

Université des Sciences et Technologies de Lille 1

Ecole Doctorale Biologie Santé de Lille

**PLASTICITE DU MASSETER HUMAIN : RELATION ENTRE LES
CHAINES LOURDES DE MYOSINE ET LA DYSMORPHOSE
DENTO-MAXILLO-FACIALE**

Thèse

Présentée par le Dr RAOUL Gwénaël

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Lille 1

Discipline : « Sciences de la Vie et de la Santé »

Présentée et soutenue publiquement, à Villeneuve d'Ascq, le 25/09/2008.

COMPOSITION DU JURY

Pr STEVENS Laurence, Université de Lille 1	Directrice de thèse
Pr BOUTAULT Franck, Université de Toulouse III	Rapporteur
Pr FERRY Arnaud, Université Paris 5	Rapporteur
Dr ROWLERSON Anthéa, London King's College University	Examinatrice
Pr FERRI Joël, Université de Lille 2	Examineur
Pr MAURAGE Claude-Alain, Université de Lille 2	Examineur

Travail réalisé au Laboratoire de Plasticité Neuromusculaire (EA4052, IFR 147), Bâtiment SN4,
Université des Sciences et Technologies de Lille 1

Et au Laboratoire "Applied Biomedical Research Group, Hodgkin Building, GKT School of Biomedical
Sciences, Guy's Campus, London"

REMERCIEMENTS

A feu le Dr Reyford Hugo pour son dévouement et son initiation dans le projet en collaboration avec le Pr Krivosic-Horber R. du département d'anesthésie réanimation de l'Hôpital Roger Salengro du CHRU de Lille.

A l'ensemble de l'équipe de Chirurgie Maxillo-faciale de Lille ayant contribué aux recueils de masséter depuis juin 1996 :

Au Pr Ferri J., pour son soutien et sa confiance pour mon engagement dans ce projet. A son expertise dans la croissance crânio-faciale,

Au Dr Maes J-M., pour son compagnonnage, son amitié, son aide et sa confiance,

Au Dr Baralle M-M., pour son intérêt permanent et son aide pour le recueil des informations cliniques,

Au Dr Caprioli F., pour son aide,

Au Dr Vereecke F., pour son aide et sa participation active au recueil et à l'interprétation des informations cliniques,

Au Dr Lemièrre E., pour son aide, son amitié et son dévouement,

Au Dr Smatt Y., pour son aide, son enthousiasme et son dévouement,

Au Dr Brygo A., pour son aide, son amitié, son dévouement et sa constance,

Au Dr Julien N., pour son aide, son amitié, son énergie et son dévouement,

Au Dr Genay A., pour son amitié et son aide,

Au Dr Movaghar R., pour son aide et sa participation active au recueil des informations cliniques,

Aux Dr Dengehem C. et Dr Wojick T., pour leur aide précieuse dans le recueil des données cliniques et radiologiques.

Aux secrétaires, en particulier Nathalie et Isabelle pour leur collaboration et leur compréhension.

A toute l'équipe du bloc opératoire, infirmières et infirmiers (Anne-Marie, Christiane, Michèle, Andrée, Hélène, Grégory) ainsi que brancardiers et aides-soignants qui m'ont permis de tirer parti de chaque possibilité de recueil de masséter durant toutes ces années.

A toute l'équipe du Laboratoire de Plasticité Neuromusculaire de Lille 1, pour leur accueil, leur soutien et leurs encouragements :

Au Pr Mounier Y. pour son accueil au sein du Laboratoire

Au Pr Falempin M., directeur du Laboratoire, pour la poursuite de son accueil au sein du LPN, son soutien et sa bienveillance vis-à-vis des demandes de prolongation d'inscription en Thèse,

Au Pr Laurence Stevens, ma directrice de thèse, qui a su m'épauler pour persévérer dans les expérimentations et également accepter mes demandes de dérogation tout en supportant mes longues absences durant ma mobilité,

A Nicolas et Cyril, pour leur enthousiasme, leur amitié et leur regard critique toujours bénéfique sur les expérimentations,

A Laurent, Bruno, Marie-Hélène et Florence pour leur bienveillance, leur tolérance et leurs conseils,

A Erwan pour son aide précieuse dans l'utilisation de l'équipement Biorad[®],

A Laetitia, Valérie et Françoise pour leur aide technique irremplaçable et leur disponibilité.

A l'équipe d'anatomie et cytologie pathologiques du CHRU de Lille :

Au Pr Maurage C-A., qui a supporté et encadré toute la technique de réception et de conservation des recueils de masséter,

Au Pr Gosselin qui a accepté d'héberger et de recevoir les prélèvements issus du bloc opératoire,

Au Pr Ruchoux, qui m'a accepté lors de mon passage dans le laboratoire de neuropathologie,

Au Pr Copin M-C., qui a eu la charge avec le Pr Maurage de traiter le dossier des échantillons saisis par les douanes.

A l'équipe du London King's College en Grande-Bretagne :

Au Dr Rowleron A., pour son expertise, son inébranlable détermination, son dévouement et sa constance durant toutes ces années,

Au Pr McDonald F., pour son soutien dans ce projet,

Au Dr Youssif D., pour sa participation au projet et à son expertise,

Au Dr O'Connor-Hogan O., pour la poursuite du projet en collaboration avec le Dr Rowleron.

A l'équipe du département d'orthopédie dentomaxillofaciale de Pittsburgh :

Au Pr Sciote J.J., pour son aide, son expertise précieuse, et son enthousiasme inaltérable envers ce projet,

Au Dr Vecchione L., pour sa collaboration dans la confirmation des diagnostics.

Aux concepteurs de la suite logicielle ORQUAL et du logiciel TRIDIM, Dr Sabouni W. et M. Guillerme G. pour leur générosité et leur écoute sur les évolutions logicielles permettant le calcul précis de la prédisposition crânienne selon les critères du Pr. Delaire.

A l'équipe du Centre d'Etude et de Recherche en Informatique Médicale de Lille 2 et tout particulièrement au Dr Duhamel et Mme Ramdane pour leur aide précieuse dans la réalisation et l'interprétation des résultats statistiques, sans oublier leur tolérance pour la numérisation des téléradiographies dans leurs locaux.

A l'équipe du Centre d'Investigation clinique de Lille dirigée par le Pr Libersa, pour leur soutien lors de la saisie des prélèvements par les douanes Françaises et les suites judiciaires.

A l'équipe du Comité de Consultatif de Protection des Personnes qui se prêtent à une Recherche Biomédicale, pour leur soutien dans ce projet. Au Pr. Hatron pour sa disponibilité et son écoute.

Au Pr Boutault F., qui m'a fait l'honneur d'accepter d'agir en tant que rapporteur et de nous apporter son expertise sur le sujet, tout en supportant mes retards et mes changements de date.

Au Pr Ferry A., qui m'a fait l'honneur d'accepter d'agir en tant que rapporteur et de nous fournir son expertise en la matière, tout en acceptant mes retards et mes changements de date.

A mes parents Ghislaine et Claude, à toute ma famille et ma belle-famille, pour leur patience, leur considération, leur amour et leur dévouement.

Une attention particulière à mon épouse Marie, et nos deux filles Sibylline et Hélissende qui m'ont permis d'entretenir ma détermination à poursuivre ce travail de recherche, en parallèle avec l'activité clinique et d'enseignement sur cette décennie. A Georges pour son intérêt constant, son aide technique et ses relectures.

RESUME

PLASTICITE DU MASSETER HUMAIN : RELATION ENTRE LES CHAINES LOURDES DE MYOSINE ET LA DYSMORPHOSE DENTO-MAXILLO-FACIALE

Les 161 recueils de masséter (161 gauche 36 droite) ont intéressé des patients lors du traitement chirurgical de leur malocclusion. Les 161 patients sont regroupés selon l'analyse céphalométrique de Delaire informatisée. L'étude des chaînes lourdes de myosine a été effectuée sur 28 échantillons par électrophorèse (SDS-PAGE) et western-blot. L'immunomarquage a été réalisé sur les 197 prélèvements (côté gauche 161 et côté droit 36) et permet d'identifier 4 groupes de fibres du masséter humain (I, Hybride, II, NéoAtrial) selon leur pourcentage et leur surface moyenne. Nous avons réalisé des tests de Student apparié et de Wilcoxon pour comparer les résultats des 28 échantillons selon l'immunomarquage et l'électrophorèse, et les deux côtés pour les patients déviés ou non. Nous avons réalisé un test d'ANOVA entre chaque type de fibre et les groupes.

Les résultats de l'électrophorèse et de l'immunomarquage sont identiques, validant la faible variabilité intrinsèque à l'échelle du prélèvement. La comparaison des patients déviés conclut à une différence significative du côté homolatéral à la déviation chez les patients déviés (pourcentage de fibres de type II $p=0,0286$). Le morphotype deepbite est associé à une élévation du pourcentage des fibres de type II ($p=0,0073$) et à une baisse de la surface moyenne des NéoAtriale ($p=0,0401$). Le morphotype classe II apparait associé à une augmentation du pourcentage de fibres hybrides ($p=0,0419$) et une baisse du pourcentage de fibres de type II ($p=0,0234$) par rapport à la classe III. La position absolue de la mandibule par rapport à la base du crâne est liée au pourcentage ($p=0,0023$) et la surface moyenne ($p=0,0387$) des fibres de type Hybride (augmentation dans les pro et rétro-mandibulie, baisse dans les normo-mandibulie)

CONCLUSION

La hauteur faciale et la latérodéviation sont liées au pourcentage de fibres de type II et à la surface moyenne des fibres NéoAtriales. La position sagittale de la mandibule est liée au pourcentage et la surface moyenne des fibres Hybrides, et au pourcentage de fibres de type II.

ABSTRACT

HUMAN MASSETER PLASTICITY: MYOSIN HEAVY CHAINS ISOFORMS MAY VARY WITH MALOCCLUSIONS

Masseter samples (161 left, 36 right) were collected on 161 subjects undergoing surgical treatment of malocclusion.

Patients were classified according to computer-assisted Delaire cephalometric analysis. The 36 patients with both side biopsies were separated into 2 groups: with or without lateral deviation.

SDS-PAGE was performed on 28 samples to identify myosin heavy chain content.

Immunostaining with myosin-isoform-specific antibodies was performed on 197 samples to identify 4 fiber types (I, Hybrid, II, NéoAtrial). For each fiber type, percent occupancy and mean area were calculated.

Student and Wilcoxon tests were used to compare electrophoresis and immunostaining results from 28 cases, and fibre type compositions on the two sides in 36 patients. An ANOVA test was done to identify relationship between percent occupancy and mean area of each fiber type versus cephalometric classification for all 161 left samples.

RESULTS

Electrophoresis and immunostaining analysis of slow and fast (IIa & IIx) myosin heavy chains gave equivalent results. Lateral deviation patients showed an increase of type II fiber occupancy ($p=0,0286$) on the same side as the deviation (short side).

Deep bite is associated with an increase of type II fiber occupancy ($p=0,0073$) and decrease of NeoAtrial mean fiber area ($p=0,0401$).

Class II is significantly associated with an increase in occupancy of hybrid fibers ($p=0,0419$) and decrease of type II ($p=0,0234$) as compared with Class III.

Mandibular position in relation to the skull base trend is associated with an increase of percent occupancy ($p=0,0023$) and mean area ($p=0,0387$) of hybrid fibers in case both forward and backward position.

CONCLUSION

Facial vertical dimension and mandibular lateral deviation is significantly linked to type II fiber percentage occupancy and NeoAtrial mean fiber area.

Saggital mandibular position is linked to mean fiber area and percent of hybrid fibers, and percent occupancy of type II fibers.

Keywords : Myosin heavy chains; Masseter muscle; Human; Malocclusion; SDS-PAGE; Blotting, western; immunohistochemistry; Analysis of variance.

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION GENERALE	- 21 -
2	HISTORIQUE DU PROJET DE RECHERCHE	- 26 -
3	REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	- 28 -
3.1	STRUCTURE MUSCULAIRE	- 28 -
3.1.1	Structure macroscopique	- 28 -
3.1.2	Cellule musculaire	- 30 -
3.1.3	Les myofibrilles et le sarcomère	- 32 -
3.1.4	Les myofilaments sarcomériques.....	- 34 -
3.1.4.1	Les familles de myosine	- 34 -
3.1.4.2	Les myofilaments épais	- 37 -
3.1.4.2.1	Les isoformes de chaînes lourdes de myosine	- 40 -
3.1.4.2.2	Profil de migration électrophorétique des isoformes de chaînes lourdes de myosine	- 43 -
3.1.4.2.3	Les isoformes de chaînes légères	- 44 -
3.1.4.2.4	Conséquence de l'association des isoformes de chaînes lourdes et légères de myosine.....	- 46 -
3.1.4.3	Les myofilaments fins	- 48 -
3.1.4.4	Le troisième réseau de filaments	- 50 -
3.1.5	La contraction musculaire	- 52 -
3.1.6	Le métabolisme musculaire	- 55 -
3.1.7	L'asservissement nerveux du muscle.....	- 56 -
3.1.7.1	Le système sensoriel endobuccal	- 56 -
3.1.7.2	Le système sensoriel articulaire	- 57 -
3.1.7.3	Le système sensoriel musculaire	- 57 -
3.1.7.4	Le système moteur musculaire	- 60 -
3.2	LA PLASTICITE MUSCULAIRE.....	- 63 -
3.2.1	Introduction.....	- 63 -
3.2.2	Plasticité du muscle strié et facteurs connus de modulation phénotypique	- 65 -
3.2.2.1	L'innervation.....	- 65 -
3.2.2.2	L'entraînement et la charge musculaires	- 66 -
3.2.2.3	Le bol alimentaire	- 68 -
3.2.2.4	Le sevrage	- 69 -
3.2.2.5	La gouttière de libération	- 70 -
3.2.2.6	L'oxygénation.....	- 70 -
3.2.2.7	Les facteurs hormonaux	- 71 -
3.2.2.7.1	La testostérone.....	- 71 -
3.2.2.7.2	L'hormone thyroïdienne.....	- 71 -
3.2.2.7.3	Les glucocorticoïdes	- 71 -
3.2.2.8	Les agents pharmacologiques	- 71 -
		- 9 -

3.2.2.8.1	Le clenbutérol.....	- 71 -
3.2.2.8.2	Les inhibiteurs de la calcineurine	- 71 -
3.2.2.8.3	La tétrodoxine (ttx).....	- 72 -
3.2.2.9	Le vieillissement.....	- 72 -
3.2.2.10	Les cellules satellites.....	- 73 -
3.2.3	Mécanismes de régulation de la plasticité musculaire	- 73 -
3.2.3.1	Voie de la calcineurine.....	- 74 -
3.2.3.2	Les MRF (Myogenic Regulator factor)	- 74 -
3.2.3.3	Les autres voies de régulation	- 74 -
3.2.4	conclusion.....	- 74 -
3.3	LES DYSMORPHOSES DENTO-MAXILLOFACIALES.....	- 76 -
3.3.1	Introduction.....	- 76 -
3.3.2	Anomalies de l'articule dentaire	- 78 -
3.3.2.1	Anomalies dans le sens sagittal	- 78 -
3.3.2.2	Anomalies dans les autres sens de l'espace.....	- 80 -
3.3.3	Anomalies des bases osseuses.....	- 80 -
3.3.3.1	Sens sagittal ou antéropostérieur.	- 80 -
3.3.3.2	Sens vertical.....	- 81 -
3.3.3.3	Plan horizontal.....	- 81 -
3.3.3.4	Symétrie.....	- 81 -
3.3.3.5	Caractérisation des dysmorphoses.....	- 83 -
3.4	EQUILIBRE ET CROISSANCE CRANIO-FACIALE	- 84 -
3.4.1	Principes de la croissance crânio-faciale.....	- 84 -
3.4.1.1	L'ossification membraneuse ou secondaire	- 84 -
3.4.1.2	L'ossification enchondrale ou primaire	- 85 -
3.4.1.3	La mandibule	- 85 -
3.4.1.4	Le système nerveux central	- 88 -
3.4.1.5	La voûte crânienne	- 89 -
3.4.1.6	La base du crâne	- 91 -
3.4.1.7	Le septum nasal	- 93 -
3.4.1.8	L'articulé dentaire.....	- 95 -
3.4.1.9	Les organes dentaires.....	- 95 -
3.4.1.10	Le maxillaire.....	- 95 -
3.4.1.11	Implications chirurgicales	- 96 -
3.4.1.12	Conclusion	- 96 -
3.4.2	Dynamique de l'équilibre crânio-cervico-facial	- 98 -
3.4.2.1	La fonction manducatrice	- 98 -
3.4.2.2	La mastication.....	- 99 -
3.4.2.3	L'alimentation.....	- 103 -
3.4.2.4	La qualité de l'occlusion	- 103 -
3.4.2.5	La déglutition	- 103 -
		- 10 -

3.4.2.6	Tonicité labiale et volume lingual.....	- 104 -
3.4.2.7	La phonation.....	- 104 -
3.4.2.8	La respiration et la perméabilité nasale.....	- 105 -
3.4.3	Renseignements fournis par quelques situations cliniques.....	- 105 -
3.4.3.1	Les myopathies.....	- 105 -
3.4.3.2	L'hérédité.....	- 106 -
3.4.3.3	Anomalies du rachis cervical.....	- 106 -
3.4.3.4	La dysplasie cléido-crânienne.....	- 108 -
3.4.3.5	L'hypertrophie unilatérale des muscles élévateurs de la mandibule.....	- 108 -
3.4.3.6	L'hémiatrophie faciale (syndrome de Parry-Romberg).....	- 110 -
3.4.3.7	Les asymétries faciales.....	- 112 -
3.4.3.8	L'acromégalie.....	- 112 -
3.4.3.9	Conclusion.....	- 114 -
3.5	EMBRYOLOGIE DES MUSCLES CEPHALIQUES.....	- 115 -
3.6	HISTO-EMBRYOLOGIE DES MUSCLES.....	- 118 -
3.7	ANATOMIE DU MASSETER.....	- 118 -
3.7.1	Faisceau superficiel.....	- 119 -
3.7.2	Faisceau moyen de Winslow.....	- 119 -
3.7.3	Faisceau profond.....	- 119 -
3.7.5	Innervation.....	- 121 -
3.7.6	Vascularisation.....	- 121 -
3.7.7	Action biomécanique du masseter.....	- 121 -
3.8	PARTICULARITES DU MASSETER.....	- 121 -
3.8.1	Composition en fibres et isoformes.....	- 122 -
3.8.2	Diamètre des fibres.....	- 124 -
3.8.3	Particularités de la répartition des chaînes lourdes de myosine dans les trois chefs du masséter.....	- 124 -
3.8.4	Organisation et directions des fibres musculaires du masséter.....	- 126 -
3.8.5	Variations de longueur du masséter lors des mouvements mandibulaires.....	- 127 -
3.8.6	Hétérogénéité de longueur des fibres et sarcomères du masséter.....	- 127 -
3.8.7	Répartition des unités motrices dans le masséter.....	- 128 -
3.8.8	Conclusion.....	- 129 -
3.9	MOYENS D'ETUDE DU MASSETER.....	- 130 -
3.9.1	Etude biomécanique.....	- 130 -
3.9.1.1	Force masticatoire.....	- 130 -
3.9.1.2	Etude de l'EMG des muscles élévateurs de la mandibule.....	- 130 -
3.9.2	Etude en Imagerie.....	- 131 -
3.9.2.1	Echographie du masséter.....	- 131 -
3.9.2.2	Etude scannographique du masséter.....	- 131 -
3.9.2.3	IRM du masseter.....	- 132 -
3.9.3	Etude fondamentale des myosines.....	- 132 -

3.9.3.1	Marquage à l'ATPase	- 132 -
3.9.3.2	Immunomarquage	- 133 -
3.9.3.3	Etude des isoformes de myosine.....	- 133 -
3.9.3.3.1	Electrophorèse des protéines	- 133 -
3.9.3.3.2	Etude de l'ARN messenger	- 134 -
3.9.3.4	Propriétés mécaniques des fibres unitaires.....	- 136 -
3.9.3.5	Intérêt scientifique de l'étude des chaînes lourdes de myosine.....	- 137 -
4	PROBLEMATIQUE	- 138 -
5	MATERIEL ET METHODES.....	- 140 -
5.1	CADRE JURIDIQUE DE L'ETUDE	- 140 -
5.1.1	Conditions de recueil des fragments de masséter.....	- 140 -
5.1.2	CCPPRB (Comité Consultatif de protection des Personnes se prêtant à la Recherche Biomédicale)	- 142 -
5.1.3	Tissuthèque	- 142 -
5.1.4	Loi de bioéthique 2004-800 du 6 août 2004.....	- 142 -
5.1.5	CNIL	- 143 -
5.1.6	FRC.....	- 143 -
5.1.7	Sélection des patients	- 144 -
5.2	RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES	- 144 -
5.3	RECUEIL DES DONNEES RADIOLOGIQUES	- 144 -
5.3.1	Points nécessaires au tracé de la céphalométrie de profil de Delaire.....	- 146 -
5.3.2	Lignes crâniennes	- 148 -
5.3.3	Calcul de l'angle crânio-adapté et du correctif angulaire	- 148 -
5.3.4	Lignes faciales.....	- 150 -
5.3.5	Points construits.....	- 151 -
5.3.6	Lignes dentaires.....	- 151 -
5.3.7	Résumé des renseignements tirés des analyses céphalométriques.....	- 154 -
5.3.7.1	Diagnostic sagittal, classe squelettique.....	- 154 -
5.3.7.2	Le diagnostic vertical antérieur	- 154 -
5.3.7.3	La typologie basicrânienne	- 154 -
5.3.7.4	La position du maxillaire ou de la mandibule par rapport à F1	- 155 -
5.3.7.5	Nombre de contacts dentaires	- 155 -
5.3.7.6	Latéro-déviations mandibulaires	- 155 -
5.4	ELABORATION DE LA TISSUTHEQUE.....	- 155 -
5.5	ELECTROPHORESE DES CHAÎNES LOURDES DE MYOSINE	- 158 -
5.5.1	Broyage des muscles	- 158 -
5.5.2	Extraction des protéines	- 158 -
5.5.3	Dosage des protéines (Annexe 5).....	- 158 -
5.5.4	Gel d'électrophorèse et cuve	- 158 -
5.5.5	Dépôt dans les puits	- 159 -
5.5.6	Coloration à l'argent type long.....	- 159 -
		- 12 -

5.5.7	Coloration à l'argent type court	- 159 -
5.5.8	Transformation du profil électrophorétique en données chiffrées.....	- 159 -
5.6	WESTERN-BLOT	- 161 -
5.6.1	Transfert sur membrane de nitrocellulose en milieu aqueux.....	- 161 -
5.6.2	Transfert sur membrane de nitrocellulose en milieu semi-sec	- 161 -
5.6.3	Anticorps primaire.....	- 161 -
5.6.4	Anticorps secondaire biotinylé.....	- 161 -
5.6.5	Agent tertiaire	- 163 -
5.6.6	Révélation.....	- 163 -
5.7	IMMUNOMARQUAGE	- 165 -
5.7.1	Transfert des recueils de masséter	- 165 -
5.7.2	Cryosection.....	- 165 -
5.7.3	Incubation des anticorps et révélation	- 165 -
5.7.4	Numérisation des coupes.....	- 167 -
5.7.5	Identification des fibres.....	- 168 -
5.7.6	Organisation des données.....	- 168 -
5.7.7	Validation et calibration de la technique	- 172 -
5.8	RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'ELECTROPHORESE ET L'IMMUNOMARQUAGE ..	- 172 -
5.9	RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'IMMUNOMARQUAGE ET LA DYSMORPHOSE	- 175 -
5.9.1	Description des valeurs et des facteurs étudiés	- 175 -
5.9.2	Description des tests statistiques utilisés	- 176 -
5.9.3	Prélèvements du côté gauche (161 patients)	- 176 -
5.9.4	Comparaisons du côté droit et gauche (36 patients).....	- 178 -
6	RESULTATS	- 179 -
6.1	RESULTATS DES DONNEES CLINIQUES	- 179 -
6.2	RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE DES PROTEINES.....	- 179 -
6.3	Résultats du western-blot	- 183 -
6.3.1	Identification des isoformes de MHC I, IIa et IIx.	- 183 -
6.3.2	Identification des isoformes développementales.....	- 183 -
6.4	RESULTATS DE L'IMMUNOMARQUAGE	- 188 -
6.5	RESULTATS DES DONNEES RADIOLOGIQUES	- 200 -
6.5.1	Latéro-déviati on	- 200 -
6.5.2	Classe dentaire	- 200 -
6.5.3	Hauteur faciale antérieure	- 200 -
6.5.4	Tendance basi-crânienne (prédisposition crânienne).....	- 200 -
6.5.5	Mandibulie (position de Me par rapport à F1)	- 201 -
6.5.6	Contacts dentaires	- 201 -
6.5.7	Profil radiologique des dysmorphoses.....	- 201 -

6.6	RESULTATS DE LA RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'ELECTROPHORESE ET L'IMMUNOMARQUAGE	- 202 -
6.7	Profil musculaire de la population	- 204 -
6.8	RESULTATS DE LA RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'IMMUNOMARQUAGE ET LA DYSMORPHOSE	- 205 -
6.8.1	Comparaisons du côté gauche (161 patients), classe I exclue.....	- 205 -
6.8.1.1	Fibres hybrides et classe squelettique	- 205 -
6.8.1.2	Fibres de type II et classe squelettique	- 206 -
6.8.1.3	Fibres de type II et hauteur verticale antérieure	- 206 -
6.8.1.4	Fibres type II vs classe et bite	- 207 -
6.8.1.5	Surface moyenne des fibres et hauteur faciale antérieure.....	- 208 -
6.8.1.6	Fibres hybrides et position mandibulaire selon F1 crânio-adapté.....	- 208 -
6.8.1.7	Surface moyenne des fibres et mandibulie.....	- 210 -
6.8.1.8	Pourcentage de fibres, frontalité et mandibulie	- 210 -
6.8.1.9	Surface moyenne des fibres, frontalité et mandibulie.....	- 210 -
6.8.1.10	Comparaison du pourcentage fibres et des contacts dentaires	- 211 -
6.8.1.11	Comparaison de la surface moyennes des fibres et des contacts dentaires	- 211 -
6.8.2	Comparaisons du côté droit et gauche (36 patients).....	- 212 -
7	DICUSSION GENERALE	- 214 -
7.1	Résumé des résultats principaux	- 214 -
7.2	Hauteur faciale antérieure et fibres de type II.....	- 216 -
7.3	Cas des latérodéviationes	- 217 -
7.4	relation entre le pourcentage ou la surface d'une fibre avec les contacts dentaires -	222 -
7.5	Biais de l'étude	- 224 -
7.6	Intérêt du second prélèvement	- 225 -
7.7	Regroupement des fibres identifiées par l'immunomarquage sur coupes	- 226 -
7.8	Taille des prélèvements	- 226 -
7.9	Hétérogénéité du masséter	- 227 -
7.10	Analyse céphalométrique.....	- 228 -
7.10.1	Choix de l'analyse céphalométrique	- 228 -
7.10.2	Véracité des analyses céphalométriques.....	- 229 -
7.10.3	Détermination de la hauteur faciale antérieure	- 231 -
7.10.4	La hauteur faciale postérieure	- 231 -
7.11	Choix des tests statistiques	- 232 -
7.12	Définition des groupes et classes.....	- 232 -
8	PERSPECTIVES.....	- 234 -
8.1	Etude de la hauteur faciale postérieure.....	- 234 -
8.2	Réorganisation de la population afin de pouvoir comparer les patients déviés et non déviés entre eux.....	- 234 -

8.3	Réalisation de prélèvements à long terme post-opératoire.....	- 234 -
8.4	Identification des isoformes atriale et néonatale.....	- 235 -
8.5	Etude de la stabilité clinique à long terme.....	- 235 -
8.6	Comparaison des données brutes.....	- 235 -
8.7	Etude de l'ARN messager codant pour l'isoforme MHC II.....	- 236 -
8.8	Etude de la composition en chaînes légères.....	- 236 -
8.9	Etude des protéines regulatrices.....	- 236 -
8.10	Population contrôle.....	- 237 -
8.11	Transposition des données radiologiques dans d'autres systèmes d'analyse céphalométrique.....	- 237 -
8.12	Situations pathologiques particulières.....	- 237 -
8.13	Effets du botox sur le phénotype du masséter.....	- 237 -
9	CONCLUSION.....	- 239 -
10	REFERENCES.....	- 242 -
11	ANNEXES.....	- 257 -
11.1	Annexe 1 CCPRB.....	- 258 -
11.2	Annexe 2 INFORMATION PATIENT.....	- 259 -
11.3	Annexe 3 EXTRACTION DES MHC EN VUE D'UNE ELECTROPHORESE.....	- 260 -
11.4	Annexe 4 EXTRACTION GLOBALE DES PROTEINES MUSCULAIRES EN VUE D'UNE ELECTROPHORESE.....	- 261 -
11.5	Annexe 5 DOSAGE DES PROTÉINES.....	- 262 -
11.6	Annexe 6 PREPARATION DU GEL D'ELECTROPHORESE ET DE LA CUVE.....	- 264 -
11.7	Annexe 7 SOLUTIONS POUR GELS MHC.....	- 266 -
11.8	Annexe 8 COLORATION A L'ARGENT TYPE LONG.....	- 268 -
11.9	Annexe 9 COLORATION A L'ARGENT TYPE COURT.....	- 270 -
11.10	Annexe 10 TRANSFERT SUR MEMBRANE DE NITROCELLULOSE.....	- 272 -
11.11	Annexe 11 TRANSFERT SEMI-SEC.....	- 274 -
11.12	Annexe 12 SUPPORT LOGICIEL.....	- 278 -
11.13	Annexe 13 ARTICLE (Am J Orthod Dentofacial Orthop 2005).....	- 279 -
11.14	Annexe 14 ABSTRACT (6 IOC).....	- 289 -
11.15	Annexe 15 ABSTRACT (j physiol).....	- 290 -
11.16	Annexe 16 ABSTRACT 2642 IADR 2004.....	- 291 -
11.17	Annexe 17 ABSTRACT 2502 IADR 2005.....	- 292 -
11.18	Annexe 18 ABSTRACT 0225 IADR 2004.....	- 293 -
11.19	Annexe 19 ABSTRACT 0027 IADR 2003.....	- 295 -
12	RESUME SUBSTANCIEL.....	- 297 -
13	SUMMARY.....	- 300 -

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation musculaire.</i>	- 29 -
<i>Figure 2 : Réticulum sarcoplasmique et triade.</i>	- 31 -
<i>Figure 3 : Composition du sarcomère.</i>	- 33 -
<i>Figure 4 : La superfamille des myosines.</i>	- 36 -
<i>Figure 5 : La myosine II, représentation schématique.</i>	- 38 -
<i>Figure 6 : Représentation tridimensionnelle de S1.</i>	- 38 -
<i>Figure 7 : Le filament épais.</i>	- 39 -
<i>Figure 8 : Conséquences mécaniques de la présence des chaînes légères de myosine.</i>	- 47 -
<i>Figure 9 : Le filament fin.</i>	- 49 -
<i>Figure 10 : Représentation schématique du cytosquelette du sarcomère.</i>	- 51 -
<i>Figure 11 : Coupes schématiques du sarcomère en microscopie optique et électronique.</i>	- 51 -
<i>Figure 12 : La contraction musculaire.</i>	- 54 -
<i>Figure 13 : Innervation du muscle.</i>	- 59 -
<i>Figure 14 : Coupes de vastus latéralis de sauteur en hauteur (a) et de marathonien (b).</i>	- 67 -
<i>Figure 15 : Rapports dento-dentaires de classe I d'Angle.</i>	- 79 -
<i>Figure 16 : Rapports dento-dentaires de classe II division 1 d'Angle.</i>	- 79 -
<i>Figure 17 : Rapports dento-dentaires de classe II division 2 d'Angle.</i>	- 79 -
<i>Figure 18 : Rapports dento-dentaires de classe III.</i>	- 79 -
<i>Figure 19 : Exemple de classe II division 1.</i>	- 82 -
<i>Figure 20 : Exemple de classe III dentaire et squelettique.</i>	- 82 -
<i>Figure 21 : Croissance mandibulaire.</i>	- 87 -
<i>Figure 22 : Résumé de la croissance crânio-faciale.</i>	- 90 -
<i>Figure 23 : Synchondroses de la base du crâne.</i>	- 92 -
<i>Figure 24 : Aspect physiologique du nez chez un enfant de 2 et 5 ans.</i>	- 94 -
<i>Figure 25 : La croissance crânio-faciale.</i>	- 97 -
<i>Figure 26 : Schéma bidimensionnel du cycle masticatoire.</i>	- 101 -
<i>Figure 27 : Modélisation tridimensionnelle des forces masticatoires dans le masséter.</i>	- 101 -
<i>Figure 28 : Exemple de torticolis congénital (modifié d'après Yu 2004).</i>	- 107 -
<i>Figure 29 : Hypertrophie unilatérale idiopathique des élévateurs de la mandibule.</i>	- 109 -

Figure 30 : Exemple d'hypocondylie et d'acondylie.	- 111 -
Figure 31 : Exemple d'asymétrie mandibulaire idiopathique.....	- 113 -
Figure 32 : Cellules des crêtes neurales.	- 116 -
Figure 33 : Arcs branchiaux et structures céphaliques.	- 116 -
Figure 34 : Schéma de l'extrémité céphalique chez l'homme.	- 117 -
Figure 35 : Vue latérale des muscles céphaliques.	- 120 -
Figure 36 : Coupe coronale des masséters.	- 120 -
Figure 37 : Aspect comparatif des fibres de masséter et de vastus latéralis humain.	- 125 -
Figure 38 : Vue per opératoire.	- 141 -
Figure 39 : Situation du recueil de masséter.	- 141 -
Figure 40 : Les 31 points à repérer sur la téléradiographie de profil.	- 147 -
Figure 41 : Exemple de tracé téléradiographique « normal ».	- 152 -
Figure 42 : Exemple de tracé de classe III open bite par rétro-maxillie.	- 153 -
Figure 43 : Le prélèvement de masséter.	- 157 -
Figure 44 : Broyage des muscles dans un mortier refroidi par de la carboglace.	- 157 -
Figure 45 : Transformation du profil électrophorétique en données chiffrées.	- 160 -
Figure 46 : Principe des trois agents réactifs du western-blot.	- 164 -
Figure 47 : Exemple de 5 coupes successives ayant subi l'immunomarquage.....	- 169 -
Figure 48 : Résultat visuel des électrophorèses pratiquées sur les extraits de M1 à M28.	- 181 -
Figure 49 : Résultat du western-blot avec l'anti MHC-slow et l'anti MHC-fast.	- 186 -
Figure 50 : Résultat du western-blot réalisé sur M12 à M23 avec l'anticorps BF-34.	- 186 -
Figure 51 : Résultat du western-blot sur M12 M17 M20 M14.....	- 187 -
Figure 52 : Test de corrélation entre deux mesures des aires des fibres de type IIX.....	- 190 -
Figure 53 : Répartition du pourcentage de fibres de la population totale (Box plot).	- 196 -
Figure 54 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe I (Box plot).	- 196 -
Figure 55 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe II (Box plot).	- 197 -
Figure 56 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe III (Box plot).....	- 197 -
Figure 57 : Répartition du pourcentage de fibres dans les open bite (Box plot).....	- 198 -
Figure 58 : Répartition du pourcentage de fibres dans les deep bite (Box plot).	- 198 -
Figure 59 : Répartition du pourcentage de fibres dans les normal bite (Box plot).	- 199 -
Figure 60 : Orientation du masséter en cas de latéro-déviations.....	- 219 -

Figure 61 : Aspects extrêmes en termes de hauteur faciale. - 230 -

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : Les isoformes des chaînes lourdes de myosine.....</i>	<i>- 41 -</i>
<i>Tableau 2 : Les isoformes de chaînes légères.....</i>	<i>- 45 -</i>
<i>Tableau 3 : Composition en types de fibres musculaires du vastus.</i>	<i>- 123 -</i>
<i>Tableau 4 : Composition en types de fibres musculaires du masséter humain.</i>	<i>- 123 -</i>
<i>Tableau 5 : Liste des anticorps primaires utilisés pour la réalisation du western-blot.</i>	<i>- 162 -</i>
<i>Tableau 6 : Liste des anticorps utilisés pour l'immunomarquage.....</i>	<i>- 166 -</i>
<i>Tableau 7 : Classification des fibres par l'intensité de l'immunomarquage.</i>	<i>- 166 -</i>
<i>Tableau 8 : Organisation finale des données de l'immunomarquage sur coupes.</i>	<i>- 171 -</i>
<i>Tableau 9 : Calcul utilisé pour convertir la proportion en type de fibres musculaires.</i>	<i>- 173 -</i>
<i>Tableau 10 : Résultat du calcul des proportions d'isoformes de type I, IIa et IIx.</i>	<i>- 182 -</i>
<i>Tableau 11 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (1/5).</i>	<i>- 191 -</i>
<i>Tableau 12 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (2/5).</i>	<i>- 192 -</i>
<i>Tableau 13 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 3/5). -</i>	<i>193 -</i>
<i>Tableau 14 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 4/5). -</i>	<i>194 -</i>
<i>Tableau 15 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 5/5). -</i>	<i>195 -</i>
<i>Tableau 16 : Valeurs comparées entre l'immunomarquage et l'électrophorèse.....</i>	<i>- 203 -</i>
<i>Tableau 17 : Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les deux côtés prélevés..</i>	<i>- 213 -</i>
<i>Tableau 18 : Récapitulatif des résultats principaux obtenus par immunomarquage.....</i>	<i>- 215 -</i>

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADNc : ADN complémentaire

ADP : Adénosine Di Phosphate

APS : Ammonium Per Sulfate

ARN : Acide Ribo Nucléique

ATP : Adénosine Tri Phosphate

BSA (Bovine Serum Albumine)

DAB : Di Amino Benzidine

ECL : Enhanced Chemi Luminescence

ELC : Essential Light Chain

EGTA : Ethylene Glycol Tetraacetic Acid

EMG : Electromyographie

HMM : Heavy Mero-Myosin

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LMM : Light Mero-Myosin

MHC : Myosin Heavy Chains, chaînes lourdes de myosine

NFAT : Nuclear Factor of Activated T cells

PBS : Phosphate Buffer Saline

PIM : Position d'Intercuspidie Maximale

QSP : Quantité Suffisante Pour

RT-PCR : Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction

RLC : Regulatory Light Chain

SADAM : Syndrome Algo-Dysfonctionnel des Articulations temporo-Mandibulaires)

SDS-PAGE : Sodium Dodécyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

SMAS : Système Musculo Aponévrotique Superficiel)

Temed : (TEtraMethyl Ethylène Diamine)

Tm : Tropomyosine

TnI : Troponine I

TnC : Troponine C

TnT : Troponine T

1 INTRODUCTION GENERALE

Les dysmorphoses dentomaxillofaciales sont le fruit d'une dysharmonie de la croissance crânio-faciale et rachidienne aboutissant d'une part à une occlusion dentaire défavorable et une position anormale des maxillaires, suffisamment sévères pour requérir une correction chirurgicale. L'étiologie est à priori multifactorielle, regroupant l'hérédité (49;175) ainsi que les fonctions et éventuelles dysfonctions oro-faciales, tout en passant par le type d'alimentation et la qualité de la denture. Les dysmorphoses dentomaxillofaciales ne font donc pas partie des malformations ni des anomalies syndromiques mais font partie des extrêmes de la morphologie normale.

La croissance crâniomaxillofaciale est orchestrée par la matrice osseuse ainsi que les actions musculaires (29;54). L'importance des muscles masticateurs est très grande pour la croissance dento-faciale, mais elle n'est pas encore parfaitement maîtrisée (99). L'interaction entre les deux est manifeste et en cas d'anomalie de l'une ou l'autre, des compensations peuvent intervenir afin d'assurer l'équilibre, parfois au prix d'une dysmorphose.

Dans le cadre des dysmorphoses dentomaxillofaciales, de nombreux travaux ont été entrepris afin de rationaliser les différentes présentations cliniques. Dès la fin du XIXème siècle, Topinard, sous la direction de Broca, rédigeait une des premières descriptions et une caractérisation des différents types de dysmorphoses (230). Déjà, à cette époque, les différences étaient répertoriées au niveau des proportions et des positions des maxillaires et elles tentaient d'être reliées à l'appartenance géographique et ethnique des spécimens. L'étude se pratiquait sur crâne sec (1358 spécimens) à la recherche d'une terminologie précise et de critères de normalité.

Il n'est pas possible d'expliquer toutes les situations cliniques en étudiant un seul facteur. L'équilibre dynamique de l'extrémité céphalique fait appel à de multiples facteurs très variables d'un individu à l'autre et aboutissant à des morphotypes crânio-faciaux différents en fonction de l'action combinée des différents acteurs de cet équilibre.

La prise en charge des pathologies repose avant tout sur leur compréhension et motive ce travail.

La prise en charge des dysmorphoses dentomaxillofaciales s'adresse dans la grande majorité des cas à une population d'adolescents, pour lesquels la certitude d'un résultat rapide et stable durant le reste de leur existence est incontournable. Des patients adultes bénéficient également de correction chirurgicale de leur dysmorphose, dans le cadre de la prise en charge du syndrome d'apnées du sommeil, de dysfonctions de l'articulation temporo-mandibulaire et de chirurgie pré-prothétique.

