

Différenciation, croissance et développement cellulaire du tissu musculaire

Le tissu musculaire représente quantitativement 40 à 50 % du poids vif des animaux domestiques. A ce titre, c'est un acteur essentiel du métabolisme protéique et énergétique. C'est aussi, avec le squelette sur lequel il s'attache, le tissu à l'origine du mouvement, capable de transformer l'énergie des nutriments en force motrice. Enfin, c'est le tissu « noble » des animaux domestiques élevés pour la production de viande. Cet article a pour but de présenter l'ensemble des processus qui accompagnent le développement musculaire depuis la vie foetale jusqu'au stade adulte.

Résumé

Le tissu musculaire est constitué de fibres allongées, cylindriques, plurinucléées et organisées en faisceaux entourés par une gaine de tissu conjonctif. On distingue différents types de fibres musculaires, selon qu'elles sont alimentées en énergie par la glycolyse en milieu anaérobie, ou par le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire en milieu aérobie. On distingue aussi les fibres à contraction lente de celles à contraction rapide.

Les cellules musculaires se développent chez l'embryon à partir de la région somitique. Les cellules myogéniques, non encore différenciées se multiplient au cours du cycle de prolifération. Les cellules qui quittent ce cycle entrent ensuite dans la phase de différenciation pour se transformer en myoblastes. Ces derniers fusionnent pour donner des myotubes qui évoluent enfin en fibres musculaires. La différenciation métabolique et fonctionnelle est sous le contrôle de l'innervation et des hormones.

La différenciation musculaire chez les bovins se produit en totalité durant la vie foetale. Le premier tiers de la vie foetale est caractérisé par la présence de myotubes, par une multiplication très rapide des noyaux et une augmentation du nombre des myotubes. Au cours du deuxième tiers de la vie foetale, les myotubes évoluent en fibres musculaires. La multiplication des noyaux est encore très intense, mais l'augmentation du nombre de fibres se ralentit. C'est à ce stade qu'apparaissent les différents types contractiles de fibres. A partir du troisième tiers de la vie foetale, le nombre de fibres reste stable, alors que le nombre de noyaux continue de s'accroître, et cela presque jusqu'au stade adulte, grâce à l'incorporation de nouveaux noyaux issus des cellules satellites. La synthèse protéique est très intense chez le fœtus, et reste à un niveau élevé après la naissance. La croissance foetale représente une phase primordiale de la croissance musculaire, avec un accroissement important du nombre de fibres et surtout du nombre de noyaux, et aussi une synthèse protéique très rapide. La croissance postnatale est surtout caractérisée par la maturation des fibres juste après la naissance, et par l'accroissement de leur diamètre jusqu'au stade adulte.

Le muscle est constitué de fibres musculaires entourées d'une mince gaine de tissu conjonctif riche en collagène, l'endomysium.

Les fibres sont regroupées en faisceaux primaires enveloppés par une gaine conjonctive (perimysium) renfermant des fibroblastes, des adipocytes (gras intramusculaire), des vaisseaux sanguins irriguant le tissu, et des nerfs moteurs. Ces faisceaux primaires sont regroupés en faisceaux secondaires enveloppés dans une gaine de perimysium un peu plus épaisse. Dumont (1986) décrit une hiérarchie des faisceaux d'ordre quatre, dont le niveau le plus élevé de gaine conjonctive correspond à la trame principale de pérимysium, visible à l'œil nu sur une coupe transversale de muscle, et définissant le grain de la viande.

Enfin, ces gros faisceaux sont regroupés dans une trame conjonctive plus épaisse, l'épimysium, pour former le muscle lui-même. Cette enveloppe conjonctive s'épaissit aux extrémités du muscle pour former les tendons et les aponeuroses qui assurent la liaison avec le squelette, et constituent le relais de la force motrice développée par le muscle.

Ces différents niveaux de tissu conjonctif, constitué de fibres de collagène forment une trame dont l'organisation est en relation étroite avec la tendreté de la viande (figure 1).

1 / Structure et caractéristiques biologiques des fibres musculaires

La fibre musculaire est une cellule plurinucléée allongée dont la section a une forme polygonale. Sa longueur peut atteindre plusieurs centimètres, et son diamètre moyen une centaine de microns chez l'adulte. Les noyaux sont localisés à la périphérie de la fibre, tandis que le centre est occupé par le système contractile

Figure 1. Structure macroscopique du muscle.

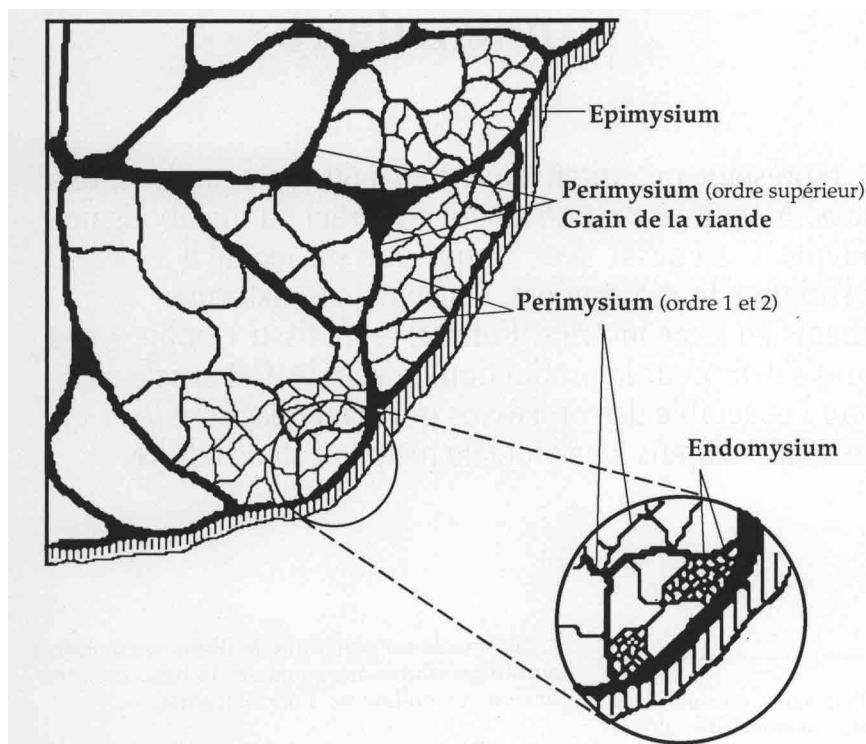
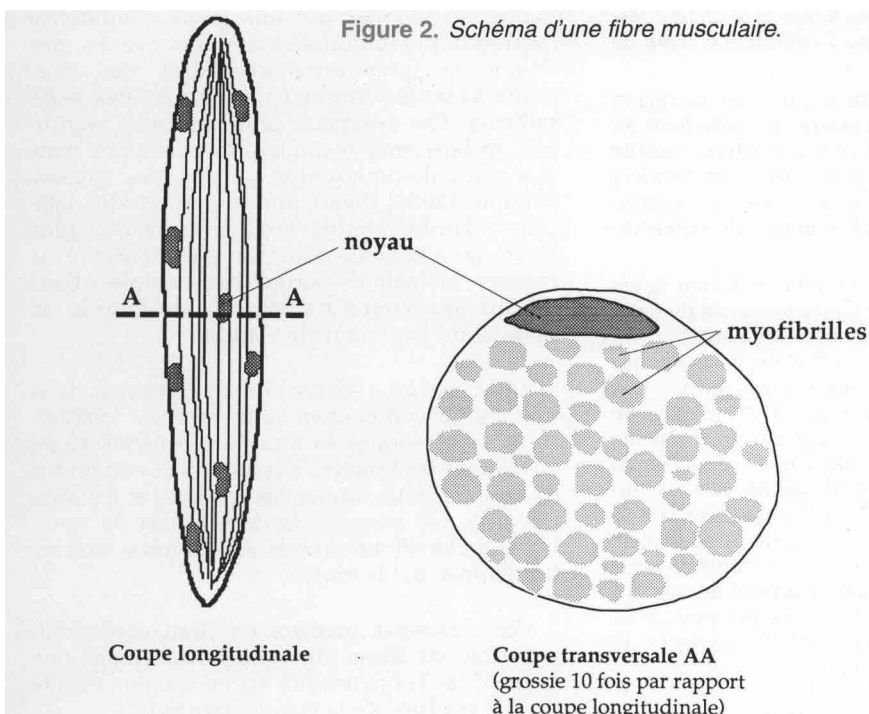


Figure 2. Schéma d'une fibre musculaire.



