

SUR LE RÔLE DE L'ATP DANS L'EXTRACTIBILITÉ DES PROTÉINES MUSCULAIRES

par

P. CREPAX

*Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences,
Université de Liège (Belgique)*

Dans un travail antérieur (CREPAX, JACOB ET SELDESLACHTS¹), nous avons montré que les extraits de muscles contracturés (contracture de Lundsgaard, *rigor mortis*) se caractérisent par une faible teneur en actomyosine et l'absence de myosine proprement dite. Les diagrammes électrophorétiques démontrent en outre le développement considérable d'un gradient, la contractine, faiblement représenté dans les extraits de muscles normaux qui, d'après DUBUSSON², correspond à la myosine-γ décelable en petite quantité dans les préparations purifiées de myosine de WEBER-EDSALL (DUBUSSON³).

ERDÖS⁴ a émis l'hypothèse que la diminution de l'extractibilité des myosines des muscles contracturés (*rigor mortis*, contracture monoiodoacétique, etc.) est due à un appauvrissement du muscle en ATP. Cet auteur trouve, en effet, avec une régularité plus ou moins grande, selon le type de contracture envisagé, une diminution de la teneur en ATP qui évolue parallèlement à l'inextractibilité des myosines et au degré de tension développé. En ce qui concerne le cas particulier du *rigor mortis*, les résultats de ERDÖS ont été récemment confirmés par BATE-SMITH ET BENDALL^{5, 6} et BORBIRO ET SZENT-GYÖRGYI⁷.

Des recherches effectuées récemment en collaboration avec A. HÉRION⁸ sur l'influence exercée par la contracture de décongélation sur les protéines du muscle, nous ont amené à certaines conclusions dont l'importance est grande par rapport à la question qui nous occupe :

1. La contracture de décongélation ne produit pas en elle-même les modifications de solubilité des protéines musculaires qui caractérisent tout muscle contracturé. Ces altérations se manifestent avec un certain retard (2 h environ) par rapport à l'établissement de la contracture.

2. L'ATP du muscle est entièrement hydrolysé dès que la contracture de décongélation s'est produite; par conséquent cette substance ne peut avoir de rôle direct dans le déterminisme des modifications d'extractibilité des myosines.

Ces constatations nous ont paru rendre pertinente une étude du rôle de l'ATP dans l'extractibilité des protéines des muscles contracturés autrement que par la décongélation.

TECHNIQUE

L'animal employé est le Lapin. L'injection de 10 à 30 ml d'une solution à 1% de *Bibliographie p. 97*.

monobromacétate de soude dans une des artèresiliaques provoque une contracture des muscles de la patte correspondante. L'intensité de cette contracture varie selon la quantité de liquide injectée, le temps compris entre la fin de l'injection et le sacrifice de l'animal et le travail imposé aux muscles (par excitation faradique du nerf sciatique, dégagé au niveau de la hanche). En faisant varier convenablement ces facteurs, on peut obtenir des contractures d'intensité variable. Les muscles de l'autre patte, qui servent de témoin, sont prélevés avant le commencement de l'injection de monobromacétate: nous avons préféré ce dernier procédé à celui employé précédemment (obturation de l'artèreiliaque correspondante, prélèvement au moment du sacrifice de l'animal) pour deux raisons. A l'occasion de l'une de nos premières expériences, il nous est arrivé de voir s'installer un léger degré de contracture dans la patte témoin: l'artèreiliaque de ce côté avait été cependant liée au niveau habituel. Cette légère contracture s'accompagnait de modifications assez considérables de l'extractibilité des myosines. Ce fait semble prouver l'existence de dispositions vasculaires aberrantes capables de fausser les résultats. En second lieu, l'ischémie prolongée imposée à la patte témoin nous a paru à éviter, étant donné la labilité de l'ATP.

Pour le développement de la contracture cadavérique, les muscles ont été conservés sous une couche d'ouate imbibée de liquide de Ringer, soit à la température de 2° C, soit à la température de 18-20° C. Dans les expériences où l'on modifie la vitesse d'établissement de la contracture cadavérique au moyen de myanésine (BATE-SMITH ET BEN-DALL⁹), cette substance (Miolisina de la firme Zambelletti, de Milan) est injectée par voie intra-veineuse (0.6 g/kg) 30 minutes environ avant le sacrifice. Le prélèvement des muscles témoins est effectué avant l'injection.

L'évaluation de l'intensité de la contracture dans les différents muscles est effectuée suivant la méthode de MANGOLD¹⁰, qui consiste à mesurer la compressibilité du muscle sous l'action d'une série de poids étalons (2, 5, 10 g). Ces mesures ont surtout une valeur *relative* par rapport à celles qui sont effectuées avant ou après sur le même muscle ou sur le muscle symétrique. Nous avons pu vérifier que la contracture cadavérique s'établit d'une façon parallèle dans les muscles symétriques (BATE-SMITH¹¹). Une comparaison entre les différents résultats est possible si l'on exprime les valeurs intermédiaires en pour cent de la différence existant entre les valeurs de départ et celles de durcissement maximal.

La détermination du taux en ATP est effectuée suivant la méthode de LOHMAN; les détails de technique ont été décrits ailleurs (CREPAX ET HÉRION⁸). Nous rappellerons ici que le taux en ATP des muscles varie selon leur situation plus ou moins superficielle (BORBIRO ET SZENT-GYÖRGYI⁷). Dans une série de déterminations préliminaires, nous avons comparé le taux en ATP de muscles symétriques et nous avons pu observer que ce taux est le même si les prélèvements sont effectués dans des territoires rigoureusement symétriques.

