

## DÉVELOPPEMENT BIOCHIMIQUE DU MUSCLE DE FŒTUS DE BOVIN

### III. — ENZYMES ET DIFFÉRENCIATION <sup>(1)</sup>

M. ANSAY

avec la collaboration technique de E. LAURENT.

*Chaire de Génétique, Faculté de Médecine vétérinaire,  
45, Rue des Vétérinaires,  
1070 Bruxelles (Belgique)*

---

### RÉSUMÉ

Le développement biochimique du muscle de fœtus bovin est envisagé, dans ce travail, sous l'aspect de la différenciation enzymatique.

Les enzymes étudiés montrent deux types de comportement diamétralement différents :  
*a)* Parallèlement à la teneur en DNA, l'activité combinée de la G6PD et de la 6PGD reste élevée pendant la plus grande partie de la vie fœtale. Durant les 2 ou 3 derniers mois de la gestation, la concentration en DNA et l'activité de ces deux enzymes diminuent fortement.

*b)* L'activité des autres enzymes (LDH, GOT, Aldo, GAPDH, CPK) est faible chez le jeune fœtus. Les deux derniers mois sont caractérisés par une forte synthèse de ces enzymes donnant au muscle son équipement enzymatique caractéristique.

---

### INTRODUCTION

Les notions histologiques d'hyperplasie, d'hypertrophie employées pour décrire les changements intervenant dans la taille d'un organe ou d'un tissu peuvent être traduites, du point de vue biochimique, en termes de concentration en DNA, prise comme mesure indirecte du nombre de noyaux (BOIVIN *et al.*, 1948, DURAND *et al.*, 1966, 1967 *a, b*, CHEEK, 1968).

L'utilisation de ce paramètre permet une approche objective des changements

<sup>(1)</sup> Travail exécuté sous les auspices de l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I. R. S. I. A.)

de taille (rapport poids frais/DNA) et de composition cellulaire moyenne (rapports protéines totales/DNA ou protéine spécifique/DNA).

La mise en place d'un système enzymatique complexe et spécifique est, d'autre part, la marque de l'état de différenciation d'un tissu.

Au niveau du muscle, cette différenciation a surtout été étudiée chez le poulet (revue par HAUSCHKA, 1968) mais d'autres espèces, le Singe, le Rat, le Lapin, le Porc ont également été l'objet de travaux couvrant une période relativement longue du développement fœtal ou post-natal (BOCEK *et al.*, 1969 ; HENDRICK-JONES et PERRY, 1967 ; WARHMANN *et al.*, 1971 ; VAN DEN HENDE *et al.*, 1968 ; COOPER *et al.*, 1971).

Au niveau histochimique, la différenciation musculaire enzymatique s'exprime par l'apparition, à des moments déterminés de l'ontogenèse, différents selon les espèces, de fibres musculaires de type métabolique distinct (DUBOWITZ, 1970 ; COOPER *et al.*, 1970 ; CASSENS *et al.*, 1968 ; AHSMORE *et al.*, 1972). Seules ou associées à l'électrophorèse (MARKERT et URSPRUNG, 1962 ; VAN DEN HENDE *et al.*, 1970 ; SCHAPIRA, 1970 ; BACOU, 1972), les méthodes biochimiques décrivent les changements de nature quantitative ou qualitative (isozymes différents) d'un ou de plusieurs enzymes caractéristiques. En particulier pour le fœtus bovin, le développement du muscle repose sur deux phénomènes successifs :

1° dans un muscle croissant en poids, la concentration en DNA reste élevée jusqu'au sixième-septième mois de la gestation. La multiplication de cellules rend compte à elle seule de cet accroissement de poids ;

2° à partir du sixième-septième mois, un second phénomène s'ajoute au premier : celui de l'augmentation de la taille cellulaire. Dès ce moment aussi, le rapport RNA/DNA s'élève et l'augmentation de la quantité d'azote par DNA implique une importante synthèse protéique (ANSAY 1973).

Ces deux phases sont-elles également exprimées au niveau de l'activité enzymatique ? Tel est le but de ce travail.

Le muscle de l'adulte est caractérisé par une activité de plus en plus importante de la fonction glycolytique dont le siège est essentiellement cytoplasmique. L'aldolase (Fructose-1,6-diphosphate aldolase ; EC 4.1.2.13 ; Aldo) et la phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase (EC 1.2.1.12 ; GAPDH) en sont les représentants. De plus, la GAPDH représente un des enzymes du groupe à proportion constante de PETTE *et al.*, (1962) ou groupe des « Phospho-triose-glycérate » (Triose phosphate isomérase, phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase, phosphoglycérmutase, phosphoglycérkinase, enolase).

Le rapport LDH/MDH (Lactate déshydrogénase ; EC 1.1.1.27) (Malate déshydrogénase ; EC 1.1.1.37) est une indication de l'importance relative des processus anaérobies (LDH) comparés aux processus aérobie (MDH).

L'activité combinée de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-CPD ; EC 1.1.1.49) et de la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGD ; EC 1.1.1.44) représente le cycle des pentoses (GLOCK et Mc LEAN, 1953). Peu important du point de vue métabolisme énergétique du muscle (1 à 2 p. 100 du glucose oxydé ; GREEN et LANDAU, 1965), ce cycle est cependant essentiel en raison notamment de son rôle dans l'apport de pentoses, matériaux de synthèse des acides nucléiques (BRAND et DECKNER, 1970).