(figure 2). La membrane plasmique a une structure particulière, et comporte notamment une zone de jonction entre le nerf moteur et la fibre musculaire appelée plaque motrice. Cette jonction neuro-musculaire joue un rôle très important dans la différenciation.

Les invaginations de la membrane plasmique et un réseau dense de reticulum endoplasmique assurent la transmission de l'influx nerveux jusqu'au système contractile. Enfin certaines fibres musculaires sont très riches en mitochondries qui assurent l'approvisionnement en énergie nécessaire à leur contraction.

Les cellules sont caractérisées par un appareil contractile constitué de myofibrilles qui occupent la majeure partie du volume cellulaire. Ces myofibrilles sont des éléments allongés qui s'étendent sur toute la longueur de la cellule et qui sont constitués de faisceaux de myofilaments protéiques. Des myofilaments épais (myosine) et fins (actine-G, tropomyosine et troponine) s'interpénètrent dans le sens longitudinal et donnent aux coupes longitudinales un aspect strié caractéristique des muscles squelettiques (figure 3). La bande I de couleur claire, ne comporte que des filaments fins. La bande A plus foncée, est formée par l'interpénétration des deux types de filaments.

La contraction musculaire correspond à un raccourcissement de la bande I dû à un glissement des filaments fins d'actine entre les filaments épais de myosine. Ce mécanisme met en jeu la formation d'un complexe d'acto-myosine, l'énergie nécessaire étant produite par hydrolyse d'ATP en ADP au niveau de la myosine. On verra plus loin que cette activité ATPase est un critère de classification des fibres musculaires. On trouvera plus de détails sur ces aspects de la structure et du fonctionnement du muscle dans l'ouvrage de Berkalooff *et al* (1977).

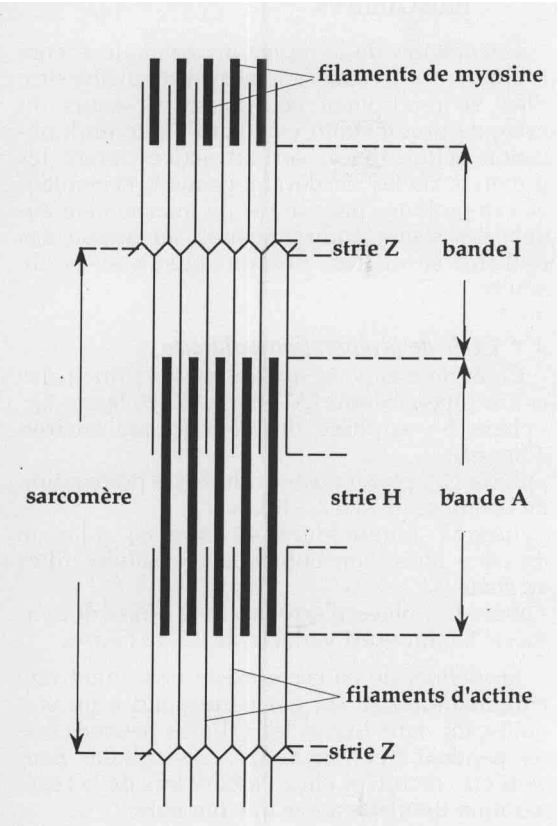
1.1 / Caractéristiques fonctionnelles et métaboliques des fibres

À l'intérieur d'un muscle donné, les fibres diffèrent par leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques (Bacou et Vigneron 1988). En dehors des différences de pigmentation (muscles plus ou moins rouges) remarquées depuis très longtemps, on constate surtout des différences dans la vitesse de contraction des fibres ainsi que dans leur métabolisme énergétique.

Caractéristiques fonctionnelles des fibres. L'activité contractile des fibres est plus ou moins rapide, selon la nature de la myosine, principale protéine constitutive des myofibrilles, et qui comporte différentes isoformes. Sans entrer dans les détails (cf revue de Bacou et Vigneron 1988), la vitesse de contraction qui est due à la nature de la myosine est étroitement corrélée à l'activité ATPasique. C'est la mesure de cette activité qui a été la plus utilisée jusqu'à présent pour déterminer les types de fibres.

Caractéristiques métaboliques des fibres. Les fibres musculaires peuvent puiser leur énergie dans le stock de glycogène musculaire, mais

Figure 3. Structure de la myofibrille.



aussi au niveau du glucose et des acides gras circulants. L'utilisation de ces nutriments énergétiques peut emprunter deux voies métaboliques, glycolytique ou oxydative. En milieu anaérobie, la glycolyse ou la glycogénolyse produisent du lactate, avec une production d'énergie assez réduite (3 ATP par mole de glucose). Ce processus très rapide permet de faire face à une demande brusque en énergie, mais ne permet pas de satisfaire une demande de longue durée. En effet, l'accumulation de lactate acidifie le muscle et tend à freiner la glycolyse. En milieu aérobie, la dégradation du glucose, des acides gras et de certains acides aminés, peut aller jusqu'au stade CO₂ et H₂O, par la voie du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire. Ce processus produit une grande quantité d'énergie (38 ATP par mole de glucose), mais se déroule plus lentement que la glycolyse.

Les fibres musculaires peuvent être classées en trois catégories selon leur type de métabo-

lisme, oxydatif, glycolytique ou encore oxydo-glycolytique. Les fibres oxydatives sont plus riches en mitochondries, tandis que les fibres glycolytiques ont un stock de glycogène plus important.

1.2 / Classification des fibres musculaires

L'association de ces deux critères de classification, activités contractile et métabolique, conduit à distinguer trois principaux types de fibres :

- des fibres lentes à métabolisme oxydatif
- des fibres rapides à métabolisme oxydatif et glycolytique
- des fibres rapides à métabolisme glycolytique

Les différentes terminologies ainsi que les principales caractéristiques de ces fibres sont rappelées dans le tableau 1.

2 / Ontogenèse et développement des fibres musculaires

Les travaux concernant l'origine, la multiplication et la différenciation des fibres musculaires ont surtout été effectués sur les rongeurs et les oiseaux. Nous nous appuyons sur ces travaux pour décrire les aspects généraux de la mise en place et du développement du tissu musculaire. Ensuite, nous ferons le point des connaissances plus restreintes concernant les mammifères domestiques et notamment les bovins.

L'origine embryonnaire des cellules musculaires est localisée au niveau du mésoderme, et plus exactement des somites (Kieny *et al* 1988). La carte présomptive des différents territoires embryonnaires est mieux connue chez les amphibiens et les oiseaux que chez les mammifères. La figure 4 représente cette carte chez l'embryon d'oiseau au stade gastrula (33 heures d'incubation). La mise en place d'un tissu met en jeu deux processus successifs distincts, la multiplication cellulaire (hyperplasie), puis la différenciation de ces cellules, qui met fin à leur pouvoir de division. Nous présentons ces deux aspects séparément pour la clarté de l'exposé, cependant il existe au même instant des cellules en cours de prolifération et des cellules en cours de différenciation.

