

PERSISTANCE DE CARACTÈRES ONTOGÉNIQUES DANS LE MUSCLE MASSÉTER ADULTE

C. BONTEMPS^{1,2}, C. CANNISTRÀ³, P. MICHEL¹, G.S. BUTLER-BROWNE⁴, L. FONZI², J.P. BARBET¹

1 Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Faculté de Médecine Cochin Port-Royal, 24 rue du Faubourg Saint-Jacques, F-75014 Paris

2 Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Siena, Siena,

3 Département de Chirurgie Plastique, Hôpital Bichat, Paris

4 Unité CNRS URA 2115, Faculté de Médecine Pitié Salpêtrière, Paris

**Membre du GIRSO*

KEY WORDS: *développement, Homme, masséter, myosine.*

MOTS CLES: *development, human, masseter, myosin*

RESUME

Le développement du masséter s'effectue pendant la vie embryo-fœtale en deux générations de fibres suivant un schéma très comparable à la plupart des autres muscles de l'organisme. Après la naissance, un phénotype particulier se caractérise par l'expression persistante d'isoformes ontogéniques de la myosine (isoformes embryonnaire et fœtale des chaînes lourdes, isoforme embryonnaire des chaînes légères) et par l'individualisation de deux populations de fibres : de petite taille coexprimant les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide des chaînes lourdes de la myosine mais n'exprimant pas l'isoforme lente; de grande taille exprimant l'isoforme lente des chaînes lourdes de la myosine seule ou diversement associée aux autres isoformes.

Il est vraisemblable que les spécificités du masséter humain traduisent non seulement son origine embryologique et son innervation particulière mais également les contraintes fonctionnelles qu'il subit après la naissance.

ABSTRACT

During embryonic and foetal development, the masseter is formed from two successive generations of muscle fibers in a manner which is very similar to that which has been previously described for other skeletal muscles. This phenotype is characterised by the persistence of ontogenic myosin isoforms (embryonic and foetal myosin heavy chains, embryonic light chain) and by the presence of two distinct populations of fibers : small diameter fibers which coexpress the embryonic, foetal and fast isoforms of the myosin heavy chains but never express the slow isoform; large diameter fibers which express the slow myosin heavy chain either exclusively or in variable associations with the other isoforms.

These characteristics of the human masseter muscle probably correspond not only to its embryological origin and its special innervation, but also to the functional constraints to which it is submitted after birth.

INTRODUCTION

Certains muscles du territoire céphalique présentent des spécificités fonctionnelles qui les distinguent de la plupart des autres muscles de l'organisme, en particulier des muscles du tronc et des membres. Leur développement même est particulier, compte tenu notamment des spécificités du mésenchyme céphalique et de l'importance de la participation des crêtes neurales

dans ce territoire. Il semble ainsi que la formation des muscles du territoire céphalique soit gouvernée par des cascades régulatrices spécifiques, fondamentalement distinctes de celles impliquées dans la formation des muscles du tronc et des membres (Noden et al. 1999, Mootoosamy et Dietrich 2002).

Notre travail porte sur l'étude du développement du muscle masséter dans l'espèce humaine.

SUJETS ET MÉTHODES

L'étude concerne douze foetus, âgés respectivement de 12 à 37 semaines d'aménorrhée (=SA), obtenus à partir d'interruptions thérapeutiques de grossesse dans les conditions requises par la Législation nationale française. L'âge de chaque foetus est établi par comparaison des données cliniques concernant la grossesse (date de dernières règles, échographies) avec les degrés macroscopique et histologique de développement (Barbet 1997). Il n'existe pas d'anomalie susceptible d'interférer avec le développement craniofacial.

Dans chaque cas, un prélèvement transversal de la partie superficielle du muscle masséter est congelé dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide puis coupé au cryostat. Les coupes sériées ainsi obtenues, correspondant à des sections dans un plan transversal, font l'objet de préparations immunohistochimiques avec des anticorps spécifiques des isoformes embryonnaire, fœtale, lente et rapide des chaînes lourdes de la myosine (MHC) et une révélation par un système peroxydase-antiperoxydase (Vectastain PK-4002 et PK-6101).

