

**LES MYOSINES NATIVES
DES MUSCLES MASTICATEURS DU CHAT
PAR ÉLECTROPHORÈSE EN MILIEU NON DISSOCIANT**

**Michel NAVEZ, José DAHAN, Véronique de BÉTHUNE
et Georges MARÉCHAL (Bruxelles)**

**L'ORTHODONTIE
FRANÇAISE**

Extrait du Volume 58 - 1987

LES MYOSINES NATIVES DES MUSCLES MASTICATEURS DU CHAT PAR ÉLECTROPHORÈSE EN MILIEU NON DISSOCIANT

**Michel NAVEZ, José DAHAN, Véronique de BÉTHUNE
et Georges MARÉCHAL (Bruxelles)**

INTRODUCTION

Intéressés tout particulièrement en orthopédie dento-faciale par l'aspect fonctionnel du système masticateur, il nous fallait trouver une technique d'investigation capable d'identifier les différentes myosines musculaires.

L'électrophorèse en milieu non dissociant, c'est-à-dire n'altérant pas la structure myosinique, répond particulièrement bien à cet objectif.

Le chat, par ses mouvements d'élévation et de fermeture selon un axe charnière pur, telle une paire de ciseaux (fig. 1), est un modèle masticateur apparemment plus simple que celui de l'homme, où les différentes fonctions masticatrices se cotoient souvent simultanément, rendant leur interprétation plus délicate. Les techniques d'AT-Pase selon ROWLERSON¹⁰ (1983) ont mis en évidence chez le chat au niveau masticateur des fibres particulières appelées IIm dont la topographie et le pourcentage varient selon l'endroit du prélèvement et l'animal d'expérience. Il était donc intéressant d'opérer une dissection physiologique plutôt qu'anatomique et de voir si les myosines sont différentes comme le sont les fibres musculaires.

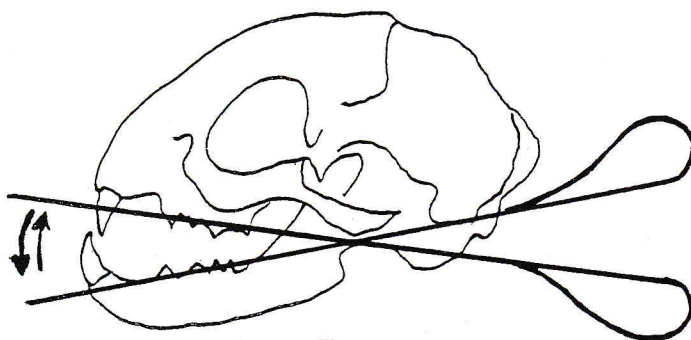


Figure 1

Crâne de chat (vue latérale). Le condyle agit comme centre de rotation pure.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 - Échantillons

Cinq chats de 4 à 5 mois, après prémédication au Rompun (xylazine : 0.5 mg/kg en sous-cutané) furent euthanasiés par injection intrapulmonaire de Nembutal (pentobarbital sodique 60 mg/ml : 1 ml/kg). Le masséter fut dissocié en plans superficiel, moyen et profond (fig. 2 a). Le plan superficiel méritait à son tour une division plus poussée en portions antérieure et postérieure. Dans le temporal nous avons retenu les faisceaux suivants : le faisceau accessoire (typique du chat), l'insertion coronoidienne, dans la région antérieure ou rostrale, la partie moyenne et, enfin, la région postérieure.

L'échantillon du ptérygoïdien interne a été prélevé 2 cm plus haut que son insertion inférieure à la face interne du ramus afin d'être sûr de ne pas confondre avec les fibres provenant du masséter.

C'est à son insertion condylienne que fut prélevé le ptérygoïdien externe. Le digastrique (fig. 2 b) enfin, fut obtenu dans sa partie moyenne. Pour les autres muscles, l'extensor digitorum longus (E.D.L.), le soleus et le psoas, les prélèvements furent réalisés en pleine masse charnue.

