

**ACTION DES CYANURES SUR LA SENSIBILITE
DU MUSCLE ISOLE DE VER DE TERRE
A L'ION POTASSIUM**

Kemal Ozan*

Introduction

A la suite de recherches antérieures^{16,17,18,19} nous avons montré avec Monsieur le Professeur G. Valette que l'effet contracturant du chlorure de potassium sur les fibres musculaires lisses et striées s'accroît notablement, lorsque de très faibles doses d'inhibiteurs enzymatiques (par exemple le cyanure de potassium) sont laissées en contact avec l'organe avant addition de chlorure de potassium. Nous avons essayé d'expliquer ce phénomène à la lumière des travaux de Hodgkin et Keynes⁹ concernant les effets des inhibiteurs enzymatiques sur les transports actifs des cations K^+ et Na^+ . En effet, les recherches récentes montrent que si l'on inhibe certaines phases du métabolisme énergétique des cellules, on assiste à une modification de la composition ionique du milieu intérieur qui se rapproche de plus en plus de celle du milieu extérieur, principalement en ce qui concerne les taux en sodium et en potassium. Par exemple, les cyanures qui inhibent les processus de respiration, inhibent l'efflux de sodium et l'influx de potassium dans le muscle strié de Grenouille ou dans les muscles de mammifères (Conway³; Mc Lennen¹⁰).

D'autre part, Bacq avait déjà mis en évidence certains agents tels que la Véatrine, l'Aconitine etc... qui sensibilisent les fibres musculaires aux ions K^+ . Ces diverses substances sont considérées par l'auteur comme des sensibilisateurs du muscle aux ions K^+ . Le groupe des sensibilisateurs au potassium n'est pas homogène et le mécanisme de la sensibilisation au potassium n'est pas encore parfaitement éclairci mais nous voulons rappeler brièvement quelques interprétations émises à ce sujet:

* Dr. Méd. Vét., Faculté de Médecine Vétérinaire, Laboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie. Ankara - Turquie

— D'après Bacq la substance libérée pendant la sensibilisation des fibres musculaires n'est certainement pas l'Acétylcholine. Car, les sensibilisateurs au potassium n'ont pas d'action sur la cholinestérase et leurs effets sensibilisants persistent en présence du curare et de l'atropine (Bacq¹). L'auteur a été amené à expliquer ce phénomène par la libération du potassium. Les fibres musculaires sont relativement sensibles à de très faibles doses de potassium. C'est ainsi que les ions K^+ libérés pendant la phase d'excitation ne pourraient plus se fixer aussi rapidement sur les cellules intoxiquées pour s'engager dans des complexes protéiques. Ils persisteraient alors sous forme ionisée au voisinage des membranes et maintiendraient ainsi un état d'excitation. L'équilibre se rétablirait beaucoup plus lentement que dans le cas d'une cellule normale.

— D'après l'hypothèse "Calcium" de Gordon et Welsch⁷, la sensibilisation aux ions K^+ n'est qu'un symptôme secondaire à un trouble de la régulation du calcium cellulaire. En effet, c'est un fait sur lequel les auteurs insistent, le comportement d'un muscle décalcifié ressemble beaucoup à celui du muscle sensibilisé au potassium. Selon l'hypothèse de ces auteurs, les sensibilisateurs aux ions K^+ empêchent dans ces conditions le Ca^{++} de reprendre sa place à la surface de la membrane après le spike, maintenant ainsi un état de dépolarisation.