Dans ce travail, nous avons cherché à relier le phénotype du muscle masséter chez les patients présentant des dysmorphoses dentomaxillofaciales, à leur dysmorphose et à la prédisposition basi-crânienne de l'équilibre crânio-facial.

En définitive, il s'agit de connaître dans quelle mesure le phénotype du muscle masséter est relié à la position des maxillaires. Plus précisément, l'objet de ce travail a été d'appréhender le degré de relation entre la typologie crânio-faciale et le phénotype du masséter. En effet le muscle est reconnu pour son potentiel adaptatif particulièrement développé, lui permettant de répondre à la fonction demandée : la plasticité musculaire.

Du point de vue médical, il est possible d'apporter un diagnostic précis des dysmorphoses, par l'examen clinique et l'analyse des radiographies de l'extrémité céphalique. Du point de vue fondamental, plusieurs techniques sont disponibles pour caractériser le phénotype musculaire. Ces techniques sont basées sur l'étude de la composition protéique des fibres musculaires et de leurs propriétés mécaniques unitaires.

Les fibres musculaires sont des cellules hautement spécialisées, ayant pour particularité leur capacité contractile et surtout leur plasticité. En effet, les propriétés contractiles des fibres musculaires sont sujettes à variation en fonction de l'utilisation qui en est faite, ainsi que les conditions biologiques et extérieures du sujet concerné. L'expression des différents phénotypes se retrouve à l'échelle protéique avec l'expression des différentes isoformes des protéines constituant les myofibrilles ainsi que leur répartition.

Les myosines représentent une très grande super-famille de protéines, responsables de la motilité actine-dépendante au niveau moléculaire. Actuellement ces familles sont au nombre de 24 distinctes (60;66) réparties chez les êtres vivants, au sens large, de l'homme à l'animal, en passant par les végétaux et les insectes, ainsi que les micro-organismes. Chez l'homme, la myosine musculaire dite « conventionnelle » appartient à la sous-famille des myosines II et fera l'objet de ce travail.

Le constituant protéique majeur des fibres musculaires est représenté par le groupe des myosines, qui constitue près d'un quart de la masse protéique totale. Les myosines sont l'élément principal du myofilament épais. Elles sont composées de chaînes lourdes et de chaînes légères. Les chaînes lourdes endossent la responsabilité principale du profil mécanique (lent, rapide, fatigable ou résistant), alors que les chaînes légères sont considérées comme régulatrices ou modulatrices de ce profil. C'est d'ailleurs au niveau des chaînes lourdes de myosine que l'on recense le plus grand nombre d'isoformes connues (191).

Le principe de la contraction musculaire est basé sur la liaison des têtes de myosine aux myofilaments fins. La rotation de la tête de myosine et le glissement des myofilaments épais sur les myofilaments fins induit un raccourcissement et donc une force mécanique. Les myofilaments fins sont composés d'actine, mais également de protéines dites régulatrices telles que la tropomyosine et les troponines. Enfin, pour assurer le maintien et la cohésion entre les myofilaments fins et épais, il existe un troisième réseau de filaments sarcomériques, composés principalement de la titine, la nébuline et l'alpha-actinine. Le rôle de ce système de myofilaments est de réguler l'extension sarcomérique et d'ancrer entre elles les protéines des myofilaments et de maintenir le filament épais au centre du sarcomère.

Les fibres musculaires des muscles squelettiques sont classées selon leur profil d'expression en isoformes de myosine. Ce dernier confère aux fibres musculaires des propriétés contractiles différentes, en termes de vitesse de contraction et de résistance à la fatigue. En fonction de la proportion d'isoformes composant de la fibre musculaire, on identifiera un type précis de fibre. Les muscles lents ou rapides contiennent des proportions variables en isoformes de myosine. Cette caractérisation en isoformes de myosine peut être détectée par des techniques d'histochimie (activité de la myosine ATPase) ou d'immunomarquage (anticorps spécifiques anti-myosine), fournissant alors un renseignement sur la composition en type de fibres d'un échantillon musculaire donné. L'électrophorèse des protéines renseigne sur la composition en isoformes de protéines et pas directement sur la composition en types de fibres. Cette distinction est primordiale afin d'appréhender les différentes études dans la bibliographie. Par ailleurs l'identification directe des fibres musculaire se fait sur un fragment tissulaire réduit, alors que

l'électrophorèse peut se pratiquer sur un échantillon plus volumineux. Les deux techniques sont alors complémentaires afin de comparer leurs résultats (210).

Une fois connues, l'intérêt de ces isoformes de myosine et en particulier des chaînes lourdes, est de varier selon l'utilisation mécanique demandée au muscle ainsi que l'environnement biologique (imprégnation hormonale, sexe, âge...). Ainsi la plasticité musculaire est la capacité d'une fibre à modifier sa composition en isoformes et donc de changer de type (152). Par voie de conséquence, le changement de type de fibre induit un changement des capacités contractiles de la fibre et donc du muscle. C'est ce point qui confère à la fibre musculaire toute sa singularité : la modulation de ses propriétés mécaniques par le changement de sa composition protéique, en d'autres termes la plasticité. Par ailleurs, un défaut d'innervation ou un défaut de régulation de l'expression des protéines musculaires induira aussi une modification du phénotype (224;225;227).

Le muscle squelettique humain chez l'adulte, en l'absence de pathologie, est composé d'une association de fibres musculaires contenant un mélange d'isoformes de chaînes lourdes de myosine MHC I, IIa ou IIx (55;191;207). Concernant les muscles élévateurs de la mandibule chez l'homme, il a été remarqué depuis longtemps qu'ils présentaient un grand nombre de particularités par comparaison avec les muscles locomoteurs. Les différences se retrouvent tout d'abord au niveau de l'expression d'isoformes et donc d'une plus grande diversité de fibres, ensuite un diamètre de fibres très variable, enfin une grande variabilité d'expression des fibres au sein du muscle lui-même et inter-individus.

Les travaux de Ringqvist (170-173) ont mis en évidence ces caractéristiques singulières aux élévateurs de la mandibule. Ainsi, le profil du masséter était connu pour exprimer des fibres de type I, IIA et IIB, mais également des fibres avec une activité ATPasique intermédiaire (171) vraisemblablement de type IIC et IM (173). Le diamètre des fibres retrouvées dans le masséter est variable avec par exemple les fibres de type II, qui sont habituellement plus grandes que les fibres de type I dans les muscles locomoteurs, se trouvent plus petites dans le masséter (170).

Les techniques d'immunomarquage ont permis de caractériser précisément la composition en isoformes de chaînes lourdes de myosine du masséter humain. L'existence des isoformes cardiaque (atrial) et développementales (embryonnaire et néonatal) en faible proportion est apparu comme physiologique pour le masséter. De plus, comme la

composition des nombreuses isoformes au sein des fibres était hétérogène, la classification basée sur l'activité ATPasique devenait insuffisante, et les techniques d'immunomarquage incontournables (198). Ainsi, le profil global du masséter est plutôt lent, dans la mesure où sa composition en fibres de type I prédomine, suivi par les fibres intermédiaires et ensuite les fibres de type II. Les fibres contenant les isoformes néonatale et atriale sont en général très peu représentées.

De nombreux travaux ont étayé la grande variabilité d'expression des différents types de fibres au sein du masséter lui-même (173), mais également entre les différents individus. La tentation était grande d'attribuer cette variation à la fonction, puisqu'il en est ainsi pour les muscles locomoteurs. Dans le cadre des dysmorphoses, le problème semble plus complexe, dans la mesure où la composition musculaire des élévateurs de la mandibule est particulière, sujette à variation intrinsèque et associée à une dysmorphose. **L'enjeu de l'étude du phénotype du masséter s'associe à la recherche d'une implication de ce phénotype dans la genèse des dysmorphoses durant la croissance, ou simplement un caractère adaptatif de la fonction à la dysmorphose.**

L'existence d'une relation entre le phénotype du muscle masséter chez l'homme la genèse des dysmorphoses n'est pas un fait acquis. Nous détaillerons dans le chapitre sur la croissance faciale des exemples pris dans la pathologie afin d'illustrer cette relation. Pour rechercher cette relation, nous partons donc de l'hypothèse qu'il existe effectivement une relation entre la dysmorphose et le phénotype du muscle masséter chez l'homme. Nos travaux vont donc tenter de mettre en évidence cette relation et de répondre à la véritable question qui est de savoir si le phénotype musculaire est la cause ou la conséquence de l'architecture osseuse. Nous avons collecté depuis 1996, des fragments de masséter recueillis lors des interventions de chirurgie orthognatique. Leur étude par immunomarquage et électrophorèse s'est déroulée progressivement afin de constituer des profils en fonction de la dysmorphose. Des résultats préliminaires concernant la relation entre la dysmorphose (hauteur faciale notamment) ont été publiés durant la constitution de notre population (40;86;165;182), nous encourageant ainsi à la poursuite de ce travail.

2 HISTORIQUE DU PROJET DE RECHERCHE

Le début de l'étude du phénotype du masséter chez les patients dysmorphotiques candidats à la chirurgie orthognatique a débuté en 1996. L'initiation de cette étude revient à l'équipe d'anesthésie-réanimation lors de leur étude sur l'hyperthermie maligne.

Lors d'une intervention de chirurgie orthognatique, le déclenchement d'une hyperthermie maligne est très rapidement détectée par le chirurgien en raison du trismus rendant impossible le déroulement de l'intervention. L'hyperthermie maligne est une réaction allergique aux halogénés, très rare, mais extrêmement grave pouvant entraîner le décès du patient. Afin de mettre en évidence une hypersensibilité aux halogénés, le test de contraction musculaire en contact avec ces gaz anesthésiants est réalisé sur une biopsie musculaire, réalisée en général sur le vastus. Pour des raisons de disponibilité et de sensibilité, le département d'anesthésie réanimation de l'hôpital Roger Salengro a entrepris des travaux sur l'hyperthermie maligne, en utilisant des fragments de muscle masséter considérés comme déchets opératoires lors des interventions de chirurgie orthognatique (Epker) (168). En effet, les muscles élévateurs de la mandibule réagissant très rapidement en cas d'hyperthermie maligne, il a été supposé que leur réaction serait plus franche en cas d'allergie avérée. Lors de cette étude, l'aspect des coupes de muscle masséter apparaissait différent en terme de taille et de répartition des fibres chez les patients présentant des diagnostics orthodontiques différents. C'est ainsi que l'idée de débiter l'étude à la recherche d'une relation entre le phénotype de muscle masséter et la dysmorphose dentomaxillofaciale est apparue intéressante (40).

Gene expression in hypokinesia-induced muscle atrophy

M. Wittwer, D. Desplanches*, H. Hoppeler and R. Billeter†

Anatomisches Institut, Universität Bern, Bülhelstrasse 29, CH-3000 Bern 9, Switzerland, *CNRS, URA 1341, Laboratoire de physiologie, Faculté de médecine, Lyon Grange-Blanche, France and †School of Biomedical Sciences, University of Leeds, Leeds LS2 9NQ, UK

Masseter muscle fibre types in relation to craniofacial form

Y. Daniel, J. Ferri*, R. Krivosic-Horber †, F. McDonald, C. Raoul*, the late H. Reyford † and A. Rowleson ‡

Department of Orthodontics and Paediatric Dentistry, GKT School of Dentistry, London SE1 9RT, UK *Department of Maxillofacial Surgery, Hôpital R. Salengro, CHU-Lille, 59037 Lille Cédex, †Department of Anesthesiology-I, Hôpital R. Salengro, CHU-Lille, 59037 Lille Cédex, France and ‡Applied Clinical Anatomy, GKT School of Biomedical Sciences, London SE1 1UL, UK

We report preliminary results of a study of fibre types in the masseter muscle of patients with extremes of normal facial development. These patients had either severe class II malocclusion (11 patients) or class III malocclusion (15 patients). Small biopsy samples were taken at the time of corrective surgery (protocol approved by the University Hospital, Lille) from superficial masseter at a point close to the gonial angle of the mandible. The tissue was snap frozen, sectioned in a cryostat and sections immunostained to identify their myosin composition. Immunostaining profiles revealed seven fibre types. In representative, transversely sectioned areas of each biopsy, all fibres were classified and their areas measured using a digitising tablet linked to an image analysis system. For this initial analysis they were combined into four fibre type groups as follows: 'Neo-Atrial', i.e. types containing atrial (alpha-cardiac) or neonatal myosin or both of these (usually in combination with at least one other myosin), 'type I' (slow fibres containing only slow myosin), 'transitional' (fibres containing both slow and fast (IIA and/or IIX) myosins) and 'type II' (fibres containing either only type IIX myosin, or IIA myosin with some IIX).

Mean area-percentages (percentage of muscle area occupied by a given fibre type) were generally similar for class II and class III patients.

Table 1. Mean fibre areas \pm confidence interval (CI) (μm^2) for each fibre type category for class II and class III patients

Fibre type	Mean fibre area (μm^2) \pm CI	
	Class II	Class III
Neo-atrial	1043.9 \pm 62.7	910.0 \pm 45.8***
I	2305.6 \pm 101.1	2106.8 \pm 65.6**
Transitional	1774.9 \pm 111.5	1606.8 \pm 99.2***
II	662.1 \pm 71.4	966.4 \pm 70.9***

** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ using Mann-Whitney.

We conclude that in this area of masseter, cross-sectional areas of type II fibres are larger in class III patients compared with class II patients, whereas the other types are slightly smaller in class III patients. Future analysis will examine the effect of vertical discrepancies, and the relationship of fibre type composition at the time of operation to the stability of the surgical correction after 1 year.

Axial motions of myosin heads during contraction of intact single fibres of frog skeletal muscle measured by X-ray interference

G. Piazzesi, M. Linari, L. Lucii, M. Reconditi, Y.-B. Sun*, X. Koubassova†, P. Boesecke‡, T. Narayanan‡, V. Lombardi and M. Irving*

Dipartimento di Scienze Fisiologiche, Università di Firenze Viale G.B. Morgagni 63, I-50134 Firenze, Italy, *School of Biomedical Sciences, King's College London, Guy's Campus London SE1 1UL, UK, †Institute of Mechanics, University of Moscow, Russia and ‡ESRF, BP 220, 38043 Grenoble France

Force generation and filament sliding in muscle are driven by conformational changes in the myosin head domains that cross-link the myosin and actin filaments. The improved brightness and collimation of X-ray beam lines like ID2 at the European Synchrotron Radiation Facility led to the development of a technique that can measure the axial motions of the myosin heads along the filaments with Ångstrom sensitivity (Linari *et al.* 2000). The method depends on X-ray interference between the two arrays of heads in each bipolar myosin filament, producing a finely spaced modulation of the M3 X-ray reflection arising from the ca 14.5 nm axial repeat of the heads. Single fibres were dissected from anterior tibialis muscles of frogs (*Rana temporaria*) that had been humanely killed. Fibres were electrically stimulated at sarcomere length 2.1 μm , 4 °C and 40 shortening/re-stretch cycles each of 50 ms duration were imposed, with a 4 ms interval between shortening and

3 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

3.1 STRUCTURE MUSCULAIRE

3.1.1 STRUCTURE MACROSCOPIQUE

La masse musculaire corporelle représente 40 à 60% du corps humain. Il existe trois grands types de muscle : le muscle strié, le muscle cardiaque et le muscle lisse. Au sein des muscles striés, on retrouve les muscles élévateurs de la mandibule, avec certaines particularités spécifiques qui seront exposées.

La structure anatomique du muscle masséter est déjà complexe en elle-même puisque constituée de trois faisceaux ou chefs distincts, mais il faut également considérer qu'il existe au sein de chaque faisceau des aponévroses intermédiaires réalisant une architecture segmentée (241). Ainsi l'architecture n'est pas uniforme et la contraction des différents segments semble pouvoir être indépendante, permettant ainsi au masséter de faire varier finement la direction de sa résultante biomécanique et d'ajuster la course mandibulaire.

Le muscle masséter est ainsi fixé sur l'arcade zygomatique et la face externe de la mandibule par l'intermédiaire de tendons. Le masséter possède une aponévrose qui le recouvre entièrement. Sa structure est conventionnelle avec ses trois chefs anatomiquement différents (superficiel, moyen et profond), recouverts par l'épimysium. Le muscle possède une structure comparable à celle d'une poupée russe. Il est constitué de groupes de cellules regroupées en paquets appelés fascicules ou faisceaux. Chaque niveau de structure est enveloppé par une gaine conjonctive. On distingue ainsi, de la périphérie vers le centre, les enveloppes conjonctives suivantes : épimysium, périmysium et endomysium (Figure 1). La dernière membrane conjonctive est celle qui entoure chaque fibre musculaire : le sarcolemme, qui s'accroche sur l'endomysium. Ce tramage conjonctif tridimensionnel permet une meilleure transmission des forces de contraction.

Le muscle contient également des vaisseaux sanguins, des fibres nerveuses et des plaques motrices (terminaisons nerveuses des jonctions neuromusculaires).

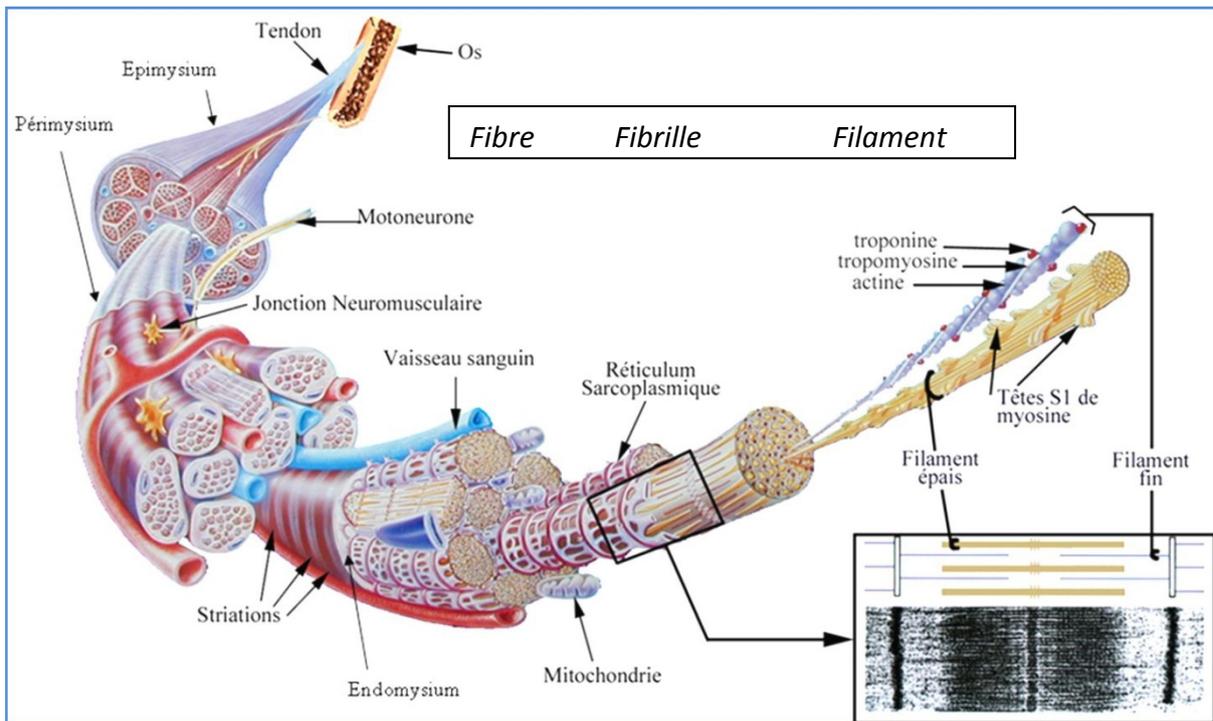


Figure 1 : Représentation schématique de l'organisation musculaire.
Schéma de l'organisation musculaire de l'aspect macroscopique à l'échelle microscopique.
Les cellules satellites ne sont pas représentées. Modifié d'après Bastide 2003 (12).

On retrouve également en très faible quantité les cellules satellites, qui sont à l'état de dormance au contact des fibres musculaires. Les cellules satellites sont traditionnellement supposées être issues des myoblastes, mais une origine endothéliale est toujours débattue (34), ces cellules satellites assurant la croissance et ensuite la régénération des fibres musculaires (71). Le nombre de cellules satellites baisse avec l'âge, mais constitue une porte pour la thérapie génique et la régénération du tissu musculaire pathologique. A l'âge adulte pour le masséter, vers 12 à 15 ans, seules 15 fibres sur 100 possèdent une cellule satellite (13).

3.1.2 CELLULE MUSCULAIRE

Les fibres musculaires sont de longues cellules cylindriques multinucléées entourées par leur membrane cellulaire, le sarcolemme. Les muscles squelettiques sont ainsi constitués de cellules allongées mesurant de quelques millimètres à quelques centimètres. Leur diamètre est variable, de 20 à 150 μ m. Chaque cellule ou fibre musculaire contient plusieurs éléments contractiles qui sont les myofibrilles et qui occupent toute la longueur de la cellule. Ces myofibrilles sont entourées par le réticulum sarcoplasmique et contiennent de nombreux filaments, les myofilaments. Les noyaux sont rejetés en périphérie de la cellule alors que les mitochondries sont réparties autour des myofibrilles.

Le réticulum sarcoplasmique enveloppe méticuleusement les myofibrilles à l'aide du réticulum longitudinal et des citernes terminales qui sont reliées au système T (Figure 2). Le système T est constitué d'invaginations du sarcolemme venant au contact des citernes terminales du réticulum sarcoplasmique. La zone de contact entre un système T et deux citernes terminales constitue une triade, au niveau de laquelle les canaux calciques sont regroupés. C'est au niveau des triades que se trouvent également les récepteurs à la ryanodine (Ryanodine Receptor) et les récepteurs à la dihydropyridine sensibles à la dépolarisation membranaire (DiHydropyridin Receptor). Ce complexe interviendra dans le mécanisme de la contraction musculaire par la réponse à l'influx nerveux et le passage du calcium dans le milieu intracellulaire (couplage excitation-contraction). En effet, le potentiel d'action est acheminé au réticulum sarcoplasmique au sein de la cellule musculaire à l'aide des systèmes T, permettant une contraction simultanée des fibres musculaires.

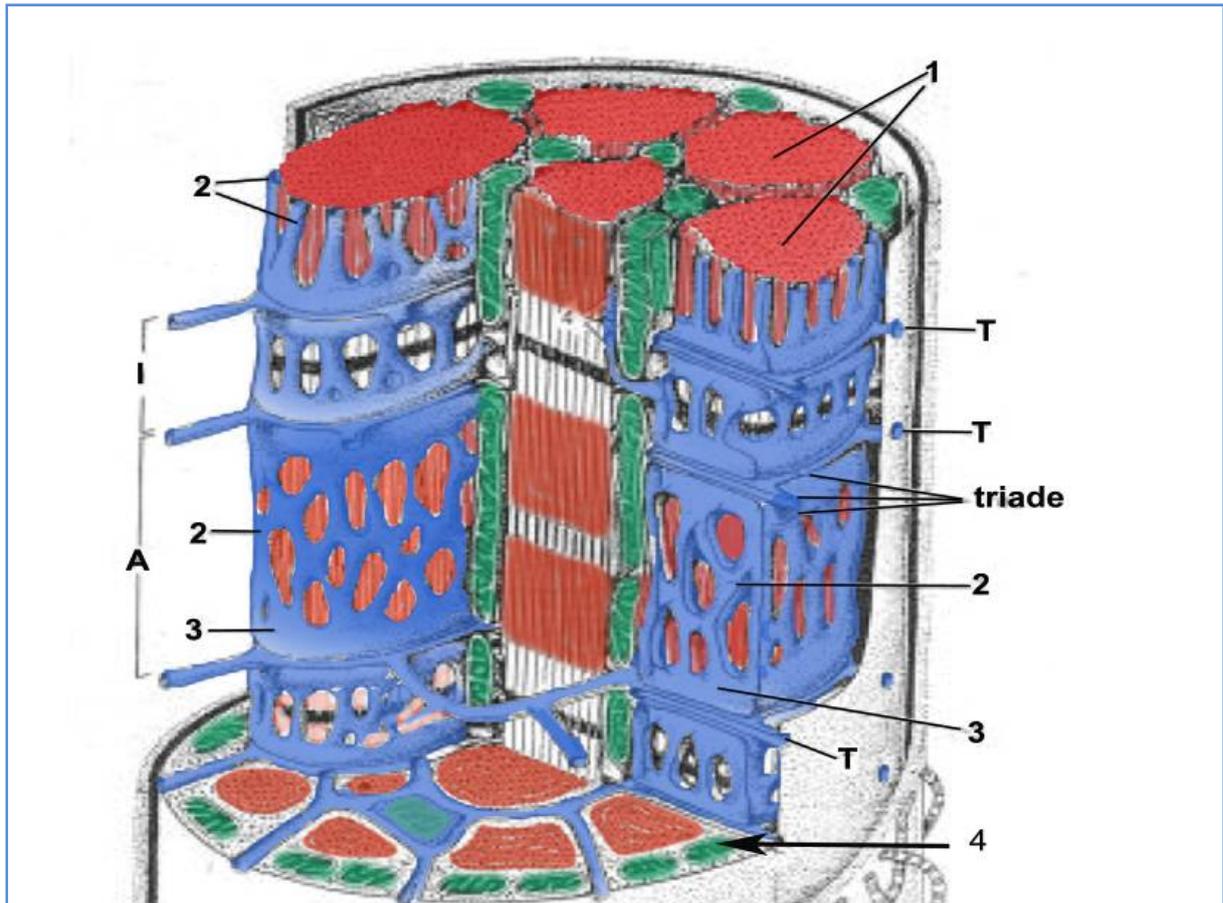


Figure 2 : Réticulum sarcoplasmique et triade.

Le réticulum sarcoplasmique entre en contact intime avec chaque myofibrille (1) et les mitochondries (4). Le système T (T) est représenté par des invaginations du sarcolemme venant au contact des citernes terminales du réticulum (3). Entre chaque citerne terminale, s'étend le réticulum longitudinal (2). La triade est constituée de deux citernes terminales venant au contact d'un système T. La triade est une zone privilégiée pour les échanges calciques nécessaires à la contraction musculaire. (Modifié d'après l'Atlas d'histologie générale Masson 1988).

Le réticulum sarcoplasmique constitue une réserve calcique entretenue par les pompes à calcium. Lors du déclenchement de la contraction, le réticulum relargue son calcium en endocellulaire.

3.1.3 LES MYOFIBRILLES ET LE SARCOMERE

Les myofibrilles constituent l'unité élémentaire du muscle et sont regroupées en unités physiologiques : les sarcomères. Les sarcomères sont tous alignés dans la même direction, le long de l'axe principal du muscle et se contractent d'une manière synchrone pour créer une force. Chaque sarcomère possède une longueur de 1,6 μ m (contraction) à 2,5 μ m (relâché) et leur nombre dépendra de la longueur de la myofibrille. Les dimensions du sarcomère ont été conservées durant toute l'évolution des vertébrés, ainsi, de la grenouille à l'éléphant, on retrouve la même dimension. Les variations de volume, longueur et diamètre musculaire que l'on observe lors de la croissance, de la maturation pubertaire et de l'entraînement, ne sont pas le résultat de l'augmentation des dimensions du sarcomère, mais de leur nombre. Les sarcomères se multiplient en série (augmentation de longueur) et en parallèle (augmentation de diamètre musculaire).

La fibre musculaire du muscle squelettique et cardiaque a un aspect strié en raison de l'arrangement répétitif en série et en parallèle des sarcomères dans la myofibrille. L'enchaînement des sarcomères apparaît comme une succession de bandes A (Anisotrope, biréfringente) et bande I (Isotrope, réfringente). La bande I est principalement constituée d'actine et apparaît plus claire. La bande A est constituée de myosine. Au milieu de la bande I se trouve le disque Z, et au milieu de la bande A se trouve la bande M.

De part et d'autre de la bande M, là où les filaments d'actine et de myosine ne se recouvrent pas, se situe la zone H (Figure 3). Chaque sarcomère est délimité par deux disques Z adjacents.

Autour de chaque myofibrille, le réticulum sarcoplasmique crée un réseau issu de la membrane cellulaire et qui englobe méticuleusement tout le pourtour de cette dernière. L'organisation du réticulum sarcoplasmique est également régulière et suit l'organisation striée. Le réticulum sarcoplasmique est organisé en un système T issu de la membrane, entrant en contact avec les citernes terminales du réticulum longitudinal, formant ainsi la triade. Ces triades sont disposées entre chaque bande I et bande A.

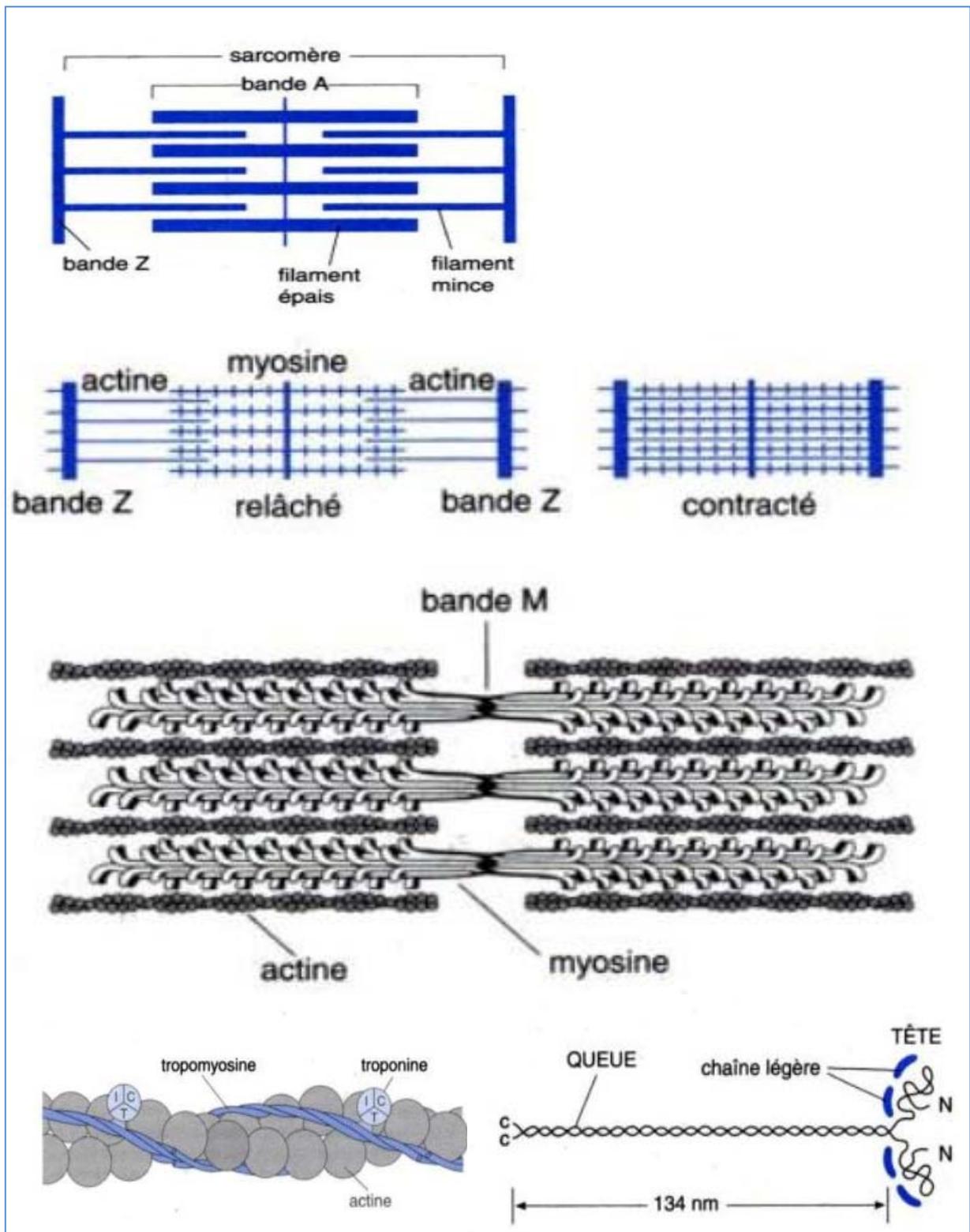


Figure 3 : Composition du sarcomère.

Aspect schématique du sarcomère et sa composition. (D'après *Physiologie médicale* William F. Ganong (62)).

3.1.4 LES MYOFILAMENTS SARCOMERIQUES

Durant très longtemps, il a été suggéré que le muscle était constitué de deux protéines contractiles : la myosine et l'actine. Actuellement, nous savons que le muscle strié squelettique contient au moins une trentaine de protéines. Ces protéines sont impliquées dans diverses fonctions liées à la contraction, au soutien des structures myofibrillaires et au transfert de molécules.

Les myofilaments sont répartis en trois catégories : les myofilaments épais (principalement constitués par les myosines), les myofilaments fins (composé d'actine, du complexe des troponines et de la tropomyosine) et le troisième réseau de myofilaments constituant le cytosquelette du sarcomère (regroupant entre-autres, l'alpha-actinine, la titine et la nébuline). La bande M est constituée par l'assemblage des filaments épais de myosine par l'intermédiaire de la protéine M et de la myoméline.

Le couple actine-myosine confère au muscle ses propriétés contractiles.

3.1.4.1 LES FAMILLES DE MYOSINE

Avant de parler des myofilaments sarcomériques, il est nécessaire de préciser que les myosines constituent une famille ou plutôt une superfamille de protéines caractérisée par leurs propriétés contractiles. Les myosines participent non seulement à la musculature striée mais également à tous les phénomènes de division et mobilité cellulaire, les déformations membranaires, en somme tous les déplacements moléculaires. Ainsi les myosines sont considérées comme les moteurs cellulaires au sens mécanique du terme.

La constitution de cette superfamille de protéines contractiles est basée sur leur étude phylogénétique. Il s'agit de retrouver les relations d'évolution entre les protéines d'une même famille à partir de leurs séquences. On a posé l'hypothèse que les protéines ont évolué à partir d'un ancêtre commun unique. Le but de cette analyse est de montrer comment les protéines ont divergé après des événements de duplication de gène et ou de spécialisation fonctionnelle. Elle donne également une manière de classer les différentes isoformes de myosine en sous-familles possédant vraisemblablement des fonctions identiques. L'analyse est faite en plusieurs étapes, avec en premier l'alignement des séquences des protéines, la comparaison de ces alignements donnant des « distances

phylogéniques » exprimées en pourcentage de divergence entre deux séquences géniques. Ensuite on construit un arbre en utilisant ces distances avec une estimation des limites de confiance statistiques. Il existe à l'heure actuelle 24 différentes classes de myosine (I à XXIV) (Figure 4), la myosine II correspondant à celle des muscles striés des mammifères, ou encore à la myosine dite « conventionnelle » (60;66;82;202). Chez l'homme on retrouve 40 gènes différents de myosines, chaque cellule pouvant exprimer jusqu'à 11 myosines appartenant aux familles I, II, V, VI, VII et IX.

La famille des myosines II est constituée des différentes isoformes rencontrées. Ces isoformes sont numérotées et répertoriées en fonction de leur gène.

Cette classification est très intéressante car elle permet de classer précisément et sans ambiguïté les isoformes et d'éviter les confusions. Plus important est l'utilité de la comparaison des séquences de gènes et leur positions respectives sur le génome de chaque espèce, permettant de déduire des évolutions dans leur expression. Ainsi, pour la MHY16 ou myosine « superfast » (Masticatory myosine, ou IIM) découverte en 1981 par l'équipe de Rowleson (179-181), il apparaîtrait que son absence chez l'homme soit due à une inactivation de son gène par un codon stop apparu il y a 2,4 millions d'années (212). La raison de cette inactivation et de la mutation de ce gène en un pseudogène est l'encéphalisation et l'évolution de la croissance crânio-faciale. Ainsi, la disparition de l'isoforme MHY16 a permis une diminution considérable du volume des fibres musculaires et le développement du volume de l'encéphale. La conséquence étant la modification drastique des propriétés mécaniques, avec un débat sur l'ancienneté de la mutation (éventuellement 5,3 millions d'années) (124). Ce débat est passionnant puisqu'il fait entrer en jeu l'interaction entre la croissance crânio-faciale et les muscles masticateurs.

Au total, chez les mammifères, les filaments épais possèdent de nombreuses isoformes, onze pour les chaînes lourdes et sept pour les chaînes légères. Les autres protéines musculaires expriment moins d'isoformes et sont ainsi considérées comme stables.

3.1.4.2 LES MYOFILAMENTS EPAIS

Dans les muscles striés, la myosine est un hexamère constituée de deux chaînes lourdes identiques (PM 223000 chacune), de deux chaînes légères régulatrices (RLC : Regulatory Light Chain) (PM 20000) et de deux chaînes légères essentielles (ELC : Essential Light Chain) (PM 17000 à 27000) (62;167;229).

Les molécules de myosine sont assemblées de telle sorte que leurs têtes dépassent de la surface du filament épais et sont en contact avec les filaments fins d'actine.

Les deux chaînes lourdes de la myosine sont accolées l'une à l'autre : leur longue queue forme un axe torsadé, et leur pôle globulaire émerge du filament épais sous la forme d'une tête double (Figures 5 et 6). L'émergence des têtes de myosine se fait selon une disposition générale ayant l'apparence d'un pas de vis. Chaque filament épais de myosine se compose d'environ 150 à 360 molécules de myosine, assemblées à la manière d'une torsade. Ce polymère de myosine est semblable à trois brins hélicoïdaux torsadés ensemble. La longueur totale du filament épais est de 1,6 μ m, avec les deux extrémités garnies de têtes de myosine lourde, et la partie centrale composée de queues. Le filament épais est ainsi constitué de deux groupes de myosines disposées tête-bêche (Figure 7, page suivante).

Chaque molécule de myosine possède une partie céphalique (ou tête de myosine) qui contient deux sites de fixation, l'un pour l'ATP (activité ATPasique) et l'autre pour l'actine. Cette partie céphalique s'articule avec une partie cervicale, l'ensemble constituant la méromyosine lourde (HMM : Heavy Mero-Myosin). La méromyosine lourde est réunie à une partie caudale : la méromyosine légère (LMM : Light Mero-Myosin). L'extrémité de la méromyosine légère n'est pas hélicoïdale et serait à l'origine de l'association des doubles-hélices de myosine ensemble pour former le myofilament épais (112). La mobilité de la partie cervico-céphalique (méromyosine lourde), à la manière d'une articulation, permet la fixation réversible de la myosine avec l'actine (formation du complexe actine-myosine) et le glissement des filaments d'actine et de myosine les uns sur les autres.

En activant l'ATPase de la myosine, la tête de la myosine bascule et tourne sur elle-même pour imprimer un glissement du filament fin sur le filament épais et donc un raccourcissement de la fibre musculaire.

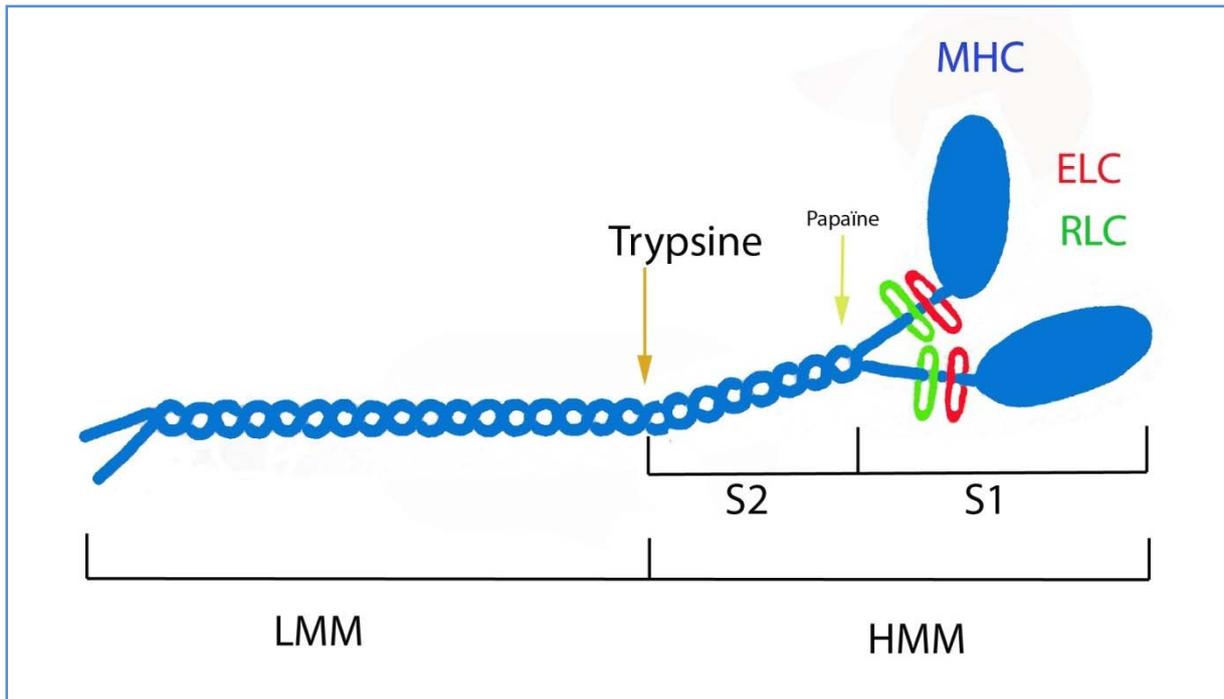


Figure 5 : La myosine II, représentation schématique.

