser en détail une série d'expériences qui comporte 156 muscles (n° 329 à 416) qui ont reçu quatre genres de traitements (cfr 3^e partie, chapitre III, § 2, B). L'inverse de la concentration d'ATP, multiplié par 1000 (pour faciliter les calculs) est pointé en fonction de l'inverse de la concentration de PC, aussi multiplié par 1000. La figure 20 montre comment les points se répartissent. Il existe sans aucun doute une bonne corrélation entre $1/\text{ATP}$ et $1/\text{PC}$. La droite représente la régression calculée : elle a une pente de $0,300 \pm 0,084$ micromole PC/micromole ATP, ce qui se compare très favorablement avec la pente théorique 0,26 de l'équation (26). On pourrait penser que cette régression est quasi entièrement conditionnée par les treize points qui ont une valeur de $1000/\text{PC}$ supérieure à 500. Ce n'est pas le cas : l'analyse de régression calculée sur les 143 points restants fournit une estimation de la pente de $0,356 \pm 0,037$. Les moyennes de $1/\text{ATP}$ et $1/\text{PC}$ sont respectivement de 0,278 et 0,207, ce qui permet de calculer l'ordonnée à l'origine 0,203, très proche de la valeur théorique de l'équation (26) 0,19. Il faut ajouter que les traitements ne semblent pas affecter cette régression. Il est donc hors de doute qu'une régression satisfaisante existe entre les inverses de PC et d'ATP, dont la pente est celle prévue par l'hypothèse de CARLSON et SIGER (1959).

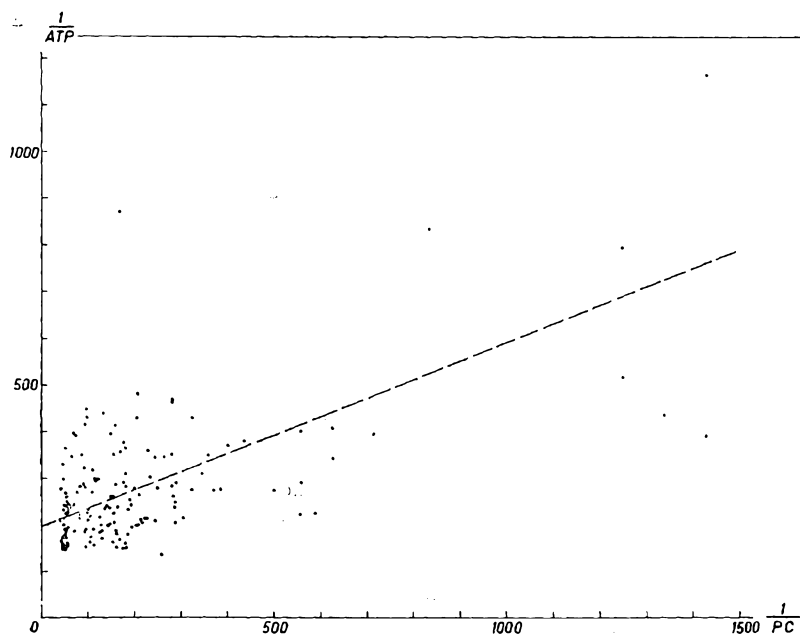


FIG. 20. La corrélation entre l'ATP et la PC. L'inverse de la concentration d'ATP en micromoles/g est pointé en fonction de l'inverse de la concentration de PC en micromoles/g, pour 156 muscles (expériences n° 329 à 416), les deux échelles sont multipliées par 1000. La droite de pente 0, 300 $\pm$ 0,084 représente la régression calculée.

DISCUSSION

Les corrélations que nous avons observées entre le taux de PC et celui d'ATP suggèrent une hypothèse simple qui rendrait compte des variations d'ATP que nous avons rencontrées dans quelques expériences. Selon cette hypothèse, l'ATP serait en équilibre enzymatique avec la PC par la réaction de LOHMANN complétée par la réaction myokinase.

Un tel équilibre est possible dans le muscle, et s'il existe, doit s'établir très rapidement. KUBY et ses collaborateurs (1954) ont mesuré l'activité molaire de la créatine transphosphorylase, et ont calculé que son activité est suffisante dans le muscle de lapin pour resynthétiser tout l'ATP aux dépens de la PC en 30 msec. La concentration de cette enzyme

dans le couturier de grenouille n'est pas connue, mais on ne fera sans doute pas une grande erreur en admettant qu'elle soit suffisamment élevée pour que la réaction de LOHMANN atteigne très rapidement son équilibre.

A priori, on peut concevoir que le métabolisme des composés phosphorés survient en deux phases consécutives : une phase d'utilisation de l'ATP durant la contraction, et une phase de restauration de la PC. Au cours de la contraction, l'ATP est hydrolysé au contact de l'actomyosine comme le suggère l'étude des modèles glycérolés (WEBER et PORTZEHL, 1954) et l'effet du blocage *in vivo* de la créatine transphosphorylase par le fluorodinitrobenzène (CAIN et DAVIES, 1962). Quasi simultanément, l'ATP est reformé par la réaction myokinase (CAIN et DAVIES, 1962) et par la réaction de LOHMANN. Etant donné que cette réaction est très rapide, on s'explique que le niveau d'ATP reste pratiquement constant ; mais les taux respectifs de l'ATP et de la PC doivent alors dépendre de l'équilibre de la réaction de LOHMANN, ce que suggèrent effectivement les expériences de CARLSON et SIGER (1959) et les nôtres. FLECKENSTEIN et JANKE (1957) n'ont pu mettre cette réaction en évidence à l'aide de P^{32} , parce que la vitesse d'entrée du P^{32} dans la cellule est très inférieure à la vitesse d'échange des phosphates au cours de la contraction. Le problème que pose leurs expériences réside plutôt dans la constatation surprenante que la radioactivité spécifique de la PC n'atteint que 70 % de celle du phosphore terminal de l'ATP. Ce fait semblerait indiquer qu'une partie de la PC (environ 30 %) n'est pas en équilibre avec le pool général d'ATP. Le mouvement de cette PC pourrait être restreint par une fixation qui s'accorderait avec l'opinion de HILL et KUPALOV (1930) que l'hydrolyse de la PC libérerait des produits osmotiquement actifs ; la PC inéchangeable pourrait encore former le centre du disque de PC isotonique que postule D.K. HILL (1962), à la suite de ses études autoradiographiques. Les remarquables expériences où FLECKENSTEIN et ses collaborateurs (1960) montrent que les échanges d' O^{18} n'augmentent pas pendant la contraction, ne plaident pas contre l'hypothèse de LOHMANN, puisque l'ATP et la PC sont déjà en équilibre isotopique avant la contraction. HOHORST et coll. (1963), croient que la constance du niveau de l'ATP et de l'ADP durant la contraction de muscles de lapin *in situ* jointe à la chute rapide et simultanée de la PC ne peut s'expliquer par un équilibre de la réaction de LOHMANN ; ils en concluent à une répartition de l'ATP en différents compartiments. Mais leurs expériences sont sans doute viciées par deux erreurs : d'abord les taux d'ATP (ce travail) et d'ADP (JÖBSIS, 1963)

changent pendant la contraction, et ensuite ils ne prennent pas en considération la réaction myokinase. JÖBSIS (1963) admet quant à lui que l'ATP et l'ADP sont en un équilibre rapide régi par la réaction de LOHMANN : la petite variation d'ADP observée par CHANCE et CONNELLY (1957) au cours d'une secousse musculaire correspond à une variation d'ATP beaucoup plus grande, que le calcul révèle être justement de l'ordre attendu.

Après cette première phase du métabolisme phosphoré survient la seconde qui consiste essentiellement en une recharge des réserves de PC. La façon dont s'opère cette resynthèse n'est pas connue. Les concentrations relatives d'ATP et de PC, même à la fin d'un long tétanos, sont telles que la resynthèse de l'ATP est beaucoup plus favorisée que la resynthèse de PC. En fait, il est difficile d'imaginer comment la même réaction de LOHMANN pourrait tantôt favoriser la resynthèse rapide d'ATP durant la contraction, et tantôt favoriser la resynthèse de PC durant la restauration. Il faut sans doute que la PC soit resynthétisée par d'autres réactions : peut-être est-elle rephosphorylée à partir de phosphorylglycérate (CORI et coll., 1956), ou à partir de phosphopyruvate (MEYERHOF et SCHULZ, 1935). Cette rephosphorylation de la PC provoque une forte augmentation de l'incorporation d' O^{18} dans la PC et l'ATP (FLECKENSTEIN et coll., 1960) : il est clair qu'elle requiert un intense métabolisme du phosphore, mais différent de celui qui survient durant la contraction.

RÉSUMÉ

Nous résumerons l'essentiel de nos résultats par les points suivants:

1) Le taux de PC du muscle au repos varie entre $16,23 \pm 0,58$ et $20,24 \pm 0,67$ micromoles PC/g (*sartorius* de *Rana temporaria*). La variation paraît saisonnière, le taux maximal étant observé en avril. Les déterminations individuelles ont un écart type d'environ 1,5 à 3 micromoles/g. Cette variabilité, qui est parmi les plus faibles de celles que l'on rencontre dans la littérature, est telle que la détection d'un effet de $\pm 0,5$ micromole/g est pratiquement exclue car elle exigerait un trop grand nombre de répétitions (50 à 100), et qu'un effet de $\pm 1,0$ micromole/g est difficile à mettre en évidence. Cette considération suffit à expliquer pourquoi de nombreux auteurs n'ont pas réussi à démontrer une hydrolyse de PC pendant des stimulations de faible durée. Le taux d'ATP du muscle au repos est compris entre $4,75 \pm 0,15$ et $4,91 \pm 0,20$ micromoles/g. Une variation d'ATP de $\pm 0,5$ micromole/g serait assez facilement détectable mais on n'observe une hydrolyse d'ATP qu'à la suite d'une stimulation assez longue.

2) Au cours d'un tétanos isométrique prolongé, le muscle hydrolyse de la PC à une vitesse qui paraît constante : c'est le *métabolisme stable* de la PC. Chez *R. temporaria*, on observe simultanément une augmentation apparente de la créatine totale, actuellement inexplicable, de sorte que l'estimation de la vitesse d'hydrolyse de la PC est différente suivant qu'elle se base sur l'apparition de créatine libre ($0,51 \pm 0,08$ micromole C_L /g/sec) ou la disparition de la PC ($-0,43$ micromole PC/g/sec). Si l'on applique une correction qui tient compte de la diminution de la tension durant le tétanos, ces estimations passent respectivement à $0,60$ micromole C_L /g/sec ou $-0,50$ micromole PC/g/sec. Le métabolisme stable de la PC dépend aussi de la longueur du muscle, et diminue de $-0,63$ micromole/g/sec à $-0,31$ micromole PC/g/sec lorsque la longueur du muscle diminue de $105\% l_0$ à $55\% l_0$ et que la tension du muscle passe de P_0 à moins de 5% de P_0 (estimations corrigées pour la chute de tension). L'enthalpie d'hydrolyse de la PC *in vivo* est estimée de $-7,0$ à $-8,2$ kcal/mole, et ne dépend pas de la longueur à laquelle on stimule le muscle.

Chez *R. pipiens* le métabolisme stable est moins intense que chez *R. temporaria*; estimé d'après l'apparition de créatine libre durant le

tétanos, il est de 0,28 micromole $C_L/g/sec$, ou de 0,32 micromole $C_L/g/sec$, après correction pour la chute de tension durant le tétenos.