La Glutamate oxaloacétique transaminase totale (GOT ; EC 2.6.1.1) est étudiée pour l'interconnexion qu'elle établit entre le métabolisme protéique et le cycle de

Krebs. Enfin la créatine kinase (CPK; EC 2.7.3.2.), intimement associée à l'apport d'énergie nécessaire à la contraction, est un enzyme typique et pour cela très étudié, du tissu musculaire.

## MATÉRIEL ET TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

### A. — *Les fœtus*

Les fœtus d'abattoir ont été répertoriés et échantillonnés selon la méthode précédemment décrite (ANSAY 1973). Les fœtus présentant le caractère culard ont été éliminés.

Le tableau 1 donne quelques renseignements relatifs à ces fœtus. En particulier, l'âge approximatif correspondant à certaines périodes critiques du développement a été estimé en se basant sur les données de BLIN et FOURNIER (1963), HUBBERT *et al.* (1972) et d'un comité américain (Committee on bovine reproductive nomenclature, 1972).

Les analyses portent sur le muscle *Biceps femoris* ou muscle Long vaste. Les échantillons, prélevés dans les deux heures qui suivent la mort de la vache, sont conservés dans l'azote liquide.

TABLEAU I

*Quelques données numériques se rapportant à la population de fœtus étudiés*  
L'âge approximatif est établi au moyen des données de BLIN et FOURNIER (1963)  
et du *Committee on bovine reproductive nomenclature* (1972)

Nombre de fœtus	Intervalle (cm)	Longueur moy. (cm) (base de la nuque- base de la queue)	Poids moyen du <i>biceps femoris</i> (g)	Poids total moyen (g)	Age approximatif
11	10-20	15,9	2,67	359	3 mois
10	20-30	24,4	16,6	1 331	4 mois
7	30-40	36,5	54,7	4 262	
11	40-50	43,6	102,3	7 478	
10	50-60	54,9	159,7	14 696	6-7 mois
9	60-70	62,9	251,6	21 800	7-8 mois
3	70 et +	72,6	332,3	32 233	
5	0 jour	77,0	457,8	35 533	

### B. — *Homogénéisation*

Le muscle ( $\pm 2$  g) est pesé dans un tube à centrifuger et additionné de 9 fois son poids de tampon (phosphate 0,1 M, pH 7,2).

Il est homogénéisé à l'Ultra-Turrax une première fois à vitesse ménagée (30 s) puis après un délai de deux minutes, une seconde fois (30 s) à vitesse maximum. Pendant toute la durée de l'homogénéisation, le tube est refroidi dans un mélange de glace et d'alcool ( $-15^{\circ}\text{C}$ ).

Le tampon utilisé présente deux propriétés intéressantes (PETTE, 1968) :

1<sup>o</sup> Fortement ionique, il libère la fraction d'aldolase ou de phosphoglyceraldéhydedéhydrogénase liée à l'actine (ARNOLD et PETTE, 1968, 1970). Dans le tableau 2, divers tampons ont été comparés sur la base de leur pouvoir d'extraction de cette « aldolase liée ». Le tampon saccharose n'extrait que quelque 30-35 p. 100 de l'aldolase totale.

2<sup>o</sup> En conjonction avec l'Ultra-Turrax, il libère les enzymes à localisation partiellement intramitochondriale tels que la GOT et la MDH (PETTE, 1968).

Les extraits sont centrifugés à 35 000 g, 0-5 $^{\circ}\text{C}$  pendant 20 minutes et puis éventuellement dilués avec de l'eau bidistillée immédiatement avant le dosage.

TABLEAU 2

*Comparaison de l'efficacité de divers tampons dans l'extraction de « l'aldolase liée »*  
(10 échantillons de muscles divers appartenant à des animaux âgés de 1 mois)  
(U par g de poids frais).

Nombre de muscles	Milieu « saccharose » A	Milieu « KCl » B	Milieu « phosphate » C	Réextraction de A par KCl D	A + D
10	33,7 ± 17,4	73,1 ± 22,9	71,9 ± 23,3	37,6 ± 14,6	71,2 ± 24,3

A : 0,3 M saccharose, 10 mM triéthanolamine, 2 mM EDTA, pH 7,2 (PETTE, 1968) ;

B : 0,15 M KCl, 0,05 M KHCO<sub>3</sub>, 6 mM EDTA, pH 8,3 (CARTIER, 1967) ;

C : 0,1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 7,25 (PETTE, 1968) ;

D : Réextraction du culot de centrifugation de A par le tampon B ;

E : Somme de A + D.

### C. — Mesure des activités enzymatiques

Le protocole expérimental mis au point s'inspire principalement des conditions de LAUDAHN et HEYCK (1963), CARTIER *et al.*, (1967).

L'activité enzymatique est mesurée à 30°C, à 340 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre Beckman DU équipé d'un enregistreur et d'un changeur automatique de cuvettes Gilford type 2000. Seules, sont prises en considération les réactions à cinétique d'ordre 0 avec pente linéaire. Les activités sont mesurées dans une gamme de variation allant de 5 à 60 milliunités de densité optique par minute.

L'activité du cycle des pentoses a été déterminée à l'aide des deux substrats réunis suivant la méthode de GLOCK et Mc LEAN (1953).