Sous l'action de la trypsine on divise l'hexamère de myosine en deux sous unités, la méromyosine lourde (HMM) et légère (LMM). Sous l'action de la papaine, la méromyosine lourde se scinde en deux autres sous-unités S1 et S2.

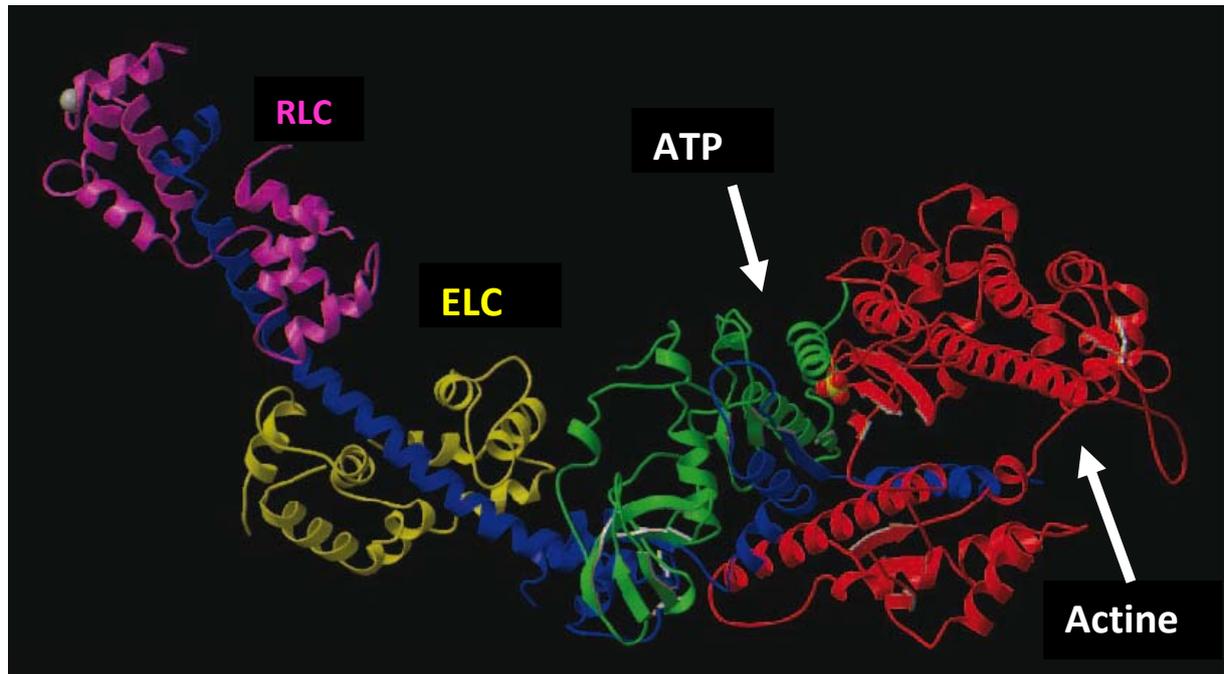


Figure 6 : Représentation tridimensionnelle de S1.

En jaune la chaîne légère essentielle, en rose la chaîne légère régulatrice, myosine. Le reste des couleurs représentent la tête et la région céphalique de la chaîne lourde de myosine (bleu, vert et rouge) avec les sites de liaison à l'actine et le site de liaison à l'ATP (modifié d'après Hernandez (80)).

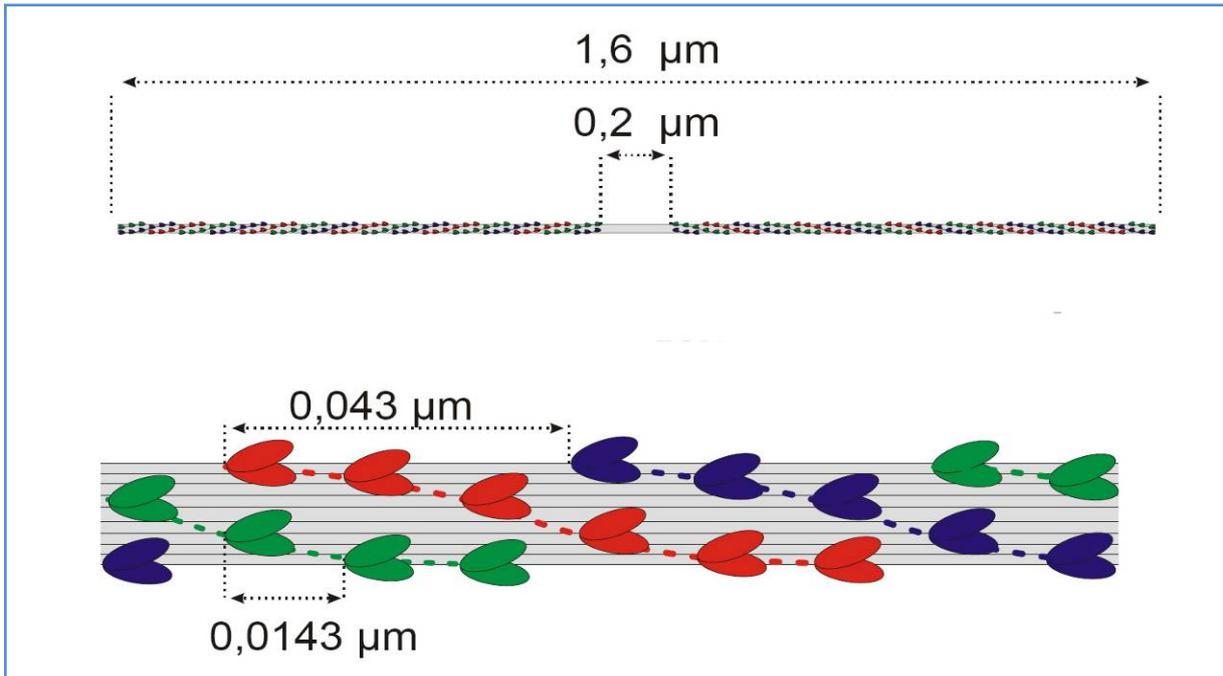


Figure 7 : Le filament épais.

La triple hélice des hexamères de myosine est représentée selon trois couleurs (rouge, bleu, vert). Le filament épais contient autour de 200 molécules de myosine qui sont orientées selon deux groupes opposés réalisant une conformation tête-bêche. La portion centrale du myofilament épais ne comporte donc pas de têtes de myosine mais uniquement des queues. Modifié d'après « structure et fonction de sarcomères », Vandewalle, 2005.

Pendant la contraction ou la relaxation musculaire, la longueur des filaments d'actine et de myosine reste constante. En revanche, la longueur des sarcomères varie du fait du glissement des filaments fins d'actine dans le réseau des filaments épais de myosine : la longueur de la bande A (longueur des filaments de myosine) reste inchangée, tandis que les bandes H et I ont des longueurs variables.

3.1.4.2.1 LES ISOFORMES DE CHAINES LOURDES DE MYOSINE

Onze isoformes de chaînes lourdes de myosine sont identifiées dans les muscles squelettiques des mammifères (153;154;191;214). Leur identification génique permet de les classer selon leur appartenance à la superfamille des myosines II (47). Ainsi leur dénomination au sein de la superfamille des myosines II est la suivante, avec leur correspondance génique (tableau 1) :

MYH1	MHC IIx/IIc
MYH2	MHC IIa
MYH3	MHC Embryonic (Embryonnaire)
MYH4	MHC IIb
MYH6	MHC alpha (MHC I alpha ou atriale)
MYH7	MHC beta (MHC I beta)
MYH8	MHC périnatal (MHC néonatal)
MYH13	MHC Extraocular (Extraoculaire)
MYH14	MHC slow-A
MYH15	MHC slow-B
MYH16	MHC Superfast (MHC IIm / masticatory)

Designation	MYH	Nomenclature	Localisation des isoformes dans les muscles ou les fibres spécifiquement classifiées par immunomarquage
Fast-twitch	4	MHC IIb	Fibres de type IIB, IIBD, IIAB
Fast-twitch	1	MHC IId	Fibres de type IID, IIBD, IIDA
Fast-twitch	2	MHC IIa	Fibres de type IIA, IIAB, IIDA, IIC, IC
Fast-twitch	13	MHC eom	Muscles extraoculaires et laryngés
Fast-twitch	16	MHC IIm	Muscles masticateurs des carnivores et primates (sauf l'homme et le panda)
Slow-twitch	7	MHC I beta	Fibres de type I, IC, IIC
Slow-twitch	6	MHC I alpha	Extraoculaires, diaphragmatique, masséter, fibres en transformation rapide à lentes
Slow-twitch	15 ou 14	MHC Ia	Plantaris, soleus, fibres en transformation lente à rapide
Slow-tonic	14 ou 15	MHC Iton	Extraoculaires, laryngés, muscle tensor tympani
Embryonic	3	MHC emb	Muscles extraoculaires
Neonatal	8	MHC neo	Extraoculaires, masséter

Tableau 1 : Les isoformes des chaînes lourdes de myosine.

Ces isoformes sont identifiées dans les fibres musculaires des muscles squelettiques des mammifères. Modifié d'après Pette (153) et Desjardins (47).

La répartition anatomique et inter-espèces de ces isoformes de chaînes lourdes de myosine est variable. Les 6 isoformes suivantes sont retrouvées dans le muscle masséter humain à l'état physiologique, en dehors des fibres des fuseaux neuromusculaires :

- * La MHC I ou bêta-slow est retrouvée au niveau des ventricules cardiaques et dans les muscles squelettiques striés. Elle est également retrouvée au niveau du masséter.

- * La MHC I alpha (ou atriale) est retrouvée au niveau des auricules cardiaques et dans le masséter, à la seule différence qu'au niveau cardiaque elle est associée à des chaînes légères de myosine plus rapides, conférant aux fibres I alpha d'origine cardiaque des vitesses de contraction plus élevées que dans les muscles squelettiques (195).

- * La MHC IIa, il s'agit de la plus lente des isoformes rapides.

- * La MHC IIx ou IIc, il s'agit de l'isoforme la plus rapide chez l'homme

- * La MHC néonatale ou fœtale, cette isoforme fait partie de la catégorie des isoformes développementales, présentes lors de l'embryogénèse et un peu à la naissance. Elle est retrouvée à l'état physiologique dans le masséter, y compris chez l'adulte.

- * La MHC Embryonnaire fait également partie des isoformes développementales. On la retrouve dans les muscles embryonnaires. Elle est retrouvée au niveau du masséter humain adulte, mais dans des quantités très faibles (130;132;133;196).

Les cinq isoformes suivantes ne sont pas retrouvées au niveau du masséter humain :

- * La MHC IIc ou superfast, présente dans les muscles masticateurs chez tous les carnivores et les primates, exceptés le panda et l'homme (83;179-181). Il s'agit de l'isoforme la plus rapide d'entre toutes.

- * La MHC IIb est présente chez l'animal, y compris dans le masséter, mais pas chez l'homme.

- * La MHC Extraoculaire, cette isoforme se rencontre principalement au niveau des muscles occulo-moteurs, intraorbitaires, intraconiques et extraoculaire. Il s'agit d'une isoforme conférant une très haute vitesse de contraction mais une force très faible, manifestement parfaitement adaptée aux mouvements oculaires (188).

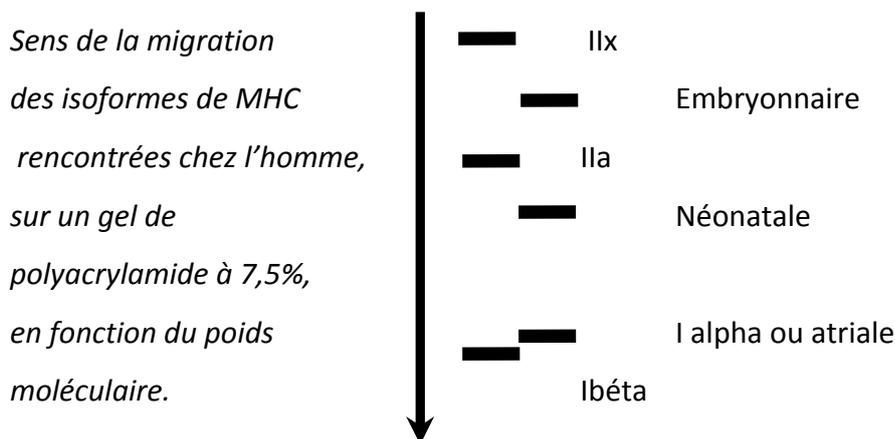
- * La MHC Iton (Slow-tonic ou MHC st) est également décrite mais son génome (MYH 14 ou 15 ?) n'a pas été corrélé à l'expression protéique comme pour les neuf précédentes isoformes de chaînes lourdes de myosine (83). La présence de cette isoforme au niveau des

muscles laryngés et masticateurs demeure controversée (135;208;239) en raison de réactions croisées avec les anticorps utilisés.

* La MHC Ia, correspondant par défaut à MYH14 ou 15

3.1.4.2.2 PROFIL DE MIGRATION ELECTROPHORETIQUE DES ISOFORMES DE CHAINES LOURDES DE MYOSINE

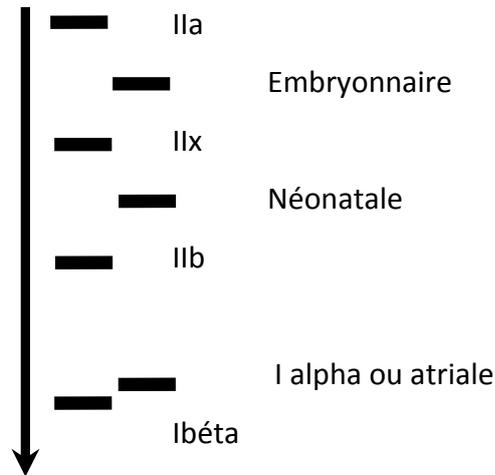
Le profil de migration des isoformes de chaînes lourdes de myosine dépend entre autre de la concentration en polyacrylamide du gel utilisé pour l'électrophorèse (SDS-PAGE). Si on utilise un gel de polyacrylamide de concentration à 4,5% et un gel de séparation à 7,5%, comme cela sera décrit dans les « Matériels et Méthodes », le profil suivant est attendu chez l'homme (39;198;216) :



Pour des concentrations de respectivement 5 et 6%, Monemi et D'Antona confirment la position de l'isoforme néonatale dans des extraits de masséter humain (38;39;132).

Par rapport à l'animal, l'homme a la particularité de ne pas exprimer l'isoforme IIb au niveau protéique. Par exemple, chez le rat, le profil électrophorétique varie par rapport à l'homme par la présence de l'isoforme IIb en plus et de l'inversion de la position relative de IIa et IIx. Le profil de migration chez le rat été décrit comme suit avec un gradient de polyacrylamide de 5-8%. (11).

*Sens de la migration
des isoformes de MHC
rencontrées chez le rat,
avec un gel de
polyacrylamide à 7,5%,
en fonction du poids
moléculaire.*



3.1.4.2.3 LES ISOFORMES DE CHAINES LEGERES

Les chaînes légères de myosine (MLC) sont séparées en deux groupes :

- * Les chaînes légères essentielles (Essential Light Chains : ELC) sont également appelées « Alkali Light Chains », elles se dissocient des chaînes lourdes en milieu alcalin,
- * Les chaînes légères régulatrices (Regulatory Light Chains : RLC) ou phosphorylables ou encore « DNTB Light Chains » car elles se dissocient des MHC sous l'action du 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoate (DNTB) (19).

Sur chaque tête de MHC on retrouve associées par des liaisons non covalentes, une RLC et une ELC. Il existe en tout 7 isoformes des chaînes légères de myosine, réparties en rapides et lentes pour chaque groupe de chaînes légères (Tableau 2).

Vitesse	RLC	ELC (alcali)
Slow	MLC2s	MLC1Sa MLC1Sb
Fast	MLC2f	MLC1f MLC3f
	MLC embryonnaire	

Tableau 2 : Les isoformes de chaînes légères.

Le tableau collige les isoformes selon leur vitesse et leur appartenance à la catégorie RLC ou ELC. La MLC embryonnaire est retrouvée chez le fœtus humain et dans le masséter (194). La MLC embryonnaire est souvent associée à la MHC embryonnaire (21).

3.1.4.2.4 CONSEQUENCE DE L'ASSOCIATION DES ISOFORMES DE CHAINES LOURDES ET LEGERES DE MYOSINE

La distribution des isoformes de chaînes de myosine se fait au sein de fibres dites pures, qui ne contiennent qu'un seul type d'isoforme. Si plusieurs isoformes sont rencontrées dans une même fibre, on parle de fibre hybride. La notion de fibre hybride est une partie du support de l'expression de la plasticité musculaire, permettant ainsi de justifier des transitions de phénotype (lent ↔ rapide). Il est ainsi rassurant de penser et de constater qu'il existe un continuum entre les différentes fibres pures relié par des fibres hybrides de proportion variable (211). On s'explique alors le glissement progressif d'un phénotype vers l'autre, avec une adaptation fine et évolutive des propriétés mécaniques et métaboliques (166). On aboutit ainsi à un continuum de fibres musculaires dont les propriétés mécaniques et métaboliques s'adaptent très progressivement (Figure 8).

La variation de proportions des différents types d'isoformes de chaînes lourdes de myosine est clairement associée à une modification des propriétés mécaniques. Il faut garder à l'esprit que les chaînes lourdes sont manifestement déterminantes sur le caractère globalement rapide ou lente d'une fibre. Néanmoins, la présence des chaînes légères modifie substantiellement ces propriétés mécaniques et est à prendre en compte. Ainsi les isoformes de chaînes lourdes rapides ou lentes sont appariées d'une manière équivalente à des isoformes de chaînes légères respectivement rapides ou lentes, mais on peut également rencontrer des associations non appariées, entre chaînes lourdes rapides et chaîne légères lentes et vice-versa. Cette distinction est primordiale pour les travaux fondamentaux sur la régulation de l'expression des gènes dans la plasticité musculaire (12).

Il existe des associations préférentielles entre les différentes isoformes de chaînes lourdes et légères, notamment entre les isoformes embryonnaires de chaînes lourdes et légères, ainsi qu'entre les isoformes rapides de chaînes légères (MLC1f MLC2f MLC3f) et la MHC néonatale (21).

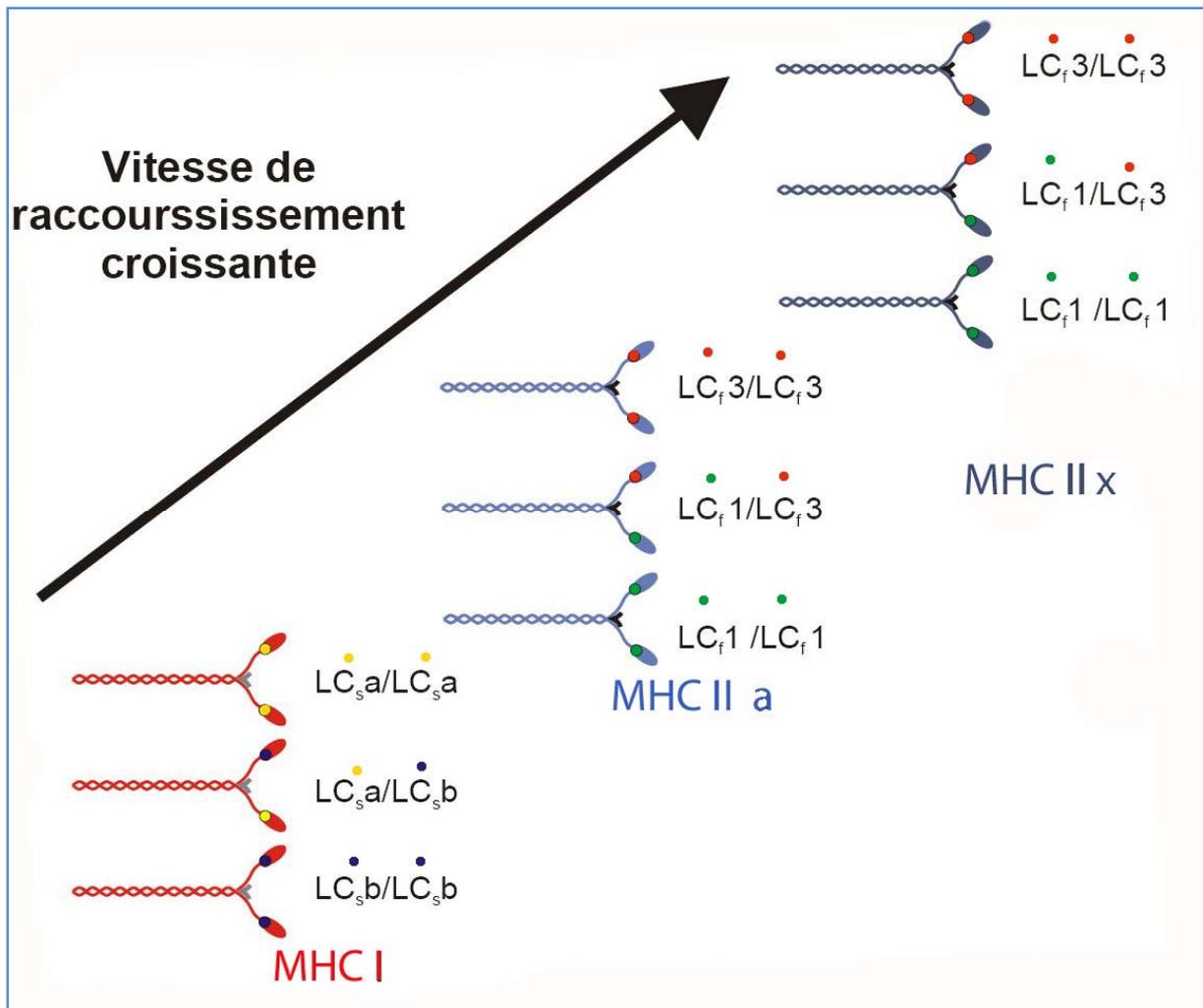


Figure 8 : Conséquences mécaniques de la présence des chaînes légères de myosine. La vitesse de raccourcissement des fibres musculaires dépend principalement des chaînes lourdes, mais la présence des chaînes légères essentielles est significativement modulatrice. Modifié d'après « structure et fonction de sarcomères », Vandewalle, 2005.

3.1.4.3 LES MYOFILAMENTS FINS

Le myofilament fin est constitué d'actine globulaire, de tropomyosine et de troponine. Chez l'homme, seules deux isoformes de l'actine sont retrouvées, l'actine alpha-cardiaque et l'actine alpha-squelettique. Ces deux isoformes sont co-exprimées à la fois dans le muscle cardiaque et le muscle strié et diffèrent très peu du point de vue génétique tout comme du point de vue fonctionnel (191).

L'actine est une molécule polypeptidique de forme globulaire. La polymérisation des monomères d'actine se fait sous une forme filamentaire. Les polymères d'actine s'accrochent par deux pour former une longue double hélice. Les myofilaments fins sont formés de l'association de cette double hélice d'actine et de deux protéines régulatrices : la tropomyosine (dimère filamenteux rigide de renforcement) et la troponine (complexe de trois sous-unités polypeptidiques : I, C et T). Ces deux protéines sont disposées à intervalles réguliers le long des filaments d'actine, en regard de chaque tête de myosine (Figure 9), et impliquées dans la régulation de la contraction musculaire par le calcium.

Parmi les nombreuses autres molécules associées aux filaments d'actine, il y a la tropomoduline qui coiffe l'extrémité libre des filaments d'actine.

Les stries Z sont formées par l'organisation de filaments d'alpha-actinine. Ils servent à relier l'extrémité des filaments fins de chaque sarcomère entre elles et avec les extrémités des filaments fins du sarcomère adjacent. Ils contiennent également une des extrémités des filaments de titine et les filaments intermédiaires de desmine.

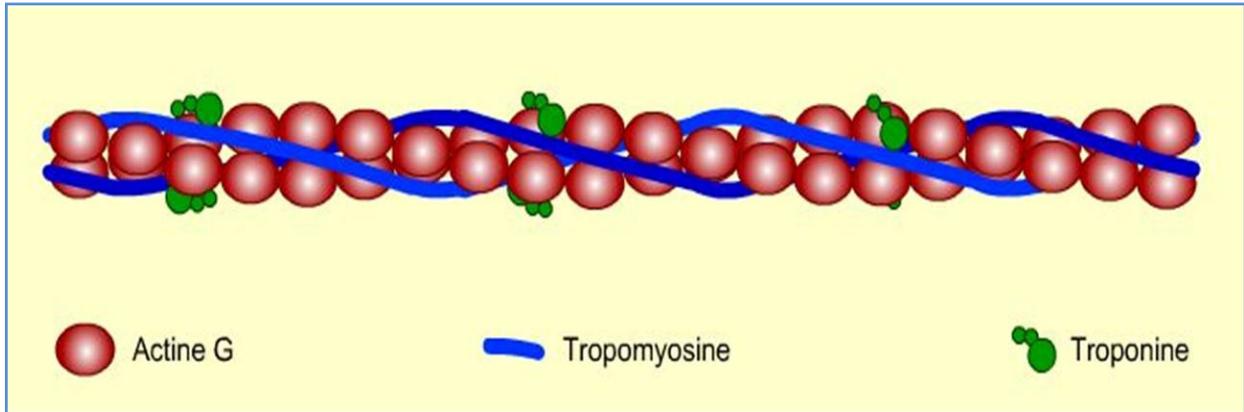


Figure 9 : Le filament fin.

L'actine globulaire se polymérise en double hélice. La troponine et la tropomyosine, protéines régulatrices, s'y associent pour former le myofilament fin. Modifié d'après Physiologie médicale William F. Ganong.

3.1.4.4 LE TROISIEME RESEAU DE FILAMENTS

L'organisation tridimensionnelle des filaments fins et épais, leur cohésion dans le sarcomère et leur connexion avec le sarcolemme sont assurées par un troisième type de myofilaments (Figure 10) : l'alpha-actinine, la titine, la nébuline, la myotiline, la myoméline, la protéine M, la desmine et la skélémine.

Les bandes M renferment des filaments de myoméline qui relient entre eux les filaments de myosine et les maintiennent groupés en faisceaux.

La titine (ou connectine) est un filament protéique qui, dans chaque demi-sarcomère, relie chaque filament épais à la strie Z. Composant « élastique », elle maintient l'alignement des filaments épais et oppose une résistance à l'étirement excessif du sarcomère. Elle s'étend de la strie Z jusqu'à la strie M.

Le cytosquelette du sarcomère est formé d'un réseau de protéines, elles-aussi réparties de manière régulière afin de renforcer la résistance mécanique et assurer la transmission des forces. La position des filaments fins et épais est maintenue en permanence durant le repos et les phases de contraction, permettant ainsi une présentation optimale des sites de fixation (Figure 11).

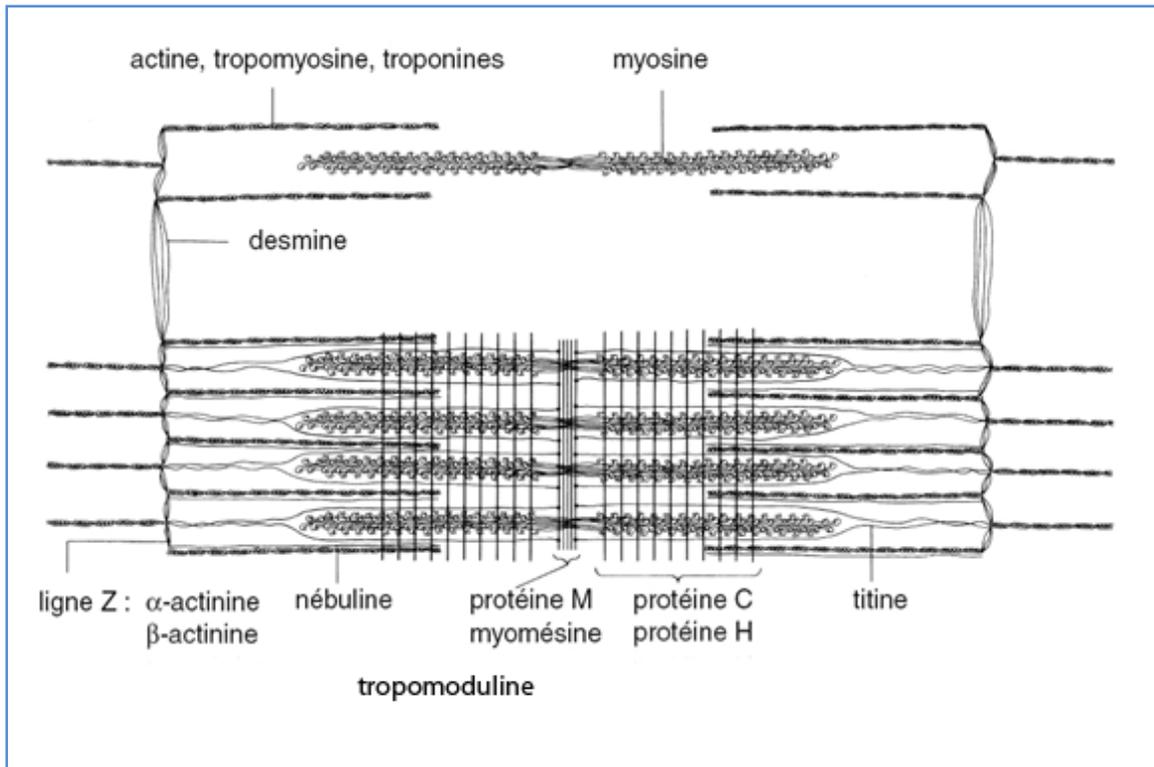


Figure 10 : Représentation schématique du cytosquelette du sarcomère.
Modifié d'après Billeter et Hoppeler 1992.

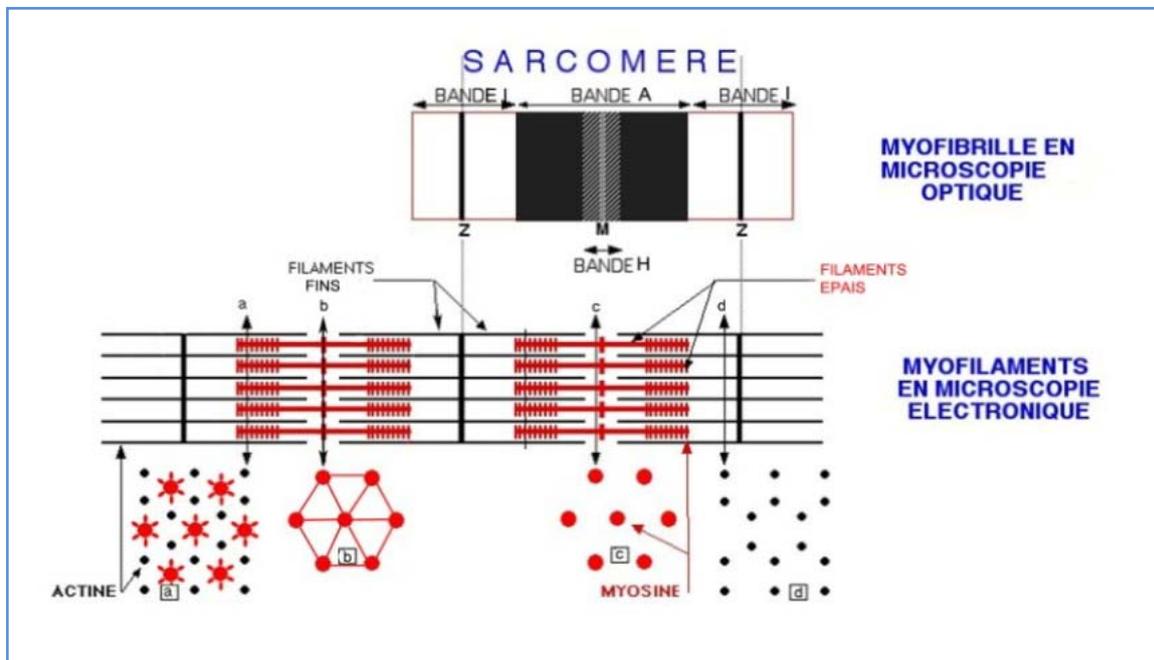


Figure 11 : Coupes schématiques du sarcomère en microscopie optique et électronique.
Modifié D'après Billeter et Hoppeler 1992.

3.1.5 LA CONTRACTION MUSCULAIRE

La théorie des filaments glissants de Huxley constitue la première modélisation du phénomène de la contraction musculaire (91). Ainsi, dans cette observation, il a été mis en évidence que les filaments fins et épais ne changeaient pas de longueur durant la contraction. La seule explication résidait alors dans le glissement des filaments fins entre les espaces vides ménagés entre les filaments épais. La suite des travaux permît de préciser les modalités d'interaction entre l'actine et la myosine afin de comprendre très finement les différentes étapes de la contraction musculaire. Les travaux sur la diffraction des rayons X sur le sarcomère datent de 1954 mais des auteurs homonymes (Andrew et Hugh Huxley) sont arrivés à la même conclusion dans « Nature » dans deux articles disposés l'un à la suite de l'autre (93-95).

Le mécanisme de la contraction musculaire fait entrer en jeu trois phénomènes : le largage de calcium dans le réticulum sarcoplasmique, le démasquage des sites de fixation de la myosine sur l'actine et le changement de conformation de la tête de myosine sous l'effet de l'ATP transformé en ADP, libérant ainsi l'énergie nécessaire au changement de conformation de la myosine.

La contraction de la myofibrille striée répond à la modification des liaisons (ponts d'union) unissant les filaments d'actine et de myosine, par une force évaluée à 10 pN. Il en résulte une progression des filaments d'actine entre les filaments de myosine, entraînant un raccourcissement du sarcomère, de la myofibrille et donc du muscle. La modification structurale des liens unissant myosine et actine est associée à une hydrolyse de l'ATP musculaire, réaction étroitement dépendante de la présence d'ions calcium.

Le potentiel d'action (dépolarisation membranaire) se propage le long des tubules transverses du sarcolemme et parvient à proximité des citernes terminales des tubules longitudinaux du réticulum endoplasmique (triade). Cette dépolarisation permet l'ouverture des canaux calciques contenus dans la membrane des tubules longitudinaux du réticulum sarcoplasmique. La dépolarisation de la membrane du réticulum sarcoplasmique permet au calcium, qui était contenu à une concentration élevée dans les citernes du réticulum sarcoplasmique, d'en sortir par des canaux calciques transmembranaires et de se retrouver ainsi dans le cytosol. La concentration intracellulaire en calcium est multipliée par 1000 et passe de 0,01 $\mu\text{m/l}$ au repos à 10 $\mu\text{m/l}$. Cette fixation modifie la conformation de la molécule

de tropomyosine, qui glisse alors dans la profondeur de la gouttière de la chaîne hélicoïdale d'actine, libérant ainsi les sites de fixation spécifiques de la myosine présents sur la molécule d'actine. Les têtes globulaires de myosine se fixent alors sur les sites spécifiques de l'actine. Dans le même temps, la fixation du calcium sur la troponine C (Tn-C) permet la levée de l'inhibition exercée par la troponine I (Tn-I) sur l'activité ATPasique de la tête de myosine. Cette activité ATPasique permet la scission (hydrolyse) de l'ATP en ADP et Pi (phosphate inorganique), scission productrice d'énergie. Tout ceci aboutit à la formation d'un complexe actine-myosine et le changement de conformation de la tête de myosine (Figure 12). Le changement de conformation de la tête de myosine est responsable du déplacement du filament d'actine et donc de la contraction de la myofibrille (la disposition de la tête de myosine sur le filament d'actine fait un angle d'environ 90°). Le détachement du phosphate de la tête de myosine s'associe à la libération d'énergie entraînant la fixation plus forte de la myosine sur l'actine et une rotation de 45° de la tête de myosine qui entraîne un déplacement d'environ 10 nanomètres. La libération de l'ADP laisse la tête de myosine ancrée à l'actine. Le complexe actine-myosine reste stable ("complexe de rigidité") et seule la présence d'une nouvelle molécule d'ATP permet la rupture de la liaison entre l'actine et la myosine, le redressement des têtes de myosine (45° => 90°) et la formation d'un nouveau complexe myosine-ATP. Si la concentration en calcium intracellulaire est suffisamment élevée, le cycle se reproduit. Au cours d'une même contraction, le cycle se reproduit plusieurs fois en fonction de la fréquence des potentiels d'action. Plus le nombre de cycles est grand, plus le raccourcissement est important : une secousse musculaire peut entraîner jusqu'à 50% de raccourcissement du muscle.

Le mécanisme de contraction prend fin quand la concentration intracellulaire de calcium est inférieure à 1 $\mu\text{mol/l}$ (concentration de repos) et que les sites calciques de la Tn-C sont libres. Les canaux calciques du réticulum endoplasmique se ferment (absence de potentiel d'action musculaire) et le calcium cytoplasmique est transporté activement vers les citernes réticulaires.

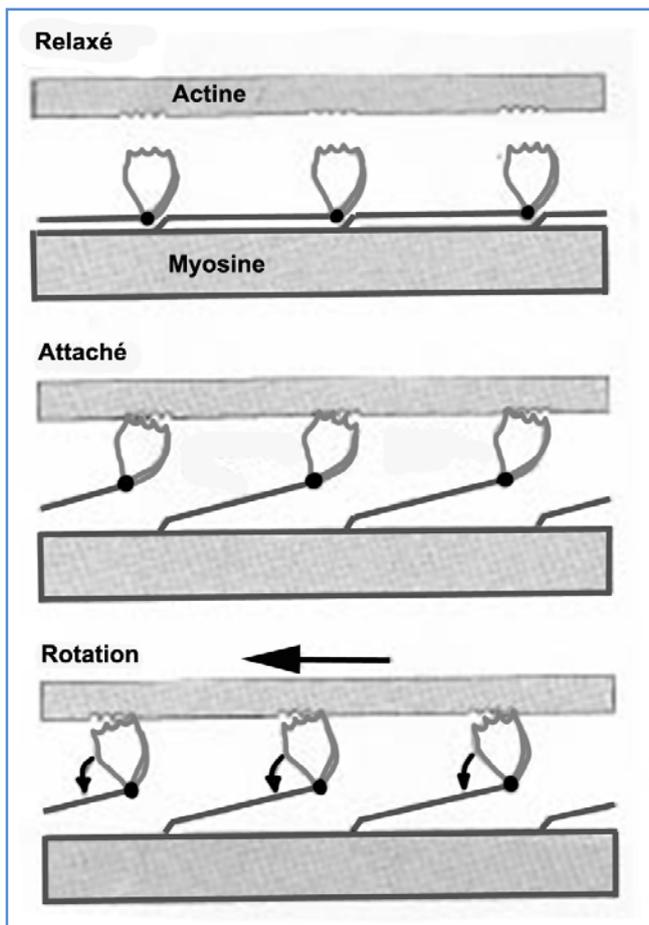


Figure 12 : La contraction musculaire.

Modèle initial de Huxley (92) en haut, et modélisation de la marche de la myosine avec la représentation tridimensionnelle de l'arrangement moléculaire en bas (tiré des images du Service de Presse de l'Institut curie).

3.1.6 LE METABOLISME MUSCULAIRE

La force et la durée sont les paramètres physiques du mouvement. Le muscle est le siège de phénomènes chimiques et métaboliques qui entretiendront ces paramètres physiques, d'une manière variable au cours du mouvement. Du point de vue métabolique, la force maximale ne peut pas être maintenue longtemps, une force moyenne peut être maintenue un certain temps et une force faible peut être maintenue longtemps.

La production d'énergie au sein du muscle est dépendante de la transformation de l'ATP (en présence de calcium) en ADP (73;191).

Le muscle s'adapte au niveau métabolique selon sa composition en ces trois catégories de fibres, différenciées par leur équipement enzymatique (ATPase) :

Fibres I ou Slow (lentes), régime aérobie : Slow-Oxydative (SO).

Fibres IIA ou FR (fast/resistant = rapides et résistantes à la fatigue), régime anaérobie alactique (fast-oxydative and glycolitic FOG).

Fibres IIB (IIX chez l'homme) ou FF (fast/fatigable = rapides et fatigables), régime anaérobie lactique (Fast Glycolitic : FG).

Trois régimes de fonctionnement se retrouvent au sein du muscle :

*Régime aérobie

Il est utilisé par les fibres musculaires lentes, de type I, utilisées majoritairement dans la posture. Ce régime est adapté pour les dépenses énergétiques de faible importance. Dans ce cas, l'ATP en présence de dioxygène est dégradée en ADP et énergie. Ce régime métabolique est adapté pour une dépense énergétique faible. En pratique, si la contraction musculaire est faible, la vascularisation du muscle est suffisante pour acheminer l'oxygène nécessaire, ainsi que l'ensemble des métabolites. Cette production d'énergie peut être maintenue longtemps.

