

144 746

JOURNAL
DE
PHYSIOLOGIE

EXTRAIT
(Tome 65, N° 1, 1972, pp. 5 A - 50 A)

**Les sources d'énergie immédiate
de la contraction musculaire**

PAR

G. MARÉCHAL

(Laboratoire de Physiologie Générale, Université de Louvain, Belgique.)

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS

Les sources d'énergie immédiate de la contraction musculaire

PAR

G. MARÉCHAL

(Laboratoire de Physiologie Générale, Université de Louvain, Belgique.)

SOMMAIRE

INTRODUCTION	7 A
1. <i>Le bilan énergétique</i>	7 A
2. <i>Les réactions biochimiques du muscle strié</i>	10 A
I. — L'IDENTIFICATION DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES DE LA CONTRACTION.....	14 A
1. <i>Les méthodes physiques</i>	14 A
A. La production de chaleur.....	14 A
B. Les variations de pH.....	15 A
C. Les variations de fluorescence et de transmittance.....	16 A
D. Conclusions : La théorie classique.....	16 A
2. <i>Les méthodes chimiques</i>	18 A
A. Méthodologie.....	18 A
B. Les résultats des analyses chimiques.....	18 A
C. Le problème de l'ATP	19 A
II. — LES BILANS ÉNERGÉTIQUES.....	22 A
1. <i>La secousse</i>	22 A
A. Énergie globale.....	22 A
B. Évolution temporelle des dépenses d'énergie	24 A
C. Le concept d'activation : 1 ^o Solutions hypertoniques.....	24 A
2 ^o Contractions à très courtes longueurs.....	25 A
3 ^o Contractions à très grandes longueurs.....	26 A
D. La chaleur de raccourcissement.....	26 A
E. Conclusions	27 A

2. <i>Le tétanos</i>	27 A
A. Énergétique de l'état stationnaire	28 A
1) La chaleur de maintien	28 A
2) Le métabolisme stable.....	30 A
B. Énergétique des phases transitoires : l'extramétabolisme	33 A
C. Énergétique du travail : l'effet Fenn.....	36 A
1) Le travail positif	36 A
a. Description de l'effet Fenn	36 A
b. Chaleur de raccourcissement	38 A
c. Équivalent biochimique de l'effet Fenn.....	38 A
2) Le travail négatif et la réversibilité de la contraction	40 A
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....	43 A
BIBLIOGRAPHIE	44 A

INTRODUCTION

Durant la contraction, le muscle strié produit du travail mécanique et libère de la chaleur. L'origine de cette énergie et les mécanismes qui en contrôlent la production sont l'objet de recherches poursuivies avec constance depuis plusieurs siècles, et il n'est pas exagéré de dire que ces deux questions ont inspiré des travaux qui ont mené à la formulation de concepts fondamentaux en physiologie.

Ce n'est que vers le milieu du XIX^e siècle, à la suite des travaux de LAVOISIER, de MAYER et de HELMHOLTZ, que s'implante le concept fondamental de la conservation de l'énergie, et, corollaire inévitable, de l'équivalence de ses différentes formes : travail mécanique, chaleur, etc... ; le concept d'une force vitale, créatrice du travail musculaire, était définitivement abandonné. Le premier principe de la thermodynamique donnait une base solide à la construction d'une énergétique musculaire.

Pendant près de cent ans pourtant, les progrès devaient être bien modestes. Il paraissait évident que l'énergie musculaire devait être mobilisée aux dépens de réservoirs situés à l'intérieur du muscle, puisque celui-ci se contracte encore normalement, même s'il est détaché complètement de l'animal.

Mais la difficulté était de préciser la manière de mesurer l'énergie potentielle chimique, et d'identifier les réservoirs chimiques en cause.

Il nous faut expliquer d'abord ces deux concepts, avant de pouvoir passer à l'étude concrète de l'énergétique musculaire. Un traitement plus approfondi pourra s'étudier dans une étude de WILKIE (1960).

1. LE BILAN ÉNERGÉTIQUE.

Au niveau de fait où est arrivée l'étude de l'énergétique musculaire, la thermodynamique nécessaire à sa compréhension reste à un niveau extrêmement élémentaire. Cette situation n'est sans doute pas tellement liée à une déficience des concepts théoriques, que plutôt à l'extrême difficulté de vérifier des théories thermodynamiques raffinées sur des muscles où les mesures des paramètres nécessaires ne peuvent se faire qu'avec de grandes approximations, et où, souvent, il n'est pas possible de réunir simultanément des informations nombreuses.

On peut se contenter d'un modèle très simplifié. Soit un système fermé d'un point de vue thermodynamique, c'est-à-dire que le système peut échanger de l'énergie avec l'extérieur, mais non de la matière et isotherme, c'est-à-dire que sa température ne varie pas. Admettons qu'une réaction chimique (1) se déroule dans le système :



Supposons une transformation du système telle qu'une mole de A devient une mole de B. L'énergie interne du système aura changé en général, et la différence apparaîtra sous forme de chaleur. Cette dégradation n'est quantitative que si le volume du système reste constant. Si la réaction se déroule à pression constante, ce qui est le cas des réactions biologiques, le travail d'expansion sera aussi dégradé en chaleur. Il est commode de considérer une fonction thermodynamique groupant ces deux postes : l'enthalpie. La chaleur Q produite par la transformation d'une mole de A en une mole de B est définie « enthalpie molaire » et est symbolisée — ΔH . Ce raisonnement s'étend facilement au cas où plusieurs réactions surviennent simultanément ou consécutivement. Si ΔH_i est l'enthalpie molaire de la réaction i , et si m_i est le nombre de moles de substrat i qui ont réagi, la chaleur produite par le système est :

$$Q = - \sum_{i=1}^{i=n} m_i \Delta H_i \quad (2)$$

Si ces réactions surviennent dans une structure qui oblige l'énergie à parcourir un chemin choisi, on peut tirer du système de l'énergie sous une autre forme : électrique (cas des batteries) ou mécanique (cas du muscle strié). La chaleur dégagée est réduite du montant de l'énergie dégagée sous une autre forme. Si W est le travail mécanique, on aura (WILKIE, 1960 ; WOLEDGE, 1971) :

$$W + Q = - \sum_{i=1}^{i=n} m_i \Delta H_i \quad (3)$$

Ces notions étaient déjà bien précisées au début du siècle, et furent un des guides des travaux de HILL et MEYERHOF qui dans les années 1920 ouvrirent la voie à l'élucidation de la glycolyse.

Le point important de l'équation (3), qui définit le « bilan énergétique », est de relier les phénomènes chimiques (ou éventuellement physiques) qui se passent dans le muscle, à la production d'énergie musculaire.

Il faut donc pour obtenir un bilan énergétique complet :

- 1° mesurer le travail mécanique (W) du muscle et la chaleur produite (Q) lors de la contraction musculaire ;
- 2° identifier les réactions biochimiques en cause ;
- 3° évaluer les enthalpies de ces réactions (par des mesures de calorimétrie) ;
- 4° mesurer l'avancement de ces réactions dans les contractions ;
- 5° vérifier le bilan énergétique, par le truchement de l'équation (3).

Le point 1 du programme ne soulève plus guère de problèmes techniques : les méthodes mises au point par HILL vers les années 1930-1950 nous permettent d'é-

valuer avec précision la chaleur produite par le muscle en contraction, et son évolution temporelle, avec une résolution de quelques millièmes de secondes (cf. HILL, 1965).

Le point 2 résume le problème le plus difficile. Les réactions biochimiques sont découvertes à partir d'extraits de muscles plus ou moins purifiés. Au cours des dernières décennies, les biochimistes ont amassé de la sorte une riche moisson qui les a menés à construire une théorie complexe et admirablement intégrée des réactions chimiques cellulaires, et, plus particulièrement, musculaires. Ce qui place le physiologiste devant un double problème : dans quelle mesure les réactions postulées par les biochimistes surviennent-elles *effectivement* dans le muscle ? et dans quelle mesure *toutes* les réactions intéressantes ont-elles été identifiées. La réponse à ces deux questions forme l'essentiel de ce rapport.

Le point 3 implique uniquement des mesures *in vitro* : il n'y a pas de difficultés quant aux concepts, ni même quant aux techniques. Il peut cependant être difficile alors de reproduire exactement les conditions physico-chimiques où se déroulent les réactions *in vivo*. Notamment, les ions H^+ sont absorbés par des mélanges-tampons en produisant une chaleur de neutralisation qui dépend de la nature du tampon : comme on ne connaît pas exactement tous les mélanges tampons actifs dans la cellule musculaire durant une contraction, on ne peut pas les reproduire *in vitro*, ni même calculer théoriquement leurs contributions à la chaleur de neutralisation.

Heureusement, ce poste de production de chaleur est de faible grandeur : il rend plus imprécise la méthode des bilans, sans toutefois rendre impossible son application. Nous n'étudierons pas cette question de manière critique. Nous nous contenterons de citer simplement les résultats des mesures faites *in vitro*. Ce problème est discuté en profondeur par WOLEDGE (1971).

Le point 4 implique des problèmes méthodologiques importants, que nous discuterons plus loin (cf. aussi CARLSON, 1963).

Enfin le point 5 est le but ultime où toutes ces informations sont reliées par l'équation des bilans (3). L'importance de cette équation réside en ce qu'elle nous fournit un critère quantitatif qui nous permet d'évaluer la justesse de nos théories biochimiques et énergétiques. Si le bilan énergétique est équilibré, nous sommes autorisés à penser que notre image théorique de l'énergétique musculaire est correcte ; ce n'est pas une preuve définitive, car il peut y avoir des réactions chimiques thermoneutres non identifiées qui surviennent pendant la contraction, ou encore, on peut avoir négligé deux réactions dont les enthalpies s'annulent parce que l'une est exothermique et l'autre est endothermique. Si le bilan n'est pas équilibré, le résultat est encore plus intéressant, car cela signifie qu'une ou plusieurs réactions chimiques sont négligées. Cette conclusion est inévitable, car la précision des mesures physiques (chaleur et travail) est telle qu'on ne peut pas admettre une erreur ou une omission de ce côté-là. Il est naturellement toujours difficile de se rendre compte de l'existence d'une réaction inconnue : c'est de là que la méthode des bilans énergétiques tire son importance majeure.

2. LES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES DU MUSCLE STRIÉ.

La figure 1 résume de manière très compacte l'essentiel de nos connaissances actuelles. Les grandes étapes historiques de leur découverte sont suggérées par le nom d'un chercheur dont le travail fut décisif, ainsi que par la date de la publication. Il y a naturellement beaucoup d'arbitraire dans ce procédé. Une histoire moins sommaire pourra se lire dans BASTHOLM (1950) et surtout dans l'admirable livre de NEEDHAM, intitulé *Machina Carnis* (1971). On remarquera immédiatement le rôle central de l'ATP (adénosine triphosphate) qui peut s'hydrolyser en ADP (adénosine diphosphate) et phosphate inorganique (P_i). Les réactions de gauche *utilisent* l'ATP, tandis que celles de droite *synthétisent* l'ATP. Les enthalpies molaires des réactions sont valables pour les conditions qui règnent dans le muscle et sont tirées de WOLEDGE (1971).

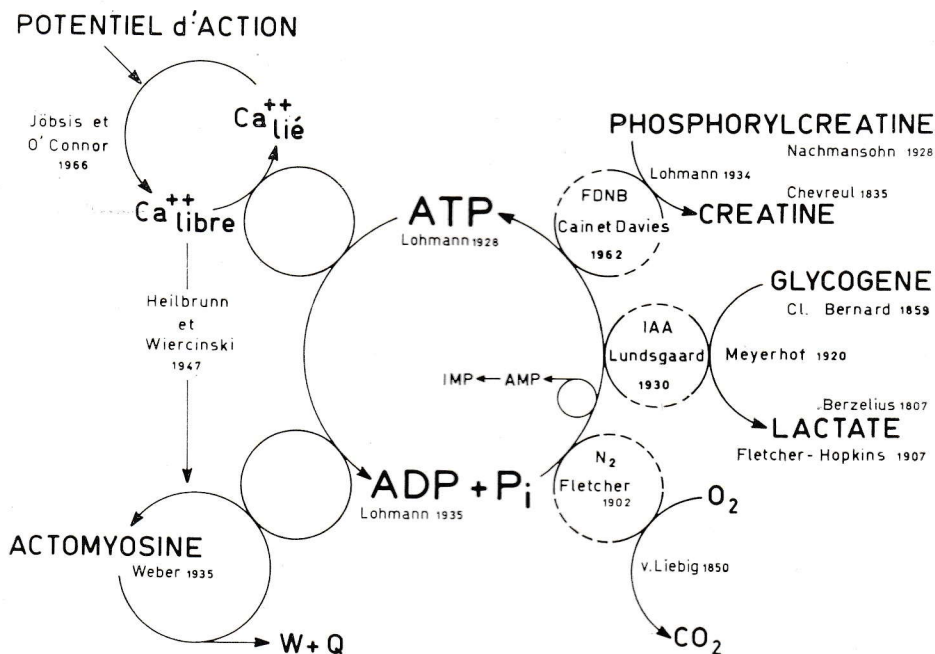


FIG. 1. — La « Roue » de l'ATP illustre la position centrale de l'ATP dans le métabolisme musculaire. *À droite* sont schématisées les réactions couplées à une synthèse d'ATP ; *à gauche* celles qui puisent leur énergie à partir du couple ATP-ADP.

L'hydrolyse de l'ATP suivant la réaction :



est catalysée par l'actomyosine (ENGELHARDT et LJUBIMOVA, 1939) et est couplée à la déformation mécanique des protéines contractiles (actine et myosine), qui agissent

comme un système structuré assurant une canalisation de l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP vers une transformation en énergie mécanique. Cette réaction est aussi couplée à une pompe moléculaire qui transfère le calcium ionisé libre dans le sarcoplasme vers les citernes du réticulum sarcoplasmique. Il y a ici, en somme, transformation de l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP en énergie osmotique. Ce mécanisme assure le relâchement du muscle, attendu que la présence d'ions calcium ionisés est nécessaire à l'activation des protéines contractiles. Le phénomène qui permet le démarrage de la contraction est le potentiel d'action musculaire, qui agit en provoquant une libération du calcium lié aux systèmes des membranes intracellulaires (réticulum sarcoplasmique) vers le sarcoplasme (cf. HASSELBACH, 1964 et GILLIS, 1972, pour des exposés détaillés).

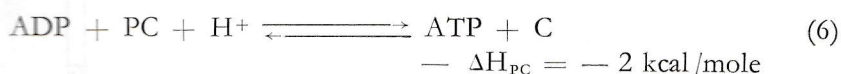
Les réactions de *restauration* sont schématisées à la partie droite de la figure 1. Ce sont des réactions couplées à une resynthèse de l'ATP, suivant la réaction :



On distingue trois grands types de réactions de restauration.

a) *Les réactions anaérobiques non-glycolytiques :*

Au nombre de deux : la réaction de LOHMANN (1934), où la synthèse d'ATP se fait aux dépens de la phosphorylcréatine (PC) ; dans cette réaction le groupe phosphoryl de la PC est transféré sur l'ADP laissant la créatine C :



Cette réaction est catalysée par l'enzyme « ATP-créatine transphosphorylase ». La réaction catalysée par la myokinase (suggérée seulement à la figure 1) consiste en un échange de phosphate entre deux molécules d'ADP :

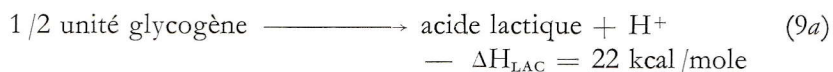


Le produit formé en même temps que l'ATP est l'adénosine monophosphate. Il est sujet d'une réaction qui est de peu d'intérêt d'un point de vue énergétique, mais qui s'observe fréquemment durant une contraction du muscle : c'est la déamination de l'AMP en inosine monophosphate (IMP) :



b) *Les réactions anaérobiques glycolytiques :*

Le catabolisme d'une unité glucosyl (ou glucose) en deux molécules d'acide lactique est couplé à la synthèse (théorique) de 3 molécules d'ATP, suivant les équations :



Les nombreuses étapes intermédiaires ont été décrites d'abord par MEYERHOF et EMBDEN entre les années 1920 et 1940 (pour un aperçu historique, consulter NEEDHAM, 1971).

c) *Les réactions oxydatives.*

De nombreux substrats peuvent céder des électrons à l'oxygène moléculaire par la chaîne des transporteurs mitochondriaux. Ces réactions sont couplées à une synthèse d'ATP. L'étude de ces réactions sort du cadre de ce rapport (cf. JÖBSIS, 1964). Nous rappellerons seulement la notion classique que l'oxydation complète d'une mole de glucose est couplée à la synthèse de 36 à 40 moles d'ATP :

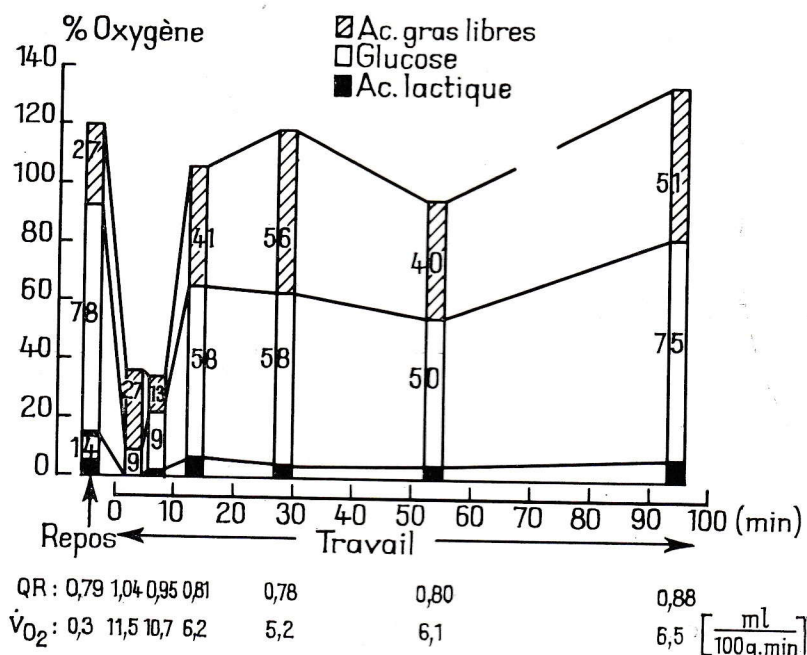
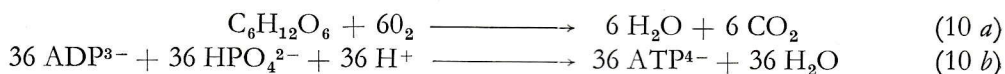


FIG. 2. — *Les apports énergétiques du sang au gastrocnémien de chien* ; la consommation d'oxygène ($\dot{V}_{\text{O}_2}$), est fractionnée suivant les substrats oxydés, glucose, acide lactique, ou acide gras libres ; on note qu'au début du travail, les deux tiers de l'oxygène consommé servent à oxyder des réserves intra-cellulaires (HIRCHE, GRÜN et WALLER, 1970).

