

Der Kurvenverlauf für das Reaktionsgleichgewicht Invertseife-Lecithin zeigt, daß es sich hier um keine Adsorptionsreaktion, sondern um eine andersartige wohl chemische Reaktion handeln muß.

Als erstes Beispiel der Reaktion der Invertseife mit Zellen wurden die Erythrozyten gewählt, von denen anzunehmen ist, daß in ihren Oberflächen reichlich Lipoiden vorhanden sind.

Die Analyse des Reaktionsgleichgewichtes ergibt einen formal völlig gleichen Kurvenverlauf bei den Erythrozyten wie beim Lecithin; die Kurven sind nur parallel verschoben wegen der unterschiedlichen „Konzentration“ der beiden Objekte. Es läßt sich somit zeigen, daß die Invertseifenreaktion an den Erythrozyten mit großer Wahrscheinlichkeit auf einer Reaktion mit deren Lipoiden beruht.

Als Ausdruck dieser Reaktion erfolgt die Hämolyse, die beim steilen Abfall der Kurve beginnt. Ihr entspricht im Lecithinversuch ein Lösen der Lecithinsuspension durch die Invertseife zu einer klaren Lösung.

Als weiteres Beispiel der Invertseifenwirkung auf Zellen wurde die Reaktion mit Hefezellen geprüft.

Das Reaktionsgleichgewicht mehrerer Konzentrationsintervalle ergibt eine Kurve, die einer reinen Adsorptionsisotherme entspricht. Mit Hilfe der Bestimmung der Oberflächenspannungsveränderung der nicht adsorbierten Lösung läßt sich, wie später berichtet wird (BECK¹), eine gewisse Abweichung der Reaktionsgleichgewichte von der reinen Adsorption nachweisen. Diese Anhaltspunkte genügen jedoch noch nicht, um zu beweisen, daß neben der Adsorption noch andere spezifische Reaktionen zwischen der Invertseife und den Hefezellen stattfinden.

Es ergibt sich, daß es mit dieser Versuchsanordnung gelingt, eine spezifische Reaktion der Invertseife mit einem bestimmten Bestandteil der Zelle in Ausnahmefällen – Erythrozyten – nachzuweisen, und diese Reaktion als Ursache der Wirkung zu bezeichnen. In anderen Fällen treten Adsorptionsvorgänge in den Vordergrund, die wohl für den Wirkungsverlauf bedeutungsvoll sind, die aber nicht erkennen lassen, ob sie den eigentlichen Wirkungsvorgang darstellen oder ob sich neben der Adsorption noch andere spezifische Angriffspunkte verbergen.

G. E. BECK und R. MEIER

Pharmakologische Anstalt der Universität Basel, den 11. Juli 1947.

Summary

Reaction equilibria were established between an invert soap on the one side and carbon, lecithin, erythrocytes and yeast cells on the other side. From the parallelism of the invert soap-lecithin and the invert soap-erythrocytes curves a specific reaction of the invert soap with the lipoids of the erythrocytes may be concluded, whereas the invert soap-yeast cells curves yield a pure adsorption isotherm corresponding to the invert soap-carbon curve.

¹ G. E. BECK, Inaugural-Diss., Basel 1947.

Accessibilité, solubilité et association, *in situ*, de la myosine

Nous avons montré, ici-même¹, que la myosine de WEBER-EDSALL, préparée à partir de muscles de Lapin selon la méthode de GREENSTEIN et EDSALL², révèle,

¹ M. DUBUISSON, Exper. 2, 258 (1946).

² J. P. GREENSTEIN et J. T. EDSALL, J. biol. Chem. 123, 397 (1940).

à l'électrophorèse, trois composantes que nous avons dénommées myosines α , β et γ , et que la stimulation du muscle conduit à l'obtention d'échantillons de myosine *dépourvus* de la composante γ et *très pauvres* en myosine α *par rapport à la quantité de myosine β* .

L'un de mes collaborateurs, J. JACOB, utilisant des extraits totaux de muscles de Lapin, n'ayant subi aucun autre traitement que la dialyse – l'extraction et la dialyse étant effectuées avec des solutions de force ionique moyenne (μ : 0,35) – a observé que l'électrophorèse permet d'y distinguer la présence très nette des myosines α et β (la composante γ , peu abondante, ne se distingue pas avec certitude dans ces extraits totaux). Les extraits de muscles stimulés, traités dans les mêmes conditions, sont caractérisés par l'absence complète de la myosine α et par une très importante diminution de la composante β *par rapport au taux protidique total de ces extraits*¹.