*Régime anaérobie alactique

L'ATP, dégradée rapidement, est reconstituée en permanence par une substance intermédiaire présente dans le muscle, la Phosphocréatine. L'ensemble aboutit à une production d'énergie plus importante. Cette voie est utilisée par les muscles de la fonction phasique globale (ou mouvement global), équipés de fibres IIA (Rapides-Résistantes) par exemple les muscles proximaux et intermédiaires des membres.

Ce régime métabolique est adapté pour les dépenses énergétiques moyennes. Dans ce cas de figure, l'apport en oxygène est insuffisant, obligeant à utiliser la voie de la créatine et phosphocréatine.

*Régime anaérobie lactique

Cette voie utilise le glycogène du muscle pour régénérer l'ATP, mais la glycolyse s'accompagne de production d'acide lactique. Cette voie est utilisée par les muscles de la fonction phasique sélective et rapide (petits muscles intrinsèques de la main par exemple), équipés de fibres IIB (Rapides et Fatigables) dont la « crampe des écrivains » est une illustration connue.

Chaque muscle est équipé des trois types de fibres, en proportion variable selon son rôle fonctionnel. De ce fait, la meilleure performance fonctionnelle est assurée par la population de fibres prédominantes en pourcentage. En fonction de la répartition des différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine, la dépendance énergétique est différente. Cette classification est peu discriminative sur la composition en isoformes de chaînes lourdes et légères de myosine (199). Autre notion intéressante, chaque unité motrice est en général assez homogène du point de vue de sa dépendance énergétique (21).

3.1.7 L'ASSERVISSEMENT NERVEUX DU MUSCLE

Le muscle n'est pas un simple organe moteur. Il contient de nombreux organes sensoriels lui permettant de connaître son état de tension, sa vitesse de contraction, son tonus et participer à la proprioception. Ces organes sensoriels sont les fuseaux neuromusculaires et les organes neuro-tendineux de Golgi.

3.1.7.1 LE SYSTEME SENSORIEL ENDOBUCCAL

Au niveau orofacial et plus particulièrement occlusal, la proprioception est très fine, faisant participer les muqueuses et fibromuqueuses intrabuccales, les gencives et le parodonte (74), ainsi que les articulations temporo-mandibulaires (118). L'ensemble des influx nerveux d'origine endobuccale est acheminé par les paires crâniennes, le trijumeau (V2, V3) pour la région antérieure et le glosso-pharyngien pour la région postérieure. Le seuil

de réponse des mécanorécepteurs est plus ou moins lent et plus ou moins entretenu dans le temps. Certains contingents s'épuisent rapidement, alors que d'autres poursuivent leur activité durant toute la stimulation mécanique. Cette hétérogénéité dans la réponse sensitive renforce la notion de sensibilité importante, dans la mesure où le signal nerveux dépend de la vitesse, de l'intensité de la force et de sa durée d'application. Il existe donc une grande discrimination dans l'analyse des forces appliquées sur les organes dentaires, supposant ainsi un contrôle fin de la position et de la course de la mandibule.

3.1.7.2 LE SYSTEME SENSORIEL ARTICULAIRE

Les informations issues de la capsule articulaire et des ligaments de l'articulation temporo-mandibulaire sont également prises en compte :

- *Les organes de Golgi dont l'adaptation est lente et renseignent sur la position articulaire, ils sont innervés par les fibres nerveuses de type Ib.

- *Les corpuscules de Ruffini et de Pacini qui répondent uniquement au mouvement,

- *Les terminaisons nerveuses libres dans les ligaments et la capsule qui interviennent dans la nociception lors des mouvements forcés.

3.1.7.3 LE SYSTEME SENSORIEL MUSCULAIRE

Au niveau des muscles masticateurs, on retrouve les mêmes fuseaux neuromusculaires que dans les autres muscles. Deux types de classification sont apportés pour la caractérisation des fuseaux neuromusculaires.

Deux catégories de fuseaux neuromusculaires sont distinguées en fonction de leur arrangement nucléaire :

- *Les fuseaux neuromusculaires à sac nucléaire (phasiques ou primaires, innervés par des fibres sensibles de type Ia) les bag1 (dynamiques ou bag1 nucléaires), les bag2 (statiques).

- *Les fuseaux neuromusculaires à chaîne nucléaire (toniques ou secondaires, innervés par les fibres sensibles de type II).

Ces deux types de fuseaux sont en pratique associés en parallèle, intercalés dans les fibres musculaires. Durant le mouvement, l'étirement musculaire excite les deux types de fibres nerveuses afférentes. Les fibres nerveuses du groupe II répondent à l'allongement par

une activité électrique soutenue durant tout le temps de l'étirement, alors que celles du groupe la répondent principalement à la première phase de l'étirement musculaire et d'une manière plus faible au maintien de l'étirement.

Les extrémités de ces fuseaux neuromusculaires comportent des fibres musculaires, innervées par les motoneurones γ , les bag1 étant innervés en plus par les motoneurones β . L'ensemble de ces éléments est entouré de tissu fibreux (fuseaux neuromusculaires à sac et à chaînes nucléaires avec leur fibres musculaires intrafusales) (Figure 13). Cette innervation spécifique permet au fuseau neuromusculaire d'adapter son état de tension en fonction de la contraction musculaire. Les fibres musculaires intrafusales n'ont aucun rôle mécanique sur la force musculaire. Les fibres intrafusales des fuseaux neuromusculaires contiennent une association complexe d'isoformes de MHC. En effet la composition en isoformes des fibres intrafusales est différente entre le centre et son extrémité. Les bag1 et les bag2 contiennent de la MHC de type I, slow-tonic, atriale et embryonnaire. Les bag2 contiennent de plus de la MHC II et néonatale. Les fuseaux à chaîne nucléaire contiennent principalement de la MHC néonatale et embryonnaire (116;156;197). Ces isoformes intrafusales s'ajoutent en quantité non représentative aux fibres extrafusales étant donné leur faible proportion.

Au niveau du masséter, les fuseaux neuromusculaires sont nombreux (201), mais réparties d'une manière inégale. On retrouve ainsi ces fuseaux neuro-musculaires dans la partie profonde du masséter, au contact de la mandibule et dans la région antérieure, là où les modifications de longueur du masséter sont plus importantes. Les fuseaux neuromusculaires sont qui plus est associés à des régions contenant des proportions importantes de fibres de type I (27). Le temps de réaction des fuseaux neuromusculaires dans le masséter apparaît plus court que dans les autres muscles, comme s'ils étaient déjà activés, trouvant son explication dans la nécessité d'une fonction de défense ou d'attaque par la morsure. Cette particularité permet de produire de hautes forces avec un effort de stimulation faible (200). Dans le masséter, il existe de plus une particularité qui se caractérise par la fusion de plusieurs fuseaux neuromusculaires ensemble, pour former des complexes. Cet arrangement spécifique ne trouve pas d'explication (27;193).

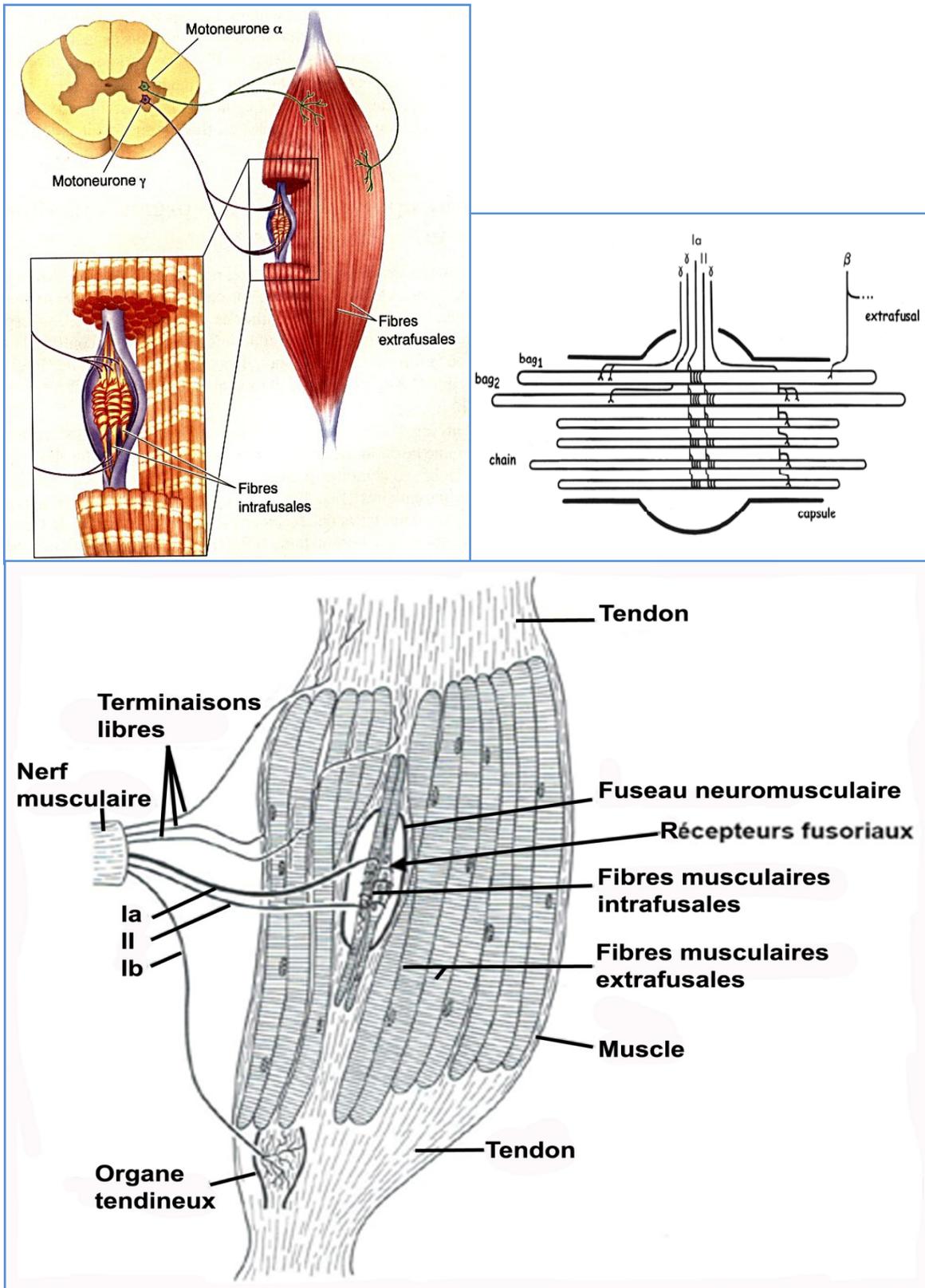


Figure 13 : Innervation du muscle.

En haut l'innervation motrice. En bas l'innervation sensitive. Les fuseaux neuromusculaires sont repartis dans la masse musculaire afin de monitorer son état de tension. (Modifié d'après Brodal P., *The central nervous system*, 1998).

3.1.7.4 LE SYSTEME MOTEUR MUSCULAIRE

On distingue trois types de motoneurones innervant le muscle. Leur corps cellulaire est situé dans la corne ventrale de la moelle épinière (nerf rachidien) ou dans les noyaux moteurs du tronc cérébral pour les nerfs crâniens, ce qui est le cas pour le masséter.

*Le motoneurone α (alpha) extra-fusal ou squeletto-moteur.

Ce motoneurone quitte la moelle épinière (ou le noyau moteur) par la racine ventrale (ou le nerf crânien) et vient innerver le muscle par l'intermédiaire d'une jonction neuromusculaire. Il innerve exclusivement les fibres musculaires extrafusales. Un motoneurone α se divise en plusieurs collatérales qui innervent chacune, un groupe de fibres musculaires.

L'ensemble des fibres innervées par un seul motoneurone est appelé « l'unité motrice ». Le rapport d'innervation peut être de 1 motoneurone pour 5 fibres musculaires à 1 pour 2000. Le rapport d'innervation dépend de la fonction du muscle : 1 pour 5 pour les muscles phasiques (contrôle fin de l'activité motrice), 1 pour 1000 ou 2000 pour les muscles toniques. Plus la densité d'innervation est importante et plus la précision du mouvement est fine. Plus la densité d'innervation est faible et plus la force générée par le muscle est grande.

Une fibre musculaire ne reçoit son innervation que d'une seule fibre nerveuse. Un ordre du motoneurone α provoque la contraction de l'ensemble des fibres constituant l'unité motrice (5 à 2000 fibres musculaires). Les muscles toniques tels que le biceps brachial possède 2000 fibres par unité motrice, engendrant une force importante par unité motrice. A l'opposé, les muscles oculomoteurs, très précis (phasiques) possèdent 5 à 6 fibres musculaires par unité motrice, préférant une grande finesse de contrôle de la contraction musculaire afin de régler très finement la position du globe.

Concernant le masséter, on estime le nombre de fibres à 929000 et le nombre d'unités motrices à 1452 (236). Le ratio est donc de 640 fibres par unité motrice. Le masséter est donc un muscle plutôt phasique et précis dans le contrôle de sa contraction.

*Le motoneurone β (bêta) extra et intra-fusal ou squeletto-fusimoteur.

Les motoneurones β sont plus petits et moins nombreux que les α . Ils ont toutefois la même localisation. Chez les mammifères et chez l'homme, ce second type de motoneurone présente une innervation mixte : innerve à la fois les fibres extrafusales (majoritairement) et intrafusales. Ils innervent les fibres intrafusales de type bag1 (ou fusoriales), c'est-à-dire,

contenues dans le fuseau neuromusculaire. Un motoneurone β va innervé plusieurs fuseaux.

*Le motoneurone γ (gamma) intrafusale ou fusimoteur.

Les motoneurones γ innervent exclusivement les fibres intrafusales, bag1, bag2 et chaînes nucléaires. C'est le motoneurone γ qui régit le réflexe myotatique.

Ce réflexe myotatique correspond à la contraction réflexe du muscle, provoquée par son propre étirement. Ce réflexe est en permanence mis en jeu dans le maintien de la posture (station debout). La contraction réflexe des muscles extenseurs des membres, en permanence étirés par la pesanteur, assure le maintien des articulations (membres inférieurs). Si ce contrôle ne se fait plus, c'est la chute. Ce réflexe myotatique n'est pas visible immédiatement. De façon clinique, on le met en évidence par la percussion du muscle extenseur de la cuisse ou de la cheville. Quand un muscle est étiré, par voie réflexe, il reprend sa longueur initiale : c'est un système rigide. Le réflexe myotatique, isolé de toute régulation, s'oppose au mouvement. Ce réflexe est ajusté en permanence, ce qui permet d'ajuster la longueur du muscle à la demande. Ce système d'ajustement est assuré par les fibres γ fusimotrices : on parle de « boucle γ ».

La longueur du muscle est contrôlée en permanence par la boucle γ . Dans les mouvements volontaires, il y a co-activation des motoneurones α et γ . La programmation en parallèle du mouvement et du tonus musculaire est nécessaire.

La mise en jeu du système γ fusimoteur assure plusieurs fonctions. Entre autres, ce système règle la sensibilité du fuseau. Quand le muscle est contracté, le récepteur retrouve sa sensibilité grâce au motoneurone γ . La boucle γ permet de fixer la longueur du muscle à une valeur définie par les centres moteurs : c'est « le point de consigne ». Le réflexe myotatique permet de maintenir ce point mais ce dernier peut varier à tout moment. Ainsi, la régulation du mouvement et du tonus musculaires sont très sophistiqués.

Au niveau du masséter, on retrouve également le réflexe myotatique, mais avec une intensité plus grande que dans les muscles locomoteurs ou du tronc (119). La gestion de l'état de tension musculaire est donc très fine et très puissante, de plus elle s'opère dans tous les degrés de mobilités de l'articulation temporo-mandibulaire, ouverture, fermeture et latéralités (120).

Au total, la course et les excursions mandibulaires sont très finement réglées par un ensemble de reflexes mono et polysynaptiques, faisant intégrer les informations issues des fuseaux neuromusculaires, des organes neuro-tendineux de Golgi (situés dans les tendons et les ligaments), des pressions sur les muqueuses (mécanorécepteurs épithéliaux) et les dents (118). Ces informations sont particulièrement adaptées à la transmission des informations sur la consistance et la position spatiale des aliments lors de la mastication (232).

Du point de vue de la dimension verticale, il apparaît que les fuseaux neuromusculaires finissent par s'adapter à une augmentation de hauteur (donc d'étirement musculaire) et à se remodeler après une perte de sensibilité. Cette théorie a été vérifiée sur le rat, après mise en place d'une cale molaire (244). Après 6 semaines, cette baisse de sensibilité disparaît et les fuseaux neuromusculaires reviennent à leur état de sensibilité physiologique (243). Il apparaît donc intéressant de constater que la dimension verticale n'est pas une constante et que l'occlusion peut s'adapter par ce biais. Ainsi, lorsqu'un facteur augmente la dimension verticale de l'occlusion (chirurgie, macroglossie, respiration buccale, hypotonie, interposition linguale ou digitale, égression dentaire, gouttière ou cale molaire), rien ne s'y oppose au niveau musculaire. De plus, les muscles élévateurs de la mandibule semblent s'adapter à cette nouvelle dimension. Cette capacité adaptative est largement utilisée en pratique quotidienne par l'utilisation des gouttières de libération à but antalgique dans les syndromes douloureux de l'articulation temporo-mandibulaire.

3.2 LA PLASTICITE MUSCULAIRE

3.2.1 INTRODUCTION

Les muscles représentent près de 45% de la masse corporelle et sont par conséquent les plus grands consommateurs d'énergie. La parfaite adaptation de la fonction et de la consommation d'énergie est donc essentielle et intrinsèque à la fonction musculaire. Il est primordial pour l'organisme d'utiliser des muscles tantôt rapides ou lents, adaptés à la demande et permettant un rendement optimal. Les fibres lentes sont peu fatigables et peu dispendieuses au niveau consommation énergétique. En revanche leur vitesse de contraction est lente et leur puissance est faible. A l'opposé, les fibres rapides ont une vitesse de contraction élevée, développent une puissance importante mais consomment beaucoup d'énergie et sont très fatigables. Il est ainsi tout-à-fait compréhensible de retrouver 11 isoformes de chaînes lourdes de myosine différentes au sein du génome des muscles squelettiques des mammifères. Plus précisément, au niveau du masséter, on retrouve 6 isoformes chez l'homme (MHC I, atrial, néonatal, IIa, IIx et embryonnaire) et 7 chez l'animal (la MHC IIb s'ajoute à la liste) (241).

La plasticité musculaire est la clef de voûte de la problématique de ce travail. En effet, les conditions d'utilisation, au sens large, demandées au muscle induiront une adaptation du phénotype à ladite fonction. D'un autre côté, la fonction musculaire influence significativement la croissance du squelette cervico-crânio-facial, ce point fera l'objet d'un développement ultérieur dans le chapitre sur la croissance crânio-maxillofaciale. La plasticité est donc le lien entre la dysmorphose et le phénotype musculaire.

Ensuite se pose la sempiternelle problématique de la primauté du gallinacé ou de l'œuf dans le phénomène, à savoir :

Si les parafonctions ou les dysfonctions manducatoires sont à l'origine du changement de phénotype, qui induit à son tour une modification de la conformation osseuse ;

Ou, si à l'inverse on peut penser que la modification de la conformation osseuse est à l'origine de la modification de la fonction et donc de la modification du phénotype dans le cadre de la plasticité.

Dès lors qu'aucune des deux options n'apparaît évidente, il y a fort à supposer que les deux scénarios interagissent d'une manière variable dans le temps.

Par définition, le muscle est une structure plastique. Ainsi, sa composition et ses propriétés se modifient au cours de son existence. A l'intérieur de chaque muscle on observe une diversité au niveau des fibres mais également à l'intérieur de chaque fibre, au niveau des protéines myofibrillaires. Les facteurs influençant la plasticité musculaire sont nombreux et leur description est incontournable pour l'analyse des résultats de ce travail.

Le muscle squelettique présente un très haut degré de complexité dans son développement afin de se spécialiser et s'adapter à son environnement et sa fonction. Plusieurs stimuli externes ou internes sont responsables de cette adaptabilité dynamique lorsque l'on s'écarte de l'activité considérée comme normale du muscle : l'imprégnation hormonale, l'innervation, les facteurs mécaniques, la non-utilisation, l'âge (développement et vieillissement) et les substances pharmacologiques. Ainsi, la proportion et la taille de fibres rapides pourra varier au profit des fibres lentes et vice-versa. La régulation du phénotype musculaire se fait à plusieurs niveaux (génique, pré/post-transduction) selon des mécanismes complexes et nombreux (calcineurine, myogénine).

Le mode de régulation du phénotype musculaire le plus connu est le pattern de décharges électriques des plaques neuromusculaires. Ce mode de plasticité musculaire regroupe l'utilisation volontaire ou involontaire du muscle et son innervation.

Pour le muscle squelettique strié locomoteur, respiratoire ou cardiaque, les facteurs de modulation de son phénotype sont largement décrits. S'agissant du masséter, l'illustration de sa plasticité est moins évidente mais répond en théorie aux mêmes stimuli que les muscles striés, mis à part les modifications de la gravité puisqu'il ne s'agit pas d'un muscle locomoteur. La plasticité musculaire est un sujet largement débattu dans la littérature (153;191;223), ce qui est moins évident pour la plasticité du masséter en particulier.

Il existe des transitions phénotypique de lent vers rapide avec une transition des fibres de type I vers IIA puis IIX. La transition rapide vers lent suit exactement le chemin inverse. Les fibres hybrides sont intercalées entre les fibres dites pures (151).

3.2.2 PLASTICITE DU MUSCLE STRIE ET FACTEURS CONNUS DE MODULATION PHENOTYPIQUE

3.2.2.1 L'INNERVATION

Durant l'embryogénèse, le développement du masséter et l'expression des différentes isoformes des protéines n'est pas influencé par la présence de nerfs moteurs, ainsi, on retrouve une maturation et une diversité phénotypique identique dans le masséter des embryons normaux ou dénervés (241). La différence n'apparaît que lorsque la fonction manducatrice se met place, l'innervation devient alors déterminante pour le développement des myotubes secondaires et l'augmentation de volume musculaire.

L'influence de l'innervation n'est alors mise en évidence que lorsque la fonction est demandée ; d'ailleurs, l'entretien du phénotype musculaire est directement dépendant de l'utilisation qui en est faite, en intensité et en fréquence. Ce phénotype est alors directement corrélé au profil électrique de la stimulation du muscle étudié.

Les exemples concernant les modifications de l'influx nerveux sur le phénotype musculaire sont très documentés (223) :

*Le blocage de l'influx nerveux par la section du nerf moteur ou de la moelle épinière (227). Dans cette situation, chez le rat, au niveau du soléus, le taux d'isoformes de type I (lentes) diminue au profit des isoformes de type IIa et IIx. L'isoforme IIb n'augmente pas dans tous les cas. Ainsi, le profil physiologiquement lent du soléus de rat se transforme en profil plus rapide. En cas de blocage chimique de la conduction des motoneurons par la tétrodoxine (TTX) on observe paradoxalement une augmentation de la proportion de fibres de type I et ensuite de type IIX (127) (223) (pour revue).

*Les innervations ou ré-innervations croisées (cross-innervation). Ces modèles de plasticité utilisent les ré-innervation ou innervations croisées d'un muscle lent par le nerf moteur d'un muscle rapide. Ces expérimentations mettent en évidence la transformation d'un phénotype musculaire donné en celui qui correspond au nerf transféré. Ces expérimentations qui ont été à l'origine des études sur la modulation de l'influx nerveux sur la plasticité musculaire.

*La stimulation électrique à fréquence haute ou basse. En cas de stimulation à basse fréquence (10Hz), le phénotype passe de rapide vers lent (150;154). En cas de stimulation à

haute fréquence (150Hz), le phénotype passe de lent vers rapide mais ne modifie pas le phénotype d'un muscle initialement rapide (24;153).

Les modifications du phénotype dépendront du pattern de décharges électriques infligées au muscle mais dépendront également du profil initial, lent ou rapide, du muscle étudié.

Ces modèles de section nerveuse ou de stimulation sont difficiles à mettre en œuvre au niveau du masséter en raison de l'anatomie nerveuse et des troubles de l'alimentation en cas de stimulation ou de destruction de la commande nerveuse.

3.2.2.2 L'ENTRAÎNEMENT ET LA CHARGE MUSCULAIRES

L'entraînement musculaire est l'un des facteurs les plus populaires et physiologique de modulation du phénotype musculaire. Son application est directement rattachée aux activités sportives et de compétition. Un exemple marquant est la comparaison de deux coupes histologiques marquées à l'ATPase sur le quadriceps, l'un chez un marathonien et l'autre chez un sauteur en hauteur (Figure 14). Le marathonien favorise des fibres de type I, à faible consommation énergétique et durables (9). Le sauteur en hauteur nécessite des fibres rapides pour un effort bref et intense, à faible endurance et haute consommation énergétique, donc des fibres de type II.

Ces modifications de la proportion de fibres lentes et rapides dans le muscle suite à l'entraînement sont le résultat d'une adaptation. Le muscle s'adapte à la fonction en offrant une réponse contractile mieux adaptée. Pour un effort de type endurance, les fibres rapides (IIX) diminuent au profit des fibres plus lentes (IIA) qui augmentent. La masse musculaire quant à elle n'augmente pas. En cas d'entraînement de puissance (exercices brefs mais puissants), la masse musculaire augmente significativement, il s'agit du cas typique mais critiquable des bodybuilders (38). En effet, chez les bodybuilders, l'entraînement n'est pas le seul facteur de plasticité musculaire. Concernant les isoformes MHC IIX et IIA, la variation n'apparaît pas synchrone dans le vastus latéralis humain. Chez le sujet en cours d'entraînement pour la première fois, l'augmentation de l'isoforme IIA se fait plus rapidement. Ensuite, lors de l'arrêt de l'entraînement, on voit une poursuite de l'augmentation de l'isoforme IIX et une baisse de IIA, pour revenir tardivement aux niveaux initiaux (3).

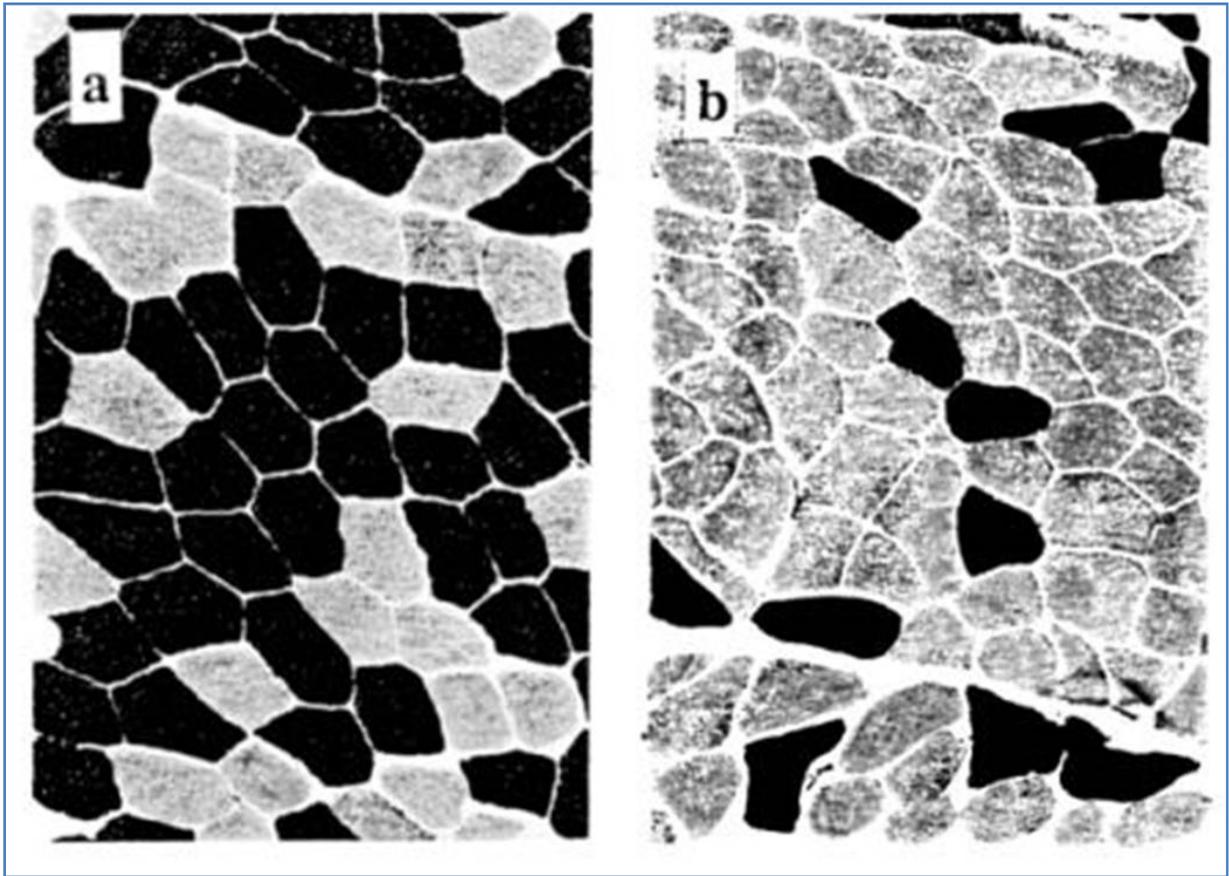


Figure 14 : Coupes de vastus latéralis de sauteur en hauteur (a) et de marathonien (b). La coloration est effectuée à l'ATPase en milieu alcalin (9,4). L'exemple est frappant avec une inversion de proportion de fibres lentes (type I) largement majoritaires chez le marathonien au détriment des fibres rapides (type II) chez le sauteur en hauteur. Le muscle s'adapte à la fonction demandée. Sans entraînement spécifique, la composition du muscle retrouve une proportion quasi-équivalente des deux types de fibres. Tiré de "Skeletal Muscle in Health and Disease", JONES D.A. and ROUND J., 1990, Churchill.

Chez le bodybuilder actif, le pourcentage de IIX est significativement plus élevé que chez le non entraîné, et l'isoforme IIA est légèrement moins importante mais pas significativement (38). Dans cette dernière étude de D'Antona, il fallait noter dans le vastus latéralis des bodybuilders, l'apparition des fibres de type néonatal, qu'il faut considérer comme atypiques pour les muscles de la locomotion et caractéristiques dans le masséter.

Au total, l'entraînement et la charge musculaire agissent sur le profil des décharges électriques du motoneurone, mais aussi sur les forces transmises au muscle et aux récepteurs tendineux, musculaires et articulaires. Dans ce cas, deux éléments de la régulation de la plasticité se trouvent impliqués.

Concernant la charge musculaire, au niveau des muscles locomoteurs, il est possible de la faire varier soit par :

*La réduction de l'utilisation du muscle par l'apesanteur (voyage dans l'espace), l'alitement (bed-rest) (4) ou encore l'hypodynamie-hypokinésie chez le rat (hindlimb unloading) (219;221). Cette réduction de la charge induit une atrophie musculaire et un changement de phénotype de lent vers rapide.

*L'augmentation de l'utilisation du muscle par hypergravité (217) apporte des modifications hétérogènes du phénotype, dépendant notamment du stade de maturation du sujet étudié.

Au niveau du masséter, l'entraînement est difficilement réalisable et quantifiable, parce qu'il ne participe pas à la locomotion. La gravité influe très peu sur la position de la mandibule, de part sa faible masse et sa position (128). Le maintien de la mandibule dans sa position de repos est surtout dû à la composante visco-élastique des tissus mous environnants. Les réflexes de type myotatique au niveau des élévateurs de la mandibule ne sont mis en évidence que lors des sauts et de la course à pied, donc pour des efforts très importants. Ainsi, les seuls paramètres sur lesquels on peut agir significativement sont la mastication, l'immobilisation par blocage bimaxillaire, la mise en place de gouttières de libération, la dénervation chirurgicale ou encore l'utilisation de toxine botulinique (123) qui induit une paralysie toxinique réversible.

3.2.2.3 LE BOL ALIMENTAIRE

Concernant la mastication, les seules conditions expérimentales susceptibles de modifier le phénotype du masséter sont représentées par la modification de la consistance du bol alimentaire. Plus les aliments sont durs et longs à mastiquer, plus l'effort est intense et prolongé. Il ne faut pas non plus oublier qu'en cas de dysmorphose avec trouble de l'articulé dentaire et éventuellement des dents manquantes, la fonction masticatoire sera rationnellement différente même avec un bol alimentaire identique. Le troisième acteur au niveau de la fonction manducatrice sera la croissance. En effet, si la dysmorphose perturbe le coefficient masticatoire, l'action musculaire sur les pièces osseuses est différente et la résultante de croissance aussi (123). Il y a donc potentiellement un cercle vicieux entre la dysmorphose, la croissance et les capacités masticatoires qui ne fournissent pas le même travail et le même effort sur un bol alimentaire donné. Cet élément est certainement déterminant dans la haute variabilité de la composition du masséter en isoformes de chaînes lourdes de myosine. Pour autant, la modification de la consistance du bol alimentaire sur le modèle animal n'apporte pas de modifications significatives dans la composition en isoformes de MHC du masséter (205).

3.2.2.4 LE SEVRAGE

Une situation très caractéristique et physiologique est la période du sevrage durant laquelle le bol alimentaire passe de liquide à solide. Lors du sevrage, il a été démontré chez l'animal une augmentation significative du volume massétéral chez le lapin (228), ainsi qu'une modification de la composition en chaînes lourdes de myosine (1). Ce modèle de plasticité musculaire au niveau du masséter peut servir de référence. En effet, il ne s'agit pas de contrôler précisément la consistance d'un aliment lors de la mastication, mais dans ce cas on passe d'un aliment liquide à solide, donc on est certain de modifier la fonction. Vis-à-vis des aliments solides, la fonction peut se trouver très différente en fonction des individus qui mastiqueront plus ou moins longuement, faisant intervenir également le flux salivaire. Le sevrage est donc un événement fonctionnel majeur mais pas unique, de nombreux facteurs varient avec lui. Il ne s'agit alors pas d'un modèle totalement pur de plasticité musculaire.

On remarquera l'importance des contacts dentaires dans leur mise en fonction lors du sevrage. La mise en fonction de la manducation semble déterminante sur la modulation du profil musculaire. L'articulé dentaire lors de l'éruption de la denture définitive chez

l'homme aura par analogie une importance déterminante dans la définition des rapports sagittaux et transversaux de l'occlusion. Cette occlusion une fois déterminée (centrée, croisée, en classe I, II ou III) sera constante en l'absence de traitement orthodontique et éventuellement chirurgical.

3.2.2.5 LA GOUTTIERE DE LIBERATION

Chez le rat, la mise en place d'une gouttière de libération, c'est-à-dire un dispositif inter dentaire empêchant le contact maxillo-mandibulaire, induit une augmentation des taux d'ARN messager pour les MHC de type I et de type IIa (6). Pour autant, la mise en place d'une gouttière de libération chez le cochon d'inde durant 1 semaine ne modifie pas la composition en isoformes de MHC, mais celle des MLC et des tropomyosines (142).

En cas de cale molaire placée d'une manière unilatérale, chez le rat, on observe une modification du phénotype très rapide, en moins d'une semaine, avec une augmentation du nombre de fibres de type IIB du côté opposé à la cale. Du côté homolatéral à la cale, on observe initialement une baisse du nombre de fibres de type IIB, puis un retour à la normale après un mois (136). Ce changement phénotypique aussi rapide n'est pas surprenant, il s'observe dans le soléus des rats suspendus, au niveau de l'ARN messager et des protéines (219;221).

Les modifications d'occlusion semblent agir sur le phénotype musculaire d'une manière plus marquée en cas de modification de la hauteur verticale d'une manière asymétrique plutôt que bilatérale.

3.2.2.6 L'OXYGENATION

En situation d'hypoxémie, la composition en isoformes de chaînes de myosine change significativement. En effet, sur le modèle humain de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs, Steinacker a pu montrer une baisse significative de l'isoforme IIb (IIx), puis de l'isoforme IIa, et ensuite une augmentation de l'isoforme de type I au fur et à mesure de la gravité de l'artériopathie (213). Le biais évident de cette étude concerne la diminution du périmètre de marche et donc de l'utilisation des muscles locomoteurs au fur et à mesure de l'aggravation de la pathologie. Ainsi, plusieurs facteurs peuvent agir sur la plasticité musculaire et fausser les résultats de l'interprétation.

3.2.2.7 LES FACTEURS HORMONAUX

3.2.2.7.1 LA TESTOSTERONE

La testostérone est supposée entretenir un phénotype plus rapide chez l'homme. Les comparaisons chez l'animal aboutissent à cette conclusion, notamment chez les rongeurs (241;242). Le mécanisme précis de cette voie de régulation n'est pas explicité. On parle alors d'un dimorphisme sexuel avec cependant de larges réserves dans la mesure où ces différences sont limitées à certains compartiments moteurs du masséter (51;52).

3.2.2.7.2 L'HORMONE THYROÏDIENNE

A sein du groupe des hormones, les hormones thyroïdiennes (T3, T4) possèdent un effet très prononcé sur le phénotype musculaire. L'hypothyroïdie induit une transition de rapide vers lent et l'hyperthyroïdie l'inverse (9;153).

3.2.2.7.3 LES GLUCOCORTICOÏDES

Naturellement secrété par les surrénales, le cortisol est un glucocorticoïde endogène. A forte dose, le cortisol induit une atrophie musculaire par son action catabolisante (77). Les fibres musculaires rapides sont plus rapidement et intensément touchées par rapport aux fibres lentes.

3.2.2.8 LES AGENTS PHARMACOLOGIQUES

3.2.2.8.1 LE CLENBUTEROL

Le clenbutérol est un agoniste des récepteurs β_2 . Il est normalement employé pour ses capacités broncho-dilatatrices dans l'asthme. Son action au niveau musculaire en prises prolongées induit une hypertrophie musculaire ainsi qu'une transformation de lent vers rapide (218;220).

3.2.2.8.2 LES INHIBITEURS DE LA CALCINEURINE

La calcineurine est un médiateur du signal calcique cellulaire, présente au niveau musculaire. L'activation de la calcineurine modifie l'expression génique de la cellule. Les inhibiteurs de la calcineurine sont utilisés pour étudier précisément le mécanisme d'action de la calcineurine. Les inhibiteurs connus de la calcineurine sont la cyclosporine A et le FK506 ou tacrolimus (immunosuppresseurs) (192).

Leur action in vitro induit une transition du phénotype lent vers rapide, mais in vivo les résultats sont beaucoup plus hétérogènes voire opposés en fonction des protocoles expérimentaux, du type d'entraînement et de la phase de croissance du modèle animal étudié (192).

La cyclosporine chez le rat induit une baisse du taux d'ARN messager codant pour les MHC de type I et IIb et induit une diminution de la masse musculaire du masséter (6). La cyclosporine inhibe la calcineurine et prévient l'hypertrophie musculaire en cas de surcharge fonctionnelle (154).

3.2.2.8.3 LA TETRODOXINE (TTX)

La tétrodoxine est un bloqueur des canaux à sodium des motoneurones, conduisant à un blocage complet de leur activité électrique. L'effet de ce blocage chimique est similaire à une section de la moelle épinière, puisqu'on voit une augmentation de la proportion en fibres de type I et IIX dans le soléus du rat suite à la section ou l'instillation de TTX (127) (223) (pour revue).

3.2.2.9 LE VIEILLISSEMENT

L'âge est connu pour modifier le profil musculaire. Tout d'abord, lors de l'embryogénèse et de l'organogénèse, le développement et la maturation musculaire induisent une augmentation de volume musculaire y compris avant leur innervation. Les isoformes de MHC développementales sont également exprimées, disparaissant par la suite dans la plupart des cas, sauf par exemple dans le masséter. Avec le vieillissement on met en évidence une diminution de la masse musculaire, mais en plus une modification du phénotype. Ainsi, avec le vieillissement, on constate un ralentissement global du profil musculaire, en rapport avec plusieurs mécanismes possible : la sous utilisation, la dégénérescence des plaques motrices et de l'influx nerveux (53) ou les modifications du profil hormonal (153). Une modification de l'expression des myosines a été également évoquée, mais sans preuve au niveau du taux d'ARN messager entre sujets jeunes et âgés (122). Certaines études mettent en évidence l'apparition de l'expression de l'isoforme néonatale dans le vastus latéralis humain chez les patients âgés, d'autant plus qu'ils sont immobilisés (39).

Au niveau du masséter, cette augmentation de l'expression de l'isoforme néonatale augmente également avec l'âge (130), mais avec un profil montrant une diminution des formes lentes, à l'opposé des muscles locomoteurs ou des membres supérieurs (132). Ainsi, dans le masséter on voit baisser les fibres de type I et augmenter les fibres de type II avec l'âge, alors que dans le biceps, les fibres de type I sont stables, mais il y a une baisse des fibres de type II (131).

3.2.2.10 LES CELLULES SATELLITES

Les cellules satellites sont en général peu nombreuses chez l'adulte et semblent jouer un rôle lors des modifications importantes opérées par le muscle. Ainsi, lors de la croissance, ces cellules satellites sont plus nombreuses et se raréfient à l'âge adulte. L'activation rapide des cellules satellites est incontestable dès l'existence d'un traumatisme musculaire. Les cellules satellites, après culture, sont capables d'exprimer des isoformes lentes ou rapides, indépendamment du profil du muscle dont elles ont été extraites. Elles sont donc totipotentes (134). Les cellules satellites sont également affectées en nombre et dans leur capacité à se multiplier dans un muscle dénervé (110).