TABLEAU 3

*Effet de la dialyse sur l'activité G6PD + 6PGD du muscle de fœtus bovin*  
(en U par g de poids frais)

Conditions de l'analyse	Immédiat. après l'extraction	Après 22 h de dialyse	Après 46 h de dialyse
Sans substrat (blanc)	0,143	0,017	0,003
Avec glucose-6-phosphate et 6-phosphogluconate	0,274	0,241	0,235

Lors de la détermination du blanc et en l'absence de tout substrat, les extraits de muscle fœtal démontraient une activité appréciable. Cette activité disparaissait après une dialyse (24 à 48 heures) de l'extrait musculaire (tabl. 3). Ce phénomène n'a pas été retrouvé chez un animal adulte étudié à titre de comparaison.

D. — *Composition des mélanges réactionnels*  
(en concentrations finales)

Le volume final est de 3 ml (sauf pour la CPK : 3,5 ml) ; les coenzymes sont des produits « Sigma », les enzymes d'appoint, des produits « Boehringer ».

1. *Glucose-6-phosphate déshydrogénase + 6-phosphogluconate déshydrogénase* (G6PD + 6PGD)  
Triéthanolamine 50 mM EDTA 5 mM pH 7,6 ; G6P 1,3 mM ; 6PG 1,3 mM ; NADP 0,45 mM.
2. *Créatine phosphokinase* (CPK).  
avec le test Boehringer TC.V n° 15992 TCAE.
3. *Lactate déshydrogénase* (LDH).  
Tris/HCl 250 mM pH 9 ; Na lactate (DL) 80 mM ; NAD 5 mM.
4. *Phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase* (GAPDH).  
Triéthanolamine 50 mM EDTA 5 mM pH 7,6 ; MgCl<sub>2</sub> 0,33 mM ; NADH<sub>2</sub> 0,25 mM ;  
3. Phosphoglycérate 3,5 mM ; ATP 3,5 mM ; Phosphoglycérate Kinase 3 U/ml.
5. *Aldolase* (Aldo).  
Triéthanolamine 50 mM EDTA 5 mM pH 7,6 ; NADH<sub>2</sub> 0,25 mM ; Fructose 1,6 diphosphate 3,5 mM ; mélange phosphotriose isomérase/glycérol-phosphate déshydrogénase 13,3 µgr/ml.
6. *Malate-déshydrogénase* (MDH).  
Tampon PO<sub>4</sub> pH 7,4 0,1 M ; aspartate 36,6 mM ; α-cétoglutarate 1,67 mM ; NADH<sub>2</sub> 0,25 mM ; glutamique oxaloacétique transaminase 3 U/ml.
7. *Glutamique oxaloacétique transaminase* (GOT).  
Tampon PO<sub>4</sub> pH 7,4 0,1 M ; aspartate 125 M ; NADH<sub>2</sub> 0,25 mM ; α-cétoglutarate 6,7 mM ; mélange MDH/LDH du test Boehringer TCA II 15.955 TGAF 12,5 µgr/ml.

Les résultats sont exprimés en unités internationales (U) et calculés en fonction des 3 valeurs de référence :

1° Le poids frais.

2° La teneur en DNA-P estimée selon la méthode générale de MUNRO et FLECK (1966) (ANSAY et GILLET, 1973).

3° L'azote du liquide d'extraction (Phosphate 0,1 M pH 7,2). La minéralisation est effectuée selon LANG (1958) et suivie de nesslerisation.

## RÉSULTATS

1. Exprimée par milligramme d'azote soluble ou par gramme de poids frais, l'activité combinée de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la 6-phosphogluconate déshydrogénase se maintient à un taux élevé et assez constant jusqu'à une longueur de 35 à 40 cm.

La diminution subséquente amène rapidement cette activité à un taux très bas (fig. 1 et 2).

2. La teneur en DNA-P passe par un maximum vers 40 cm et retrouve à 55 cm les valeurs caractéristiques du très jeune âge (15 cm) (fig. 1).

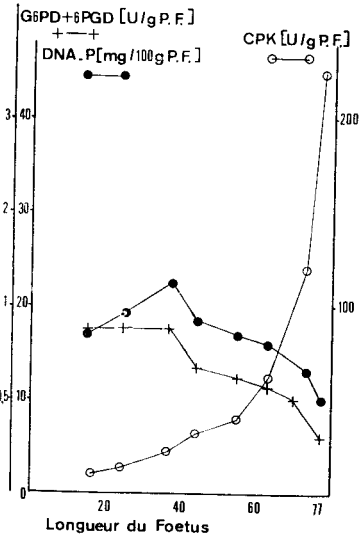


Fig. 1

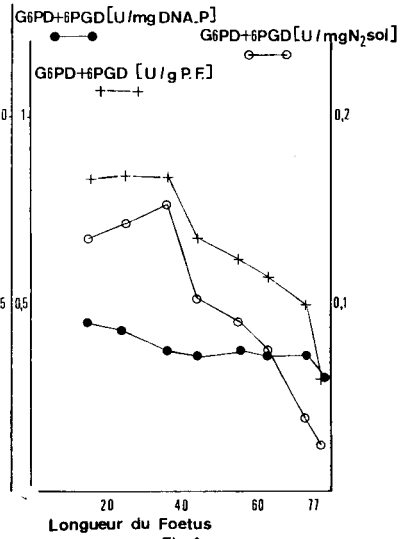


Fig. 2

FIG. 1. — Évolution comparée, dans le muscle fœtal, de la concentration en DNA-P, de l'activité G6PD + 6PGD et de l'activité CPK (en U par g de poids frais)