L'extraction de la pulpe musculaire, au préalable finement hachée au microtome automatique à congélation, est effectuée au moyen des solutions suivantes:

1. Na_2HPO_4 0.048 M; NaH_2PO_4 0.006 M; NaCl 0.2 M. Le p_{H} de cette solution est 7.4, la force ionique de 0.35. Elle est ajoutée à raison de 2 ml par gramme de pulpe et l'extraction est prolongée pendant 1 heure.

2. KCl 0.6 M; Na_2CO_3 0.01 M; NaHCO_3 0.04 M (solution de WEBER-EDSALL). Le p_{H} de cette solution est 8.6, la force ionique de 0.67. Elle est ajoutée à raison de 2 ml par gramme de pulpe et l'extraction dure 10 minutes.

Toute autre condition étant égale, la composition de ces solutions est modifiée de la façon suivante pour l'extraction de muscles dépourvus d'ATP (bandelettes d'ileo-psoas de 1 mm d'épaisseur traitées au glycérol 50% pendant 48 heures, voir SZENT-GYÖRGYI¹²).

1. Na_2HPO_4 0.048 M; NaH_2PO_4 0.006 M; NaCl 0.32 M. La force ionique de cette solution est de 0.47.

2. KCl 0.72 M; NaCO_3 0.01 M; NaHCO_3 0.04 M. La force ionique de cette solution est de 0.79.

En supposant que la force ionique du suc musculaire (valeur normale μ : 0.24, voir DUBUSSON¹³) soit tombée à zéro par suite du passage dans le glycérol et du lavage à l'eau (nécessaire pour enlever la plus grande partie du glycérol), ces dernières solutions assurent une activité d'extraction comparable aux solutions utilisées dans le cas d'un muscle normal.

Les extraits sont préparés à 1° C environ, sous faible agitation mécanique. Après centrifugation, ils sont dialysés en tubes de cellophane pendant 48 heures à une température d'environ 2° C contre une solution de composition suivante : Na_2HPO_4 0.032 M; NaH_2PO_4 0.004 M; NaCl 0.25 M. Le p_{H} de cette solution est 7.1, la force ionique 0.35. La dialyse ne s'accompagne dans aucun cas de la formation d'un précipité appréciable. Après dialyse, les extraits sont centrifugés et ensuite analysés au moyen d'un appareillage du type TISELIUS-LONGSWORTH, dont les caractéristiques ont été décrites ailleurs (DUBUSSON ET JACOB¹⁴, DUBUSSON, DISTÈCHE ET DEBOT¹⁵). La détermination de la quantité totale de protéines extraites est effectuée selon le procédé suivant : extraction de 10 minutes avec 2 volumes de solution de WEBER-EDSALL, puis dilution avec 5 volumes de cette même solution avant la centrifugation et enfin dialyse dans les conditions indiquées de 48 heures. Le taux d'N de l'extrait est évalué au micro-Kjeldahl.

RÉSULTATS

Nos recherches ont porté sur le *rigor mortis* (A) et la contracture monobromooacétique (B). Nous avons suivi, dans chacun de ces cas, les variations du taux d'ATP et l'évolution de la composition électrophorétique des extraits au cours de l'établissement de la contracture. Nous avons également étudié les conditions d'extractibilité des protéines des muscles normaux dépourvus d'ATP par lavage préalable au glycérol (C).

A. Rigor mortis

a. *Rapports entre taux en ATP, degré de contracture et quantité des protéines extractibles* (teneur globale). L'évolution de ces trois facteurs est reproduite par les courbes de la Fig. 1, dont l'allure générale est assez semblable aux tracés d'ERDÖS⁴.

Le graphique de la Fig. 2 montre le comportement du taux en ATP et le degré de contracture lorsque l'établissement de cette dernière est ralenti par suite de l'injection de myanésine (BATE-SMITH ET BENDALL⁹). Ce ralentissement ne tient pas, comme semblent le croire BATE-SMITH ET BENDALL, à une hydrolyse diminuée de l'ATP. En effet, d'après le graphique de la Fig. 2, la tension du muscle croît plus lentement dans le muscle injecté que dans le muscle témoin, mais la chute du taux en ATP présente, dans les deux cas, une allure presque identique. Le comportement des protéines est pourtant différent : la quantité totale des protéines extractibles est nettement plus forte dans le muscle dont la contracture est moins développée. Par exemple, dans le cas de

la Fig. 2, à la 21^{ème} heure, le taux d'N protéinique de l'extrait était de 1.78 mg/ml dans le muscle témoin et de 2.45 mg/ml dans le muscle injecté. L'on extrait donc, dans ce dernier cas, une quantité de protéines totales qui est presque celle fournie par un muscle normal frais.

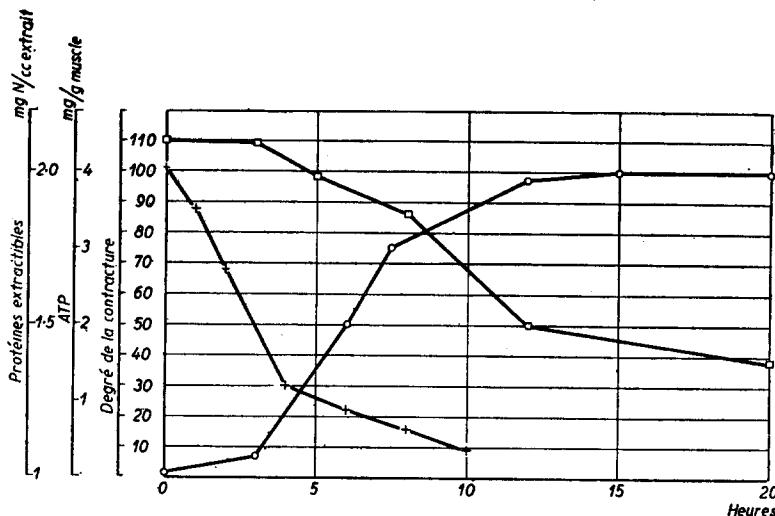


Fig. 1. Variations du taux en ATP (+), du degré de contracture (o) et de la proportion de protéines extractibles (□) au cours de l'établissement du *rigor mortis* à 18° C