Deux prélèvements de la partie superficielle du masséter ont également été obtenus chez un nourrisson de 18 mois et chez un adulte indemnes de toute affection neuro-musculaire. En dehors de l'étude histologique, le prélèvement obtenu chez l'adulte a également fait l'objet d'électrophorèses en gel pyrophosphate pour l'étude de la myosine totale et en gel bidimensionnel pour l'étude des chaînes légères de la myosine (Butler-Browne et al. 1990).

RESULTATS

Entre 12 et 20 SA, le masséter est constitué de myotubes/myofibres qui coexpriment les isoformes embryonnaire et fœtale des chaînes lourdes de la myosine. De plus, les myotubes/myofibres les plus volumineux (fibres de première génération) sont immunoréactifs pour l'isoforme lente des chaînes lourdes de la myosine mais pas pour l'isoforme rapide. Au contraire, les myotubes/myofibres de plus petite taille (fibres de deuxième génération) ne sont pas immunoréactifs pour la myosine lente mais expriment l'isoforme rapide.

Entre 20 SA et 40 SA, l'évolution se caractérise

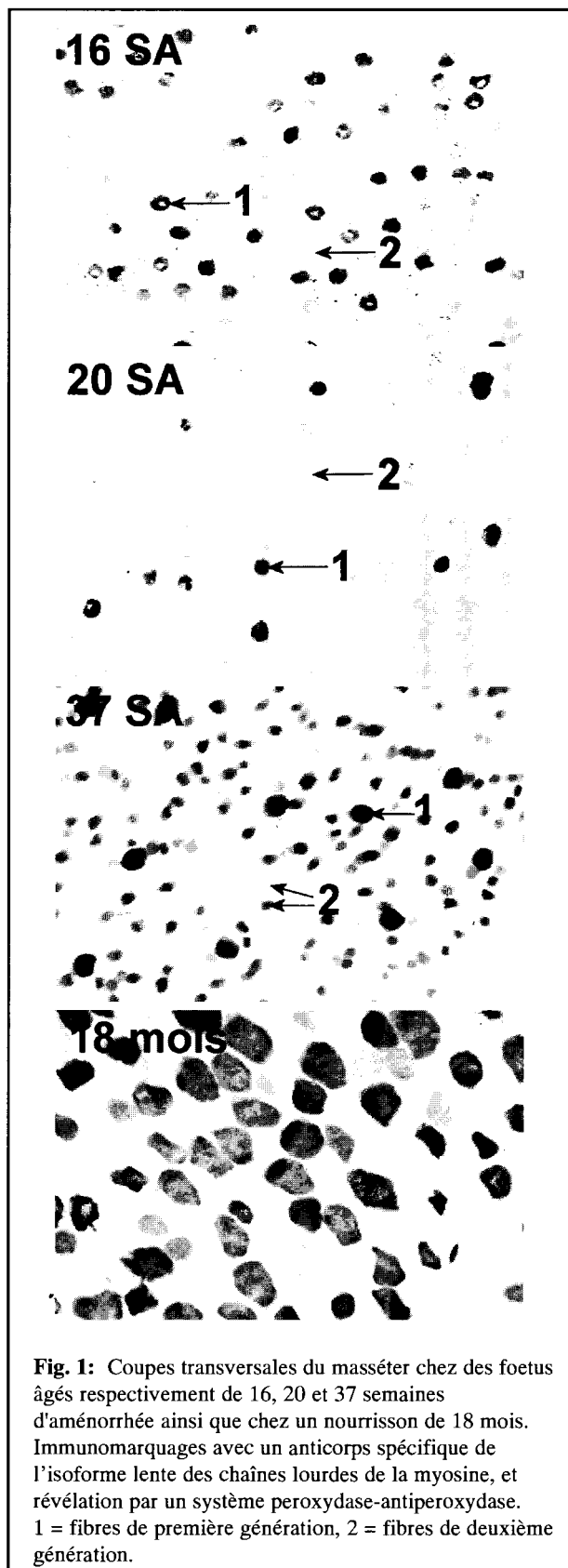


Fig. 1: Coupes transversales du masséter chez des foetus âgés respectivement de 16, 20 et 37 semaines d'aménorrhée ainsi que chez un nourrisson de 18 mois. Immunomarquages avec un anticorps spécifique de l'isoforme lente des chaînes lourdes de la myosine, et révélation par un système peroxydase-antiperoxydase. 1 = fibres de première génération, 2 = fibres de deuxième génération.

pour les fibres de première génération par une diminution puis une disparition totale de l'immunoréactivité pour les isoformes embryonnaire et fœtale de la myosine; à terme, ces fibres de première génération expriment exclusivement l'isoforme lente de la myosine. Pour les fibres de deuxième génération, l'expression des isoformes embryonnaire et fœtale persiste jusqu'à la naissance; par ailleurs, certaines fibres commencent à exprimer la myosine rapide. A terme, certaines des fibres de deuxième génération coexpriment ainsi les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide de la myosine rapide; les autres expriment de la myosine lente.