FIG. 2. — Activité G6PD + 6PGD exprimée en fonction du poids frais, de la concentration en azote soluble et de la concentration en DNA-P

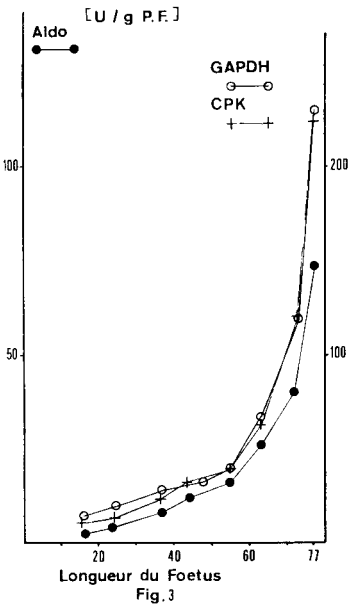


Fig. 3

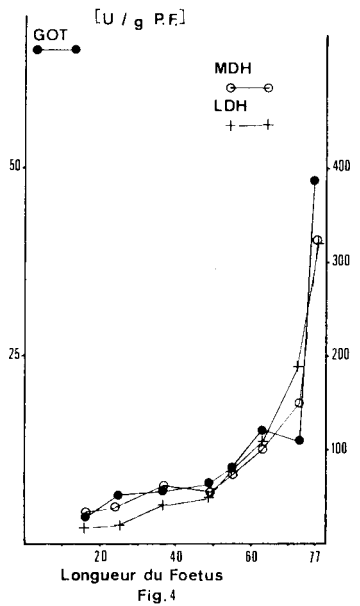


Fig. 4

FIG. 3 et 4. — Évolution au cours de l'ontogénèse musculaire de l'activité de l'Aldo, de la GAPDH, de la CPK, de la GOT, de la MDH, de la LDH exprimée en fonction du poids frais

Le parallélisme entre la teneur en DNA-P et l'activité G6PD + 6PGD est remarquable à partir de 40 cm (fig. 1).

Les valeurs se rapportant à l'activité combinée de la G6PD + 6PGD et exprimées par mg de DNA-P ne montrent, avec l'avancement en âge, qu'une diminution très légère (fig. 2).

3. Les autres enzymes étudiées (CPK, Aldo, GAPDH, LDH, MDH, GOT) montrent un comportement d'ensemble très semblable mais très différent de celui de l'activité G6PD + 6PGD et de la concentration en DNA-P (fig. 3, 4, 5, 6).

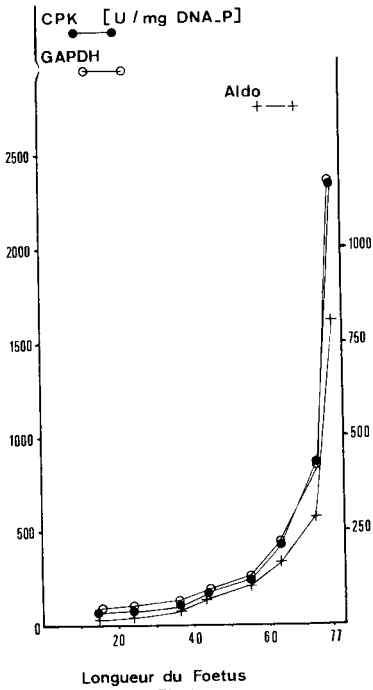


Fig. 5

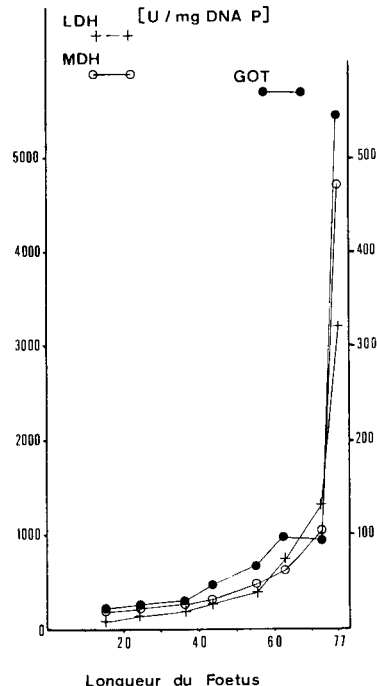


Fig. 6

FIG. 5 et 6. — Mêmes enzymes qu'aux figures 3 et 4. Activité exprimée en fonction de la concentration en DNA-P

Leur évolution peut être étudiée à de multiples points de vue : en U par g de poids frais (fig. 3 et 4) ; en U par mg d'azote soluble ; en U par mg de DNA-P (fig. 5 et 6).

Ces résultats peuvent encore être analysés en comparant le taux d'accroissement de la première période (15 à 55 cm) et de la deuxième période (55 cm à la naissance) (tabl. 4).

Quel que soit le mode d'expression, l'aldolase mise à part, l'augmentation d'activité est du même ordre de grandeur (3 à 4 fois, en moyenne) pendant la période de 15 à 35 cm.

Pendant la dernière période (approximativement deux fois plus courte que la précédente), l'élévation paraît modérée (3 à 4 fois) quand elle est exprimée par mg d'azote soluble, sensiblement plus élevée (5 à 6 fois) lorsque la relation choisie est le poids frais, beaucoup plus élevée (8 à 10 fois) lorsque la concentration en DNA-P, en d'autres termes, la nucléarité, constituent les facteurs de référence (tabl. 4).