— Quant à l'hypothèse "Sodium" de Hodgkin⁸ et de ses collaborateurs, le voltage du potentiel d'action (30 mV environ) d'une fibre musculaire isolée est moindre que le potentiel de repos (90 mV). Ce fait ne peut s'expliquer que par la pénétration d'ions Na^+ chassant ensuite les ions K^+ . Donc, le processus de récupération consisterait essentiellement dans l'expulsion des ions Na^+ qui ont pénétrés dans la fibre au moment de l'excitation. Dès lors, on peut concevoir que l'action essentielle des sensibilisateurs au potassium consiste en un ralentissement de la sortie des ions K^+ et un ralentissement corrélatif de la phase de récupération par conséquent de l'expulsion des ions Na^+ . Selon Hodgkin et Keynes⁹ les inhibiteurs métaboliques exercent leurs effets sur cette dernière phase. En effet, les recherches récentes faites à l'aide d'isotopes radio-actifs par Carey et Conway^{2,5} et par Hodgkin et Keynes⁹ ont montré que les fibres musculaires ou nerveuses expulsent les ions Na^+ et réabsorbent les ions K^+ lorsqu'elles sont plongées dans une solution physiologique. Dans ces conditions, si on fait agir sur l'organe des poisons qui inhibent un ou plusieurs processus métaboliques, il est possible de réduire ou de supprimer le transport actif du Na^+ et du K^+ au travers de la membrane cellulaire. Et c'est la

raison pour laquelle nous avons été amenés à étudier au cours de nos recherches antérieures^{11,12,13} les effets de divers inhibiteurs du métabolisme intermédiaire, sur les effets contracturants exercés sur la fibre musculaire lisse ou striée par les agents pharmacologiques tels que: les sels de potassium, l'histamine etc...

Actuellement, nous avons voulu réaliser dans le présent travail des résultats analogues sur le muscle isolé de ver de terre. Les vers de terre qui vivent dans une atmosphère pauvre en O₂, mais non dépourvue d'O₂, sont très résistants à l'anoxie et au cyanure. De ce fait, nous avons pensé que l'on pouvait manipuler plus facilement in vitro sur le muscle de ver de terre avec les cyanures, leurs effets toxiques étant plus lents à apparaître sur ce dernier muscle que sur le muscle isolé de mammifères, celui-ci ayant une grande sensibilité à l'anoxie.

D'autre part, les tissus des vers de terre, comme ceux des mammifères, du point de vue de la concentration ionique, présentent un milieu intracellulaire plus riche en K⁺ et plus pauvre en Na⁺; tandis que c'est l'inverse pour le milieu extra-cellulaire (Tableau: 1). Il nous semble donc que la répartition inégale des ions entre le milieu intra et extra-cellulaire chez les vers est due sans doute à un mécanisme identique à celui des mammifères.

	K	Na	Ca	Mg	Cl
Sang	18.8	41.3	8.5	5.8	14.3
Liquide coelomique	5.9	80.5	11.2	32.6	22.8

Tableau: 1. Concentration de certains liquides extra-cellulaires en K,Na,Ca,Mg,Cl exprimée en mEq/l chez les vers de terre (Reinberg^{14,15})

Matériel Et Méthode

Nous avons réalisé nos résultats sur les muscles isolés de vers de terre comme nous l'avons dit plus haut. Nous rappellerons quelques caractères anatomiques et physiologiques de ces vers^{6,20}. Leur corps est formé de segments successifs (environ 143). L'anneau terminal antérieur porte la bouche; la tête renferme deux ganglions cérébroïdes d'où partent deux cordons nerveux. Ces cordons s'accroissent pour former une chaîne nerveuse ventrale unique. Chaque segment possède un gros ganglion nerveux. De la chaîne nerveuse

sortent, à chaque segment une paire de nerfs qui se rendent à la cloison segmentaire, puis deux paires de nerfs qui innervent le système musculo - cutané (Fig. 1).

Physiologie de la locomotion des vers de terre: C'est un exemple de mouvements péristaltiques fait de l'antagonisme des muscles circulaires et des muscles longitudinaux; les contractions des muscles sont périodiques et induites d'anneau en anneau. Des ondes de contractions musculaires se propagent tout le long du corps à partir de la tête. Dans la locomotion du lombric, il faut tenir compte de deux ordres d'excitations:

a) Excitations périphériques (Proprioceptives et extéroceptives) qui provoquent une locomotion analogue à celle des Echinodermes.

b) Excitations centrales rythmées, comme celles qui commandent la locomotion d'animaux supérieurs (par exemple, les poissons).

