

SUPPLÉMENT
L'ÉDITION FRANÇAISE

ACTUALITÉS THÉRAPEUTIQUES

SUPPLÉMENT À L'ÉDITION FRANÇAISE

JAMA

Laboratoire de Pharmacologie
FACULTE DE MEDECINE UCL 5540

Tour Harvey

Avenue Hippocrate 55

B-1200 Bruxelles (Belgium)

Numéro hors-série - Avril 1990

LE MUSCLE

IV^e Journée nationale de la médecine de rééducation

Paris, 27 avril 1990
Faculté de Médecine
Pitié-Salpêtrière



L'AMA ne saurait être
engagée par les articles,
rubriques ou suppléments
non issus de l'édition originale.
Les articles ou analyses issus de
l'édition originale du JAMA ou
d'autres publications de l'AMA sont
identifiés par leurs références bibliographiques.

Édition réalisée en collaboration avec
les Laboratoires CLIN MIDY du groupe SANOFI

Bases physiologiques de la régénération musculaire

Pr G. Maréchal

Département de Physiologie, Faculté de Médecine
Université Catholique de Louvain
Bruxelles 1200, Belgique.

Les muscles squelettiques striés de mammifères sont dotés d'une puissante capacité de régénération après une lésion traumatique, toxique ou pathologique. La preuve expérimentale décisive en a été rapportée en 1964 par Studitsky de l'Académie des Sciences de Moscou. Dans son expérience de base (1), le triceps sural d'un rat est soigneusement excisé de sa loge, découpé aux ciseaux en tout petits morceaux et replacé *in situ*. Six semaines à deux mois plus tard, on peut observer à la réouverture de la jambe qu'un muscle nouveau s'est formé, bien contractile, revascularisé, réinnervé et connecté au fémur et au calcanéum par des tendons. L'examen clinique révèle que la griffe apparue dès l'opération initiale s'est totalement ou partiellement résorbée. Dans les meilleurs cas, la récupération clinique peut être complète et l'animal marche et court quasi normalement ; il persiste toutefois une déficience importante, à savoir que le poids du muscle régénéré et sa force isométrique maximale ne dépassent pas 30% des valeurs du muscle contrôle. Ces expériences ont été souvent confirmées par la suite, notamment par Carlson, Faulkner, et bien d'autres, dont nous-mêmes (2-5, revue par Plaghki, 1985). Ultérieurement, de nombreux auteurs ont décrit des cas où la régénération musculaire est complète, par exemple après transplantation ou lésions par myotoxiques (bupivacaïne (6), venin de cobra (7, 8)).

Nous examinerons dans ce travail les principaux facteurs qui limitent ou modulent la régénération des muscles striés.

Les phases de la régénération musculaire

Les lésions

Il existe naturellement une énorme variété de lésions musculaires. Il est clair que de grosses agressions (traumatisme, brûlure ou gelure) détruisent non seulement les cellules musculaires, mais aussi leur armature conjonctive, leur innervation et leur vascularisation : la réparation parfaite du tissu est alors compromise. Cependant, il est probable que des lésions musculaires sont très fréquentes même lors de mouvements banals (9), mais qu'elles se remarquent peu à cause du grand pouvoir régénérateur de ce tissu.

En effet, les fibres musculaires au repos sont mécaniquement très fragiles, comme on peut s'en assurer lorsqu'on essaie de les isoler par microdissection, car leur membrane se déchire très facilement. Il est donc probable que *in vivo* les forces mécaniques considérables engendrées par la contraction des muscles meurtrissent fréquemment des fibres musculaires. On sait que les composan-

tes négatives du travail musculaire sont particulièrement néfastes car elles s'accompagnent de forces considérables excédant la force isométrique maximale des fibres musculaires. Souvent, cependant, la lésion musculaire ne se marque que par des signes relativement discrets, comme, par exemple, des courbatures ou une élévation de la créatine kinase dans le sang. L'examen au microscope électronique ne montre alors que peu de chose. La lésion est localisée à un petit segment de la fibre musculaire en forme de triangle à base externe : les sarcomères y sont fortement contractés. La membrane cellulaire manque par endroit, et l'on pense donc que le calcium extracellulaire est entré par ces déchirures membranaires et a déclenché une contraction locale. Dans les cas plus graves, la fibre musculaire se rompt et les extrémités se rétractent tout en restant dans le tube endomyosial qui entoure chaque fibre musculaire.