4. Parmi ces enzymes dont la synthèse présente au cours des deux périodes envisagées un rythme très différent, certaines singularités se présentent (tabl. 4).

a) chez le très jeune fœtus, le rapport LDH/MDH est faible ( $\pm 0,5$ ). Il augmente avec l'âge et atteint, à la naissance, la valeur de 1.

TABLEAU 4

Valeurs caractéristiques (fœtus de 15 cm, de 55 cm et veaux de 0 jour)  
des activités des enzymes CPK, LDH, GAPDH, Aldo, MDH, GOT  
Valeur moyenne  $\pm$  écart type

		Longueur du fœtus (cm)			Coefficient d'accroissement moyen		
		15	55	77 (0 j)	de 15 à 55 cm	de 55 cm à 0 jour	de 15 cm à 0 jour
U par g de poids frais	CPK .....	10,8 $\pm$ 2,1	39,1 $\pm$ 12,8	224 $\pm$ 10,9	3,6 fois	5,7 fois	20,7 fois
	LDH .....	15,1 $\pm$ 3,0	63,3 $\pm$ 22,0	321,8 $\pm$ 72,6	4,2 —	5,1 —	21,3 —
	GAPDH .....	15,1 $\pm$ 1,8	40,4 $\pm$ 10,6	232,3 $\pm$ 39,9	2,7 —	5,8 —	15,4 —
	Aldo .....	1,9 $\pm$ 0,5	15,8 $\pm$ 5,0	74,6 $\pm$ 21,1	8,4 —	4,7 —	39,4 —
	MDH .....	31,4 $\pm$ 9,0	76,3 $\pm$ 11,7	363,8 $\pm$ 80,6	2,4 —	4,8 —	11,6 —
	GOT .....	3,6 $\pm$ 0,6	10,1 $\pm$ 1,6	48,6 $\pm$ 21,2	2,8 —	4,8 —	13,6 —
U par mg d'azote soluble	CPK .....	1,7 $\pm$ 0,4	5,7 $\pm$ 1,9	19,0 $\pm$ 2,3	3,3 —	3,4 —	11 —
	LDH .....	2,3 $\pm$ 0,4	9,2 $\pm$ 3,1	27,6 $\pm$ 5,2	3,9 —	3,0 —	11,8 —
	GAPDH .....	2,5 $\pm$ 0,5	5,8 $\pm$ 1,5	19,6 $\pm$ 2,7	2,3 —	3,4 —	7,8 —
	Aldo .....	0,3 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,7	6,4 $\pm$ 4,6	8,2 —	2,8 —	22,8 —
	MDH .....	5,2 $\pm$ 2,2	11,1 $\pm$ 1,8	30,0 $\pm$ 4,9	2,1 —	2,7 —	5,7 —
	GOT .....	0,5 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 1,5	2,7 —	2,1 —	5,6 —
U par mg par DNA-P	CPK .....	62 $\pm$ 11	245 $\pm$ 94	2 337 $\pm$ 780	4,0 —	9,5 —	37,7 —
	LDH .....	84 $\pm$ 21	396 $\pm$ 153	3 218 $\pm$ 257	4,7 —	8,1 —	38,3 —
	GAPDH .....	85 $\pm$ 10	254 $\pm$ 76	2 353 $\pm$ 266	3,0 —	9,3 —	27,7 —
	Aldo .....	10 $\pm$ 3	98 $\pm$ 34	852 $\pm$ 224	9,3 —	8,7 —	81,1 —
	MDH .....	174 $\pm$ 51	468 $\pm$ 92	4 693 $\pm$ 1091	2,7 —	10,0 —	27,0 —
	GOT .....	20 $\pm$ 3	65 $\pm$ 16	546 $\pm$ 356	3,3 —	8,4 —	27,3 —

b) l'augmentation des enzymes à composante mitochondriale (MDH, GOT) paraît moins élevée que celle des enzymes proprement cytoplasmiques (CPL, Aldo, GAPDH, LDH).

c) l'augmentation de l'aldolase paraît disproportionnée pendant la première période envisagée (15 à 55 cm). Peut-être est-ce dû à la présence d'un isozyme aux caractéristiques différentes?

## DISCUSSION

### I. — Détermination, prolifération et différenciation cellulaires

On peut considérer avec BROWN et DAVID (1969) qu'à un certain moment de l'embryogenèse, une cellule devient « déterminée » c'est-à-dire commise à un certain phénotype futur. Cette information se transmet aux cellules filles, de génération en



génération (mitoses prolifératives de HOLTZER et BISCHOFF, 1970). Une de ces cellules peut recevoir un signal qui lui permet d'exprimer ses capacités prédéterminées. Cette mitose conduisant à une cellule « différenciée » est désignée par HOLTZER et BISCHOFF (1970), sous le nom de mitose quantale ou critique.

La fusion cellulaire aboutissant à la cellule plurinucléée (syncytium) qu'est le muscle (FIRKET 1958, STOCKDALE et HOLTZER, 1961) est une première manifestation de la différenciation musculaire. En même temps, en culture de tissu on observe une chute brusque de l'activité DNA polymérase (O'NEILL et STROHMAN, 1969, 1970, STOCKDALE, 1970).

C'est également le début de la synthèse de protéines spécifiques et caractéristiques (myosine, CPK) (STAINBERG *et al.*, 1971, HAUSCHKA, 1968, COLEMAN et COLEMAN, 1968, PATERSON et STROHMAN 1972).