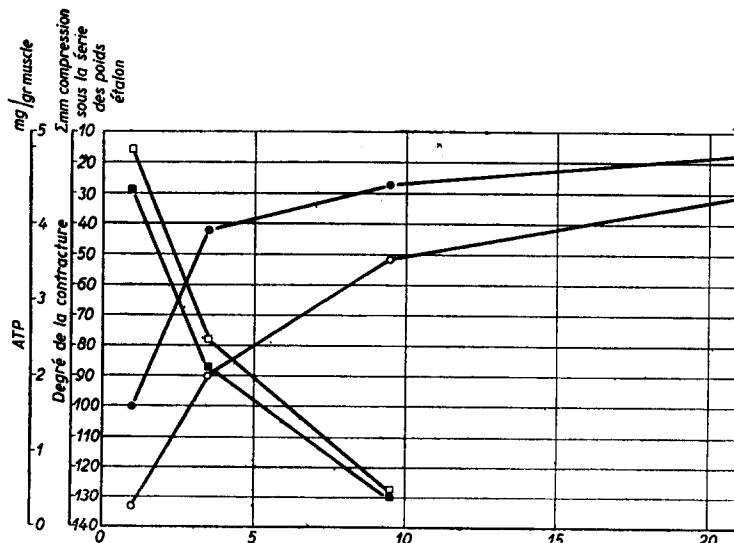


Fig. 2. Variations du taux en ATP (□) et du degré de contracture (o) au cours de l'établissement du *rigor mortis* après traitement du muscle par la myanésine. Les signes ■ et ● correspondent au cas du muscle symétrique, non traité par la myanésine.

b. *Etude électrophorétique des proportions relatives des différents constituants.* Dans les Figs. 3 à 5, nous avons reproduit les protéinogrammes électrophorétiques d'un muscle normal et de muscles considérés à des moments de plus en plus avancés du *rigor mortis*. La succession des phénomènes est la suivante: la myosine (gradient β) diminue de plus

en plus pour disparaître complètement; parallèlement le gradient correspondant à la myosine γ acquiert une individualité et augmente progressivement d'importance; l'actomyosine (gradient α) commence par augmenter, mais dans les phases tardives, le taux de cette protéine baisse de nouveau.

Le développement du gradient correspondant à la myosine γ est parallèle à la diminution du taux de la myosine β . Dans les phases avancées, un rapport de même ordre s'établit entre le gradient α et la myosine γ .

Les vitesses electrocinétiques du gradient correspondant à la myosine γ dépendent de son développement: de $-2.4 \cdot 10^{-5}$ v/cm pour les gradients à petit développement (Fig. 4), l'on descend à $-2.0 \cdot 10^{-5}$ v/cm pour les gradients de développement considérable (Fig. 5).

La force ionique à laquelle on effectue l'extraction a une certaine importance vis-à-vis de l'évolution dans le temps des modifications protéiniques qui surviennent au fur et à mesure que se développe la contraction: nous avons vu qu'à la septième

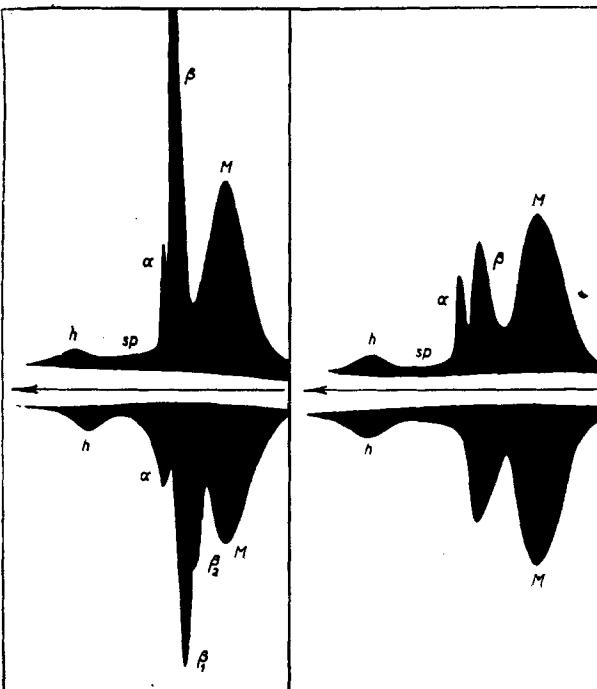


Fig. 3. A gauche, muscle *normal*, haché au microtome à congélation, extrait 1 heure avec 2 vol. de solution de p H 7.4 et de μ 0.35 (exp. 274: 903 minutes d'électrophorèse à 1.77 v/cm; pH 7.1, μ 0.35). A droite, muscle conservé 7 heures à une température de 2° C avant l'extraction qui est effectuée comme dans le cas de la figure de gauche (exp. 273: 1137 minutes d'électrophorèse à 1.46 v/cm; pH 7.1, μ 0.35)