L'ensemble de ces recherches conduisait ainsi à penser que les trois constituants de la myosine subissent, dans la fatigue, des modifications qui ne sont pas quantitativement équivalentes.

La note que voici apporte une contribution supplémentaire à l'étude du comportement de la myosine β .

Seuls les muscles de la jambe du Lapin ont été utilisés, leur stimulation étant fort aisée par faradisation du nerf sciatique, dégagé au niveau de la hanche. Les muscles sont ou bien hâchés au moulin genre Latapie, ou bien congelés puis coupés au moyen d'un microtome à grande surface coupante, en tranches d'environ 0,04 mm d'épaisseur. Les extraits sont préparés, à 0° C, en agitant la pulpe, avec 3 volumes de solution d'extraction (H₂O ou solutions salines de forces ioniques diverses). Le temps d'extraction ne dépasse pas 20 minutes, de façon à éviter l'apparition de myosine α , qui correspond probablement² à l'actomyosine de BANGA et SZENT-GYÖRGYI³. Après centrifugation, les extraits sont dialysés, pendant 24 heures, contre une solution de μ 0,50 et de p_H 6,85 (NaCl: 0,4 m; Na₂HPO₄: 0,029 m; NaH₂PO₄: 0,013 m). Les extraits dialysés sont centrifugés et l'N protidique est estimé au micro-Kjeldahl, après cinq heures de digestion.

1° Quel que soit le traitement qu'ait subi le muscle avant l'extraction (muscle refroidi brusquement dans l'eau glacée avant le hâchage; muscle refroidi lentement par un séjour d'une heure dans la chambre froide; muscles non refroidis; muscles refroidis lentement puis congelés à -15° C et coupés au microtome; muscles normaux; muscles stimulés), les extraits préparés avec de l'eau⁴ donnent toujours les mêmes valeurs comprises entre 120 à 135 mg d'N protidique pour 100 cm³ d'extrait. On voit: a) que les protéines solubles dans l'eau ($\mu \leq 0,05$) sont aisément accessibles et b) ne subissent pas de modifications quantitatives au cours du travail musculaire. Ce dernier point est conforme aux études faites par KAMP⁵.

2° Il en est tout autrement, si les extraits sont préparés avec des solutions de force ionique μ : 0,50⁶ (KCl 0,50 m + NaHCO₃ 0,03 m; p_H : 8,57). La pulpe fournie par le microtome est beaucoup plus riche en protéines que celle fournie par le moulin à viande:

¹ J. JACOB, Exper. 3, 241 (1947).

² M. DUBUISSON, sous presse dans: Exposés annuels de Bioch. méd., sér. IX, Paris 1947.

³ I. BANGA et A. SZENT-GYÖRGYI, Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged, 1, 5 (1941/42).

⁴ 1 volume de muscle, dont la force ionique est $\sim 0,25$ (M. DUBUISSON, Arch. int. Physiol. 52, 439 [1942]) + 3 vol. H₂O distillée; force ionique finale: μ : 0,05 – 0,06.

⁵ F. KAMP, Bioch. Z., 307, 226 (1941).

⁶ Force ionique finale: 0,44.

450 mg% au lieu de 370 mg%. Le premier chiffre est aussi toujours plus constant que le second. Il en résulte que les protéines solubles entre μ 0,06 et μ 0,44 doivent appartenir, en tout ou en partie, à des structures spatialement peu accessibles aux solutions salines ou au dehors desquelles ces protéines diffusent difficilement.