Après la naissance, à 18 mois, deux types de fibres peuvent être distingués en terme

d'immunophénotypes: certaines fibres coexpriment les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide de la myosine mais n'expriment pas la myosine lente; les autres expriment la myosine lente seule ou associée à d'autres isoformes.

La Figure 1 illustre l'évolution des immunoréactivités pour la myosine lente, qui permet de suivre la maturation et le développement périnatal des deux générations de fibres musculaires au niveau du masséter.

Le phénotype observé chez le nourrisson de 18 mois de notre série préfigure l'aspect du muscle chez l'adulte (Fig. 2). Une dispersion de calibre est alors manifeste et permet de distinguer deux populations de fibres:

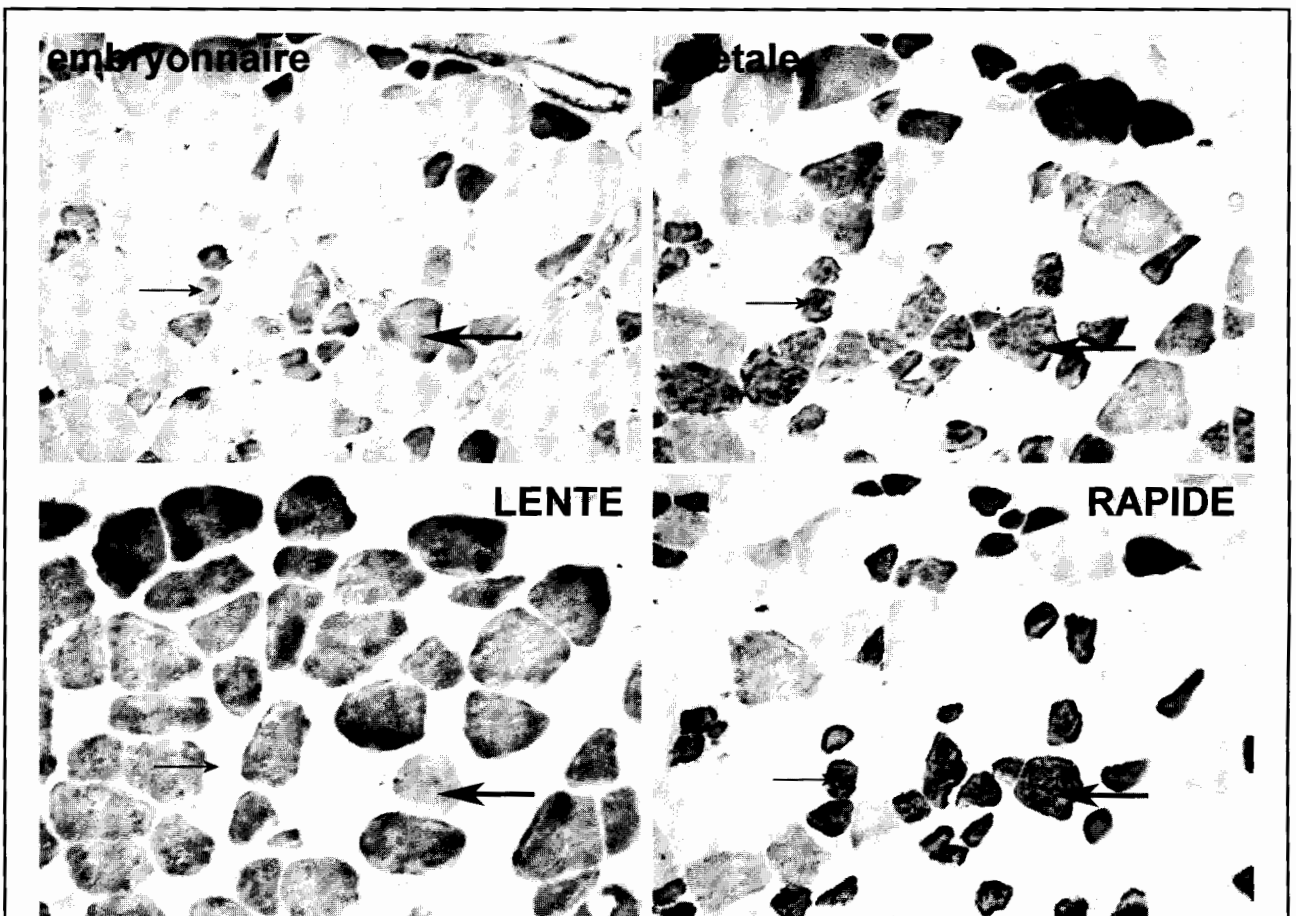


Fig. 2: Coupes semi-sérialées de la partie superficielle du masséter chez un adulte. Immunomarquages avec des anticorps spécifiques des isoformes embryonnaire, fœtale, lente et rapide des chaînes lourdes de la myosine, et révélation par un système peroxydase-antiperoxydase. Noter la présence de fibres de petite taille coexprimant les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide des chaînes lourdes de la myosine mais n'exprimant pas la myosine lente (petites flèches). Noter également que les fibres les plus volumineuses expriment l'isoforme lente des chaînes lourdes de la myosine, de façon isolée ou parfois associée aux trois autres isoformes (flèches épaisses).