La figure 2 résume bien les réponses métaboliques oxydatives au travail musculaire. HIRCHE, GRÜN et WALLNER (1971) ont mesuré la consommation d'oxygène de glucose, d'acides gras et d'acide lactique d'un gastrocnémien de chien (par la technique des différences artério-veineuses de Fick) ainsi que la production de CO_2 . La consommation d'oxygène du muscle est notée à la seconde ligne en dessous du tableau : elle s'accroît considérablement lorsque le muscle est tétanisé (0,2 s toutes

les 0,5 s). Le quotient respiratoire montre des variations qui suggèrent que les substrats oxydés pendant le travail sont différents suivant la phase de travail du muscle. La figure donne la répartition de l'oxygène consommé entre les trois substrats fournis au muscle par la circulation. On note tout de suite qu'au début du travail musculaire, les substrats prélevés au sang sont en quantité trop faible par rapport à l'oxygène consommé. Il est clair qu'à ce moment le muscle oxyde ses réserves (glycogène, sans doute, puisque le QR est voisin de 1). Après une dizaine de minutes, un nouvel équilibre s'installe : la puissance musculaire est réduite à peu près à la moitié de la puissance initiale (par « fatigue » du muscle), et le muscle oxyde uniquement des substrats apportés par voie sanguine, avec une proportion d'acide gras plus élevée que celle qu'il utilisait au repos.

En conclusion, les réactions situées du côté gauche du cycle sont celles qui provoquent ou contrôlent la contraction ; les réactions situées du côté droit rechargent le réservoir énergétique d'ATP, soit déjà pendant la contraction, soit après la contraction.

I. — L'IDENTIFICATION DES RÉACTIONS BIOCHIMIQUES DE LA CONTRACTION

Le physiologiste ne peut se contenter d'accepter les théories construites par les biochimistes. Il doit encore démontrer que les réactions postulées par ceux-ci se passent effectivement dans un muscle intact dans le corps de l'animal, ou encore isolé. Deux voies s'ouvrent à l'abord de ce problème : on peut examiner le muscle durant et après la contraction par des méthodes physiques ; ou bien on peut arrêter le métabolisme musculaire à un moment choisi de la contraction, ou après, et analyser le muscle par des méthodes chimiques. Le premier groupe de méthodes a l'avantage de ne pas détruire le muscle : on peut donc évaluer la cinétique des phénomènes et multiplier les observations sur un même muscle ; en revanche, elles sont souvent peu spécifiques, en ce sens que des variations d'un paramètre physique ne sont qu'exceptionnellement le témoin d'une réaction chimique particulière. Le deuxième groupe de méthodes a le désavantage de détruire le muscle : on ne peut donc faire qu'une seule observation sur un muscle, mais, en revanche, cette observation est bien spécifique d'une réaction chimique déterminée.

1. Les méthodes physiques

A) LA PRODUCTION DE CHALEUR.

L'équation du bilan énergétique (3) indique le rapport étroit qui doit exister entre les réactions biochimiques et la chaleur dégagée par un muscle. Au cours d'une longue suite de travaux s'étendant sur plus de cinquante ans, HILL a imaginé, développé et utilisé des méthodes raffinées pour la mesure de la production de chaleur du muscle, en déposant celui-ci sur une pile thermo-électrique (cf. HILL, 1965). A cause de leur grande résolution temporelle, ces méthodes sont précieuses pour évaluer la cinétique des réactions biochimiques pendant une contraction. Elles ne fournissent d'informations quant à la nature de ces processus que si leur utilisation est combinée avec celle d'inhibiteurs du métabolisme. C'est ainsi que HILL (1913) a distingué une chaleur produite *pendant* la contraction (chaleur « initiale ») d'une chaleur produite *après* la contraction (chaleur de « restauration ») et que WEISZÄCKER (1914) a montré que le remplacement de l'oxygène par de l'azote ne modifie en rien la chaleur initiale, mais diminue considérablement (des 4/5) la chaleur de restauration. Il est donc clair que les oxydations sont des réactions tardives, qui surviennent *après* la contraction. D'après l'évolution temporelle de la chaleur de restauration, on peut estimer que la plus grosse partie de la chaleur oxydative est produite à la

température ordinaire endéans les 10 minutes qui suivent un tétanos de quelques secondes. Cette évolution temporelle fut confirmée par des mesures directes de la consommation d'oxygène des muscles (D. K. HILL, 1940). Une analyse fine de cette évolution temporelle a permis à GODFRAIND-DE BECKER (1972) d'y distinguer deux phases : la plus lente est purement oxydative, la plus rapide provient en partie des réactions glycolytiques. Ces expériences prouvent que la glycolyse démarre toujours après un tétanos, même si la contraction est brève et le muscle bien oxygéné.

La chaleur initiale, comme la force d'ailleurs, ne sont absolument pas affectées par la présence ou l'absence d'oxygène (WEISZACKER, 1941). On doit en inférer que les réactions biochimiques directement responsables de la contraction n'impliquent pas l'utilisation d'oxygène.

L'étape suivante est de tenter une dissection biochimique de la chaleur initiale à l'aide d'inhibiteurs appropriés. L'iodoacétate (IAA) bloque la glycolyse au niveau de la triosephosphate déshydrogénase. LUNDSGAARD, en 1930, devait démontrer que ce poison n'empêche pas la contraction du muscle, mais que la production d'acide lactique déclenchée par la stimulation est complètement arrêtée. Ce poison n'arrête cependant pas les oxydations.

La chaleur initiale n'est guère modifiée par l'iodoacétate (FISHER, 1930). On peut en inférer que la glycolyse n'est pas couplée directement aux réactions contractiles. On comprend que la chaleur initiale ne soit pas influencée par la présence ou l'absence de glycolyse, dans la mesure où, comme EMBDEN *et al.* (1927, 1928) l'ont démontré, la glycolyse survient *après* la contraction. Cependant, lors d'un seul long tétanos de 12 s à 20°C la glycolyse démarre *pendant* le tétanos, comme en témoigne une production d'acide lactique. Or dans ce cas, la chaleur initiale reste identique, que la glycolyse soit bloquée ou non (CANFIELD *et al.*, 1971). Je reviendrai plus loin sur le problème que pose cette observation.

Enfin, sous l'action du 1-fluoro-2, 4-dinitrobenzène (FDNB), qui bloque la créatine-ATP transphosphorylase, sans toutefois abolir l'excitabilité et la conductibilité du muscle (CAIN et DAVIES, 1962), la chaleur initiale du muscle diminue (AUBERT, 1964). Ce fait aurait pu suggérer que la réaction de transphosphorylation $PC \longrightarrow ATP$ (eq. 6) contribue de façon importante à la chaleur initiale, mais une telle conclusion est erronée, puisque cette réaction est endothermique.

B) LES VARIATIONS DE pH.

Les réactions biochimiques (4 à 8) s'accompagnent d'échanges d'ions H^+ . Il est possible de les identifier (dans une certaine mesure seulement) par la mesure des variations de pH enregistrées durant et après une contraction. En appliquant une électrode de verre à la surface du muscle, DUBUISSON (1938) a pu mesurer l'évolution temporelle des variations de pH durant et après une contraction ; il la divise en 4 phases. Ces expériences approfondies par DISTÈCHE (1960) montrent clairement que les réactions biochimiques s'enchaînent en un ordre précis. On observe d'abord une phase acide (b) attribuée à l'hydrolyse de l'ATP (réaction 4), puis une phase alcaline (c) résultant de l'hydrolyse de la PC couplée à une resynthèse d'ATP (réaction 6) ; ensuite, et après la contraction, s'observe une acidification (d) pro-

voquée par l'apparition d'acide lactique (réaction 9). La phase (a) est une acidification contemporaine du potentiel d'action et du développement rapide de la force qui paraît liée à des variations de charges des protéines contractiles déformées par l'effort mécanique.

C) LES VARIATIONS DE FLUORESCENCE ET DE TRANSMITTANCE.

Si le muscle est illuminé par une lumière ultra-violette (366 nm), il réémet une lumière fluorescente centrée sur une longueur d'onde de 460 nm dont l'intensité est une fonction du taux de NADH. Le NAD^+ oxydé ne fluoresce pas. L'intensité de la fluorescence est donc un index du degré de réduction du NAD^+ . Lorsque l'activité des mitochondries augmente, et que l'oxygène accepte les électrons dévalant la chaîne respiratoire, le NADH est oxydé en NAD^+ , et on observe une diminution de la fluorescence. Après une secousse, l'oxydation du NAD^+ atteint un maximum en 20 s environ, puis retourne à son point de départ en plusieurs minutes. Cette expérience confirme donc la lenteur des processus oxydatifs déjà soulignée par l'évolution temporelle de la chaleur de restauration et de la consommation d'oxygène après une contraction (JÖBSIS, 1963).

Les variations de fluorescence sont très étroitement liées à la production de chaleur de restauration, avec de faibles différences de cinétique (GODFRAIND-DE BECKER, 1972). L'iodoacétate influence les deux phénomènes de manière analogue, ce qui suggère que la glycolyse (et donc le NADH sarcoplasmique) contribue aux variations de fluorescence. En gros, on peut dire que les informations obtenues par l'étude de la fluorescence recouvrent et confirment celles tirées des observations sur la chaleur de restauration (GODFRAIND-DE BECKER, 1972).

L'état d'oxydo-réduction du cytochrome *b* de la chaîne respiratoire des mitochondries peut s'évaluer par la transmittance du muscle à 430 nm. Dans le muscle au repos, la concentration de l'ADP est normalement très basse, inférieure sans doute à 0,05 micromole/g, et les mitochondries ne respirent guère, par défaut d'accepteur. Le cytochrome *b* est alors réduit. Mais dès que survient une contraction du muscle, on observe une oxydation du cytochrome *b* qui démarre dès le milieu de la secousse et atteint un maximum en une à deux secondes (CHANCE et WILLIAMS, 1955). Cette oxydation peut signifier une arrivée d'ADP aux mitochondries, et donc trahir une hydrolyse d'ATP.

D) CONCLUSIONS : LA THÉORIE CLASSIQUE.

L'étude des paramètres physiques que nous venons de voir confirme les données rassemblées par les biochimistes, en précisant l'évolution temporelle des réactions biochimiques durant la contraction. On peut résumer, ce qu'on peut appeler la théorie classique, par les figures 1 et 3.

Le potentiel d'action déclenche une libération de Calcium ionisé dans le sarcoplasme. Ces ions se fixent sur des protéines (la troponine) et permettent l'activité ATPasique de l'actomyosine. L'ATP est hydrolysé au contact des protéines

contractiles et le muscle se contracte. Le reticulum sarcoplasmique reprend le calcium ionisé en hydrolysant aussi de l'ATP. Si un nouvel excitant ne survient pas le taux sarcoplasmique de calcium descend rapidement en dessous du niveau nécessaire au maintien de l'activité ATPasique de l'actomyosine et le muscle se relâche. C'est une secousse. Des excitations répétées provoqueront un tétanos en maintenant un taux élevé de calcium sarcoplasmique, malgré l'activité continue de la pompe à calcium. L'ADP formé est rephosphorylé en ATP principalement aux dépens de la phosphorylcréatine (réaction de Lohmann, 6), et accessoirement par le mécanisme de la réaction myokinase (7). Un peu plus tard, la glycolyse démarre, et il apparaît de l'acide lactique ; et plus tardivement encore commencent les oxydations. L'énergie dégagée par la glycolyse permet la rephosphorylation de

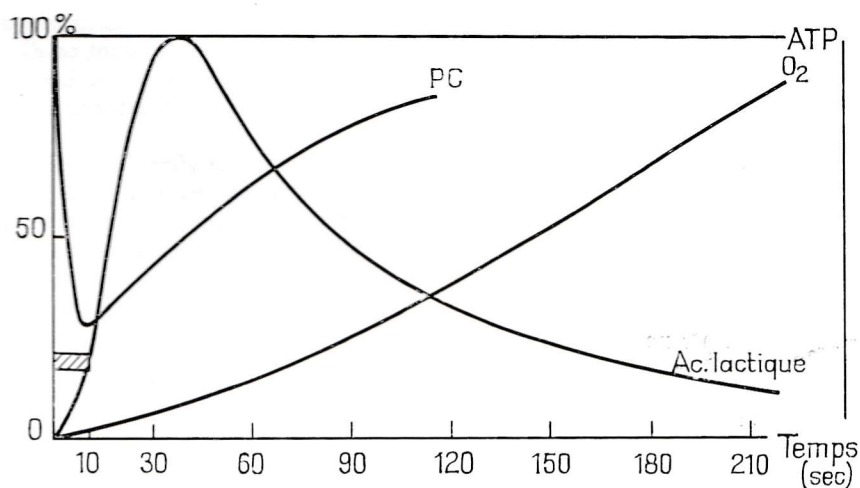


FIG. 3. — L'évolution temporelle des réactions de restauration après un tétanos de 10 s (rectangle hachuré). Schéma composé pour un sartorius de grenouille à 20°C. L'ATP ne change pas (ceci est un peu exagéré, car il peut diminuer un peu pendant de tels longs tétanos), d'après CANFIELD et MARÉCHAL (1971) ; phosphorylcréatine (PC), hydrolyse d'après CANFIELD et MARÉCHAL, 1972 ; resynthèse d'après NACHMANSOHN (1928) ; consommation d'oxygène, d'après HILL (1940) ; l'évolution temporelle de l'acide lactique reflète ce qu'on observe dans les muscles de mammifères *in situ* ; chez la grenouille l'oxydation du lactate (phase descendante de la courbe) paraît beaucoup plus lente (cf. BENDALL et TAYLOR, 1970).

l'ADP en ATP, et aussi le renversement de la réaction de Lohmann (6), c'est-à-dire une rephosphorylation post-contractile de la créatine. Les oxydations contribuent aussi au renversement de ces réactions, mais peuvent être couplées à une resynthèse de glycogène à partir d'acide lactique (MEYERHOF, 1920). Contestée dans le cas des muscles de mammifères (KREBS et KORNBERG, 1957), cette synthèse a été démontrée récemment par BENDALL et TAYLOR (1970).

Nous allons maintenant étudier et critiquer cette théorie, la compléter en de nombreux points et souligner quelques-unes de ses insuffisances.

2. Les méthodes chimiques

A) MÉTHODOLOGIE.

Les réactions chimiques se succèdent dans un muscle en contraction à une vitesse considérable, puisqu'une secousse dure moins d'une seconde. Les problèmes techniques ont été discutés en profondeur par CARLSON (1963). Le premier problème que pose ce type d'investigation est de « fixer l'image chimique » à un instant choisi. Cette fixation s'obtient habituellement par congélation rapide. Si l'on utilise des muscles fins (comme le sartorius de grenouille) et un liquide de réfrigération suffisamment froid (-160°C) et non volatil à la température ordinaire (isopentane, fréons), le centre du muscle peut se refroidir à moins dix degrés en 200 millisecondes. Un gros problème reste, que même les muscles contrôlés non stimulés électriquement, sont stimulés au moment de l'immersion dans le liquide froid. On ne peut donc guère que comparer des muscles plus ou moins stimulés.

Les substances énergétiques doivent alors être solubilisées, en prenant garde que les enzymes musculaires ne les modifient pendant la préparation. Cela s'obtient en dissolvant le muscle broyé dans de l'acide perchlorique ou trichloracétique froid (0°C). Les substrats sont alors analysés par des méthodes spectrophotométriques, chromatographiques, ou enzymatiques.

On ne peut faire qu'une mesure sur un muscle. Si l'on veut étudier l'évolution temporelle des substrats pendant et après la contraction, il faut comparer une série de muscles différents. Les variations biologiques sont importantes, et il est dès lors nécessaire d'utiliser des méthodes statistiques pour planifier les expériences, et pour en analyser les résultats (cf. MARÉCHAL, 1964 ; CARLSON *et al.*, 1967).

B) LES RÉSULTATS DES ANALYSES CHIMIQUES.

HILL en 1950, dans un article remarqué, avait mis les biochimistes au défi de démontrer l'hydrolyse de l'ATP dans le muscle en contraction. Bien que la théorie classique, symbolisée par la figure 1, s'appuie sur un faisceau important d'arguments biochimiques (Cf. HAMOIR, 1956), il fut impossible de rencontrer le défi de HILL : la concentration de l'ATP ne change pas durant une ou plusieurs contractions (secousses ou tétanos) pour autant qu'on ne prolonge pas les stimulations jusqu'à épuisement du muscle ; chez la grenouille (FLECKENSTEIN *et al.*, 1954 ; FLECKENSTEIN *et al.*, 1954 ; CARLSON et SIGER, 1960 ; MARÉCHAL, 1964 ; SPRONCK, 1965 ; CANFIELD et MARÉCHAL, 1971) ; chez la tortue (MOMMAERTS, 1954 ; MOMMAERTS *et al.*, 1962) ; chez le chien (CERRETELLI *et al.*, 1969 ; PIIPER *et al.*, 1967) ; chez l'homme (EDWARDS *et al.*, 1972 ; KARLSSON, 1971). Ce fait est naturellement paradoxal au regard du rôle fondamental attribué à l'interaction entre l'ATP et les protéines contractiles (cf. fig. 1). Nous réexaminerons ce point plus loin.

En revanche, la concentration de phosphorylcréatine diminue régulièrement durant une ou plusieurs contractions et l'on trouve une augmentation équivalente de créatine et de phosphate inorganique. Ce fait est attesté par d'innombrables études, depuis celles de Nachmansohn (1928) et LUNDSGARD (1930), jusqu'à celles toutes récentes de GILBERT *et al.* (1971) et HOMSHER *et al.* (1972). Nous reviendrons plus loin sur l'aspect quantitatif de cette question. Notons seulement qu'il existe quelques études publiées où l'on rapporte que le taux de PC du muscle ne change pas durant une seule secousse ou un court tétanos (FLECKENSTEIN *et al.*, 1954 ; MOMMAERTS, 1954 ; DAVIES,

et al., 1959 ; MOMMAERTS *et al.*, 1962). Il subsiste cependant une incertitude quant à la valeur de ces résultats qui sont obtenus par différence entre les concentrations de PC de muscles contrôles et de muscles stimulés. Or la quantité de PC qui devrait y être hydrolysée est inférieure aux variations normales de concentration que l'on peut rencontrer entre deux muscles de la même paire.