Tableau 1. Caractéristiques biologiques des différents types de fibres et terminologie utilisée.

Types de fibres				
Terminologie	Type I Rouge lent bêta Red SO	Type IIa Rouge rapide alpha Red FOG	Type IIb Blanc rapide alpha White FG	Type IIc rapide (->) lent alpha (->) bêta F/SO
Métabolisme	oxydatif	oxydo-glycolyt.	glycolytique	oxydatif
Myosine	lente	rapide	rapide	rapide (->) lente

SO : Slow Oxydative (lente oxydative).
FOG : Fast Oxydo-Glycolytic (rapide oxydo-glycolytique).
FG : Fast Glycolytic (rapide glycolytique).

Figure 4. Position du myotome chez l'embryon de poulet au stade gastrula (stade 33 h).

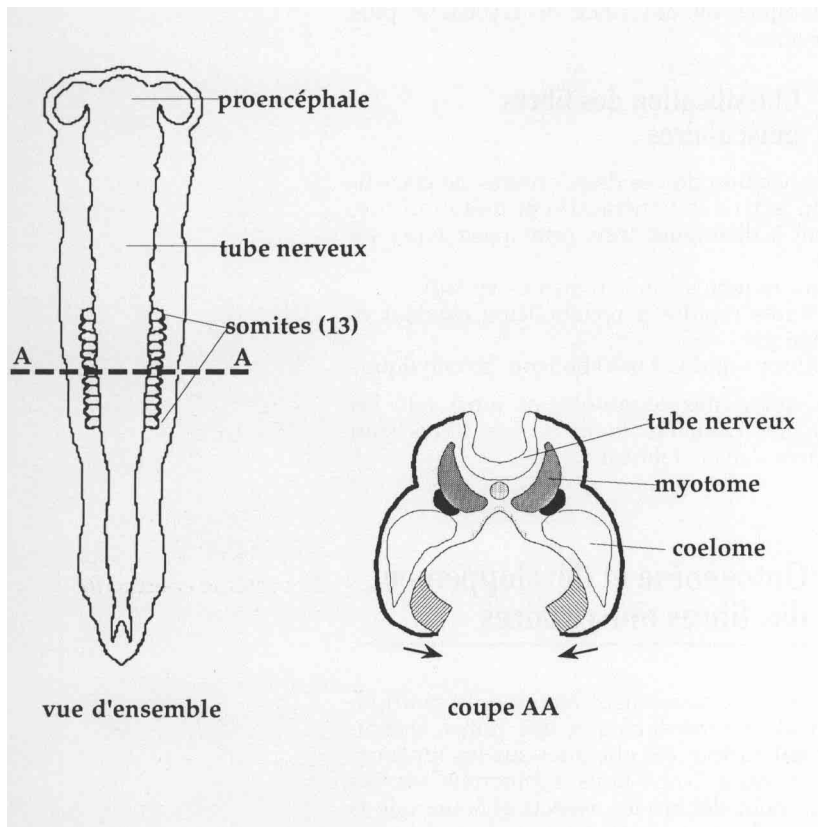
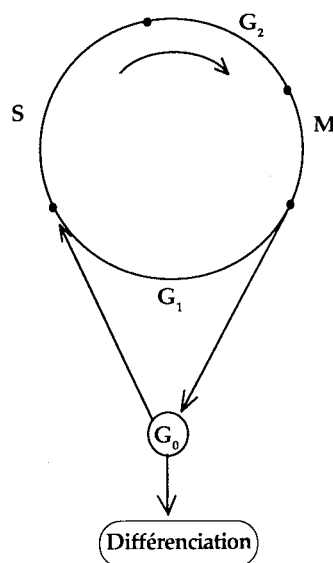


Figure 5. Schéma du cycle de prolifération cellulaire.



Phase S : synthèse du DNA
 Phase G_2 : phase post-synthétique
 Phase M : mitose - production de 2 cellules filles
 Phase G_1 : phase d'arrêt présynthétique
 Phase G_0 : phase quiescente

2.1 / Multiplication des cellules musculaires

Les cellules de la lignée myogénique encore indifférenciées sont appelées pré-myoblastes. Elles se multiplient activement au cours du cycle de prolifération cellulaire. Cette multiplication cellulaire est surtout active durant les premiers stades de développement, cependant elle se prolonge dans le cas du muscle bien au-delà des stades embryonnaires, au niveau des cellules satellites, presque jusqu'au stade adulte.

a / Cycle de prolifération cellulaire

Ce cycle comporte quatre phases principales et une phase externe (Allen *et al* 1979, figure 5) :

- phase S : synthèse du DNA (durée environ 4 heures)
- phase G_2 : phase post-synthèse de préparation de la mitose (durée 2,5 heures)
- phase M : mitose (durée 45 minutes). A l'issue de cette phase, on obtient deux cellules filles au stade G_1 .
- phase G_1 : phase d'arrêt avant la phase de synthèse. Sa durée est variable de 3 à 12 heures.

En dehors de ce cycle existe également une cinquième phase G_0 , qui correspond à un état quiescent dans lequel les cellules peuvent rester pendant très longtemps. Ces cellules peuvent être recrutées chez l'adulte lors de la régénération tissulaire après une blessure.

Le cycle cellulaire S- G_2 -M- G_1 conduit à un accroissement du nombre de cellules (hyperplasie). Ces cellules ne sont pas différenciées, c'est à dire qu'elles n'expriment pas les caractéristiques des myoblastes, mais elles font déjà partie de la lignée myogénique, car elles ne pourront se différencier qu'en myoblastes ; on les nomme parfois des myoblastes présomptifs.

La détermination précoce de ces cellules qui précède et prépare la différenciation, est au coeur des recherches actuelles sur la différenciation cellulaire. A titre d'exemple, on a isolé récemment une lignée cellulaire indifférenciée, qui peut se différencier soit en myoblastes, soit en adipocytes soit en chondrocytes. La différenciation en myoblastes peut être déclenchée grâce à un traitement chimique. On a montré que ces cellules possédaient un gène (myo-D₁) qui, lorsqu'il est activé ultérieurement, entraînerait la différenciation en myoblastes. Cette détermination précoce est antérieure à la différenciation proprement dite. Elle se produit sur des cellules qui sont encore dans le cycle de prolifération. Cet exemple montre que l'on peut imaginer des moyens d'accroître le nombre de cellules musculaires, même si les techniques pour y parvenir sont encore à l'état expérimental.

b / Régulation de la multiplication cellulaire

Ces aspects de la multiplication cellulaire sont très importants, car c'est très probablement à ce niveau que se situe l'action des facteurs de croissance. Les facteurs de croissance FGF et TGF (Fibroblast growth factor et Transforming growth factor) sont des activateurs de la prolifération cellulaire (Florini et Magri 1989). Ils joueraient le rôle d'activateur pour des gènes spéciaux dont le nom générique est

« switch gènes », plus connus sous le nom d'oncogènes, et qui initient le programme de réplication du DNA. Ils sont responsables de l'orientation des cellules vers la phase G_1 , c'est-à-dire du rebouclage dans le cycle de prolifération.

c / Sortie du cycle de prolifération

Plusieurs théories ont été évoquées pour expliquer le passage des cellules du cycle de multiplication vers la différenciation proprement dite. En tout cas, il se passe un phénomène irréversible qui fait que l'une au moins des cellules filles issues d'une mitose ne continue pas le cycle de prolifération.

Au cours des cycles normaux de multiplication, les cellules filles sont semblables à la cellule mère quant à leur capacité de synthétiser un certain nombre de protéines spécifiques. Lors de ce dernier cycle particulier, une des cellules filles est différente de la cellule mère. On peut penser que ce nouvel état est provoqué par l'inactivation des switch-gènes et par l'activation de gènes jusqu'alors inexprimés (tel que myo-D₁), responsables de l'expression des caractéristiques de la fibre musculaire. Les IGF I et II (insuline like growth factor) joueraient un rôle dans cette étape initiale de la différenciation.