- les unes, globalement plus volumineuses, sont toujours immunoréactives pour la myosine lente. L'expression de myosine lente peut être exclusive ou s'accompagner dans certaines fibres de coexpressions diverses des autres isoformes (certaines fibres peuvent ainsi coexprimer les quatre isoformes embryonnaire, fœtale, lente et rapide)

- les autres, de plus petite taille, coexpriment les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide de la myosine mais n'expriment jamais la myosine lente.

Les résultats biochimiques confirment l'immunophénotype du masséter adulte, objectivant la persistance à ce stade non seulement des isoformes embryonnaire et fœtale de la myosine totale visible sur le gel pyrophosphate mais aussi la persistance de l'isoforme ontogénique LC1EMB des chaînes légères de la myosine visible sur le gel bidimensionnel (Fig. 3).

DISCUSSION

La plupart des muscles striés squelettiques de l'organisme humain sont constitués, chez l'adulte, de fibres de calibre régulier possédant une vitesse de contraction lente ou rapide. Ces propriétés fonctionnelles correspondent à différents caractères histoenzymologiques et biochimiques, et s'accompagnent de l'expression d'isoformes spécifiques de différentes protéines. Ainsi par exemple, les fibres lentes d'un muscle expriment des isoformes spécifiques lentes des chaînes légères et des chaînes lourdes de la myosine tandis que les fibres rapides en expriment des isoformes rapides. D'autres isoformes ontogéniques de la myosine ont été caractérisées au cours du développement embryo-fœtal, mais ne sont normalement pas exprimées dans le muscle adulte (Barbet et Butler-Browne 1990) : il s'agit principalement