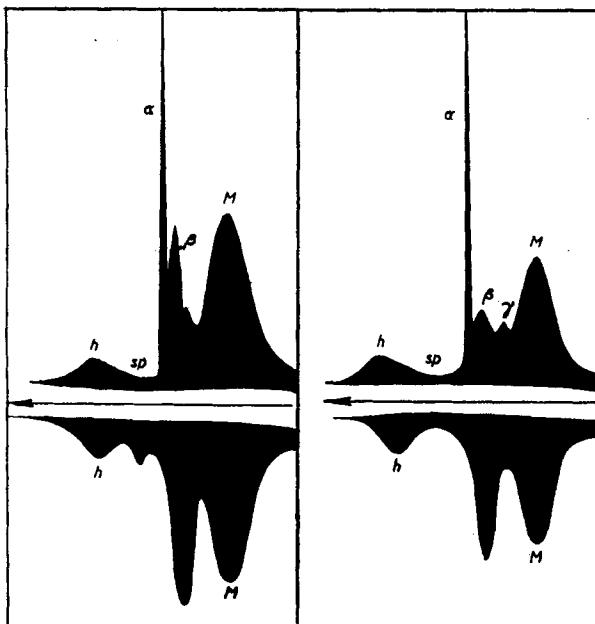


Fig. 4. A gauche, muscle conservé 8 heures à une température de 2° C avant l'extraction qui est effectuée comme dans le cas de la Fig. 1 (exp. 264: 811 minutes d'électrophorèse à 1.7 v/cm; pH 7.1, μ 0.35). A droite, muscle conservé 10 heures à une température de 2° C avant l'extraction qui est effectuée comme dans le cas de la Fig. 1 (Exp. 255: 855 minutes d'électrophorèse à 1.65 v/cm; pH 7.1, μ 0.35)

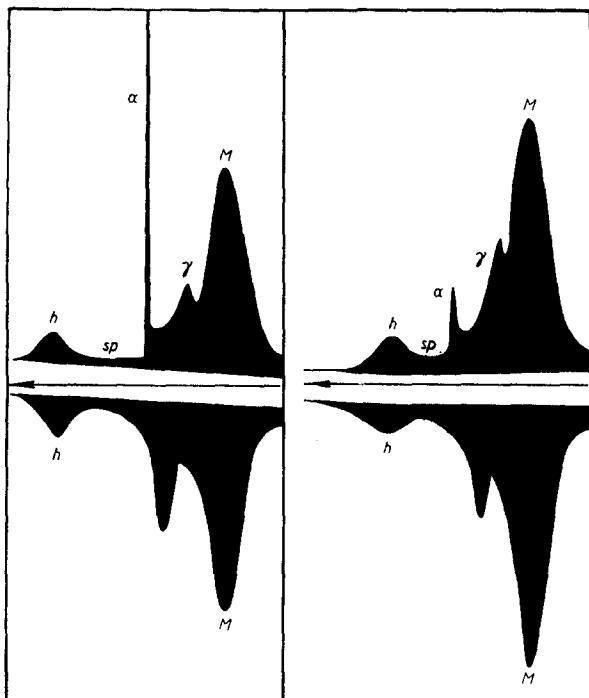


Fig. 5. A gauche, muscle conservé 16 heures à une température de 2°C avant l'extraction qui est effectuée comme dans le cas de la Fig. 1 (exp. 218: 970 minutes d'électrophorèse à 1.9 volt/cm; pH 7.1, μ 0.35). A droite, muscle conservé 24 heures à une température de 2°C avant l'extraction qui est effectuée comme dans le cas de la Fig. 1 (exp. 210: 906 minutes d'électrophorèse à 1.65 v/cm; pH 7.1, μ 0.35)

trait de longue durée d'un muscle normal (préparation de la myosine B, 24 heures d'extraction, selon BANGA ET SZENT-GYÖRGYI¹⁶): il présente, comme on le voit, de très grandes analogies avec le tracé de la Fig. 6B (10 minutes d'extraction). La quantité totale de protéines extractibles est, dans les deux cas, du même ordre.

c. *Influence de l'ATP sur l'extractibilité des différents constituants.* L'addition d'ATP (2.5-3 mg par g de pulpe) rétablit une extractibilité normale de toutes les composantes dont les proportions dans les extraits avaient été affectées par suite de l'état de contraction. Les protéinogrammes que fournit dans ces conditions un muscle contracturé présentent des caractéristiques entièrement superposables à des extraits normaux. Les résultats d'une expérience typique sont reproduits dans la Fig. 8 (cette expérience a été effectuée sur des muscles contracturés au monobromacétate; les résultats sont identiques dans les deux cas).