3) La quantité de PC hydrolysée en conditions isométriques dépend non seulement de la durée globale de tétenisation, mais encore du nombre de tétenos. A chaque tétenos correspond un *extramétabolisme* (en sus du métabolisme stable) de 0,33 micromole/g/tétanos chez *R. pipiens* et de $0,78 \pm 0,15$ micromole/g/tétanos chez *R. temporaria*. Dans le cas de *R. temporaria* les dépenses énergétiques liées à la production de la tension et au relâchement sont couvertes par l'extramétabolisme de la PC. Il subsiste cependant un excès de PC hydrolysée qui ne s'explique pas facilement, sinon en admettant que la chaleur de relâchement soit sous-évaluée, ou que cette PC soit consommée pendant les intervalles de repos par une réaction de rephosphorylation.

4) Si l'on permet au muscle de se raccourcir, on observe une augmentation de la quantité de PC hydrolysée, qui est proportionnelle au travail fourni par le muscle (équivalent chimique de l'effet Fenn). Le coefficient mécano-chimique du travail est estimé à 11 kcal/mole. Le coefficient ne dépend ni de l'espèce de grenouille utilisée (*R. pipiens* ou *R. temporaria*), ni du mode de raccourcissement (à vitesse constante ou à tension constante).

5) Si on allonge un muscle d'une manière forcée durant le tétenos, les variations de PC dépendent de la vitesse de l'allongement.

A vitesse lente d'étirement, (0,23 à 0,40 cm/sec), le muscle étiré consomme 1,68 à 2,25 micromoles PC/g en moins que les muscles stimulés isométriquement. Comme le travail imposé au muscle oscille de 65 à 67 mcal/g, on en déduit que l'économie de PC réalisée par le muscle étiré équivaut à une absorption de 30 % du travail négatif imposé. Ces expériences confirment entièrement les observations d'ABBOTT et AUBERT (1951) et d'AUBERT (1956 a), selon lesquelles 20 à 40 % du travail imposé au muscle par un allongement forcé ne se retrouvent pas sous forme de chaleur et doivent donc être absorbés par le muscle.

A vitesse rapide d'allongement (1,8 cm/sec), le muscle étiré consomme de 0,83 à 1,48 micromoles PC/g en plus que le muscle stimulé isométriquement. Le travail négatif imposé au muscle est pourtant du même ordre de grandeur (68 à 80 mcal/g) que celui imposé aux muscles allongés lentement. Ces expériences ne soutiennent pas les conclusions de HILL et HOWARTH (1959) qui prétendent que les phénomènes mécano-chimiques de la contraction pourraient être totalement renversés durant de tels allongements rapides.

Dans les deux cas, il n'existe aucune corrélation entre les variations de PC et la quantité de travail négatif que reçoit le muscle.

6) Le taux d'ATP du muscle ne paraît dépendre ni de la stimulation en conditions isométriques, ni du raccourcissement, ni de l'allongement rapide ou lent. On observe toutefois des variations d'ATP qui reflètent les variations de PC. La corrélation positive qui existe entre l'ATP et la PC est surtout marquée lorsque le taux de PC a été fort abaissé par la stimulation: *elle pourrait s'expliquer en admettant que ces deux substrats sont en un équilibre enzymatique contrôlé par la créatinephoryltransférase (enzyme de LOHMANN) et la myokinase.*

7) Dans toutes nos expériences, les muscles sartorius sont empoisonnés par l'iodoacétate et suspendus en atmosphère d'azote humide à une température de 1,5 à 2°C.

SUMMARY

THE muscles used in our experiments were the sartorii of *Rana temporaria* or of *Rana pipiens*. They were poisoned with iodoacetate and placed in moist nitrogen, at a temperature of 1.5 to 2.0°C. After stimulation, they were quickly frozen, and analyzed for creatine and phosphorylcreatine (alpha-naphtol diacetyl method) and for ATP (firefly method).

Our results are summarized in the following points.

1) The amount of phosphorylcreatine (PC) in a resting muscle fluctuates between 16.23 ± 0.58 and 20.24 ± 0.64 micromoles/g (sartorius of *Rana temporaria*). The variation appears to be seasonal, with a maximum in April. Although the standard deviation (for one determination) is among the lowest found in the literature, it is about 1.5 to 3.0 micromoles/g. It is clear that with such a large standard deviation the detection of an hydrolysis of 0.5 micromole PC/g would require such a large number of replications (50 to 100), that its detection is practically impossible; even an hydrolysis of 1.0 micromole PC/g is hard to demonstrate. This explains why many authors were unable to demonstrate any breakdown of PC during short contractions. The amount of ATP in the resting muscle lies between 4.75 ± 0.15 and 4.91 ± 0.20 micromoles/g. The standard deviation of these measurements is sufficiently low to enable us to detect a breakdown of 0.5 micromole/g, but the ATP level decreases only after a fairly long contraction (10 to 20 sec at 2°C).

2) During an isometric tetanus, the PC is hydrolyzed at a nearly constant rate: this is the *stable metabolism* of the PC, which is equivalent to the maintenance heat. The actual importance of this stable metabolism in *Rana temporaria* is somewhat uncertain, because the total creatine of the muscle appears to increase during the stimulation. The significance of this phenomenon is not yet understood. The evaluation of the stable metabolism is then somewhat different if estimated from the increase of free creatine (0.51 ± 0.08 micromole C_L /g/sec) or the decrease in PC (-0.43 micromole PC/g/sec). If we correct these two values for the tension decay that occurs during the stimulation, these estimates reach 0.6 micromole C_L /g/sec and -0.5 micromole PC/g/sec respectively.

The stable metabolism is dependent on the length of the muscle, and decreases from -0.63 to -0.31 micromole PC/g/sec as the length of the muscle decreases from $105\% l_0$ to $55\% l_0$; thus the stable metabolism is only halved when the tension developed by a short muscle is very small (less than $5\% P_0$). The enthalpy for the hydrolysis of PC *in vivo* is evaluated to -7.0 to -8.2 kcal/mole, and is independent on the length of the muscle.

In the sartorius muscles of *Rana pipiens* the stable metabolism, as estimated from the increase in free creatine, is 0.28 micromole C_L /g/sec (0.32 micromole C_L /g/sec when corrected for tension decay).

3) In isometric conditions, the amount of PC which is broken down depends on the number of tetani as well as on the total duration of the stimulation. Besides the stable metabolism, the muscle must use for each tetanus 0.33 micromole PC/g/tetanus (*Rana pipiens*) or 0.78 ± 0.15 micromole PC/g/tetanus (*Rana temporaria*). This *extrametabolism*, as we have called it, provides the energy which the muscle must use for the development of the tension and during the relaxation. However, nearly half of the extrametabolism of *Rana temporaria* cannot be accounted for on this basis, and we must assume either that the heat of relaxation is underestimated, or that PC is used by side reactions during the resting periods between the tetanus.

4) If the muscle shortens, the breakdown of PC increases in proportion to the amount of work which has been performed (chemical equivalent of the Fenn effect). The mechanochemical coefficient for positive work is evaluated to 11 kcal/mole. This coefficient is independent on the species (*Rana temporaria* or *Rana pipiens*) and on the type of shortening (constant rate or constant load).

5) If the muscle is forcibly lengthened during the tetanus, the amount of PC split change according to the rate of the stretch.

After slow stretches (0.23 to 0.40 cm/sec), the muscle contains 1.68 to 2.25 micromoles PC/g in excess on the isometrically stimulated control. As the negative work is 65 to 67 mcal/g, the inference is that the economy in PC of the slowly stretched muscle is equivalent to the absorption of 30% of the work done on it. These experiments fall in line with those of ABBOTT and AUBERT (1951) and AUBERT (1956 a), who showed that 20 to 40% of the work done on a muscle by a slow stretch does not appear as heat and is presumably absorbed.

After fairly quick stretches (1.8 cm/sec), the muscle contains less PC (0.83 to 1.48 micromole PC/g) than the control muscle, although the

negative work done on the muscle (68 to 80 mcal/g) has the same magnitude as that forced upon the muscle slowly stretched. These experiments do not lend any support to the conclusions of HILL and HOWARTH (1959) who concluded that the chemical reactions which generates the tension are wholly reversed during such rapid stretches.

In both series of experiments, there was no correlation between the PC changes and the magnitude of the negative work done on the muscle.

6) Though the ATP content of the muscle is rather independent of the duration of the tetanus, and of the positive or negative work, the change in ATP concentration seems correlated with those in PC. This correlation is obvious when the PC level has been much reduced by prolonged stimulation. The most probable explanation is that ATP and PC are in an thermodynamic equilibrium controlled by creatinephosphoryltransferase.

TABLES ANNEXES

Ces tables reproduisent tous les résultats obtenus. Chaque paire de muscles est numérotée en suivant l'ordre chronologique de leur utilisation, et classée suivant les conditions expérimentales. Les tables donnent la longueur de référence (l_0) de chaque paire en cm ; le poids des muscles en mg ; la créatine totale (C_T), la créatine libre (C_L), la phosphorylcréatine (PC) et l'adénosine triphosphate (ATP) en micro-moles par gramme de muscle ; la tension moyenne (P_m) en kg/cm² des muscles stimulés isométriquement (M) ; le travail fourni (travail positif W^+) fourni par les muscles qui se raccourcissent (S), en mcal par gramme de muscle ; le travail reçu (travail négatif W^-) par les muscles qui sont allongés (A), en mcal par gramme de muscle. Les muscles au repos (R) peuvent être placés en position 1 ou 2 sur les électrodes.

TABLE 1

N ^o	I ₀	Poids		C _T			C _L			P _C		
		Position		Position			Position			Position		
		1	2	1	2	1	2	Δ	1	2	Δ	
9	3, 2	92	89	30, 3	26, 8	14, 7	13, 0	+ 1, 7	15, 6	13, 8	+ 1, 8	
10	3, 4	89	94	31, 2	33, 9	7, 3	9, 9	+ 2, 6	23, 9	24, 0	+ 0, 1	
11	3, 4	127	118	35, 3	35, 3	15, 8	12, 1	+ 3, 7	19, 5	23, 2	— 3, 7	
12	3, 2	98	91	34, 4	37, 0	10, 0	12, 3	— 2, 3	24, 4	24, 7	— 0, 3	
18	3, 2	67	65	26, 3	28, 2	12, 4	13, 7	— 1, 3	13, 9	14, 5	— 0, 6	
19	3, 2	85	86	28, 6	30, 7	11, 2	10, 8	+ 0, 4	17, 4	19, 9	— 2, 5	
20	2, 9	52	55	30, 3	31, 0	10, 0	13, 3	— 3, 3	20, 3	17, 7	+ 2, 6	
21	2, 8	63	68	20, 6	19, 4	4, 0	5, 6	— 1, 6	16, 6	13, 8	+ 2, 8	
22	2, 9	75	80	22, 2	16, 3	5, 1	5, 0	+ 0, 1	17, 1	11, 3	+ 5, 8	
23	2, 8	62	59	24, 9	23, 5	5, 0	5, 3	— 0, 3	19, 9	18, 2	+ 1, 7	
24	2, 9	57	58	23, 5	24, 2	5, 2	5, 2	0	18, 3	19, 0	— 0, 7	
25	3, 1	85	81	24, 0	21, 0	3, 0	4, 0	— 1, 0	21, 0	17, 0	+ 4, 0	
26	2, 8	59	58	17, 9	20, 5	5, 1	4, 5	+ 0, 6	12, 8	16, 0	+ 3, 2	
27	2, 8	73	66	23, 0	21, 8	4, 9	6, 8	— 1, 9	18, 1	15, 0	+ 3, 1	
28	2, 7	91	84	26, 5	21, 0	8, 0	5, 2	+ 2, 8	18, 5	15, 8	+ 2, 7	
29	2, 7	71	73	16, 8	17, 1	6, 9	6, 6	+ 0, 3	9, 9	10, 5	— 0, 6	
30	2, 9	59	57	24, 4	25, 1	8, 0	5, 4	+ 2, 6	16, 4	19, 7	— 3, 3	
31	2, 6	63	57	24, 0	28, 7	5, 0	7, 4	— 2, 4	19, 0	21, 3	— 2, 3	