Un ver décérébré peut se mouvoir grâce aux éléments de la chaîne ventrale qui lie chaque segment au suivant: Ceci explique l'unité de la reptation (ainsi un ver coupé en deux peut continuer à se mouvoir); mais cette locomotion est accordée aux circonstances; car le contrôle du mouvement ne peut exister que dans la mesure où la centralisation nerveuse exerce son influence.

Après un bref rappel anatomique et physiologique, nous passerons maintenant à l'explication des techniques utilisées. Pour ces dernières nous avons eu recours à deux sortes de préparations: l'une concernant les muscles longitudinaux; l'autre les muscles circulaires des vers de terre.

1- *Technique utilisée pour expérimenter "in vitro" sur les fibres longitudinales du muscle de ver de terre:*

Sur une planche, on fixe un ver de terre par ses extrémités (fig.2). On sectionne à l'aide d'une lame de rasoir un faisceau musculaire, sur la surface dorsale, entre la partie terminale et le Clitellum, marqué avec les lettres a et b sur la figure 2. On élimine les viscères; on nettoie soigneusement le fragment à l'aide de pinces et de ciseaux de façon à enlever complètement le tube digestif, la chaîne ganglionnaire etc... en ne laissant que la musculature.

Le faisceau musculaire est alors muni d'un fil à chacune de ses extrémités (fig. 3, en A). Ce faisceau doit présenter environ 20 anneaux entre les deux fils. Cette préparation est plongée dans une cuve contenant 25 ml de liquide physiologique à la température du laboratoire et soumis à un barbotage d'air. Le muscle est mis en relation avec

un myographe isotonique. La tension appliquée sur l'organe est d'un gramme.

La composition du liquide physiologique est la suivante:

NaCl	6,5 g.
KCl	0,1 g.
CaCl ₂ (anhydre)	0,25 g.
HNaCO ₃	0,2 g.
Eau dist. q.s.p.	1 lt.

Au bout de 15 mn. environ, la préparation est suffisamment décontractée pour que les essais puissent commencer. On fait alors agir des doses de chlorure de potassium de l'ordre de 1 à 5 mM. La constance de la sensibilité de la préparation étant vérifiée par l'introduction répétée de la même dose de chlorure de potassium en ménageant un intervalle de cinq minutes, suivi chaque fois d'un lavage prolongé de la préparation, on fait agir les cyanures.

2- *Technique utilisée pour expérimenter "in vitro" sur les muscles circulaires de ver de terre :*

On sectionne 4 segments entre l'anneau terminal antérieur et le Clitellum comme indiqué sur la figure 2 avec les chiffres 1,2,3,4. Ces anneaux indépendamment isolés sont réunis par des fils (fig 3, en B). Puis cette préparation est mise en relation avec un myographe isotonique dans les mêmes conditions que celles décrites à la technique précédente. L'organe ainsi préparé présente des contractions spontanées, leur amplitude et leur fréquence dépendent souvent de la sensibilité de l'organe.

Résultats

1- *Effet des cyanures sur la réactivité des fibres longitudinales du muscle isolé de ver de terre à l'égard du chlorure de potassium :*

Le chlorure de potassium exerce une action contracturante sur le muscle longitudinal isolé de ver de terre à la concentration de l'ordre de 1×10^{-3} M à 5×10^{-3} M.

Nous avons constaté à la suite de 30 expériences que le cyanure de potassium augmente l'amplitude des contractions exercées par le chlorure de potassium sur le muscle longitudinal de ver de terre. A la concentration de 10^{-8} à 10^{-7} M, cette substance qui est un inhibiteur de la cytochrome oxydase n'a qu'un lent et faible effet

sensibilisant (fig. 4). Pour des concentrations de l'ordre de 10^{-6} M, le cyanure de potassium, laissé en contact pendant 30 sc avec la préparation, sensibilise cette dernière dans d'assez fortes proportions à l'action contracturante du chlorure de potassium. Sur une préparation particulièrement sensible, nous avons constaté que l'amplitude de la contraction augmente d'environ 200 % (fig. 5). Cet effet sensibilisant du cyanure de potassium s'est montré réversible l'organe étant lavé abondamment au liquide physiologique pur.