L'augmentation du DNA total dans les muscles au cours du développement postnatal, démontré chez de nombreuses espèces (WINICK et NOBLE, 1965 ; ENESCO et LEBLOND, 1962 ; DURAND *et al.*, 1967 *b* ; Mac CONNACHIE *et al.*, 1969 ; HERRMANN *et al.*, 1957) paraît être le fait de la division puis de l'incorporation à la fibre musculaire de nombreux noyaux appartenant aux cellules satellites (MOSS et LEBLOND, 1970, 1971).

### 2. — Prolifération et différenciation cellulaire du muscle bovin

La concentration en DNA demeure élevée, au moins à son niveau de départ, jusqu'à la taille de 50-60 cm (6<sup>e</sup>-7<sup>e</sup> mois). C'est la phase de prolifération cellulaire au cours de laquelle les cellules se reproduisent égales à elles-mêmes.

L'activité combinée de la G6PD et de la 6PGD est élevée pendant cette période : sa diminution précède cependant celle du DNA. Ceci pourrait suggérer que la synthèse de matériel ribosique est un facteur limitant de la synthèse du DNA et de la division cellulaire.

La seconde phase, celle de la différenciation se traduit par un accroissement des rapports RNA/DNA et azote/DNA. En même temps, signe d'un accroissement du volume cellulaire, la concentration en DNA par g de tissu frais diminue (ANSAY, 1973).

L'augmentation de l'activité enzymatique (CPK, LDH, Aldo, GAPDH, MDH, GOT) notamment lorsqu'elle est rapportée au DNA est brusque et considérable au cours des deux derniers mois de la vie fœtale. Elle donne très rapidement à la cellule musculaire son équipement caractéristique. Pendant cette période, le rapport LDH/MDH devient égal à 1. L'activité des enzymes les plus caractéristiques de la fonction anaérobie croît de façon plus rapide. C'est peut-être un premier signe d'un début de spécialisation des fibres en fibres rouges et fibres blanches (OMMER 1971).

### 3. — Signification physiologique du moment de la différenciation

Dès la naissance, le Veau et le Poulet présentent un plein usage de la musculature de leurs membres : par opposition, d'autres espèces (Lapin, Rat) naissent avec une motricité très peu développée. Chez toutes ces espèces, le développement de la motricité et la mise en place d'un équipement enzymatique complet sont étroitement liés (KENDRICK-JONES et PERRY, 1967 *a, b* ; WARHMANN *et al.*, 1971). La vitesse de syn-

thèse de la CPK des muscles de la jambe est fortement accrue chez les jeunes lapins dont l'activité a été artificiellement stimulée (KENDRICK-JONES et PERRY, 1967 b).

Chez le Veau, l'image histologique du muscle du veau de 0 jour est très proche dans ses caractéristiques essentielles de celle de l'adulte (OMMER, 1971). De ce point de vue, le contraste est grand entre la bête bovine et le Porc dont le muscle, à la naissance, paraît peu différencié tant du point de vue histochimique (CASSENS *et al.*, 1968 ; COOPER *et al.*, 1970) que biochimique (VAN DEN HENDE *et al.*, 1968 ; COOPER *et al.*, 1971).

Le Porc n'a réalisé à la naissance qu'une très petite partie de son poids adulte. Traduite au niveau biochimique, cette constatation se traduit par une multiplication des cellules musculaires beaucoup plus importante au cours de la vie postnatale chez le Porc (DURAND *et al.*, 1967 b) que chez la bête bovine.

#### 4. — *Activité du cycle des pentoses et DNA*

La corrélation entre l'activité du cycle des pentoses et les changements survenant dans la synthèse du DNA et la prolifération cellulaire a souvent été notée (BURT et WENGER, 1961 ; FARQUHAR *et al.*, 1968 ; TURNER et MANCHESTER, 1970).

L'activité du cycle des pentoses pourrait elle-même être sous contrôle hypophysaire (LOVE *et al.*, 1969). Des variations de mobilité électrophorétique suggèrent l'existence d'une forme fœtale de la glucose-6-phosphate déshydrogénase musculaire (LOVE et EISENBERG, 1971).

Étudiées pendant un intervalle de temps réduit et assez précoce (de la 13<sup>e</sup> à la 25<sup>e</sup> semaine) de la gestation humaine, la G6PD et la 6PGD humaines ne varient pas de façon significative (CLAUSEN et HUSTRULID, 1969).

## SUMMARY

### BIOCHEMICAL DEVELOPMENT OF BOVINE FŒTUS MUSCLE

#### III. — ENZYMES AND DIFFERENTIATION

Biochemical development of the bovine fœtus muscle is studied from the point of view of enzymatic differentiation.

Enzymes studied show two types of completely different behavior :

a) Parallel to DNA rate, combined activity of G 6 PD and 6 PGD remains high during most of fœtal life. During the 2 or 3 last months of gestation, DNA concentration and the activity of the two enzymes decreases ;

b) Activity of other enzymes (LDH, GOT, ALDO, GAPDH, CPK) is low in the young fœtus. The last two months are characterized by considerable synthesis of these enzymes giving to the muscle its characteristic enzymatic equipment.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANSAY M., 1973. Developmental biochemistry of the foetal bovine muscle. I. DNA, RNA, dry matter, total nitrogen. (manuscrit en préparation).
- ANSAY M., GILLET A., 1973. Étude biochimique comparée du tissu musculaire des bovidés culards et normaux, après la naissance. I. Les acides nucléiques et l'azote total. *Ann. Méd. Vét.*, **117**, 391-400.