34	2,8	67	65	22,6	19,1	7,0	5,4	1,6	15,6	13,7	1,9
35	2,7	66	60	26,7	21,5	6,4	4,5	1,9	20,3	17,0	3,3
36	2,7	50	49	20,8	23,6	5,3	4,7	0,6	15,5	18,9	3,4
58	3,0	106	101	18,8	15,6	3,6	3,2	0,4	15,2	12,4	2,8
63	3,0	61	77	24,1	22,6	6,8	7,8	1,0	17,3	14,8	2,5
73	3,2	86	89	22,7	23,5	4,7	5,5	0,8	18,0	18,0	0
78	2,9	73	76	21,2	21,5	5,1	5,5	0,4	16,1	16,0	0,1
83	2,8	58	53	20,6	20,6	4,6	5,6	1,0	16,0	15,0	1,0
88	3,0	88	88	21,2	21,6	4,1	4,9	0,8	17,1	16,7	0,4
91	3,0	82	82	17,0	17,5	4,1	4,0	0,1	12,9	13,5	0,6
96	2,9	63	66	25,8	25,7	5,3	5,6	0,3	20,5	20,1	0,4
172	3,0	67	66	24,1	22,8	4,5	4,2	0,3	19,6	18,6	1,0
173	3,0	76	87	22,8	22,6	6,4	7,7	1,3	16,4	14,9	1,5
174	2,9	60	69	22,8	22,4	4,2	4,2	0	18,6	18,2	0,4
175	3,1	73	67	21,2	21,8	5,5	5,6	0,1	15,7	16,2	0,5
176	3,1	95	84	23,2	22,2	7,5	7,9	0,4	15,7	14,3	1,4
178	2,9	76	79	25,3	28,2	4,6	4,3	0,3	20,7	23,9	3,2
179	3,1	96	92	28,2	28,2	7,9	7,3	0,6	20,3	20,9	0,6
180	3,1	90	94	27,0	25,4	7,7	6,6	1,1	19,3	18,8	0,5
181	2,8	65	66	25,6	27,0	6,1	6,1	0	19,5	20,9	1,4
182	3,1	90	95	24,5	24,1	6,3	8,7	2,4	18,2	15,4	2,8
183	2,9	70	67	24,1	25,7	6,5	7,5	1,0	17,6	18,2	0,6
190	3,0	77	80	20,5	24,6	3,4	5,3	1,9	17,1	19,3	2,2
191	3,4	97	104	23,0	23,8	5,3	6,0	0,7	17,7	17,8	0,1
192	2,9	53	60	24,9	23,7	5,1	7,4	2,3	19,8	16,3	3,5
193	3,1	89	83	23,2	24,2	6,5	8,3	1,8	16,7	15,9	0,8
194	3,2	125	130	22,2	24,5	7,0	9,1	2,1	15,2	15,4	0,2
195	3,0	103	101	25,6	22,8	10,4	6,4	4,0	15,2	16,4	1,2
196	2,8	58	57	23,8	21,4	3,3	3,0	0,3	20,5	18,4	2,1
201	3,0	73	79	20,8	20,0	7,5	6,1	1,4	13,3	13,9	0,6
204	3,2	97	97	20,2	21,2	3,1	3,9	0,8	17,1	17,3	0,2
207	3,3	84	84	28,6	29,0	11,2	12,1	0,9	17,4	16,9	0,5

N°	I ₀	Poids		C _T		C _L			PC			ATP		
		1	2	1	2	1	2	Δ	1	2	Δ	1	2	Δ
219	3,0	102	102	21,7	22,6	6,3	3,3	+ 3,0	15,4	19,3	- 3,9	4,82	5,54	- 0,72
225	3,0	87	92	27,3	26,1	3,5	2,7	+ 0,8	23,8	23,4	+ 0,4	5,20	4,52	+ 0,68
229	3,2	90	92	21,6	20,4	4,0	2,5	+ 1,5	17,6	17,9	- 0,3	6,50	5,68	+ 0,82
238	2,9	77	79	27,9	28,4	5,3	5,0	+ 0,3	22,6	23,4	- 0,8	3,59	3,78	- 0,19
243	2,6	51	54	24,2	24,2	8,3	10,4	- 2,1	15,9	13,8	+ 2,1	4,03	2,67	+ 1,36
250	3,2	101	92	24,4	24,4	6,7	11,8	- 5,1	17,7	12,6	+ 5,1	3,93	4,72	- 0,79
252	2,9	69	69	27,2	27,4	6,8	5,7	+ 1,1	20,4	21,7	- 1,3	4,05	4,45	- 0,40
268	3,0	90	105	27,1	24,6	19,8	6,3	+ 6,5	14,3	18,3	- 4,0	3,87	4,05	- 0,18
271	2,9	64	64	28,4	28,9	13,8	10,0	+ 3,8	14,6	18,9	- 4,3	4,69	4,76	- 0,07
277	3,1	66	66	29,8	29,8	6,7	6,0	+ 0,7	23,1	23,8	- 0,7	3,94	3,98	- 0,04
282	2,7	52	50	30,0	27,6	9,4	4,4	+ 5,0	20,6	23,2	- 2,6	5,86	6,38	- 0,52
290	3,1	87	84	27,7	31,0	5,7	6,0	- 0,3	22,0	25,0	- 3,0	5,98	7,40	- 1,42
297	3,4	81	83	31,2	32,0	6,9	9,0	- 2,1	24,3	23,0	+ 1,3	6,28	5,92	+ 0,36
301	3,1	82	78	26,8	28,8	5,1	8,1	- 3,0	21,7	20,7	+ 1,0	3,12	3,61	- 0,49
306	3,0	70	63	29,8	32,4	7,0	7,0	0	22,8	25,4	- 2,6	4,48	4,58	- 0,10

Muscles stimulés par des tétanos isométriques à intervalles de 5 sec (*i*) ou de 60 sec (I)

N°	l ₀	Poids		C _r			C _L			PC			Intégrale P-t en g × sec x 10 ³ /cm ²	
		i	I	i	I	Δ	i	I	Δ	i	I	Δ		
a) 6 tétranos de 0,5 sec														
70	2,9	70	72	20,7	21,9	13,1	14,9	—	1,8	7,6	7,0	—	0,6	5,4
76	2,9	77	81	22,2	24,3	8,0	9,8	—	1,8	14,2	14,5	—	0,3	5,8
84	2,9	77	78	18,0	17,3	9,5	8,0	+	1,5	8,5	9,5	—	0,8	7,5
86	3,1	79	79	24,4	23,2	15,4	14,9	+	0,5	9,0	8,3	+	0,7	7,9
93	3,0	77	76	28,0	29,0	9,3	9,9	—	0,6	18,7	19,1	—	0,4	6,5
100	3,2	92	93	30,4	24,1	12,1	14,1	—	2,0	7,3	10,0	—	2,7	7,5
102	3,1	77	70	30,4	30,0	15,7	14,5	+	1,2	14,7	15,5	—	0,8	7,3
108	3,2	99	90	19,7	15,8	12,6	7,9	+	4,7	7,1	7,9	—	0,8	7,2
b) 6 tétranos de 1 sec														
69	3,0	85	81	24,3	22,7	19,0	17,9	+	1,1	5,3	4,8	+	0,5	11,6
74	2,9	54	75	23,5	22,7	14,8	13,2	+	1,6	8,7	9,5	—	0,8	6,4
79	2,5	56	44	22,8	23,7	14,0	15,6	—	1,6	8,8	8,1	+	0,7	10,3
81	2,7	87	84	22,8	21,5	16,0	14,7	+	1,3	6,8	6,8	—	0	12,6
89	2,9	80	79	22,6	24,3	13,2	12,2	+	1,2	9,4	12,3	—	2,9	11,9
92	2,9	64	69	19,8	23,0	10,1	11,5	—	1,4	9,7	11,5	—	1,8	14,0
97	2,8	74	75	22,9	21,8	13,9	13,2	+	0,7	9,0	8,6	+	0,4	17,0
106	3,0	59	62	30,7	30,6	17,9	20,4	—	2,5	12,8	10,2	+	2,6	14,2
c) 6 tétranos de 2 sec														
59	2,9	55	58	22,9	23,4	16,7	18,0	—	1,3	6,2	5,4	+	0,8	13,9
64	2,7	54	60	26,4	24,8	20,0	17,5	—	2,5	6,4	7,3	—	0,9	24,1
68	2,9	60	61	24,4	28,0	21,8	26,7	—	4,9	2,6	1,3	+	1,3	28,2
72	3,2	85	84	24,0	24,4	19,0	18,8	+	0,2	5,0	5,6	—	0,6	18,6
77	2,9	74	72	18,7	18,2	15,0	13,5	+	1,5	3,7	4,7	—	1,0	23,4
85	2,9	72	68	22,3	21,6	16,9	12,3	+	4,6	5,4	9,3	—	3,9	31,4
87	3,0	63	79	24,6	26,8	21,4	21,4	—	0	3,2	5,4	—	2,2	26,9
107	2,9	65	66	22,7	22,4	17,2	17,8	—	0,6	5,5	4,6	+	0,9	38,2
d) 6 tétranos de 4 sec														
56	2,9	76	75	23,8	23,2	23,8	23,2	+	0,6	0	0	+	0	36,5
61	2,8	77	75	26,6	22,4	24,7	21,4	+	3,3	1,9	1,0	+	0,9	39,4
66	3,2	117	108	30,2	23,2	29,5	22,7	+	6,8	0,7	0,5	+	0,2	41,1
71	3,0	82	78	25,5	23,2	23,0	22,4	+	0,6	2,5	2,8	—	0,3	31,4
98	3,3	78	78	22,7	20,5	21,7	19,5	+	2,2	1,0	1,0	+	0	53,4
103	3,0	86	76	26,8	27,6	23,6	24,0	—	0,4	3,2	3,6	—	0,4	46,3
105	3,2	83	75	23,1	23,8	21,0	19,0	+	2,0	2,1	4,8	—	2,7	51,5
109	3,1	87	86	25,8	22,1	24,5	19,0	+	5,5	1,3	3,1	—	1,8	54,6

TABLE 3

Effet du raccourcissement. Un muscle de la paire est stimulé par des téтанos isométriques (M), l'autre est raccourci (S)