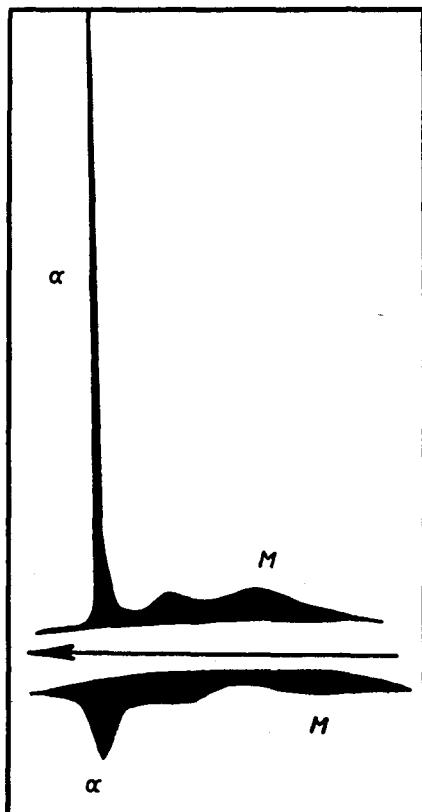
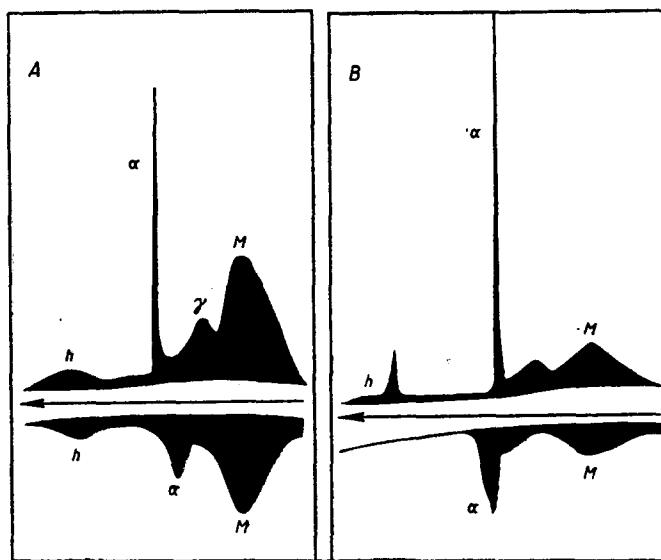
* Comme le pourcentage d'actomyosine compatible avec une analyse électrophorétique techniquement satisfaisante est faible (environ 1.0-1.5 mg pour cent d'extrait), un taux accru de la protéine oblige à une dilution de l'extrait destiné à l'analyse électrophorétique. L'importance de la dilution effectuée peut être évaluée sur les diagrammes électrophorétiques d'extraits totaux d'après le développement du gradient M: la quantité de constituants qui se rassemblent dans ce gradient pouvant être considérée en première approximation comme étant constante, son développement est inversement proportionnel à la dilution.

heure de *rigor* (Fig. 3), l'extrait obtenu au moyen d'une solution saline de force ionique 0.35 présente déjà des caractères manifestement anormaux. En extrayant avec la solution de WEBER-EDSALL (μ 0.50), ces mêmes caractères n'apparaîtront que vers la quatorzième heure. A part celà, la succession des phénomènes est celle que nous avons décrite.

Nous avons vu que les extraits de muscles contracturés obtenus à μ 0.35 présentent d'abord une augmentation dans la teneur de l'actomyosine (comparer la Fig. 3 et la Fig. 4): la quantité de cette protéine s'affaiblit ensuite. Quand on extrait avec la solution de WEBER-EDSALL, on observe une augmentation régulière de la teneur en actomyosine, et sa diminution ultérieure est rare à observer.

L'analyse électrophorétique des extraits des muscles traités à la myanésine, dont le *rigor* s'établit d'une façon ralenti, et qui sont caractérisés, par rapport aux témoins non injectés, par un taux de protéines particulièrement élevé, montre que cela tient surtout au comportement de la myosine *a* qui y est particulièrement abondante (Fig. 6)* Dans la Fig. 7, nous avons reproduit le tracé électrophorétique d'un ex-

Fig. 6. A. Extraits d'un muscle en *rigor mortis* (21 h de séjour à la température ordinaire) et B. du muscle symétrique dans lequel le degré de contracture développé était moindre par suite de l'injection de myanésine. Pour l'évaluation des résultats voir la note de la page 92. A: exp. 306. Extraction: 2 vol. de solution de WEBER-EDSALL pendant 10 minutes. Electrophorèse: 788 minutes à 1.74 v/cm; pH 7.1, μ 0.35. B: exp. 305. Extraction: 2 vol. de solution de WEBER-EDSALL pendant 10 minutes; 3 vol. de solution sont ajoutés avant la centrifugation à cause de la grande viscosité de l'extrait. Electrophorèse: 856 minutes à 1.85 v/cm; pH 7.1, μ 0.35.



Tel que nous le discuterons en détail page 96 l'action solubilisante de l'ATP dépend de la force ionique à laquelle on effectue l'extraction: elle ne se manifeste pas si celle-ci est effectuée au moyen de la solution saline de force ionique 0.35 (force ionique finale de l'extraction: 0.313).

B. Contracture monobromacétique

a. *Rapports entre taux en ATP, degré de contracture et quantité de protéines extractibles (teneur globale).* L'analyse des modifications progressives de ces facteurs est plus délicate que dans le cas du *rigor mortis* en raison de l'établissement plus rapide de la contracture. Dans leurs lignes générales, les rapports entre les facteurs envisagés sont les mêmes que dans la contracture cadavérique, sauf que le taux des protéines extractibles n'évolue pas aussi parallèlement à la quantité d'ATP présente dans le muscle, comme nous le montrera l'analyse électrophorétique des extraits.

b. *Etudes électrophorétiques des variations des proportions relatives des différents constituants.* Les modifications de la composition protéinique des extraits sont qualitativement les mêmes que

Fig. 7. Extrait de muscle normal (24 h d'extraction) auquel 7 vol. de solution de WEBER-EDSALL ont été ajoutés avant la centrifugation à cause de la grande viscosité de l'extrait (Exp. 212: 1188 minutes d'électrophorèse à 1.66 v/cm; pH 7.4, μ 0.40).

dans le *rigor mortis* alors que, même si l'on pousse l'intoxication à fond, l'ATP est encore présent dans le tissu en quantité qui assurerait, dans le cas du *rigor mortis*, un protéinogramme normal ou presque (1.62 mg d'ATP par g de pulpe, dans le cas de la Fig. 8). L'ATP présent dans les muscles contracturés par le monobromacétate semble donc *inactif* au point de vue de ses influences sur l'extractibilité des protéines (voir aussi CREPAX ET HÉRION⁸ et GODEAUX¹⁷).

c. *Influence de l'ATP sur l'extractibilité des différents constituants.* L'addition d'ATP (2.5-3 mg par g de pulpe) rétablit une extractibilité normale des composantes affectées par l'état de contracture (Fig. 8). Cette action est, comme dans les cas du *rigor mortis* (page 93) et des muscles traités au glycérol (page 95), *dépendante* de la force ionique à laquelle on effectue l'extraction.