Quant à la glycolyse, on sait depuis EMBDEN *et al.* (1928) qu'elle survient après le tétanos. Elle peut démarrer durant le tétanos, s'il est suffisamment long (GILBERT *et al.*, 1971). La production de chaque mole d'acide lactique formée *in vivo* (gastrocnémien de grenouille) est couplée à la resynthèse de 1,5 mole d'ATP ou de PC, en confirmation de l'équation 9b (CERRETELLI *et al.*, 1972). L'intensité relative des processus glycolytiques et des oxydations dépend du type de fibres musculaires.

On en distingue habituellement trois types (STEIN et PADYKULA, 1962 ; GAUTHIER, 1970 ; CLOSE, 1972) : les fibres « blanches » ou A (suivant la classification de ROMANUL, 1964) ; les fibres « rouges » ou B et les fibres « intermédiaires » ou C. A ces fibres correspondent trois types d'unités motrices (CLOSE, 1967) généralement présentes ensemble dans un même muscle. Ces fibres se distinguent par tous les paramètres biochimiques investigués (cf. BEATTY et BOCEK, 1971, pour une revue générale) que l'on peut très brièvement résumer ainsi. Les fibres blanches sont grosses (44 μ), rapides, elles utilisent très vite leur glycogène durant des contractions, en produisant beaucoup d'acide lactique ; leur fatigabilité (EDSTRÖM et KUGELBERG, 1968 ; FOLKOW et HUDLICKÁ, 1968) est grande. Ces fibres sont adaptées à des contractions brèves en anaérobie. Les fibres rouges sont minces (27 μ) ; elles sont aussi rapides que les fibres blanches, mais ne produisent pas ou guère d'acide lactique ; elles sont riches en mitochondries et elles peuvent oxyder, en particulier, les graisses ; elles sont moins fatigables que les fibres blanches. Les fibres intermédiaires (34 μ) sont rouges, mais lentes, et adaptées à un métabolisme surtout oxydatif ; elles sont très résistantes à la fatigue.

C) LE PROBLÈME DE L'ATP.

L'absence de variation du taux d'ATP pendant la contraction s'explique assez aisément dans le cadre de la théorie classique, si l'on admet que l'ATP hydrolysé (réaction 4) est très rapidement rephosphorylé aux dépens de la PC (réaction 6). Le bilan net des deux réactions (4 et 6) est une hydrolyse de PC en créatine et en phosphate inorganique, ce qui est précisément observé. L'enthalpie d'hydrolyse ΔH_{PC}^0 est la somme des enthalpies de chacune des réactions, ΔH_{ATP} et ΔH_{PC} soit -9 kcal/mole (WOLEDGE, 1971).

Les activités enzymatiques du muscle, ainsi que les équilibres des substances énergétiques dans le sarcoplasme, plaident en faveur de cette interprétation. On sait que l'enzyme nécessaire, l'ATP-créatine transphosphorylase, est très active dans le muscle, au point d'y pouvoir phosphoryler environ 60 micromoles d'ATP par gramme de muscle et par seconde (KUBY *et al.*, 1954). Nous verrons plus loin qu'une secousse de sartorius de grenouille à 0°C exige la consommation de 0,29 micromole d'ATP par gramme de muscle. On voit donc que l'ADP formé peut être rephosphorylé en quelques millisecondes par la réaction 6. Toutefois, à cause du jeu des équilibres enzymatiques, la resynthèse ne peut pas être totale. D'après CANFIELD et MARÉCHAL (1971), ATP, ADP, AMP, créatine et PC sont en un équi-

libre chimique régi par deux réactions : celle de Lohmann (réaction 6) et celle de la myokinase (réaction 7), qui ont les mêmes constantes d'équilibre que celle déterminée *in vitro* (cf. note 1) : 0,44 pour la myokinase (EGGLESTON et HEMS, 1952) et 22 pour la réaction de Lohmann (CARLSON et SIGER, 1959). On peut dès lors calculer à partir des équations d'équilibre quelle est la quantité théorique d'ATP qui ne sera pas rephosphorylée, et on trouve que pour une secousse, cette quantité est de l'ordre de 3 millièmes de l'ATP présent. On comprend que cette variation infime ne soit pas détectable par analyse chimique directe. Elle correspond cependant exactement à la quantité d'ADP (0,009 μ mole/g pour une secousse) qui arrive aux mitochondries d'après les mesures fluorométriques de CHANCE et CONNELLY (1957).

Les analyses chimiques les plus récentes de GILBERT *et al.* (1971) ont révélé une légère augmentation d'environ 100nmole d'ATP/g pendant les deux premières secondes d'un téтанos isométrique (sartorius de grenouille). Ce fait n'est pas en contradiction avec l'apparition de la faible quantité d'ADP postulée par CHANCE et CONNELLY (1957), mais est en contradiction directe avec l'interprétation de la phase *b* d'acidification du muscle étudiées par DISTÈCHE (1960). Cette augmentation d'ATP ne peut pas s'expliquer par une variation des équilibres enzymatiques (réactions de Lohmann ou myokinase) ; mais pourrait trahir une solubilisation dans le sarcoplasme d'ATP (ou d'ADP) lié aux protéines contractiles.

On peut donc penser que la théorie classique *peut* rendre compte de tous les faits, mais rien ne *prouve* qu'elle est effectivement correcte. Il y aurait deux manières de s'en assurer : soit de découvrir des réactions non prévues, soit d'apporter la preuve d'une hydrolyse d'ATP suivie d'une resynthèse rapide.

De 1954 à 1962, les expérimentateurs ont exploré de nombreuses possibilités en se basant essentiellement sur l'hypothèse que si une autre réaction que l'hydrolyse d'ATP doit rendre compte de l'énergie de la contraction, cette réaction impliquerait cependant encore une substance phosphorylée (cf. MOMMAERTS, 1969, pour plus de détails). Un concept très voisin motivait aussi ces recherches : la possibilité qu'un substrat inconnu pourrait servir de vecteur d'énergie entre l'ATP et les protéines contractiles. Toutes ces recherches furent vaines, et confirmèrent donc la théorie classique, mais très indirectement.

La preuve d'une hydrolyse d'ATP pendant la contraction pourrait s'obtenir en principe par l'étude des échanges isotopiques entre les différentes fractions phosphates durant une contraction. On peut, par exemple, plonger le muscle dans une solution contenant du phosphate radioactif. Cependant ces expériences ont fourni peu de renseignements intéressants, car le phosphate ne pénètre que lentement à travers la membrane musculaire. La vitesse d'entrée de l'ion étant beaucoup plus faible que les vitesses d'échange entre les différentes fractions phosphates du muscle, il s'ensuit que les substrats sont en équilibre isotopique, lequel n'est pas modifié

(1) Les auteurs (HOHORST *et al.*, 1952 ; KIRSTEN *et al.*, 1970) qui ne trouvent pas un tel équilibre enzymatique dans le muscle négligent l'intervention de la myokinase et le fait que l'ADP acido-soluble comporte plus de 90 % d'ADP lié aux protéines, et seulement moins de 10 % est libre dans le sarcoplasme (SERAY-DARIAN *et al.*, 1962). Faute de faire cette correction, de nombreux auteurs nient que les cinq substances énergétiques décrites soient en un équilibre chimique déterminé seulement par les réactions de Lohmann et myokinase.

par la stimulation (FLECKENSTEIN et JANKE, 1957). Cependant l'activité du phosphate β de l'ATP augmente après stimulation, ce qui est un indice que la réaction myokinasique (7) a pu avancer ; c'est donc un indice indirect d'une production d'ADP pendant la contraction. Ces expériences ont aussi révélé un fait curieux qui n'a pas reçu d'explication satisfaisante : l'atome de phosphore de la phosphoryl-créatine a une activité spécifique qui n'atteint que 70 % de celle du phosphore- γ de l'ATP ; ce rapport n'est pas changé par la stimulation.

Une autre possibilité intéressante est d'étudier l'incorporation dans l'ATP d'eau marquée à l'oxygène. L'eau diffuse très vite à travers les membranes cellulaires ; il y a donc là un moyen de tourner la difficulté rencontrée lors de l'emploi de phosphate radioactif. En considérant la réaction d'hydrolyse de l'ATP (réaction 4), on constate que l'oxygène de l'eau impliquée dans cette réaction se retrouve dans le phosphate inorganique, P_i . En conséquence, l'enrichissement du phosphate inorganique en ^{18}O est une mesure de l'hydrolyse de l'ATP. Inversement, l'enrichissement de l'ATP- $P\gamma$ en ^{18}O est une mesure de la synthèse d'ATP. FLECKENSTEIN *et al.* (1960) ont plongé des muscles isolés de grenouilles dans du Ringer enrichi en $H_2^{18}O$, et ont observé que l'incorporation d' ^{18}O dans l'ATP est fortement augmentée pendant la phase de restauration qui suit un téтанos. Cela est en accord avec la théorie classique qui prévoit une synthèse d'ATP glycolytique et oxydative à ce moment. Pendant la contraction elle-même pourtant il n'y a pas de changement des taux isotopiques de l'ATP et de la PC ; c'est aussi logique, dans la mesure où à ce moment il n'y a plus qu'une hydrolyse PC et d'ATP. Mais l'activité spécifique en ^{18}O du phosphate inorganique n'augmente pas après un téтанos de 3 s (FLECKENSTEIN *et al.*, 1960 ; MARÉCHAL *et al.*, 1971), ce qui paraît indiquer que le mécanisme d'hydrolyse de l'ATP est différent du modèle postulé (si la théorie classique est juste).

Aucune expérience avec radio-isotopes n'a donc pu apporter de soutien ferme à la théorie classique.

En 1962, enfin, CAIN et DAVIES publiaient des observations qui démontraient que l'ATP s'hydrolyse pendant la contraction. Ils partirent de l'observation de KUBY et MAHOWALD (1959) que le 1-fluoro-2,4-dinitrobenzène inhibe la créatine transphosphorylase *in vitro*. Cette substance réagit avec beaucoup de protéines, et il n'y avait aucune raison de penser qu'un muscle pouvait garder intactes ses propriétés en présence du produit. Pourtant un muscle de grenouille incubé 1 heure dans un Ringer contenant 0,4 mM du toxique, reste excitable, et peut se contracter. L'amplitude des contractions successives diminue toutefois rapidement, et le muscle devient inexcitable. Le taux d'ATP de ces muscles diminue à chaque contraction, tandis que le taux de phosphoryl-créatine ne change pas. La conclusion est donc simple : le poison bloque la créatine transphosphorylase *in vivo*, et empêche donc la rephosphorylation de l'ADP par la réaction de Lohmann (réaction 6). Ces expériences confirmées par DYDYNKA et WILKIE (1966), MARÉCHAL et BECKERS-BLEUKX (1966) ainsi que par MOMMAERTS et WALLNER (1967) apportaient un appui puissant à la théorie classique, quoiqu'elles n'expliquent pas le manque d'incorporation d' ^{18}O dans le phosphate inorganique durant la contraction.

II. — LES BILANS ÉNERGÉTIQUES

L'étude des bilans énergétiques se fait en deux étapes, justifiées par des raisons historiques et logiques.

Dans un premier temps, on établit un bilan global, où l'on compare l'énergie chimique fournie par les réactions à l'énergie thermo-dynamique libérée pendant une ou plusieurs contractions. On module la dépense énergétique en variant les conditions mécaniques. On sait depuis FENN (1923, 1924) qu'un muscle qui produit un travail mécanique (contraction dynamique) libère plus d'énergie qu'un muscle qui ne produit aucun travail mécanique (contraction statique) ; un muscle étiré de force durant une secousse ou un tétanos libère moins d'énergie que s'il ne change pas de longueur. Dans cette conception, le niveau de la dépense énergétique observée durant une contraction isométrique (ou statique) est le niveau de référence par rapport auquel on évaluera les variations de dépenses énergétiques durant un mouvement. On étudiera donc d'abord les dépenses énergétiques durant la contraction isométrique, puis on évaluera les effets d'une production ou d'une réception de travail mécanique.

Dans un deuxième temps, on tente une dissection plus fine du bilan. La libération d'énergie par le muscle n'est en effet pas uniforme : elle varie au cours du temps, ou d'une contraction à la suivante : on peut ainsi distinguer des « postes » énergétiques. Il est tentant d'essayer d'attribuer à ces « postes » des « fonctions » spécifiques liées au contrôle ou au fonctionnement de la machinerie musculaire.

1. Le bilan énergétique de la secousse

A) ÉNERGIE GLOBALE.

Le premier travail important est celui de CARLSON et SIGER (1960). Des muscles sartorius de grenouille en azote et intoxiqués à l'iodoacétate, sont stimulés à longueur constante toutes les trois secondes à 0°C. Ils sont congelés après un nombre prédéterminés de secousses et analysés. Durant une telle épreuve, la force des secousses consécutives diminue, et il semble raisonnable de postuler que l'intensité du métabolisme doit en dépendre. Le nombre « équivalent » de secousses est le rapport de la somme des forces des secousses successives à la force de la secousse la plus forte. La concentration de PC diminue linéairement en fonction du nombre « équivalent » de secousses. On en déduit qu'une secousse s'accompagne d'une hydrolyse de 0,29 μ moles de PC par gramme de muscle (somme des réactions 4 et 6). La concentration en ATP n'a pas changé. Par ailleurs, la chaleur produite

durant une secousse est de 2,75 à 3,3 mcal/g (HILL, 1949, 1953, 1958). L'équation du bilan se réduit donc ici à :

$$\frac{Q}{m_{PC}} = - \Delta H'_{PC} \quad (11)$$

L'enthalpie d'hydrolyse de la PC ($\Delta H'_{PC}$) évaluée pour une secousse musculaire est de 9,6 à 11,5 kcal/mole. L'enthalpie d'hydrolyse *in vitro* de la PC est de 8,5 à 9,0 kcal/mole, d'après plusieurs auteurs (cf. WOLEDGE, 1971). Il faut donc conclure que l'énergie libérée par l'hydrolyse de la PC suffit à rendre compte de la chaleur produite lors d'une série de secousses isométriques.

Peu après, CARLSON *et al.* (1963) ont examiné le métabolisme associé au travail. Des muscles sartorius de grenouille sont stimulés dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente, mais sont attachés à un levier isotonique. En modifiant la charge du levier, on peut changer le travail fourni par le muscle au cours d'une série de 20 secousses. La PC de ces muscles est comparée à celle de muscles témoins, qui se contractent isométriquement. On aboutit finalement à la conclusion que la quantité de PC hydrolysée en μ mole par secousse et par gramme de muscle, ΔPC , égale :

$$\Delta PC = - 0,24 - 0,17 W \quad (12)$$

où W est le travail fourni (en mcal/g) durant une secousse. Il est commode de définir un coefficient mécano-chimique du travail (MARÉCHAL, 1964) C_w , qui est la quantité de travail fournie par le muscle divisée par la consommation de PC *au-delà du niveau de référence isométrique*. Dans le cas présent, il égale $\frac{1}{0,17}$ soit 5,9 kcal/mole.

En passant remarquons que l'équation (12) prédit une valeur correcte pour la quantité de PC hydrolysée pendant une secousse isométrique. En effet, le travail mécanique n'y est pas nul, car le muscle se raccourcit légèrement en étirant le dynamomètre, ainsi que son tendon et autres éléments élastiques en série avec la machinerie contractile. Ce travail est d'environ 0,2 à 0,4 mcal/g. Le métabolisme énergétique d'une secousse isométrique requiert donc environ 0,27 à 0,31 μ mole de PC/g.

Dans une deuxième série d'expériences, ces mêmes auteurs mesurent simultanément la chaleur produite par le muscle, et le travail mécanique durant les secousses, et trouvent un $C_w = 9,8$ kcal/mole ; dans ce cas, l'énergie dégagée par le muscle exige la même quantité de PC, quelle que soit sa forme (chaleur ou travail). Ils donnent plus de poids à ce dernier résultat. La conclusion devient donc fort simple : chaleur et travail libérés par la secousse sont justifiés par l'hydrolyse de PC, avec $\Delta H'_{PC} = 9,8$ kcal/mole. Dans ces conditions, l'équation du bilan devient simplement :

$$Q + W = 9,8 m_{PC} \quad (13)$$

Ce résultat fut confirmé par CARLSON *et al.* (1967) et par WILKIE (1968), avec une légère modification : l'enthalpie $\Delta H'_{PC}$ mesurée expérimentalement est légèrement plus élevée, de 11 kcal/mole. La valeur exacte de $\Delta H'_{PC}$ est cependant secondaire

à côté de la conclusion fondamentale qui est que l'énergie totale dépensée par le muscle augmente en fonction du travail mécanique fourni ; c'est ce qu'on appelle l'effet Fenn, sur lequel nous reviendrons plus loin à propos des tétanos.

B) ÉVOLUTION TEMPORELLE DES DÉPENSES D'ÉNERGIE PENDANT LA SECOUSSE.

La production de chaleur du muscle suit une évolution temporelle biphasique durant une secousse (Cf. p. ex. AUBERT, 1956, fig. 7). La première phase démarre dès le milieu de la période de latence, précédant donc l'apparition du raccourcissement (HILL, 1949) et atteint un maximum bien avant que le phénomène mécanique ait atteint son sommet. La deuxième phase est maximale durant le relâchement.

Il semble que la phase initiale reflète d'une part les mouvements des ions calcium et d'autre part, l'activation de l'ATPase de l'actomyosine et la chaleur de raccourcissement (cf. p. 26 A). La concentration sarcoplasmique des ions calcium libres dans le sarcoplasme, telle qu'on peut la mettre en évidence par des méthodes optiques, spectrophotométrie d'un muscle préalablement chargé en murexide (JÖBSIS et O'CONNOR, 1966) et luminescence de l'aequorine stimulée par le calcium (ASHLEY et RIDGWAY, 1968) varie comme cette première phase (CHAPLAIN et PFISTER, 1971). La deuxième phase résulterait de la dégradation d'énergie élastique en chaleur durant le relâchement, sans que l'on exclue cependant une participation des mécanismes qui maintiennent la force (HILL, 1964 *b*).