2- *Effet des cyanures sur l'activité spontanée des muscles circulaires de ver de terre :*

"In vitro" les muscles circulaires de ver de terre présentent des contractions qui se succèdent par trains d'ondes apparaissant souvent sur des préparations comprenant une chaîne de segments indépendamment isolés et fraîchement disséqués selon la technique expliquée plus haut.

Nous avons d'abord essayé l'action du chlorure de potassium sur cette activité. Nous avons constaté que de faibles doses de chlorure de potassium (par exemple de l'ordre de 2 mM) augmentent l'amplitude des contractions spontanées (fig. 6); mais si cette dose est laissée en contact avec l'organe plus de 5 minutes, on assiste à une inhibition de l'activité spontanée au lieu d'une augmentation. Nous avons voulu savoir si le cyanure de potassium seul pouvait modifier l'activité spontanée du muscle comme le chlorure de potassium. Il faut noter que les faibles doses de cyanure qui sensibilisent le muscle à l'action du chlorure de potassium sont inefficaces sur les contractions spontanées; mais, avec d'assez fortes doses de cyanure de potassium (par exemple 10^{-3} M), nous assistons à une augmentation de l'amplitude des contractions spontanées (fig. 7).

D'autre part, de fortes doses de chlorure de potassium (par exemple de l'ordre de 1×10^{-3} à 5×10^{-3} M) exercent une action contracturante sur les muscles circulaires de ver de terre. Nous avons constaté à la suite de 15 expériences que le cyanure de potassium sensibilise assez fortement les muscles circulaires de ver de terre à l'action contracturante du chlorure de potassium. Car les doses qui n'ont presque pas d'action contracturante sur l'organe provoquent la contraction de celui-ci après l'action de 10^{-6} M de cyanure de potassium comme on le voit sur la figure 8.

Conclusion

L'explication des phénomènes observés paraît découler des conceptions dont nous avons discutées dans nos recherches précédentes^{11, 12, 13, 16, 17, 18, 19}. Ainsi, en effet, il nous semble possible d'admettre que c'est en entravant les phénomènes de repolarisation et la décontraction qui s'en suit que les inhibiteurs du métabolisme cellulaire prolongent et accroissent les effets dépolarisants des agents contracturants pharmacologiques.

Résumé

Le présent travail a eu pour objet d'étudier l'action des cyanures sur l'activité spontanée du muscle isolé de ver de terre ou sur les effets contracturants exercés sur ce muscle par les sels de potassium. Ainsi, nous avons constaté que l'effet contracturant du chlorure de potassium sur le muscle isolé de ver de terre s'accroît fortement et d'une manière réversible, si l'on ajoute préalablement de très faibles doses de cyanures.

Ce phénomène a été discuté à la lumière de l'hypothèse émise par nous lors de nos recherches précédentes^{11,12,13,16,17,18,19}. Selon cette hypothèse en entravant les phénomènes de repolarisation et la décontraction qui s'en suit que les inhibiteurs enzymatiques prolongent et accroissent les effets dépolarisants des agents contracturants pharmacologiques.

Özet

Syanürlerin İzole Solucan Kaslarının Potasyum İyonlarına Karşı Sansibilize Edilmeleri Üzerindeki Tesirleri

Radio-biyolojik metodlarla yapılmış araştırmalar^{2,3,4,5,8,9,10} hücre metabolizmasının her hangi bir fonksiyonu, inhibitör bir sübstans (KCN, FNa, NaN₃, 2-4 DNP etc...) ile bloke edildiğinde, hücre yüzeyinden potasyum ve sodyum iyonlarının geçişinin aksadığı veya tamamen durduğunu ortaya koydu. Örneğin: hücre oksidasyonunu inhibe eden syanürler, kurbağa veya memeli hayvanların kaslarında, potasyum iyonlarının hücreye girişini ve sodyum iyonlarında hücreden çıkışını durdurmaktadırlar. İşte bu sebeple biz, hücre yüzeyinden iyon geçişimine etkileyen anzim inhibitörlerinin, düz ve çizgili kasların, histamin, serotonin, asetilkolin, adrenalin ve potasyum tuzları gibi çeşitli farmakolojik ajanlara verdiği cevabı değiştirip