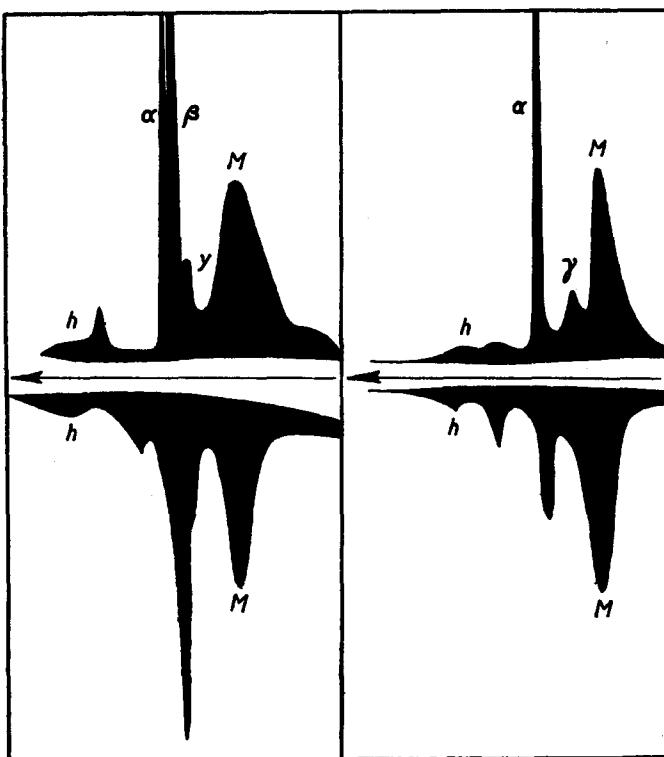


Fig. 8. A droite, extrait de muscle en contracture monobromacétique. Exp. 286: taux d'ATP: 1.62 mg/g (réduction de 64% par rapport au muscle témoin). Extraction: 2 vol. de solution de WEBER-EDSALL pendant 10 minutes. Electrophorèse: 744 minutes à 2.2 v/cm; pH 7.1, μ 0.35. A gauche, même muscle, mais addition de 2.5 mg d'ATP par g de pulpe au moment de l'extraction. Exp. 688. Electrophorèse: 892 minutes à 1.85 v/cm; pH 7.1, μ 0.35.

C. Muscles normaux* dépourvus d'ATP au moyen du lavage avec une solution de glycérol 50%

a. *Caractères électrophorétiques des extraits de muscles dépourvus d'ATP au moyen du traitement au glycérol.* La solution de glycérol employée pour le lavage extrait, en même temps que l'ATP, une certaine quantité de protéines du muscle qui sont facilement décelables dans le liquide de lavage. Les gradients *M* et *h* dans lesquels se rassemblent principalement les constituants hydrosolubles ne décèlent, à l'analyse électrophorétique, aucune autre modification importante que leur réduction uniforme.

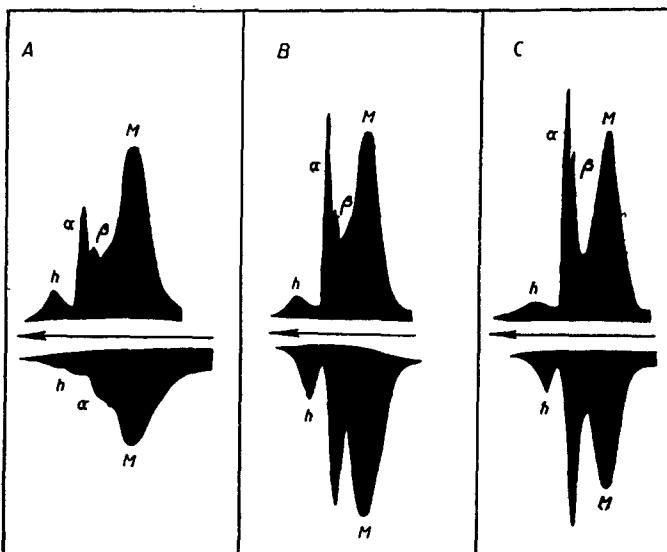
Le tracé électrophorétique d'un extrait obtenu au moyen de la solution de WEBER-

* La qualification de "normaux" que nous avons employée demande une restriction: elle est justifiée en tant qu'appliquée aux conditions dans lesquelles on prélevait les muscles destinés au glycérol (voir DUBUSSON¹⁸), mais cette substance provoque un raccourcissement remarquable des bandelettes d'ileopsoas qu'y sont immergées (voir GODEAUX¹⁷). Cette circonstance doit être considérée dans l'interprétation des résultats.

EDSALL de composition modifiée (voir p. 89), à partir d'un muscle traité de la sorte, est reproduit dans la Fig. 9A. Il montre que la quantité de myosines ($\alpha + \beta$) qui passe en solution est réduite.

b. *Influence de l'addition d'ATP sur la composition des extraits.* Si l'on effectue maintenant l'extraction du même muscle en ajoutant des quantités croissantes d'ATP, l'on voit que (Fig. 9B) 0.6 mg d'ATP par g de pulpe a déjà une influence appréciable sur la quantité des myosines qui passent en solution. A l'addition de plus fortes quantités d'ATP (Fig. 9C) correspond en général encore un accroissement du taux des myosines extractibles, mais des quantités d'ATP du même ordre que celles présentes dans les muscles normaux (3-4 mg par g) sont encore loin de rétablir une extractibilité normale de ces protéines (comparez avec les Fig. 9C et 3).