Il est donc séduisant de penser que les cellules satellites puissent jouer un rôle dans la plasticité musculaire en aidant les cellules musculaires dans la régulation de leur phénotype. Ainsi les cellules satellites jouent un rôle de filtre et d'amplificateur des stimuli mécaniques (5). L'implication des cellules satellites dans la plasticité musculaire est dominée par leur connexion avec le milieu extérieur au muscle et leur réactivité en cas de traumatisme.

3.2.3 MECANISMES DE REGULATION DE LA PLASTICITE MUSCULAIRE

La connaissance des mécanismes intracellulaires de régulation de l'expression des protéines sarcomériques est d'un intérêt majeur pour ses applications en physiologie du sport et surtout dans les pathologies musculaires, y compris la transplantation de myocyte dans les cardiomyopathies (81). Il s'agit d'une orchestration minutieuse de l'expression génique des protéines sarcomériques au niveau de leur transcription, de leur traduction et ainsi que de leur protéolyse (154). Sous ces dénominations larges, on cherche à définir

précisément les modulations des voies de signalisation intracellulaire de la calcineurine, de la myogénine, de la MyoD, des modifications post-traductionnelles (phosphorylation, amidation, glycation...).

3.2.3.1 VOIE DE LA CALCINEURINE

La calcineurine apparaît comme une voie de régulation de la plasticité musculaire ; La calcineurine est une phosphatase activée par la calmoduline. Un des substrats de la calcineurine est représenté par les NFAT (Nuclear Factor of Activated T cells) (226). En fonction de leur phosphorylation, les NFAT peuvent avoir une influence sur la transcription de l'ADN et donc moduler la transcription de certains gènes, dont l'expression des isoformes lentes de myosine (192). Il s'agit d'un mécanisme très complexe qui dépend également du profil (lent ou rapide) musculaire initial.

3.2.3.2 LES MRF (MYOGENIC REGULATOR FACTOR)

Les MRF sont un groupe de quatre protéines musculaires impliquées dans la régulation du phénotype myocytaire : myogénine, MyoD, myf5 et MRF4. Sans entrer dans le détail, il apparaît que les taux des différentes MRF varient en fonction de l'expression des différentes isoformes, pour revue (223).

3.2.3.3 LES AUTRES VOIES DE REGULATION

La forme et les déformations mécaniques subies par la cellule par le biais de son cytosquelette sont également des voies à étudier.

Le rôle de la voie des MAP kinase (Mitogen-Activated Protein) sur la régulation de l'expression des protéines musculaires reste également à explorer.

3.2.4 CONCLUSION

De nombreux facteurs influencent la plasticité musculaire en général, le masséter n'échappe pas à la règle. La difficulté est de pouvoir agir sélectivement sur un seul facteur pour connaître son effet précis et surtout son mécanisme d'action au niveau cellulaire.

Au niveau du masséter humain, concernant sa plasticité, en dehors des facteurs communs (hormone, vieillissement, commande nerveuse, drogues) les éléments spécifiques sur lesquels il est possible d'agir expérimentalement sont :

L'immobilisation : le blocage bimaxillaire, l'ankylose.

Les contacts dentaires : le modèle du sevrage et de l'édenté.

Le bol alimentaire : alimentation dure ou molle.

La position relative des maxillaires : les dysmorphoses dento-maxillo-faciales et les plaques occlusales.

Malheureusement, les trois derniers facteurs de modification du phénotype massétérin ont tous un degré d'implication réciproque : les contacts dentaires interagissent avec les dysmorphoses et le bol alimentaire, le tout orchestré par le schéma masticatoire propre à chaque individu. D'autre part, l'immobilisation ne permet pas d'éliminer la contraction isométrique lors des efforts volontaires ou de la déglutition.

En pratique, le muscle est plastique et agit mécaniquement sur les pièces osseuses qui sont capables de répondre par le biais du remodelage. La plasticité s'opère très rapidement (quelques jours) alors que le remodelage est très long, en rapport avec le turnover osseux. La croissance est la période la plus sensible pour les interactions entre la plasticité musculaire et le remodelage osseux.

La dysmorphose dent-maxillo-faciale n'est pas un facteur isolé de plasticité musculaire. Nous devons donc nous attendre à une grande diversité phénotypique au sein du même groupe de dysmorphose. Cependant, avec une population suffisamment grande, il devrait être possible de dégager des tendances et d'illustrer certains profils. Pour reprendre une description à l'échelle de la fibre musculaire, il ne serait pas étonnant de retrouver un équivalent de continuum de profils musculaires au sein des différentes dysmorphoses, certains profils musculaires pouvant correspondre à plusieurs dysmorphoses en raison de l'intrication des différents éléments de plasticité du masséter. L'étude d'une large population est alors incontournable puisqu'il n'y aura certainement pas de taux fixe d'un certain type de fibres ou d'isoformes permettant de définir une dysmorphose donnée.

3.3 LES DYSMORPHOSES DENTO-MAXILLOFACIALES

3.3.1 INTRODUCTION

La genèse des dysmorphoses dentomaxillofaciales est en général multifactorielle. La place des dysfonctions et parafonctions ainsi que les habitudes alimentaires et la pathologie carieuse sont impliquées à divers degrés. Les agénésies et retards d'éruption dentaire sont également un facteur complémentaire. A la naissance, le nouveau-né ne présente pas de denture, sauf exceptionnellement des dents néonatales, qui tombent très rapidement. Le nouveau-né présente physiologiquement une rétromandibulie plus ou moins marquée qui va se corriger par les efforts de tétée, l'allaitement maternel favorisant la propulsion mandibulaire et donc sa croissance. Vers l'âge de 6 mois, la denture lactéale se met progressivement en place d'avant en arrière, avec l'acquisition de la pince antérieure pour la préhension et la morsure. Cette denture lactéale servira au changement de régime alimentaire avec le passage aux alimentent solides et la mastication. Cette mastication en fonction de l'ampleur et de l'intensité de ses cycles, conduira à la stimulation de la croissance transversale des maxillaires, créant ainsi de la place entre les dents de lait (diastèmes ou espaces de Bogue). A 6 ans, la première dent définitive arrive sur arcade : la dent de 6 ans, ou première molaire définitive. Elle prendra place juste derrière la seconde molaire de lait. L'éruption de la dent définitive opposante viendra définir le calage occlusal entre ces deux molaires. Leurs faces triturantes étant très marquées, une fois engrenées, elles fixeront l'articulé dentaire et surtout les rapports maxillo-mandibulaire antéropostérieurs (classe I II ou III). L'asymétrie peut également se rencontrer à ce stade, ainsi que les articulés croisés. L'occlusion qui ne sera figée que lorsque les deux surfaces triturantes seront totalement en contact. En l'absence de dysmorphose, les rapports dento-dentaire se font en classe I symétrique. Si ce n'est pas le cas, à partir de ce moment, la dysmorphose installée se maintiendra jusqu'à la fin de la croissance, sauf en cas de traitement interceptif ou de traitement orthodontique. La chirurgie orthognatique est en général proposée après la période de croissance.

Les dysmorphoses dento-maxillofaciales constituent une entité clinique dans les limites de la normale, en ce sens qu'elles n'appartiennent pas à des pathologies

syndromiques ou malformatives. Elles ne constituent pas le plus souvent une malformation, mais sont le résultat de dysfonctions retentissant sur la croissance, aboutissant à un équilibre crânio-facial et un articulé dentaire anormaux. Les patients porteurs de dysmorphoses dento-maxillofaciales présentent des troubles de l'articulé dentaire (malocclusion), avec des rapports dento-dentaires anormaux et/ou un mauvais alignement des arcades. Du point de vue fonctionnel, ceci conduit à une baisse du coefficient masticatoire et un développement plus précoce et rapide des pathologies parodontales ou carieuses. Les syndromes douloureux de l'articulation temporo-mandibulaire sont également plus fréquemment rencontrés en cas de trouble de l'articulé dentaire. A ce retentissement fonctionnel, s'ajoute l'aspect inesthétique du profil facial et du sourire.

La prévalence des malocclusions est estimée entre 40 et 80% de la population actuelle. Cette prévalence a d'ailleurs considérablement augmenté depuis ces 700 dernières années si on en croit une récente étude sur 156 crânes médiévaux (56).

L'Orthopédie dento-faciale étudie la croissance faciale et traite les anomalies squelettiques, et l'orthodontie consiste en l'utilisation des techniques permettant le déplacement des dents. Lorsque les bases osseuses supportant les arcades dentaires (maxillaire et mandibule) sont trop décalées, l'orthodontie ne parvient pas à engrener les dents, il faut donc faire appel à la chirurgie orthognatique qui permet de déplacer les bases osseuses par des ostéotomies.

Les dysmorphoses dento-maxillofaciales sont caractérisées en fonction de l'anomalie de position des dents entre elles (malocclusion) et des bases osseuses qui les supportent (maxillaire et mandibule). Dans la très grande majorité des cas, l'anomalie de l'articulé dentaire est le même que celui des bases osseuses. Mais étant donné leur possible discordance, il est nécessaire de pouvoir les qualifier indépendamment. Les déformations peuvent se voir dans les trois plans de l'espace : sagittal (antéro-postérieur), vertical et horizontal.

Schématiquement, il faudra porter un diagnostic de la dysmorphose dento-maxillofaciale au niveau dentaire (classification dentaire), au niveau des bases osseuses (classification squelettique). Il faudra aussi prendre en compte la hauteur faciale (sens vertical) et le sens horizontal (plan d'occlusion).

3.3.2 ANOMALIES DE L'ARTICULE DENTAIRE

Lors de l'examen clinique, on regarde l'articulé dentaire, c'est-à-dire la manière dont s'articulent les dents entre elles.

3.3.2.1 ANOMALIES DANS LE SENS SAGITTAL

La classe d'Angle sert à décrire des conditions remarquables dans le sens antéropostérieur. Cette classification est basée sur les relations d'occlusion des cuspidés vestibulaires en position d'intercuspidie maximum, des molaires de 6 ans (premières molaires définitives), des canines permanentes et des incisives centrales. Elle permet une compréhension universelle en décrivant un décalage antéropostérieur sans implication diagnostique ou thérapeutique.

Classe I d'Angle (Figure 15)

La première molaire mandibulaire est mésialée (en avant) d'une demi-cuspide par rapport à la première molaire maxillaire. La canine inférieure est en avance d'une demi-dent par rapport à la canine supérieure. Incisives centrales maxillaires recouvrant la moitié supérieure des incisives mandibulaires.

Classe II d'Angle

La position de la première molaire mandibulaire est distalée (en arrière) par rapport à la première molaire maxillaire. La canine mandibulaire est également distalée. La position des incisives donne lieu à deux divisions distinctes :

Classe II division 1 (Figure 16) : Vestibulo-version des incisives centrales supérieures

Classe II division 2 (Figure 17) : Linguo-version des incisives centrales supérieures

Classe III d'Angle (Figure 18) : Première molaire mandibulaire mésialée (en avant) de plus d'une demi-cuspide par rapport à la première molaire maxillaire. La canine mandibulaire est également mésialée, de plus d'une demi-dent. Les incisives sont soit en bout-à-bout, ou comme sur le schéma, en position inversée.

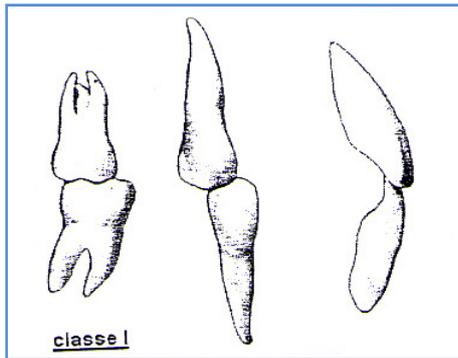


Figure 15 : Rapports dento-dentaires de classe I d'Angle.
(D'après Château, orthopédie dento-faciale tome 1).

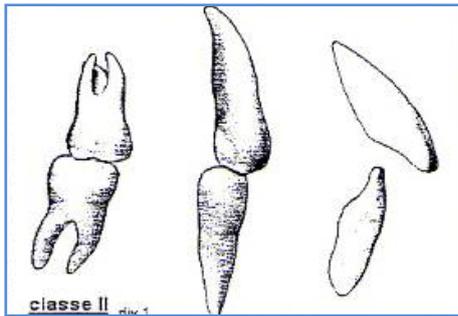


Figure 16 : Rapports dento-dentaires de classe II division 1 d'Angle.
(D'après Château, orthopédie dento-faciale tome 1).

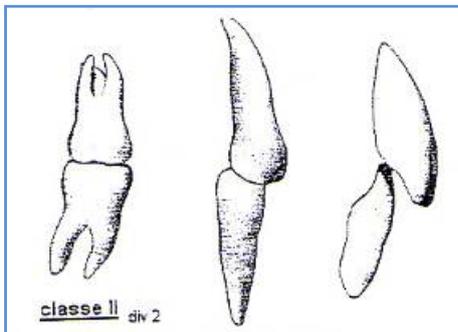


Figure 17 : Rapports dento-dentaires de classe II division 2 d'Angle.
(D'après Château, orthopédie dento-faciale tome 1).

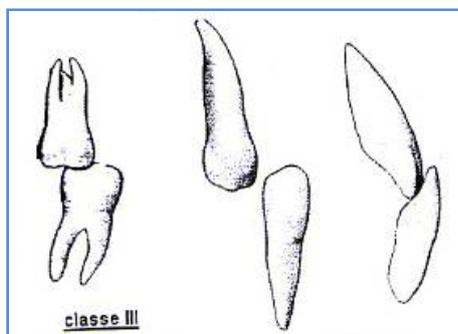


Figure 18 : Rapports dento-dentaires de classe III.
(D'après Château, orthopédie dento-faciale tome 1).

3.3.2.2 ANOMALIES DANS LES AUTRES SENS DE L'ESPACE.

Les anomalies de positionnement des dents dans tous les sens de l'espace sont également décrites par rapport à l'alignement idéal et harmonieux des arcades en articulé de classe I d'Angle.

Les anomalies de position par rapport au vestibule sont également décrites (vestibulo-version, palato- ou linguo-version).

Les anomalies de rotation de la dent sur elle-même.

La présence d'un encombrement dentaire ou de diastèmes.

L'anomalie de position verticale de la dent par rapport au niveau alvéolaire.

Le diagnostic dentaire fait appel à toute une terminologie qui définit précisément la position anormale des dents et envisage le type de correction.

Dans cette étude, nous nous intéressons aux anomalies des bases osseuses.

3.3.3 ANOMALIES DES BASES OSSEUSES

Les anomalies des bases osseuses sont évaluées sur des téléradiographies crânio-cervicofaciales, de profil, en vue inférieure et de face afin de caractériser la dysmorphose dans les trois plans de l'espace. Des constructions géométriques sont basées sur le tracé de points radiologiques correspondant aux repères osseux. Quelque soit le type d'analyse céphalométrique utilisé, le repérage des points permet la construction de lignes et le calcul d'angles et proportions pour établir un diagnostic. On évalue ainsi la position relative de la mandibule par rapport au maxillaire. Dans la très grande majorité des cas, l'anomalie de position des bases osseuses est retrouvée au niveau de l'articulé dentaire.

3.3.3.1 SENS SAGITTAL OU ANTEROPOSTERIEUR.

La classification sagittale squelettique reprend la classification d'Angle en se basant sur des points de repère radiologiques pour évaluer la position relative de la mandibule par rapport au maxillaire et non pas sur les repères dentaires.

Si la mandibule est en arrière par rapport au maxillaire, il s'agit d'une classe squelettique de type II (Figure 19), si la mandibule est en avant au rapport au maxillaire, il s'agit d'une classe III (Figure 20). Si la mandibule et le maxillaire sont alignés, il s'agit d'une classe I. Le décalage est en général calculé en degrés, et il est admis de considérer un décalage supérieur à 1° comme remarquable.

3.3.3.2 SENS VERTICAL

Les anomalies de la verticalité antérieure sont également calculées sur les points de repère radiologiques. En cas de face longue, ou d'excès vertical antérieur on parle d'Open bite ou de dolichofacie. En cas de face courte ou d'insuffisance verticale antérieure, on parle de Deep bite ou de brachyfacie. En cas d'absence d'anomalie de la verticalité antérieure on parle de « normalité » de la hauteur faciale antérieure, ou de normal bite.

3.3.3.3 PLAN HORIZONTAL

Le décalage se fait par rotation du maxillaire ou de la mandibule d'un côté ou de l'autre par rapport à l'axe de symétrie central. On peut également avoir une translation d'une arcade par rapport à l'autre, ou une rotation postérieure uniquement. Le plan d'occlusion peut aussi être basculé à droite ou à gauche (tilt) ou encore basculé en avant ou en arrière.

3.3.3.4 SYMETRIE

Enfin, les dysmorphoses ne sont pas forcément symétriques, ainsi, on peut voir des situations avec une classe II molaire à droite et une classe I à gauche. Ces combinaisons multiplient considérablement le nombre de situations cliniques. Le regroupement et la classification des dysmorphoses permettent d'obtenir des patients ayant des étiologies supposées similaires de leur dysmorphose (129).



*Figure 19 : Exemple de classe II division 1.
Vue de profil et vue endobuccale avec béance antérieure.*



*Figure 20 : Exemple de classe III dentaire et squelettique.
Vue de profil et vue endobuccale avec latéromandibulie droite.*

3.3.3.5 CARACTERISATION DES DYSMORPHOSES

Au final, l'ensemble des déplacements dentaires et squelettiques par rapport au plan de symétrie sagittal et par rapport aux valeurs statistiquement normales, trouvent une définition.

Ainsi chaque patient voit sa situation clinique exprimée selon :

La classe dentaire (I, II ou III)

La classe squelettique (I, II ou III)

La hauteur faciale antérieure (Open, Normal ou Deep)

La déviation mandibulaire et/ou maxillaire (droite gauche ou absente)

La position du plan d'occlusion (horizontal, basculé en avant ou en arrière, à droite ou à gauche).

Une fois le diagnostic précisément établi, un plan de traitement est élaboré. Le traitement orthodontique seul peut suffire lorsque les bases osseuses ne sont pas trop décalées ou que la croissance permet de les réaligner (orthopédie dentofaciale). Sinon, il faut associer à l'orthodontie et l'orthopédie dentofaciale une ou des interventions de chirurgie orthognatique afin de réaligner les bases osseuses et permettre ainsi le rétablissement d'une classe dento-squelettique de type I. Ainsi, les dysmorphoses les plus marquées ou présentant des latéro-déviationes feront plus souvent l'objet d'intervention de chirurgie orthognatique en complément du traitement orthodontique. Dans ce travail, les recueils de masséter intéressent les patients bénéficiant d'intervention de chirurgie orthognatique, donc présentant de gros décalages des bases osseuses et des asymétries mandibulaires marquées.

Afin d'objectiver ces dysmorphoses, l'analyse céphalométrique est nécessaire, soit sur papier calque, soit sur image numérisée par l'intermédiaire d'un logiciel.

3.4 EQUILIBRE ET CROISSANCE CRANIO-FACIALE

La croissance crânio-faciale est une entité à part entière dans la mesure où l'ensemble des constituants de l'extrémité céphalique interagissent entre eux. D'ailleurs, pour être complet, il faudrait même parler de croissance et d'équilibre cervico-crânio-facial et ainsi inclure le rachis cervical dans la problématique. En effet, le type de port du rachis cervical ou certaines pathologies cervicales peuvent modifier la croissance faciale et crânienne. De nombreux facteurs vont intervenir et interagir entre la croissance crânienne (voûte et base), la croissance faciale et le rachis cervical. C'est sur la prise en compte de l'ensemble de ces interactions cervico-crânio-faciales que les analyses téléradiographiques architecturales sont basées, dont celle de Delaire (42;43;45;46;114;126;159;185). Il existe une très étroite relation entre la croissance du squelette crânio-cervico-facial et l'action des muscles (123).

3.4.1 PRINCIPES DE LA CROISSANCE CRANIO-FACIALE

Les différentes pièces osseuses du complexe crânio-facial possèdent un potentiel de croissance intrinsèque et répondent aux différentes interactions biomécaniques générées entre-elles. Schématiquement, deux types d'ossification régissent la croissance crânio-faciale : l'ossification membraneuse et l'ossification enchondrale. C'est pourquoi il existe une dualité dans la croissance et surtout une possibilité de compensation et de rattrapage. Ainsi, dans certaines situations pathologiques, il est possible d'observer une croissance des pièces adjacentes à celles faisant défaut (microsomie hémifaciale, craniosténoses).

3.4.1.1 L'OSSIFICATION MEMBRANEUSE OU SECONDAIRE

L'ossification membraneuse est d'origine mésenchymateuse et intéresse principalement les os plats. On retrouve ce processus d'ossification membraneuse au niveau des pièces osseuses de la voûte crânienne et des os de la face. Ainsi, la pièce osseuse va se développer dans toutes les directions et sera limitée en périphérie par le périoste et les sutures. Les processus d'apposition-résorption vont alors permettre la croissance de la pièce osseuse pour atteindre les dimensions voulues. Les sutures correspondent grossièrement à

une zone de réflexion de la membrane périostée. La suture est donc capable d'ostéogénèse, mais pas au moyen d'une ossification primaire, uniquement au moyen d'une ossification secondaire. La suture produira ainsi une ossification secondaire, dite de rattrapage, en réponse à une sollicitation mécanique en tension. La suture n'est donc pas douée d'une ossification primaire, en ce sens qu'une absence de sollicitation mécanique entraînera l'absence de croissance de cette suture. L'exemple le plus connu étant l'anencéphale qui ne présente pas de voûte crânienne. L'opposé de cet exemple étant l'hydrocéphalie avec un excès de tension sur les sutures conduisant à un développement en conséquence de la voûte crânienne. Enfin, lorsque la suture est pathologique, comme dans le cas des crâniosténoses, la croissance ne peut pas se faire, si bien que la voûte crânienne s'imprime de déformations typiques en fonction de la suture pathologique (trigono, brachy, plagio, pachy ou dolicho-céphalie).

3.4.1.2 L'OSSIFICATION ENCHONDRALE OU PRIMAIRE

L'ossification de type enchondral se fait à partir de la maquette cartilagineuse de l'os et présente la caractéristique d'être douée d'une ossification primaire. Pour les os longs les points d'ossification enchondrale se situent au niveau des cartilages de conjugaison et pour les pièces osseuses de la base du crâne cette ossification primaire enchondrale se retrouve au niveau des synchondroses de la base du crâne (synchondrose ethmoïdo-sphénoïdienne, synchondrose intersphénoïdienne et synchondrose sphéno-occipitale). Ces synchondroses sont capables d'ossification primaire. Cette différence est primordiale puisque ce type d'ossification primaire ne répond pas directement aux sollicitations mécaniques mais aux sollicitations hormonales. Ainsi, la base du crâne va grandir durant toute la croissance, la dernière synchondrose se fermant à l'âge de 20 ans (synchondrose sphéno-occipitale).

3.4.1.3 LA MANDIBULE

Concernant la mandibule, seul os mobile de la face, il a très longtemps été considéré que sa croissance était de type enchondral au niveau de l'unité condylienne. Il s'agissait du principe de la relocation défini par Enlow (54) : la mandibule était ainsi sensée croître par sa partie postérieure (région condylienne et branche montante), parallèlement le bord antérieur de la branche montante de la mandibule était sensé être le siège d'une résorption.

Cette théorie est battue en brèche par les contre-exemples que constituent la condylectomie expérimentale (187) ainsi que les microsomies hémifaciales (hypo ou acondylie).

Dans ces situations d'atteinte totale ou partielle de l'unité condylienne on constate malgré tout l'existence d'une croissance du reste de la mandibule. L'unité condylienne n'est donc pas le seul centre de croissance. En définitive, le type d'ossification de la mandibule est principalement de type membraneux. Ainsi, suite à son ossification au contact du cartilage de Meckel (squelette primitif transitoire du premier arc branchial) son ossification est de type secondaire, par le biais d'apposition et de résorption périostée (Figure 21).

La croissance de la mandibule se fait dans toutes les directions par apposition périostée sur toute sa surface et par allongement de l'unité condylienne. La mandibule grandit donc dans toutes les directions et répond aux sollicitations du maxillaire par l'intermédiaire des dents, des muscles élévateurs (123) et abaisseurs de la mandibule et de la langue. L'arche mandibulaire est en effet torturée par sa disposition arciforme sur laquelle s'insèrent de très nombreux muscles antagonistes (masséter, ptérygoïdiens latéral et médial, mylo-hyoïdien, temporal, buccinateur, digastrique, génio-hyoïdien, génio-glosse, platysma, houppe du menton, carré du menton, triangulaire des lèvres, constricteur supérieur du pharynx). Lorsque la hauteur faciale antérieure augmente suite aux éruptions dentaires, l'unité condylienne s'allonge et augmente à son tour la hauteur faciale postérieure afin de maintenir l'équilibre.

L'unité condylienne possède un plus fort potentiel de croissance, en particulier parce que ses sollicitations mécaniques ne se font pas en pression mais en traction pour rattraper la croissance verticale antérieure.

La composition de la tête condylienne est complexe en ce sens qu'il existe bien un cartilage mais en profondeur, ce dernier est recouvert par du tissu fibreux de nature périostée qui est d'ailleurs en continuité avec le reste du périoste mandibulaire. Le cartilage est le siège d'une ossification enchondrale sensible aux actions générales notamment hormonales.

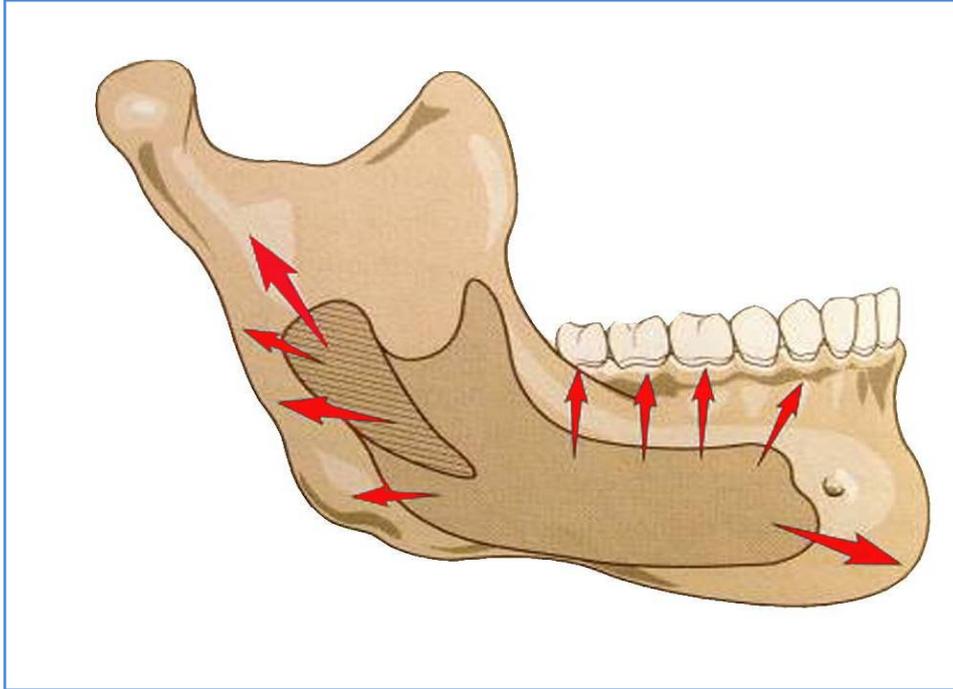


Figure 21 : Croissance mandibulaire.

La mandibule possède une croissance de type membraneux avec une importante croissance de l'unité condylienne qui possède une croissance de type primaire. An niveau de la mandibule, la croissance se fait dans toutes les directions, avec une prépondérance pour l'unité condylienne. Modifié de « Chirurgie Maxillo-faciale et Stomatologie pour le second cycle » coordination Pr Jacques LEBEAU, 2004, Elsevier.

L'importance de l'unité condylienne peut se vérifier dans les situations pathologiques. Ainsi, dans l'hypercondylie idiopathique ou secondaire à un traumatisme, l'allongement de l'unité condylienne est majeur par rapport au reste de l'hémimandibule hypertrophiée. Dans cette situation pathologique de l'hypercondylie, l'unité condylienne présente une croissance intrinsèque anormale et inappropriée au maintien de l'équilibre facial. A l'opposé, un traumatisme de l'unité condylienne peut engendrer un défaut de croissance et une ankylose de l'articulation temporo-mandibulaire, avec une déformation par insuffisance de hauteur postérieure. En pratique clinique, la prise en charge des fractures de l'unité condylienne donne une place importante au traitement fonctionnel étant donné ce fort potentiel adaptatif que possède l'unité condylienne, y compris après la fin de la croissance.

Finalement, la mandibule possède une croissance majoritairement de type secondaire ou membraneux, auquel s'ajoute l'unité condylienne qui possède les deux moteurs de croissance. L'articulation temporo-mandibulaire se définirait plutôt comme une suture spécialisée ouverte ou disloquée possédant un moteur de croissance hybride : la croissance sous l'influence des distensions comme les sutures et également une croissance autonome en raison de son contingent cartilagineux.

La relation entre la croissance mandibulaire et ses muscles élévateurs est également très étroite. Ainsi, l'exérèse des masséters chez le rat en période de croissance aboutit à une croissance mandibulaire inférieure aux rats contrôles (245).

En définitive, la croissance de la mandibule sera liée aux sollicitations mécaniques musculaires et dentaires. La croissance de la mandibule et du maxillaire sont part ailleurs indissociables.

3.4.1.4 LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL

La croissance du système nerveux central est un moteur de croissance pour la voûte crânienne et la base du crâne à un degré moindre : par exemple, chez l'anencéphale, en l'absence de cerveau, il n'existe pas de croissance de la voûte. Au contraire, chez l'hydrocéphale, la voûte se développe en conséquence de l'expansion cérébrale (Figure 22).

La croissance des globes oculaires (appartenant d'ailleurs au système nerveux central) détermine le volume du cadre orbitaire : par exemple, une énucléation dans l'enfance ou une asymétrie des globes oculaires (atrophie ou tumeur) conduira à une asymétrie des cadres orbitaires.

3.4.1.5 LA VOUTE CRANIENNE

La croissance de la voûte crânienne est largement déterminée par son contenu (Figure 22), en dehors des pathologies suturales qui constituent de véritables expérimentations naturelles (44) et conduisent à des déformations bien précises. Lorsque ces sutures crâniennes sont pathologiques (crâniosténoses), elles conduisent à des troubles de la croissance.

Ceci se vérifie expérimentalement chez l'animal et montre que la suture immobilisée expérimentalement sur un versant continue de croître sur l'autre versant (58). Comme nous l'avons évoqué précédemment, ces sutures répondront à la croissance du système nerveux central.

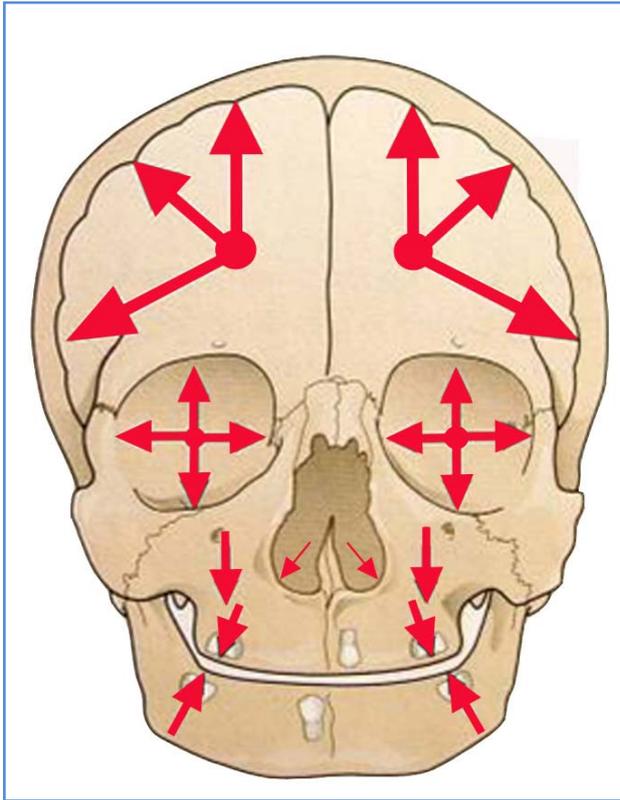


Figure 22 : Résumé de la croissance crânio-faciale.

Les vecteurs schématisés des interactions biomécaniques responsables de la croissance des différentes pièces osseuses : le système nerveux central, les globes oculaires, les fosses nasales, les forces masticatoires et les contacts dentaires. (d'après Lebeau). La voûte et les orbites grandissent sous l'influence de leur contenu. Les sinus maxillaires s'expandent au fur et à mesure que les organes dentaires laissent la place. Les forces transmises par les contacts dentaires déterminent les rapports maxillo-mandibulaires dans tous les sens de l'espace. Modifié de « Chirurgie Maxillo-faciale et Stomatologie pour le second cycle » coordination Pr Jacques LEBEAU, 2004, Elsevier.

3.4.1.6 LA BASE DU CRANE

La croissance de la base du crâne est fortement déterminée par l'héritage génétique, mais dépend également de la croissance du système nerveux central et de la face, en particulier pour sa partie antérieure. D'après Delaire, la croissance de la partie antérieure de la base du crâne dépendra aussi pour partie de la croissance faciale. C'est pourquoi, les corrections orthodontiques sont à proposer relativement tôt pour éviter les troubles de la croissance antérieure de la base du crâne (43). La croissance de la base du crâne et de la voûte auront une influence forte sur la hauteur faciale et la position des maxillaires (49;175). La croissance faciale répondra donc à la base du crâne et aux fonctions qu'elle aura à remplir (respiration, alimentation, phonation...) (29;42;54).

La croissance de la base du crâne se fait au niveau des synchondroses sphéno-occipitale (Figure 23), inter-sphénoïdienne et sphéno-ethmoïdale qui possèdent une croissance à l'image des épiphyses des os longs et se développent sur les deux versants de la synchondrose (29;54).

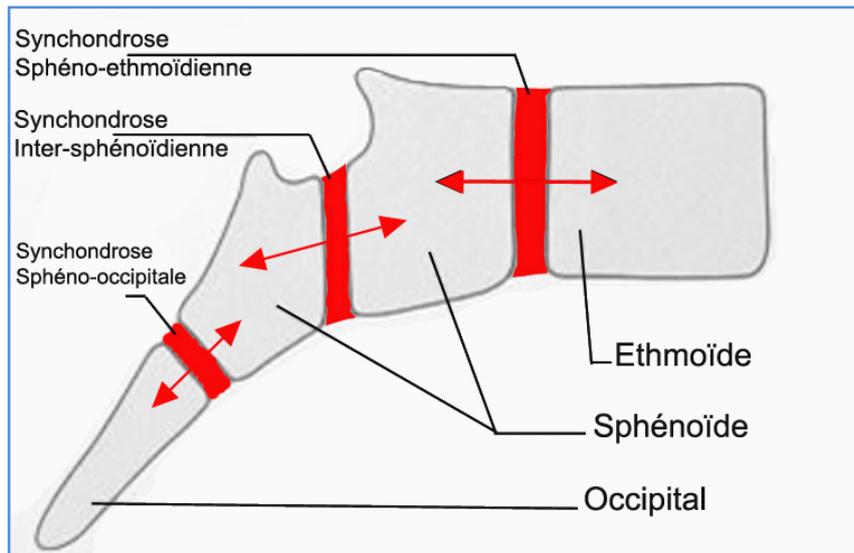


Figure 23 : Synchondroses de la base du crâne.
 Ces synchondroses ont un potentiel de croissance sur leurs deux versants. Modifié de
 « Chirurgie Maxillo-faciale et Stomatologie pour le second cycle » coordination Pr Jacques
 LEBEAU, 2004, Elsevier.

3.4.1.7 LE SEPTUM NASAL

La croissance du septum nasal se fait dans le prolongement de la base du crâne. Le septum est directement en appui sur la base du crâne. Chez le nouveau-né, le nez a un aspect ensellé, puis avec la croissance, cette ensellure disparaît et peut même être remplacé par une bosse (figure 24).

La croissance de la cloison se fait jusqu'à la fin de la puberté, voire encore plus tardivement. La lésion de la cloison nasale ou son exérèse chez l'enfant conduit à un déficit majeur de la croissance de la pyramide nasale et du maxillaire. Le septum participe à la croissance verticale et sagittale du maxillaire et de tout le tiers médian de la face.

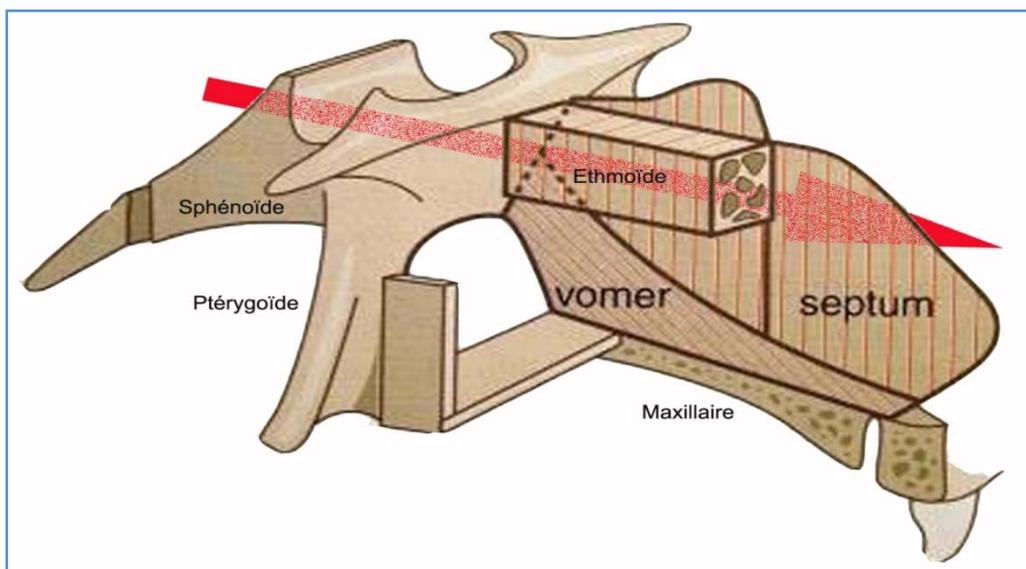


Figure 24 : Aspect physiologique du nez chez un enfant de 2 et 5 ans.
 L'ensellure physiologique initiale se corrige au fur et à mesure de la croissance de la base du crâne et du septum. Ce moteur de croissance est donc très puissant. Modifié de « Chirurgie Maxillo-faciale et Stomatologie pour le second cycle » coordination Pr Jacques LEBEAU, 2004, Elsevier.

3.4.1.8 L'ARTICULE DENTAIRE

La croissance du maxillaire et de la mandibule est fortement liée à leur calage occlusal : en cas de rétromandibulie importante, on retrouve fréquemment une pro-maxillie, et vice-versa, en cas de rétro-maxillie, on retrouve souvent une pro-mandibulie. Ainsi la croissance des patients en classe II ou classe III est différente de ceux considérés comme normaux en classe I, en ce sens que les dimensions d'une mandibule de classe III seront différentes en proportion de celle d'une classe II (169).

3.4.1.9 LES ORGANES DENTAIRES

Les organes dentaires sont actifs jusqu'à l'édification radiculaire. Les organes dentaires constituent une matrice fonctionnelle presque exclusive de l'os alvéolaire : l'os alvéolaire naît, vit et meurt avec la dent. Les organes dentaires ont un rôle décisif dans la croissance de l'os alvéolaire et des bases osseuses maxillo-mandibulaires.

L'éruption dentaire est un élément majeur dans la transmission des forces masticatoires au maxillaire et à la mandibule qui les transmettent à leur tour à la base du crâne et à la voûte par l'intermédiaire des piliers biomécaniques et des insertions des muscles élévateurs de la mandibule. En cas d'agénésie dentaire, la croissance de la mandibule et du maxillaire se trouve très largement déficitaire. L'éruption de la première dent définitive (première molaire ou dent de six ans) aura un rôle déterminant dans le calage des rapports maxillo-mandibulaires qui seront établis en classe I, II ou III, symétrique ou non. L'importance de ce calage est telle que sans intervention de l'orthopédie dento-faciale (ODF), le reste de la croissance se fera selon les rapports occlusaux déterminés à l'âge de six ans.

3.4.1.10 LE MAXILLAIRE

La croissance du maxillaire se fait par ossification membraneuse, comme un os plat. La participation du septum nasal, la bonne perméabilité nasale, l'éruption dentaire et le calage en bon articulé avec la mandibule sont essentiels pour assurer une croissance physiologique. La situation du maxillaire est celle d'un os piégé entre la mandibule et la base antérieure du crâne. Sa croissance sera directement dépendante de ces deux éléments

anatomiques d'une part. D'autre part, le maxillaire reçoit la poussée linguale lors de la déglutition physiologique et assure la majorité du flux aérien respiratoire par l'intermédiaire des fosses nasales. La croissance du maxillaire sera donc le fruit de très nombreux facteurs pouvant conduire à des situations de dysmorphose (159). Ainsi, en cas de situation pathologique de l'un des éléments précités, le maxillaire voit son potentiel de croissance modifié.