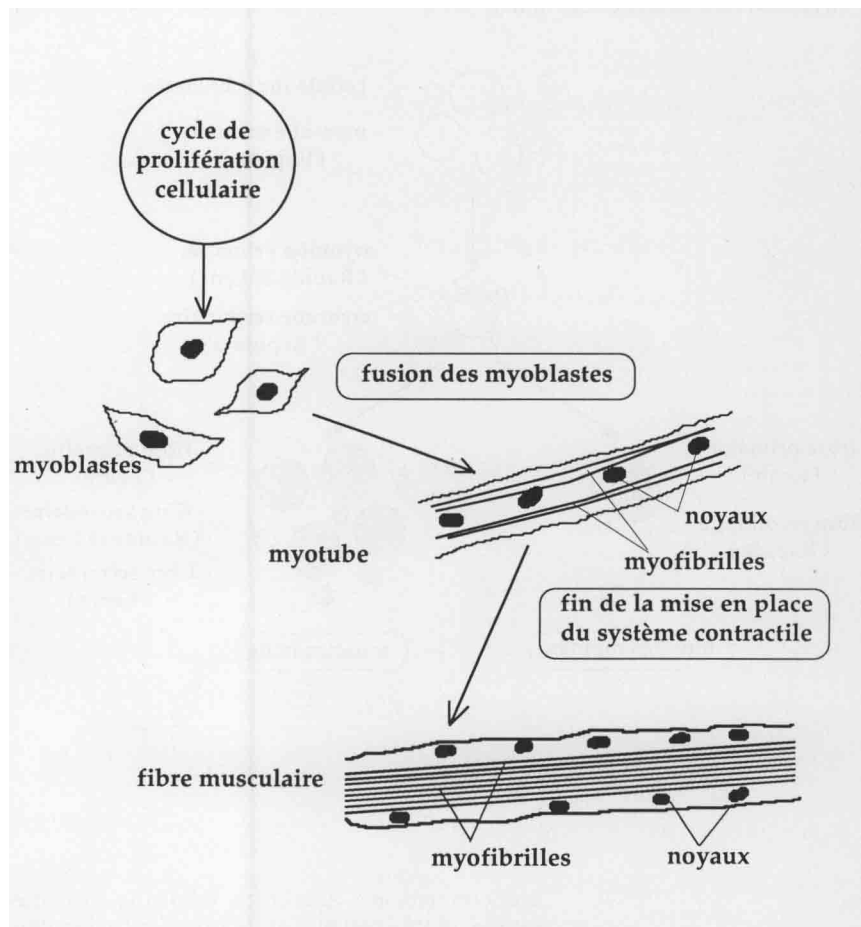
2.2 / Différenciation des fibres musculaires

Les cellules myogéniques issues du cycle de prolifération cellulaire peuvent quitter ce cycle en G_0 et se diriger vers les étapes de la différenciation, c'est-à-dire de la spécialisation. Ces cellules s'appellent alors des myoblastes. Nous allons distinguer trois aspects de la différenciation : la mise en place des fibres musculaires à partir des myoblastes (différenciation morphologique), l'établissement des caractéristiques fonctionnelles des fibres, et enfin le développement de leurs caractéristiques biochimiques. Cette distinction est totalement artificielle, car les trois types de différenciation progressent plus ou moins simultanément chez le fœtus. Cette différenciation cellulaire est aussi accompagnée par la mise en place de la structure et de l'organisation anatomique du tissu musculaire telle qu'on la connaît chez l'adulte. Nous évoquerons cet aspect plus en détail dans le chapitre concernant le développement du tissu musculaire des bovins.

a / Différenciation morphologique

Le schéma de principe de la différenciation des fibres musculaires est représenté sur la figure 6. Les myoblastes, cellules mononucléées, fusionnent pour former des myotubes, cellules allongées de forme tubulaire et plurinucléées. Les myotubes ont souvent un diamètre assez grand et leurs noyaux sont situés en position centrale, c'est-à-dire au milieu du cylindre. La différenciation morphologique se termine par la synthèse du système contractile (les protéines myofibrillaires) qui vient occuper le centre des fibres, tandis que les noyaux sont rejetés à la périphérie ; on a alors des fibres musculaires.

Figure 6. Schéma de la différenciation morphologique des fibres musculaires.



Ces étapes de la différenciation se déroulent durant le début de la vie fœtale. Cependant, il faut souligner, que durant toute la suite du développement du tissu musculaire, c'est-à-dire presque jusqu'à l'âge adulte, il persiste une génération de cellules myogéniques non différenciées (les cellules satellites) qui viennent fusionner avec les fibres musculaires existantes et participent ainsi à l'accroissement du nombre de noyaux présents dans les fibres.

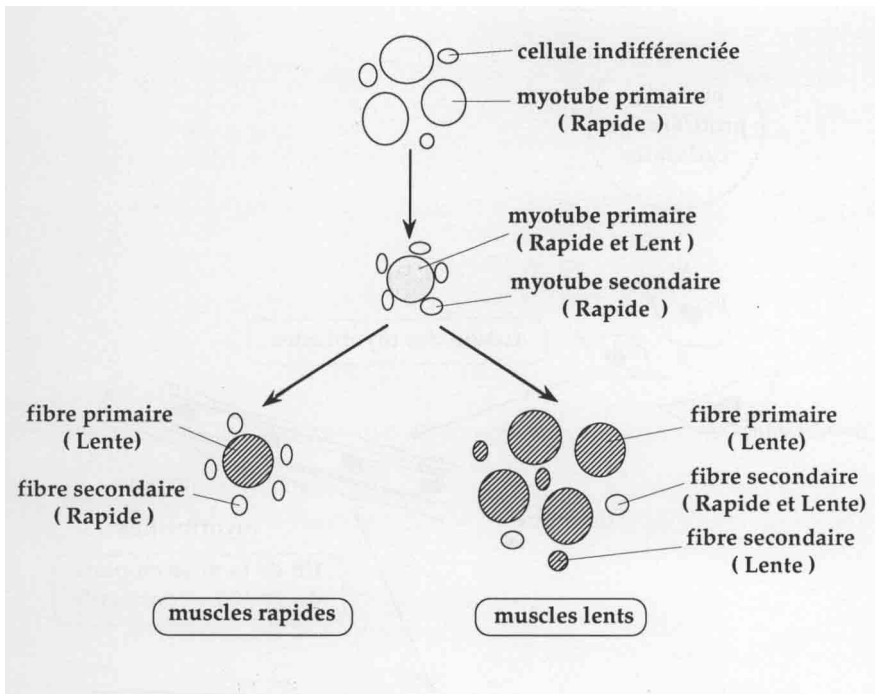
b / Différenciation fonctionnelle

La mise en place des caractéristiques fonctionnelles des fibres musculaires a lieu durant la vie embryonnaire et fœtale, et se prolonge durant le début de la vie post-natale chez les espèces à naissance précoce (oiseaux, rongeurs, porcins).

La chronologie de la différenciation fonctionnelle est maintenant bien connue chez les rongeurs et les oiseaux. Sans négliger l'apport des pionniers dans ce domaine, les études récentes basées sur des méthodes immuno-cytochimiques ont permis d'arriver à un schéma cohérent (Rubinstein et Kelly 1981, Crow 1987). Selon ces auteurs, on observe deux générations successives de myotubes dont le rôle et le devenir sont différents.

Dans un stade initial, à 15 jours de gestation chez le rat, les myotubes de première génération (myotubes primaires) sont rassemblés par groupes de 2 à 6 cellules ; ils réagissent tous

Figure 7. Mise en place des différents types de fibres musculaires chez le rat (d'après Rubinstein et Kelly 1981).



modérément aux anti-corps contre la myosine rapide, et très peu aux anti-corps contre la myosine lente (figure 7).