değiştiremeyeceğini izole organlar metodu ile in vitro olarak incelemiştik^{11,12,13,16,17,18,19}. Neticede hücre metabolizması inhibitörlerinin tesiri altında, adı geçen farmakolojik ajanların, kas fibrilleri üzerindeki kontraktüran tesirlerinin fevkalade arttığını ortaya koymuştuk. Gözlenen olayı, anzim inhibitörlerinin, hücre yüzeyinden potasyum ve sodyum iyonlarının geçişine, dolayısıyla hücre elektrikiyetine olan tesirlerle ilgili görerek, neticeleri bu hususta ortaya atılmış Hodgkin ve Keynes⁹ in hipotez ve çalışmaları ışığında tartışarak, şu şekilde bir tefsir yapmıştık: Hücrelerde repolarizasyon ve bunu takip eden dekontraksion hadiselerini aksatmak veya durdurmak suretiyle, anzim inhibitörleri, farmakolojik ajanların depolarizan tesirini uzatıp arttırmaktadırlar.

Daha önceki neşriyatlarımızda, incelediğimiz bu hadiseyi, bu defa izole solucan kasları üzerinde gerçekleştirdik. Az oksijenli ortamlarda yaşayan ve anaerobik şartlara, dolayısıyla syanürlerin toksik tesirine fevkalâde dayanıklı olan solucanların, çalışmanın gerçekleştirilmesinde, çok elverişli bir suje olacağını düşünerek, bu analidin kasları üzerinde in vitro olarak, potasyum iyonlarının karşısında, substansların tesir mekanizmalarını incelemeye yararlı metodu ortaya koyduktan sonra, yaptığımız tecrübeler neticesinde: syanürlerin çok zayıf dozlarının (1×10^{-6} M), izole solucan kası üzerindeki potasyum iyonlarının kasıltıcı tesirini % 200 nispetinde arttırdığını gördük. Aynı substans, potasyum tuzları gibi, sirküler solucan kaslarının otomatik aktivitesini de arttırmaktadır. Daha önceki neşriyatlarımız neticesinde ortaya attığımız ve yukarıda bahsettiğimiz hipotezin doğrulanmasına bir yeni referans daha olan bu çalışmamız, bize aynı şekilde barsak solucanlarına karşı kullanılan ilaçların, iyon değişimi yönünden tesirlerinin aydınlatılmasında da yararlı olacağı zannını vermektedir.

Bibliographie

- 1 - **Bacq, Z.M.** (1946): *L'atropinisation ou la curarisation du muscle strié de Grenouille n'abolit pas l'hypersensibilité aux ions K déterminée par la véatrine*. C.R.Soc.de Biol. 140, 1175.
- 2 - **Carey, M.J. et Conway, E.J.** (1956): *Net excretion of the Na ions from Na-rich muscle and its relation to the redox pump theory*. Biochem. J. 64, 41 P.
- 3 - **Conway, E.J.** (1947): *Nature and significance of concentration relations of K and Na ions in skeletal muscle*. Physiol. Rev. 37, 84.