Fig. 9. Extraits obtenus à partir d'un muscle privé de son ATP par lavage avec une solution de 50% de glycérol (A). Effets de l'addition d'ATP (B et C) sur les résultats de l'extraction. A: exp. 246. Extraction: 2 vol. de solution de WEBER-EDSALL de composition modifiée (voir p. 89) pendant 10 minutes. Electrophorèse: 427 minutes à 1.74 v/cm; pH 7.1, μ 0.35. B: exp. 250. Le même muscle qu'en A, mais addition, au moment de l'extraction, de 0.6 mg d'ATP par g de pulpe. Electrophorèse: 442 minutes à 1.53 v/cm; pH 7.1, μ 0.35. C: exp. 248. Le même muscle que A et B, mais addition de 3 mg d'ATP par g de pulpe. Electrophorèse: 442 minutes à 1.74 v/cm; pH 7.1, μ 0.35



Si l'on effectue ces mêmes expériences avec la solution saline, dont nous avons indiqué la composition page 89 (force ionique finale de l'extraction μ : 0.313), au lieu de la solution de WEBER-EDSALL, l'action solubilisante de l'ATP vis-à-vis des myosines ne se manifeste pas.

DISCUSSION

Des recherches qui précèdent, il résulte:

a. que l'établissement du *rigor mortis*, dans un muscle normal, se caractérise par une chute du taux en ATP, par un accroissement de la tension du muscle et par des modifications dans l'extractibilité des protéines. Ces trois facteurs évoluent, en conditions ordinaires; *simultanément*; mais si l'on ralentit l'établissement du *rigor* par une injection préalable de myanésine (BATE-SMITH ET BENDALL⁹), l'extractibilité des protéines reste normale longtemps après que tout l'ATP du muscle a disparu.

b. Dans un muscle intoxiqué et contracturé par le monobromacétate, les modifications d'extractibilité des protéines sont parallèles à l'augmentation de tension, mais la chute en ATP est moindre que dans le cas du *rigor mortis*. Cependant, comme dans

le cas du *rigor mortis*, si l'on ajoute de l'ATP à de la pulpe de muscle contracturé par le monobromacétate, on peut rétablir l'extractibilité normale des protéines. L'ATP qui subsiste non hydrolysé dans un muscle contracturé, doit donc s'y trouver sous une forme particulière, *inefficace* quant à l'influence que cette substance peut exercer sur l'extraction des protéines.

c. Un muscle dépourvu de son ATP par traitement au glycérol présente des modifications d'extractibilité des protéines qui ne sont pas celles que l'on observe dans le *rigor* ou dans la contracture monobromacétique. L'addition d'ATP à de la pulpe de muscle traité au glycérol ne rétablit pas entièrement l'extractibilité normale des protéines.

d. L'influence de l'ATP ajouté au liquide d'extraction sur l'augmentation d'extractibilité des protéines dans les cas b et c ci-dessus ne se manifeste que pour autant que le liquide d'extraction ait une force ionique ≥ 0.5 . L'addition de cette substance à une solution de $\mu 0.35$ n'a aucune influence sur le degré d'extractibilité des protéines musculaires.

Si l'on ajoute à ces faits d'autres observations décrites antérieurement, à savoir:

a. que dans un muscle contracté par décongélation, l'extractibilité des protéines musculaires est normale alors que tout l'ATP est hydrolysé (CREPAX ET HÉRION⁸),

b. que les effets de l'ATP sur l'extractibilité des protéines des muscles contracturés peuvent être obtenus en utilisant des électrolytes différents de KCl (KI, pyrophosphates, DUBUSSON⁹),

l'on peut conclure tout d'abord que le parallélisme entre modification d'extractibilité des protéines, hydrolyse de l'ATP musculaire et augmentation de tension n'est pas un phénomène général. En outre, le fait que l'addition *in vitro* d'ATP ne rétablit l'extractibilité normale dans certains cas que si la force ionique de la solution d'extraction dépasse $\mu 0.50$ et que des électrolytes tels le KI et les pyrophosphates produisent les mêmes effets, donnent à penser que l'ATP agit en renforçant le pouvoir de dissociation des électrolytes sur les forces de liaison qui maintiennent certaines protéines en place dans le muscle.

RÉSUMÉ

1. Si l'on ralentit l'établissement du *rigor mortis* par l'injection préalable de myanésine, l'extractibilité des protéines reste normale longtemps encore après que tout l'ATP du muscle a disparu.

2. Dans un muscle contracturé par le monobromacétate, l'extractibilité des protéines est la même que celle d'un muscle en *rigor* complet, bien qu'il y ait encore une notable proportion d'ATP présent dans le tissu.

3. L'extractibilité des protéines d'un muscle dépourvu de son ATP par traitement préalable au glycérol n'est pas celle que l'on observe dans le *rigor* complet ou dans la contracture monobromacétique.

4. Dans un muscle contracté par décongélation, l'extrait musculaire est normal, bien que tout l'ATP soit hydrolysé.

5. L'addition d'ATP aux solutions d'extraction ne rétablit l'extractibilité des protéines des muscles en *rigor* ou contracturés par le monobromacétate que si la force ionique de la solution ≥ 0.50 . En ce qui concerne les muscles traités au glycérol, l'addition d'ATP ne rétablit pas l'extractibilité normale des protéines.