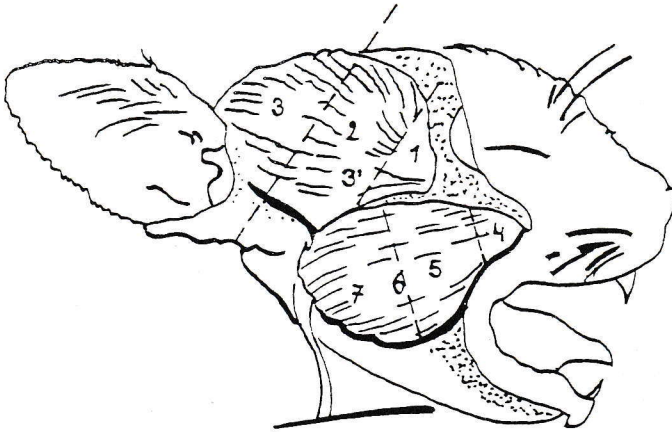


Figure 2 a

Tête de chat (vue latérale). Endroits de prélèvement des différents échantillons.

Temporal : insertion coronoidienne sur l'apophyse coronoïde.

temporal antérieur : 1	masséter superficiel antérieur : 4
temporal moyen : 2	masséter superficiel moyen : 5
temporal postérieur : 3	masséter moyen : 6
faisceau accessoire du temporal : 3'	masséter profond : 7

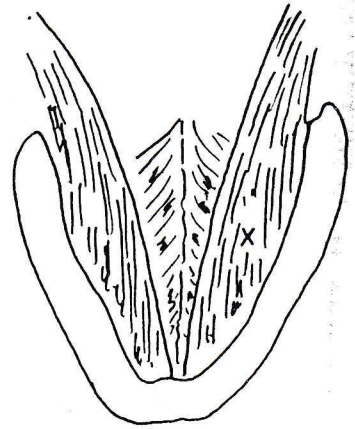


Figure 2 b

Mandibule de chat (vue inférieure).

Le digastrique : la croix indique l'endroit du prélèvement.

2 - Extraits musculaires

Chaque prélèvement fut d'abord pesé, puis broyé dans un mortier en présence d'azote liquide. La poudre obtenue, additionnée de 4 volumes de solution de GUBA-STRAUB fut soumise à l'extraction pendant 20 minutes (refroidie par glace). La solution de GUBA-STRAUB contient : 0.3 M NaCl, 0.1 M NaH_2PO_4 , 0.05 M Na_2HPO_4 , 1mM MgCl_2 , 10mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 0.1 % NaN_3 , PH 6.5, 0.1 % de 2-Beta Mercaptoéthanol, à ajouter juste avant l'emploi. La suspension fut alors centrifugée pendant 10 min. à 20 000 tours à 2°C.

Le surnageant mélangé à un volume de glycérol est utilisable immédiatement, ce qui est préférable, ou stocké jusqu'à utilisation à -20°C .

L'extrait musculaire de myosine fut utilisé sans autre purification pour l'électrophorèse en gel polyacrylamide selon la technique décrite par HOH et al.⁴ (1976) et d'ALBIS et al.³ (1979) avec quelques modifications.

La préparation des gels, le déroulement de l'électrophorèse et les mesures de mobilité et de proportion des isozymes ont été décrits en détails ailleurs (MARÉCHAL et al.⁶, 1984).

3 - Mobilité

La mobilité des myosines est calculée par rapport à celle de SM2 (slow myosin of rat), fixée à 100 %. En pratique, elle est évaluée par comparaison avec la mobilité de la myosine de *taenia coli* (fixée à 147 %), additionnée aux extraits de myosine en tant qu'étalon interne de mobilité.

RÉSULTATS

La figure 3 expose l'électrophorétogramme des onze échantillons des muscles masticateurs élévateurs comparés à un muscle abaisseur, le digastrique et deux muscles squelettiques périphériques, l'E.D.L. et le psoas. Le soleus de chat a été ajouté dans un souci de comparaison. Dans chaque cas, la bande la plus rapide est la myosine du *taenia coli* (muscle lisse chez le cochon d'Inde) utilisé comme standard interne.

Les muscles élévateurs de la mandibule montrent une ou deux isomyosines, tandis que les autres échantillons en offrent une (le soleus), trois (le psoas) ou quatre (E.D.L.).