N°	l ₀	Poids		Cr		C _L			PC			ATP			P _m	W ⁺
		M	S	M	S	Δ	M	S	Δ	M	S	Δ				
a) 6 téтанos de 1 sec ; raccourcissements de 0,5 cm à 0,9 cm/sec																
216	3,0	85	86	22,8	23,1	11,4	13,8	+ 2,4	11,4	9,3	— 2,1	5,40	4,13	— 1,27	2,01	1,36
217	3,0	83	80	20,3	20,0	6,6	10,0	+ 3,4	13,7	10,0	— 3,7	4,27	3,54	— 0,73	2,64	1,02
218	2,8	67	69	21,7	22,5	8,8	12,5	+ 3,7	12,9	10,0	— 2,9	4,32	4,48	+ 0,16	2,14	1,64
220	3,0	62	71	21,2	24,1	8,2	12,2	+ 4,0	13,0	11,9	— 1,1	3,65	4,52	+ 0,87	2,28	1,31
221	3,1	100	105	29,7	28,7	15,9	22,7	+ 6,8	13,8	6,0	— 7,8	5,22	5,45	+ 0,23	2,30	1,00
222	3,0	72	73	32,6	32,4	26,2	21,0	— 5,2	6,4	11,4	+ 5,0	3,86	5,92	+ 2,06	2,46	1,41
223	3,2	128	134	29,4	29,4	23,8	20,6	— 3,2	5,6	8,8	+ 3,2	3,16	4,80	+ 1,64	2,27	1,55
224	3,0	63	66	29,3	29,8	16,7	17,7	+ 1,0	12,6	12,1	— 0,5	4,41	4,63	+ 0,22	2,56	1,13
226	2,9	102	108	23,2	21,3	11,1	13,1	+ 2,0	12,1	8,2	— 3,9	5,76	2,28	— 3,48	2,42	1,25
227	3,2	85	84	27,8	27,4	16,6	14,5	— 2,1	11,2	12,9	+ 1,7	1,91	6,68	+ 4,77	1,96	1,01
228	2,9	54	49	27,3	24,2	17,0	19,7	+ 2,7	10,3	4,5	— 5,8	6,35	3,28	— 3,07	1,40	1,35
230	3,2	109	104	23,4	25,6	20,0	17,8	— 2,2	3,4	7,8	+ 4,4	8,16	5,62	— 2,54	2,12	0,83
231	3,2	118	109	23,2	24,5	12,0	16,8	+ 4,8	11,2	7,7	— 3,5	5,32	4,80	— 0,52	2,18	1,22
232	3,0	77	80	23,3	22,8	11,8	17,3	+ 5,5	11,5	5,5	— 6,0	4,95	4,65	— 0,30	2,34	1,36
233	2,8	57	66	31,4	27,7	17,4	17,7	+ 0,3	14,0	10,0	— 4,0	4,36	3,58	— 0,78	2,46	0,85
234	3,0	61	61	35,0	34,4	24,2	24,2	0	10,8	10,2	— 0,6	2,32	2,91	+ 0,59	2,70	1,43
235	3,2	98	100	28,8	29,0	14,0	16,5	+ 2,5	14,8	12,5	— 2,3	3,67	3,88	+ 0,21	1,80	1,35
236	3,0	93	94	30,2	30,5	15,5	17,8	+ 2,3	14,7	12,7	— 2,0	4,33	3,67	— 0,66	1,84	0,89
237	2,9	59	61	30,5	30,6	18,2	16,9	— 1,3	12,3	13,7	+ 1,4	4,16	3,45	— 0,71	1,97	1,13
b) 6 téтанos de 1 sec ; raccourcissements de 1,0 cm à 1,2 cm/sec																
239	3,1	84	83	27,6	29,5	20,7	20,9	+ 0,2	6,9	8,6	+ 1,7	2,12	2,64	+ 0,52	0,96	0,29
240	3,3	112	107	27,0	27,5	12,2	15,7	+ 3,5	14,8	11,8	— 3,0	4,20	3,69	— 0,51	1,71	0,47
241	2,9	73	77	24,0	25,3	6,3	17,7	+ 11,4	17,7	7,6	— 10,1	3,89	3,35	— 0,54	1,27	1,24
242	3,1	90	82	28,0	23,8	16,0	14,0	— 2,0	12,0	9,8	— 2,2	3,70	3,70	0	0,93	1,21
244	2,7	52	53	29,6	31,4	16,7	25,0	+ 8,3	12,9	6,4	— 6,5	3,75	2,98	— 0,77	1,09	1,80
245	3,4	117	125	27,4	26,5	12,8	14,5	+ 1,7	14,6	12,0	— 2,6	3,92	4,22	+ 0,30	2,04	1,32
246	3,3	94	92	30,3	30,8	15,9	22,2	+ 6,3	14,4	8,6	— 5,8	4,64	4,68	+ 0,04	2,14	2,24
247	2,9	64	77	22,3	23,7	15,7	21,9	+ 6,2	6,6	1,8	— 4,8	3,32	2,90	— 0,42	1,63	1,87
248	3,0	143	146	26,3	28,7	16,1	19,1	+ 3,0	10,2	9,6	— 0,6	5,00	5,15	+ 0,15	1,45	1,89
249	2,8	74	81	26,0	27,9	9,1	21,2	+ 12,1	16,9	6,7	— 10,2	4,45	3,53	— 0,92	0,75	2,00

TABLE 4

Effet d'un allongement rapide. Un muscle de la paire est stimulé par des tétanos isométriques (M), l'autre est rapidement allongé (A)

N°	l_0	Poids		C _T		C _L			PC		P _m	W ₋	
		M	A	M	A	M	A	Δ	A	Δ			
a) 4 tétnanos de 2 sec ; allongements de 0,5 cm à 1,65 cm/sec													
110	2,9	70	76	27,4	28,0	17,6	18,8	+ 1,2	9,8	9,2	- 0,6	2,40	- 3,62
111	3,0	76	77	27,7	25,7	19,7	19,6	- 0,1	8,0	6,1	- 1,9	2,76	- 3,14
112	2,8	64	60	23,5	25,0	20,8	23,8	+ 3,0	2,7	1,2	- 1,5	2,80	- 3,20
113	2,8	71	71	24,3	24,0	13,1	14,8	+ 1,7	11,2	9,2	- 2,0	2,40	- 3,02
b) 10 tétnanos de 1 sec ; allongements de 0,5 cm à 1,65 cm/sec													
115	2,9	66	61	22,8	19,6	18,5	16,2	- 2,3	4,3	3,4	- 0,9	2,55	- 7,48
116	2,9	96	90	22,7	20,3	16,4	14,5	- 1,9	6,3	5,8	- 0,5	2,20	- 6,88
117	2,9	48	81	20,0	22,5	13,6	17,8	+ 4,2	6,4	4,7	- 1,7	1,75	- 6,60
118	2,8	65	69	26,8	27,2	22,8	22,4	- 0,4	4,0	4,8	+ 0,8	2,50	- 6,80
119	3,2	96	98	26,0	27,0	17,6	23,7	+ 6,1	8,4	3,3	- 5,1	2,74	- 6,70
c) 4 tétnanos de 1 sec ; allongements de 0,5 cm à 1,80 cm/sec													
120	3,2	84	80	29,0	24,7	12,2	10,7	- 1,5	16,8	14,0	- 2,8	2,66	- 3,00
121	2,9	78	79	21,5	18,3	10,1	10,1	0	11,4	8,2	- 3,2	2,60	- 3,20
122	3,0	81	78	25,6	25,5	10,5	14,8	+ 4,3	15,1	10,7	- 4,4	2,92	- 3,56
123	2,9	70	76	25,2	25,2	11,6	12,6	+ 1,0	13,6	12,6	- 1,0	2,61	- 2,92
124	3,1	77	81	23,3	21,7	14,8	12,5	- 2,3	8,5	9,2	+ 0,7	3,02	- 3,50

126	3,0	69	24,3	24,3	24,3	17,8	12,4	+ 5,4	6,5	11,9	+ 5,4	2,26	2,55
127	3,4	99	23,7	26,1	26,1	18,1	18,4	+ 0,3	5,6	7,7	+ 2,1	2,58	2,06
128	3,2	104	24,8	24,6	24,6	15,2	14,2	+ 1,0	9,6	10,4	+ 0,8	2,44	2,77
129	2,8	63	26,8	25,7	25,7	16,4	14,5	+ 1,9	10,4	11,2	+ 0,8	2,66	2,80
130	2,9	42	14,4	24,0	24,0	7,7	17,0	+ 9,3	6,7	7,0	+ 0,3	1,31	2,60
131	2,8	51	18,8	19,4	19,4	12,1	10,6	+ 1,5	6,7	8,8	+ 2,1	2,34	2,88
132	3,0	72	26,2	22,1	22,1	15,5	10,9	+ 4,6	10,7	11,2	+ 0,5	2,50	2,58
133	3,0	77	23,8	22,3	22,3	15,2	12,3	+ 2,9	8,6	10,0	+ 1,4	2,22	2,42
134	2,9	67	23,0	25,0	25,0	13,0	14,8	+ 1,8	10,0	10,2	+ 0,2	2,60	2,30
135	2,8	68	26,8	26,8	26,8	15,4	15,0	+ 0,4	11,4	11,8	+ 0,4	2,26	3,04
d) 4 tétranos de 1,5 sec ; allongements de 0,5 cm à 1,8 cm/sec													
148	3,1	80	25,0	23,0	23,0	9,8	7,7	+ 2,1	15,2	15,3	+ 0,1	2,56	2,86
149	2,8	54	26,3	24,3	24,3	11,5	13,2	+ 1,7	14,8	11,1	+ 3,7	2,70	2,78
150	3,0	90	25,0	26,3	26,3	9,6	15,0	+ 5,4	15,4	11,3	+ 4,1	2,40	2,62
151	2,9	74	23,4	25,1	25,1	8,7	12,9	+ 4,2	14,7	12,2	+ 2,5	2,55	3,03
152	3,0	90	27,8	26,6	26,6	12,3	13,0	+ 0,7	15,5	13,6	+ 1,9	2,80	2,94
153	2,8	49	29,7	28,4	28,4	12,7	14,2	+ 1,5	17,0	14,2	+ 2,8	2,86	3,16
154	2,8	87	23,8	22,6	22,6	13,0	12,4	+ 0,6	10,8	10,2	+ 0,6	2,48	2,97
155	3,1	90	26,0	23,5	23,5	13,9	12,6	+ 1,3	12,1	10,9	+ 1,2	2,30	2,45
156	3,2	95	22,6	23,2	23,2	10,6	15,0	+ 4,4	12,0	8,2	+ 3,8	2,19	2,71
158	3,1	71	23,7	25,0	25,0	12,2	15,4	+ 3,2	11,5	9,6	+ 1,9	2,27	2,76
159	3,4	124	25,4	24,3	24,3	15,2	15,3	+ 0,1	10,2	9,0	+ 1,2	2,37	2,20
e) 1 tétranos de 1,5 sec ; allongements de 0,5 cm à 1,8 cm/sec													
161	2,9	76	28,4	27,8	27,8	9,2	7,3	+ 1,9	19,2	20,5	+ 1,3	2,44	0,67
164	3,1	98	23,9	28,5	28,5	9,8	12,1	+ 2,3	14,1	16,4	+ 2,3	2,91	0,67
165	3,0	59	28,3	27,5	27,5	10,5	8,1	+ 2,4	17,8	19,4	+ 1,6	2,60	0,61
166	3,1	84	26,0	23,3	23,3	10,4	6,4	+ 4,0	15,6	16,9	+ 1,3	2,73	0,82
167	3,2	99	24,7	28,7	28,7	7,8	15,1	+ 7,3	16,9	13,6	+ 3,3	2,04	0,64
168	3,0	66	23,8	25,3	25,3	6,2	11,2	+ 5,0	17,6	14,1	+ 3,5	2,14	0,63
169	3,1	73	23,8	24,6	24,6	9,9	10,0	+ 0,1	13,9	14,6	+ 0,7	2,08	0,68
170	3,2	108	24,5	23,4	23,4	7,7	9,4	+ 1,7	16,8	14,0	+ 2,8	2,66	0,60