A 17-18 jours, ces myotubes devenus plus gros, sont maintenant entourés par une deuxième génération de myotubes plus petits (myotubes secondaires). Les deux générations réagissent fortement aux anti-corps anti-rapides, mais la majorité (90 %) des myotubes primaires réagissent en plus assez nettement contre les anti-lents.

Au cours du développement ultérieur, le devenir des deux générations est alors très différent. Les grosses cellules primaires réagissent de moins en moins aux anti-corps anti-rapides, et de plus en plus aux anti-lents. Elles sont destinées à devenir les fibres musculaires lentes chez l'adulte. Au contraire, les plus petites cellules de deuxième génération restent franchement anti-rapides jusqu'à l'âge de 14 jours après la naissance. Ensuite leur destinée dépend du type de muscle dont elles font partie. Dans les muscles rapides, elles conservent ce caractère rapide jusqu'à l'âge adulte. Dans les muscles lents, on observe une évolution du type rapide vers le type lent. Il semble donc qu'il y ait une adaptation post-natale à la fonction musculaire.

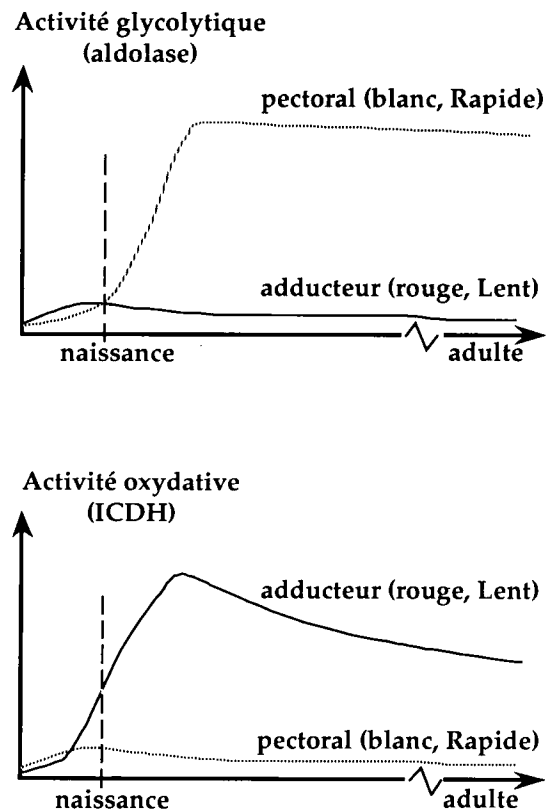
En résumé, la génération de gros myotubes primaires est à l'origine des futures fibres musculaires lentes. La seconde génération de myotubes de petite taille formera la population des fibres rapides dans les muscles à caractère rapide, et évoluera en partie vers le caractère lent dans les muscles lents.

c / Différenciation métabolique

L'information sur la différenciation métabolique des fibres est beaucoup moins abondante et moins claire. La différenciation métabolique semble beaucoup plus tardive que la mise en place des types contractiles. Les fibres présentent toutes les mêmes caractéristiques métaboliques durant la vie embryonnaire et foetale chez le lapin, le poulet et le porcelet (Ashmore *et al* 1973, Bacou et Vigneron 1976). Elles ont une activité oxydative modérée et une activité glycolytique très faible bien que des amas de glycogène dans la partie centrale des myotubes témoignent d'une activité glycogène synthétase dans les stades très précoces du développement. D'ailleurs, le taux de glycogène musculaire est beaucoup plus élevé durant la vie foetale qu'ultérieurement. Ce n'est qu'après la naissance (chez les espèces citées plus haut) qu'apparaissent des différences entre les fibres, en liaison avec le type de muscle auquel elles appartiennent (figure 8).

Dans les muscles rouges (oxydatifs chez l'adulte), l'activité oxydative continue de s'accroître jusqu'à une valeur maximale vers l'âge de 30 jours chez le lapin, et 5 jours chez le poulet (Bacou et Vigneron 1976). Elle décroît ensuite plus ou moins rapidement selon l'espèce. L'activité glycolytique demeure à un niveau très faible dans ces muscles jusqu'à l'état adulte.

Figure 8. Evolution de l'activité métabolique des différents types de muscles chez le poulet (d'après Bacou et Vigneron 1976).



Dans les muscles blancs (glycolytiques chez l'adulte), l'activité glycolytique devient de plus en plus prononcée au cours de la vie foetale, et surtout au début de la vie postnatale (Bacou et Vigneron 1976, Lefaucheur et Vigneron 1986). Au contraire, l'activité oxydative reste relativement faible et décroît après la naissance.

2.3 / Régulation de la différenciation des fibres musculaires

La différenciation des fibres musculaires est sous le contrôle de deux principaux facteurs, l'innervation motrice et les hormones. Des synthèses spécifiques sur ces deux aspects ont été publiées (Swatland et Cassens 1974, Bacou et Vigneron 1988, Vigneron *et al* 1989). Nous n'en rappellerons ici que les points les plus importants.

a / Rôle de l'innervation motrice

L'innervation motrice semble jouer un rôle crucial dans l'évolution des caractéristiques des fibres au cours de l'établissement de leur type contractile rapide ou lent. Cependant deux écoles de pensée existent encore affirmant respectivement la suprématie du contrôle « neurogène » (provenant des nerfs moteurs) ou du contrôle « myogène » (provenant du muscle lui-même) sur la différenciation. Avant de résumer les effets de l'innervation motrice sur la différenciation, nous allons tout d'abord décrire plus précisément l'organisation anatomique entre le muscle et le système nerveux moteur, à savoir l'unité motrice et la jonction neuro-musculaire ou plaque motrice.

L'unité motrice constitue le module de base du fonctionnement des muscles. L'unité motrice comprend trois parties, un motoneurone situé dans la corne ventrale de la moelle épinière, son axone moteur et enfin l'ensemble des fibres musculaires qu'il innerve, de l'ordre d'une dizaine dans les muscles rapides à plus d'un millier pour les muscles lents actionnant des masses corporelles importantes. L'excitation du motoneurone provoque la contraction de toutes les fibres innervées par celui-ci.

La jonction neuro-musculaire : La liaison synaptique entre les extrémités du neurone moteur et la membrane de la fibre musculaire est appelée plaque motrice. Cette zone est caractérisée par une forte densité de récepteurs à l'acétyl-choline et par une forte concentration en acétyl-choline estérase.

Mise en place de la jonction neuro-musculaire chez l'embryon : La synaptogenèse (différenciation de la plaque motrice) est très précoce ; les premières plaques motrices apparaissent sur les myotubes primaires. Rubinstein et Kelly (1981) indiquent que chaque myotube primaire est innervé par un moto-neurone « pionnier » qui est responsable de l'évolution de ces cellules vers le type lent. D'autres motoneurons envahissent ensuite la population de myotubes de deuxième génération, mais la jonction neuro-musculaire ne peut pas être établie tant que ces cellules sont en contact avec les myotubes pri-

maires. Cependant d'autres auteurs montrent que l'innervation a surtout un rôle sur la différenciation des cellules issues de la génération secondaire en fibres de type rapide (type II). En tout cas, le rôle de l'innervation sur la différenciation des fibres n'est pas discutable. Les expériences d'innervation croisée le démontrent parfaitement.

b / Régulation hormonale

Les cellules indifférenciées quittent le cycle de prolifération pour entrer dans une phase de différenciation des myoblastes. Cette phase qui a été abordée précédemment est sous l'influence de gènes spécifiques qui pourraient être activés par les IGF. Au cours de cette phase, ces cellules myogéniques acquièrent les potentialités propres aux myoblastes (synthèse de protéines contractiles spécifiques, par exemple) et fusionnent pour former des myotubes puis des fibres musculaires.