3.4.1.11 IMPLICATIONS CHIRURGICALES

Il faut prendre en considération la croissance pour la chirurgie orthognatique. En effet, les décollements chirurgicaux ainsi que les ostéotomies créent une dévascularisation et une fibrose. En période de croissance ces processus sont délétères. C'est pourquoi la chirurgie orthognatique est en général pratiquée après la puberté et tente de préserver les centres de croissance primaire tels que la région condylienne. En cas de dysmorphose dentomaxillofaïcale, sont exclues les présentations syndromiques avec atteinte qualitative et quantitative des tissus, qui paradoxalement peuvent faire l'objet de chirurgies plus précoces pour améliorer les conditions de croissance. Il ne faut donc pas oublier que la chirurgie implique un effet iatrogène, mais que cette chirurgie ne doit en aucun cas aboutir à un résultat plus néfaste que l'abstention.

3.4.1.12 CONCLUSION

Nous aboutissons à la mise en place d'un équilibre dynamique entre les composants de l'extrémité céphalique. De plus, il existe une grande capacité d'adaptation et de compensation de la croissance entre eux : par exemple, une dysplasie fibreuse unilatérale de la base du crâne avec abaissement de l'interligne articulaire de l'articulation temporo-mandibulaire peut se voir chez l'enfant en croissance, mais sans déviation mandibulaire ni asymétrie faciale ni bascule du plan d'occlusion.

Concrètement, la croissance de la face se fait progressivement, après celle de la base et de la voûte. Ainsi, chez l'enfant, proportionnellement la voûte se développe en premier, la base se développe un peu après et la face apparaît très réduite par rapport à ce qu'elle sera à l'âge adulte. La face continuera de grandir après la voûte et le crâne (Figure 25).

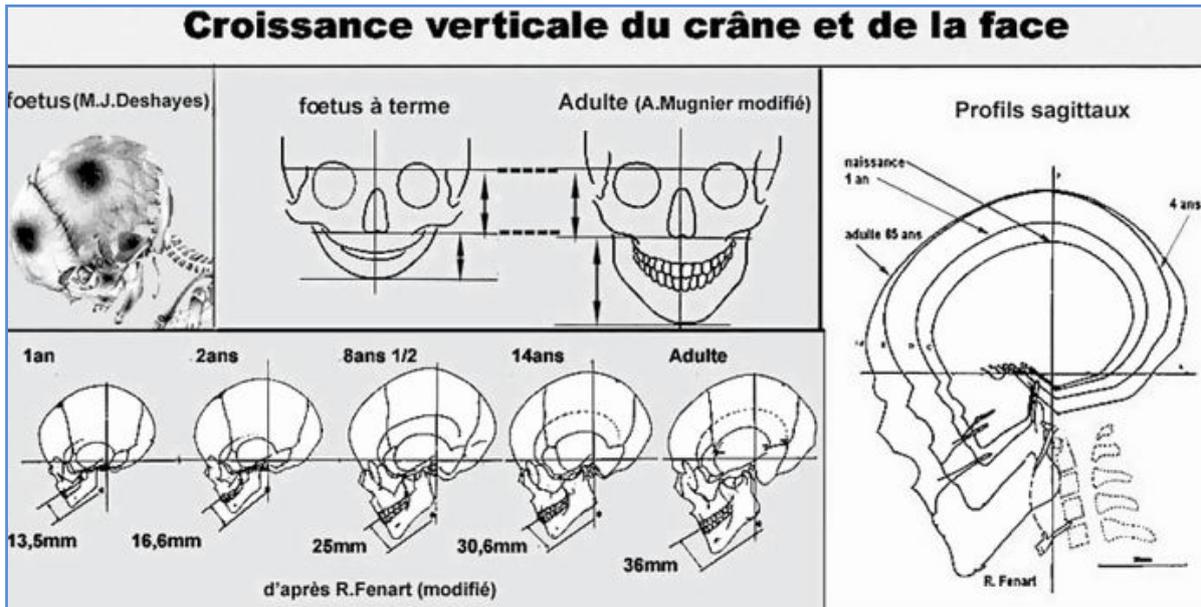


Figure 25 : La croissance crânio-faciale.

En haut, croissance comparative de la naissance à l'âge adulte en orientation vestibulaire. La croissance faciale se déclenche plus tardivement et dure jusqu'à l'âge adulte. Tiré de « Ontogenèse craniographique vestibulaire, analyse morphométrique positionnelle », Raphaël FENART 2006, Reproflash Lille.

Pour être pragmatique, tant que les fonctions ne sont pas perturbées, la croissance peut rester dans les limites de la normale et corriger certains défauts. L'ensemble des pièces osseuses répondent aux sollicitations mécaniques par une croissance plus ou moins marquée. Toute la complexité est de déterminer précisément l'influence des différents facteurs mécaniques et musculaires sur la croissance crânio-faciale. La croissance reste très influencée par la fonction et possède une grande capacité d'adaptation. La croissance crânio-cervico-faciale pourrait se comparer à un kaléidoscope tempo-spatial, dans lequel chaque élément constitutionnel entame sa croissance à un moment différent, et en y intégrant les très nombreuses interactions entre tous ces éléments (57).

3.4.2 DYNAMIQUE DE L'EQUILIBRE CRANIO-CERVICO-FACIAL

3.4.2.1 LA FONCTION MANDUCATRICE

La fonction manducatrice débute très tôt par la succion et la déglutition intra-utérine. Cette fonction manducatrice sera hautement adaptative pour deux principales raisons : la première est la synchronisation des deux groupes musculaires droit et gauche commandant une seule pièce osseuse (mandibule) sur deux articulations (temporo-mandibulaires). Ainsi il ne s'agit pas d'une « simple » coordination comme les muscles locomoteurs, mais d'une véritable synchronisation pour diriger les mouvements mandibulaires avec une précision extrême. En effet, mis à part l'évolution du poids à supporter et de la vitesse de déplacement à augmenter, les pieds touchent toujours le sol. Cette situation n'est pas équivalente avec l'occlusion dentaire qui évolue durant très longtemps et modifie sa proprioception en fonction de l'évolution de l'occlusion. La seconde est l'évolution des fonctions manducatrices avec in utéro un rapport aux liquides exclusif et l'absence de denture (sauf exceptionnellement en cas de denture néonatale). Ensuite, la gestion du carrefour aérodigestif impose la gestion aérienne pour la respiration et la phonation, ainsi que les solides et les liquides. La denture lactéale se met en place d'avant en arrière, devient mixte à l'âge de six ans par la première molaire mandibulaire qui répondra à la première maxillaire selon un rapport en classe I, II ou III. Une fois déterminés, ces rapports molaires sont fixes et guident la fin de la croissance (en l'absence d'orthopédie dento-maxillo-faciale). Parallèlement à l'éruption dentaire, et l'augmentation des rapports occlusaux, la nourriture

devient plus solide. Ainsi durant presque douze années, la croissance et l'éruption dentaire vont imposer aux maxillaires la nécessité d'une adaptation permanente. Par la suite, avec l'éruption des dents de sagesse, on peut encore constater des modifications de l'occlusion (mésialisation, contact dentaire prématuré), associées à la perte dentaire (carie, traumatisme, parodontopathie).

Parallèlement à cette « maturation » de la fonction manducatrice, l'aspect histologique des fibres se modifie également avec une augmentation de leur diamètre et la raréfaction progressive des cellules satellites. Ce n'est que vers l'âge de 12 à 15 ans que cette maturité est obtenue (13).

3.4.2.2 LA MASTICATION

La mastication est la première étape de la digestion. La mastication est un processus très complexe faisant appel à une coordination très précise des muscles élévateurs de la mandibule avec les abaisseurs (15). En effet, lors de l'ouverture buccale, seuls les abaisseurs se contractent avec un relâchement des élévateurs. En revanche, pour la fermeture, les élévateurs se contractent évidemment, mais les abaisseurs et ptérygoïdiens latéraux également, afin de diriger finement le chemin de fermeture et assurer un parfait calage entre les faces triturantes des dents.

Le point qui varie le moins sa position au niveau de la mandibule est le point de pénétration de la troisième branche du trijumeau. Ce point est situé précisément sur la face interne de la branche montante de la mandibule au niveau de l'épine de spix. Les amplitudes mandibulaires retrouvent une ouverture buccale à plus de 40 mm, une propulsion et une diduction de l'ordre de 12 mm. Ce centre de rotation se retrouve également localisé dans cette région chez l'animal, le lapin par exemple (240).

La mastication exploite partiellement les amplitudes physiologiques de la mandibule. En effet, la mandibule doit être considérée comme une sorte de balançoire suspendue sous le crâne et la face. L'articulation temporo-mandibulaire n'ayant pas une grande capacité de maintien de la mandibule ; ce sont les muscles qui maintiennent et dirigent en permanence la position et la course mandibulaire. La grande mobilité des articulations temporo-mandibulaires permet à la mandibule de nombreux mouvements : la propulsion, la rétropropulsion, la diduction, l'élévation et la descente. En résumé, les mouvements du menton

pourraient s'inscrire dans une forme ovoïde allongée de haut en bas. De plus, il faut se figurer que la mandibule n'a pas d'axe de rotation. En effet, lors de l'ouverture buccale, la tête condylienne débute par une très légère rotation, puis il s'ensuit une translation vers l'avant qui accompagne la rotation. Le ménisque est attiré en avant par le ptérygoïdien latéral afin de suivre la course de la tête condylienne.

Le cycle masticatoire est stéréotypé chez un même individu et constitue un mouvement rythmique dans les trois plans de l'espace. Le cycle masticatoire est découpé en plusieurs schémas typiques assurant le broyage des aliments grâce à un chemin circulaire latéralisé. Dans le plan sagittal, la mandibule fait un mouvement d'ouverture et de rétropulsion (Figure 26). Dans le plan coronal, la mandibule décrit des excursions latérales qui ont été schématisées selon sept grands types (Figure 26). Avec un tel mouvement, la mandibule reproduit des cycles rapides et précis nécessitant un contrôle permanent et très pointu du déplacement de la mandibule. De plus, la résistance offerte au déplacement de la mandibule varie avec la qualité du bol alimentaire et l'évolution du broyage. Le réglage de la course mandibulaire devient alors très complexe. Le cycle masticatoire est contrôlé par des centres sous corticaux. Les mouvements volontaires de la mâchoire sont bien évidemment possibles, mais la mastication n'est pas un mouvement contrôlé uniquement par la volonté, il y a une grande part d'automatisme.

La modélisation et la caractérisation de l'intensité et de la direction des forces au sein du masséter deviennent alors très complexes (103;105;146;147). Néanmoins, en tenant compte de l'anatomie des pièces osseuses et musculaires, il apparaît que les forces exercées sur les pièces osseuses pour générer le mouvement masticatoire prennent des directions très variées (Figure 27) et ne se limitent en aucun cas à une simple résultante verticale parallèle à l'axe principal du muscle (176). De plus, lors de l'ouverture buccale, l'angle mandibulaire avance et descend, modifiant l'axe du muscle ainsi que sa longueur.

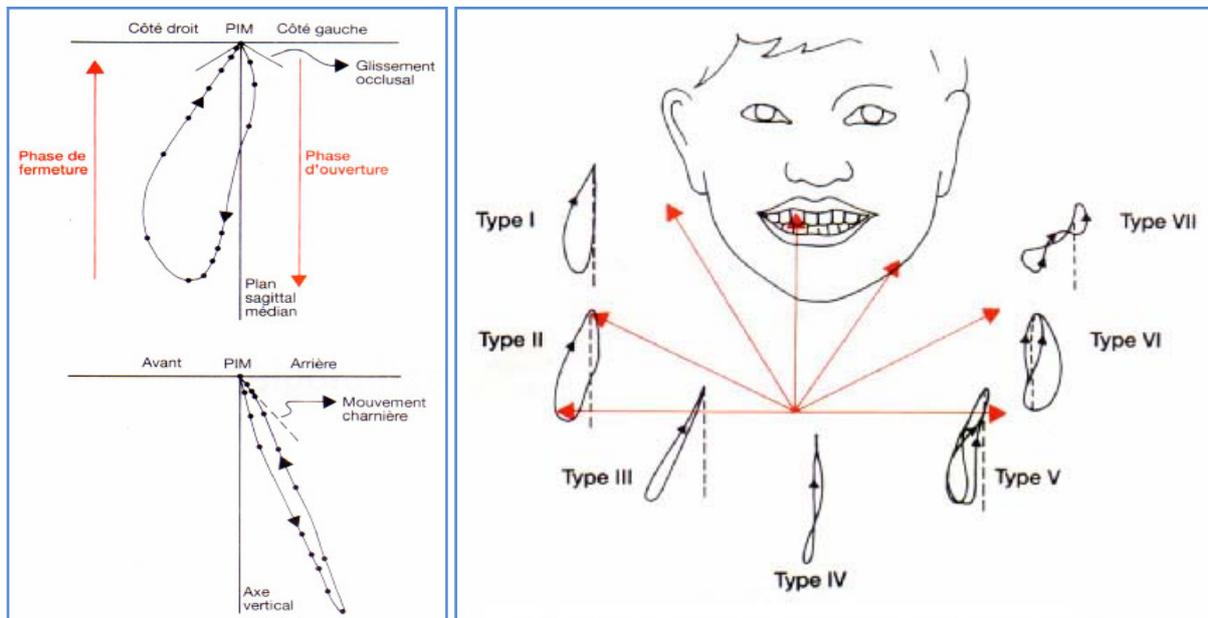


Figure 26 : Schéma bidimensionnel du cycle masticatoire.

A gauche, à partir de la position d'intercuspidie maximale (PIM), on retrouve en haut, le schéma dans plan coronal, en bas le schéma dans le plan sagittal. A droite, les 7 types de cycles de mastication dans le plan coronal.

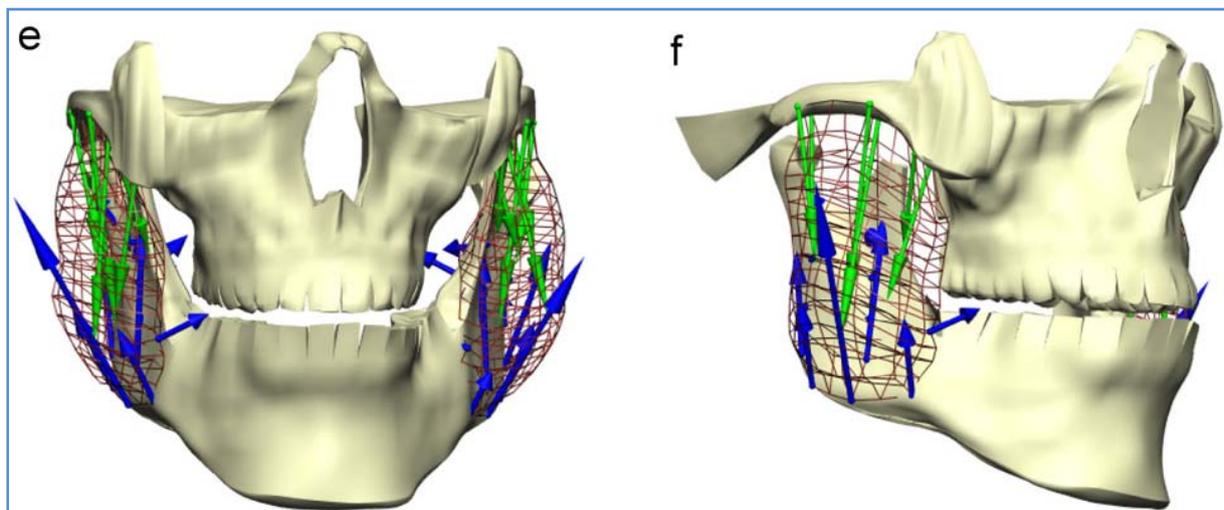


Figure 27 : Modélisation tridimensionnelle des forces masticatoires dans le masséter.

Le résultat est obtenu d'après la méthode des éléments finis. Tiré de Rohrle 2007 (176).

Par ailleurs, la proprioception au niveau dentaire est très fine, à titre d'exemple, lorsqu'on place un cheveu entre ses doigts, il est difficile de le sentir, alors qu'entre les dents il est tout-à-fait possible de le percevoir, le saisir et le sectionner. Cet exemple vaut aussi avec un grain de sable.

La durée d'un cycle masticatoire est de l'ordre d'une seconde. Cette durée est constante, la mastication se calant sur un rythme relativement stable chez un individu donné et en fonction de son type d'alimentation. La génération du cycle masticatoire est due à l'activation de centres sous-corticaux qui déterminent l'action des muscles agonistes et antagonistes en fonction des stimuli issus des afférences musculaires, muqueuses et parodontales. Ainsi, la morphologie du cycle masticatoire est propre à chaque individu et s'adapte à la consistance des aliments (118). L'activité de mastication avec des forces élevées correspond approximativement à 45 minutes par jour.

La vitesse de déplacement de la mandibule durant le cycle masticatoire varie de 1,3 à 10,9 cm/s. Des pointes de vitesse jusqu'à 18,3 cm/s ont pu être relevées (75). La vitesse maximale est observée au début du mouvement et pas à la fin de la fermeture, permettant ainsi de ralentir à l'approche du contact dentaire (104).

La force maximale développée lors de la mastication (2 à 26,7 kg) est largement inférieure à la force occlusale maximale obtenue par la contraction volontaire des mâchoires (125 à 440 kg) d'autant qu'il s'agit de patients bruxomanes (65).

En définitive, concernant le cycle masticatoire, il ne s'agit en effet aucunement d'une ouverture-fermeture centrée. Il y a toujours une composante de latéralité. Le bol alimentaire est broyé d'un seul côté, soit en permanence, soit en alternance, soit des deux côtés à la fois. Les manducateurs unilatéraux peuvent développer une hypertrophie homolatérale du masséter et ou du temporal. Le traitement consiste simplement en une rééducation de la mastication.

Les malocclusions et pertes dentaires affectent l'efficacité de la mastication (28;233) et seraient donc à même de modifier le phénotype des élevateurs de la mandibule. Ainsi, chez les patients avec un morphotype deep-bite, le déplacement sagittal de la mandibule apparaît marqué par un mouvement plus postérieur, avec une amplitude verticale plus faible.

En résumé, la mastication est un mouvement rythmique, régulier, rapide, très précis, peu ample et prolongé. Les forces développées sont importantes mais bien en deçà des capacités maximales du muscle. La direction des forces exprimées dans le masséter sont très variables et participent vraisemblablement au maintien de la variabilité phénotypique dans l'épaisseur du masséter. Il est intéressant de constater que le réglage de la force, de la vitesse et de la direction de la mandibule est extrêmement précis, puisqu'en dépit de la diminution de consistance du bol alimentaire durant le broyage, la mandibule retrouve sa position d'intercuspidie à chaque cycle.

3.4.2.3 L'ALIMENTATION

La consistance du bol alimentaire est fréquemment invoquée dans la variabilité de l'expression du phénotype du masséter entre les individus (29;54;99;101;184). Néanmoins, cette relation bien qu'existante, est très difficile à prouver et surtout à évaluer. L'alimentation n'étant pas la seule utilisation qui est faite des muscles élévateurs de la mandibule, de nombreux paramètres semblent s'intriquer. Par exemple, la qualité de l'occlusion et le type de déglutition du patient. On en revient à la notion d'interaction et d'adaptation des fonctions.

3.4.2.4 LA QUALITE DE L'OCCLUSION

La quantité de contacts dentaires semble avoir une influence sur le phénotype du masséter. La taille et la direction du chef superficiel du masséter sont modifiées entre les sujets dentés et édentés, laissant supposer que la morphologie du masséter est hautement reliée à sa fonction masticatoire et non pas à l'âge (96). L'amélioration de la qualité de l'occlusion est le but de la prise en charge orthodontique et orthognatique (139), à des fins surtout fonctionnelles et secondairement esthétiques.

3.4.2.5 LA DEGLUTITION

Jusqu'à l'âge de trois ans, la déglutition est dite infantile ou primaire, et correspond à un volume important de la langue et une position haute du larynx. Pour déglutir, l'enfant propulse sa langue en avant, entre les arcades non dentées.

Ensuite se développe la déglutition secondaire avec une expansion de la cavité buccale, l'arrivée des dents lactéales et une descente du larynx. La déglutition se fait alors par appui de la langue sur les arcades et le palais antérieur, sans s'interposer entre les arcades qui se retrouvent en position d'intercuspédie maximum. La persistance d'une déglutition infantile chez l'adulte est le promoteur de dysmorphoses et également de leur récurrence après correction. L'orthophonie et la rééducation sont primordiales pour garder le résultat occlusal.

La déglutition atypique ou de type infantile correspond chez l'adulte à une interposition linguale entre les arcades lors de la déglutition.

La déglutition est un acte fréquent (estimé à 1500 fois par jour pour la salive et 200 fois par jour pour l'alimentation) pouvant générer de troubles de l'articulé dentaire et de dysmorphoses dento-faciales en cas d'anomalie fonctionnelle.

3.4.2.6 TONICITE LABIALE ET VOLUME LINGUAL

Il existe un équilibre dynamique entre la pression linguale (et son type de déglutition) en dedans, et la tonicité de la musculature en dehors (orbiculaire des lèvres, buccinateur, muscles faciaux). En cas d'hypotonie permanente de la sangle externe (myopathies, lésions centrales), les arcades dentaires vont s'expandre vers l'extérieur (vestibulo-version) sous la poussée non contrebalancée de la langue. En cas de macroglossie (congénitale, tumorale, syndromique), on aura une présentation similaire. A l'inverse, chez les patients présentant une glossectomie non reconstruite avec un articulé instable, on note une bascule des dents vers l'intérieur de la cavité buccale (linguo et palato version).

3.4.2.7 LA PHONATION

La parole est une fonction importante faisant entrer en jeu toute la musculature céphalique. Certains troubles de la prononciation avec interposition linguale sont le reflet de malpositions linguales et/ou de troubles occlusaux. Tout comme la déglutition, ces anomalies doivent être rééduquées après traitement orthodontique.

3.4.2.8 LA RESPIRATION ET LA PERMEABILITE NASALE

Le carrefour aérodigestif supérieur comprend la cavité buccale, les fosses nasales, l'oropharynx, le nasopharynx et du larynx. La respiration peut se faire soit par voie nasale, qui est la situation physiologique basale, soit par voie buccale, en cas d'obstruction nasale ou d'hyperventilation. La respiration nasale est également un élément très important dans le bon déroulement de la croissance maxillaire. Nombre de patients présentant des hypomaxillies et rétromaxillies sont des respirateurs buccaux exclusifs.

La présence d'une respiration buccale exclusive conduit à des dysmorphoses de type hypomaxillie et face longue, avec excès vertical antérieur (231). Lors de la prise en charge des dysmorphoses dento-maxillofaciales, il est primordial de s'assurer de la perméabilité nasale.

Au final, cette liste est loin d'être exhaustive et ne fait pas mention des associations des différents éléments entre eux. Il est déjà très difficile de connaître l'influence exacte d'une fonction sur la croissance faciale, alors quand il s'agit d'intriquer toutes ces fonctions ensemble avec un certain degré de dysfonction, on comprend mieux l'éventail des dysmorphoses et la difficulté à les regrouper par facteur étiologique, tant ils sont nombreux. A un niveau supplémentaire, on appréhende plus aisément le polymorphisme phénotypique du muscle masséter, tant ses fonctions sont diverses et sa plasticité grande.

3.4.3 RENSEIGNEMENTS FOURNIS PAR QUELQUES SITUATIONS CLINIQUES

3.4.3.1 LES MYOPATHIES.

Dans les cas de dystrophie musculaire (Duchenne, Becker), on retrouve souvent un aspect de face longue avec béance antérieure (222). Cet aspect est lié à l'hypotonie et la baisse progressive de la force musculaire. Il est possible d'avoir recours à des interventions de chirurgie fonctionnelle chez ces patients, surtout à visée fonctionnelle, pour améliorer leur respiration et leur déglutition. On illustre ainsi la relation entre la force et le tonus musculaire avec la hauteur faciale. Ainsi, moins le tonus est grand, plus la hauteur faciale est importante par le phénomène de béance antérieure.

3.4.3.2 L'HEREDITE

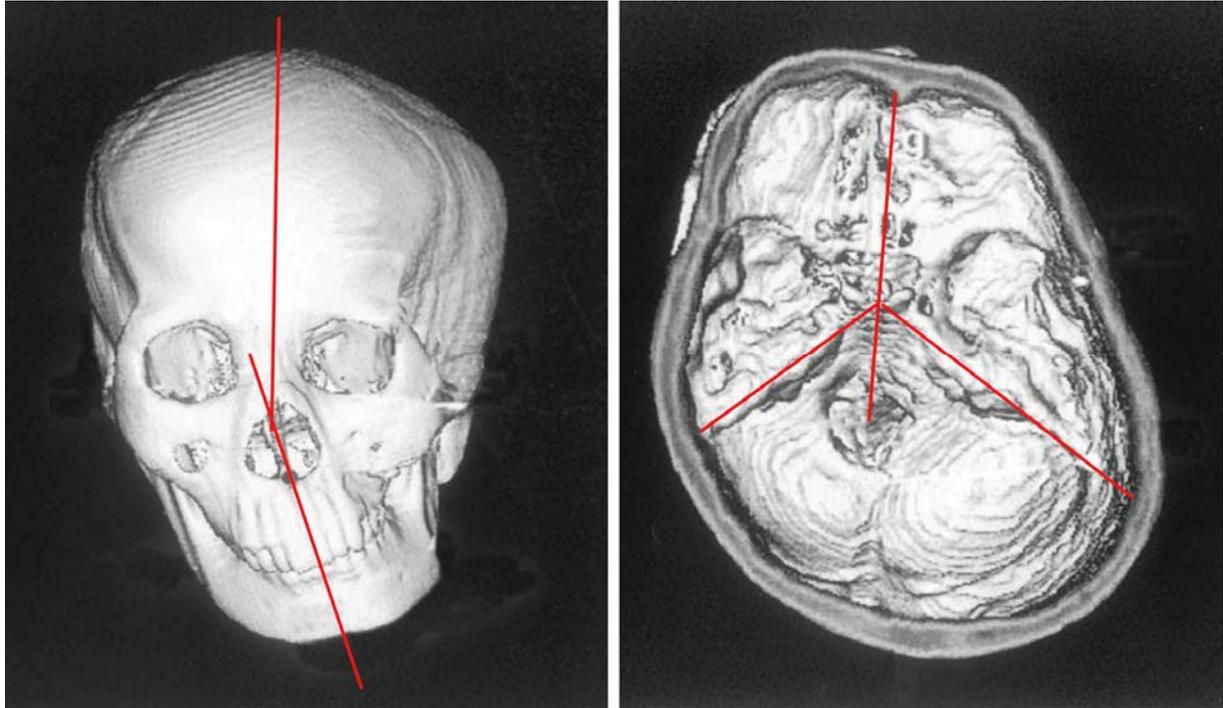
Les jumeaux (37) et les fratries (175) sont une preuve de l'héritabilité des dysmorphoses (49). En effet, dans les consultations d'orthopédie dento-faciale et de chirurgie maxillo-faciale et stomatologie, il n'est pas rare d'avoir à suivre des patients issus de fratries ou avec lien de parenté, présentant des dysmorphoses très semblables. Ceci renforce la notion de prédisposition génétique et également de l'influence de l'environnement (36) du patient sur le développement de sa dysmorphose (alimentation, hygiène buccale, habitus et pathologie carieuse, etc....). L'atavisme est multifactoriel, mais la prédisposition génétique bien que prépondérante ne suffit pas à elle seule à conserver la parfaite égalité entre les vrais jumeaux homozygotes. L'environnement et donc la fonction prendront de plus en plus d'importance avec le temps. La génétique sert de point de départ et l'environnement fonctionnel se charge du reste.

3.4.3.3 ANOMALIES DU RACHIS CERVICAL

De nombreux exemples illustrent l'influence du rachis cervical sur la croissance crânio-faciale. Le plus typique est le torticolis congénital où l'on voit se développer une asymétrie crânienne et faciale (246). La prise en charge de cette pathologie devant se faire très tôt pour éviter les déformations (Figure 28).

Un second exemple est celui des femmes thaïlandaises portant des anneaux cervicaux pour allonger le cou (femmes girafes). Il a été constaté dans cette population, une hauteur faciale plus courte que la population témoin ne portant pas de collier traditionnel (35).

Enfin, dans les scolioses, il est fréquent de constater une asymétrie faciale importante, dans la continuité de la déformation rachidienne.



*Figure 28 : Exemple de torticollis congénital (modifié d'après Yu 2004).
Les déformations intéressent la base du crane, la voute et l'ensemble du squelette facial. Le traitement doit être précoce pour éviter l'installation des déformations qui seront totalement installées a la fin de la croissance. Cet exemple illustre l'impact des muscles sur l'extrémité céphalique en croissance.*

3.4.3.4 LA DYSPLASIE CLEIDO-CRANIENNE

La dysplasie cléïdo-crânienne est une pathologie autosomique dominante très rare (1/1000000) regroupant de nombreuses anomalies osseuses (clavicules, dents surnuméraires, troubles de l'éruption dentaire) et avec dans certains cas une hypoplasie de l'os zygomatique et de son arcade (61). Ainsi, le point de fixation supérieur du masséter se trouve très diminué, entraînant une atrophie du masséter (étude scannographique) qui semble compensée par une hypertrophie des autres élévateurs de la mandibule (temporal, ptérygoïdien médial). Il est intéressant de constater l'existence de cette compensation, et il serait intéressant de connaître le profil de composition en chaînes lourdes de myosine du masséter dans cette situation pathologique qui doit très certainement modifier le phénotype du masséter.

3.4.3.5 L'HYPERTROPHIE UNILATERALE DES MUSCLES ELEVATEURS DE LA MANDIBULE

Théoriquement, les muscles élévateurs de la mandibule sont sensés travailler conjointement étant donné leur insertion sur un os commun : la mandibule. Parfois, il est possible d'observer une hypertrophie bénigne unilatérale des muscles élévateurs de la mandibule (143), sans raison osseuse ou dysfonctionnelle. La demande est souvent esthétique. Ce paragraphe est illustré par un cas clinique présentant l'aspect vu de face et en vue supérieure. Les coupes de scanner objectivent l'hypertrophie du temporal, du masséter et des ptérygoïdiens du côté droit, le côté gauche quant à lui ne présente pas d'aspect d'atrophie. On peut également noter l'hypertrophie proportionnelle de la branche montante droite de la mandibule en regard des insertions du masséter. Ce sont autant de preuves de l'influence du muscle sur le support osseux (Figure 29).

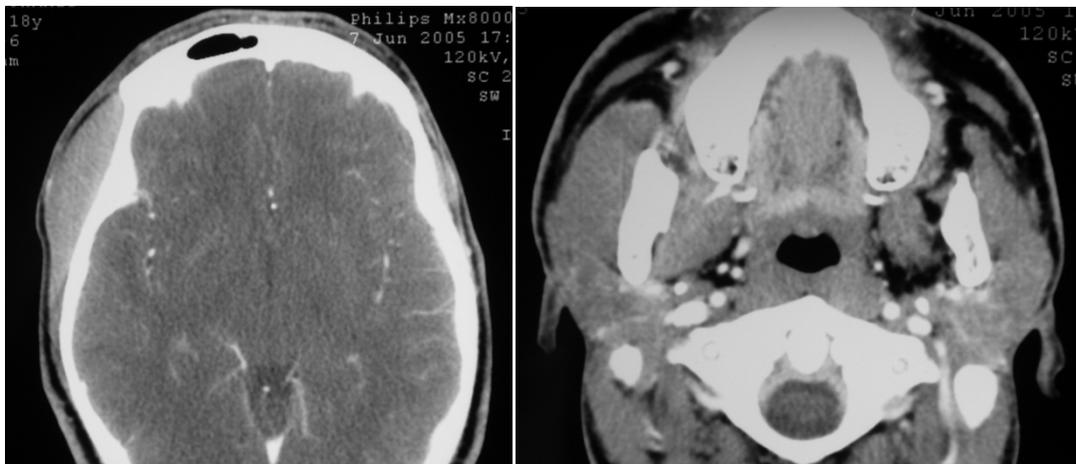


Figure 29 : Hypertrophie unilatérale idiopathique des élévateurs de la mandibule.

3.4.3.6 L'HEMIATROPHIE FACIALE (SYNDROME DE PARRY-ROMBERG).

Le syndrome de Parry-Romberg est une affection rare d'étiologie inconnue caractérisée par une atrophie hémifaciale progressive intéressant l'os, les muscles, les tissus sous-cutanés et la peau. La pathologie s'installe progressivement et passe par des phases de stabilisation. La compensation est chirurgicale et complexe car nécessite la correction de tous les composants tissulaires atrophiés (183). Bien que l'étiologie soit inconnue, on remarque que les muscles sont hypotrophiés ainsi que les bases osseuses, traduisant leur étroite intrication. En fait, les tissus mous continuent de s'atrophier après la fin de la croissance et durant la poursuite de l'évolution de la maladie, mais les bases osseuses hémifaciales restent quant à elles stables.

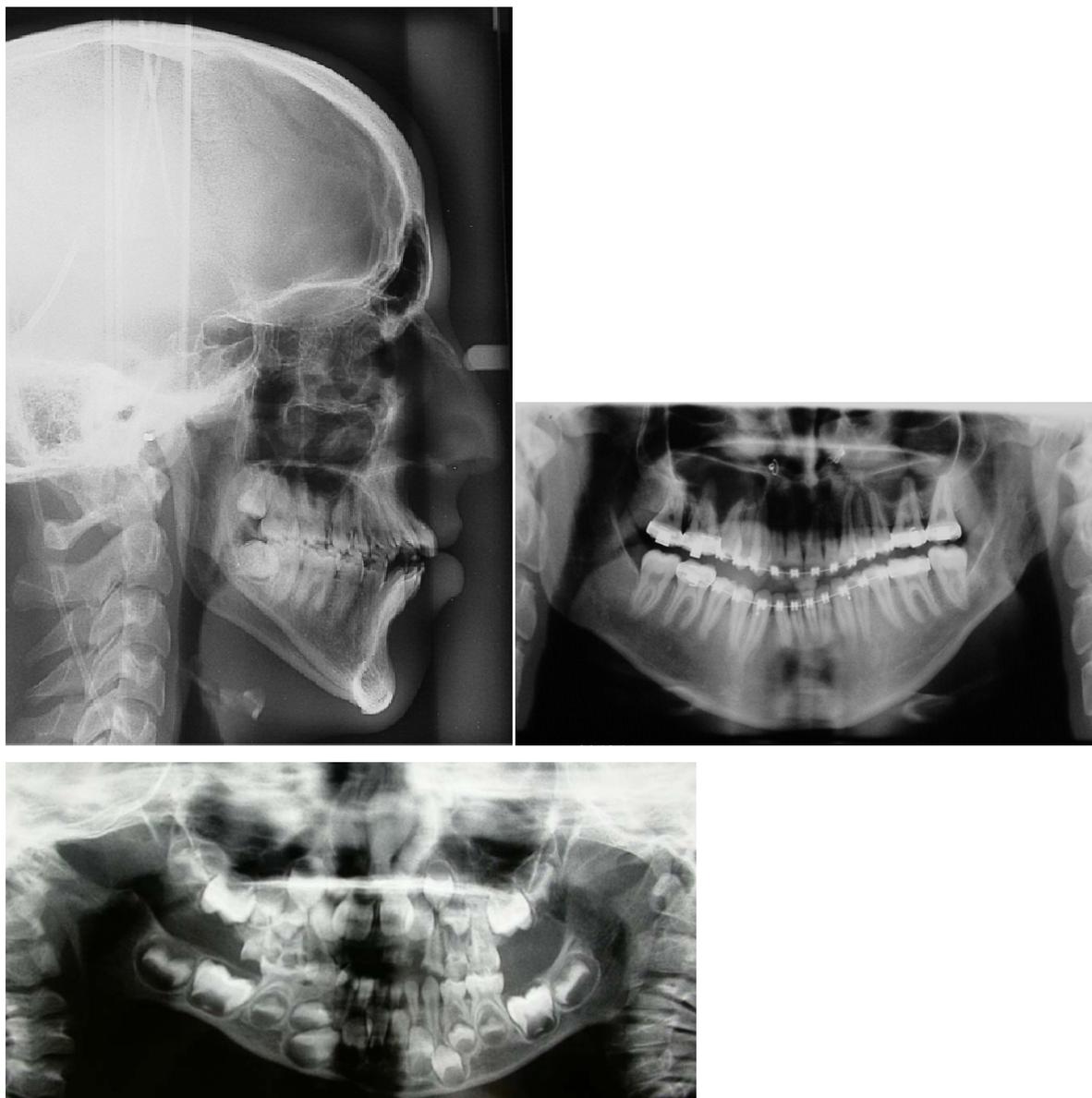


Figure 30 : Exemple d'hypocondylie et d'acondylie.

En haut la croissance mandibulaire est présente mais déficiente dans le cas de cette hypocondylie. La hauteur faciale postérieure est asymétrique, attestée par le double contour basilaire mandibulaire sur la téléradiographie de profil.

En bas à gauche, exemple d'acondylie dans le cadre d'une microsomie hémifaciale. Au passage on remarque les bourgeons dentaires qui occupent la quasi totalité du volume osseux et participant de fait à la croissance.

3.4.3.7 LES ASYMETRIES FACIALES

Dans les asymétries faciales, la mandibule est souvent la plus déformée puisqu'elle est le prolongement de la face. L'asymétrie mandibulaire (Figure 30 page précédente) est souvent corrélée soit à une pathologie condylienne (hypo ou hypercondylie, dysplasie aplasie malformation ou ankylose), soit une pathologie musculaire (dysfonction, parafonction, édentement, agénésie ou dysgénésie). L'absence d'étiologie est parfois constatée, comme l'illustre ce cas (Figure 31).

3.4.3.8 L'ACROMEGALIE

Le cas des acromégalies est une situation pathologique intéressante. En effet, si l'adénome hypophysaire sécrétant est présent durant la croissance, on assiste à un gigantisme et une acromégalie. Si l'adénome apparaît après la fin de la croissance, seule l'acromégalie s'exprime cliniquement. L'acromégalie réunit typiquement un ensemble de signes. Ainsi on note l'augmentation du périmètre crânien par exagération des bosses frontales et des arcades sourcilières. Les pommettes et la pyramide nasale sont saillantes et surtout la mandibule est exagérément prononcée en avant et en bas. Le faciès apparaît alors massif. Un élément important est la macroglossie avec les diastèmes dentaires qui montrent que la mandibule n'a pas eu une véritable hyper croissance intrinsèque, mais que le moteur lingual ainsi que la croissance de la partie antérieure de la base du crâne ont été associés (les synchondroses de la base du crâne se ferment tardivement, vers l'âge de 20 ans). A l'opposé, le nanisme hypophysaire (déficit en hormone de croissance) s'associe à une micrognathie (158).

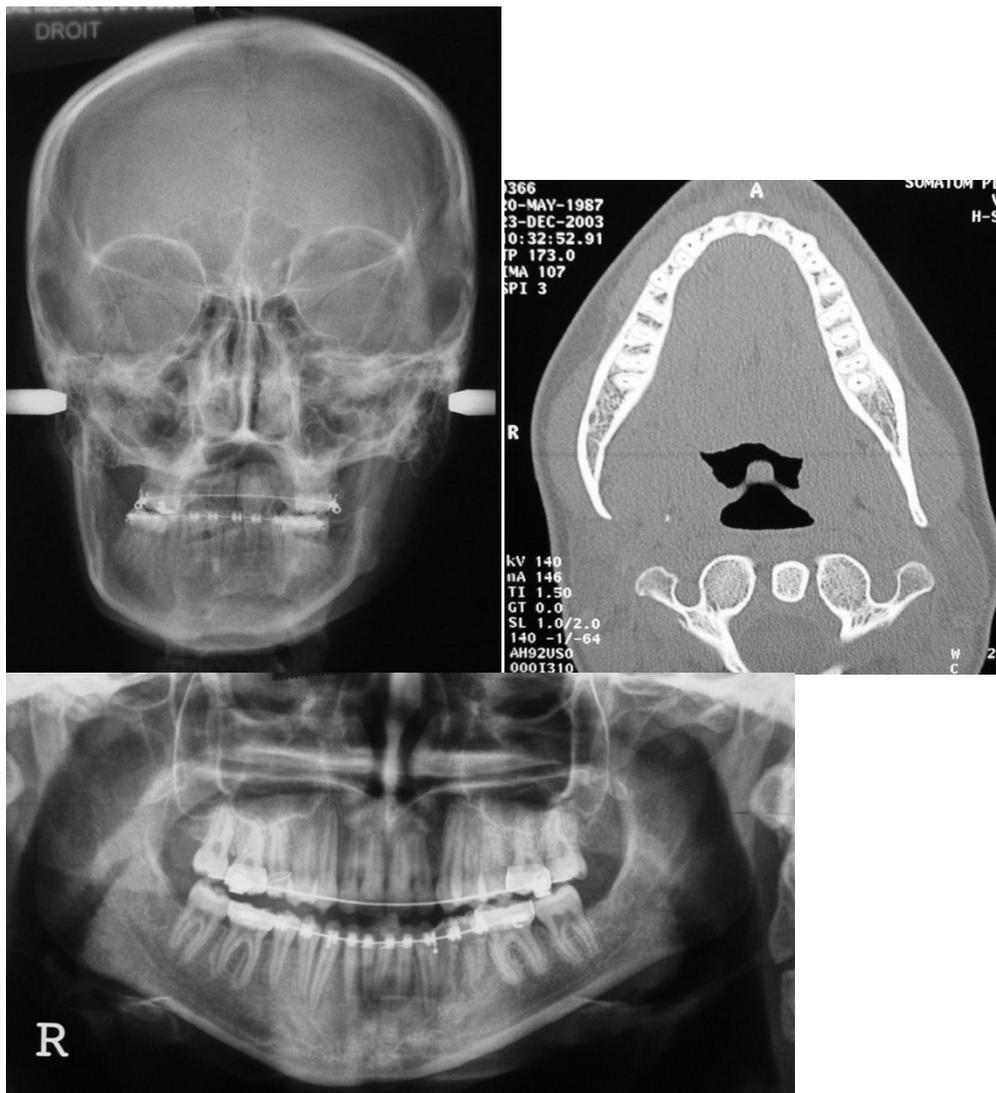


Figure 31 : Exemple d'asymétrie mandibulaire idiopathique. Les unités condyliennes ne présentent pas de pathologie, les masses musculaires non plus. La déformation affecte particulièrement la mandibule mais retentit également sur l'étage moyen de la face et la région basi-crânienne et les orbites.