La figure 4 montre la densitométrie des cinq muscles de fermeture comparés au soleus adulte et à l'E.D.L. Le pic de droite correspond au muscle lisse. Trois muscles élévateurs montrent un seul pic (a, b, c), les deux autres deux pics (d, e); l'E.D.L. se caractérise par quatre pics, le soleus par un seul.

Le tableau I rapporte les mobilités des myosines des muscles élévateurs, appelées JM1 et JM2 en fonction de leur vitesse de migration décroissante. Tous les muscles masticateurs élévateurs contiennent une isomyosine qui migre à la même vitesse (115 ± 1). Six d'entre eux ont une seconde myosine plus lente (104 ± 1). Les autres muscles périphériques (E.D.L., psoas, soleus) contiennent les trois isomyosines rapides typiques: FM1, FM2, FM3 (cfr. d'ALBIS et al., 1979; HOH et YEOH, 1979) et les deux isomyosines lentes SM1 et SM2 dont les mobilités sont similaires à celles observées par MARÉCHAL et al.⁶, 1984.

Le tableau II analyse les proportions des isomyosines enregistrées par densitométrie et ce l'une par rapport aux autres en excluant évidemment la myosine du *taenia coli*. Quand les myosines masticatrices JM1 et JM2 sont présentes, elles le sont en proportion égale, sauf dans la portion postérieure du masséter superficiel, où le rapport JM1/JM2 est 2/1. Dans les muscles périphériques, la répartition des différentes myosines est beaucoup plus stable.

L'erreur standard des moyennes est sensiblement plus grande dans les muscles masticateurs, élévateurs que dans les muscles périphériques. Les muscles masticateurs varient plus selon l'individu examiné que ne le font les autres muscles squelettiques.

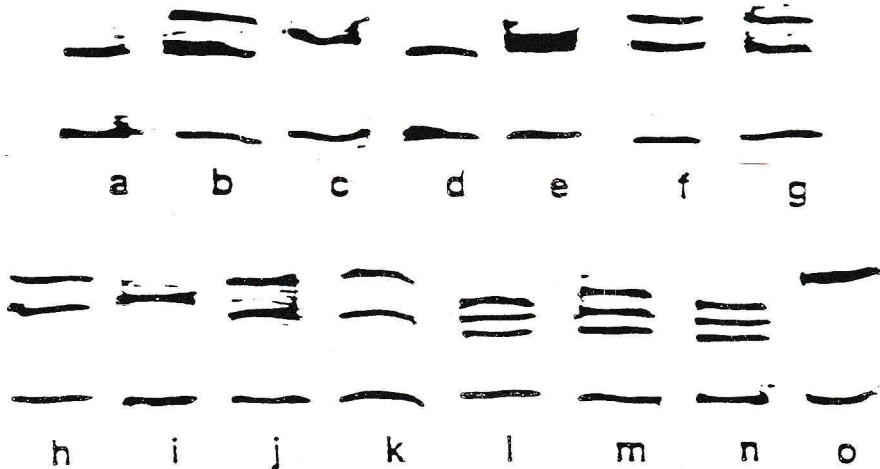


Figure 3

Électrophorèse en gel pyrophosphate des isomyosines de chat. Seules les bandes de myosine sont montrées. Dans tous les échantillons, la bande la plus basse correspond au muscle lisse du taenia coli de cobaye.

Temporal (a. - e.):

- a: faisceau accessoire
- b: muscle à l'insertion coronoidienne
- c: antérieur
- d: moyen
- e: postérieur.

Masséter (f. - i.):

- f: superficiel antérieur
- g: superficiel postérieur
- h: moyen
- i: profond
- j: Ptérygoidien interne
- k: Ptérygoidien externe
- l: Digastrique
- m: Psoas
- n: E.D.L.
- o: Soleus

Température d'électrophorèse: 4 degrés centigrades.