Il n'est pas possible d'évaluer par analyse chimique directe l'évolution temporelle de l'hydrolyse de la PC ou de l'ATP durant une secousse, parce que les quantités en jeu sont trop faibles pour être détectées. Mais après intoxication du muscle par le fluorodinitrobenzène, la réaction de restauration de Lohmann (réaction 6) est bloquée, et il est possible de détecter des variations d'ATP durant une seule secousse. Les résultats obtenus sont, hélas, divergents. INFANTE et DAVIES (1962) trouvent qu'un sartorius de grenouille congelé au sommet de la secousse (0°C) aurait hydrolysé 0,22 μ mole d'ATP/g, mais que s'il est congelé un peu plus tard, durant le relâchement, la quantité d'ATP hydrolysé monte à 0,43 micromole/g. L'ordre de grandeur des phénomènes est aussi en accord avec l'hypothèse que toute la chaleur est dégagée par l'hydrolyse de l'ATP, avec une enthalpie d'à peu près 10 kcal/mole. MOMMAERTS et WALLNER (1967) sont cependant d'une autre opinion : dans leurs expériences, l'ATP est exclusivement hydrolysé pendant la phase de mise sous tension (0,3 μ mole/g ; à 0°C) ; pendant la phase de relâchement, il n'y a aucune hydrolyse d'ATP, en tout cas certainement moins que 0,1 μ mole/g. Ce désaccord est naturellement regrettable, car il est important de savoir si le relâchement du muscle est purement passif, ou s'il requiert une consommation d'énergie chimique. Les théories de la contraction dépendent de ce fait, et par exemple, la théorie de DAVIES (1963) prévoit une hydrolyse d'ATP durant le relâchement.

C) LE CONCEPT D'ACTIVATION.

Dans certaines conditions, la stimulation électrique du muscle ne provoque pas de réponse mécanique ; on observe cependant un potentiel d'action et une libéra-

tion de chaleur. La production de chaleur n'atteint toutefois que le tiers à peu près de celle observée lors d'une secousse normale (HILL, 1950 *b*). Ce fait suggère qu'une fraction seulement de l'énergie dépensée durant la secousse (environ les 2/3) est utilisée par la machinerie protéique contractile pour engendrer force et raccourcissement. Le solde serait utilisé par les mécanismes qui contrôlent la contraction : ce serait le métabolisme d'activation. Ces derniers temps, on a attribué ce métabolisme d'activation aux mécanismes de décharge de Ca^{++} dans le sarcoplasme et au pompage du Ca^{++} ionisé du sarcoplasme vers le réticulum sarcoplasmique (KUSHMERICK *et al.*, 1969 ; HOMSHER *et al.*, 1972).

Trois types d'expériences appuient ce point de vue :

1° Solutions hypertoniques.

Un muscle sartorius de grenouille ne se contracte plus en solution hypertonique, ou très lentement (HOWARTH, 1958), quoiqu'il produise encore de la chaleur (HILL, 1958 *b*) : 1 mcal/g et par secousse. Dans ces conditions les muscles consomment en moyenne 0,12 μmole de PC/g par excitation, si leur glycolyse est bloquée par l'acide mono-iodoacétique (DAEMERS-LAMBERT, DEBRUN, DETHIER et MANIL, 1966), ce qui donne une enthalpie d'hydrolyse $\Delta H'_{\text{PC}}$ de 8,3 kcal/mole, proche de celle évaluée par CARLSON *et al.* (1963, 1967) et WILKIE (1968). Si la réaction de Lohmann (réaction 6) est bloquée par le fluorodinitrobenzène, la consommation d'ATP n'est que de 0,6 μmole /g pour 20 excitations (DAEMERS *et al.*, 1966), tandis que selon KUSHMERICK *et al.* (1969) il n'y a pratiquement pas d'hydrolyse d'ATP. Comme on ne sait pas, faute de l'avoir mesuré, si la chaleur d'activation persiste dans un muscle intoxiqué au fluorodinitrobenzène, on ne peut pas interpréter ces derniers résultats.

2° Contractions à très courtes longueurs.

Un muscle très raccourci (environ à 60 % de sa longueur normale moyenne) ne développe plus de force lorsqu'il est stimulé, et il ne se raccourcit plus davantage. Sa production de chaleur est alors fortement diminuée, moins de la moitié de la chaleur produite par une secousse isométrique à longueur normale (HILL, 1949). Dans des muscles traités au fluorodinitrobenzène, l'ATP hydrolysé est alors de 0,05 μmole /g par secousse (DAVIES *et al.*, 1967 ; KUSHMERICK *et al.*, 1971). Cette façon d'évaluer le métabolisme d'activation prête le flanc à de graves objections. La raison pour laquelle un muscle très raccourci ne donne plus de force n'est pas très claire. On peut penser que c'est parce que la force active engendrée par l'interaction entre les filaments de myosine et d'actine diminue lorsque ceux-ci sont profondément engrenés, mais il semble plus probable qu'aux courtes longueurs il apparaît des forces qui s'opposent à la force active (GORDON *et al.*, 1966). Cette hypothèse a été proposée d'abord par AUBERT (1956 *a*) qui suppose que « les éléments contractiles travaillant contre une force interne résistante dissipe une puissance égale à la production de chaleur à très courte longueur ». Mais il se peut aussi que le muscle ne soit plus entièrement activé à ces courtes longueurs. TAYLOR et RÜDEL (1970) ont

montré que les myofibrilles voisines de la membrane se contractent sous l'influence d'un stimulus, mais que celles situées en profondeur restent inactives. Il semble donc illusoire de vouloir estimer le métabolisme de la pompe à calcium sarcoplasmique à partir du métabolisme mesuré dans ces conditions, comme le tentent KUSHMERICK *et al.* (1971).

3° Contractions à très grandes longueurs.

Si l'on étire un muscle au delà de la longueur normale, la force de la secousse diminue progressivement, jusqu'au point où le muscle ne manifeste plus aucune force en réponse à la stimulation. Il est naturel de penser que la force engendrée par le muscle dépend du degré d'engrènement entre les filaments d'actine et de myosine, c'est-à-dire de leur surface de contact. Or, l'étirement du muscle diminue cette région d'interaction. On s'attend à ce qu'un muscle étiré au point où les deux réseaux de filaments sont complètement désengrenés, ne puisse plus développer de force (GORDON *et al.*, 1966). Il est aussi clair qu'en ce point myosine et actine sont physiquement incapables de réagir l'une sur l'autre : la machinerie contractile est donc en quelque sorte « désamorcée ». Tout métabolisme résiduel pourrait donc être attribué à des réactions de contrôle de la contraction. Effectivement HILL (1950 *b*) a observé qu'un muscle étiré de la sorte produit encore de la chaleur après une stimulation, qui cependant ne provoque pas de riposte mécanique perceptible. SMITH (1972) a précisé que la production de chaleur durant une secousse décroît linéairement avec la force produite par le muscle. Si P_{ot} est la force maximale produite par une secousse, et P est la force d'une secousse d'un muscle étiré, la chaleur produite, H , est :

$$H = A + M.P/P_{ot} \quad (14)$$

A égale 26 % de la chaleur H_0 produite par la secousse à longueur optimale, c'est-à-dire environ 0,6 mcal/g. Le coefficient M égale à peu près 2 mcal/g ; il varie légèrement avec la saison. HOMSHER *et al.* (1972) ont confirmé ces résultats, mais, en outre, ils ont mesuré l'hydrolyse de la phosphorylcréatine en 30 secousses à longueurs variables de muscles à glycolyse bloquée par l'iodoacétate. La quantité de PC hydrolysée dépend de la force de la secousse, selon une loi semblable à l'équation (14). Le rapport de la chaleur H produite à la PC hydrolysée est de 10 kcal/mole, d'où la conclusion que le métabolisme d'activation est « payé » par une hydrolyse de PC. Cependant, si les muscles sont traités au fluorodinitrobenzène, le rapport de la chaleur produite à l'ATP hydrolysée est lui aussi de 9,9 kcal/mole, ce qui démontre que l'utilisation de la PC dans le muscle normal n'est que secondaire à celle de l'ATP.

D) LA CHALEUR DE RACCOURCISSEMENT.

Un muscle qui se raccourcit produit un supplément de chaleur qui est proportionnel à l'étendue du raccourcissement (HILL, 1938). Très visible pendant un téta-nos (cf. fig. 5), le phénomène s'observe aussi pendant la secousse (HILL, 1949). Le

coefficient de proportionnalité égale à peu près le quart de la force isométrique maximale (HILL, 1938), mais il varie quelque peu d'après la force qui est maintenue durant le raccourcissement (HILL, 1964 a).

On ignore encore si une hydrolyse de PC ou d'ATP correspond à cette chaleur de raccourcissement (MOMMAERTS *et al.*, 1962 ; CARLSON *et al.*, 1963 ; DAVIES *et al.*, 1967 ; KUSHMERICK *et al.*, 1969 ; consulter aussi MOMMAERTS, 1969 et WOLEDGE, 1971 pour une discussion approfondie). Nous reprendrons ce problème plus loin, lorsque nous étudierons l'énergétique des tétanos.

E) CONCLUSIONS.

Il ressort de cette discussion que le métabolisme durant une secousse comporte au moins les postes métaboliques suivants :

1° *Métabolisme d'activation* lié à la libération de Ca^{++} dans le sarcoplasme, et à son passage vers le réticulum sarcoplasmique lors (ou avant ?) le relâchement.

2° *Métabolisme du travail* : lié à la production de travail mécanique. La majeure partie de ce travail apparaît à l'extérieur du muscle (déplacement d'objet, etc.). Le reste est emmagasiné sous forme d'énergie élastique dans le muscle lui-même, dans ses tendons et les objets soumis à la force musculaire ; cette énergie se dégrade habituellement en chaleur durant le relâchement.

3° *Métabolisme de maintien* : lié à l'activité de l'actomyosine stimulée par le calcium sarcoplasmique. Les protéines contractiles hydrolysent l'ATP à une vitesse qui dépend des positions des filaments d'actine et de myosine du muscle, c'est-à-dire, en définitive, de sa longueur. Aux longueurs supérieures à la longueur optimale, ce poste diminue proportionnellement à la force du muscle.

4° *Le métabolisme du raccourcissement*, dont la signification reste encore incertaine.

5° *Le métabolisme du relâchement* : il s'agit surtout de la chaleur en provenance de l'énergie élastique emmagasinée dans le muscle au début de la secousse ; il n'est toutefois pas exclu qu'il y ait un métabolisme particulier (HILL, 1964 b).

Tous ces postes énergétiques sont associés à une hydrolyse de PC (ou d'ATP) avec une enthalpie d'environ 9 à 11 kcal/mole, à l'exception peut-être des postes 4 et 5. Ces faits sont en accord avec la théorie classique, et en précisent certains aspects (effet Fenn, répartition du métabolisme, etc...). Il persiste une grosse difficulté dont nous n'avons pas parlé, c'est qu'il existe une hydrolyse de PC *après* une activité contractile longue (LUNDSGAARD, 1934) ou courte (5 secousses, SPRONCK, 1965). Nous la discuterons dans le paragraphe suivant consacré aux bilans énergétiques durant le tétanos.

2. Le tétanos

Au début d'un tétanos isométrique, la force du muscle croît rapidement au début vers un plateau qui est maintenu pendant toute la durée du tétanos. Ce plateau est lisse, à condition que la fréquence des stimulus soit suffisamment élevée (ce qui sera

toujours le cas dans toutes les expériences qui seront décrites ici), mais il peut diminuer lentement. Si le téτανos se prolonge la force décroît progressivement. Cela est surtout marqué si la température du muscle est élevée ; ainsi, un muscle sartorius de grenouille maintient bien sa force à 0°C, faiblissant à peine de 0,9 % par seconde (MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1963). A 20°C cependant, la force diminue brusquement après 3 à 5 s de téτανos (MARÉCHAL et AUBERT, 1958 *b*). L'intoxication du muscle par l'iodoacétate ou par le fluorodinitrobenzène n'affecte guère cette fatigue, sauf pour les téτανos prolongés. Lorsque cessent les stimulus, le muscle se relâche et la force disparaît.

Pendant le téτανos, on peut modifier la longueur du muscle, grâce à un ergomètre. Si le muscle est raccourci, la force tombe à un niveau qui dépend de la vitesse du raccourcissement, suivant la loi hyperbolique de HILL (1938) et le muscle produit du travail mécanique. Si le muscle est étiré durant le téτανos, sa force augmente, et l'ergomètre exerce du travail mécanique sur le muscle (travail négatif).

On peut diviser l'énergétique du téτανos en trois postes : l'énergétique durant l'état stationnaire (métabolisme stable ou de maintien) ; l'énergétique durant les phases transitoires, mises sous tension et relâchement (extramétabolisme), et l'énergétique du travail mécanique, positif et négatif.

A) ÉNERGÉTIQUE DE L'ÉTAT STATIONNAIRE.

1° LA CHALEUR DE MAINTIEN.

Comme le nom l'indique, il s'agit de l'énergie dépensée par le muscle pour maintenir la force du muscle pendant la contraction. Pour l'évaluer, il faut stimuler le muscle à longueur constante. Après que la phase de développement de la force est terminée, le muscle continue à produire de la chaleur, aussi longtemps que la contraction se poursuit. Cette production de chaleur n'est toutefois pas simple : au début du téτανos, quoique la force reste constante la production de chaleur décroît exponentiellement vers un niveau qui se maintiendra autant que la contraction. Il faut donc distinguer une production de chaleur variable, $h_A e^{-\alpha t}$, ou chaleur de maintien labile, et une production de chaleur constante, la chaleur de maintien stable, h_B . La production de chaleur totale, h , égale donc (AUBERT, 1956 *a*).

$$h = h_A e^{-\alpha t} + h_B \quad (15)$$

La *chaleur de maintien stable*, h_B est toujours strictement proportionnelle à la force du muscle. Si le téτανos est prolongé, et que par fatigue la force musculaire décroît, la chaleur de maintien décroît proportionnellement (AUBERT, 1956 *a* ; MARÉCHAL et AUBERT, 1958 *a*). Si le téτανos est interrompu par un intervalle variable, la chaleur de maintien reste proportionnelle à la force développée. La constante de proportionnalité ne change pas dans le cas d'un sartorius de grenouille stimulé à 0° (AUBERT et MARÉCHAL, 1963) mais elle diminue si le muscle est téтанisé plusieurs fois à 20°C (MARÉCHAL et AUBERT, 1958 *a*). L'intoxication par l'iodoacétate n'affecte pas la chaleur de maintien à 0° (FISHER, 1930 ; AUBERT, 1956 *a*), mais peut diminuer

la production de chaleur durant un long tétanos à 20°C (MARÉCHAL et LEBACQ, 1972). L'intoxication au fluorodinitrobenzène (AUBERT, 1964) la diminue.

La chaleur de maintien dépend de la longueur du muscle : elle est maximale à la longueur où la force développée est maximale. Si le muscle est amené à une longueur supérieure, la production de chaleur décroît quasi au prorata de la longueur (AUBERT, 1956 a) ; aux très grandes longueurs, il persiste une production de chaleur, qui est l'homologue pour le tétanos de la chaleur d'activation de la secousse (SMITH, 1972 ; HOMSHER *et al.*, 1972) ; cette chaleur d'activation du tétanos égalerait 27 % de la chaleur de maintien optimale.

Si le muscle est tétanisé isométriquement à une longueur inférieure à la longueur optimale, la production de chaleur h_B décroît linéairement avec la force maintenue ; à très courte longueur, le débit de chaleur est réduit à la moitié environ du débit maximal, alors que la force isométrique est nulle (AUBERT, 1956 a).

Selon AUBERT (1956 a) la chaleur de maintien labile, $h_A e^{-\alpha t}$, varie avec la longueur d'une manière très intéressante : aux grandes longueurs elle ne change guère, et est indépendante (ou quasi) de la force isométrique (confirmé par HOMSHER *et al.*, 1972) ; aux courtes longueurs elle varie proportionnellement à h_B . La fréquence des excitants n'influence guère h_A ou α ; une alcalinisation du Ringer du pH 7.3 au pH 7.8 augmente un peu α , mais la quantité totale de chaleur labile (h_A/α) n'est pas changée ; l'intoxication par l'iodoacétate ou le fluorodinitrobenzène (AUBERT, 1964) reste aussi sans effet. Le $Q_{10} h_A$ est d'environ 4 à 5 et, comme il est le même que celui de h_B , le rapport h_A/h_B reste voisin de 1 de 0 à 100 ; la quantité globale de chaleur de maintien labile h_A/α a cependant le même Q_{10} que la tension soit 1,6. Enfin h_A est très fatigable, au contraire de h_B : le rapport h_A/h_B de 1,2 à un premier tétanos, tombe à 0,5 dans un deuxième tétanos qui suit le premier à un intervalle de 5 à 10 s ; il n'atteint encore que 0,8, si l'intervalle entre les tétanos est de 2 mn, la récupération complète de h_A dure 15 mn, à 0° (AUBERT et MARÉCHAL, 1963 ; AUBERT, 1968). Le remplacement du chlorure du Ringer par de l'iodure augmente à la fois h_A et α (GODFRAIND-DE BECKER, 1965). Ce fait est significatif, car l'iodure est un potentiateur de la secousse ; ces ions agissent probablement au niveau des canalicules T, en abaissant le seuil du couplage électro-mécanique (HODGKIN et HOROWICZ, 1960) ; l'effet potentiateur serait obtenu par une augmentation de la quantité d'ions Ca^{++} libérés dans le sarcoplasme par le potentiel d'action (SANDOW et PREISER, 1964). La chaleur labile de maintien n'existe pas chez certains muscles : *rectus femoris* de tortue (WOLEDGE, 1968) ; *latissimus dorsi* de poulet (CANFIELD, 1971).