N°	I ₀	Poids		C _r		C _L			PC			ATP		P _m	W—	
		M	A	M	A	M	A	Δ	M	A	Δ	M	A			Δ
f) 6 tétranos de 1 sec ; allongements de 1,0 cm à 1,8 cm/sec																
251	3,1	91	85	28,0	26,0	9,7	11,0	+ 1,3	18,3	15,0	— 3,3	4,02	3,37	— 0,65	2,11	— 6,80
253	2,9	72	72	29,3	26,8	12,2	13,2	+ 1,0	17,1	13,6	— 3,5	4,15	3,74	— 0,41	2,02	— 5,00
254	3,1	91	91	28,6	30,8	10,9	15,8	+ 4,9	17,7	15,0	— 2,7	4,75	4,23	— 0,52	1,16	— 5,30
255	3,1	80	84	29,2	29,7	11,0	17,4	+ 6,4	18,2	12,3	— 5,9	4,20	4,28	+ 0,08	1,20	— 4,90
256	3,1	89	91	27,0	25,2	10,6	9,7	— 0,9	16,4	15,5	— 0,9	3,68	3,59	— 0,09	1,74	— 3,40
263	3,0	64	68	26,3	26,8	12,0	12,7	+ 0,7	14,3	14,1	— 0,2	3,95	5,02	+ 1,07	2,44	— 2,72
264	3,0	60	58	29,5	31,8	11,1	21,2	+ 10,1	18,4	10,6	— 7,8	6,38	6,32	— 0,06	2,60	— 3,26
265	3,3	88	89	28,4	26,4	9,6	10,0	+ 0,4	18,8	16,4	— 2,4	4,56	4,52	— 0,04	1,87	— 1,95
266	3,1	79	78	28,0	28,2	12,2	14,0	+ 1,8	15,8	14,2	— 1,6	6,20	4,35	— 1,85	1,85	— 1,65
267	3,0	60	59	27,8	27,2	10,5	10,6	+ 0,1	17,3	16,6	— 0,7	4,80	4,24	— 0,56	1,65	— 1,84
270	3,0	60	54	31,8	31,1	23,6	15,0	— 8,6	8,2	16,1	+ 7,9	4,07	3,89	— 0,18	1,90	— 3,64
272	3,0	51	54	28,7	31,4	18,7	26,0	+ 7,3	10,0	5,4	— 4,6	3,34	4,07	+ 0,73	2,18	— 3,01
273	3,0	59	64	32,3	31,8	21,0	20,0	— 1,0	11,3	11,8	+ 0,5	4,49	4,75	+ 0,26	2,24	— 3,37
274	3,0	68	74	28,4	24,7	16,1	13,0	— 3,1	12,3	11,7	— 0,6	4,37	4,60	+ 0,23	2,20	— 3,00
314	3,0	57	60	37,1	33,6	27,7	25,6	— 2,1	9,4	8,0	— 1,4	4,97	5,07	+ 0,10	2,06	— 2,92
315	2,9	66	73	32,7	34,5	22,7	22,4	— 0,3	10,0	12,1	+ 2,1	4,58	6,50	+ 1,92	1,76	— 2,50
316	3,0	65	69	35,8	34,8	29,2	28,2	— 1,0	6,6	6,6	0	6,40	6,37	— 0,03	1,94	— 2,71

TABLE 5

Effet d'un allongement lent. Un muscle de la paire est stimulé par des tétnas isométriques (M), l'autre est lentement allongé (A).

N°	l ₀	Poids		C _T		C _L		PC			ATP		P _m	W—		
		M	A	M	A	Δ	M	A	Δ	M	A	Δ				
a) 6 tétnas de 4 sec ; allongements de 0,5 cm à 0,23 cm/sec																
275	2,8	48	54	35,8	35,2	26,2	26,6	+ 0,4	9,6	8,6	— 1,0	3,68	2,88	— 0,80	1,40	— 2,68
278	2,8	55	55	31,0	30,8	26,2	24,2	— 2,0	4,8	6,6	+ 1,8	2,62	3,43	+ 0,81	1,88	— 2,48
279	3,0	82	88	30,2	25,5	26,2	18,8	— 7,4	4,0	6,7	+ 2,7	2,50	4,12	+ 1,62	1,80	— 2,05
280	3,3	105	113	30,8	29,3	26,8	26,6	— 0,2	4,0	2,7	— 1,3	4,08	2,97	— 1,11	2,39	— 2,76
285	2,8	55	53	31,8	31,6	26,4	24,2	— 2,2	5,4	7,4	+ 2,0	5,00	6,46	+ 1,46	2,19	— 3,85
286	3,0	64	63	28,8	27,7	23,3	20,5	— 2,8	5,5	7,2	+ 1,7	5,60	7,00	+ 1,40	2,34	— 3,62
287	3,3	105	99	24,4	32,2	20,3	24,4	+ 4,1	4,1	7,8	+ 3,7	5,69	8,02	+ 2,33	1,64	— 2,54
288	3,3	99	102	29,7	30,2	24,8	20,8	— 4,0	4,9	9,4	+ 4,5	5,54	5,64	+ 0,10	1,90	— 1,97
289	2,9	70	76	30,0	29,4	26,4	23,4	— 3,0	3,6	6,0	+ 2,4	5,68	7,58	+ 1,90	1,95	— 2,94
292	3,3	75	78	32,4	31,4	25,7	21,4	— 4,3	6,7	10,0	+ 3,3	5,68	6,20	+ 0,52	2,02	— 2,79
b) 6 tétnas de 3 sec ; allongements de 0,5 cm à 0,4 cm/sec																
294	3,0	73	67	39,0	36,3	30,4	24,9	— 5,5	8,6	11,4	+ 2,8	5,98	6,10	+ 0,12	1,89	— 3,30
295	2,9	51	52	32,7	33,7	23,0	24,9	+ 1,9	9,7	8,6	— 1,1	4,61	4,34	— 0,27	1,76	— 2,89
296	3,1	79	81	34,3	33,8	26,9	28,6	+ 1,7	8,2	5,2	— 3,0	6,44	5,70	— 0,74	2,04	— 3,17
298	3,8	106	116	30,6	33,0	23,6	19,7	— 3,9	7,0	13,3	+ 6,3	3,13	4,30	+ 1,17	2,19	— 2,94
299	3,2	77	82	33,3	30,8	25,8	20,4	— 5,4	7,5	10,4	+ 2,9	3,25	3,85	+ 0,60	1,79	— 2,26
300	3,0	62	62	34,3	34,3	28,9	27,1	— 1,8	5,4	7,2	+ 1,8	3,95	3,64	— 0,31	2,03	— 2,82
302	3,0	64	74	31,5	33,7	22,6	23,3	+ 0,7	8,9	10,4	+ 1,5	3,38	4,22	+ 0,84	2,02	— 2,54
303	3,0	65	60	34,0	34,2	28,4	22,2	— 6,2	5,6	12,0	+ 6,4	2,90	3,15	+ 0,25	1,80	— 3,32
304	3,5	138	146	27,6	30,4	15,0	24,9	+ 9,9	12,6	5,5	— 7,1	2,28	3,02	+ 0,74	1,90	— 2,76
307	3,1	57	61	42,3	38,5	35,4	30,4	— 5,0	6,9	8,1	+ 1,2	3,95	3,66	— 0,29	1,90	— 2,06
308	2,9	59	63	31,0	33,3	23,8	25,7	+ 1,9	7,2	7,6	+ 0,4	5,20	5,39	+ 0,19	1,77	— 3,23
309	3,3	69	67	34,8	36,1	25,7	25,4	— 0,3	9,1	10,7	+ 1,6	4,42	4,94	+ 0,52	1,91	— 2,94
310	2,9	51	49	39,2	35,3	27,7	25,5	— 2,2	11,5	9,8	— 1,7	5,62	4,92	— 0,70	1,88	— 3,05
c) 6 tétnas de 3 sec ; allongements de 0,5 cm à 0,23 cm/sec																
311	2,9	51	44	35,8	36,0	20,5	18,5	— 2,0	15,3	17,5	+ 2,2	4,41	3,49	— 0,92	1,82	— 3,78
312	2,9	46	42	34,2	33,5	23,9	20,8	— 3,1	10,3	12,7	+ 2,4	5,70	5,80	+ 0,10	1,77	— 2,87
313	3,0	43	45	38,1	38,1	25,8	22,8	— 3,0	12,3	15,3	+ 3,0	5,61	5,38	— 0,23	2,30	— 3,32

TABLE 6

Comparaisons entre des muscles au repos (M), stimulés par 6 tétanos isométriques de 3 sec (R), ou par 6 tétanos avec raccourcissements (A) ou allongements lents (S) de 0,5 cm à 0,23 cm/s.c. Blocs balancés incomplets.

N°	l_0	Poids	Cr	C _L				PC				ATP				P_m	W+	W—
				R	M	S	A	R	M	S	A	R	M	S	A			
329	3,2	79	31,2	12,6		30,1	23,5	18,6		2,7		4,02		3,65	6,74		0,20	3,22
330	3,0	66	28,2	7,1				21,1			5,7	5,04				1,59		
331	3,2	70	30,7	9,0	20,3			21,7	10,2			3,07	2,33	2,42		1,67	0,95	
332	3,4	98	29,0		23,3	17,4	23,4		5,7	10,7	4,9		3,47	2,28	2,35		0,73	1,98
334	3,4	107	25,4			17,9				7,5								
335	3,0	58	33,0		23,3		18,3		9,7	10,9			6,22		5,45	2,38		1,88
336	3,0	62	26,3	8,7	22,6			17,6	6,1			4,45	4,23			2,34		
337	3,0	67	30,8		24,5	26,6			6,3	5,4			3,51	3,57		2,20	1,79	
338	3,1	78	24,8	7,6		22,9	28,8	17,2		2,6		5,20		3,67	2,55		1,78	
339	3,1	68	31,6		35,5	26,0				5,6	6,7			3,25	3,75		1,32	3,00
340	3,3	76	30,0	8,4			18,8	21,6		13,0		4,74						2,72
341	3,0	37	32,2		24,3		22,7		7,9		10,8		4,68		4,42	1,62		2,84
342	2,9	55	27,2			20,9	18,6			3,6	8,6			2,13	3,43		1,13	2,82
343	3,2	43	23,5	7,0	17,0			16,5	6,3			2,90	2,44			1,32		
344	3,2	60	30,8	6,8		25,4	18,7	24,0	6,7	4,1	12,0	3,64	3,86	2,91	3,57	2,08	1,57	3,48
345	2,8	43	32,1			30,0		21,0		3,1		3,38		2,33			1,82	
346	2,9	52	28,7	7,7														
347	3,1	65	28,0		10,8		12,6		17,2		14,3		4,15		5,42	0,48		0,74
348	3,1	43	28,8	9,2		20,4		19,6		10,6		2,76		3,60			0,58	
349	2,9	42	26,5		14,9	18,0			11,6	5,7			2,87	2,67		1,58	0,72	
350	3,3	63	25,5			16,3	14,0			9,2	11,2			3,17	3,51		0,92	1,84
351	3,2	71	23,7	6,8	14,8			16,9	10,2			4,31	4,47			1,30		
352	3,3	69	27,2	9,1			14,2	18,2			10,3	4,20			2,24			1,37