3.4.3.9 CONCLUSION

Les situations pathologiques sont le théâtre d'expérimentations naturelles, en général assez rares mais très marquées, permettant d'illustrer les limites de la physiologie.

On remarque l'étroite relation entre les muscles masticateurs et le squelette crânio-facial. La fonction musculaire modèle et stimule la croissance des os sur lesquels elle agit. Le cas des dysmorphoses dento-maxillofaciales doit très probablement s'associer à des modifications phénotypiques notables que nous tentons d'illustrer dans ce travail.

3.5 EMBRYOLOGIE DES MUSCLES CEPHALIQUES

L'origine embryologique des muscles céphaliques et en particulier des muscles masticateurs est différente de celle des muscles du reste du corps, dérivant des métamères (13;196). En effet, les muscles cervico-faciaux sont issus de la différenciation du mésenchyme céphalique des arcs branchiaux sous l'influence de la migration des cellules de la crête neurale (Figure 32).

L'origine branchiale des muscles masticateurs est clairement établie, néanmoins, il demeure une controverse sur leur appartenance exacte au premier ou au second arc, avec semble-t-il une origine pas si exactement calquée sur les arcs branchiaux du point de vue de l'expression des gènes régulateurs (13) des cellules issues des somites nerveux adjacents (Figure 33). Si on se réfère à leur dépendance nerveuse, ils sont sous l'influence du trijumeau, nerf du premier arc. Dans un souci de simplification, nous avons donc retenu que le masséter avait pour origine le premier arc branchial en nous fiant au schéma nerveux ainsi qu'aux situations pathologiques (syndrome du premier arc).

Ainsi, le premier arc branchial donne naissance aux muscles élévateurs de la mandibule (masséter, ptérygoïdiens, temporal), mais également au ventre antérieur du digastrique, au mylo-hyoïdien, au tenseur du tympan et au tenseur du voile du palais (Figure 34). Leur innervation motrice est dépendante du trijumeau, le nerf du premier arc.

Cette origine embryologique différente (arcs branchiaux et cellules des crêtes neurales) et leur innervation par les nerfs crâniens confèrent une particularité aux muscles élévateurs de la mandibule dont les masséters (83). Ainsi, il est souvent rappelé cette singularité pour expliquer leur composition associant des isoformes de chaînes lourdes de myosine de type embryonnaire et fœtal (néonatal), ainsi que atriales (alpha-cardiaques).

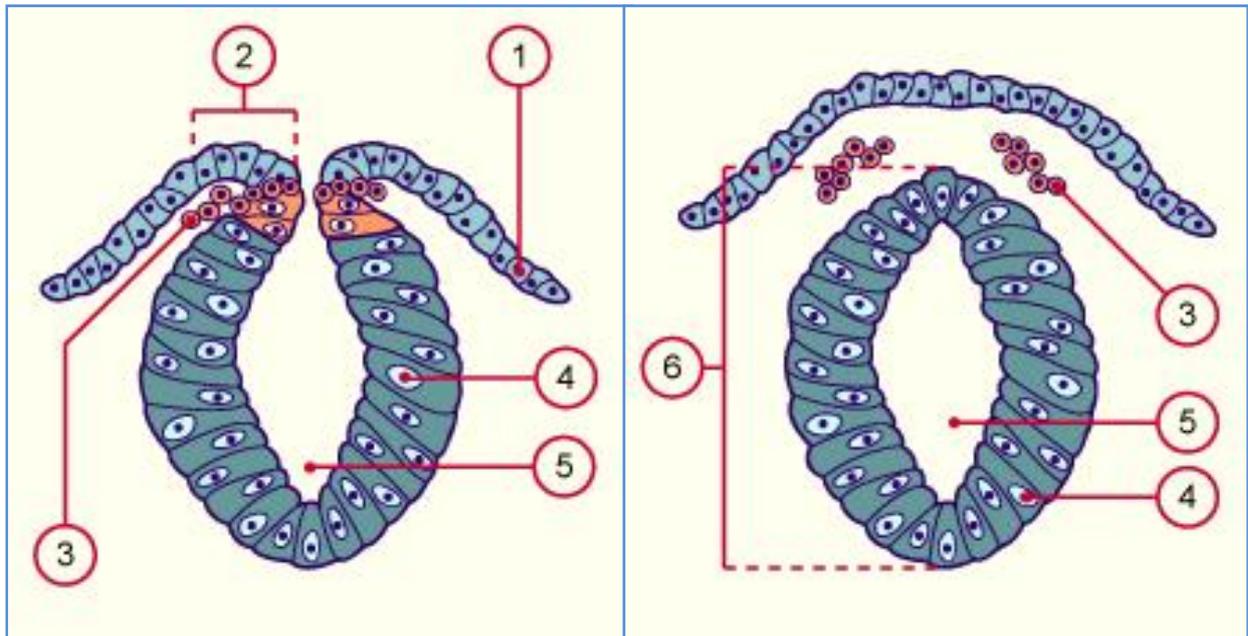


Figure 32 : Cellules des crêtes neurales.

Les cellules des crêtes neurales(3) dérivent de la limite entre l'ectoderme (1), juste entre les bourrelets neuraux (2) et le neuroectoderme (4) lors de la fermeture du tube neural (5). Ensuite, ces cellules des crêtes neurales vont migrer en avant pour entrer dans la constitution de structures très variées (cellules de la glie, système nerveux végétatif, système neuroendocrine diffus ou apud) dont la différenciation du mésoblaste des arcs branchiaux. (D'après le site des universités de Fribourg, Lausanne et Berne : <http://www.embryology.ch>)



Figure 33 : Arcs branchiaux et structures céphaliques.

Schéma de l'extrémité céphalique chez l'embryon humain à 33 jours avec les arcs branchiaux de I à IV et la projection des structures céphaliques embryonnaires ainsi que la projection des somites de l'extrémité céphalique (D'après le site des Universités de Fribourg, Lausanne et Berne : <http://www.embryology.ch>)

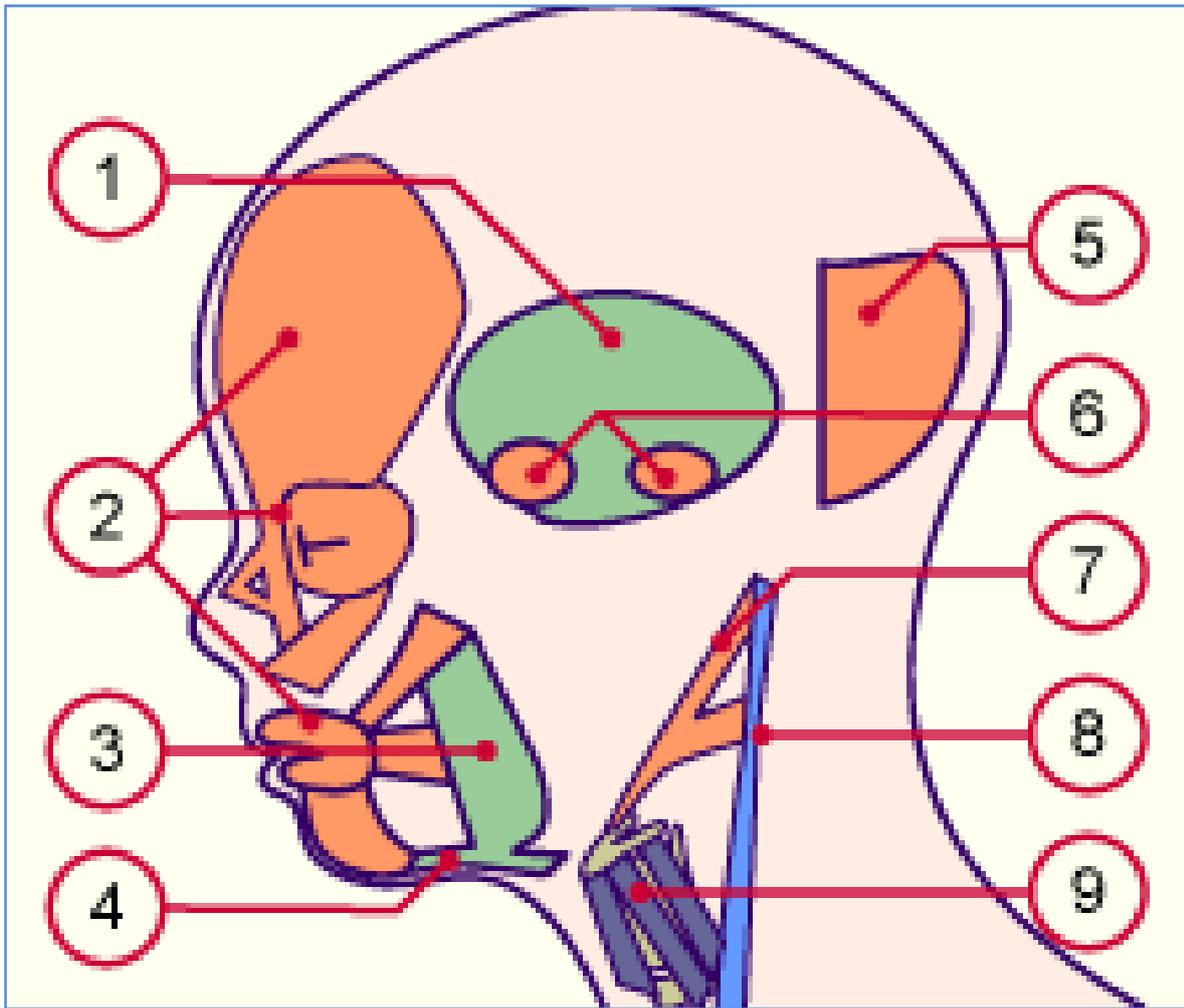


Figure 34 : Schéma de l'extrémité céphalique chez l'homme.

Schéma de l'extrémité céphalique chez l'homme avec l'origine branchiale des différents muscles (D'après le site des Universités de Fribourg, Lausanne et Berne : <http://www.embryology.ch>)

En vert, les muscles issus du premier arc (trijumeau V)

En orange, les muscles issus du second arc (nerf facial VII)

En bleu clair, les muscles issus du troisième arc (nerf hypoglosse IX)

En bleu foncé, les muscles issus du quatrième arc (nerf pneumogastrique X)

1 muscle temporal

2 muscles peauciers de la face

3 **muscle masséter** et ptérygoïdiens

4 ventre antérieur du digastrique et mylo-hyoïdien

5 muscle occipital

6 muscles auriculaires

7 ventre postérieur du digastrique

8 muscle stylo-pharyngien

9 muscles pharyngés et laryngés

Cette caractéristique est commune aux muscles extra oculaires (ayant pour origine les somitomères et pas les arcs branchiaux, mais innervés par des nerfs crâniens) et supposerait une régulation de l'expression des isoformes de myosine par leur innervation spécifique (209).

Ainsi, les propriétés et observations réalisées sur les muscles locomoteurs ne s'appliquent pas forcément aux élévateurs de la mandibule. Les différences sont embryologiques et également fonctionnelles.

3.6 HISTO-EMBRYOLOGIE DES MUSCLES

Une fois la différenciation des cellules mésenchymateuses réalisée sous l'effet des cellules des crêtes neurales, nous voyons apparaître des myoblastes. Ces myoblastes vont fusionner ensemble afin de générer les myotubes. Les myoblastes continueront de fusionner avec les myotubes (32). Les myotubes vont s'hypertrophier, s'organiser et fusionner à leur tour pour enfin donner naissance aux myocytes (33). Inégalement réparties autour des myocytes, les cellules satellites, supposées issues des myoblastes, auront la capacité de participer à la régénération musculaire après un traumatisme (34). Les différents processus de différenciation, de maturation et de fusion sont tous susceptibles de participer à la plasticité musculaire. Concernant les cellules satellites, elles sont capables en culture d'exprimer un phénotype lent ou rapide, elles sont donc totipotentes (134).

3.7 ANATOMIE DU MASSETER

Le masséter fait partie des élévateurs de la mandibule, avec le temporal et le ptérygoïdien médial (178).

Le muscle masséter est court, épais et rectangulaire, tendu de l'arcade zygomatique à la face externe de la branche montante de la mandibule. Il présente trois faisceaux : un profond, un moyen et un superficiel, qu'il convient de distinguer en raison de leur composition différente en chaînes lourdes de myosine (131;132;204;209;237).

3.7.1 FAISCEAU SUPERFICIEL

Il se détache des trois-quarts antérieur du bord inférieur de l'arcade zygomatique et empiète en avant sur l'os zygomatique. Les fibres sont obliques en bas et en arrière et se terminent sur la face externe de l'angle mandibulaire, la partie inférieure et le bord inférieur de la face externe de la branche montante (Figures 35 et 36). Comme nous le verrons dans les « Matériels et Méthodes », le lieu de recueil des fragments de masséter se situe à la face profonde du faisceau superficiel.

3.7.2 FAISCEAU MOYEN DE WINSLOW

Il est en grande partie recouvert par le faisceau superficiel, sauf en arrière. Il s'insère sur tout le bord inférieur de l'arcade zygomatique. Ses fibres sont verticales et il s'insère en bas sur la face externe de la branche montante de la mandibule, juste au dessus du faisceau superficiel. Le faisceau moyen est séparé du faisceau superficiel par un interstice celluleux, sauf en avant et en haut où ces deux derniers sont confondus.

3.7.3 FAISCEAU PROFOND

Il est plus mince que les précédents et naît de la face interne de l'arcade zygomatique ainsi que de la partie attenante de la face profonde du muscle temporal. Ses fibres sont également verticales et légèrement obliques en bas et en dedans, et se termine sur l'apophyse coronoïde de la mandibule, au dessus de l'insertion du faisceau moyen et en dessous de l'insertion du tendon du muscle temporal.

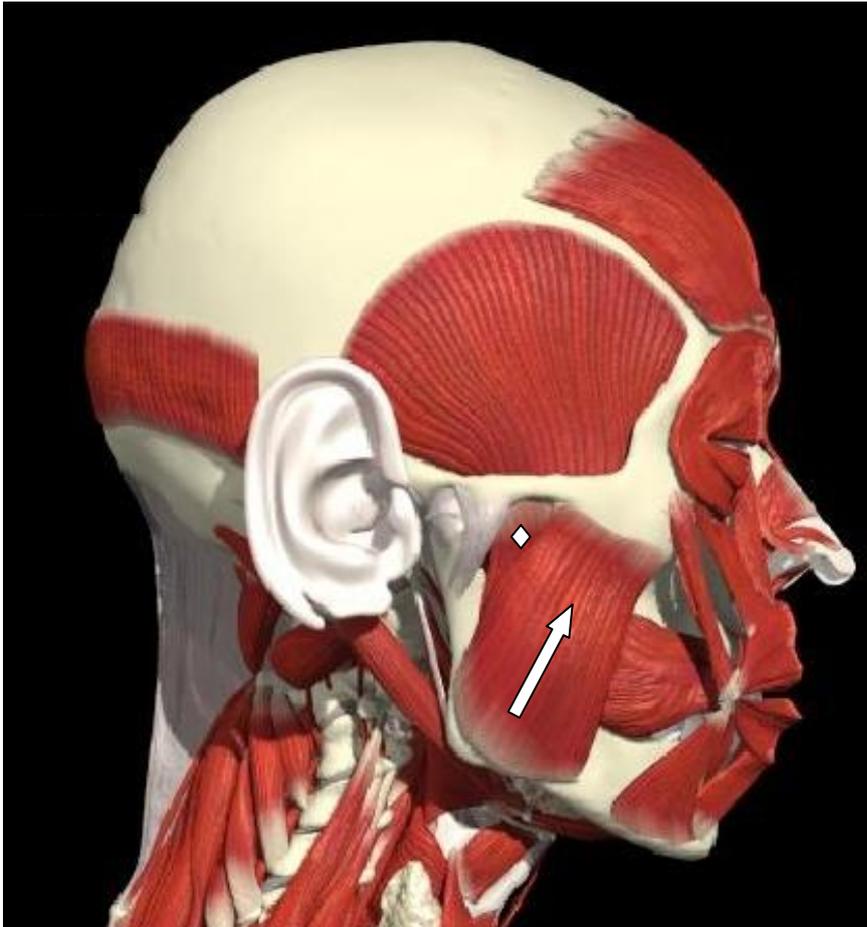


Figure 35 : Vue latérale des muscles céphaliques.
 Le losange blanc indique la partie supérieure du faisceau moyen. La flèche blanche indique la direction de la force lors de la contraction du masséter (D'après www.univadis.fr).

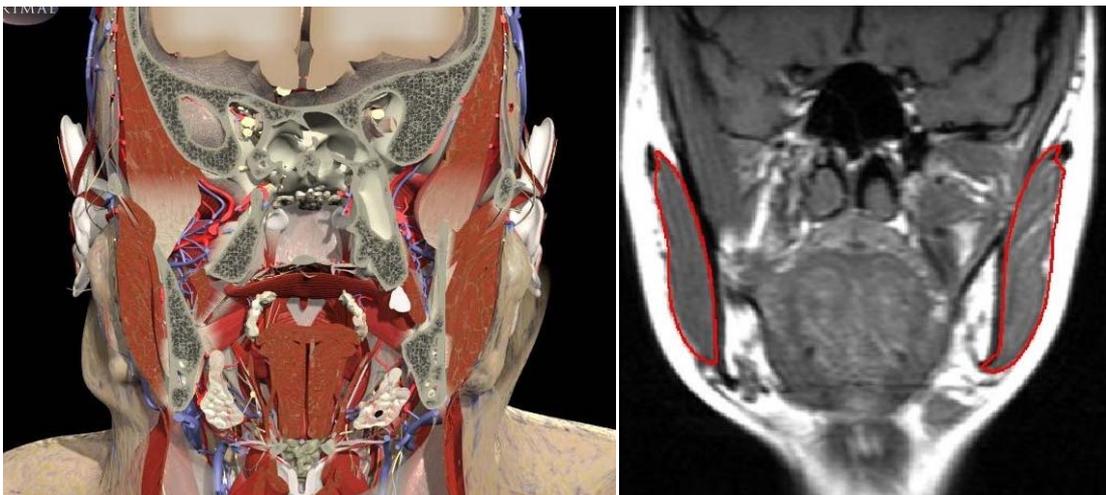


Figure 36 : Coupe coronale des masséters.
 A gauche, aspect schématique et IRM à droite avec les masséters contournés en rouge, permettant d'objectiver leur direction oblique en bas et en dedans (D'après www.univadis.fr).

3.7.5 INNERVATION

L'innervation du masséter est assurée par le nerf temporo-massétéral, qui se détache de la branche mandibulaire du trijumeau (V3), passe par l'échancrure coronoïde et aborde le masséter par l'arrière et le haut où il devient le nerf massétéral, donnant trois branches terminales distinctes pour les trois faisceaux. Une particularité des masséters étant d'obtenir une innervation commandée par les deux hémisphères, permettant, du point de vue théorique, une coordination améliorée (140;145).

3.7.6 VASCULARISATION

La vascularisation du masséter est assurée par l'artère massétérale qui suit le trajet des nerfs. Il s'agit d'une branche de l'artère maxillaire interne. Le masséter est donc comme toute l'extrémité céphalique, un organe richement vascularisé.

3.7.7 ACTION BIOMECANIQUE DU MASSETER

L'action du masséter est caractérisée par l'élévation de la mandibule et une légère propulsion en raison du faisceau superficiel oblique en haut et en avant. Une légère composante de diduction est également présente étant donné sa direction globale légèrement oblique en bas et en dedans (Figure 36, page précédente). Le masséter aura donc une fonction s'inscrivant dans les trois plans de l'espace étant donné les amplitudes de mouvement de l'articulation temporo-mandibulaire. La fine coordination des deux masséters sera indispensable pour assurer un chemin de fermeture précis de la mandibule et le contrôle du cycle masticatoire.

3.8 PARTICULARITES DU MASSETER

Le masséter présente des caractéristiques histologiques singulières aux dépens de sa composition en fibres musculaires, du diamètre des fibres et ainsi que de leur répartition spatiale. L'architecture interne ainsi que les territoires de ses unités motrices sont également particuliers.

3.8.1 COMPOSITION EN FIBRES ET ISOFORMES

Tout d'abord, dans le muscle masséter humain, et de même pour tous les muscles humains, il n'est pas retrouvé de MHC type IIb mais de la MHC de type IIX. Cette constatation est désormais ancienne et nécessite la relecture des travaux initiés avant 1994 qui mentionnaient des fibres de type IIB chez l'homme en raison de leur coloration à l'ATPase (149). Néanmoins, l'ARN messager codant la MHC IIb est retrouvé chez l'homme en quantité très infime, dans le masséter et le muscle oblique externe (85). Les mécanismes de régulation de l'équilibre entre les isoformes de MHC sont complexes. Ainsi, les fibres musculaires de type IIB décrites antérieurement chez l'homme sont à interpréter comme des fibres de type IIX (3;55;207).

Ensuite, chez l'homme, le masséter exprime trois isoformes de chaînes lourdes de myosine supplémentaires (néonatal, atrial ou alpha-cardiaque, et embryonnaire) par rapport aux muscles locomoteurs. Cette particularité d'expression des isoformes néonatale et embryonnaire est retrouvée chez l'animal et l'homme, mais transitoirement. Ainsi, chez le rat, les isoformes embryonnaires et néonatales disparaissent après 4 semaines de vie (108). Concernant l'isoforme alpha-cardiaque ou atriale, elle est l'apanage des muscles striés d'origine céphalique, dont le cœur fait partie (25).

On retrouve de nombreuses fibres hybrides dans le masséter (182;198). Les fibres hybrides résultent de l'association de différentes isoformes. On peut voir des fibres hybrides composées de deux ou trois isoformes différentes (Tableau 4). En comparaison, les muscles locomoteurs contiennent principalement 3 types de fibres définis par leur composition en une ou deux isoformes de chaînes lourdes de myosine : les fibres de type I, de type IIA et de type IIX (14). Les muscles locomoteurs contiennent également des fibres hybrides, mais en quantité très faible par rapport au masséter (Tableau 3). Le muscle masséter peut ainsi combiner deux ou trois (voire plus) des 5 isoformes de chaînes lourdes de myosine qu'il exprime pour constituer jusqu'à huit types de fibres identifiables, qui peuvent même se combiner (néonatal et atrial par exemple). Il est à noter que l'isoforme fœtale est retrouvée en faible quantité, mais qu'elle a une tendance à persister et même à augmenter légèrement dans son expression avec l'âge (209). Par ailleurs, l'isoforme embryonnaire est également présente dans le masséter humain, mais dans des quantités extrêmement faibles et inconstantes (130).

Vastus					
Type de Fibre musculaire selon immunomarquage	I	IIC	IIA	IIAX	IIX
Isoformes de myosine	I	I+IIa	IIa	IIa+IIx	IIx

Tableau 3 : Composition en types de fibres musculaires du vastus.

La composition en chaînes lourdes de myosine est indiquée dans la ligne inférieure après avoir été déterminée par immunomarquage (194;196).

Masséter									
Type de Fibre musculaire selon immunomarquage	I	IM	IIC	IIA	IIAX	IIX	Néonatal	Atriale (α cardiaque)	Néo-Atriale
Isoformes de myosine	I	I+IIa I>IIa	I+IIx	IIa	IIa+IIx	IIx	I+Néonatal	I+Atriale	I+Néonatale +Atriale

Tableau 4 : Composition en types de fibres musculaires du masséter humain.

La composition en chaînes lourdes de myosine est indiquée dans la ligne inférieure après avoir été déterminée par immunomarquage. Globalement, le profil du masséter est dominé par les fibres de type I, suivi par les fibres hybrides, les fibres de type II et les autres (atriale et néonatale) (198).

3.8.2 DIAMETRE DES FIBRES

Dans le masséter, la répartition du diamètre des fibres du plus grand au plus petit est le suivant :

Type I > type IM > type IIX > type atrial > type IIC > type Néonatal > type IIA

Habituellement, dans les muscles squelettiques, on rencontre des fibres de type II de diamètre légèrement supérieur aux fibres de type I et avec un aspect de mosaïque régulière. Ce n'est pas le cas pour le masséter où le diamètre des fibres de type II est très variable, avec une organisation inhabituelle, où de nombreuses fibres de type II de petit diamètre sont organisées ensemble autour d'une fibre de type II de plus gros diamètre (204;237) (Figure 37). Cet aspect physiologique au niveau du masséter serait à interpréter comme un aspect de ré-innervation ou de dénervation au niveau d'un muscle locomoteur (236). En moyenne, les fibres de type II sont plus petites que les fibres de type I dans le masséter (133).

3.8.3 PARTICULARITES DE LA REPARTITION DES CHAINES LOURDES DE MYOSINE DANS LES TROIS CHEFS DU MASSETER

Les auteurs s'accordent sur une distribution hétérogène des chaînes lourdes entre les trois chefs anatomiques du masséter, que ce soit chez l'animal (186;242) ou l'homme (106;132;204;237), et ce depuis la naissance (1). Ainsi, chez l'homme, le muscle masséter possède un profil globalement lent (majorité de fibres de type I), mais avec un nombre plus important de fibres de type II de petit diamètre dans le chef superficiel (qui fait l'objet de nos recueils et de notre étude) et qui plus est, regroupées en amas (figure 37). Quant au chef profond, il posséderait plus de fibres de type I et de fuseaux neuromusculaires (27;209). Il existe donc une grande variabilité intrinsèque du phénotype du masséter entre les différents faisceaux ou chefs du masséter. La composition diffère en fonction de la profondeur étudiée.

Cette constatation est très intéressante mais pose le problème de l'étude du masséter à l'aide de prélèvements de petite taille et à un seul endroit.

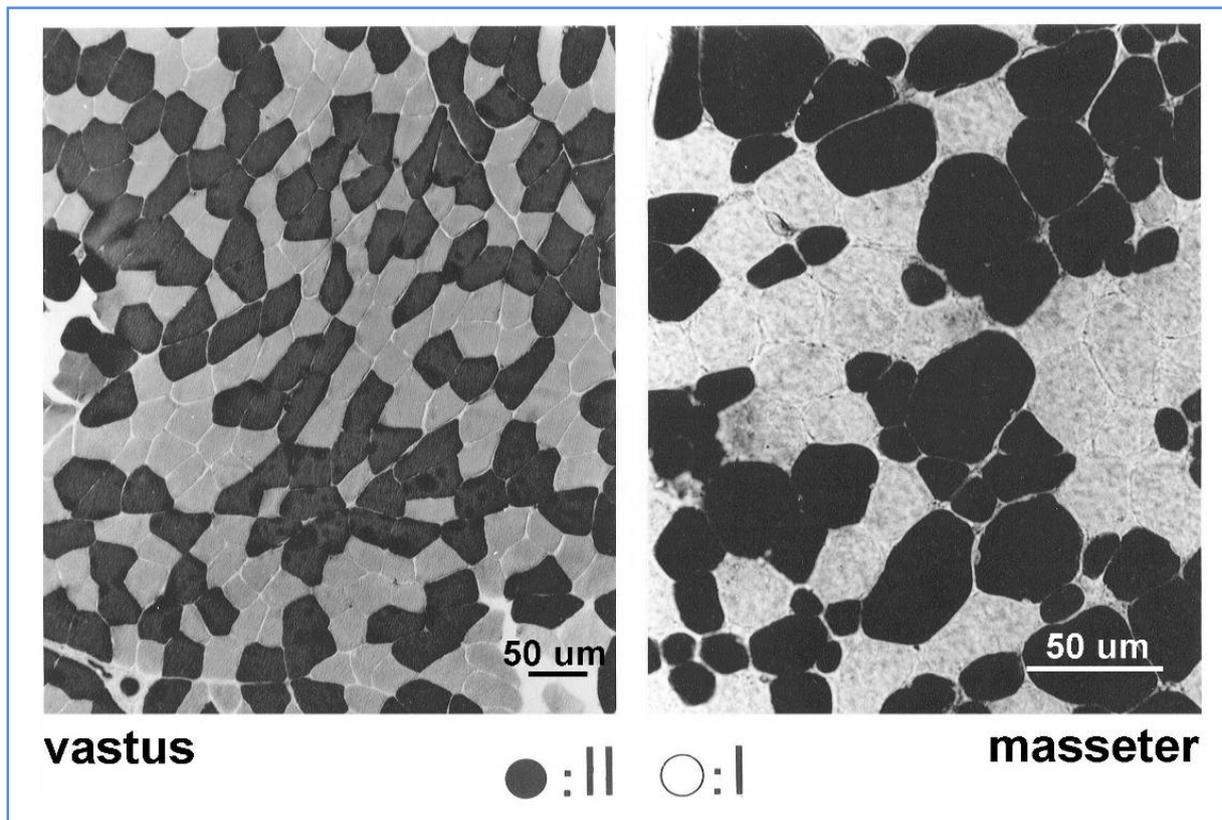


Figure 37 : Aspect comparatif des fibres de masséter et de vastus latéralis humain. Sur des coupes après traitement alcalin et marquage de l'ATPase, en foncé apparaissent les fibres de type II et en clair les fibres de type I. On retrouve l'aspect caractéristique des fibres de type II de petit diamètre organisées autour de plus grosses.

L'autre problème est l'explication de cette variabilité du phénotype au sein du masséter. Le masséter est alors considéré comme beaucoup plus complexe qu'un muscle locomoteur et semble se voir attribué la possibilité d'activation plus ou moins importante de certaines régions en fonction du type de mouvement imprimé à la mandibule. A un degré supplémentaire, on estime que l'activation des différentes unités motrices du masséter sont reliées à des tâches spécifiques (236).

La cinétique mandibulaire est très complexe et très précise, nécessitant la gestion des deux articulations temporo-mandibulaire ainsi que les contacts occlusaux au niveau dentaire.

Il semble ainsi possible que le masséter possède une capacité de contraction étagée et répartie dans son épaisseur pour faire varier finement la course mandibulaire et se synchroniser avec l'ensemble de la musculature responsable du mouvement (élévateurs et abaisseurs de la mandibule) (236). Les mouvements mandibulaires sont très fins, et la proprioception occlusale est très importante, ainsi, il se peut que la structure hétérogène du masséter en soit partiellement dépendante (241). En définitive, l'action du masséter ne se fait pas uniquement dans le sens d'ouverture et de fermeture de la mandibule, mais participe à tous les autres mouvements. L'articulation temporo-mandibulaire possède des degrés de liberté dans tous les sens de l'espace : dans le plan horizontal (propulsion – diduction), dans le plan sagittal (translation, rotation et dé-coaptation) et dans le plan coronal (diduction et dé-coaptation). Ainsi, lors des mouvements d'ouverture et de fermeture, la course mandibulaire et la position de la tête condylienne sont finement adaptées et leur jeu rattrapé par la course des muscles élévateurs de la mandibule.

3.8.4 ORGANISATION ET DIRECTIONS DES FIBRES MUSCULAIRES DU MASSETER

L'architecture du masséter est très complexe, à la différence des muscles locomoteurs. En effet, les fibres musculaires ne sont pas toutes parallèles à l'axe du muscle. En plus des trois chefs, l'organisation interne s'articule sur de très nombreuses aponévroses qui subdivisent le muscle masséter en de multiples compartiments et détermine des sous-unités de petite taille. Le nombre de ces sous-unités est très grand et peut s'illustrer par la très grande proportion de tissu fibreux (18%) retrouvée dans le muscle masséter (234). Ainsi ces sous-unités forment des angles avec les aponévroses sur lesquelles elles s'insèrent. De

plus, l'activation des unités motrices ne se calque pas sur ces sous-unités anatomiques mais définit un volume globalement ovoïde ou elliptique dont le grand axe serait antéropostérieur (76;125) ou vertical (236) mais intéressant de très petits volumes. La limite de ces études étant l'absence de fiabilité dans le repérage tridimensionnel de la déplétion de glycogène sur des coupes bidimensionnelles. Le recours à l'électromyographie de surface ou in situ par aiguille est alors nécessaire mais pas aussi précis que l'histologie.

En position d'intercuspidie maximale, les fibres musculaires du masséter sont globalement orientées en bas en arrière et légèrement en dedans. Des nuances sont à apporter dans le plan coronal et sagittal, et ce pour les trois faisceaux.

3.8.5 VARIATIONS DE LONGUEUR DU MASSETER LORS DES MOUVEMENTS MANDIBULAIRES

Lors de l'ouverture buccale centrée, le masséter se trouve étiré. Etant donné sa position anatomique oblique en arrière et en dedans, cet étirement n'est pas uniforme. La partie la moins étirée se trouve en postérieur et superficiel alors que la partie la plus étirée se situe en antérieur et profond (68). Lors des mouvements de latéralité, le côté le plus étiré est opposé au déplacement latéral et le côté le moins étiré est du côté du déplacement. Cette notion se vérifie en histologie et en IRM (69;70). Ces travaux servent de référence pour l'interprétation des latéro-déviations mandibulaires.

Un degré de complexité s'ajoute au gradient de longueur des fibres musculaires : l'étirement d'une même fibre musculaire ne semble pas uniforme sur toute sa longueur. Ainsi les fibres musculaires semblent avoir une réponse à l'étirement et à la contraction qui ne semble pas uniforme sur toute leur longueur, que ce soit par le biais de l'IRM (68) ou de l'échographie (109).

3.8.6 HETEROGENEITE DE LONGUEUR DES FIBRES ET SARCOMERES DU MASSETER

Dans une première étude de 1992, Van Eijden (235) a déterminé que dans le masséter, la longueur des fibres musculaires en position d'intercuspidie maximum était plus importante dans la région antérieure (30mm) par rapport à la région postérieure (19mm). Un gradient de longueur similaire mais moins prononcé se retrouvait également entre la

région superficielle où les fibres étaient plus longues que dans la région profonde. A l'échelle du sarcomère, il retrouvait le même gradient de longueur, mais beaucoup moins prononcé. Suite à une autre étude en 1997, Van Eijden (234) a infirmé le gradient de longueur des sarcomères qui était alors mesuré à 2,55 μm en moyenne, correspondant ainsi à la longueur au repos, avec des variations non significatives.

Néanmoins, c'est au niveau de la région antérieure du masséter que l'on retrouve le plus grand moment de force et les fibres les plus longues, la longueur des sarcomères étant uniforme.

Il existe donc un gradient de longueur des fibres avec des sarcomères de longueur homogène. La longueur des fibres croissantes d'arrière en avant permet d'uniformiser la longueur des sarcomères durant les mouvements d'ouverture fermeture.

3.8.7 REPARTITION DES UNITES MOTRICES DANS LE MASSETER

Le développement des plaques motrices au sein du masséter ne se font pas d'une manière synchrone durant l'embryogénèse (241). Le développement du masséter et sa structure multicompartimentée ou pluri-fasciculée s'organise avant le développement des plaques motrices. Cette caractéristique renforce la possibilité d'un partitionnement fonctionnel au sein du masséter, différent du partitionnement anatomique.

Les unités motrices du masséter, d'après le repérage électromyographique, ont la possibilité d'une activation différentielle des différents territoires sans asservissement anatomique (125). Ainsi, un compartiment anatomique ne correspond pas forcément à une unité motrice, rendant plus complexe la compréhension et l'analyse des différentes possibilités de contraction des différentes unités motrices. En d'autres termes, la résultante biomécanique de la force due à la contraction du masséter peut facilement et rapidement varier en intensité et en direction sans changement de position de la mandibule (241). Cette caractéristique est primordiale pour le guidage tridimensionnel des excursions mandibulaires et le calage de l'occlusion lors de la mastication. Les unités motrices au sein du masséter contiennent de très nombreuses isoformes de chaînes lourdes de myosine, en tous les cas en proportion plus importante que pour les muscles locomoteurs. Ceci confère aux unités motrices du masséter un véritable continuum de vitesse de contraction, manifestement nécessaire au guidage des fonctions de la mandibule.

Les unités motrices au sein du masséter reçoivent des afférences provenant des deux hémisphères. La nuance se fait au niveau du recrutement des unités motrices qui n'est pas symétrique des deux côtés après stimulation d'un seul côté du cortex moteur (145).

3.8.8 CONCLUSION

En considérant l'ensemble des moyens d'étude du masséter, on retrouve la même notion d'hétérogénéité intrinsèque, avec en résumé un gradient antéropostérieur et de la superficie vers la profondeur. Cette constatation est univoque et objective la nécessité d'une étude réalisée dans les mêmes conditions et surtout au même endroit, le tout sur un grand échantillon de population pour gommer les variations interindividuelles et intrinsèques.

La preuve de la haute complexité de l'architecture, de la composition et de la fonction du masséter est ainsi faite.

3.9 MOYENS D'ETUDE DU MASSETER

3.9.1 ETUDE BIOMECANIQUE

3.9.1.1 FORCE MASTICATOIRE

L'étude de la force maximale développée en intercuspidie maximale est une donnée très intéressante chez les sujets normaux, ou avec un excès vertical antérieur, ou après correction chirurgicale de la dysmorphose (90;160;161;206;209). Il s'agit en effet de la résultante de l'efficacité de la contraction musculaire sur un bras de levier déterminé par : la position, la forme et la taille de la mandibule sur le maxillaire. On d'étudie ainsi la finalité fonctionnelle de toute l'architecture biomécanique de la région crânio-faciale. Des études intéressantes montrent une relation entre la dysmorphose, la taille du masséter et la force occlusale mesurée (163). Il faut par ailleurs noter que l'amélioration fonctionnelle en terme de force occlusale ne se mesure qu'à un an postopératoire (102), renforçant l'utilité d'une surveillance post-opératoire prolongée de la récurrence des dysmorphoses.

Les études ne sont pas toutes concordantes sur la relation entre la force maximale et la typologie faciale. Une récente étude conclut à l'absence de différence significative de force occlusale en fonction des différentes hauteurs faciales sur 51 patients (206).

3.9.1.2 ETUDE DE L'EMG DES MUSCLES ELEVATEURS DE LA MANDIBULE

Il existe une relation entre l'EMG et la force de mastication. Ainsi l'étude est intéressante car non invasive et corrélée à la hauteur faciale (8;30). L'aspect hétérogène de l'électromyographie tridimensionnelle corrobore avec la structure hétérogène du masséter (141). L'EMG permet également d'étudier le contrôle de la posture mandibulaire lors du repos et de la locomotion. Ainsi, les masséters sont en permanence sollicités pour lutter contre la gravité et soutenir la mandibule lors des mouvements brusques de la tête ou du corps (128).

3.9.2 ETUDE EN IMAGERIE

3.9.2.1 ECHOGRAPHIE DU MASSETER

L'échographie apporte une information sensiblement déformée, notamment au repos où la sonde doit s'appuyer sur la zone à explorer. L'avantage est l'innocuité et la possibilité de répéter les mesures. Seules les mesures en contraction maximum sont exemptées de déformation significative lors de la mesure par la sonde. Il est intéressant de constater qu'en cas de contraction maximale, l'épaisseur du masséter n'augmente pas partout, en particulier au niveau de son insertion supérieure où il a tendance à s'affiner. Ceci renforce l'idée de la complexité du mécanisme de contraction de ce muscle en rapport avec sa structure hétérogène (109). En comparaison avec les autres méthodes d'imagerie (IRM et scanner), la fiabilité de l'échographie apparaît acceptable et permet de corrélérer l'épaisseur du masséter avec la force masticatoire maximale (162-164). Néanmoins, le calcul du volume ne renseigne pas directement sur le phénotype.