Le catalogue des effets des différentes catégories d'hormones sur cette phase du développement musculaire serait long et fastidieux. Afin de simplifier la présentation de cet aspect, nous avons distingué trois groupes d'hormones, selon que leur effet le mieux connu actuellement se situe au niveau de la prolifération cellulaire, de la fusion des myoblastes ou encore de la synthèse protéique dans les myoblastes.

Hormones stimulant la prolifération cellulaire : elles ont généralement un effet inhibiteur sur la fusion des myoblastes. C'est le cas des facteurs de croissance tels que le FGF et le TGF (Fibroblast growth factor et Transforming growth factor beta).

Hormones stimulant la fusion des myoblastes : les prostaglandines PGE1, les IGF et l'insuline stimulent la fusion des myoblastes en culture (Ewton et Florini 1981). En ce qui concerne l'insuline, cet effet sur la différenciation pourrait se situer au niveau de la synthèse de protéines membranaires nécessaires à la fusion des myoblastes. Rappelons que les IGF sont des facteurs de croissance sécrétés par le foie et les autres tissus foetaux, notamment sous l'action de la GH ou de la prolactine placentaire.

Hormones stimulant la synthèse protéique : De nombreuses hormones interviennent au niveau de la synthèse protéique dans le myoblaste. Les IGF et l'insuline ont un effet sur le transport des acides aminés et leur utilisation au niveau traductionnel.

L'effet des IGF-I est plus important que celui des IGF-II bien que leur concentration plasmatique soit assez réduite chez le fœtus. Les hormones thyroïdiennes ont aussi un effet sur la synthèse protéique, mais au niveau de la transcription de l'ADN en ARN dans le noyau (elles ont des récepteurs nucléaires). L'effet le plus marqué des hormones thyroïdiennes sur la différenciation musculaire se situe au niveau de la transition des fibres de type foetal aux fibres de type adulte que l'on appelle aussi maturation des fibres. On peut imaginer qu'il s'agit essentiellement d'un effet sur la synthèse de myosine de type adulte.

La différenciation musculature est sous le contrôle de l'innervation et des hormones.

Nous n'avons pas cité l'hormone de croissance bien qu'elle provoque expérimentalement une hyperplasie (accroissement du nombre de noyaux) dans les fibres musculaires chez le jeune rat. Son effet n'est probablement pas direct, mais transmis par l'intermédiaire des IGF. En fait, le rôle direct de cette hormone est assez réduit chez le fœtus, chez lequel elle est remplacée par une hormone sécrétée par le placenta (hormone placentaire lactogène, ou somato-mammotropine).

En résumé, les principales étapes de la mise en place des cellules et du tissu musculaires sont la prolifération, la différenciation, la fusion des myoblastes, la synthèse du système contractile et enfin son évolution au cours de la maturation myofibrillaire. Ces différentes étapes se déroulent durant la vie embryonnaire et foetale, voire jusqu'au début de la vie post-natale dans les espèces à naissance précoce (rongeurs, lapins, porcins). La présentation schématique que nous venons d'en faire ne concerne pas d'espèce en particulier. Cependant, les travaux les plus analytiques qui ont permis de préciser cet aspect du développement musculaire ont généralement été réalisés sur des espèces de laboratoire et/ou de petite taille (rats, souris, lapins, poulets).

Cette présentation préalable nous permet maintenant d'aborder le développement musculaire des bovins.

Chez les bovins, prolifération, différenciation et maturation des fibres musculaires se déroulent durant la vie foetale.

3 / Différenciation et croissance du tissu musculaire chez les bovins

Les connaissances sur la différenciation musculaire sont beaucoup moins détaillées chez les espèces domestiques de grande taille et notamment chez les bovins. Nous avons fait une synthèse des connaissances sur ce sujet, en incluant notamment les résultats non publiés des travaux que nous poursuivons depuis trois ans sur la différenciation des fibres musculaires chez le fœtus bovin au Laboratoire de la Production de Viande à l'INRA de Theix. Cette synthèse ne concerne pas seulement le développement foetal des fibres musculaires, mais aussi leur évolution ultérieure qui a fait l'objet de travaux plus nombreux (Ashmore *et al* 1972, Cornforth *et al* 1980, Solomon *et al* 1986).

Nous n'abordons pas ici la croissance globale du tissu musculaire des bovins, et plus spécialement la croissance des différentes régions musculaires, renvoyant le lecteur à différentes publications (voir notamment Berg et Butterfield 1976, Robelin et Geay 1976, Robelin 1984, Robelin 1986).

Nous présenterons successivement deux aspects du développement des fibres musculaires, tout d'abord la chronologie de la différenciation et de la mise en place des différents types de fibres durant la vie foetale et post-natale, puis les aspects plus quantitatifs relatifs à l'évolution du nombre de noyaux (DNA musculaire) et du nombre et du diamètre des fibres.

3.1 / Différenciation et maturation des fibres musculaires des bovins

a / Différenciation durant la vie foetale

A la fin du premier tiers de la vie foetale, le poids du fœtus est encore très réduit (de l'ordre de 100 g) et, tandis que les muscles sont bien identifiables macroscopiquement, leur organisation au niveau cellulaire n'est pas encore très avancée. En particulier, on ne distingue pas encore très bien les faisceaux. Les cellules sont caractérisées en coupe transversale par une taille assez grande (diamètre de 20 microns) et par un espace clair au centre souvent occupé par un noyau : ce sont des myotubes. Elles ne manifestent pas d'activité oxydative, et réagissent toutes comme des cellules de type rapide (ATPase stable en milieu alcalin).

Au milieu de la vie foetale, alors que le poids du fœtus atteint entre 2 et 3 kg, la plupart des myotubes se sont transformés en fibres musculaires caractérisées en coupe transversale par une section plus petite, des noyaux disposés à la périphérie et ne présentant plus d'espace clair au centre. Il reste cependant encore une population peu nombreuse de myotubes de section plus grande occupant une position centrale au milieu de chaque faisceau de fibres. L'activité oxydative des fibres n'est pas plus intense qu'au stade précédent. En revanche, la mesure de l'activité ATPasique révèle déjà deux types de cellules. Les myotubes présentent des caractéristiques de type lent, alors que la majorité des autres cellules (fibres différenciées) ont le caractère rapide. Cette évolution rappelle la description précédente à propos des myotubes primaires qui s'orientent vers le caractère lent, alors que les myotubes et les fibres secondaires manifestent un caractère rapide.

Vers les deux tiers de la vie foetale, le poids du fœtus est alors voisin de 10 kg, il ne reste plus de myotubes. Les fibres de plus en plus serrées prennent une forme polygonale. Elles forment des faisceaux semblables à ceux que l'on observe chez l'adulte. Les deux populations de fibres à caractère rapide et lent se distinguent de plus en plus clairement. Enfin, on distingue aussi deux populations de fibres selon l'activité oxydative. Ces deux modes de classification qui ne coïncident pas, permettent donc de mettre en évidence les trois types de fibres évoqués précédemment.

Ces étapes recouvrent l'ensemble de la vie foetale chez les espèces à naissance tardive comme les ovins et les bovins chez lesquels le poids du nouveau-né est supérieur à 4 % du poids adulte. Elles se poursuivent au-delà de la naissance chez les animaux plus légers à la naissance, tels que le porcelet ou le lapereau.

b / Maturation durant la vie périnatale et post-natale

On observe encore une évolution importante des fibres musculaires au delà des deux tiers de la vie foetale, notamment en relation avec le développement de la fonction motrice des muscles squelettiques après la naissance. Il s'agit essentiellement d'une évolution des types de

myosine, c'est-à-dire des caractéristiques contractiles.