Que le muscle soit hâché au moulin ou débité au microtome, on extrait toujours moins de protéines d'un muscle stimulé que d'un muscle normal: 325 contre 370, dans le premier cas; 345 contre 450 mg% dans le second. Les modifications apportées par la stimulation ne sont

4° L'étude électrophorétique des divers extraits de muscles normaux et stimulés conduit à constater que les extraits de μ 0,06, 0,18, 0,33 et 0,44 ne diffèrent entre eux que par la présence de proportions différentes de myosine β . La myosine α en est pratiquement absente (à cause de la courte durée des extractions) et la myosine γ n'est pas visible avec certitude (à cause de la faible concentration de cette protéine dans les extraits totaux). Les modifications d'accessibilité spatiale et de solubilité que nous avons constatées dans les expériences ci-dessus portent donc exclusivement sur cette com-

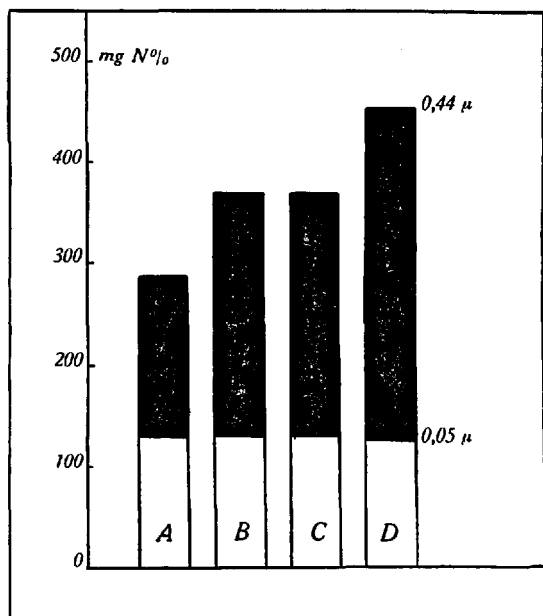


Fig. 1. A muscles brusquement plongés dans l'eau glacée, avant le hâchage au moulin à viande. B muscles non refroidis avant le hâchage. C muscles conservés 60 minutes dans la chambre froide, avant le hâchage. D muscles conservés 60 minutes dans la chambre froide, puis congelés et coupés au microtome.

pas dues à des différences d'accessibilité entre structures de muscles normaux et stimulés, car la pulpe de muscles stimulés, hâchée ou coupée au microtome, fournit approximativement les mêmes valeurs (entre 325 et 345 mg % d'N). Donc la stimulation apporte des changements de solubilité des protéines faisant partie de structures spatialement peu accessibles, indépendamment de ces difficultés d'accessibilité spatiale.

Les muscles brusquement refroidis dans l'eau glacée se comportent, à de point de vue, comme des muscles stimulés. Cette méthode de « glaçage », souvent utilisée¹ est donc à rejeter complètement lorsqu'il s'agit d'étudier la biochimie des muscles normaux.

3° L'utilisation de solutions d'extraction de forces ioniques intermédiaires: 0,35 (NaCl: 0,25 m; Na_2HPO_4 : 0,029 m; NaH_2PO_4 : 0,013 m; p_{H} : 6,75) et 0,15² (NaCl: 0,05 m; Na_2HPO_4 : 0,029 m; NaH_2PO_4 : 0,013 m; p_{H} : 7,04), conduit aux mêmes résultats qualitatifs: a) les extraits de muscles coupés au microtome sont toujours plus riches que les extraits de muscles hâchés et b) les extraits de muscles stimulés sont toujours plus pauvres que les extraits de muscles normaux.

¹ Par exemple par I. BANGA et A. SZENT-GYÖRGYI, voir note 3, page précédente.

² Ce qui correspond, en fait, à des forces ioniques d'extraction respectivement de 0,33 et de 0,18.

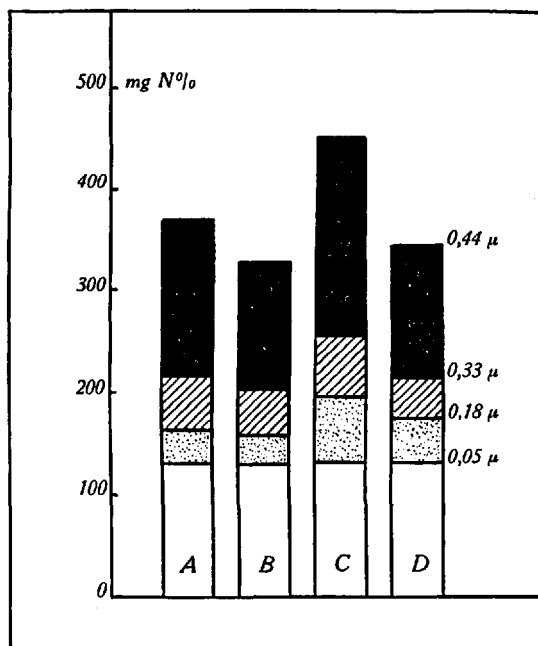


Fig. 2. A et B muscles hâchés; A m. au repos; B m. stimulés. C et D muscles coupés au microtome; C m. au repos; D m. stimulés.