La dégénération

La lésion membranaire entraîne une conséquence plus grave que la contraction locale. En effet, l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire qu'elle provoque est mille fois supérieure à celle qui déclenche une contraction physiologique. Cette énorme augmentation du calcium sarcoplasmique active des protéases sarcoplasmiques. Dans les heures qui suivent, on observe la dissolution des lignes Z, la fragmentation des myofibrilles et la disparition de la structure en sarcomères, la disparition des ribosomes et des grains de glycogène, le gonflement des mitochondries et du réticulum sarcoplasmique suivi de leur désintégration, la condensation (pycnose) et fragmentation des noyaux (caryorexie).

Cette phase de dégénérescence *intrinsèque* ne dure que quelques heures à un ou deux jours, mais peut être prolongée à plusieurs semaines selon les conditions expérimentales, le facteur important étant circulatoire. En effet, dans l'intervalle de quelques heures après la lésion, des cellules mononuclées apparaissent parmi les débris nécrotiques : après quelques neutrophiles éclaircisseurs, les macrophages phagocytent les débris, ne laissant que la membrane basale.

Cette phase de dégénérescence *extrinsèque* est terminée en deux à trois jours.

La régénération

Quelques noyaux de la fibre musculaire lésée restent normaux : ils appartiennent en fait à des cellules logées dans une dépression de la fibre musculaire, à l'intérieur de la membrane basale. Ces cellules « satellites » (découvertes par Mauro en 1961) sont dans le muscle normal pourvues d'un peu de cytoplasme sans myofibrilles ni spécialisation phagocytaire ou sécrétoire et d'un noyau hétérochromatique, signe de « repos » métabolique. Pendant la dégénérescence intrinsèque, on observe une activation des cellules satellites : le volume cellulaire augmente, le noyau s'ovalise et devient euchromatique, les ribosomes apparaissent et le cytoplasme devient basophile, signe de synthèses protéiques actives et enfin, elles prolifèrent ; peu après, il apparaît des protéines contractiles, myosine et actine. Les cellules satellites sont devenues des « myoblastes ». Les myoblastes prolifèrent abondamment, formant une chaîne de cellules à la face interne de l'ancienne membrane basale. Elles fusionnent bout à bout, donnant des cellules syncytiales, les myotubes. La synthèse des protéines contractiles s'accélère alors vertigineusement, et bientôt les myofibrilles remplissent le cytoplasme.

Cette *phase initiale* se poursuit par une *phase de maturation*, où le diamètre de la fibre s'accroît, les noyaux centraux du myotube migrent en périphérie pour y occuper la position caractéristique de la fibre musculaire adulte normale et la différenciation métabolique en type lent ou rapide s'établit. La restitution *ad integrum* est complète en 8 à 12 jours après les lésions fonctionnelles causées par un exercice violent. Mais la restitution n'est souvent pas complète dans les autres cas, car elle dépend de nombreux facteurs étudiés ci-après. Par exemple, après une transplantation, le processus de régénération s'éteint en route : c'est la *phase de stabilisation* de la greffe, atteint après des délais forts variables selon les cas (de 40 à 400 jours). On observe dans ces cas un déficit du tissu musculaire (et donc de force) remplacé en partie par du tissu adipeux ou conjonctif.

Les facteurs de contrôle

Cellules satellites

L'intégrité de ces cellules est indispensable. Si elles sont tuées, la régénération du tissu musculaire est absente. Le cas le plus simple est celui où un muscle est excisé : il n'est alors pas remplacé. Si le muscle excisé est remis en place (autotransplantation), les fibres musculaires dégèrent et sont remplacées par de nouvelles, mais avec une perte dépassant 50%. Si les cellules satellites du transplant sont tuées par chauffage (plus de 50°C), congélation, choc osmotique ou irradiation, le transplant ne régénère que du tissu conjonctif et adipeux. L'irradiation (18 Gray) de muscle *in situ* tue les cellules satellites, enlevant à ces muscles irradiés leur pouvoir de se régénérer : ces muscles ne réparent des lésions que par fibrose. Si, au contraire, le nombre de cellules myogéniques est artificiellement accru par greffe de myoblastes au transplant, la régénération ne paraît guère stimulée. Notons enfin que les cellules satellites résistent bien à l'ischémie, pourvu qu'elle ne dépasse pas deux à trois jours.