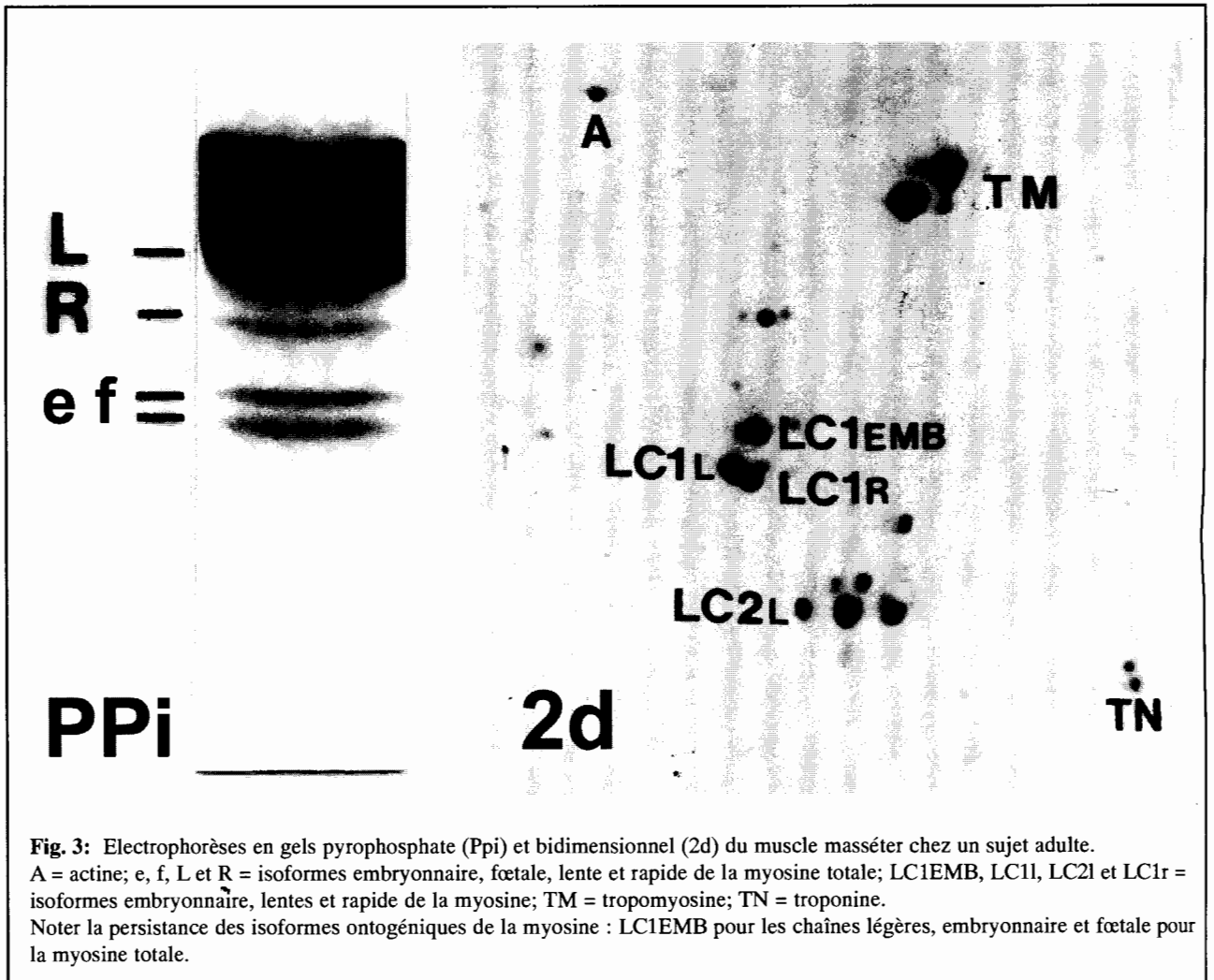


Fig. 3: Electrophorèses en gels pyrophosphate (Ppi) et bidimensionnel (2d) du muscle masséter chez un sujet adulte.

A = actine; e, f, L et R = isoformes embryonnaire, fœtale, lente et rapide de la myosine totale; LC1EMB, LC1L, LC2L et LC1R = isoformes embryonnaire, lentes et rapide de la myosine; TM = tropomyosine; TN = troponine.

Noter la persistance des isoformes ontogéniques de la myosine : LC1EMB pour les chaînes légères, embryonnaire et fœtale pour la myosine totale.

des isoformes embryonnaire et fœtale des MHCs et de l'isoforme embryonnaire LC1EMB des chaînes légères de la myosine.

De façon générale chez l'Homme, le développement d'un muscle du tronc ou des membres fait intervenir deux générations de fibres musculaires, différant l'une de l'autre par leurs profils d'expression protéique (Barbet et Butler-Browne 1990, Barbet et al. 1991).

Les fibres de première génération apparaissent précocement et expriment l'isoforme lente des MHCs dès leur formation; elles donnent naissance à des fibres lentes dans le muscle adulte. Les fibres de deuxième génération se forment progressivement et de façon asynchrone autour des fibres de première génération; elles n'expriment pas la MHC lente d'emblée mais peuvent l'exprimer secondairement parallèlement à la maturation de l'innervation motrice. Ainsi, les fibres de deuxième génération peuvent donner naissance soit à des fibres lentes soit à des fibres rapides dans le muscle adulte. Au plan biochimique, l'expression du phénotype adulte s'acquiert pendant la fin de la vie fœtale ou pendant les premières semaines de vie extra-utérine. Cette maturation métabolique s'accompagne de l'élimination des différentes isoformes ontogéniques de la myosine qui ne sont normalement plus exprimées chez l'adulte.