354	2,9	65	25,7	20,7	4,4	15,9	21,3	15,4	11,8	5,6	4,4	5,3	4,71	2,74	4,75	3,98	1,62	1,24	1,48
355	3,0	39	16,2	21,5	8,5	15,9	15,4		9,7		4,8		4,60		2,08		1,04		
356	2,9	40	18,2	20,2		22,2	19,0			2,5	3,6			2,71	2,16		2,28		
357	3,2	98	24,7	22,6		22,6		21,2		3,1		3,5		3,65		4,05	1,76		1,91
358	3,0	68	25,7	24,7															
359	3,2	100	30,5	30,5		22,7	27,0			7,8	3,5			5,39	3,45		1,55		
360	3,3	87	26,1	25,2	6,9		20,2		19,2		5,0		3,75		3,60		1,10		
361	3,0	32	20,3	16,6	6,8			10,6	13,5	9,1		6,0	2,55			1,15			3,17
362	2,9	41	25,5	25,2	6,9	16,1			18,6	6,5			3,88	3,72			1,88		
363	2,8	42	26,3	30,5		19,8		19,5			6,8	11,0		2,86	4,24	3,12	1,20		2,06
364	2,8	53	29,1	26,3			22,3	14,6				11,7				4,44	1,53		1,22
367	2,8	59	28,5	30,0		24,0		17,9		4,5		12,1		4,70		4,61	2,28		3,22
368	2,9	60	25,2	26,6	10,8		22,3		14,4		4,3		4,14		3,31		1,54		
369	2,9	68	31,3	28,8			29,0	22,6			2,3	6,2			2,63	6,61	1,64		3,86
370	3,2	90	26,8	28,4	16,0			24,6	10,8			3,8	5,40			2,89			2,51
371	3,2	121	26,6	28,2	6,4			23,4				4,8	5,68			5,00			2,66
372	2,9	59	26,7	30,4	3,9	23,9			22,8	6,5			6,10	6,21			1,92		
373	2,7	47	24,9	25,5		20,0		20,1		4,9		5,4		5,05		4,33	1,96		2,61
374	3,0	67	24,8	28,2	6,3		26,4		18,5		1,8		5,80		3,46		1,59		
375	2,7	44	28,5	25,4		19,7	26,8	18,4			1,7	7,0			4,47	5,06	1,43		3,59
376	3,4	94	26,8	26,2			21,4			5,4	6,5			5,59	3,84		1,07		
377	2,9	54	26,2	25,5	4,4			19,3	21,8			6,2	6,48			5,52			1,86
378	3,3	101	28,0	29,0		26,8		26,6		1,2		2,9		1,20		3,25	2,16		2,12
379	3,0	58	30,0	27,9		29,2	27,2			0,8	0,7			1,26	0,86		1,58		
380	2,9	71	28,0	30,0	8,3	27,7			19,7	2,3		4,0	6,46	2,63		2,28			
381	3,0	73	30,8	29,8			30,1	25,8			0,7		6,25		2,57	3,61	1,65		2,96
382	3,3	113	26,7	28,3	8,7		24,8		18,0		3,5				3,85		1,57		
383	3,1	93	25,0	28,0	4,3			19,0	20,7			9,0	5,81			6,50			3,32
384	3,0	110	28,5	28,1		24,6		22,5		3,9		5,6		7,40		6,28	2,04		3,74
385	2,6	52	28,5	28,0			26,5	22,0			2,0	6,0			3,65	5,90			3,89
386	2,9	81	22,8	24,6	4,5				18,3	4,1			5,26	4,78			2,01		
387	2,7	59	30,2	32,0		20,5	30,4		21,7	7,7	1,6		6,38	5,85	2,92		1,78		
388	2,8	58	29,0	29,8	7,3	23,5	27,0				2,8				2,87		1,59		

TABLE 6 (suite)

N°	I_0	Poids	C_L				PC				ATP				P_m	W+	W—
			R	M	S	A	R	M	S	A	R	M	S	A			
389	2,7	53	3,4	19,2	28,4		22,4	6,3	3,6		6,80	5,36	3,55		2,02	1,60	
390	2,7	47	7,8	23,8	24,2		19,6	6,4	3,3		6,72	4,93	4,70		2,01	1,77	
391	2,8	65		23,5		16,8				6,9		4,92		5,05	1,96		3,28
392	2,6	57			23,9	16,7		4,6	4,8	8,8			3,75	3,36		1,71	3,34
393	2,9	69	5,9			18,8	18,2			9,0	6,64			5,30			2,78
394	3,1	76															
395	2,6	43		18,3		19,6		9,9		10,0		4,32		4,80	2,05		3,93
396	2,9	90	6,5	24,8			19,2	3,6			4,52	2,86			2,26		
397	2,8	56	4,7		25,7		20,5		1,6		4,32		2,46			1,68	
398	2,8	64		19,8	23,8			7,2	1,4			4,17	2,54		1,93	1,50	
399	2,9	84	6,8		19,9	22,3	16,7		1,8	5,9	4,26		2,52	2,81		1,85	4,21
400	3,2	95				14,9				8,2				3,37			3,31
401	2,6	36	4,2	22,5			24,7	8,0			4,82	5,45			2,16		
402	2,7	45		22,5	26,7			5,2	0,8			4,15	1,94		2,04	1,56	
403	2,5	40	6,0		22,7		20,5		3,5		6,68		4,97			1,68	
404	2,7	51			26,4	13,6			3,5	14,4			4,22	2,53		1,76	4,15
405	3,0	80	8,8			23,6	19,0			5,2	5,60			5,20			3,00
414	2,9	88		22,0	26,5			7,8	4,7			5,05	4,76		1,75	1,61	
415	2,8	59	4,4	21,6			20,2	6,6			4,18	4,46			2,20		3,05
416	3,0	67		23,0		19,5		4,4		7,3		2,80		4,21	2,06		
418	2,8	58		20,1		16,2		5,5		10,4		6,65		6,61	2,22		3,35

TABLE 7

Effet de la longueur. Un muscle est stimulé par 1 tétanos à 0,55 l_0 , l'autre à 1,05 l_0

N°	l ₀	Poids		C _r		C _L		PC		ATP		P _m				
		0,55%	1,05%	0,55%	1,05%	Δ	0,55%	1,05%	Δ	0,55%	1,05%					
a) 1 tétnanos de 6 sec																
420	2,6	50	50	24,4	26,6	10,2	11,8	— 1,6	15,2	14,8	0,4	6,40	5,12	1,28	0,21	2,40
423	3,2	101	99	26,0	28,0	10,2	17,5	— 7,3	15,8	10,5	5,3	4,66	4,32	+ 0,34	0,07	2,62
426	2,6	33	31	26,3	25,5	6,0	6,2	— 0,2	20,3	19,3	1,0	5,35	5,75	— 0,40	1,40	2,77
429	3,1	79	78	26,3	29,6	8,8	14,5	— 5,7	17,5	15,1	2,4	5,08	5,04	+ 0,04	0,35	2,67
432	3,0	75	56	24,0	24,2	12,7	7,2	+ 5,5	11,3	17,0	5,7	4,05	4,55	— 0,50	0,68	2,47
434	2,6	49	47	26,5	28,2	7,8	11,0	+ 3,2	18,7	17,2	1,5	3,60	4,47	— 0,87	0,05	2,44
436	3,0	59	62	26,6	25,5	9,6	8,6	+ 1,0	17,0	16,9	0,1	4,14	4,20	— 0,06	0,53	1,94
437	2,8	61	52	26,5	28,5	11,7	9,4	+ 2,3	14,8	19,1	— 4,3	4,28	4,50	— 0,22	0,28	2,42
439	2,9	66	54	25,7	23,3	13,2	8,1	+ 5,1	12,5	15,2	— 2,7	3,04	4,30	— 1,26	0,07	1,99
440	3,0	81	91	24,6	27,0	11,8	16,1	+ 4,3	12,8	10,9	1,9	3,20	3,47	— 0,27	0,03	2,22
443	2,7	52	46	28,8	30,2	7,7	9,8	— 2,1	21,1	20,4	0,7	4,35	3,87	+ 0,48	0,10	2,70
445	3,2	83	86	25,6	24,6	10,4	12,4	— 2,0	15,2	12,2	3,0	4,90	3,68	+ 1,22	0,20	2,14
447	3,0	91	86	27,9	28,4	10,0	10,5	— 0,5	17,9	17,9	0	4,63	4,10	+ 0,53	0,17	2,69
b) 1 tétnanos de 18 sec																
421	2,8	63	62	25,7	27,0	12,2	16,8	— 4,6	13,5	10,2	3,3	4,74	5,20	— 0,46	0,40	2,34
427	2,4	35	24	23,1	21,0	9,7	12,2	— 2,5	13,4	8,8	4,6	5,25	4,32	+ 0,93	0,00	2,35
428	3,1	88	93	24,8	26,4	11,7	16,0	— 4,3	13,1	10,4	2,7	6,45	5,48	+ 0,07	0,42	2,20
430	3,1	93	100	26,6	26,0	14,9	20,0	— 5,1	11,7	6,0	5,7	4,75	4,53	+ 0,22	0,23	2,18
431	3,1	77	76	30,5	28,4	14,2	19,6	— 5,4	16,3	8,8	7,5	4,39	3,70	+ 0,69	0,37	2,04
433	2,8	54	53	26,4	29,2	13,2	16,1	— 2,9	13,2	13,1	0,1	5,80	6,32	— 0,52	0,47	2,17
435	2,8	56	56	28,5	27,1	17,3	16,1	+ 1,2	11,2	11,0	0,2	3,53	3,30	+ 0,23	0,40	2,24
438	2,6	39	53	21,8	26,1	6,5	15,5	— 9,0	15,3	10,6	4,7	3,47	3,27	+ 0,20	0,13	1,92
441	3,0	122	123	29,8	27,6	18,4	18,9	— 0,5	11,4	8,7	2,7	1,82	3,55	— 1,73	0,30	1,90
442	3,2	92	98	24,2	27,2	11,8	23,6	— 11,8	12,4	3,6	8,8	3,30	2,95	+ 0,35	0,24	1,90
444	2,8	61	55	29,3	24,7	17,7	16,2	+ 1,5	11,6	8,5	3,1	5,88	4,59	+ 1,29	0,60	2,54
446	3,1	81	83	29,4	27,3	18,8	18,0	+ 0,8	10,6	9,3	1,3	4,30	4,28	+ 0,02	0,22	2,31
448	3,1	86	89	27,6	27,6	13,2	20,2	— 7,0	14,4	7,4	7,0	4,45	4,16	+ 0,29	0,18	2,30

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT, B.C. et AUBERT, X.M. (1951). Changes of energy in a muscle during very slow stretches. *Proc. Roy. Soc. B*, **139**, 104-117.
- ABBOTT, B.C. et AUBERT, X.M. (1952). The force exerted by active striated muscle during and after change of length. *J. Physiol. (London)*, **117**, 77-86.
- ABBOTT, B.C., AUBERT, X.M. et HILL, A.V. (1951). The absorption of work by a muscle stretched during a single twitch or a short tetanus. *Proc. Roy. Soc. B*, **139**, 86-104.
- ABBOTT, B.C., BIGLAND, B. et RITCHIE, J.M. (1952). The physiological cost of negative work. *J. Physiol. (London)*, **117**, 380-390.
- AUBERT, X. (1946). A propos de l'inversion de l'effet Fenn. *C.R. Soc. Biol.*, **140**, 571-573.
- AUBERT, X. (1948). Réversibilité partielle de la contraction musculaire au cours de l'absorption du travail en cycle. *Arch. internat. Physiol.*, **55**, 348-361.
- AUBERT, X. (1951). La machine musculaire. *Rev. Quest. scient.*, **72**, 5-32.
- AUBERT, X. (1952). Réduction de la dépense énergétique du muscle sous l'effet d'un allongement forcé. *Arch. internat. Physiol.*, **60**, 119-121.
- AUBERT, X. (1954). Forced lengthening of striated muscle during contraction. *J. Physiol. (London)*, **126**, 19-20.
- AUBERT, X. (1956a). Le couplage énergétique de la contraction musculaire. 315 pp. Ed. Arscia. Bruxelles.
- AUBERT, X. (1956b). Structure et physiologie du muscle strié. *J. Physiol. (Paris)*, **48**, 105-153.
- AUBERT, X. (1963). Le muscle strié, in « *Physiologie* » de Ch. Kayser, ed. Flammarion (Paris).
- AUBERT, X. (1964). En préparation.
- AUBERT, X., MARÉCHAL, G., DERU, M. et GILLIS, J.M. (1957). Influence de l'intoxication iodoacétique sur la fréquence de fusion tétanique et l'état d'activité du muscle strié. *J. Physiol. (Paris)*, **49**, 25-28.
- AUBERT, X. et MARÉCHAL, G. (1963a). La fraction labile de la thermogénèse associée au maintien de la contraction isométrique. *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, **71**, 282-283.
- AUBERT, X. et MARÉCHAL, G. (1963b). Le bilan énergétique des contractions musculaires avec travail positif ou négatif. *J. Physiol. (Paris)*, **55**, 186-187.
- AUBERT, X., ROQUET, M.L. et VANDER ELST, J. (1951). The tension-length diagram of the frog's sartorius muscle. *Arch. internat. Physiol.*, **59**, 239-241.