La signification de la chaleur de maintien a en fait été déjà clairement appréhendée par AUBERT (1956 a). Comme il l'affirme, elle est surtout claire pour les grandes longueurs car dans ce cas, le taux de production de chaleur h est de la forme :

$$h = h_A e^{-\alpha t} + h_B \frac{P}{P_0} \quad (16)$$

D'après AUBERT (1956 a), h_B trahirait l'activité ATP asique des myofibrilles, siège de micro-cycles de contraction et de relâchement ; $h_A e^{-\alpha t}$ pourrait correspondre à

la chaleur d'activation. Un peu plus tard (AUBERT et GODFRAIND, 1965), il spécifie que « la chaleur labile pourrait avoir une origine complexe : libération et mouvement de calcium ionisé, et aussi utilisation des nucléotides liés aux protéines musculaires ». Il est frappant en tout cas de constater que la forme de l'équation 16 se rapproche fort de celle de l'équation (14). Cependant, si h_B est à peu près équivalent à M du point de vue quantitatif, $h_A e^{-\alpha t}$ est beaucoup plus grand que A . Ceci suggère que $h_A e^{-\alpha t}$ pourrait avoir la nature d'une chaleur d'activation, mais modifiée. Chaque potentiel d'action consécutif de la volée téтанisante libérerait dans le sarcoplasme une quantité décroissante de calcium ionisé et, en même temps, inhiberait la pompe à calcium. L'inhibition progressive de la pompe à calcium expliquerait la disparition progressive de h_A , bien que le muscle reste en téтанos. Après le dernier stimulus, l'inhibition de la pompe se dissiperait en quelques centièmes de seconde, ce qui expliquerait pourquoi le relâchement téтанique survient avec un léger retard ; cette hypothèse rendrait aussi compte du fait que le relâchement est d'autant plus rapide que $h_A e^{-\alpha t}$ était plus élevé au moment de l'arrêt du téтанos (ABBOTT, 1950). Mais elle n'est pas encore suffisante car le muscle se relâche encore, après quelques secondes de téтанos, alors que $h_A e^{-\alpha t}$ a disparu. Ceci implique que la pompe à calcium est active de manière *continue* pendant toute la durée du téтанos, comme l'ont suggéré SANDBERG et CARLSON (1966) et WOLEDGE (1971) ou peut-être qu'elle est réactivée un certain temps après le dernier stimulus. Il n'existe aucun argument direct en faveur de l'une ou l'autre hypothèse. Mais il semble qu'une partie (environ 25 %) de la chaleur maintien stable persiste même quand le muscle est étiré au point où les protéines contractiles sont désengrenées (SANDBERG et CARLSON, 1966 ; HOMSHER *et al.*, 1972 ; SMITH, 1972), encore que INFANTE *et al.* (1964) trouvent que l'hydrolyse de PC tombe pratiquement à zéro. La formulation d'AUBERT (eq. 16) serait donc incorrecte, il faudrait la modifier en fragmentant h_B : une partie serait de fait proportionnelle à P/P_0 , mais une autre serait indépendante de la force du muscle, et aussi de sa longueur. Cette fraction h'_B résulterait de l'activité continue de la pompe à calcium.

Pour résumer, on peut penser que le métabolisme de maintien comporte deux fractions. La première est liée à l'activité ATPasique de l'actomyosine : elle est proportionnelle à la force du muscle (avec une complication du côté des longueurs courtes du muscle, où une partie importante de la force doit être utilisée pour maintenir la déformation d'un muscle exagérément raccourci). La deuxième est liée à l'activité de la pompe à calcium : très élevée au début du téтанos, cette activité diminue exponentiellement vers un niveau où la dépense d'énergie qui lui est liée atteint à peu près le tiers de la puissance dépensée par les protéines contractiles. Soulignons que ces hypothèses, tout attrayantes qu'elles soient, ne sont basées que sur des arguments somme toute fort indirects.

2° LE MÉTABOLISME STABLE.

MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) et MARÉCHAL (1964) ont appelé « métabolisme stable » les réactions chimiques associées à la production de chaleur de main-

tien h_B . Ils le mesurent en comparant des tétanos isométriques, de façon à exclure le métabolisme lié à la mise sous tension, à la chaleur de maintien labile et au relâchement. Par exemple, des muscles sont stimulés à 0°C par un seul tétanos d'une durée variant de 3 à 60 s, et sont congelés après le relâchement. La phosphorylcréatine de ces muscles diminue linéairement avec la durée du tétanos (MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1962 ; MARÉCHAL, 1964 c ; GILBERT *et al.*, 1971). A 20°C, la chute de la PC est plus rapide et décroît exponentiellement à cause de la chute rapide de la force (CANFIELD et MARÉCHAL, 1972). La vitesse de l'hydrolyse de PC n'a été mesurée dans ces conditions que dans peu de travaux. Elle est de 0,3 micromole par gramme et par seconde pour des sartorius de *Rana pipiens* (MARÉCHAL et MOMMAERTS, 1962), de 0,5 micromole par gramme de muscle et par seconde pour des sartorius de *Rana temporaria* (MARÉCHAL, 1964) et de 0,45 micromole par gramme et par seconde chez le gastrocnémien de *Rana temporaria* (CERRETELLI *et al.*, comm. person.). Corrélativement, d'ailleurs h_B est un peu plus faible chez *Rana temporaria* que chez *Rana pipiens* (HOMSHER *et al.*, 1972). L'enthalpie d'hydrolyse est de l'ordre de 8 kcal/mole à 0°C (MARÉCHAL, 1964) et 8,8 kcal/mole à 20°C (CANFIELD *et al.*, 1972). En comparant la production de chaleur de l'hydrolyse de PC de soleus isolé de souris, SPANDE et SCHOTTELIUS (1970) évaluent $\Delta H'_{PC}$ à 8,5 kcal/mole. Ces valeurs sont proches de l'enthalpie d'hydrolyse de la PC *in vitro*. D'autres auteurs trouvent une enthalpie d'hydrolyse plus élevée, de 11 kcal/mole (CARLSON *et al.*, 1967 ; WILKIE, 1968). En étudiant le muscle de tortue (*biceps cruris*) WALSH et WOLEDGE (1970) trouvent une enthalpie $\Delta H'_{PC}$ de 13,2 kcal/mole. A courte longueur, la vitesse d'hydrolyse de la PC diminue de moitié (MARÉCHAL, 1964) ou des deux tiers (SANDBERG et CARLSON, 1966) en bon accord avec la diminution de h_B aux courtes longueurs.

Signalons enfin la propriété remarquable que le métabolisme stable ne dépend pas des interruptions qui peuvent « découper » l'activité tétanique. Aussi, si le muscle est stimulé par deux tétanos, de façon que la durée totale de tétanisation croisse de 4 à 30 s (à 0°), la relation PC-durée à la même pente que si les muscles avaient été stimulés par un seul tétanos, mais les deux droites sont décalées. On peut refaire ces expériences en donnant 4 ou 6 ou n tétanos : on observe que la pente des relations PC-durée de tétanos restent toujours égales, mais les écarts entre les droites sont proportionnels aux différences des nombres n de tétanos (MARÉCHAL, 1964). Cette différence introduit le concept suivant, l'extramétabolisme.

Toutes les expériences précédentes ont été faites sur des muscles intoxiqués à l'iodoacétate, pour bloquer la glycolyse. Si les muscles sont intoxiqués au fluoro-dinitrobenzène, on constate qu'ils peuvent se contracter dix à vingt secondes à 0°. A première vue cela paraît contradictoire avec le mécanisme d'action de ce poison. Car si le muscle ne peut utiliser que son ATP (la PC est hors circuit, car la réaction de Lohmann est bloquée, cf. réaction 6), on calcule facilement qu'un stock d'ATP d'environ 3 micromoles/g sera épuisé totalement en 5 s s'il est utilisé à la vitesse normale de 0,5 à 0,3 micromole/g/s. L'explication est que ces muscles hydrolysent l'ATP à une vitesse 50 à 70 % inférieure à celle des muscles contrôles (MARÉCHAL et BECKERS-BLEUKX, 1966) ; rappelons que ce poison déprime aussi h_B .

En conclusion de toutes ces expériences, on peut affirmer qu'à la production de chaleur de maintien h_B correspond une hydrolyse de phosphorylcréatine, avec une enthalpie de -9 à -13 kcal/mole.

Cette situation satisfaisante confirme donc la théorie classique. Il subsiste bien une difficulté : la variabilité des enthalpies d'hydrolyse de PC rapportées par les différents expérimentateurs, qui pousse WOLEGDE (1971) à mettre en doute le schéma classique. Mais il faut bien dire que ce n'est pas un argument suffisant pour ébranler la théorie classique. De petits ajustements des chaleurs de neutralisation des mélanges tampons peuvent peut-être rendre compte de cette variabilité. Il en va tout autre-

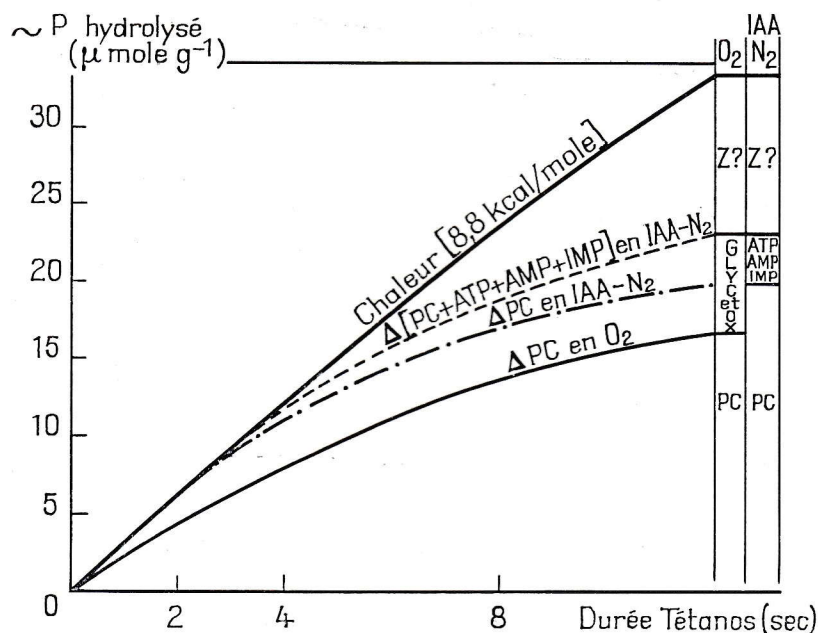


FIG. 4. — Bilans énergétiques durant un tétanos isométrique (sartorius de grenouille, 20°C). L'énergie est exprimée en « équivalent de liaisons phosphates à haute énergie ». On donne de bas en haut, successivement : 1° la quantité de phosphorylcréatine hydrolysée par des muscles en oxygène ; 2° la quantité de PC hydrolysée par des muscles en azote, à glycolyse bloquée par l'iodoacétate (IAA) ; 3° la quantité 2, augmentée de l'ATP hydrolysé par ces muscles, corrigée pour l'intervention de la myokinase et de l'AMP-déaminase ; 4° la chaleur produite par ces muscles : elle est réduite en « équivalent $\sim P$ » en admettant que l'enthalpie d'hydrolyse des $\sim P$ égale 8,8 kcal/mole ; cette chaleur n'est pas influencée par le traitement subi par le muscle (O₂-IAA/N₂). Toutes les courbes devraient coïncider, si les balances énergétiques étaient équilibrées (d'après CANFIELD, LEBACQ et MARÉCHAL, 1971).

ment d'une expérience de bilan énergétique obtenue par CANFIELD *et al.* (1971, 1972) : là le désaccord avec la théorie classique est tel, qu'on ne peut échapper au problème posé. Nous allons maintenant étudier cette expérience. Des muscles sartorius de grenouille sont stimulés tétaniquement à 20°C par un seul tétanos isométrique de 0,5 à 12 s. P. CANFIELD a estimé les changements en phosphorylcréatine, créatine, nucléotides adényliques et inosine monophosphate. Simultanément, dans

des expériences parallèles, la production de chaleur fut mesurée par J. LEBACQ. La fig. 4 résume les résultats. La production de chaleur y est représentée en fonction de la durée du tétanos ; elle est exprimée en équivalent de liaison phosphate riche en énergie, avec une enthalpie d'hydrolyse de 8,8 kcal/mole ($m_{PC} = Q/8,8$). Un premier groupe de muscles est stimulé en oxygène, un deuxième groupe de muscles est stimulé en azote, après intoxication préalable à l'iodoacétate pour bloquer la glycolyse. Les muscles en oxygène hydrolysent de la phosphorylcréatine, suivant la courbe marquée (ΔPC en O_2) ; les nucléotides ne changent pas. On observe un écart important et croissant avec la durée du tétanos entre la PC hydrolysée et la production de chaleur : les deux courbes devraient coïncider si toute la chaleur était fournie par l'hydrolyse de la PC, avec une enthalpie d'hydrolyse de 8,8 kcal/mole. Dans les muscles intoxiqués à l'iodoacétate la chaleur produite est la même que celle produite par le muscle normal mais l'hydrolyse de la PC est plus rapide, et il survient en même temps une hydrolyse d'ATP, ainsi que des variations d'ADP, d'AMP et d'IMP. La courbe $\Delta (PC + ATP + AMP + IMP)$ représente la somme totale des liaisons phosphates à haute énergie hydrolysée dans ces conditions. On voit que cette courbe est plus proche de la courbe de production de chaleur que celle qui décrit l'évolution temporelle de l'hydrolyse de la phosphorylcréatine du muscle normal. Mais il subsiste un déficit important : il y a certainement trop de chaleur produite par rapport au métabolisme de la phosphorylcréatine et des nucléotides. Au côté droit de la figure, on voit un essai de fractionnement du métabolisme tétanique en trois postes : une hydrolyse de PC ; une « restauration », formée de réactions susceptibles de resynthétiser de l'ATP par des chemins situés en-dehors de la réaction de Lohmann, c'est-à-dire la glycolyse et les oxydations (cas du muscle normal) ou les réactions myokinase et AMP-déaminase (cas du muscle intoxiqué à l'iodoacétate). Enfin, il y aurait un processus Z responsable d'une fraction importante de la production de chaleur, surtout pour les tétanos plus longs que 4 secondes. La nature de Z est inconnue, mais il semble bien que les réactions ne sont pas des réactions de la glycolyse ou des oxydations (CANFIELD *et al.*, 1971). Pour les tétanos de moins de 4 secondes, la production de chaleur est entièrement explicable par l'hydrolyse de phosphorylcréatine, dans le cas des muscles intoxiqués à l'iodoacétate. Dans le cas de ceux en oxygène, il est probable (mais non encore prouvé) que la glycolyse et/ou les oxydations contribuent à la production de chaleur, de sorte que là aussi le bilan énergétique est équilibré. A ce point de vue, les tétanos courts à 20° sont donc semblables aux tétanos (même plus longs) à 0°.

B) ÉNERGÉTIQUE DES PHASES TRANSITOIRES : L'EXTRAMÉTABOLISME.

L'extramétabolisme est une fraction de l'énergie dépensée par le muscle en contraction isométrique : celle qui est proportionnelle au nombre de tétanos et qui ne dépend que peu de la durée des contractions. Ce concept a été introduit par MARÉCHAL et MOMMAERTS (1962) et étudié plus profondément par MARÉCHAL (1964). Il repose sur l'observation déjà signalée plus haut, que nous reprendrons plus en détail

ici. Si un muscle est stimulé pendant une durée D , la quantité totale de PC hydrolysée est ΔPC ; comme nous l'avons déjà décrit, ΔPC est une fonction linéaire de D . Si nous découpons le tétanos unique de durée D en plusieurs tétanos plus courts de durée d , tel que $nd = D$, on observe que la quantité de PC hydrolysée augmente avec le nombre n de tétanos, la relation étant aussi linéaire (pour autant que $d > 2$ s à 0°). De ces faits, on peut tirer une équation générale, qui décrit la quantité de phosphorylcréatine hydrolysée, ΔPC , en fonction de la durée totale D de stimulation, et du nombre n des tétanos consécutifs :

$$\Delta PC = n.M_{EX} + D.M_s \quad (17)$$

M_{EX} est l'extramétabolisme, égal à 0,78 micromole PC/g et M_s est le métabolisme stable, égal à 0,5 micromole par gramme et par seconde (cas du sartorius de *Rana temporaria*, $0^\circ C$, intervalle entre les tétanos 30 s, MARÉCHAL, 1964). Le gastrocnémien de grenouille donnerait des résultats analogues (CERRETELLI et AMBROSOLI, communication personnelle). Les données d'autres auteurs peuvent s'analyser dans le cadre de cette hypothèse, comme dans les expériences de KUSHMERICK et DAVIES (1969), quoique les auteurs fassent une analyse toute différente.

L'extramétabolisme est l'énergie dépensée au début, à la fin et, éventuellement entre les tétanos. C'est en quelque sorte l'énergie que le muscle doit dépenser pour démarrer ou s'arrêter. Cette énergie doit être fournie *en sus* de l'énergie nécessaire au maintien de la contraction isométrique. Les composantes qui s'additionnent pour former l'extramétabolisme sont assez nombreuses, et toutes ne sont peut-être pas identifiées. Prenons comme exemple un sartorius de grenouille tétanisé à $0^\circ C$, où $M_{EX} = 0,78$ micromole PC/g. Si l'on admet que l'hydrolyse de la PC a une enthalpie de 9 kcal/mole, l'énergie équivalente de M_{EX} est de 7 mcal/g. Cette énergie est répartie entre les postes suivants (MARÉCHAL, 1964) :

1° travail effectué par le muscle pour étirer le dynamomètre (0,4 mcal/g) et les tendons et autres éléments élastiques en série avec la machinerie contractile (0,3 mcal/g). Ce travail élastique est dissipé en chaleur pendant le relâchement, mais doit être « payé » par une hydrolyse de PC, comme l'est le travail mécanique qui est fait en conditions isotoniques (cf. équation 3 et 12) ;

2° la chaleur de raccourcissement, évaluée à 0,2 mcal/g ;

3° la chaleur résiduelle de maintien, libérée après le dernier stimulus, pendant le relâchement. D'après HILL (1964 *b*) elle serait de 1,8 mcal/g ;

4° la chaleur labile de maintien et la chaleur d'activation, au début du tétanos. D'après les résultats de HILL et WOLEDGE (1962) on peut l'évaluer à 4,5 mcal/g.

Le grand total de ces postes s'élève à 7,2 mcal/g. Ces postes paraissent donc rendre compte, dans l'ensemble, d'un extramétabolisme de 7 mcal/g. Remarquons aussi que cette analyse est compatible avec l'idée que toute l'énergie dégagée par le muscle ($Q + W$) provient d'une hydrolyse de PC (avec $\Delta H_{PC}^\circ = -9$ kcal/mole). Cependant, on peut lui opposer plusieurs objections.

On peut sans doute admettre que le poste 1 est couvert par une hydrolyse de PC,

puisque la production de travail mécanique le requiert (cf. éq. 3 et 12). Il est déjà moins certain que le poste 2 exige une hydrolyse de PC. Ce point est discuté plus loin. De toute façon ce poste est faible, et s'il faut le négliger, cela ne changera guère les conclusions. Le poste 3 est aussi douteux, certainement quant à sa grandeur absolue. Rappelons aussi que MOMMAERTS et WALLNER (1967) ne trouvent pas d'ATP hydrolysé pendant le relâchement, mais il s'agit d'une secousse. D'après GILBERT *et al.* (1971), la thermogénèse durant le relâchement serait près de deux fois plus grande que celle trouvée par HILL (1964 *b*) et dans ce cas l'estimation de la chaleur résiduelle de maintien durant le relâchement augmenterait de 1,8 mcal/g à 3,2 mcal/g. Le poste 3 rendrait donc compte de la moitié de M_{EX} .