Le masséter appartient à un groupe de muscles "spécialisés" du territoire céphalique, innervés par des nerfs crâniens et possédant une origine embryologique différente de celle des muscles du tronc et des membres.

Sa structure histologique est particulière chez l'adulte, avec une nette prédominance de fibres de type I et une grande dispersion de taille des fibres avec des fibres de type II de très petit calibre. De plus, il existe une population de fibres possédant des réactivités histoenzymatiques intermédiaires entre les fibres de type I et de type II (Ringqvist et al. 1982). Plusieurs travaux ont déjà insisté sur l'expression des isoformes de la myosine dans les fibres du masséter adulte, et notamment sur la persistance de certaines isoformes ontogéniques (Thornell et al. 1984, Butler-Browne et al. 1988, Sciote et al. 1994).

Notre étude du développement du masséter confirme que ce muscle se développe en deux générations successives (Fig. 4), de façon comparable aux autres muscles de l'organisme (Barbet et al. 1992). Une première génération apparaît précocement, dont les

fibres coexpriment d'abord les isoformes embryonnaire, lente et fœtale des MHCs puis subissent une maturation pour n'exprimer que l'isoforme lente chez l'adulte. Les fibres de deuxième génération se forment plus tardivement et coexpriment dans un premier temps les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide des MHCs. La maturation du masséter est très particulière, dans la mesure où les fibres de deuxième génération n'éliminent pas toujours les isoformes embryonnaire et fœtale des MHCs, qui restent largement exprimées chez l'adulte. L'évolution des fibres de deuxième génération est variable : certaines expriment exclusivement la MHC lente chez l'adulte ; d'autres expriment la MHC lente diversement associée aux autres isoformes ; d'autres enfin, continuent à exprimer les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide des MHCs sans jamais en exprimer l'isoforme lente (Barbet et al. 1992).

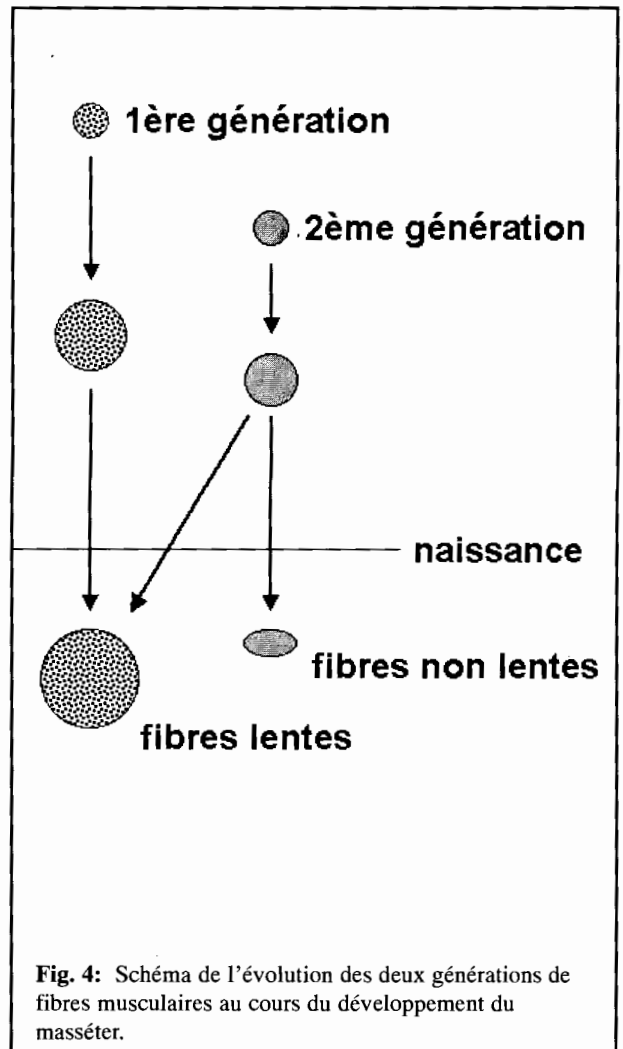


Fig. 4: Schéma de l'évolution des deux générations de fibres musculaires au cours du développement du masséter.