- ARNOLD H., PETTE D., 1968. Binding of glycolytic enzymes to structure proteins of the muscle. *Eur. J. Biochem.*, **6**, 163-171.
- ARNOLD H., PETTE D., 1970. Binding of aldolase and triosephosphate dehydrogenase to F Actin and modification of catalytic properties of aldolase. *Eur. J. Biochem.*, **15**, 360-366.
- ASHMORE C. R., TOMPKINS G., DOERR L., 1972. Postnatal development of muscle fiber types in domestic animals. *J. Anim. Sci.*, **34**, 37-41.
- BACOU F., 1972. Évolution quantitative et qualitative de la créatine kinase chez le Lapin au cours des périodes fœtale et néonatale. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **12**, 581-588.
- BLIN P.-C., FOURNIER C., 1963. Diagnose de l'âge intramaternel et périodisation du développement dans l'espèce bovine. *Économie et médecine animales*, **1**, 12-32.
- BOCEK R. M., BASINGER G. M., BEATTY C. H., 1969. Glycogen synthetase, phosphorylase and glycogen content of developing rhesus muscle. *Pediat. Res.*, **3**, 525-531.
- BOIVIN A., VENDRELY R., VENDRELY C., 1948. L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire dépositaire des caractères héréditaires : arguments d'ordre analytique. *C. R. Acad. Sci.*, **228**, 1061-1063.
- BRAND K., DECKNER K., 1970. Quantitative relationship between the pentose phosphate pathway and the nucleotide synthesis in Ascites tumor cells. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **351**, 711-717.
- BROWN D. D., DAVID I. B., 1969. Developmental Genetics. *Ann. Rev. Genetics*, **3**, 127-154.
- BURT A. M., WENGER B. S. 1961. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in the brain of the developing chick. *Develop. Biol.*, **3**, 84-95.
- CARTIER P., LEROUX J. P., MARCHAND J. Cl., 1967. Techniques de dosage des enzymes glycolytiques tissulaires. *Ann. Biol. Clin.*, **25**, 103-136.
- CASSENS R. G., COOPER C. C., MOODY W. G., BRISKEY E. J., 1968. Histochemical differentiation of fiber types in developing porcine muscle. *J. Anim. Morphol. Physiol.*, **15**, 135-140.
- CHEEK D. B., 1968. *Human Growth* Lea et Febiger, Philadelphia.
- CLAUSEN J., HUSTRULID R., 1969. The foetal development of lactate dehydrogenase isoenzymes, glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase from human striated muscle. *Biochem. J.*, **111**, 219-224.
- COLEMAN J. R., COLEMAN A. W., 1968. Muscle differentiation and macromolecular synthesis. *J. Cellular Physiol.*, **72**, 19-34.
- COMMITTEE ON BOVINE REPRODUCTIVE NOMENCLATURE 1972. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell Vet.*, **62**, 216-237.
- COOPER C. C., CASSENS R. G., KASTENSCHMIDT L. L., BRISKEY E. J., 1970. Histochemical characterization of muscle differentiation. *Develop. Biol.*, **23**, 169-184.
- COOPER C. C., CASSENS R. G., KASTENSCHMIDT L. L., BRISKEY E. J., 1971. Activity of some enzymes in developing muscle of the pig. *Pediat. Res.*, **5**, 281-286.
- DUBOWITZ V., 1970. Differentiation of fiber types in skeletal muscle in *The physiology and biochemistry of muscle as a food*. E. J. Briskey, R. G. Cassens, B. B. Marsh (Edit.). The University of Wisconsin Press, **2**, 87-101.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E., 1966. Croissance des tissus du Rat et qualité des protéines alimentaires ; influence sur le nombre et la taille des cellules. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **6**, 389-409.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E. 1967 a. Évolution des teneurs en acides nucléiques et en protéines du foie de porc au cours de la croissance post-natale. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **49**, 361-370.
- DURAND G., FAUCONNEAU G., PENOT E. 1967 b. Évolution de la teneur en acides nucléiques et en protéines du muscle chez le Porc au cours de la croissance post-natale. *C. R. Acad. Sci.*, **264**, 1640-1643.
- ENESCO M., LEBLOND C. P., 1962. Increase in cell number as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **10**, 530-562.
- FARQUHAR J. K., SCOTT W. N., COE L. C., 1968. Hexose monophosphate shunt activity in compensatory renal hypertrophy. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **129**, 809-812.
- FIRKET H., 1958. Recherches sur la synthèse des acides désoxyribonucléiques et la préparation à la mitose dans des cellules cultivées *in vitro* (Étude cytophotométrique et autoradiographique). *Arch. Biol.*, **69**, 1-166.
- GLOCK G. E., MCLEAN P. 1953. Further studies on the properties and assay of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem. J.* **55**, 400-408.
- GREEN M. R., LANDAU B. R. 1965. Contribution of the pentose cycle to glucose metabolism in muscle. *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 569-575.
- HAUSCHKA S. D., 1968. Clonal aspects of muscle development and the stability of the differentiated state. *The stability of the differentiated state* Ursprung H. Ed. **1** : 37-57.
- HERRMANN H., WHITE B. N., COOPER M. 1957. The accumulation of tissue components in the leg muscle of the developing chick. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **49**, 227-251.
- HOLTZER H., BISCHOFF R., 1970. Mitosis and Myogenesis in *The physiology and biochemistry of muscle as a food*. E. J. Briskey, R. G. Cassen, B. B. Marsh (Edit.). The University of Wisconsin Press **2** : 29-51.
- HUBBERT W. T., STALHEIM O. H. V., BOOTH G. D., 1972. Changes in organ weights and fluid volumes during growth of the bovine foetus. *Growth*, **36**, 217-233.