Quant au poste 4 il mérite une discussion particulière. Sans doute les arguments déjà exposés indiqueraient que la chaleur labile de maintien trahirait l'activité de la pompe à calcium ; il est alors tout à fait raisonnable de postuler qu'il doit lui correspondre une hydrolyse de PC. MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) croyaient qu'il y a trop peu de PC hydrolysée pour rendre compte de la chaleur de maintien labile, jusqu'au moment où il fut montré que cette chaleur est très fatigable (AUBERT et MARÉCHAL, 1963). En effet lorsqu'on répète un tétanos, la chaleur labile diminue très fort : ceci jette un doute sérieux sur la grandeur de ce poste dans le terme nM_{EX} de l'équation 17. Dans les expériences tenant compte de cette fatigabilité, MARÉCHAL (1964) n'avait pas pu démontrer une hydrolyse correspondante de PC. Plus tard MARÉCHAL et BECKERS-BLEUKX (1967) ainsi que MARÉCHAL et AUBERT (1968) croient avoir démontré que de l'ATP correspondant à la chaleur labile est hydrolysé dans des muscles intoxiqués au fluorodinitrobenzène.

Récemment, GILBERT *et al.* (1971) ont grandement amélioré la résolution temporelle des méthodes chimiques, en accroissant la vitesse de congélation du muscle : ils l'écrasent entre des marteaux refroidis à l'azote liquide (au lieu de les congeler par immersion dans un liquide réfrigéré). Ils trouvent que la quantité de PC hydrolysée pendant les 2-3 premières secondes du tétanos est trop faible au regard de la chaleur dégagée à ce moment-là. Le déficit est de l'ordre de 10 mcal/g. Ce fait indique que la chaleur labile de maintien n'est pas couverte par une hydrolyse *concomitante* de PC, ni même d'ailleurs, une bonne partie du métabolisme au début du tétanos. Comme, par ailleurs, la chaleur de maintien labile paraît bien constituer un poste important de M_{EX} , il faut en conclure que le processus qui en est responsable est renversé plus tard, après le tétanos, par une hydrolyse de phosphorylcréatine (GILBERT *et al.*, 1971). On en arriverait donc à cette conception, qu'il pourrait exister ce qu'on pourrait appeler une dette de phosphorylcréatine.

La possibilité d'une telle dette est renforcée par l'existence d'une hydrolyse de PC *après* le tétanos. Déjà signalée par LUNDGAARD (1934), elle a été retrouvée par SPRONCK (1965) : pendant la minute qui suit cinq secousses, il observe une hydrolyse d'environ 0,8 micromole PC/g, dont la moitié est justifiée par une phosphorylation d'hexosemonophosphate en hexosediphosphate. En rapport direct avec ce fait, un de ses élèves (Van der HEYDEN, 1970) a observé qu'après deux secousses de la série il n'y a que 0,14 micromole de PC hydrolysée alors que d'après CARLSON et SIGER (1960) on s'attendrait à une hydrolyse de $2 \times 0,29 = 0,58$ μ moles PC/g.

Immédiatement après la cinquième secousse (les secousses sont à intervalles de 2 s) on trouve à peine une hydrolyse de $1,08 \mu\text{mole}$ ce qui est aussi inférieur à l'hydrolyse mesurée à partir des données de CARLSON et SIGER (1960) qui devrait s'élever à $1,35 \mu\text{mole/g/s}$ (SPRONCK, 1970). Ces faits suggèrent qu'une dette de PC s'établit au début de la série de 5 secousses. On peut d'ailleurs rappeler à ce propos deux recherches où aucune hydrolyse de PC n'est trouvée après une (ou quelques) contractions de courte durée (CARLSON et SIGER, 1960 ; MOMMAERTS *et al.*, 1962). Après un tétanos de 5 s (sartorius de grenouille à 0°) SPRONCK (communication personnelle) a pu détecter une hydrolyse post-contractile de PC s'élevant à $0,6 \mu\text{moles/g}$, cette PC est resynthétisée 4 mn plus tard. De plus la resynthèse de PC est plus lente après un tétanos qu'après une série de 5 secousses (SPRONCK, communication personnelle) : cela paraît indiquer que « autre chose » que la PC doit être restaurée après le tétanos.

Si le recouvrement est inhibé par l'iodoacétate- N_2 , l'hydrolyse post-contractile de PC se retrouve régulièrement, mais si le recouvrement est permis, la situation est moins claire : dans certaines circonstances il y a une hydrolyse post-contractile, dans d'autres, il n'y en a pas (SPRONCK, 1970). GILBERT *et al.* (1971) citent aussi des expériences tendant à démontrer qu'il y a une hydrolyse post-contractile après un tétanos si le muscle est intoxiqué à l'iodoacétate- N_2 , mais qu'en oxygène il y a seulement une resynthèse de PC. MARÉCHAL et MOMMAERTS (1963) n'ont pas observé de changement du taux de PC pendant 1 à 1000 secondes après un tétanos ; il s'agissait cependant de muscles intoxiqués à l'iodoacétate.

Si l'existence d'une telle « dette » de PC est encore bien hypothétique, la nature du processus en cause l'est bien plus encore. Il ne peut s'agir d'une hydrolyse d'ATP, puisque la concentration en ATP augmente plutôt (GILBERT *et al.*, 1971). On signale parfois une augmentation du phosphate inorganique (FLECKENSTEIN *et al.*, 1954 ; DAVIES *et al.*, 1959 ; MOMMAERTS, 1961 ; GILBERT *et al.*, 1969, 1971) mais ces affirmations ont été rétractées par certains auteurs (DELLUVA *et al.*, 1968 ; GILBERT *et al.*, 1971). Déjà DISTÈCHE en 1960, se demandait s'il n'y a pas une déphosphorylation des protéines contractiles au début de la contraction, ce qui expliquerait la phase *b* acide qu'il avait observée à ce moment. Mais DELLUVA *et al.* (1968) repoussent une telle interprétation. La situation en ce point reste encore confuse.

C) ÉNERGÉTIQUE DU TRAVAIL : L'EFFET FENN.

1° LE TRAVAIL POSITIF.

a) Description de l'effet Fenn.

Jusqu'à présent nous n'avons considéré que des tétanos isométriques, où le seul travail fourni par le muscle est le travail exercé pour étirer les éléments élastiques en série entre le muscle et le dynamomètre. Lorsqu'un muscle se raccourcit en soulevant une charge, il produit un travail mécanique W , qu'il est très facile de mesurer. Pendant ce raccourcissement, il produit aussi de la chaleur. D'après FENN (1923) le muscle augmente sa production d'énergie pendant le raccourcissement.

L'expérience de la figure 5 illustre cet effet. Il s'agit d'une expérience réalisée par X. AUBERT en 1951. Un muscle sartorius de grenouille est stimulé isométriquement à la longueur de 31 mm pendant 10 s. La chaleur produite par le muscle est enregistrée au moyen d'une thermopile. Le débit moyen de la chaleur (en gcm/s) pen-

dant des intervalles de 1 s (au début et à la fin du tétnanos) ou de une demi-seconde (de la première à la 9^e seconde) est dénoté par une petite ligne horizontale. Ces intervalles d'analyse sont très grossiers, et noient les fins détails de l'évolution temporelle de la thermogénèse. Cependant on voit que la thermogénèse décroît (exponentiellement) vers un plateau stable. Le plateau stable est la chaleur de maintien h_B , tandis que la partie décroissante représente $h_A e^{-\alpha t}$ (dont la résolution temporelle exacte exige une analyse plus fine que celle présentée ici). Le début et la fin du tétnanos se signalent par une production de chaleur accrue. Le muscle est ensuite amené à la courte longueur de 24 mm, et est stimulé à nouveau pendant 10 secondes. Le

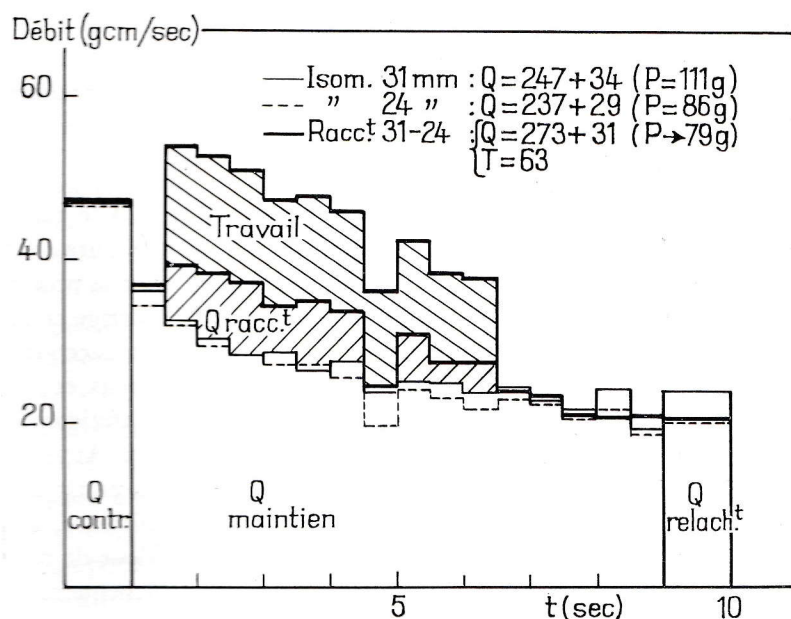


FIG. 5. — Effet « Fenn » durant un tétnanos (sartorius de grenouille, 0°C)
 (communiqué par X. AUBERT). Commentaires dans le texte.

débit de chaleur correspondant est tracé en pointillé : on voit qu'il est ici pratiquement le même qu'à la grande longueur. Les forces isométriques (non représentées) sont pratiquement les mêmes pour les deux tétnanos. On ramène le muscle à la grande longueur, et on le tétnanise une troisième fois ; mais, après 1,5 seconde, on le raccourcit à une vitesse constante jusqu'à la longueur d'arrivée de 24 mm, qui est atteinte à la sixième seconde et demie ; on continue à stimuler le muscle isométriquement à la courte longueur, jusqu'à la dixième seconde. Le débit de chaleur de ce troisième tétnanos (en traits appuyés) est très voisin du débit de chaleur des tétnanos isométriques longs ou courts, sauf durant le raccourcissement, où la production de chaleur est légèrement augmentée : c'est la chaleur de raccourcissement. Le supplément de chaleur est pratiquement le même à tous les moments ; sa grandeur totale est donc proportionnelle à l'étendue du raccourcissement.

Enfin, et ceci est sans doute le point le plus important, le muscle produit aussi du travail mécanique durant le raccourcissement. Ce travail (3^e tétanos) est pointé sur la figure 5. La hauteur totale des blocs est alors une mesure de l'énergie (travail + chaleur) dégagée par le muscle. On voit qu'elle augmente considérablement pendant le raccourcissement. Le point de référence dans cette expérience est clairement fourni par les tétanos isométriques à grande et à courte longueur. Durant le raccourcissement, on compare la chaleur à la chaleur isométrique des deux tétanos. Cette méthode revient à interpoler la chaleur de maintien durant le raccourcissement en fonction de la longueur. Or, si, comme nous l'avons défini, la chaleur de maintien dépend de la force, le niveau de référence durant le mouvement devrait être situé beaucoup plus bas que le niveau choisi ici, puisque la force durant un raccourcissement est inférieure à la force isométrique, que ce soit celle du tétanos court ou celle du tétanos long. Cette correction ne ferait donc qu'augmenter la chaleur de raccourcissement.

b) *La chaleur de raccourcissement.*

La production de chaleur du muscle s'élève légèrement durant le raccourcissement : ce phénomène est illustré à la figure 5. L'examen de cette figure suggère que la chaleur libérée pendant le relâchement n'est guère modifiée par la production de travail. Une analyse plus minutieuse (AUBERT et LEBACQ, 1971) corrige cette impression : en fait la chaleur de relâchement diminue un peu après un raccourcissement préalable, mais cet effet est à mettre en rapport avec un fait curieux et non encore expliqué. La force redéveloppée après le raccourcissement reste inférieure à la force isométrique correspondante à la longueur d'arrivée (ABBOTT et AUBERT, 1952 ; PLAGHKI et MARÉCHAL, 1972). Dès lors le relâchement se fait à partir d'une force isométrique inférieure à celle des tétanos isométriques de référence, et, comme HILL (1964) et AUBERT et LEBACQ (1971) le démontrent, la chaleur de relâchement est fonction de la force maintenue par le muscle durant le relâchement.

c) *Équivalent biochimique de l'effet Fenn.*

Cette longue discussion nous a permis de bien cerner le type d'analyse qui conduit à la démonstration de l'effet Fenn. Nous pouvons dès lors examiner critique-ment les travaux qui ont recherché les « équivalents » biochimiques.

Dans le travail de MOMMAERTS *et al.* (1963), un muscle d'une paire de sartorius de grenouille est gardé au repos, l'autre est stimulé par 12 tétanos de 0,4 s et peut se raccourcir plus ou moins suivant la charge qui lui est opposée (en « afterload »). La glycolyse est bloquée par l'iodo-acétate, et les oxydations empêchées en laissant les muscles en atmosphère d'azote humide. La différence de PC (ΔPC) entre les deux muscles est une fonction linéaire du type :

$$\Delta PC = B + b_s S + \frac{1}{C_w} W \quad (18)$$

où S est le raccourcissement, et W le travail fourni par le muscle. Le terme B est en fait le métabolisme pour $S=W=0$, c'est-à-dire celui du tétanos isométrique (au

travail élastique près) et il a déjà été étudié. Le terme C_w est défini page 23 A : c'est le coefficient mécano-chimique du travail ; et est ici égal à 9,1 kcal/mole. Le terme b_s égale 0,26 μ mole PC/g/contraction/cm de raccourcissement, c'est ce qu'on attendrait si la chaleur de raccourcissement était couverte par une hydrolyse de PC. Malheureusement, la dispersion statistique est très grande, et ce terme pourrait tout aussi bien être nul. Toutes les autres tentatives de démontrer un équivalent biochimique de la chaleur de raccourcissement, ont aussi échoué (CARLSON *et al.*, 1963 ; DAVIES *et al.*, 1967).

En toute rigueur, l'expérience de MOMMAERTS *et al.* (1963) prête le flanc à une critique : il n'y a pas de contrôle isométrique. Ce contrôle existe dans les expériences de MARÉCHAL (1964). Les muscles (sartorius de grenouille à 0°C) reçoivent six tétanos. Un muscle de la paire est téтанisé alternativement à une longueur dite longue, et à une autre plus courte de 5 mm. Les autres muscles de la paire sont téтанisés d'abord isométriquement à la grande longueur, puis ils sont raccourcis à une vitesse constante vers la petite longueur (expérience similaire à celle de la fig. 5). De cette manière les muscles contrôles sont stimulés un temps identique à celui des muscles qui travaillent ; leur longueur est en moyenne la même, et les forces ne sont pas très différentes sauf pendant la durée du raccourcissement. Le coefficient mécano-chimique du travail est ici d'environ 11 kcal/mole (cf. MARÉCHAL, 1964, tableau 19). Rappelons que dans le cas des secousses, C_w est aussi égal à 9,8 à 11 kcal/mole. Des résultats analogues ont été obtenus par WILKIE (1968).

KUSHMERICK et DAVIES (1969) ont tenté de déterminer le rendement de la conversion chimiomécanique en fonction de la vitesse de contraction. Après intoxication au fluorodinitrobenzène, le muscle (sartorius de grenouille) est congelé après un seul téтанos isotonique dont le mouvement est de très grande amplitude. La quantité d'ATP hydrolysé dépend, en effet, de la vitesse de la contraction, et, après une correction pour l'activité ATPasique de la pompe à calcium, ces auteurs trouvent que le rendement (travail fourni/quantité d'ATP) est de l'ordre de 10 kcal/mole.

Comme le ΔF de la réaction d'hydrolyse est justement de 10 kcal/mole, d'après KUSHMERICK, le rendement thermodynamique ($W/\Delta F$) est de 100 %. En fait, la démonstration de ces auteurs est loin d'être convaincante, parce que ils ne tiennent pas compte de ce que l'énergie dépensée durant le téтанos dépend aussi de la durée des téтанos et de la force maintenue.

En conclusion, le muscle en travail augmente sa production d'énergie : la somme $W + Q$ de l'équation des bilans thermodynamiques s'accroît, et, corrélativement, l'hydrolyse de PC (et d'ATP) augmente proportionnellement. Il n'y a donc pas de nouvelles sources d'énergie chimique mobilisées pour produire le travail, mais les réactions biochimiques déjà actives pendant la contraction isométrique s'accroissent pendant la production de travail.

Quant à la chaleur de raccourcissement, sa signification est encore obscure. Il ne s'agit sans doute pas d'un effet entropique, puisqu'il n'y correspond pas d'absorption de chaleur pendant le relâchement, mais peut-être d'une chaleur associée à l'hydrolyse de PC (MOMMAERTS, 1969 ; WOLEDGE, 1971).

2° LE TRAVAIL NÉGATIF ET LA RÉVERSIBILITÉ DE LA CONTRACTION.

Au lieu de raccourcir le muscle pendant le tétanos, comme l'illustre la figure 5, on peut aussi l'étirer. On observe alors une augmentation de la force ; si l'allongement continue, la force tend à se stabiliser à un niveau élevé qui dépasse de 20 à 50 % le niveau de la force isométrique. Dès que le mouvement s'arrête, la force du muscle retombe vers un niveau qui reste généralement supérieur à la force isométrique du muscle correspondant à la longueur d'arrivée du mouvement (ABBOTT et AUBERT, 1952) ; notons au passage que ce fait est le pendant de celui signalé à propos des raccourcissements : la force redéveloppée après le raccourcissement reste inférieure à la force développée par un tétanos isométrique à la longueur courte correspondante (PLAGHKI et MARÉCHAL, 1971, 1972).

Quand le muscle reçoit ainsi du travail mécanique de l'extérieur, l'énergie totale qui sort du muscle *diminue*. Déjà en 1924 FENN avait observé que la production de chaleur augmentait mais que cette augmentation était plus faible que le travail reçu par le muscle. Cette observation a été confirmée à maintes reprises (HILL, 1938 ; ABBOTT, AUBERT, 1951 ; ABBOTT *et al.*, 1951 ; AUBERT, 1956 *a*). Se référant à l'équation (3), on voit que si la somme ($Q + W$) diminue, le métabolisme y associé doit aussi diminuer. Effectivement MARÉCHAL (1964) a montré que la quantité de PC hydrolysée diminue si le muscle est étiré pendant le tétanos : cette différence est une « économie » de PC.