- BACQ, Z.M. (1942). Des substances qui provoquent l'effet Lundsgaard (contracture et inexcitabilité après travail). *Bull. Acad. Roy. Méd. Belg.*, **7**, 108.
- BERNHARD, S.A. (1956). Ionization constants and heats of tris (hydroxymethyl) amino methane and phosphate buffers. *J. Biol. Chem.*, **218**, 961-969.
- BOZLER, E. (1954). Relaxation in extracted muscle fibers. *J. gen. Physiol.*, **38**, 149-159.
- BRINER, J.P., SIMON, S.E., FRATER, R. et TASKER, P. (1959). A comparison of ions shifts with adenosine triphosphate and creatine phosphate levels in muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **35**, 485-495.
- BURTON, K. (1958). Energy of adenosine triphosphate. *Nature*, **181**, 1594.
- CAIN, D.F. et DAVIES, R.E. (1962). Breakdown of adenosine triphosphate during a single contraction of working muscle. *Biochem. biophys. Res. Comm.*, **8**, 361-366.
- CAIN, D.F., DELLUVA, A.M. et DAVIES, R.E. (1958). Carnosine phosphate as phosphate donor in muscular contraction. *Nature*, **182**, 720-721.
- CAIN, D.F., INFANTE, A.A. et DAVIES, R.E. (1962). Adenosine triphosphate and phosphorylcreatine as energy supplies for single contraction of working muscle. *Nature*, **196**, 214-217.
- CALDWELL, P.C. (1953). The separation of the phosphate esters of muscle by paper chromatography. *Biochem. J.*, **55**, 458-467.
- CARLSON, F.D. et SIGER, A. (1959). The creatine phosphoryltransfer reaction in iodoacetate poisoned muscle. *J. gen. Physiol.*, **43**, 301-313.
- CARLSON, F.D. et SIGER, A. (1960). The mechanochemistry of muscular contraction I. The isometric twitch. *J. gen. Physiol.*, **44**, 33-60.
- CARLSON, F.D., HARDY, D.J. et WILKIE, D.R. (1963). Total energy production and phosphocreatine hydrolysis in the isotonic twitch. *J. gen. Physiol.*, **46**, 851-882.
- CHANCE, B. et CONNELLY, C.M. (1957). A method for the estimation of the increase in concentration of adenosine diphosphate in muscle sarcosomes following a contraction. *Nature*, **179**, 1235-1237.
- CORI, O., ABARCA, F., FRENKEL, R. et TRAVERSO-CORI, A. (1956). Synthesis of phosphocreatine by enzymes from heart and skeletal muscle. *Nature*, **178**, 1231-1233.
- DAVIES, R.E., CAIN, D.F. et DELLUVA, A.M. (1959). The energy supply for muscle contraction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **81**, 468-476.
- DISTÈCHE, A. (1960). Contribution à l'étude des échanges d'ions hydrogènes au cours du cycle de la contraction musculaire. 169 pp. Mémoires de l'académie royale de Belgique, classe des sciences. Tome XXXII.
- DUBUISSON, M. (1938). Untersuchungen über die Reaktionsänderung des Muskels im Verlauf der Tätigkeit. *Pflüg. Arch.*, **239**, 314-326.
- DUBUISSON, M. (1954). Muscular contraction. 245 pp. Charles C. Thomas Publishers Springfield. Illinois.

- EGGLESTON, L.V. et HEMS, R. (1952). Separation of adenosine phosphates, by paper chromatography and the equilibrium constant of the myokinase system. *Biochem. J.*, **52**, 156-160.
- EMBDEN, G. et LAWACZECK, H. (1922). Ueber die Bildung anorganischer Phosphorsäure bei der Kontraktion des Froschmuskels. *Biochem. Z.*, **127**, 181-199.
- ENGELHARDT, W.A. et LJUBIMOVA, M.N. (1939). Myosine and adenosinetriphosphatase. *Nature*, **144**, 668-669.
- ENNOR, A.H. et MORRISON, J.F. (1958). Biochemistry of the phosphagens and related guanidines. *Physiol. Rev.*, **38**, 631-674.
- ENNOR, A.H. et STOCKEN, L.A. (1948). Estimation of creatine. *Biochem. J.*, **42**, 557-563.
- ERNST, E. (1963). Biophysics of the striated muscle. 398 pp. Akadémiai Kiadó. Budapest.
- FENG, T.P. (1931). The heat-tension ratio in prolonged tetanic contraction. *Proc. Roy. Soc. B*, **108**, 522-537.
- FENN, W.O. (1923). A quantitative comparison between the energy liberated and the work performed by the isolated sartorius muscle of the frog. *J. Physiol. (London)*, **58**, 175-203.
- FENN, W.O. (1924). The relation between the work performed and the energy liberated in muscular contraction. *J. Physiol. (London)*, **58**, 373-395.
- FENN, W.O. et MARSH, B.S. (1935). Muscular force at different speeds of shortening. *J. Physiol. (London)*, **85**, 277-297.
- FEUER, G. (1955). Die Veränderung von Kreatinphosphat während der Muskelkontraktion. *Acta physiol. (Budapest)*, **7**, 13-29.
- FISHER, E. (1931). Die Wärmebildung des Skelettmuskels bei aufgehobener Milchsäurebildung. *Pflüg. Arch.* **226**, 500-517.
- FISHER, R.A. (1946). Statistical methods for research worker. Oliver and Boyd. Edinburgh-London. 10ème édition XVI + 354 pp.
- FISHER, R.A. et YATES, F. (1948). Statistical tables for biological, agricultural and medical research. Oliver and Boyd, Edinburgh-London 4ème édition, XII + 240 pp.
- FLECKENSTEIN, A. (1956). Die Biochemie der Muskeleerregung. *Arch. exper. Path. & Pharmak.*, **228**, 46-67.
- FLECKENSTEIN, A. (1960). Aktuelle probleme der Muskelphysiologie und ihre analyse mit Isotopen. pp. 179-228 in « Künstliche Radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie » herausgegeben von W. Schwiegk und F. Turba. Springer Verlag. Berlin.
- FLECKENSTEIN, A., GERLACH, E. et JANKE, J. avec P. MARMIER. (1960). Die Inkorporation von markiertem Sauerstoff aus Wasser in die ATP, Kreatinphosphat- und Orthophosphat-Fraktion intakter Muskeln bei Ruhe, tetanischer Reizung und Erholung. *Pflüg. Arch.*, **271**, 75-104.

- FLECKENSTEIN, A., et JANKE, J. (1953). Papierchromatographische Trennung von ATP, ADP und anderen Phosphorverbindungen im kontrahierten und erschlaften Froschmuskel. *Pflüg. Arch.*, **258**, 177-199.
- FLECKENSTEIN, A., JANKE, J., DAVIES, R.E. et KREBS, H.A. (1954). Contraction of muscle without fission of adenosine triphosphate or creatine phosphate. *Nature*, **174**, 1081-1083.
- FLECKENSTEIN, A. et JANKE, J. (1957). Der Austausch von Radioaktivem, ^{32}P -Markiertem Orthophosphat mit dem P_α , P_β und P_γ von ATP und mit Kreatinphosphat bei Muskelruhe Temperaturvariation und elektrischer Reizung. *Pflüg. Arch.*, **265**, 237-263.
- FLECKENSTEIN, A., JANKE, J. et DAVIES, R.E. (1956). Der Austausch von radioaktivem Phosphat mit dem α - β - und γ - Phosphor von ATP und mit Kreatinphosphat bei der Kontraktur des Froschrectus durch Acetylcholin, Nicotin und Succinylbischolin. *Arch. exp. Path. & Pharmacol.*, **228**, 596-614.
- FLECKENSTEIN, A., SCHWOERER, W. et JANKE, J. (1961). Parallele Beeinflussung der mechanischen Spannungsentwicklung und der Spaltung von energiereichem Phosphat bei der Kaliumkontraktur des Froschrectus in Lösungen mit variiertem K^+ und Ca^{++} Gehalt. *Pflüg. Arch.*, **273**, 483-498.
- GASSER, H.S. et HILL, A.V. (1924). The dynamics of muscular contraction. *Proc. Roy. Soc. B*, **96**, 398-437.
- GELLERT, M. et STURTEVANT, J.M. (1960). The enthalpy change in the hydrolysis of creatine phosphate. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 1497-1499.
- GILLIS, J.M. (1964). Les déplacements ioniques dans le muscle strié isolé après téτανisation répétée. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 124-153.
- GODEAUX, J. (1949). Action de la température sur le comportement du muscle de grenouille intoxiqué par le monobromacétate de sodium. *Arch. internat. Physiol.*, **56**, 199-206.
- GODEAUX, J. (1950). Signification de l'effet Lundsgaard. Ses rapports avec les substances thioloprives. *J. Physiol. (Paris)*, **42**, 901-937.
- GOODALL, M.C. (1956). Carnosine phosphate as phosphate donor in muscular contraction. *Nature*, **178**, 539-540.
- HAMOIR, G. (1956). Structure et physiologie du muscle strié. *J. Physiol. (Paris)*, **48**, 155-205.
- HARTREE, W. (1929). The identity of the response of muscle to direct and indirect stimulation. *J. Physiol (London)*, **67**, 372-376.
- HARTREE, W. (1931). The analysis of the initial heat production of muscle. *J. Physiol. (London)*, **72**, 1-26.
- HARTREE, W. (1932). A negative phase in the heat production of muscle. *J. Physiol. (London)*, **77**, 104-110.