Tubes endomysiaux

Les fibres musculaires sont serties dans une membrane basale formant un tube, le tube endomysial. Ce tube est sécrété par les myotubes pendant l'ontogenèse. Il est de structure assez complexe, contenant plusieurs variétés de collagène (notamment le type V, placentaire) associés à de la fibronectine et des glycosaminoglycans. Les macrophages et neutrophiles peuvent traverser le tube, ce qui arrive lors de la dégénérescence extrinsèque, mais les cellules satellites et les myoblastes ne le peuvent guère, ce qui a pour conséquence que ces cellules restent à l'intérieur du tube pendant la phase initiale de la régénération.

Si la lésion tuant les fibres musculaires respecte les tubes endomysiaux (cas des anesthésiques locaux, bupivacaïne, venin de serpent, compression mécanique, etc.), les myoblastes prolifèrent sans quitter le tube : la régénération peut alors être quasi totale.

Mais si la lésion casse les tubes, les cellules myogéniques se dispersent dans les espaces extracellulaires et leurs chances de fusionner en fibres musculaires s'abaissent. Par exemple, dans l'expérience de Studitsky où l'on greffe un muscle découpé aux ciseaux, ces tubes sont sectionnés et orientés au hasard dans la greffe : cela explique probablement la faible régénération qui y est observée. Cette interprétation est d'ailleurs soutenue par le fait que l'addition de cellules myogéniques à une telle greffe n'améliore pas la régénération, montrant clairement que dans ce cas le facteur limitant la régénération n'est pas le nombre de cellules myogéniques (10).

Circulation

L'ischémie tue les fibres musculaires en quelques heures. La régénération est satisfaisante, car les tubes endomysiaux sont préservés et les cellules satellites résistent bien à l'ischémie de quelques heures, mais elle est lente comparée à celle suivant l'exercice intense, car elle requiert 6 à 8 semaines. Si l'ischémie dure plus de quelques jours, la survie des cellules satellites est compromise, ainsi que la régénération. Ce sera notamment le cas des transplants musculaires avec section des vaisseaux. La greffe doit alors être revascularisée par une invasion de capillaires suivis de vaisseaux : la proportion de tissus régénérés dépend alors de la vitesse à laquelle les capillaires en prolifération approchent des myoblastes anoxiques. En pratique, des muscles de plus de 1 à 2 g ne régénèrent qu'en périphérie.

C'est pourquoi la transplantation (ou la greffe) de muscles chez l'homme doit nécessairement s'accompagner de la préservation de la circulation, soit en respectant le pédicule vasculaire, soit en anastomosant les vaisseaux par microchirurgie.

Innervation

Les jonctions neuromusculaires sont très sensibles à l'ischémie, mais elles régèrent rapidement et quasi normalement si les tubes endoneuraux et endomysiaux ont été respectés : c'est le cas de l'ischémie simple, ou de la transplantation d'un muscle avec pédicule

vasculo-nerveux intact. La dénervation n'empêche pas la phase initiale de la régénération, mais la maturation cède à une atrophie sans différenciation en fibres lentes ou rapides. Après section et resuture du nerf, le muscle en régénération est réinnervé par les axones guidés par les tubes endoneuraux, mais ils sont alors plus fins et moins nombreux que normalement, ce qui explique que les unités motrices sont réduites en nombre et que les fibres musculaires qu'ils innervent sont amincies. Bien que la force par unité de surface musculaire reste normale, la force maximale que produit le muscle est réduite de plus de moitié. Dans les greffes libres où le nerf n'est pas resuturé, les fibres nerveuses en régénération ne sont pas guidées vers les régions synaptiques, et elles ratent fréquemment les fibres musculaires : les pertes de fibres et de force sont alors très importantes, pouvant monter à plus de 90%.