- 4 - **Conway, E.J., Hingerty, D.** (1948): *Relation between K^+ and Na^+ levels in mammalian muscle and blood plasma.* Biochem. J. 42, 372.
- 5 - **Conway, E.J., Kernan, R.P., Zadusky, A.** (1961): *The sodium pump in skeletal muscle in relation to energy barriers.* J. Physiol. (London), 155, 263.
- 6 - **Filloux, J.C.** (1965): *Psychologie des animaux.* Presses Universitaires de France.
- 7 - **Gordon, H.T., Welsch, J.H.** (1948): *The role of ions in axon surface reaction to toxic organic compounds.* J. Cellul. a. Comp. Physiol. 31, 395.
- 8 - **Hodgkin, A.L., Katz, B.** (1949): *The effect of Na ions on the electrical activity of the giant axon of the squid.* J. of Physiol. 108,37.
- 9 - **Hodgkin, A.L., Keynes, R.D.** (1955): *Active transport of cations in Giant Axons from Sepia and Loligo.* J. Physiol. (Lond.) 128, 28-60.
- 10 - **McLennen, H.** (1956): *Physical and Chemical factors affecting potassium movements in mammalian muscle.* Biochem. Biophys. Acta, 22,30.
- 11 - **Ozan, K.** (1964): *Action des inhibiteurs enzymatiques sur la sensibilité de l'iléon de Cobaye à l'histamine.* C.R. Acad.Sc.Paris, 259, 2312-2314.
- 12 - **Ozan, K.** (1965): *Etude des effets de divers inhibiteurs du métabolisme cellulaire sur l'action d'agents pharmacologiques contracturant la fibre musculaire lisse et striée.* Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris.
- 13 - **Ozan, K.** (1965): *Effets des inhibiteurs enzymatiques sur les fibres musculaires.* Ank. Ün. Vet. Fak. Dergisi, Cilt : XII, No. : 1-2, 124-130.
- 14 - **Reinberg, A.** (1955): *Le potassium et la vie.* Presses Universitaires de France.
- 15 - **Reinberg, A.** (1964): *Le sodium et la vie.* Presses Universitaires de France.
- 16 - **Valette, G., Ozan, K.** (1964): *Effet des cyanures sur le Rectus Abdominis de Grenouille.* C.R. Acad. Sc. Paris, 258, 1648-1650.
- 17 - **Valette, G., Ozan, K.** (1964): *Effet du fluorure de sodium sur le rectus Abdominis de la Grenouille.* C.R.Acad.Sc. Paris, 258, 4382-4383.

- 18 - **Valette, G., Ozan, K.** (1964): *Action des inhibitions enzymatiques sur la sensibilité à l'ion potassium de la fibre musculaire lisse ou striée.* Association des Physiologistes, 32^{ème} Réunion. Clermont-Ferrand.
- 19 - **Valette, G., Ozan, K.** (1964): *Action of enzymatic inhibitors on muscle fibre sensitivity to potassium ion.* Nature, 204, 586-587.
- 20 - **Viaud, G.** (1962): *Cours de Psychologie animale.* Centre de Documentation Universitaire. Paris (V).

Le texte a été reçu le 8 Novembre 1965.