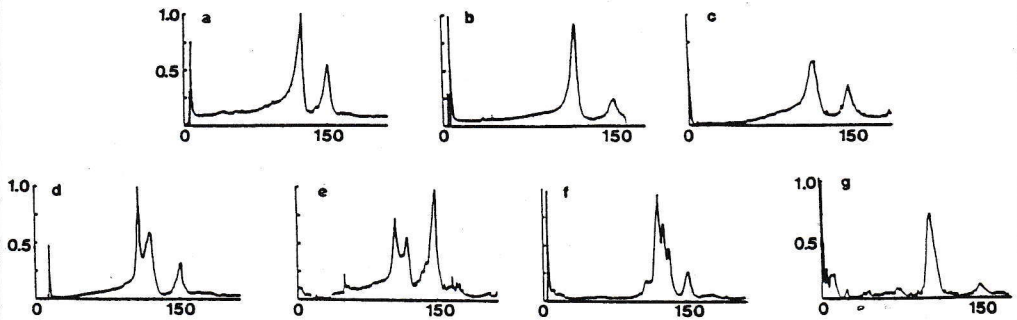


Figure 4

Profil des myosines du chat. Les gels a, c, d, j, k, o dans la figure 3 furent scannés à 536 nm.

En ordonnée: absorbance en unité arbitraire.

En abscisse: mobilité (unité: mobilité du taenia coli de cobaye = 147).

- a: Temporal accessoire
- b: Temporal antérieur
- c: Temporal moyen
- d: Ptérygoidien interne
- e: Ptérygoidien externe
- f: E.D.L.
- g: Soleus.

Le pic (à droite) correspond à la myosine du muscle lisse: taenia coli.

Le pic (à gauche) correspond à JM1 dans (a), (b) et (c).

Le doublet en (c), (d) et (e) correspond à JM1 (à droite) et JM2.

E.D.L. (f) montre les trois myosines rapides FM1, FM2 et FM3; le triplet à droite et une variété de myosine lente appelée SM1 selon BECKERS-BLEUKX et MARECHAL¹ (1986).

Le soleus (g) montre une bande unique qui correspond à une autre variété de myosine lente appelée SM2 selon BECKERS-BLEUKX et MARECHAL¹ (1986).

Nom des isomyosines	SM2	SM1 JM2	FM3 JM1	FM2	FM1
Nom des muscles					
Temporal					
faisc. acc.		—	116		
ant. coro.		104	115		
ant.		—	116		
moy.		—	115		
post.		—	114		
Masséter					
sup. ant.		106	115		
sup. post.		104	112		
moy.		104	115		
prof.		—	115		
Ptérygoïdien					
ext.		103	113		
int.		106	116		
Digastrique			115	119	125
Psoas			115	121	125
E.D.L.		104	113	118	123
Soleus du chat	101				
Soleus du rat*	100	107			
E.D.L. du rat*			118	122	125

Tableau I

Mobilité des isomyosines dans les muscles du chat.

Les chiffres sont des moyennes obtenues sur quatre sujets d'expérience, excepté pour le ptérygoïdien externe (n = 3). La déviation standard des moyennes n'est pas montrée pour ne pas surcharger le tableau ; elle est approximativement égale à 1.

* Références de MARÉCHAL et al.², 1984.

Nom des isomyosines	SM2	SM1 JM2	FM3 JM1	FM2	FM1
Nom des muscles					
Temporal					
faisc. acc.		0	100		
ant. coro.		44 ± 4	56 ± 4		
ant.		0	100		
moy.		0	100		
post.		0	100		
Masséter					
sup. ant.		46 ± 4	48 ± 5		
sup. post.		29 ± 6	71 ± 6		
moy.		45 ± 6	55 ± 6		
prof.			100		
Ptérygoïdien					
ext.		51 ± 8	49 ± 8		
int.		42 ± 9	58 ± 9		
Digastrique			55 ± 1	29 ± 1	18 ± 3
Psoas			49 ± 4	38 ± 1	15 ± 3
E.D.L.		5 ± 1	36 ± 5	33 ± 2	26 ± 4
Soleus du chat*	100				
Soleus du rat*	71 ± 4	26 ± 3			
E.D.L. du rat		31 ± 3	34 ± 2	35 ± 3	

Tableau II

Proportions des isomyosines des muscles de chat en % de la myosine totale.

Les chiffres sont des moyennes plus leur déviation standard (n = 4), excepté pour le ptérygoïdien externe (n = 3).

* Références de MARÉCHAL et al.², 1984.