Forces mécaniques

Dans l'expérience de Studitsky, on observe que les fibres musculaires néoformées sont repliées et tortueuses au début de la régénération, mais elles s'alignent suivant l'axe longitudinal du muscle dans l'intervalle de 3 à 4 semaines, en même temps que la relation force-longueur glisse vers la gauche. On ignore le mécanisme de cette restructuration de l'architecture musculaire, mais il paraît raisonnable de postuler qu'il est dû à l'action du champ mécanique engendré par les contractions musculaires.

On observe communément quelques fibres musculaires nécrotiques dans les muscles en régénération. Leur signifi-

cation est inconnue, mais que ces fibres puissent être des fibres tuées par lésion mécanique du fait de leur mauvais alignement, constitue une hypothèse intéressante qui fournit la base d'un mécanisme d'alignement des fibres musculaires, puisque seules survivent des fibres échappant aux efforts mécaniques excessifs. On sait d'ailleurs l'importance d'aligner correctement les tendons et les tensions lors de la chirurgie réparatrice des muscles.

Utilisation fonctionnelle

La mobilisation active précoce paraît favoriser les régénérations musculaires. L'importance de cet effet est démontré par l'accroissement considérable (+50%) de la régénération du soleus de rat greffé en place du triceps sural, d'une façon qui rappelle l'hypertrophie compensatoire observée après ténotomie des muscles synergistes. Pourtant, les données manquent pour pouvoir établir un programme optimal de rééducation favorisant la régénération musculaire.

Autres facteurs

Le nombre de cellules satellites initialement présentes dans le muscle ne semble pas important : ainsi le soleus de rat contient trois fois plus de cellules satellites que l'extenseur commun des doigts mais ses greffes libres ne régénèrent pas mieux. L'âge joue un certain rôle : par exemple les muscles découpés selon Studitsky régénèrent nettement mieux chez le rat jeune de 50 jours que chez celui plus âgé de 150 jours, mais l'effet de l'âge est moins net dans les autres cas de régénération.

L'hormone thyroïdienne favorise l'expression des myosines du type adulte : cet effet serait important lors du développement du rat, puisque le raton nouveau-né est hypothyroïdien, mais ne joue pas chez l'adulte normalement euthyroïdien ; l'hyperthyroïdie chez l'adulte favorise la régénération en fibres musculaires rapides. On n'a pas encore étudié les effets des facteurs myogéniques de croissance (comme le MyoD1) actifs chez l'embryon sur la régénération du muscle chez l'adulte.

Bibliographie

1. Studitsky A.N. (1964). Free auto- and homografts of muscle tissue in experiments on animals. *Ann. N.Y. Ac. Sci.*, **120**, 789-801.
2. Plaghki L. (1985). Régénération et myogenèse du muscle strié. *Journal de Physiologie (Paris)* **80** : 51-110.
3. Carlson B.M. (1972). The regeneration of minced muscles. *Monographs in Developmental Biology*. Karger Eds, Basel.
4. Carlson B.M. and Faulkner J.A. (1983). The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **15**, n° 3, 187-198.
5. Maréchal G., Schwartz K., Beckers-Bleux G. & Ghins E. (1984). Isozymes of myosin in growing and regenerating rat muscles. *Eur. J. Biochem.* **138**, 421-428.
6. Benoit P.W. & Belt W.D. (1970). Some effects of local anesthetic agents on skeletal muscle. *Exp. Neurol.*, **34**, 264-278.
7. Harris J.B. & Maltin C.A. (1982). Myotoxic activity of the crude venom and the principle neurotoxin, taipoxin, of the Australian tiger snake. *Clin. Exp. Pharmac. Physiol.*, **5**, 587-600.
8. D'Albis A., Couteaux R., Janmot C., Roulet A. & Mira, J.C. (1988). Regeneration after cardiotoxin injury of innervated and denervated slow and fast muscles of mammals. *Eur. J. Biochem.*, **174**, 103-110.
9. Irintchev A. & Wernig A. (1987). Muscle damage and repair in voluntary running mice: strain and muscle differences. *Cell Tis. Res.* **249**, 509-521.
10. Ghins E., Colson-Van Schoor M. & Maréchal G. (1986). Implantation of autologous cells in minced and devitalized rat skeletal muscle. *J. Muscle Res. Cell Mot.* **7**: 151-159.