Cette dernière population de fibres, coexprimant chez l'adulte les isoformes embryonnaire, fœtale et rapide des MHCs, est de petite taille par rapport aux fibres exprimant de la myosine lente. Les fibres continuent d'ailleurs à exprimer d'autres isoformes ontogéniques de protéines, comme par exemple une variante embryonnaire de la fibronectine (Price et al. 1998). L'explication de l'expression persistante d'isoformes ontogéniques de certaines protéines chez l'adulte reste discutée : en dehors même des spécificités territoriales liées à la nature du mésenchyme local-régional, certaines hypothèses évoquent un retard d'activation du programme myogénique précoce et de l'expression de facteurs de type MyoD (Yamane et al. 2000) ou insistent sur la chronologie et la complexité particulières de la maturation des jonctions neuromusculaires au sein du masséter humain pendant la période fœtale (Ezure 1996).

Quoi qu'il en soit, il convient d'insister sur le fait que la différence phénotypique de taille des fibres contractiles du muscle masséter s'établit essentiellement après la naissance, et semble se constituer parallèlement au développement important des fonctions de succion puis de mastication dans les périodes néonatale et postnéonatale (Couly 1991). Ainsi, il reste vraisemblable que les caractéristiques du masséter humain traduisent non seulement son origine embryologique et son innervation particulière mais également les contraintes fonctionnelles qu'il subit après la naissance (Barbet et al. 1991).

REFERENCES

BARBET J.P. - Pathologie embryo-fœtale. Paris, Masson, 1997.

BARBET J.P., BUTLER-BROWNE G.S. - Le muscle squelettique: application des techniques immunologiques et biochimiques à l'étude de la myogenèse fœtale. *Rech. Gynécol.* 2,6-15, 1990.

BARBET J.P., LABBÉ S., BUTLER-BROWNE G.S. - Le phénotype particulier des fibres du muscle masséter s'établit après la naissance. *Bull. Assoc. Anat.* 233,7-12, 1992.

BARBET J.P., THORNELL L.E., BUTLER-BROWNE G.S. - Immunocytochemical characterisation of two generations of fibers during the development of the human quadriceps muscle. *Mechan. Develop.* 35,3-11, 1991.

BUTLER-BROWNE G.S., BARBET J.P., THORNELL L.-E. - Myosin heavy and light chain expression during human skeletal muscle development and precocious muscle maturation induced by thyroid hormone. *Anat. Embryol.* 181,513-522, 1990.

BUTLER-BROWNE G.S., ERIKSSON P.O., LAURENT C., THORNELL L.-E. - Adult human masseter muscle express isozymes characteristic of development. *Muscle Nerve* 11,610-620, 1988.

COULY G. - Développement céphalique. Embryologie, croissance, pathologie. Paris, éditions CdP, 1991.

EZURE H. - Development of the motor endplates in the masseter muscle in the human fetus. *Anat. Anz.*, 178,15-23, 1996.

MOOTOOSAMY R.C., DIETRICH S. - Distinct regulatory cascades for head and trunk morphogenesis. *Development* 129,573-583, 2002.

NODEN D.M., MARCUCIO R., BORYCKY A.-G., EMERSON C.E. - Differentiation of avian craniofacial muscles: I. Patterns of early regulatory gene expression and myosin heavy chain synthesis. *Develop. Dyn.* 216,96-112, 1999.

PRICE N., HUNT N.P., LEWIS M.P. – Expression of an embryonic fibronectin splicing variant in human masseter muscle.
Arch. Oral Biol. 43,911-915, 1998.

RINGQVIST M., RINGQVIST I., ERIKSSON P.O., THORNELL L.-E. – Histochemical fiber type profile in the human masseter muscle.
J. Neurol. Sci. 53 ,273-282, 1982.

SCIOTE J.J., ROWLERSON A.M., HOPPER C., HUNT N.P. – Fibre type classification and myosin isoforms in the human masseter muscle.
J. Neurol. Sci. 126,15-24, 1994.

THORNELL L.-E., BILLETER R., ERIKSSON P.O., RINGQVIST M. – Heterogenous distribution of myosin in human masticatory muscle fibers as shown by immunocytochemistry.
Arch. Oral Biol. 29 ,1-5, 1984.

YAMANE A., OHNUKI Y., SAEKI Y. – Delayed embryonic development of mouse masseter muscle correlates with delayed MyoD family expression.
J. Dent. Res. 79 ,1933-1936, 2000.

Auteur Responsable:

Pr J.P. BARBET

Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique

Faculté de Médecine Cochin Port-Royal

24 rue du Faubourg Saint Jacques

F-75014 Paris

France