Le pourcentage de fibres lentes oxydatives (type I) reste constant à partir de la naissance. En revanche, parmi les fibres de type II (rapides), on observe une évolution du caractère oxydo-glycolytique (rouge) vers un caractère glycolytique plus marqué (blanc) (Ashmore *et al* 1972, Solomon *et al* 1986). On peut interpréter cette évolution en relation par une réduction de l'irrigation sanguine avec l'âge, résultant de l'accroissement du diamètre des fibres, et entraînant un moindre approvisionnement en oxygène.

L'exercice physique qui accroît le flux sanguin entraîne simultanément une évolution inverse, avec le passage de fibres de type rapide-glycolytique vers un type rapide oxydo-glycolytique.

Nous n'avons pas fait état jusqu'à présent de la variabilité des caractéristiques des fibres entre muscles. Chacun des muscles est en général constitué d'une population hétérogène de fibres, avec une dominante qui dépend du muscle. Ainsi chez le bovin, le Masseter est constitué essentiellement de fibres rouges lentes et oxydatives. Le Tensor du fascia lata est un muscle à dominante blanc rapide et glycolytique, alors que le Longissimus dorsi, le Semi-tendinosus et le Semimembranosus sont intermédiaires (plutôt de type rouge rapide et oxydo-glycolytique) (Talmant *et al* 1986). La période périnatale du développement musculaire chez les bovins, que l'on qualifie parfois de maturation myofibrillaire, correspond à l'ajustement définitif de ces types musculaires. Ces différentes étapes de la différenciation musculaire des bovins sont résumées au tableau 2.

3.2 / Croissance du tissu musculaire : hyperplasie et hypertrophie

Les fibres musculaires sont des cellules plurinucléées. La croissance des muscles intègre donc plusieurs dimensions: le nombre de fibres, le nombre de noyaux, le diamètre et la longueur des fibres.

a / Accroissement du nombre de fibres

Nos résultats sur l'évolution du nombre de fibres chez le fœtus bovin sont à notre connaissance, les premières données quantitatives dans ce domaine. Nous avons mesuré l'évolution du nombre de cellules dans une coupe transversale du muscle Semi-tendinosus, muscle allongé du membre postérieur. Ce nombre n'est évidemment pas strictement égal au nombre de fibres. Cependant, on peut penser qu'étant donné l'orientation longitudinale des fibres dans ce muscle, il est en relation étroite avec le nombre réel de fibres.

Il s'accroît de façon continue de l'âge de 80 jours (36000 fibres) à l'âge de 240 jours (1,2 millions de fibres), puis n'évolue plus significativement. Nous confirmons pour les bovins le fait généralement admis (à partir de résultats obtenus chez le rat) que le nombre de fibres musculaires est fixé à la naissance.

Il est multiplié par 30 durant la période étudiée, alors que le poids du muscle est multiplié par 500 au cours de la même période (tableau 3). Ces deux valeurs montrent l'importance relativement faible de l'accroissement du nombre de fibres sur la croissance globale du muscle. Sachant que ce nombre reste stable au-delà de la naissance, cela signifie que la majeure partie de la croissance musculaire des bovins au delà du premier tiers de la vie foetale est dû à l'accroissement de la taille des fibres.

Tableau 2. Principales étapes de la différenciation des fibres musculaires chez le fœtus bovin (Robelin, d'après des résultats non publiés).

Chronologie au cours de la vie fœtale	Types de cellules	Types de myosine	Métabolisme
Premier tiers : ontogenèse du tissu	myotubes	rapide	oxydatif (faible)
Deuxième tiers : différenciation des fibres	nombreuses fibres quelques myotubes	rapide lente	oxydatif (faible) oxydatif (faible)
Troisième tiers : maturation des fibres	fibres polygonales	lente/rapide	oxydatif/glycolyt.

Tableau 3. Croissance cellulaire du tissu musculaire des bovins (Robelin, d'après des résultats non publiés).

Age (jours)	Poids total (g)	DNA (mg)	Protéines (mg)	Nombre (x 1000)	Diamètre (μ)
Fœtus 80	0,2	0,4	10	36	20
Fœtus 260 (naissance)	100	200	20 000	1 200	20
Adulte	3 000	1 000	600 000	1 200	80
Taux d'accroissement :					
Naissance/Fœtus 80	500	500	2 000	30	1,5
Adulte/Naissance	30	5	30	1	4

b / Accroissement de la taille des fibres

La taille des fibres musculaires s'accroît au cours du développement par fusion de cellules satellites. Ces cellules sont des fibroblastes qui se différencient le long des fibres au cours de la croissance, qui fusionnent avec elles et provoquent ainsi un accroissement du nombre de noyaux. Cette lignée de cellules à différenciation tardive est à la base de la régénération musculaire. On peut observer leur multiplication en mesurant le DNA musculaire. Cet accroissement du nombre de noyaux par fibre (hyperplasie) est accompagné d'un accroissement de la taille (hypertrophie) de l'unité nucléoplasmique, c'est-à-dire de la quantité fictive de protéines par noyau, matérialisée par le rapport protéines/DNA. Ces deux phénomènes conjoints se traduisent au niveau histologique par un accroissement de la section transversale des fibres.

La croissance musculaire post-natale des bovins se caractérise par un accroissement du diamètre des fibres et une synthèse protéique intense.

Accroissement du nombre de noyaux (hyperplasie) : Durant la période foetale que nous avons étudiée (80 à 260 jours), le poids du DNA musculaire s'accroît d'un facteur 500, comme le muscle Semi-tendinosus pris dans sa totalité. Ainsi, la croissance musculaire foetale est sous la dépendance directe de la prolifération cellulaire. Rappelons cependant qu'elle est peu reliée à l'accroissement du nombre de fibres (tableau 3).

Le DNA musculaire s'accroît au delà de la naissance, jusqu'à un stade correspondant à 60-70 % du poids adulte (Trenkle *et al* 1978, Di Marco *et al* 1987), puis demeure stable. Au total, on peut estimer d'après différents résultats qu'il s'accroît d'un facteur 5 environ entre la naissance et l'état adulte.

Accroissement du diamètre des fibres : il existe deux phases dans l'évolution du diamètre des fibres musculaires durant la vie foetale. Jusqu'à la moitié de la vie foetale il existe une population de myotubes dont la section est plus grande que celle des fibres différenciées. Ainsi, le diamètre moyen de l'ensemble des cellules musculaires décroît-il de 20 à 15 microns. Ensuite, lorsque l'ensemble des myotubes s'est transformé en fibres musculaires, on observe un accroissement lent et continu du diamètre moyen, de 15 microns chez le foetus de 150 jours, à 25 microns chez le nouveau né et 70 à 90 microns chez l'adulte (tableau 3).

Il faut signaler en outre une variabilité dans le diamètre selon le type de fibres. Les fibres de type rapide-glycolytique (fibres blanches) ont un diamètre supérieur d'environ 30 % à celui des fibres de type lent-oxydatif (fibres rouges).

Enfin, on peut aussi caractériser l'état d'hypertrophie des fibres, comme des autres cellules par le rapport entre les protéines et le DNA. Ce rapport s'accroît assez lentement durant la vie foetale de 20 chez le foetus âgé de 80 jours à 80 chez le nouveau né. Ensuite, il augmente jusqu'au stade adulte pour atteindre une valeur de l'ordre de 500. La synthèse protéique joue donc un rôle prépondérant tout au long de la croissance musculaire. Ce rôle apparaît d'ailleurs encore plus nettement lorsque l'on considère l'accroissement du poids de pro-

téines du muscle Semi-tendinosus indépendamment du DNA. Il s'accroît d'un facteur 2000 chez le foetus alors que le poids du muscle ne s'accroît que d'un facteur 500. Après la naissance, le poids de protéines est multiplié encore par 30, comme le poids du muscle.