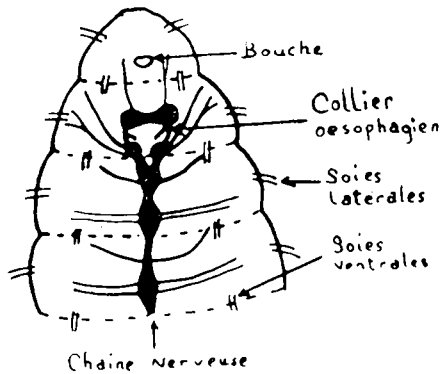


Fig. 1. Coupe Longitudinale d'un ver de terre

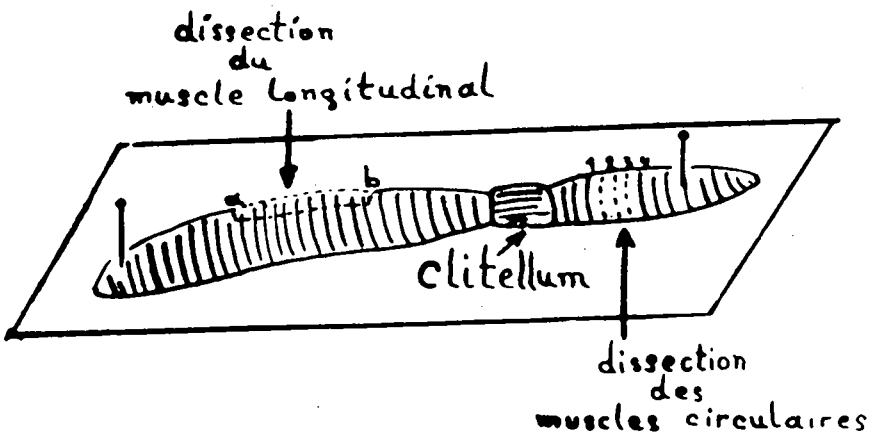


Fig. 2. Dissection du muscle longitudinal et des muscles circulaires

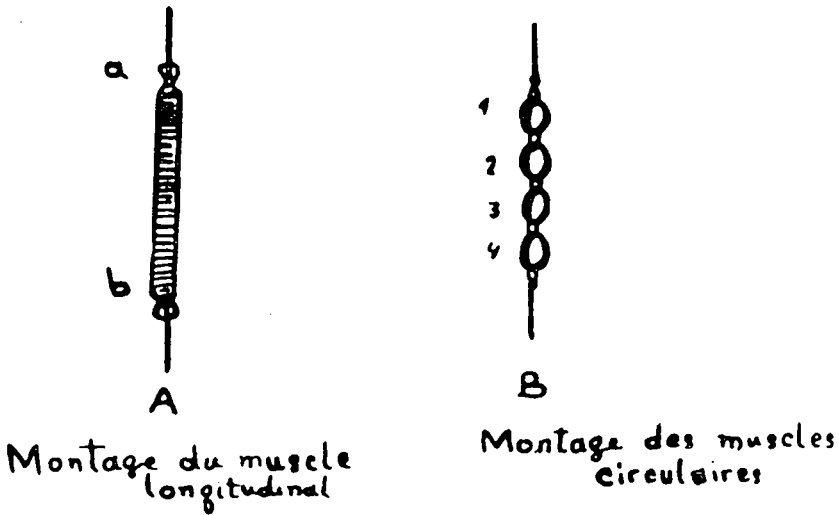


Fig. 3. Montage du muscle longitudinal et des muscles circulaires.

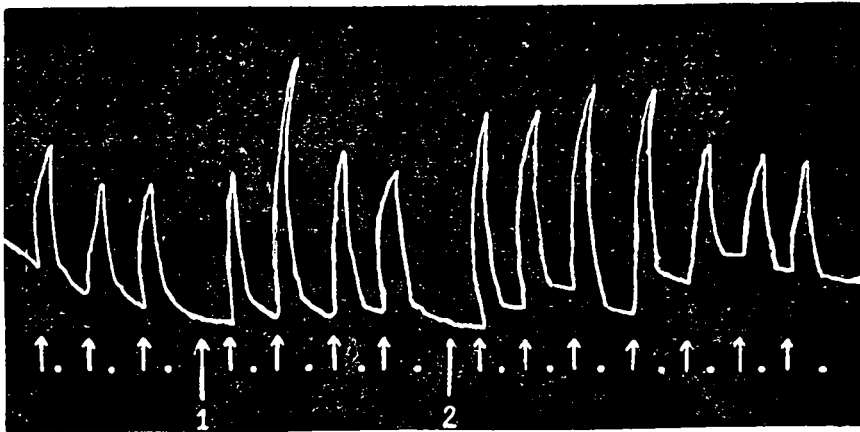


Fig. 4. Effet du cyanure de potassium avec de très faibles doses sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur le muscle longitudinal isolé de ver de terre. Aux petites flèches: Action du chlorure de potassium à la concentration de 1×10^{-3} (10 mM) En 1: Dose du cyanure de potassium 1×10^{-9} (10^{-9} M); En 2: Dose du cyanure de potassium 1×10^{-8} (10^{-8} M) pendant 30 sc. Les points indiquent le renouvellement du liquide du bain.