DISCUSSION

Les muscles masticateurs chez le jeune chat ont une ou deux isomyosines (JM1 et JM2) détectables par l'électrophorèse des myosines non dissociées. Les muscles rapides par contre, tel le psoas, en ont trois, les muscles mixtes, tels l'E.D.L. et le fléchisseur commun des doigts, quatre. Le digastrique, un muscle d'ouverture mandibulaire, est caractérisé par trois myosines rapides exactement comme le psoas.

JM1 est la myosine la plus rapide : sa mobilité électrophorétique de 115 est similaire à celle de FM3, la plus lente des trois isomyosines typiques des muscles rapides. Cependant, on ne peut admettre que JM1 et FM3 contiennent la même isomyosine, car ROWLERSON et al.⁹ (1981) ont isolé du temporal postérieur du chat une isomyosine différente de la myosine des muscles rapides, par ses chaînes lourdes ; ces auteurs l'ont appelée « Super-Fast Myosin » vu son importante activité ATPasique. Nous n'avons observé dans le temporal postérieur qu'une seule isomyosine, la JM1.

JM1 est donc cette myosine très rapide qui pourrait exister dans les fibres IIm (MASCARELLO et al.⁷, 1979 ; ROWLERSON et al.⁹, 1981 ; TAYLOR et al.¹¹, 1973).

JM2 est une isomyosine plus lente. Sa mobilité électrophorétique (104 ± 1) est identique à celle de SM1, mais notablement plus élevée que SM2 (mobilité = 100), qui est la myosine spécifique des fibres de type I dans le soleus du rat et du chat. La signification de SM1 n'est pas claire. Elle a été observée dans le soleus du rat et du chien, dans l'E.D.L. du lapin et du chat, dans les muscles intrinsèques de l'œil (BECKERS-BLEUKX et MARÉCHAL¹, 1986) et dans le muscle de l'oreille du lapin (MORARU et al.⁸, 1984). Sa proportion est faible dans ces muscles, environ 5 à 20 % de la myosine. Son importance (50 %) dans plusieurs muscles masticateurs, élévateurs est à souligner.

Il pourrait s'agir d'une seconde forme lente de myosine lente probablement plus spécialisée dans le tonus de posture mandibulaire.

Les myosines masticatrices ne sont pas distribuées uniformément, même dans les muscles anatomiquement bien définis comme le temporal ou le masséter. Le temporal ne contient que JM1, excepté sa portion antérieure à côté de l'apophyse coronoïde. Le masséter est plutôt mixte avec les deux isomyosines en proportion quasi égale, sauf dans la portion profonde qui ne contient que JM1.

Les muscles ptérygoïdiens ont le même profil myosinique que le masséter superficiel.

On peut remarquer ici que les différents faisceaux du masséter et du temporal n'ont pas la même action physiologique. Le temporal et le masséter profond sont topographiquement mieux implantés pour la morsure en force. Le temporal antérieur a son insertion coronoïdienne et les autres régions massétéries ont par contre une insertion sur la mâchoire avec une ligne d'action élévatrice moins favorable. Nous concluons donc que les muscles masticateurs élévateurs du chat ont deux isomyosines isolables par électrophorèse, chacune ayant une fonction physiologique spécifique : JM1 est une myosine rapide utilisée lors de la contraction immédiate et puissante de la mâchoire pendant que JM2 est une myosine plus lente, surtout intéressée dans le tonus de posture permettant de garder la gueule de l'animal fermée ; ceci est une conclusion similaire à celle de ROWLERSON et al.¹⁰ (1983). Le digastrique en tant que muscle masticateur-abaisseur n'a pas le même profil myosinique. Avec ses trois isomyosines très proches du psoas, il se rapproche beaucoup plus des muscles périphériques. ROWLERSON n'y a d'ailleurs pas trouvé de fibres IIm.

Remerciements

Nous remercions Mme BECKERS-BLEUKX pour son assistance technique. Le support financier nous a été donné par la Faculté de médecine de l'Université catholique de Louvain, par le Fonds national de la Recherche scientifique (Belgique) et l'Association nationale d'aide aux handicapés (Rotary Club of Belgium).