La fraction de travail « absorbé » est mesurée par la différence entre le travail et l'excès (au-dessus du niveau isométrique) de chaleur dégagé pendant l'étirement rapportée au travail effectué sur le muscle. Dans les expériences de biochimie, l'économie de PC ne peut pas directement se rapporter au travail négatif. On raisonne alors comme suit : la PC économisée peut servir au muscle pour fournir du travail positif. Le coefficient de transformation est de 11 kcal/mole. Donc il suffit de multiplier l'« économie » de PC par C_w et de rapporter le résultat au travail négatif pour évaluer la fraction de travail absorbé. Cette fraction est variable, et dépend de la vitesse des étirements. A des vitesses modérées (de l'ordre de la moitié de la constante de vitesse b des muscles) elle est de 20 à 30 %, tant dans les expériences de myothermie (ABBOTT *et al.*, 1951) que de biochimie (MARÉCHAL, 1964 ; INFANTE *et al.*, 1964). A des vitesses très lentes, la fraction peut tendre vers 100 % (ABBOTT et AUBERT, 1951, pour la chaleur ; MARÉCHAL *et al.*, 1971, pour la PC).

La raison de cette dépendance reste encore hypothétique. Il paraît sans doute raisonnable de penser que le muscle ne peut pas absorber du travail à une vitesse supérieure à celle à laquelle il peut le produire. Effectivement, un muscle sartorius de grenouille à 0° a une puissance maximum de l'ordre de 7 mcal/g/s. Dans les expériences de MARÉCHAL (1964), la puissance *négative* durant les étirements est de -9 mcal/g/s, dont 30 % sont absorbés. La puissance que le muscle pourrait absorber serait donc de l'ordre du tiers de sa puissance maximum. Dans les expériences de MARÉCHAL *et al.* (1971) la puissance négative était de l'ordre de -1 mcal/g/s, mais l'économie de PC de l'ordre de 100 %.

En se basant uniquement sur des bilans thermomécaniques, HILL et HOWARTH (1959) ont prétendu qu'il était possible d'annuler la dépense totale d'énergie

($Q + W$) durant un étirement. Pour obtenir cet effet, ils allongent les muscles à une vitesse assez rapide, de l'ordre de la constante b de HILL (1938). Cependant, l'étirement à cette vitesse rapide provoque une *augmentation* de l'hydrolyse de la PC, bien loin d'entraîner une économie (MARÉCHAL, 1964). La solution de la contradiction entre ces deux séries d'expériences exigera des recherches supplémentaires.

La signification de l'absorption du travail est déjà clairement discutée par ABBOTT *et al.* (1951) ; ou bien : *a*) le travail absorbé renverse les réactions chimiques qui surviennent normalement durant la contraction (hypothèse de la réversibilité) ; ou bien *b*) le travail est absorbé par un processus physico-chimique à présent encore inconnu (variante de l'hypothèse de la réversibilité) ; ou bien *c*) le travail est dégradé en chaleur, mais les réactions chimiques normales de la contraction sont freinées ou arrêtées par l'étirement (hypothèse de l'inhibition).

On peut penser *a priori* que le couplage entre les réactions chimiques (et en particulier l'hydrolyse de l'ATP) et les phénomènes mécaniques doit être très serré et que si la réversibilité existait, elle se traduirait par un transfert de l'énergie mécanique vers le système ADP-ATP, c'est-à-dire une synthèse d'ATP. Toute élévation du taux d'ATP entraînerait via la réaction de Lohmann (réaction 6) une resynthèse de PC. Deux méthodes ont été utilisées pour tenter de démontrer une synthèse de PC (ou d'ATP) durant l'étirement.

La première est une méthode chimique : si l'on pouvait montrer qu'un muscle téτανisé contient, après étirement, plus de PC ou d'ATP qu'un muscle au repos, la preuve serait irréfutable. Malheureusement, cette expérience donne toujours des résultats négatifs. Cela est dû à la puissance très limitée que peut absorber le muscle. Si on étire trop vite, on stimule l'hydrolyse de PC, effet opposé de celui recherché. Si l'on étire lentement, la puissance absorbée reste inférieure à la puissance thermique dégagée par le muscle, et le bilan est donc toujours une hydrolyse nette de PC (MARÉCHAL, 1964), ou d'ATP (si le muscle est intoxiqué au fluorodinitrobenzène, INFANTE *et al.*, 1964). Une autre limite consiste en ce que la réaction à renverser manquerait de substrat : on sait que l'ADP est normalement assez bas dans le sarcoplasme (SERAYDARIAN *et al.*, 1962). On a songé à augmenter le taux d'ADP libre, juste avant l'étirement en stimulant le muscle par un téτανos isométrique prolongé de plusieurs secondes ; le muscle est préalablement intoxiqué au fluorodinitrobenzène, pour bloquer la rephosphorylation de l'ADP aux dépens de la PC (MARÉCHAL et BECKERS-BLEUKX, 1965) ; malheureusement l'ADP ne s'accumule pas car il est transformé via la réaction myokinase (réaction 7) et déaminase (réaction 8) en inosine monophosphate ; or cette dernière réaction est pratiquement irréversible ; l'expérience est donc impossible.

La deuxième expérience est isotopique, l'idéal est naturellement d'utiliser l' H_2^{18}O . L'eau pénètre rapidement à travers les membranes cellulaires ; lors de l'hydrolyse de l'ATP (réaction 4), l'atome ^{18}O de l'eau est incorporé dans le phosphate ; lors de la synthèse d'ATP (réaction 5), cet atome a une chance sur quatre d'être incorporé à l'ATP. La synthèse d'ATP peut donc en principe s'estimer par l'incorporation d' ^{18}O . On n'observe aucun effet de l'étirement, mais cela peut être dû à ce que la vitesse d'équilibration des différentes fractions (eau, phosphate, ATP et PC) est très rapide, et atteint 90 % en 5 minutes (MARÉCHAL *et al.*, 1971).

Il est aussi possible d'utiliser du phosphate radioactif, à condition d'employer des fins faisceaux de cellules musculaires dont les membranes sont préalablement détruites par un traitement au glycérol. Ces fibres se contractent en présence d'ATP, et l'hydrolysent. On peut alors étirer ces fibres : si le travail sert à synthétiser de l'ATP, il doit apparaître de l'ATP marqué au ^{32}P (renversement de la réaction 4). En effet, l'ATP extrait des fibres étirées est radioactif (GILLIS et MARÉCHAL, 1969 ; MANNHERZ, 1970 ; ULBRICHT et RÜEGG, 1971). Cependant, les fibres qui se contractent isométriquement catalysent aussi un marquage de l'ATP, quoique moindre, et une étude détaillée (GILLIS et MARÉCHAL, 1971) mène à la conclusion que l'incorporation de ^{32}P dans l'ATP est proportionnelle à la force que soutiennent les fibres. Comme la force des muscles étirés est supérieure à celle des contrôles isométriques, on ne peut pas exclure que le marquage accru de l'ATP des fibres étirées résulte seulement d'une réaction d'échange catalysée par les protéines contractiles.

En conclusion, il n'existe aucun argument en faveur de l'hypothèse que l'étirement du muscle pendant la contraction renverse le sens des réactions biochimiques associées. La balance des résultats est plutôt en faveur de l'hypothèse de l'inhibition : l'étirement ralentirait les réactions chimiques responsables de la contraction.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au terme de cette étude que pouvons-nous conclure ? La théorie classique rend compte de la plupart des faits. Dans l'ensemble, l'énergie (chaleur et travail) que fournit un muscle s'accompagne d'une hydrolyse de phosphorylcréatine. L'enthalpie apparente de cette réaction est de -9 à -11 kcal/mole. La production de travail accélère la consommation de PC, et n'exige donc pas l'intervention d'une autre réaction chimique ; l'étirement du muscle freine l'hydrolyse de PC, quoique la force du muscle soit très augmentée. Cette hydrolyse de phosphorylcréatine a la signification d'une réaction de restauration : elle est la résultante de deux réactions successives. La première est l'hydrolyse d'ATP en ADP au contact des protéines contractiles : c'est la réaction du couplage mécano-chimique ; la deuxième est une rephosphorylation de l'ADP en ATP aux dépens de la phosphorylcréatine. Après la contraction, la créatine est rephosphorylée (via le système ATP-ADP) par la glycolyse et les oxydations.

Cette théorie est cependant incomplète, mais on ne peut actuellement guère que souligner ses lacunes, sans que l'on puisse lui substituer une nouvelle théorie plus cohérente. Résumons les principaux points de désaccord :

a) *La dette de PC.* Les premières secousses d'une série ou le début d'un téтанos s'accompagnent d'une hydrolyse de PC inférieure à celle attendue ; en revanche, il existe une hydrolyse post-contractile de la PC, qui, probablement, trahit le « paiement » de la dette contractée au début de l'activité contractile. La dette n'est pas une hydrolyse d'ATP.

b) L'augmentation transitoire du taux d'ATP au début du téтанos ne peut pas s'expliquer par les réactions chimiques décrites dans la théorie classique.

c) La très forte production de chaleur pendant un téтанos isométrique à 20°C dépasse de loin celle produite par l'hydrolyse de l'ATP et de la PC, la glycolyse et les oxydations.

d) Même en ce qui concerne les contractions où la PC rend compte de l'énergie produite par le muscle, il subsiste un désaccord entre divers expérimentateurs. Les uns trouvent que l'enthalpie d'hydrolyse de la PC dans le muscle est de -9 kcal/mole ; d'autres l'estiment à -11 kcal/mole, voire -13 kcal/mole.

e) Deux observations que nous n'avons pas discutées dans ce rapport, ne trouvent pas de place dans le cadre de la théorie classique. HILL et PARKINSON (1931) notent que l'augmentation de la pression osmotique du muscle provoquée par la stimulation répétée ne peut s'expliquer par les réactions chimiques postulées ; d'après D. K. HILL (1962) la phosphorylcréatine serait localisée dans la bande I, et non pas dispersée dans le sarcoplasme, comme le suppose la théorie classique.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT, B. C. (1951). The heat production associated with the maintenance of a prolonged contraction and the extra heat produced during large shortening. *J. Physiol., London*, **112**, 438-445.
- ABBOTT, B. C. et AUBERT, X. (1951). Changes of energy in a muscle during very slow stretches. *Proc. Roy. Soc. B.*, **139**, 104-117.
- ABBOTT, B. C. et AUBERT, X. (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. 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.
- ASHLEY, C. C. et RIDGWAY, E. B. (1970). On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres. *J. Physiol., London*, **209**, 105-130.
- AUBERT, X. (1956 a). « Le couplage énergétique de la contraction musculaire », 320 pp. *Éditions Arscia*, Bruxelles.
- AUBERT, X. (1956 b). Structure et physiologie du muscle strié. I. Le mécanisme contractile *in vivo* : aspects mécaniques et thermiques. *J. Physiol., Paris*, **48**, 105-153.
- AUBERT, X. (1964). Tension and heat production of frog muscle tetanised after intoxication with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene. *Pflüg. Arch.*, **281**, 13.
- AUBERT, X. (1968). In « Symposium on muscle ». Symposia Biologia Hungarica, 8, Ed. *Ernst and Straub*, Budapest, Akademiai Kiadó.
- AUBERT, X. et LEBACQ, J. (1971). The heat of shortening during the plateau of tetanic contraction and at the end of relaxation. *J. Physiol., London*, **216**, 181-200.
- AUBERT, X. et MARÉCHAL, G. (1963). La fraction labile de la thermogénèse associée au maintien de la contraction isométrique. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **71**, 282-283.
- AUBERT, X. et GODFRAIND-DE BECKER, A. (1965). La thermogénèse associée au maintien de la contraction musculaire. *J. Physiol., Paris*, **57**, 542.
- BASTHOLM, E. (1950). The history of muscle physiology. *Acta historica Scientiarum naturalium et medicinalium*, vol. III, Ed. *Bib. Univ. Hauniensis W. Calvert*, Copenhagen.
- BEATTY, C. H. et BOCEK, R. M. (1970). Biochemistry of the red and white muscle, pp. 155-191, in « The physiology and biochemistry of muscle as a food », 2, Ed. by Briskey E. J., R. G. Cassens et B. B. Marsh. *The University of Wisconsin Press*.
- BENDALL, J. R. et TAYLOR, A. A. (1970). The Meyerhof quotient and the synthesis of glycogen from lactate in frog and rabbit muscle. *Biochem. J.*, **118**, 887-893.
- BERNARD, C. (1859). In « Leçons sur le diabète », p. 492, *Baillière*, éd., Paris, 1877.
- BERZELIUS (1807). In BERZELIUS (1848). Jahres-Bericht über die Fortschritte der Chemie und Mineralogie, vol. 27.
- 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., INFANTE et DAVIES, R. E. (1962). Adenosine triphosphate and phosphorylcreatine as energy supplies for single contraction of working muscle. *Nature*, **196**, 214-217.
- CANFIELD, S. P. (1971). The mechanical properties and heat production of chicken latissimus dorsi muscles during tetanic contractions. *J. Physiol., London*, **219**, 281-302.
- CANFIELD, S. P. et MARÉCHAL, G. (1972). Equilibrium of nucleotides in frog sartorius muscles during one isometric tetanus at 20°C. En préparation.
- CANFIELD, P., LEBACQ, J. et MARÉCHAL, G. (1971). Corrélation entre la production de chaleur d'un muscle téτανisé à 20° et la consommation de phosphorylcréatine et de nucléotides. *J. Physiol., Paris*, **63**, 181 A.
- CANFIELD, P., LEBACQ, J. et MARÉCHAL, G. (1972). Energy balance in frog sartorius muscles during one isometric tetanus at 0°C. En préparation.

- CARLSON, F. D. (1963). The mechanochemistry of muscular contraction, a critical revaluation of *in vivo* studies. *Prog. Biophys. Biophys. Chem.*, **13**, 262-314.
- CARLSON, F. D., HARDY, D. J. et WILKIE, D. R. (1963). Total energy production and phospho-creatine hydrolysis in the isotonic twitch. *J. gen. Physiol.*, **46**, 851-882.
- CARLSON, F. D., HARDY, D. J. et WILKIE, D. R. (1967). The relation between heat produced and phosphorylcreatine split during isometric contraction of frog's muscle. *J. Physiol., London*, **189**, 209-235.
- CARLSON, F. D. et SIGER, A. (1969). The creatine phosphoryl transfer 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.
- CERRETELLI, P., di PRAMPERO, P. E. et PILPER, J. (1969). Energy balance of anaerobic work in the dog gastrocnemius. *Am. J. Physiol.*, **217**, 581-585.
- CERRETELLI, P., di PRAMPERO, P. E. et AMBROSOLI, G. (1972). High energy phosphate resynthesis from anaerobic glycolysis in frog gastrocnemius muscle. *Am. J. Physiol.*, **222**.
- CHANCE, B. et CONNELLY, C. M. (1957). A method for the estimation of the increase in concentration of adenosine diphosphate in muscles sarcosomes following a contraction. *Nature*, **179**, 1235-1237.
- CHANCE, B. et WILLIAMS, G. R. (1955). Respiratory enzymes in oxydative phosphorylation 3. The steady state. *J. biol. Chem.*, **217**, 409-427.
- CHAPLAIN, R. A. et PFISTER, E. (1970). The relationship between activation heat and calcium transients in frog sartorius muscle. *Experientia*, **26**, 505-506.
- CHEVREUL, E. C. (1835). Recherches sur la composition chimique du bouillon de viande. *J. Pharm.*, **21**, 231-242.
- CLOSE, R. I. (1967). Properties of motor units in fast and slow skeletal muscles of the rat. *J. Physiol., London*, **193**, 45.
- CLOSE, R. I. (1972). Dynamic properties of fast and slow skeletal muscle. *Physiol. Rev.*, **52**, 129-197.
- DAEMERS-LAMBERT, C., LEBRUN, F. M., DETHIER, G. et MANIL, J. (1966). Métabolisme des esters phosphorés dans le sartorius de *Rana temporaria* traité par une solution de Ringer hypertonique. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **74**, 374-396.
- DAVIES, R. E. (1963). A molecular theory of muscle contraction : calcium dependent contractions with hydrogen bond formation plus ATP-dependent extensions of part of the myosin-actin cross-bridges. *Nature*, **199**, 1068-1074.
- 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.
- DAVIES, R. D., KUSHMERICK, M. J. et LARSON, R. E. (1967). Professor A. V. Hill's « Further Challenge to Biochemists » : ATP, activation and the heat of shortening of muscle. *Nature*, **214**, 148-151.
- DELLUVA, A. M., LARSON, E. R., HAYNES, D. H. et DAVIES, R. E. (1968). Is protein-bound phosphate an energy source in muscle contraction ? *Fed. Proc.*, **27**, 821.
- di PRAMPERO, P. E. et MARGARIA, R. (1968). Relationship between O₂ consumption, high-energy phosphates, and the kinetics of the O₂ debt in exercise. *Pflüg. Arch.*, **304**, 11-19.
- DISTÈCHE, A. (1960). Contribution à l'étude des échanges d'ions hydrogène au cours du cycle de la contraction musculaire. *Mémoires de l'Acad. roy. Sc. Belgique*, **32**, 169 pp.
- DUBUISSON, M. (1938). Untersuchungen über die Reaktionänderungen des Muskels im Verlauf der Tätigkeit. *Pflüg. Arch.*, **238**, 314-326.
- EDSTRÖM, L. et KUGELBERG, E. (1968). Histochemical, composition, distribution of fibers and fatigability of single unit : antero-tibial muscle of the rat. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, **31**, 424-433.
- EDWARDS, R. H. T., HARRIS, R. C., HULTMAN, E., KAIJSER, L., KOH, D. et NORDESJÖ, L. D. (1972). Effect of temperature on muscle energy metabolism and endurance during successive isometric contractions, sustained to fatigue, of the quadriceps muscle in man. *J. Physiol., London*, **220**, 335-352.
- DYDYNKA, M. et WILKIE, D. R. (1966). The chemical and energetic properties of muscles poisoned with fluorodinitrobenzene. *J. Physiol., London*, **184**, 751-769.