- KENDRICK-JONES J., PERRY S. V., 1967 a. The enzymes of adenine nucleotide metabolism in developing skeletal muscle. *Biochem. J.* **103**, 207-214.
- KENDRICK-JONES J., PERRY S. V., 1967 b. Biochemical adaptation in muscle. Exploratory concept in muscular dystrophy and related disorders. *Excerpta Med.* : 64-72.
- LANG C. A., 1958. Simple microdetermination of Kjeldahl Nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.* **30**, 1962-1964.
- LAUDAHN G., HEYCK H., 1963. Fermentaktivitätsbestimmungen in der gesunden menschlichen Muskulatur und bei Myopathien. I. Mitteilung-Enzymmuster und intracelluläre Verteilung von Enzymen im gesunden Skelettmuskel. *Klin. Wschr.*, **41**, 493-500.
- LOVE D. S., STODDARD J. F., GRASSO J. A., 1969. Endocrine regulation of embryonic muscle development homonal control of DNA accumulation, pentose cycle activity and myoblast proliferation. *Developmental Biology*, **20**, 563-582.
- LOVE D. S., EISENBERG J. P., 1972. Endocrine regulation of pentose cycle activity in chick embryo muscle development. Research in muscle development and the muscle spindle. *Excerpta Medica. International Congress series* n° 240, 221-223.
- MAC CONNACHIE H. F., ENESCO M., LEBLOND C. P., 1964. Mode of increase in the number of skeletal muscle nuclei in the postnatal rat. *Am. J. Anat.*, **114**, 245-253.
- MARRERT C. L., URSPRUNG H., 1962. The ontogeny of isozyme pattern of lactate dehydrogenase in the mouse. *Developmental Biology*, **5**, 363-381.
- MOSS F. P., LEBLOND C. P., 1970. Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *J. Cell Biol.*, **44**, 459-461.
- MOSS F. P., LEBLOND C. P., 1971. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat. Rec.*, **170**, 421-436.
- MUNRO H. N., FLECK A., 1966. The determination of nucleic acids. in *Methods of biochemical analysis* (Édit. Glick), **14**, 113-176. Interscience Publishers.
- OMMER P. A., 1971. Histochemical differentiation of skeletal muscle fibres in the bovine foetus. *Experientia*, **27**, 173-174.
- O'NEILL M., STROHMAN R. C., 1969. Changes in DNA polymerase activity associated with cell fusion in cultures of embryonic muscle. *J. Cell. Physiol.*, **73**, 61-68.
- O'NEILL M., STROHMAN R. C. 1970. Studies of the decline of deoxyribonucleic acid polymerase activity during embryonic muscle cell fusion *in vitro*. *Biochemistry*, **9**, 2832-2839.
- PATTERSON B., STROHMAN R. C., 1972. Myosin synthesis in cultures of differentiating chicken embryo skeletal muscle. *Developmental Biology*, **29**, 113-138.
- PETTE D., 1968. Aktivitätsmuster und Ortmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels, in *Praktische Enzymologie*, **1**. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, p. 15-49.
- PETTE D., LUH W., BUCHER T., 1962. A constant proportion group in the enzyme activity patterns of the Embden-Meyerhoff chain. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **7**, 419-423.
- SCHAPIRA F., 1970. Les isozymes de la créatine-kinase et de l'aldolase. *Path. Biol.*, **18**, 295-301.
- STAINBERG A., YAGIL G., YAFFE D. 1971. Alterations of enzymatic activities during muscle differentiation *in vitro*. *Developmental Biology*, **25**, 1-29.
- STOCKDALE F. E., 1970. Changing levels of DNA polymerase activity during the development of skeletal muscle tissue *in vivo*. *Developmental Biology*, **21**, 462-474.
- STOCKDALE F. E., HOLTZER H., 1961. DNA synthesis and myogenesis. *Exptl Cell Res.*, **24**, 508.
- TURNER L. V., MANGHESTER K. L., 1970. Glucose and glycogen metabolism in hypertrophied denervated rat hemidiaphragm. *Biochem. J.* **117**, 33 p.
- VAN DEN HENDE C., MUYLLE E., OYAERT W., 1968. Enzyme activities of liver, heart and skeletal muscles of the pig. *Zbl. Vet. Med.*, **A**, **15**, 135-142.
- VAN DEN HENDE C., MUYLLE E., OYAERT W., 1970. Changes in lactate dehydrogenase isoenzymes of liver, heart and skeletal muscle of the pig. *Zbl. Vet. Med.*, **17**, 6-12.
- WAHRMANN J. P., LUZZATI D., GROS F., MEYER F., 1971. Évolution de quelques enzymes du métabolisme énergétique au cours du développement embryonnaire et post-natal des muscles squelettiques du rat. *Biochimie*, **33**, 1023-1029.
- WINICK M., NOBLE A., 1965. Quantitative changes in DNA, RNA, and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Developmental Biology*, **12**, 451-466.