RÉSUMÉ

Deux isomyosines (JM1 et JM2) ont été isolées par électrophorèse en gel pyrophosphate polyacrylamide (non dissociant) de muscles masticateurs élévateurs de chats de 4 mois.

JM1 indique une mobilité électrophorétique importante (115 ± 1 ; soleus de rat = 100) et est probablement la myosine ultra-rapide des muscles masticateurs. Elle est unique dans le temporal (excepté dans la région antérieure) et dans le masséter profond. JM2 migre plus lentement (104 ± 1). Elle est semblable à la myosine lente de l'extensor digitorum longus mais différente de celle du soleus. La répartition de ces deux isomyosines dans les différents faisceaux musculaires indiquerait une spécialisation de JM1 dans la contraction rapide et puissante de la mâchoire et de JM2 dans le tonus de posture mandibulaire.

MOTS CLÉS

Myosine — Muscles — Mâchoire — Chat.

SUMMARY

Two isomyosins (JM1 and JM2) have been isolated by pyrophosphate-polyacrylamide gel electrophoresis from jaw-closing muscles of cats aged 4 months. JM1 shows a high electrophoretic mobility (115 ± 1 ; rat soleus = 100) and is probably the superfast jaw myosin: it is pure in temporalis (except an anterior portion) and in deep masseter. JM2 shows a low electrophoretic mobility (104 ± 1): it is similar to the slow isomyosin observed in extensor digitorum longus, but different from the slow isomyosin of soleus. The distribution of the two isomyosins in the various bundles of jaw muscles indicates that JM1 could be more related to phasic, biting activities, whilst JM2 could be more involved in the tonic closure of the mouth.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — BECKERS-BLEUKX, G., MARÉCHAL, G.: The mobility of smooth muscle isomyosines. *Biomed Biochem Acta* **45**: 159-162, 1986.
- 2 — BECKERS-BLEUKX, G., MARÉCHAL, G.: *The electrophoretic mobilities of myosin isozymes in vertebrate muscles. Adaptive mechanisms of muscle*. F. Guba Szeged ed. 1984.
- 3 — D'ALBIS, A., PANTALONI, C., BECKET, J.J.: An electrophoretic study of native myosin isozymes and their subunit content. *Eur J Biochem* **99**: 261-272, 1979.
- 4 — HOH, J.F.Y., Mc GRATH, P.A., WHITE, R.L.: Electrophoretic analysis of multiple forms of myosin in fast-twitch and slow-twitch muscles of the chick. *Biochem J* **157**: 87-95, 1976.
- 5 — HOH, J.F.Y., YEOH, G.P.S.: Rabbit skeletal myosin isozymes from foetal, fast-twitch and slow twitch muscles. *Nature (London)* **280**: 321-323, 1979.

- 6 — MARÉCHAL, G., SCHWARTZ, K., BECKERS-BLEUKX, G., GHINS, E.: Isozymes of myosin in growing and regenerating rat muscles. *Eur J Biochem* **138**: 421-428, 1984.
- 7 — MASCARELLO, F., AURELLI, G., A.: Muscoli masticaroti. Determinazione istochimica dei tipi di fibre muscolari in mammiferi. *Quad Anat Prat* **35**: 193-211, 1979.
- 8 — MORARU, I., BECKERS-BLEUKX, G., MARÉCHAL, G.: The isozymes of rabbit middle ear muscles. *Archs Int Physiol Bioch* **92**: 385-390, 1984.
- 9 — ROWLERSON, A., POPE, B., MURRAY, J., WHALEN, R.B., WEEDS, A.G.: A novel myosin present in cat jaw-closing muscles. *J Muscle Res Cell Mot* **2**: 415-438, 1981.
- 10 — ROWLERSON, A., MASCARELLO, F., VEGETTI, A., CARPENE, E.: The fibre-type composition of the first branchial arch muscles in Carnivora and Primates. *J Muscle Res Cell Mot* **4**: 443-472, 1983.
- 11 — TAYLOR, A., CODY, F.W.J., BOSLEY, M.A.: Histochemical and mechanical properties of the jaw muscles of the cat. *Exp Neurol* **38**: 99-109, 1973.