- EGGLESTON, 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 LEHNARTZ, E. (1928). Ueber den zeitlichen Verlauf der Milchsäurebildung bei den Muskelkontraktion. *Z. Physiol. Chem.*, **178**, 311-315.
- EMBDEN, G., LEHNARTZ, E. et HENTSCHEL, H. (1928). Der zeitliche Verlauf der Milchsäurebildung bei der Muskelkontraktion II Mitteilung. *Z. Physiol. Chem.*, **176**, 231-248.
- ENGELHARDT, V. A. et LJUBIMOVA, M. N. (1939). Myosin and adenosine triphosphatase. *Nature*, **144**, 668.
- 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.
- FISHER, E. (1931). Die Wärmebildung des Skelettmuskels bei aufgehobener Milchsäurebildung. *Pflüg. Arch.*, **226**, 500-517.
- FLECKENSTEIN, A. et JANKE, J. (1957). Der Austausch von radioaktivem, ^{32}P -markiertem O_2 orthophosphate mit dem $\text{P}\alpha$, $\text{P}\beta$ und $\text{P}\gamma$ von ATP und mit Kreatin phosphat bei Muskelruhe, Temperaturvariationen und elektrischer Reizung. *Pflüg. Arch.*, **265**, 237-263.
- FLECKENSTEIN, A., GERLACH, E., JANKE, J. gemeinsam mit MARMIER (1960). Die Inkorporation von markiertem Sauerstoff aus Wasser in die ATP, —Kreatinphosphat—, und Orthophosphatfraktion intakter Muskeln bei Ruhe, tetanischer Reizung und Erholung. *Pflüg. Arch.*, **271**, 75-104.
- 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., JANKE, J., LECHNER, G. et BAUER, G. (1954). Zerfällt Adenosintriphosphat bei der Muskelkontraktion ? *Arch. ges. Physiol.*, **259**, 246-266.
- FLETCHER, W. M. (1902). The relation of oxygen to the survival metabolism of muscle. *J. Physiol., London*, **28**, 474-498.
- FLETCHER, W. M. et HOPKINS, F. G. (1907). Lactic acid in amphibian muscle. *J. Physiol., London*, **35**, 247-309.
- FOLKOW, B. et HUDLICKÁ, H. D. (1968). A comparison between « red » and « white » muscles with respect to blood supply, capillary surface area and oxygen uptake during rest and exercise. *Microvas. Res.*, **1**, 1-14.
- GAUTHIER, G. F. (1970). The ultrastructure of three fibres types in mammalian skeletal muscle, pp. 103-130, in « The physiology and biochemistry of muscle as a food A. Ed. by Briskey, E. J., R. G. Cassens et B. B. Marsh. The University of Wisconsin Press.
- GILBERT, C., KRETZSCHMAR, K. M., WILKIE, D. R. et WOLEDGE, R. C. (1969). Le bilan énergétique pendant la contraction musculaire. *J. Physiol., Paris*, **61**, 299.
- GILBERT, C., KRETZSCHMAR, K. M., WILKIE, D. R. et WOLEDGE, R. C. (1970). Energy balance during muscular contraction. *J. Physiol., London*, **207**, 15-16 P.
- GILBERT, C., KRETZSCHMAR, K. M., WILKIE, D. R. et WOLEDGE, R. C. (1971). Chemical changes and energy output during muscular contraction. *J. Physiol., London*, **218**, 163-193.
- GILLIS, J. M. (1972). Le rôle du calcium dans le contrôle intracellulaire de la contraction musculaire. Thèse d'agrégation, Université catholique de Louvain, 189 p. Vander, éd., Louvain.
- GILLIS, J. M. et MARÉCHAL, G. (1969). Resynthesis of ATP in glycerinated fibres stretched during contraction. *Proc. IIIrd intern. Congress of biophysics*.
- GILLIS, J. M. et MARÉCHAL, G. (1971). Influence of tension on the incorporation of inorganic phosphate into ATP in glycerinated muscle fibres. *J. Physiol., London*, **214**, 41 P.
- GODFRAIND-DE BECKER, A. (1965). Effet de l'iodure, potentiateur de la secousse musculaire, sur la thermogénèse du tétanos. *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, **73**, 162-163.
- GODFRAIND-DE BECKER, A. (1972). Heat production and fluorescence changes of toad sartorius muscle during aerobic recovery after a short tetanus. *J. Physiol., London*, **223**, 719-734.
- GORDON, A. M., HUXLEY, A. F. et JULIAN, F. J. (1966). The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J. Physiol., London*, **184**, 170-192.

- HAMOIR, G. (1956). Structure et physiologie du muscle strié. II. La structure du muscle strié et ses propriétés biochimiques en rapport avec la contraction musculaire. *J. Physiol., Paris*, **48**, 155-205.
- HASSELBACH, W. (1964). Relaxing factor and the relaxation of muscle. *Progr. Biophys.*, **14**, 169-222.
- HEILBRUNN, L. V. et WIERCINSKI, F. J. (1947). The actions of various cations on muscle protoplasm. *J. cell. comp. Physiol.*, **29**, 15-31.
- 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. (1949). The heat of activation and the heat of shortening in a muscle twitch. *Proc. Roy. Soc. B.*, **136**, 195-211.
- HILL, A. V. (1950 a). A challenge to biochemists. *Biochim. biophys. Acta*, **4**, 4-11.
- HILL, A. V. (1950 b). A note on the heat of activation in a muscle twitch. *Proc. Roy. Soc. B.*, **137**, 330-331.
- HILL, A. V. (1953). The « instantaneous » elasticity of active muscle. *Proc. Roy. Soc. B.*, **141**, 161-178.
- HILL, A. V. (1958 a). The relation between force developed and energy liberated in an isometric twitch. *Proc. Roy. Soc. B.*, **149**, 58-62.
- HILL, A. V. (1958 b). The priority of the heat production in a muscle twitch. *Proc. Roy. Soc. B.*, **148**, 397-402.
- HILL, A. V. (1964 a). The variation of total heat production in a twitch with velocity of shortening. *Proc. Roy. Soc. B.*, **159**, 596-605.
- HILL, A. V. (1964 b). The effect of tension in prolonging the active state in a twitch. *Proc. Roy. Soc. B.*, **159**, 589-595.
- HILL, A. V. (1965). Trails and trials in physiology. *Arnold*, London, éd., 374 pp.
- 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 PARKINSON, J. L. (1931). Heat and osmotic change in muscular contraction without lactic acid formation. *Proc. Roy. Soc. B.*, **108**, 148-156.
- HILL, A. V. et WOLEDGE, R. C. (1962). An examination of absolute values in myothermic experiments. *J. Physiol., London*, **162**, 311-333.
- HILL, D. K. (1940). The time course of the oxygen consumption of stimulated frog's muscle. *J. Physiol., London*, **98**, 207-227.
- HILL, D. K. (1962). The location of creatine phosphate in frog's striated muscle. *J. Physiol., London*, **164**, 31-50.
- HIRCHE, HJ., GRÜN, D. et WALLER, W. (1970). Utilisation of carbohydrates and free fatty acids by the gastrocnemius of the dog during long lasting rhythmical exercise. *Pflüg. Arch.*, **321**, 121-132.
- HODGKIN, A. L. et HOROWICZ, P. (1960). The effect of nitrate and other anions on the mechanical response of single muscle fibres. *J. Physiol., London*, **153**, 404-412.
- HOHORST, H. J. REIN, M. et BARTELS (1962). Studies on the creatinekinase equilibrium in muscle and the significance of ATP and ADP levels. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **7**, 142-146.
- HOMSHER, E., MOMMAERTS, W. F. H. M., RICCHIUTTI, N. V. et WALLNER, A. (1972). Activation heat, activation metabolism and tension-related heat in frog semitendinosus muscles. *J. Physiol., London*, **220**, 601-625.
- HOWARTH, J. V. (1958). The behaviour of frog muscle in hypertonic solutions. *J. Physiol., London*, **144**, 167-175.
- 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.
- INFANTE, A. A., KLAUPIKS, D. et DAVIES, R. E. (1964). Adenosine triphosphate changes in muscle doing negative work. *Science*, **144**, 1577-1578.
- JÖBSIS, F. F. (1969). Spectrophotometric studies on intact muscle II. Recovery from contractile activity *J. gen. Physiol.*, **46**, 929-969.

- JÖBSIS, F. F. (1964). Basic processes in cellular respiration in « Handbook of Physiology-Respiration ». Ed. by W. O. Fenn et H. Rahn Washington D. C. *Am. Physiol. Soc.*, sect. 3, vol. 1.
- JÖBSIS, F. F. et O'CONNOR, M. J. (1966). Calcium release and reabsorption in the sartorius muscle of the toad. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **25**, 246-252.
- KARLSSON, J. (1971). Lactate and phosphagen concentrations in working muscle of man. *Acta Physiol. scand.*, suppl. 358.
- KIRSTEN, E. et KIRSTEN, R. (1969). High energy phosphate in a red and a white muscle of the rat. *Pflüg. Arch.*, **311**, 209-225.
- KREBS, H. A. et KORNBERG, H. L. (1957). Energy transformations in living matter. *Ergebn. Physiol.*, **47**, 212-298.
- KUBY, S. A. et MAHOWALD, T. A. (1959). Studies on ATP-transphosphorylases. *Fed. Proc.*, **18**, 267.
- KUBY, S. A. NODA, L. et LARDY, H. A. (1954). Adenosine triphosphate-creatine transphosphorylase III. Kinetic studies. *J. biol. Chem.*, **210**, 65-82.
- KUSHMERICK, M. J. et DAVIES, R. E. (1969). The chemical energetics of muscle contraction. II. The chemistry, efficiency and power of maximally working sartorius muscles. *Proc. Roy. Soc. B.*, **174**, 315-353.
- KUSHMERICK, M. J., LARSON, R. E. et DAVIES, R. E. (1969). The chemical energetics of muscle contraction. I. Activation heat, heat of shortening and ATP utilisation for activation-relaxation processes. *Proc. Roy. Soc. B.*, **174**, 293-313.
- LIEBIG, G. v. (1850). Ueber die Respiration der Muskel. *Arch. f. Anat. Physiol. u. Wissensch. Med.*, p. 393.
- LIEBIG, G. v. (1847). Ueber die Bestandtheile der Flüssigkeit des Fleisches. *Ann. Chem. Pharmac.*, **62**, 257.
- LOHMANN, K. (1928). Ueber das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat in Zellen. *Biochem. Z.*, **203**, 164-172.
- LOHMANN, K. (1934). Ueber die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure ; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion. *Biochem. Z.*, **271**, 264-277.
- LUNDGAARD, E. (1930). Untersuchungen über Muskelkontraktion ohne Milchsäurebildung. *Biochem. Z.*, **217**, 162-177.
- LUNDGAARD, E. (1934). Phosphagen- und Pyrophosphatumsatz in jodessigsäurevergifteten Muskeln. *Biochem. Z.*, **269**, 308-328.
- MANNHERZ, H. G. (1970). On the reversibility of the biochemical reactions of muscular contraction during the absorption of negative work. *FEBS Letters*, **10**, 233-236.
- MARÉCHAL, G. (1964). Le métabolisme de la phosphorylcréatine et de l'adénosine triphosphate durant la contraction musculaire. Thèse d'agrégation, Université catholique de Louvain, 184 pp. Ed. *Arscia et Maloine*, Bruxelles, Paris.
- MARÉCHAL, G. et AUBERT, X. (1958 a). Influence de la fatigue sur la thermogénèse du muscle strié. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 91-93.
- MARÉCHAL, G. et AUBERT, X. (1958 b). Composantes multiples de la fatigue du muscle isolé révélées par l'analyse mécanique et thermique de la contraction. *J. Physiol., Paris*, **50**, 404-406.
- MARÉCHAL, G. et AUBERT, X. (1968). The labile maintenance heat of frog sartorius muscle. *Proc. XXIV intern. Congr. Physiol.*, Washington.
- MARÉCHAL, G. et BECKERS-BLEUKX, G. (1965). La phosphorylcréatine et les nucléotides adénilyques d'un muscle strié à la fin d'un étirement. *J. Physiol., Paris*, **57**, 652-653.
- MARÉCHAL, G. et BECKERS-BLEUKX, G. (1966). Adenosine triphosphate and phosphorylcreatine breakdown in resting and stimulated muscles after treatment with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene. *Biochem. Z.*, **345**, 286-299.
- MARÉCHAL, G. et BECKERS-BLEUKX, G. (1967). Nucléotides et capacités mécaniques du sartorius de grenouille intoxiqué par l'iodoacétate ou le fluorodinitrobenzène, et brièvement tétanisé. *J. Physiol., Paris*, **59**, 454.
- MARÉCHAL, G. et LEBACQ, J. (1972). Sources of the energy produced during a single tetanus. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **353**, 734.
- MARÉCHAL, G. et MOMMAERTS, W. F. H. M. (1963). The metabolism of phosphorylcreatine during an isometric tetanus in the frog sartorius muscle. *Biochim. Biophys. Acta*, **70**, 63-67.

- MARÉCHAL, G., MOMMAERTS, W. F. H. M. et SERAYDARIAN, K. (1971). Incorporation of inorganic phosphate into ATP and phosphorylcreatine of skeletal muscle, measured by ^{18}O tracer. *J. Physiol., London*, **214**, 40 P.
- MEYERHOF, O. (1920). Die Energieumwandlungen im Muskel. *Arch. ges. Physiol.*, **182**, 232-283 ; 284-317 ; **185**, 11-32.
- MOMMAERTS, W. F. H. M. (1954). Is adenosine triphosphate broken down during a single muscle twitch ? *Nature*, **174**, 1083-1084.
- MOMMAERTS, W. F. H. M. (1961). The regulation of metabolism and energy release in contracting muscle. *Circulation*, **24**, 410-415.
- MOMMAERTS, W. F. H. M. (1969). Energetics of muscular contraction. *Physiol. Rev.*, **49**, 427-508.
- MOMMAERTS, W. F. H. M. (1970). What is the Fenn-effect ? *Naturwissenschaften*, **57**, 326-330.
- MOMMAERTS, W. F. H. M. et WALLNER, A. (1967). The breakdown of adenosine triphosphate in the contraction cycle of the frog sartorius muscle. *J. Physiol., London*, **170**, 343-357.
- MOMMAERTS, W. F. H. M., SERAYDARIAN, K. et MARÉCHAL, G. (1962). Work and chemical changes in isotonic contractions. *Biochim. Biophys. Acta*, **57**, 1-12.
- MOMMAERTS, W. F. H. M., OLMSTED, M., SERAYDARIAN, K. et WALLNER, A. (1962). Contraction with and without demonstrable splitting of energy-rich phosphate in tortoise muscle. *Biochim. Biophys. Acta*, **63**, 89-92.
- NACHMANSOHN, D. (1928). Ueber den Zerfall der Kreatinephosphorsäure in Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. *Biochem. Z.*, **196**, 73 ; **208**, 237 ; **213**, 262.
- NEDHAM, D. M. (1971). « Machina Carnis », Cambridge University Press, 782 pp.
- PIPER, J., DI PRAMPERO, P. E. et CERRETELLI, P. (1968). Oxygen debt and high energy phosphates in gastrocnemius muscle of the dog. *Am. J. Physiol.*, **215**, 523-531.
- PLAGHKI, L. et MARÉCHAL, G. (1971). La force redéveloppée par un muscle strié après un raccourcissement à vitesse contrôlée. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **79**, 815-816.
- PLAGHKI, L. et MARÉCHAL, G. (1972). Influence de l'amplitude d'un raccourcissement durant un tétanos sur la force isométrique redéveloppée après l'arrêt du mouvement. *J. Physiol., Paris*, **65**, 155 A.
- ROMANUL, F. C. A. (1964). Enzymes in muscles I. Histochemical studies of enzyme in individual muscle fibers. *Arch. Neurol.*, **11**, 355.
- SANDBERG, J. A. et CARLSON, F. D. (1966). The length dependence of phosphorylcreatine hydrolysis during an isometric tetanus. *Biochem. Z.*, **345**, 212-231.
- SANDOW, A. et PREISER, H. (1964). Muscular contraction as regulated by the action potential. *Science*, **146**, 1470-1472.
- SERAYDARIAN, K., MOMMAERTS, W. F. H. M. et WALLNER, A. (1962). The amount and compartmentalization of adenosine diphosphate in muscle. *Biochim. Biophys. Acta*, **65**, 443-460.
- SMITH, I. C. H. (1972). Energetics of activation in frog and toad muscle. *J. Physiol., London*, **220**, 583-599.
- SPANDE, J. I. et SCHOTTELIUS, B. A. (1970). Chemical basis of fatigue in isolated mouse soleus muscle. *Am. J. Physiol.*, **219**, 1490-1495.
- SPRONCK, A. (1965). Évolution temporelle de l'hydrolyse de la phosphorylcréatine et de la synthèse d'hexose diphosphate pendant et après cinq secousses simples, à 0°C, chez le sartorius de *Rana temporaria* intoxiqué par l'acide monoiodoacétique. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **73**, 241-259.
- SPRONCK, A. C. (1968). In : *Symposia Biologica Hungarica*, **8**, 181-186.
- SPRONCK, A. C. (1970). Métabolisme de la phosphorylcréatine après 5 secousses isométriques simples, à 2°C (sartorius de *Rana temporaria*). *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **78**, 559-561.
- STEIN, J. M. et PADYKULA, H. A. (1962). Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. *Am. J. Anat.*, **110**, 103.
- TAYLOR, S. R. et RÜDEL, R. (1970). Inactivation of contraction induced by shortening. *Science N. Y.* **167**, 882-884.
- ULBRICH, M. et RÜEGG, J. C. (1971). Stretch induced formation of ATP- ^{32}P in glycerinated fibres of insect flight muscle. *Experientia*, **27**, 45-46.

- VAN DER HEYDEN (1971). Contribution à l'étude du métabolisme de l'adénosine triphosphate et de la phosphorylcréatine lors de la contraction isométrique simple du sartorius de grenouille. *Mémoire de licence, Fac. Sciences, Univ. Liège*.
- WALSH, T. H. et WOLEDGE, R. C. (1970). Heat production and chemical change in tortoise muscle. *J. Physiol., London*, **206**, 457-469.
- WEBER, H. H. (1935). Der Feinbau und die mechanischen Eigenschaften des Myosinsfadens. *Arch. ges. Physiol.*, **235**, 205-206.
- WEISZÄCKER, V. (1914). Myothermic experiments in salt solution in relation to the various stages of a muscular contraction. *J. Physiol., London*, **48**, 396-427.
- WILKIE, D. R. (1961). Thermodynamics and the interpretation of biological heat measurement. *Progr. Biophys. Chem.*, **10**, 260-298.
- WILKIE, D. R. (1968). Heat, work and phosphorylcreatine breakdown in muscle. *J. Physiol., London*, **195**, 157-183.
- WOLEDGE, R. C. (1968). The energetics of tortoise muscle. *J. Physiol., London*, **197**, 685-707.
- WOLEDGE, R. C. (1971). Heat production and chemical change in muscle. *Progr. Biophys. molec. Biol.*, **22**, 37-74.
-