En résumé, la croissance foetale représente une partie primordiale de la croissance musculaire totale. Elle correspond tout d'abord à la phase de différenciation. Elle se caractérise par un accroissement rapide du nombre de noyaux, et par une synthèse protéique très intense. Le nombre de fibres s'accroît beaucoup plus lentement et leur diamètre reste presque stable. La croissance postnatale des muscles, beaucoup plus réduite en valeur relative, est surtout marquée par une synthèse protéique intense et un accroissement du diamètre des fibres. Elle est aussi caractérisée par une évolution limitée du type des fibres.

Conclusion

Cet article ne couvre qu'une partie limitée de la croissance musculaire, en s'attachant surtout à montrer la mise en place et les grandes étapes du développement cellulaire de ce tissu. Il fait totalement abstraction des conséquences pratiques de ce phénomène sur la production et la qualité de la viande.

Il met surtout en évidence l'importance de la croissance foetale, et montre ainsi l'intérêt que peut présenter l'étude de la mise en place des caractéristiques des muscles durant cette période de la vie. La maîtrise de la croissance in utero n'est certainement pas possible dans un avenir proche. En revanche, une meilleure connaissance de la différenciation musculaire chez le foetus devrait permettre à moyen terme de prédire en partie l'évolution des caractéristiques musculaires d'un animal à partir de mesures réalisées à la naissance. L'importance de la croissance foetale ne doit pas cependant masquer les possibilités de modifications de l'évolution des caractéristiques musculaires après la naissance, grâce au mode d'élevage. C'est notamment sur ces deux aspects du contrôle de la croissance musculaire que sont concentrés les efforts de recherche en matière de production de viande bovine.

Références bibliographiques

- ALLEN R.E., MERKEL R.A., YOUNG R.B., 1979. Cellular aspects of muscle growth : myogenic cell proliferation. *J. anim. Sci.*, 49, 115-127.
- ASHMORE C.R., TOMPKINS G., DOERR L., 1972. Post-natal development of muscle fiber types in domestic animals. *J. anim. Sci.*, 34, 37-41.
- ASHMORE C.R., ADDIS P.B., DOERR L., 1973. Development of muscle fibers in the fetal pig. *J. anim. Sci.*, 36, 1088-1093.
- BACOU F., VIGNERON P., 1976. Evolution périnatale des voies métaboliques glycolytique et oxydative de divers types de muscles squelettiques du lapin et du poulet. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 16, 675-686.
- BACOU F., VIGNERON P., 1988. Propriétés des fibres musculaires squelettiques : 1. Influence de l'innervation motrice. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28, 1387-1453.
- BERKALOFF A., BOURGUET J., FAVARD P., LACROIX J.C., 1977. Biologie et physiologie cellulaires. I Membranes plasmiques. Hermann, Paris. 270 pp.
- BERG R.T., BUTTERFIELD R.M., 1976. New concepts of cattle growth. Sidney University Press, 240 pp.
- CORNFORTH D.P., HECKER A.L., CRAMER D.A., SPINDLER A.A., MATHIAS M.M., 1980. Maturity and its relationship to muscle characteristics of cattle. *J. anim. Sci.*, 50, 75-80.
- CROW M.T., 1987. The determinants of muscle fiber type during embryonic development. *Amer. Zool.*, 27, 1043-1053.
- DI MARCO O.N., BALDWIN R.L., CALVERT C.C., 1987. Relative contributions of hyperplasia and hypertrophy to growth in cattle. *J. anim. Sci.*, 65, 150-157.
- DUMONT B.L., 1986. La viande de boeuf : structure et tendreté. Pour la Science, juin 1986, 88-96.
- EWTON D.Z., FLORINI J.R., 1981. Effects of the somatomedins and insulin on myoblast differentiation in vitro. *Develop. Biol.*, 86, 31-39.
- FLORINI J.R., MAGRI K.A., 1989. Effects of growth factors on myogenic differentiation. *Am. J. Physiol.*, 256 (Cell. Physiol. 25), C701-C711.
- KIENY M., MAUGER A., CHEVALIER A., PAUTOU M.P., 1988. Origin and development of avian skeletal musculature. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28, 673-686.
- LEFAUCHEUR L., VIGNERON P., 1986. Post-natal changes in some histochemical and enzymatic characteristics of three pig muscles. *Meat Sci.*, 16, 199-216.
- ROBELIN J., 1984. Croissance différentielle des régions musculaires des bovins de la naissance à l'état adulte. *Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix, INRA*, 58, 53-57.
- ROBELIN J., 1986. Bases physiologiques de la production de viande : croissance et développement des bovins. In : D.Micol Ed., « Production de viande bovine », INRA-Paris, pp. 35-39.
- ROBELIN J., GEAY Y., 1976. Répartition des masses musculaires chez le jeune bovin mâle entier et son évolution au cours de la période d'engraissement entre 8-9 et 16-17 mois. *Ann. Zootech.*, 25, 273-279.
- RUBINSTEIN N.A., KELLY A.M., 1981. Development of muscle fiber specialization in rat hindlimb. *J. Cell Biol.*, 90, 128-144.
- SOLOMON M.B., WEST R.L., HENTGES J.F., 1986. Growth and muscle development characteristics of purebred Angus and Brahman bulls. *Growth*, 50, 51-67.
- SWATLAND H.J., CASSENS R.G., 1974. The role of innervation in muscle development and function. *J. anim. Sci.*, 38, 1092-1102.
- TALMANT A., MONIN G., BRIAND M., DADET M., BRIAND Y., 1986. Activities of metabolic and contractile enzymes in 18 bovine muscles. *Meat Sci.*, 18, 23-40.
- TRENKLE A., DE WITT D.L., TOPEL D., 1978. Influence of age, nutrition and genotype on carcass traits and cellular development of muscle Longissimus in cattle. *J. anim. Sci.*, 46, 1597-1603.
- VIGNERON P., DAINAT J., BACOU F., 1989. Propriétés des fibres musculaires squelettiques : 2. Influences hormonales. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 29, 27-53.

Summary

Differentiation growth and development of muscular tissue.

Muscular tissue is comprised of multinucleate, cylindrical cells called muscle fibers. They are grouped into fasciculi enclosed by connective tissue. Several fiber types can be distinguished by differences in their physiological behaviour, and more precisely by their metabolic and contractile characteristics. Muscle fibers may have either a glycolytic or an oxydative energy metabolism. Some fibers are able to contract slowly, whereas others are recruited for rapid and short contraction.

Muscle cells originate in the embryo in the mesodermic region. Myogenic cells multiply themselves in the so called proliferation cycle. They leave this cycle and enter the differentiation pathway where they are transformed into myoblasts. The fusion of myoblasts produces myotubes which give, finally, mature muscle fibers. Differentiation is under the control of nerves and hormones.

The differentiation of muscular tissue in cattle takes place during foetal life. In the 2-3

months old foetus, muscular tissue is characterised by the presence of a population of myotubes, by a rapid increase of nuclei number and also in fiber number. During months 3 to 5, the myotubes are transformed into muscular fibers. Fast and slow fiber types become distinguishable at this stage of development. The proliferation of nuclei is still rapid, but the increase in the number of muscle fibers becomes slower. From months 5 to 9, differentiation of fibers continues, and metabolic fiber types become recognisable. The fiber number reaches a plateau, whereas the nuclei number still increases, due to multiplication and fusion of satellite cells.

Foetal life is characterised by the differentiation of fibers and the increase of fiber number. Postnatal life is characterised by the maturation of fibers, and by the increase of fiber diameter until mature size.

ROBELIN J., 1990. Différenciation, croissance et développement cellulaire du tissu musculaire. *INRA Prod. Anim.*, 3, (4), 253 - 263