- HASSELBACH, W. et MAKINOSE, M. (1961). Die Calciumpumpe der « Erschlaffungsgrana » des Muskels und ihre abh angigkeit von der ATP-Spaltung. *Biochem. Z.*, **333**, 518-528.
- HERMANS, N. (1956). Recherches sur le m tabolisme du muscle au cours de l'intoxication par l'acide monobromac tique. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **64**, 251-268.
- HILL, A.V. (1913). The energy degraded in the recovery processes of stimulated muscles. *J. Physiol. (London)*, **46**, 28-80.
- HILL, A.V. (1938). The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc. Roy. Soc. B*, **126**, 136-195.
- HILL, A.V. (1950). A challenge to biochemists. *Biochim. biophys. Acta*, **4**, 4-11.
- HILL, A.V. (1952). A discussion on the thermodynamics of elasticity in biological tissues : The thermodynamics of elasticity in resting striated muscle. *Proc. Roy. Soc. B*, **139**, 464-497.
- HILL, A.V. (1959). The heat production of muscle and nerve. *Ann. Rev. Physiol.*, **21**, 1-18.
- HILL, A.V. (1960). Production and absorption of work by muscle. *Science*, **131**, 897-903.
- HILL, A.V. (1961). The heat produced by a muscle after the last shock of a tetanus. *J. Physiol. (London)*, **159**, 518-545.
- HILL, A.V. (1963). Heat and shortening in a twitch. *J. Physiol. (London)*, **170**, 18 P.
- HILL, A.V. et HARTREE, W. (1920). The four phases of heat production of muscle. *J. Physiol. (London)*, **54**, 84-128.
- HILL, A.V. et HOWARTH, J.V. (1959). The reversal of chemical reactions in contracting muscle during an applied stretch. *Proc. Roy. Soc. B*, **151**, 169-193.
- HILL, A.V. et KUPALOV, P.S. (1930). The vapour pressure of muscle. *Proc. Roy. Soc. B*, **106**, 445-477.
- HILL, A.V. et WOLEDGE, R.C. (1962). An examination of absolute values in myothermic measurements. *J. Physiol. (London)*, **162**, 311-333.
- HILL, D.K. (1940a). The time course of the oxygen consumption of stimulated frog's muscle. *J. Physiol. (London)*, **98**, 207-227.
- HILL, D.K. (1940b). The anaerobic recovery heat production of frog's muscle at 0 C. *J. Physiol. (London)*, **98**, 460-466.
- HILL, D.K. (1962). The location of creatine phosphate in frog's striated muscle. *J. Physiol. (London)*, **164**, 31-50.
- HODGKIN, A.L. (1951). The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.*, **26**, 339-409.
- HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. (1959). Movements of Na and K in single muscle fibres. *J. Physiol. (London)*, **145**, 405-432.

- HOHORST, H.J., REIM, M. et BARTELS, H. (1962). Studies on the creatine kinase equilibrium in muscle, and the significance of ATP and ADP levels. *Biochem. biophys. Res. Comm.*, **7**, 142-146.
- INFANTE, A.A. et DAVIES, R.E. (1962). Adenosine triphosphate breakdown during a single isotonic twitch of frog sartorius muscle. *Biochem. biophys. Res. Comm.*, **9**, 410-415.
- JÖBSIS, F.F. (1963). Spectrophotometric studies on intact muscle. II Recovery from contractile activity. *J. gen. Physiol.*, **46**, 929-969.
- KATZ, B. (1939). The relation between force and speed in muscular contraction. *J. Physiol. (London)*, **96**, 45-64.
- KUBY, S.A., NODA, L. et LARDY, H.A. (1954). Adenosine triphosphate-creatine-transphosphorylase. III Kinetic studies. *J. biol. Chem.*, **210**, 65-82.
- KUHN, W., TOTH, I. et RAMEL, A. (1963). Partial reversibility of the Ca^{++} — ITP contraction of glycerol extracted muscle. *Nature*, **199**, 1154-1155.
- LANGE, G. (1954). Untersuchungen von Adenosinetriphosphorsäure (ATP), Adenosinephosphorsäure (AMP) und Inosinsäure (IMP) in ruhenden und kontrahierten Froschrectusmuskeln. *Experientia (Basel)*, **10**, 268-289.
- LANGE, G. (1955). Ueber die Dephosphorylierung von Adenosintriphosphat zu Adenosindiphosphat während der Kontraktionsphase von Froschrectusmuskeln. *Biochem. Z.*, **326**, 172-186.
- LEHMANN, H. (1936). Über die Umesterung des Adenylsäuresystems mit Phosphagenen. *Biochem. Z.*, **286**, 336-343.
- LEVIN, A. et WYMAN, J. (1927). The viscous elastic properties of muscle. *Proc. Roy. Soc. B*, **101**, 218-243.
- LOHMANN, K. (1934). Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure ; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion. *Biochem. Z.*, **271**, 264-277.
- LUNDSGAARD, E. (1930). Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung. *Biochem. Z.*, **217**, 162-177.
- LUNDSGAARD, E. (1934). Phosphagen- und Pyrophosphatumsatz in Jodessigsäure vergifteten Muskeln. *Biochem. Z.*, **269**, 308-328.
- MCElROY, W.D. (1947). The energy source for bioluminescence in an isolated system. *Proc. nat. Acad. Sci.*, **33**, 342-345.
- MCElROY, W.D. et STREHLER, B.L. (1949). Factors influencing the response of the bioluminescent reaction to adenosine triphosphate. *Arch. Biochem.*, **22**, 420-433.
- MARÉCHAL, G. (1958). Développement de la contracture iodoacétique du muscle strié par téτανisation prolongée. *Arch. internat. Physiol.*, **66**, 182-197.
- MARÉCHAL, G. et MOMMAERTS, W.F.H.M. (1963). The metabolism of phospho-creatine during an isometric tetanus in the frog sartorius muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **70**, 53-67.

- MEYERHOF, O. et SCHULZ, W. (1935). Ueber die Energieverhältnisse bei der enzymatischen Milchsäurebildung und der synthese der phosphagene. *Biochem. Z.*, **281**, 292-305.
- MEYERHOF, O., SCHULZ, W. et SCHUSTER, Ph. (1937). Ueber die enzymatische Synthese der Kreatinphosphorsäure und die biologische « Reaktionsform » des Zuckers. *Biochem. Z.*, **293**, 309-337.
- MOMMAERTS, W.F.H.M. (1950). Muscular contraction. A topic in Molecular biology. Interscience publishers. New York.
- MOMMAERTS, W.F.H.M. (1955). Investigation of the presumed breakdown of Adenosine-triphosphate and Phosphocreatine during a single muscle twitch. *Am. J. Physiol.*, **182**, 585-593.
- MOMMAERTS, W.F.H.M. et SCHILLING, M.O. (1955). Interruption of muscular contraction by rapid cooling. *Am. J. Physiol.*, **182**, 579-584.
- MOMMAERTS, W.F.H.M., SERAYDARIAN, K. et MARÉCHAL, G. (1962). Work and chemical changes in isotonic muscular contraction. *Biochim. biophys. Acta*, **57**, 1-13.
- MOMMAERTS, W.F.H.M., SERAYDARIAN, K. et WALLNER, A. (1963). Demonstration of phosphocreatine splitting as an early reaction in contracting frog sartorius muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **63**, 75-81.
- MOMMAERTS, W.F.H.M., OLMSTED, M., SERAYDARIAN, K. et WALLNER, A. (1963). Contraction with and without demonstrable splitting of energyrich phosphate in turtle muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **63**, 82-87.
- NACHMANSOHN, D. (1929). I. Über den Zerfall der Kreatinsphosphorsäure in Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. I. *Biochem. Z.*, **196**, 73-97.
- NACHMANSOHN, D. (1960). The neuromuscular junction : the role of the acetylcholine system in « Structure and function of muscle » édité par G.H. Bourne, Academic Press, vol. 2. pp. 199-302.
- NEEDHAM, D.M. (1960). Biochemistry of muscular action in « Structure and function of muscle » édité par G.H. Bourne, Academic Press. Vol. 2, 55-100.
- NEKHOROCHEFF, J. et WĄJZER, J. (1952). Réamination de l'acide inosique dans le muscle. II. Recherche de l'agent réaminant. *Arch. Sci. Physiol.*, **6**, 275-284.
- NODA, L., KUBY, S.A. et LARDY, H.A. (1954). Adenosine-triphosphate transphosphorylase. IV. Equilibrium studies. *J. biol. Chem.*, **210**, 83-95.
- OHNISHI, T. et OHNISHI, T. (1963) Adenosine triphosphatase activity of glycerinated fibres in a mechanical field. *Nature*, **197**, 184.
- PADIEU, P. et MOMMAERTS, W.F.H.M. (1960). Creatinephosphoryltransferase and phosphoglyceraldehyde dehydrogenase in iodoacetate poisoned muscle. *Biochim. biophys. Acta*, **37**, 72-77.
- RAPKINE, L. (1938). Rôle des groupements sulfhydrylés dans l'activité de l'oxydo-réductase du triosephosphate. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **207**, 301-303.

- REICHEL, H. (1960). *Muskelpysiologie*. 276 pp. Springer-Verlag Berlin.
- SACKS, J. et CLELAND, M.G. (1960). Absence of phosphate interchanges in repetitive muscular contraction. *Am. J. Physiol.*, **198**, 300-302.
- SANDOW, A. et KARCZMAR, A.G. (1950). Effect of iodoacetate on changes in muscular latency induced by activity. *Am. J. Physiol.*, **163**, 247-259.
- SANDOW, A. et SCHNEYER, C.A. (1955). Mechanics of iodoacetate rigor in muscle. *J. cell. comp. Physiol.*, **45**, 131-156.
- SCHILLING, M.O. (1960). Capacitance transducer for muscle research. *Rev. Sci. Instr.*, **31**, 1215-1217.
- SERAYDARIAN, K., MOMMAERTS, W.F.H.M., WALLNER, A. et GUILLORY, R.J. (1961). An estimation of the true inorganic phosphate content of frog sartorius muscle. *J. biol. Chem.*, **236**, 2071-2075.
- SPRONCK, A. (1962). Contribution à l'étude de l'hydrolyse de la phosphocréatine pendant et après la contraction musculaire. Thèse de licence. Université de Liège.
- STREHLER, B.L. et TOTTER, J.R. (1952). Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. I. Substrate and enzyme determination. *Arch. Biochem. Biophys.*, **40**, 28-41.
- SZENT-GYÖRGYI, A. (1951). *Chemistry of muscular contraction*. Academic Press, New York.
- TIGYI, J. (1959). Wärmebildung der isotonisch bzw. isometrisch kontrahierenden Muskeln. *Acta physiol. Acad. Sci. hung.*, **26**, 129-137.
- WAJZER, J., NEKHOROCHEFF, J. et DONDON, J. (1958). Désamination des nucléotides adényliques pendant la contraction musculaire. *C.R. Acad. Sci.*, **246**, 3694-3696.
- WAJZER, J., WEBER, R., LERIQUE, J. et NEKHOROCHEFF, J. (1956). Reversible degradation of adenosine triphosphate to inosic acid during a single muscle twitch. *Nature*, **178**, 1287-1288.
- WEBER, H.H. (1958). *The motility of muscle and cells* 69 pp. Harvard university press. Cambridge. Massachusetts.
- WEBER, H.H. et PORTZEHL, H. (1954). The transference of the muscle energy in the contraction cycle. *Progr. Biophys. and biophys. Chem.*, **4**, 60-111.
- WEIZSÄCKER, V. (1914). Myothermic experiments in salt-solutions in relation to the various stages of a muscular contraction. *J. Physiol. (London)*, **48**, 396-427.
- WILKIE, D.R. (1954). Facts and theories about muscle. *Progr. Biophys. and biophys. Chem.*, **4**, 288-334.
- WILKIE, D.R. (1960). Thermodynamics and the interpretation of biological heat measurements. *Progr. Biophys. and biophys. Chem.*, **10**, 260-298.