posante β . Nous devons en conclure a) qu'elle se trouve rassemblée dans des structures difficilement accessibles, b) que dans des conditions d'accessibilité identiques, son passage en solution est fonction de la force ionique des solutions d'extraction et moindre dans les muscles stimulés que dans les muscles normaux, ce qui confirme les observations antérieures de JACOB.

Cependant, la myosine β isolée par fractionnement de la myosine de WEBER-EDSALL par le sulfate d'ammonium¹ est très soluble à μ : 0,25. Pour cette valeur, l'extraction de la myosine β du muscle devrait être complète. Or, elle croît encore aux forces ioniques supérieures. De plus, le gradient électrophorétique de la myosine β isolée¹ se révèle beaucoup plus homogène que celui de la myosine β des extraits totaux. Tout ceci indique qu'entre la myosine β isolée par fractionnements et la myosine β telle qu'elle existe *in situ* dans le muscle, il existe de profondes dissemblances. Il est vraisemblable que, dans ce dernier cas, elle fait partie de structures complexes dont elle se dissocie d'autant plus aisément que l'on emploie des solutions salines plus concentrées. Ces structures subiraient, dans la fatigue anaérobie, des modifications telles que les solutions salines deviendraient beaucoup moins efficaces.

¹ Voir M. DUBUISSON, Exper. 2, 412 (1946).

En résumé, l'étude du comportement de la myosine β *in situ* montre:

a) qu'elle est d'autant plus accessible que la pulpe utilisée a été plus finement divisée, ce qui implique sa distribution dans des structures partiellement inaccessibles aux solutions salines;

b) qu'elle existe, dans ces structures, sous la forme de complexes dont la dissociation est provoquée par les solutions salines, proportionnellement à leur concentration;

c) que la fatigue anaérobie ne modifie pas l'accessibilité spatiale de ce complexe, mais sa structure, de telle sorte qu'au même p_H , les solutions de même force ionique sont moins actives sur la pulpe des muscles fatigués que sur celle des muscles normaux;

d) que la myosine β , livrée par ce complexe, est beaucoup moins homogène, à l'électrophorèse, que la myosine β , isolée par fractionnement au sulfate d'ammonium, de la myosine de WEBER-EDSALL.

M. DUBUISSON

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège), le 1^{er} juillet 1947.

Summary

β myosin *in situ* is the more accessible to saline solutions the more finely the muscular substance has been divided, which implies its localization in structures difficult of access.

This myosin exists in such structures in the form of a complex, the dissociation of which is effected by the saline solutions in proportion to their ionic strength.

Fatigue does not modify the spatial accessibility of this complex but does modify its structure, so that, for some values of p_H , solutions of equal ionic concentration are less active on the substance of stimulated muscles than on that of normal ones.

The β myosin derived from that complex is much less homogenous in the Tiselius-Longworth apparatus than the β myosin isolated from the WEBER-EDSALL myosin by fractionating with ammonium sulfate.

Rabbits' muscles suddenly cooled by immersion in ice water give extracts similar to those of stimulated muscles.

Observations expérimentales sur l'apnée acapnique chez le Chien

1° Sinus carotidien et durée de l'apnée acapnique. Selon la théorie classique de DOUGLAS et HALDANE¹, l'apnée provoquée par une hyperventilation est interrompue par l'action conjuguée de deux facteurs: le besoin d'oxygène et le retour de la teneur du sang en CO_2 vers sa valeur normale; le premier de ces facteurs sensibilise le centre respiratoire à des taux de CO_2 normalement insuffisants pour provoquer une stimulation respiratoire. Depuis les travaux de C. HEYMANS et de ses collaborateurs², confirmés par de nombreux auteurs, il est unanimement admis que l'hypoxémie agit comme stimulant respiratoire par la voie réflexe des chimio-récepteurs des zones sino-carotidiennes et cardio-aortiques.