Ces faits sont discutés. Il est conclu:

a. que dans l'action de l'ATP sur l'extractibilité des protéines musculaires, tout se passe comme si cette substance agissait en renforçant le pouvoir de dissociation des électrolytes sur les forces de liaison qui maintiennent ces protéines en place dans le muscle;

b. que les modifications d'extractibilité caractéristiques des muscles contracturés ne sont pas dues à l'hydrolyse plus ou moins complète de l'ATP qui accompagne ces contractures.

SUMMARY

1. When the establishment of *rigor mortis* is retarded by previous injection of myanesine, the extractability of the proteins remains normal for a long time after all the ATP has disappeared from the muscle.

2. In a muscle contracted by monobromacetate the extractability of the proteins is the same as that of a muscle in a state of complete *rigor*, although a noticeable amount of ATP is still present in the tissue.

3. The extractability of the proteins of a muscle deprived of its ATP by previous treatment with glycerol is not the same as that observed in complete *rigor mortis* or in contraction by monobromacetate.

4. In a muscle contracted by freezing, the muscle extract is normal, although the ATP is hydrolysed.

5. The extractability of proteins from muscles in *rigor mortis* or contracted by monobromacetate is only re-established by addition of ATP to the extraction solutions when the ionic strength of the solution is equal to or greater than 0.50. With glycerol-treated muscles, addition of ATP does not re-establish the normal extractability of the proteins.

These facts are discussed and the following conclusions made:

a. Everything points to the action of ATP on the extractability of the proteins being a strengthening of the dissociating action of the electrolyte on the binding forces which hold the proteins in place in the muscle.

b. The characteristic changes in the extractability of contracted muscles are not due to the more or less complete hydrolysis of the ATP which accompanies these contractions.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Wenn man das Eintreten der Totenstarre (*rigor mortis*) durch vorherige Injektion von Myanesin verzögert, bleibt die Extrahierbarkeit der Proteine noch lange Zeit normal nachdem alles ATP aus dem Muskel verschwunden ist.

2. In einem durch Monobromacetat kontrahierten Muskel ist die Extrahierbarkeit der Eiweißstoffe dieselbe, wie in einem Muskel im Zustand der vollständigen Totenstarre, obwohl noch eine nennenswerte Menge ATP im Gewebe vorhanden ist.

3. Die Extrahierbarkeit der Eiweißstoffe eines Muskels, der durch Vorbehandlung mit Glycerin seines ATP's beraubt ist, ist nicht dieselbe wie bei vollständiger Totenstarre oder bei Monobromacetatkontraktion.

4. In einem durch Gefrierung zusammengezogenen Muskel, ist der Muskelextrakt normal, obwohl das ATP hydrolysiert ist.

5. Durch Zugabe von ATP zu den Extrahierlösungen wird die Extrahierbarkeit der Eiweißstoffe aus Muskeln im Zustand der Totenstarre oder der Bromacetat-Kontraktion nur dann wiederhergestellt, wenn die Ionenstärke grösser oder gleich 0.5 ist. Bei mit Glycerin vorbehandelten Muskeln stellt ATP-Zugabe die normale Extrahierbarkeit der Proteine nicht wieder her.

Diese Tatsachen werden erörtert und die folgenden Schlüsse gezogen:

a. Alles weist darauf hin, dass die Wirkung des ATP's auf die Extrahierbarkeit der Eiweißstoffe in einer Verstärkung der dissoziierenden Wirkung der Elektrolyte auf die Bindungskräfte besteht, welche die Proteine im Muskel festhalten.

b. Die charakteristischen Veränderungen der Extrahierbarkeit der kontrahierten Muskel sind nicht auf die mehr oder weniger vollständige Hydrolyse des ATP's zurückzuführen, welche diese Kontraktionen begleitet.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ P. CREPAX, J. JACOB ET J. SELDESLACHTS, *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 410.
- ² M. DUBUISSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 489.
- ³ M. DUBUISSON, *Experientia*, 2 (1946) 258.
- ⁴ T. ERDÖS, *Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged*, 3 (1943) 51.
- ⁵ E. C. BATE-SMITH ET J. R. BENDALL, *J. Physiol.*, 106 (1947) 177.
- ⁶ E. C. BATE-SMITH ET J. R. BENDALL, *J. Physiol.*, 110 (1949) 47.
- ⁷ M. BORBIRO ET A. SZENT-GYÖRGYI, *Biol. Bull.*, 96 (1949) 162.
- ⁸ P. CREPAX ET A. HÉRION, *Biochim. Biophys. Acta*, 6 (1950) 54.
- ⁹ E. C. BATE-SMITH ET J. R. BENDALL, *J. Physiol.*, 107 (1947).
- ¹⁰ E. MANGOLD, *Pflüg. Arch.*, 196 (1922) 200.
- ¹¹ E. C. BATE-SMITH, *J. Physiol.*, 96 (1939) 176.
- ¹² A. SZENT-GYÖRGYI, *Biol. Bull.*, 96 (1949) 140.
- ¹³ M. DUBUISSON, *Arch. Internat. Physiol.*, 52 (1942) 439.
- ¹⁴ M. DUBUISSON ET J. JACOB, *Rev. Canad. Biol.*, 4 (1945) 426.
- ¹⁵ M. DUBUISSON, O. DISTÈCHE ET O. DEBOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 6 (1950) 97.
- ¹⁶ I. BANGA ET A. SZENT-GYÖRGYI, *Stud. Med. Chem. Univ. Szeged*, 1 (1941) 5.
- ¹⁷ J. GODEAUX, *Arch. Internat. Physiol.*, 58 (1950).
- ¹⁸ M. DUBUISSON, *Arch. Internat. Physiol.*, 54 (1948) 93.

Received September 29th, 1950