Fig. 5. Effet du cyanure de potassium sur l'action contracturante exercée par le chlorure de potassium sur le muscle longitudinal isolé de ver de terre. Aux petites flèches: Action du chlorure de potassium à la concentration de 1×10^{-3} (10 mM). En CN: Action de 1×10^{-7} (10^{-6} M) du cyanure de potassium pendant 30 sc. Les points indiquent le renouvellement du liquide du bain.

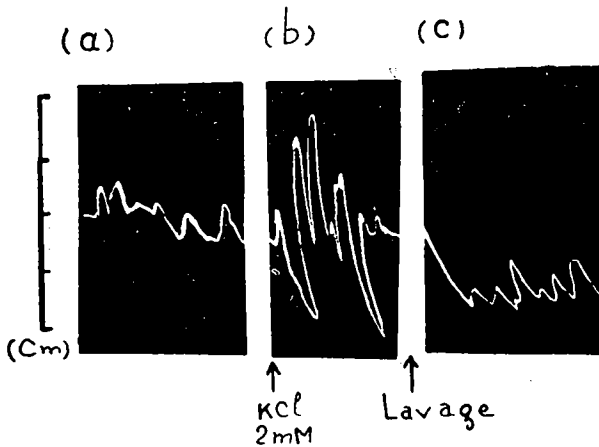


Fig. 6. Action renforçatrice du chlorure de potassium sur l'activité spontanée des muscles circulaires isolés de ver de terre. a) Activité spontanée de l'organe dans le liquide physiologique pur. b) Augmentation de l'amplitude des contractions spontanées dans le liquide physiologique additionné de 2 mM de chlorure de potassium. c) L'activité spontanée de l'organe revient à la normale après lavages successifs au liquide physiologique pur.

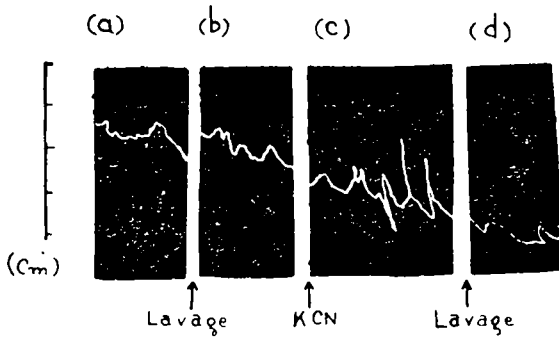


Fig. 7. Action renforçatrice du cyanure de potassium sur l'activité spontanée des muscles circulaires de ver de terre. a) et b) Activité spontanée de l'organe dans le liquide physiologique pur. c) Activité spontanée du même organe dans le liquide physiologique pur après l'action de 1×10^{-3} (10^{-3} M) de cyanure de potassium pendant 1 minute. d) Activité spontanée de la préparation après lavages successifs.

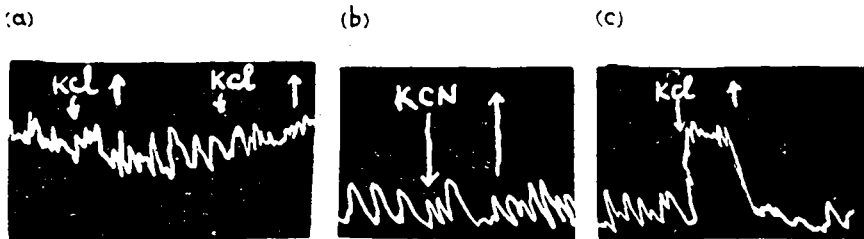


Fig. 8. Action du cyanure de potassium à l'égard du chlorure de potassium sur les muscles circulaires isolés de ver de terre. a) Action du chlorure de potassium à la concentration de 1×10^{-2} (10 mM) pendant 2 minutes; puis deux lavages. Après un repos de 5 minutes, répétition de la même dose de chlorure de potassium suivie de deux lavages successifs. b) Après un intervalle de 5 minutes, action de 1×10^{-5} (10^{-5} M) de cyanure de potassium pendant 2 minutes; puis deux lavages. c) Après un intervalle de 5 minutes, action de 10 mM de chlorure de potassium pendant 2 minutes suivi de deux lavages successifs.