Nous avons observé, dans nos expériences, que l'élimination des chimio-récepteurs a pour conséquence de prolonger la durée de l'apnée acapnique, et cela, vraisemblablement, jusqu'au moment où le taux de CO_2 sanguin atteint un taux suffisant pour exciter, à lui seul,

un centre respiratoire lui-même directement déprimé par le besoin d'oxygène.

Si l'alkalose produite par l'hyperventilation est suffisamment profonde (hyperventilation de longue durée), l'apnée consécutive est prolongée au point d'entraîner la mort asphyxique de l'animal privé de ses chimio-récepteurs, alors qu'une hyperventilation aussi profonde, et même plus profonde, était parfaitement surmontée par l'animal normal.

Cet allongement de l'apnée est déjà déterminé par la seule énervation des sinus carotidiens: le fait que cette énervation suffise à provoquer la mort en apnée bien que les chimio-récepteurs cardio-aortiques soient encore présents, le fait encore que la bivagotomie cervicale n'a pas produit, dans nos expériences, de résultats bien caractérisés sous ce rapport, démontrent le caractère essentiel du rôle des chimio-récepteurs sino-carotidiens dans la réponse respiratoire réflexe à l'hypoxémie. Cette différence d'efficacité des deux groupes de chimio-récepteurs concorde avec les observations de WRIGHT³ et GERNANDT⁴.

Les apnées «mortelles» ainsi réalisées sont caractérisées à la période préterminale, par une hausse intense, rapide et transitoire du tonus inspiratoire des muscles thoraciques et diaphragmatiques. Sur cette hausse peuvent se greffer des mouvements respiratoires extrêmement menus et tout à fait inefficaces.

2° Activités respiratoires toniques au cours de l'hyperventilation et de l'apnée acapnique. Au cours de l'hyperventilation pulmonaire, nous avons constaté que le thorax de l'animal tend à adopter une position de plus en plus expiratoire. Pendant l'apnée consécutive, le tonus des muscles inspiratoires revient progressivement vers la normale. Ces phénomènes ne sont pas ou peu affectés par l'énervation des sinus carotidiens ni par la bivagotomie cervicale: ils sont vraisemblablement en rapport avec une action centrale du CO_2 .

Pendant l'hyperventilation et pendant l'apnée, et se superposant aux variations continues dont nous venons de parler, nous avons observé très fréquemment des variations rythmiques du tonus des muscles respiratoires. Ces variations se succèdent avec une fréquence identique à celle des mouvements respiratoires spontanés de l'animal. Elles persistent, inchangées, pendant tout le cours d'hyperventilations très prolongées. L'énervation des sinus carotidiens n'a pas d'effet appréciable et ces variations rythmiques du tonus des muscles respiratoires existent pendant une apnée mortelle jusqu'à la phase préterminale. La section des nerfs vagues cervicaux modifie leur fréquence et leur amplitude au même titre que celle des mouvements respiratoires spontanés.

Il semble donc que, en dehors de l'activité dynamique (mouvements respiratoires spontanés efficaces) du centre respiratoire et d'une activité tonique continue, il existe une activité rythmique tonique de ce même centre.

3° Variations de la pression artérielle générale en cours de l'hyperventilation et de l'apnée acapnique. HEYMANS, PANNIER et VAN DEN OSTENDE⁴ ont montré que, chez le chien normal, l'alkalose et l'acapnie ne provoquent pas d'hypotension artérielle, lorsque l'hyperpnée est déterminée en évitant des interférences circulatoires d'origine mécanique pulmonaire et thoracique. Après avoir vérifié ce fait, nous avons réalisé, chez les mêmes animaux, des hyperpnées en tous points comparables, après avoir

¹ Cf. en particulier J. J. BOUCKAERT, K. S. GRIMSON, C. HEYMANS et A. SAMAN, Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap. 65, 63 (1941).

² S. WRIGHT, Quart. J. exp. Physiol. 24, 169 (1934).

³ B. GERNANDT, Acta Physiol. Scand. 11, suppl. XXXV (1946).

⁴ C. HEYMANS, R. PANNIER et A. VAN DEN OSTENDE, Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap. 72, 430 (1946).

¹ C. G. DOUGLAS et J. S. HALDANE, J. Physiol. 38, 401 (1909).

² Cf. en particulier J. J. BOUCKAERT, K. S. GRIMSON, C. HEYMANS et A. SAMAN, Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap. 65, 63 (1941).