3.9.2.2 ETUDE SCANNOGRAPHIQUE DU MASSETER

De nombreuses études tentent de réaliser une mesure fiable de l'épaisseur du masséter, surtout en situation pathologique, afin d'observer une différence par rapport au groupe contrôle sain (61). Le problème de ce type d'imagerie sont les radiations qu'elle délivre (bien que relativement faible). On peut étudier le volume complet par reconstruction (111), notamment après chirurgie orthognatique, et constater une atrophie (97) confirmée par l'échographie et l'étude des forces occlusales maximales développées en post-opératoire (102;163). Ces études confirment celles basées sur l'échographie et la force masticatoire maximale. La chirurgie bimaxillaire induit une modification profonde des conditions d'utilisation des muscles élévateurs de la mandibule, d'une part en raison du blocage qui immobilise les muscles, d'autre part avec le traumatisme chirurgical des voies d'abord et décollements sous-périostés et enfin en raison du déplacement des pièces osseuses qui modifient les conditions mécaniques.

3.9.2.3 IRM DU MASSETER

Il est possible d'étudier le volume du masséter grâce à l'IRM. Son épaisseur semble reliée au sexe et à l'âge, et on l'espérerait au type de dysmorphose (162;164). Comme toutes les solutions d'imagerie, on se confronte au problème de l'absence de renseignements sur le phénotype musculaire. Le développement des nouvelles techniques d'imagerie permettra peut-être de connaître plus précisément l'activité musculaire tout comme l'activité cérébrale grâce au traçage de marqueurs biologiques ou la spectroscopie de marqueurs biologiques. Ainsi, l'utilisation de la spectroscopie du phosphore 31 par résonance magnétique permet d'obtenir des renseignements sur la concentration en phosphore inorganique, créatine phosphate et l'ATP (2;31). Concrètement, lors de la contraction musculaire on voit la créatine phosphate diminuer et le phosphore inorganique augmenter, vice-versa lors du relâchement musculaire.

Pour l'instant, on ne peut que faire des appréciations volumiques d'un degré de précision croissant et sans irradier le patient. Tous les auteurs s'accordent sur une diminution nette du volume musculaire en post-opératoire immédiat (48). La détermination du volume du masséter par l'IRM semble être une technique fiable indiquant une relation entre un plus petit volume du masséter chez les « long face » que les « short face », en soulignant l'importance de la hauteur faciale postérieure (16). Le problème étant que le volume musculaire absolu ou relatif ne renseigne pas directement sur la composition en isoformes de chaînes lourdes de myosine.

3.9.3 ETUDE FONDAMENTALE DES MYOSINES

3.9.3.1 MARQUAGE A L'ATPASE

La technique de la myosine ATPase permet de visualiser une réaction colorée dépendante de l'ATPase des chaînes lourdes de myosine. Les différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine possèdent des ATPase sensibles au pH d'une manière différente. Après avoir inhibé spécifiquement une partie des ATPases par un traitement acide ou alcalin, on révélera l'activité des ATPases restantes. Un traitement alcalin (pH 9,4 – 10,4) inhibe l'ATPase des chaînes lourdes de myosine de type I, permettant de révéler l'ATPase des chaînes lourdes de myosine de type II qui n'ont pas été inhibées. Le traitement acide (4,6 –

4,3) inhibe l'ATPase des chaînes lourdes de myosine de type IIa (pH 4,6) et IIx (4,3). Ainsi, lorsqu'on fait réagir l'ATPase après traitement acide, on révèle l'ATPase des chaînes lourdes de myosine de type I, et partiellement celles de type IIx, sauf après pH 4,3. Au niveau du masséter, cette technique se heurte au problème des fibres intermédiaires (IM et IIC) et hybrides (Néonatales, atriales, embryonnaires) qui réagissent partiellement aux différents traitements et ne permet pas de les identifier précisément (173;174;204;237). C'est pour cette raison que l'immunomarquage est très intéressant dans l'étude de la composition des différentes fibres du masséter. De plus, le marquage à l'ATPase est une étude indirecte de la myosine, on étudie son ATPase, cette ATPase étant elle-même spécifique d'une isoforme de chaîne lourde de myosine.

3.9.3.2 IMMUNOMARQUAGE

Cette technique permet d'identifier grâce aux anticorps, la composition en chaînes lourdes de myosine. L'immunomarquage sur coupes sériées est la méthode permettant d'analyser finement la composition en différentes fibres musculaires caractérisées par leur composition en différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine. Il est ainsi possible de détecter spécifiquement les différentes isoformes et surtout leur association dans les fibres hybrides (203). Chaque anticorps est passé sur une coupe adjacente, ainsi en fonction de la coloration prise par la fibre pour chaque anticorps, on détermine par l'intensité de la réaction à chaque anticorps, l'appartenance à un type de fibre. Il s'agit d'une sorte de modélisation tridimensionnelle des différentes fibres grâce aux coupes sériées, permettant ainsi de suivre une même fibre sur plusieurs coupes adjacentes (132). Il s'agit d'une méthode très intéressante et très précise, en particulier pour le masséter qui contient un grand nombre de fibres différentes et hybrides par l'association de plusieurs isoformes de chaînes lourdes de myosine (196).

3.9.3.3 ETUDE DES ISOFORMES DE MYOSINE

3.9.3.3.1 ELECTROPHORESE DES PROTEINES

L'électrophorèse des protéines permet d'étudier la composition en isoformes de myosine d'un échantillon musculaire donné. L'électrophorèse des protéines après

dénaturation par le SDS permet de charger négativement les protéines et de les faire migrer vers l'anode sur le gel de polyacrylamide (10). Les protéines seront séparées en fonction de leur poids moléculaire. Ainsi, comme la myosine de type I migre le plus loin, on dit qu'elle migre plus rapidement. Pour le masséter humain, le profil électrophorétique des chaînes lourdes de myosine est décrit comme étant I, IIa, IIx (ancien IIb) (132;133).

Ce profil sera influencé par la concentration du gel de polyacrylamide. En fonction de cette concentration, certaines isoformes seront plus ou moins bien séparées. D'autre part, en fonction de la concentration des isoformes dans le dépôt, les bandes correspondant à des isoformes minoritaires peuvent ne pas être visualisées. La sensibilité des électrophorèses de bonne qualité est de l'ordre de 5% à 10% de concentration d'une isoforme. Ainsi, il est difficile de mettre en évidence les bandes représentant moins de 5 ou 10% de la composition totale. Il faut ainsi soit sélectionner des échantillons contenant une forte concentration de ces isoformes, ou pratiquer une électrophorèse sur fibres au préalable identifiées par leurs propriétés contractiles, donc contenant une majorité de ces isoformes.

Concernant la position de migration des isoformes fœtales (néonatale) et atriales (alpha-cardiaques), elle est difficile à préciser et dépend de la quantité d'autres isoformes présentes.

3.9.3.3.2 ETUDE DE L'ARN MESSAGER

Après l'étude de la quantité de protéine (isoforme) il est aussi possible d'étudier le message en amont de l'expression protéique. Le maintien ou le changement de phénotype d'un muscle est principalement influencé par la quantité d'ARN messenger codant pour la synthèse des différentes isoformes de myosine. Ainsi, en fonction de la quantité d'ARN messenger produit et de la balance avec sa dégradation, le signal de production protéique est modifié et plus ou moins important. Pour autant, la quantité d'ARN messenger d'une isoforme n'est pas le seul facteur influant sur la quantité de l'isoforme produite, il y a également les phénomènes post-traductionnel tels que la maturation protéique et sa dégradation.

Avant de pouvoir observer un changement notable de phénotype musculaire (glissement d'un profil lent vers un profil rapide par exemple), il est nécessaire d'attendre plusieurs semaines pour voir l'expression complète des protéines au sein des fibres musculaires (renouvellement). Le phénotype musculaire est donc donné par la composition

en isoformes de myosine à un moment donné, mais n'informe pas sur leur évolution ou l'équilibre dynamique de la demande de production. L'étude de l'expression de l'ARN messager codant pour les différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine renseigne sur les besoins des fibres en différentes isoformes, soit pour leur multiplication, soit pour leur renouvellement et leur maintien. Ainsi, on suppose pouvoir connaître plus rapidement le profil biomécanique du muscle, avant même que les protéines ne soient exprimées. Ceci permet de raccourcir la période de latence entre deux examens, lorsque les conditions biomécaniques ont été modifiées et surtout d'obtenir une idée de l'équilibre dynamique.

Cette technique nécessite des fragments de petite taille, mais impose l'extraction de l'ARN, sa purification et son dosage (spectrophotométrie). Ensuite, les extraits d'ARN messager sont transcrits en ADN complémentaire (cDNA obtenu à partir de l'ARN messager) par l'intermédiaire de la Reverse Transcriptase. Ensuite l'ADNc est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide de primers ou amorces correspondant à chaque type de MHC que l'on désire étudier. Les produits de l'amplification ainsi obtenus sont déposés sur un gel (PAGE ou agarose). Après migration, les protéines du gel sont transférées, et la quantification de l'ARN messager de chaque isoforme de chaîne lourde de myosine (type I, type IIa et type IIx) est obtenue par révélation en utilisant un primer marqué, selon la technique du northern-blot. En définitive, on obtient une mesure indirecte de la quantité d'ARN messager codant pour une ou des isoformes données. Cette valeur est interprétée comme semi-quantitative, dans la mesure où la valeur obtenue n'est pas exploitable en tant que telle. Il faut faire le rapport entre deux dosages (avant et après chirurgie par exemple) et déduire ainsi une augmentation ou une baisse du message, soit comparer deux isoformes l'une par rapport à l'autre. Cette technique est surtout utilisée dans des protocoles de recherche permettant un prélèvement per-opératoire (lors de la chirurgie orthognatique) et une seconde, six mois plus tard lors de l'ablation du matériel, afin de connaître la réaction du masséter vis-à-vis du changement majeur des conditions biomécaniques. Une étude de Gedrange portant sur 10 patients, 5 en classe II squelettique et 5 en classe III squelettique, avec dosage de l'ARN messager pour la myosine de type I et de type IIa au moment de l'intervention, et six mois plus tard. Il a mis en évidence une chute allant jusqu'à 87,5% du taux d'ARN messager pour la MHC de type I, mais pas de changement significatif de la proportion ARN messager de type I et IIx (63). La conclusion est la nécessité d'une

rééducation active et précoce pour maintenir le résultat occlusal et éviter une dégradation secondaire. Ce résultat ne confirme pas celui effectué six ans plus tôt sur l'animal avec la transition d'un profil lent vers un profil rapide (64).

Dans une très récente étude, Harzer a exploité 240 biopsies réalisées sur 30 patients, en per opératoire pour une chirurgie orthognatique et à six mois postopératoire. Son étude a porté sur la quantification de l'ARN messenger des isoformes de chaînes lourdes de type IIA, IIX et MHC I, avant et après la chirurgie. La conclusion a été la transition d'un profil lent vers un profil rapide pour chaque patient, corrélé au nombre de contacts dentaires qui ont bien évidemment augmenté considérablement après la chirurgie (78). Il n'y a pas eu d'individualisation de profil particulier en fonction de la dysmorphose initiale qui regroupait pour moitié des classes II et des classes III squelettiques. Une différence significative a été retrouvée entre le côté droit et le côté gauche mais sans notion de latérodéviation ou de hauteur faciale antérieure. L'accent est porté de nouveau sur l'intérêt d'une rééducation de la manducation en post-opératoire.

3.9.3.4 PROPRIETES MECANIQUES DES FIBRES UNITAIRES

Chaque type de fibre musculaire possède une vitesse maximale de raccourcissement spécifique ainsi qu'une tension maximale, en rapport avec sa composition en chaînes lourdes de myosine, mais également possiblement modulée par sa composition en chaînes légères (20;133). Ainsi, la vitesse de raccourcissement des différentes fibres va croissante selon $I < IM < IIC < IIA < IAX < IIX$. Concernant les fibres alpha-cardiaques ou atriales, elles se situent entre les fibres de type I et les fibres de type IIA (195). Concernant les fibres de type néonatal, il y a très peu d'informations sur leurs propriétés mécaniques.

Le calcul de la vitesse de raccourcissement (slack-test) renseigne sur les propriétés mécaniques d'une fibre musculaire donnée. Ces mesures se font sur fibres pelées, après avoir isolé les fibres sous microscope, elles sont montées sur des dispositifs miniaturisés qui enregistrent la force ou la vitesse (V_0) de raccourcissement en présence de solutions de relaxation et d'activation. Ces paramètres sont également assez variables pour un même type de fibre et peuvent nous laisser supposer une régulation complémentaire par les chaînes légères de myosine (18;191;194) ou encore la température (20).

3.9.3.5 INTERET SCIENTIFIQUE DE L'ETUDE DES CHAINES LOURDES DE MYOSINE

L'ensemble des auteurs s'accorde sur le fait que la composition en isoformes de chaînes lourdes de myosine est considérée comme le facteur influençant principalement les caractéristiques mécaniques de la fibre musculaire (153;190;191). En effet, presque un quart de la composition protéique des muscles est représenté par les chaînes lourdes de myosine. Ainsi, en quantifiant les différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine, il est possible de caractériser un muscle en type rapide ou lent, fatigable ou résistant (72;113). Cette position est nuancée en fonction des muscles étudiés et donne une importance croissante (mais pas prépondérante) aux chaînes légères de myosine (18) dans la modulation des propriétés mécaniques. Ainsi, la composition en chaînes lourdes de myosine ne serait pas le seul élément déterminant les propriétés contractiles de la fibre et à plus grande échelle du muscle considéré. Les chaînes légères interviendraient dans la modulation fine des propriétés mécaniques des différentes unités motrices du tissu musculaire (80). A un degré de plus, il serait possible que les chaînes légères essentielles (ELC ou alkali) participent à la création d'un pont, à l'origine d'un contact supplémentaire entre l'actine et la myosine lors de la contraction musculaire. La quantification de l'importance et du rôle de ce pont reste à déterminer et évaluer précisément (229).

La caractérisation de la composition en chaînes lourdes de myosine des divers groupes musculaires taraude l'esprit de nombreuses équipes. En effet, l'enjeu de ces études est d'appréhender au mieux les phénomènes d'adaptation et d'entraînement musculaire afin de les appliquer aux situations pathologiques (dystrophie musculaire, fibromyalgie, myosite...) et extrêmes (apesanteur, compétition sportive, variations de température, hypoxémie...).

La caractérisation de la composition en chaînes lourdes de myosine constitue une des clés de la compréhension de la physiologie et de la pathologie musculaire. La plasticité musculaire est l'illustration de la variabilité de la composition en fibres musculaires.

4 PROBLEMATIQUE

Etudes sur la relation muscle-dysmorphose

La littérature s'est depuis longtemps intéressée à la relation entre la croissance du complexe crânio-facial et les muscles élévateurs de la mandibule. En effet, cette interaction semble logique d'un point de vue intuitif (22;23;89;148). Cette interaction se vérifie dans un certain nombre de situations pathologiques que nous avons passées en revue précédemment dans le chapitre sur la croissance faciale, mais lorsqu'il faut la prouver scientifiquement, on se heurte à la complexité de l'équilibre crânio-facial statique et dynamique, auquel il faut ajouter l'aspect hétérogène du masséter.

La relation de cause à effet entre le phénotype musculaire et la genèse des dysmorphoses n'est pas un fait acquis. Comme cela a été évoqué dans les différents moyens d'étude du masséter, ces travaux ont été menés en utilisant les nouvelles techniques d'imagerie et d'immunohistochimie afin d'explorer plus en détail la régulation et l'expression du phénotype du masséter. Les travaux utilisant uniquement la technique du marquage à l'ATPase donnent des résultats imprécis par rapport à l'immunohistochimie (87;138). En effet, la diversité des fibres du masséter humain ne eut pas être caractérisée précisément.

Lors de précédents travaux que nous avons menés sur une population réduite (respectivement 44 et 72 patients), nous avons pu trouver une relation entre la composition en fibres de type II et la hauteur faciale (165;182). D'autres équipes ont mené des travaux similaires sur des populations plus réduites (18 patients), mais n'ont pas réussi à trouver de relation significative, uniquement une tendance à la plus grande quantité de fibres de type IIA chez les patients à faible hauteur faciale (115).

La problématique demeure, et les investigations sont difficiles à mener étant donné la population concernée. Ces travaux sont menés sur des patients sans pathologie au sens médical (dysmorphose), avec uniquement un retentissement fonctionnel et esthétique, mais absolument pas vital. Le fait de profiter de l'intervention chirurgicale, pour réaliser des recueils de masséter, constitue une opportunité, mais ne s'applique pas à l'ensemble des patients pris en charge pour de la chirurgie orthognatique et ne s'inscrit pas dans un protocole adapté directement à ce type de recherche.

Éléments de plasticité du masséter

Le muscle masséter apparait très inhomogène du point de vue individuel et interindividuel. Son architecture multi partitionnée et ses différents axes biomécaniques rendent ses mouvements complexes (élévation de la mandibule et guidage latéral). Son étroite relation avec les maxillaires est indéniable mais pas totalement systématisée.

Le masséter agit très clairement sur le développement des reliefs osseux sur lesquels il s'insère durant la croissance. Le but étant de connaître le degré d'implication des structures musculaires dans la genèse et l'entretien de la dysmorphose. Il s'agit d'identifier le lien fondamental entre la pathologie et les applications cliniques (88;89).

Du point de vue des conditions de variation de la plasticité musculaire chez les sujets étudiés, tous ont bénéficié d'une consultation spécialisée et d'une consultation de pré anesthésie ne révélant aucune situation pathologique particulière. En particulier, les muscles masséter des sujets étudiés dans ce travail n'ont pas de situation particulière vis-à-vis de leur innervation. Les patients ne présentaient pas de syndrome particulier telle qu'une hémiatrophie hémifaciale ou un Parry-Romberg. Concernant le volet humoral, les patients ne présentaient pas de dysthyroïdie ni de trouble de la croissance (nanisme, acromégalie) ni de traitement par glucocorticoïdes ou de pathologie impliquant ces derniers. Ces patients n'étaient pas non plus traités par des drogues agissant sur la plasticité musculaire. Ces patients ne présentaient pas non plus de conditions particulières d'oxygénation que ce soit de part leur origine géographique ou leurs condition physiologique. La seule différence entre ces patients et la population générale de référence est la dysmorphose dento-maxillofaciale, intriquée avec la qualité des contacts dentaires, les habitudes alimentaires et le schéma masticatoire.

Le but de ce travail est d'analyser le phénotype du masséter de patients présentant des dysmorphoses et de préciser le type de relation entre les deux, les autres facteurs devant être atténués ou lissés par le nombre de sujets.

5 MATERIEL ET METHODES

5.1 CADRE JURIDIQUE DE L'ETUDE

5.1.1 CONDITIONS DE RECUEIL DES FRAGMENTS DE MASSETER

Les patients pris en charge dans le service de Chirurgie Maxillofaciale et Stomatologie du Pr. Ferri, présentent en général des dysmorphoses très marquées. Ces patients bénéficient de chirurgie orthognatique, avec la réalisation d'une ostéotomie sagittale des branches montantes de la mandibule (de type Epker). Cette ostéotomie permet d'avancer ou de reculer l'arche mandibulaire, ainsi que de lui imprimer une rotation et une descente, afin d'obtenir des rapports occlusaux optimums. Il peut être nécessaire de libérer ou de sectionner la sangle ptérygo-massétérierne pour permettre le déplacement adéquat des pièces osseuses (59). Dans d'autres cas, lors de l'utilisation de fraises pour sectionner l'os, ce même périoste se trouve éraillé par l'instrument tournant à haute vitesse. En dernier lieu, lors des manœuvres de décollement sous-périosté et de réclinaison du périoste pour permettre la fracture dirigée, le masséter et son aponévrose se trouvent déchirés (Figure 38).

Dans ces cas, la face profonde du masséter est alors largement exposée, et les fibres musculaires massétérieres sont retrouvées dilacérées dans le champ opératoire (Figure 38). Lors de la fermeture, afin d'éviter que les fragments musculaires nécrosent dans le champ opératoire ou obturent les drains aspiratifs, ils sont recueillis et considérés comme déchets chirurgicaux. Nous avons donc à notre disposition, en fonction des patients, des fragments de face profonde de masséter considérés comme déchets opératoires et éliminés au cours de l'intervention. Dans ce cas nous les conservons pour la recherche afin de constituer une tissuthèque.

Les fragments de muscle masséter se trouvent tous issus de la partie profonde de la région antérieure du faisceau superficiel du muscle masséter en regard de la jonction angle et branche horizontale (Figure 39).

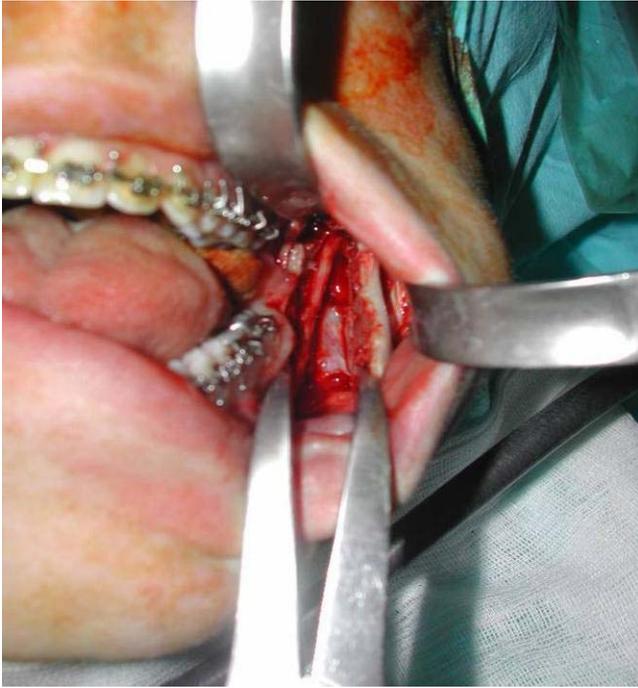


Figure 38 : Vue per opératoire.

Il s'agit d'une fracture dirigée de l'angle et de la branche montante de la mandibule du côté gauche. Entre les deux lames du distracteur de Tessier, en bas, apparaît la face profonde de l'aponévrose du masséter et juste en dessous le masséter faisant issue par dilacération de son aponévrose par le mouvement de valgisation de la pale osseuse externe au bord tranchant.

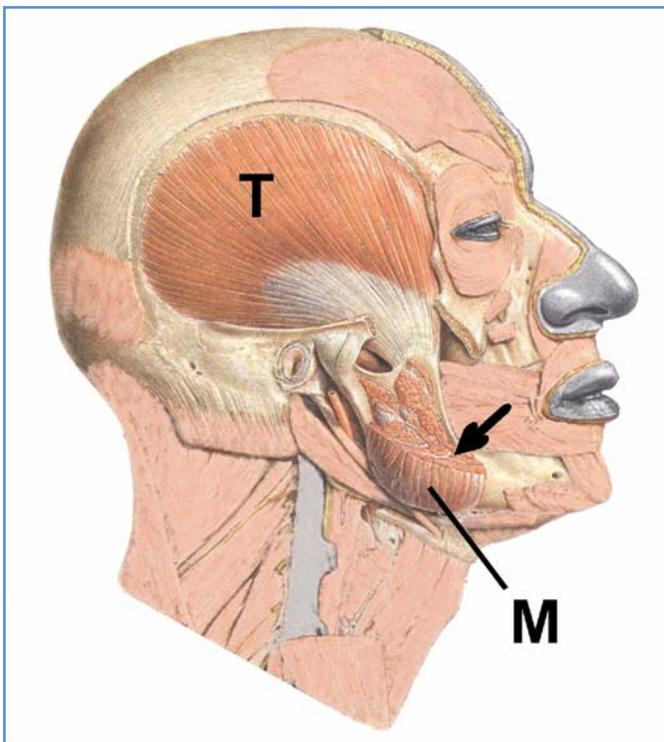


Figure 39 : Situation du recueil de masséter.

Flèche noire au niveau de la face profonde de partie antérieure et inférieure du chef superficiel. M=masséter, T=temporal.

5.1.2 CCPPRB (COMITE CONSULTATIF DE PROTECTION DES PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE BIOMEDICALE)

Afin d'obtenir l'autorisation de prélever des tissus issus de l'intervention chirurgicale, nous avons demandé l'autorisation du Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale de Lille. La réponse a été simple et positive dans la mesure où la technique chirurgicale restait inchangée et qu'il n'y avait pas d'adjonction d'un dispositif ou d'une substance particulière. Il s'agissait en définitive d'un recueil de tissus considérés comme déchets opératoires (Annexe 1).

5.1.3 TISSUTHEQUE

Les fragments de masséter recueillis durant l'intervention nous ont donc permis de constituer une tissuthèque de masséter, chez des patients présentant des dysmorphoses dento-maxillofaciales et nécessitant une correction chirurgicale.

5.1.4 LOI DE BIOETHIQUE 2004-800 DU 6 AOUT 2004

La loi de bioéthique 2004-800 du 6 août 2004 concerne les collections d'échantillons biologiques à des fins autres que diagnostiques, par exemple à la recherche. Cette loi a été mise en application le 8 août 2006. Cette loi prévoit la déclaration de la tissuthèque auprès du ministère de la santé et de la recherche dès lors qu'elle a été totalement constituée. En outre, afin de pouvoir continuer à la constituer, une demande d'autorisation de mise en tumorothèque ou tissuthèque est remplie après information du patient (Annexe n°2). Cette démarche est nécessaire afin de s'assurer de l'absence de refus de la part des patients inclus. Une fois l'ensemble des patients recontactés et ayant donné leur accord, une autorisation exceptionnelle de demande de transport de produits biologiques humains du CHRU de Lille vers le London King's Collège pourra être demandée. En cas de refus de certains patients, le ou les prélèvements concernés seront détruits et non exploités. C'est d'ailleurs la destruction qui a été choisie concernant les restes d'échantillons ayant été analysés à Londres. La poursuite de la collecte pourra également se faire avec demande de mise en tumorothèque avant chaque intervention.

Les patients sont actuellement recontactés au fur et à mesure. Jusqu'alors aucun de ceux qui ont pu être joints ne se sont opposés à l'utilisation des recueils de masséter. Par ailleurs, le fait de les recontacter incite bon nombre de patients à demander une consultation pour d'autres pathologies que la dysmorphose. Les patients sont ainsi revus en consultation pour se voir remettre le papier de demande d'autorisation (mais surtout d'absence de refus) de mise en tumorothèque ou tissuthèque et profiter d'une consultation.

En dernier lieu, si après tentative de contact par téléphone et par courrier, le patient ne s'est pas manifesté, on ne peut pas imposer une recherche plus poussée. Cette absence de contact vaut pour absence de réponse négative et se considère comme un accord. Le double de la demande est alors joint au dossier du patient afin de la lui remettre s'il reprend contact avec l'équipe.

5.1.5 CNIL

Au sein du CHRU de Lille, l'ensemble des listes de patients exploitées en dehors du réseau protégé du CHRU de Lille et de ses applications sécurisées de gestion d'identité des patients (Otalía, Diane, Référence, Sillage) sont déclarées à la CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés) par le biais de la DSIH (Direction du Système d'Information Hospitalier). La déclaration de la présente liste a été faite auprès du DSIH sur leur portail dédié à la CNIL.

5.1.6 FRC

Afin d'harmoniser la démarche et le cadre légal des travaux futurs, la participation de la Fédération de Recherche clinique sera sollicitée. Au sein de la FRC se trouve le CIC, (Centre d'Investigation clinique), apte à prévoir et anticiper les démarches vis-à-vis de l'éthique et des droits et libertés (CNIL). L'ensemble de ces organismes déclaratifs ajoutent des couches supplémentaires de procédure mais sont là pour garantir la réalisation d'un projet en toute légalité et en simplifiant au maximum les démarches pour l'investigateur.

5.1.7 SELECTION DES PATIENTS

Les patients sélectionnés sont issus de la consultation du Pr Ferri et doivent bénéficier d'une correction chirurgicale de leur dysmorphose dento-maxillofaciale. Le seul élément déterminant est la présence de tissu musculaire disponible en peropératoire sans modifier la technique chirurgicale. Il n'était donc pas possible à l'avance de prévoir le recueil de tissu. Ce point peut constituer un biais de sélection, sachant qu'une moyenne de 140 patients sont opérés par an par le Pr Ferri pour des indications de chirurgie orthognatique, et que pour constituer la tissuthèque actuelle de 161 patients, il a fallu presque 10 ans. Ainsi les recueils de masséter ont intéressé moins de 13% des patients pris en charge.

5.2 RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES

Pour chaque patient ayant permis la constitution d'une tissuthèque de masséter, nous avons noté : la date de naissance, le sexe, l'identité, la date d'intervention, le type d'intervention, le côté intéressé par le recueil, le numéro d'identification. Par la suite, seule la date de naissance et la date d'intervention avec le diagnostic sont conservées. En effet, suite aux problèmes douaniers, la liste a été close et aucun autre patient n'a été ajouté.

5.3 RECUEIL DES DONNEES RADIOLOGIQUES

Pour chaque patient, une téléradiographie de profil a été numérisée avec l'échelle. Un panoramique dentaire et/ou une téléradiographie de face ont été également numérisés.

Le diagnostic précis de la dysmorphose a été obtenu selon l'analyse de Delaire. Il existe plus de 300 types d'analyses céphalométriques décrites dans le monde (Archial, Bimler, Ballard, Basus, Bjork, Cagliari, Chieti, Delaire, Downs, Enlow, Gianni, Gudín, Harvold, Jarabak, Mc Gann, Mc Namara, Ricketts, Riedel, Standard, Steiner, Tweed, Wits...). Il est indispensable d'utiliser une analyse céphalométrique afin de pouvoir décrire objectivement la dysmorphose (238). Le choix de leur utilisation est souvent déterminé par une question d'habitude et d'école. Aucune analyse ne prétend être parfaite, et leur utilisation demande une grande habitude avec une parfaite connaissance de leurs limites. Une particularité de l'analyse céphalométrique de Delaire est son orientation pro-chirurgicale, à la différence des

autres analyses qui sont plus axées sur le diagnostic orthodontique (159). L'analyse de Delaire nous semble complète, permettant l'analyse dentaire orthodontique, l'analyse des bases osseuses, le planning chirurgical et la prise en compte des éléments crâniens et rachidiens dans l'analyse de l'équilibre biomécanique de l'extrémité céphalique (144). M. Delaire a développé et fait évoluer son analyse au fil du temps afin de l'affiner (46;126). Afin d'éviter les biais et les imprécisions, l'ensemble des analyses ont été tracées à l'aide du logiciel Tridim (Dentasia software : <http://www.orthalis.com>) dédié à l'analyse de Delaire et tenant compte des dernières mises à jour (45).

La construction de l'analyse céphalométrique de Delaire nécessitera six étapes :

Le repérage des points

Le traçage des lignes crâniennes (C1 à C4)

Le calcul de la prédisposition basi-crânienne

Le traçage des lignes faciales (F1 à F8)

Les points construits

Les lignes dentaires (d1 et d2)

5.3.1 POINTS NECESSAIRES AU TRACE DE LA CEPHALOMETRIE DE PROFIL DE DELAIRE.

L'ensemble des points nécessaires au tracé de l'analyse de Delaire est représenté sur la figure 40 et leur signification est reprise dans la liste suivante :

- M : Métanasion
- Cl_a : Sommet de la clinoïde antérieure
- Cl_p : Sommet de la clinoïde postérieure
- Op : Occipital postérieur
- Ara : Articulare antérieur
- Sc : Sommet du crâne
- Od : Odontoïdien
- Pti : Ptérygoïdien inférieur
- Pts : Ptérygoïdien supérieur
- Atl : Atlas
- FM : Fronto-Maxillaire
- N : Nasion
- Go : Gonion
- NP : Naso-palatin
- ENA : Epine Nasale Antérieure
- la : Apex de l'incisive supérieure
- lb : Bord libre de l'incisive supérieure
- lb : Bord libre de l'incisive inférieure
- ia : Apex de l'incisive inférieure
- Pog : Pogonion
- Me : Menton osseux
- Sy.p : Symphysaire postérieur
- Arp : Articulare postérieur
- Rp : Ramus postérieur
- Ra : Ramus antérieur
- No : Notch, échancrure pré angulaire
- Oclp : Occlusal postérieur
- Ocla : Occlusal antérieur
- V2 : Angle inférieur seconde vertèbre
- V3 : Angle inférieur troisième vertèbre
- Hy : Os hyoïde

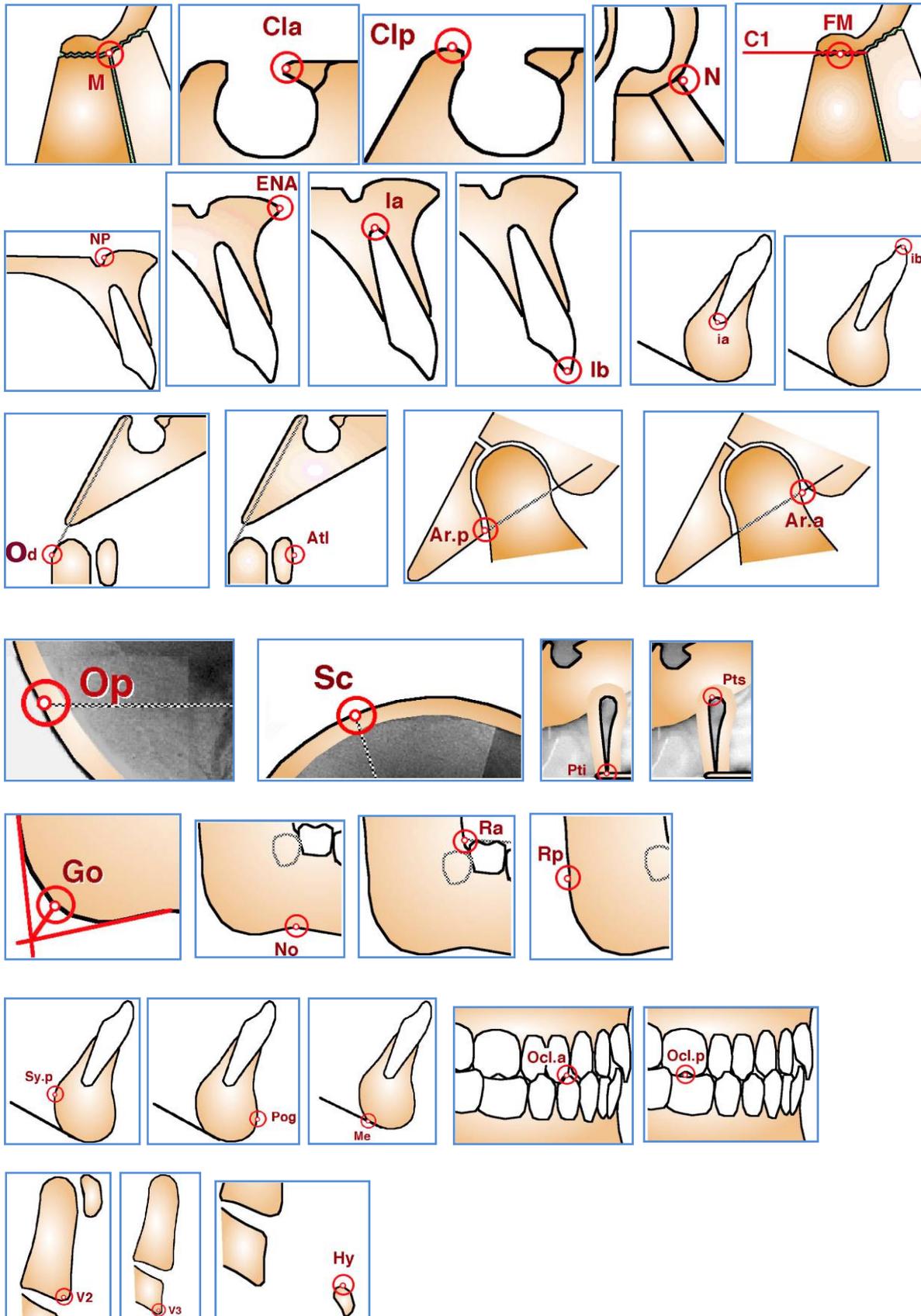


Figure 40 : Les 31 points à repérer sur la téléradiographie de profil.
Ces points servent pour le tracé de l'analyse céphalométrique de Delaire.

5.3.2 LIGNES CRANIENNES

*C1 va de M à Op en passant par le milieu de Cla Clp

*C2 va de M à Oi en passant par Pts, Ara et Arp (Oi est l'intersection de la perpendiculaire à C2 passant par Op)

*C3 perpendiculaire au milieu de C2 à Sc

*C4 va de Clp à Od

5.3.3 CALCUL DE L'ANGLE CRANIO-ADAPTE ET DU CORRECTIF ANGULAIRE

A partir des lignes crâniennes, on calcule la prédisposition crânienne qui donnera l'angle entre C1 et F1. On définit l'angle C1F1 crânio-adapté comme étant la somme de l'angle idéal et du correctif crânio-adapté.

L'angle (C1F1) idéal dépend du sexe et de l'âge du patient :

Pour les femmes 85° quelque soit l'âge

Pour les hommes 85° de 0 à 12 ans

86° à 13 ans

87° à 14 ans

88° à 15 ans

89° à 16 ans

90° au-delà de 17 ans

Sur la base de l'angle idéal, le correctif dépend de l'angle C1C2, de l'angle C1C4, du rapport C3/C2 et du rapport CCF/C2. Les valeurs correctives à appliquer à l'angle idéal déterminé par l'âge et le sexe sont :

L'angle C1C2 normalité de 20 à 22° (angle antérieur de la base du crâne)

+0,5° pour 1° de 22 à 180°

-0,5° pour 1° de 0 à 20°

L'angle C1C4 normalité de 115-120° (angle postérieur de la base du crâne)

-0,25° pour 1° de 120 à 180°

+0,25° pour 1° de 100 à 115°

Le rapport C3/C2 normalité de 78-84% (hauteur du crâne)

+0,25° pour 1% de 83 à 100%

-0,25° pour 1% de 0 à 79%

Le rapport CCF/C2 normalité de 49-51% (largeur du champ crânio-facial)

-0,25° pour 1% de 51 à 100%

+0,25° pour 1% de 0 à 49%

Le calcul de l'angle crânio-adapté détermine une prédisposition du patient à une certaine pression des quatre critères de la base du crâne sur la position de la face. Ainsi, si le correctif est supérieur ou égal à 1°, on a une tendance à avoir une face en avant (transfrontal), si le correctif est inférieur ou égal à -1°, on a une tendance à avoir une face en arrière (cisfrontale), si le correctif est inférieur à 1° ou supérieur à -1°, on a une tendance à avoir une face neutre (orthofrontale).

Nous définissons trois profils :

Ortho-frontal (correctif inférieur à 1° ou supérieur à -1)

Equilibre facial calqué sur l'angle idéal. Par abus de langage, on parle de tendance à la classe I, et pas de tendance basicrânienne à une dysmorphose.

Trans-frontal (correctif supérieur ou égal à 1°)

Equilibre facial positionné en avant de l'angle idéal. Par abus de langage, on parle de tendance à la promandibulie.

Cis-frontal (correctif inférieur ou égal à -1°)

Equilibre facial positionné en arrière de l'angle idéal. Par abus de langage, on parle de tendance à la rétromandibulie.

Ces calculs ont été déterminés sur base statistique de patients. Il est ainsi possible de comparer un patient donné avec un standard de normalité retrouvé dans un large échantillon de population.

Ainsi, dans une classe III, par définition la mandibule est en avant du maxillaire, mais par rapport à F1, la mandibule et le maxillaire peuvent être tous les deux en avant de F1 ou tous les deux en arrière de F1 ou enfin de part et d'autre de F1 (Figure 41).

5.3.4 LIGNES FACIALES

*F1 passe par FM et forme avec C1 un angle calculé précédemment (angle crânio-adapté) en général compris entre 82 et 94°

*F2 passe par Pts et Pti

*F3 parallèle à F2 passant par Arp

*F4 va déterminer la hauteur faciale

Ce paramètre est dépendant de l'ensemble des points tracés, et tient compte de la hauteur du tiers moyen de la face et de la position du rachis pour déterminer la hauteur du tiers inférieur de la face. Idéalement, F4 parallèle à C1, passe par NP – Od - Pti – ENA. Si ce n'est pas le cas, on choisira parmi les différentes options suivantes :

F4 par Np calculé (il s'agit du mode de calcul proposé par défaut par le logiciel et qui donne une valeur consensuelle par rapport aux autres modes de détermination de la hauteur faciale)

F4 par NP-Od (lorsque ces deux points sont alignés ou séparés par moins de 5mm, on prend le milieu des deux)

F4 par Od (lorsque NP et Od sont séparés de plus de 5mm mais que la position de Od donc du rachis semble normale)

F4 par NP (lorsque NP et Od sont séparés de plus de 5mm mais que la position de NP semble normale par rapport à Od qui semble anormal)

F4 par Pti (lorsque la position de NP et OD semble anormale)

F4 par référence à Go (lorsque NP Od et Pti semblent en position anormale, on trace F6 passant par Go et qui coupe F1 en NP théorique, on trace F4 par ce NP théorique)

*F5 est tracée perpendiculairement à C1 de N' à Me' (N' est à 4 millimètres en avant de N sur la parallèle à C1). F5 coupe F4 en ENAt, et la distance Na'-ENAt vaut 45% de Na'-Me', et ENAt – Me' vaut 55% de Na' – Me'. On trace la perpendiculaire à F5 par Me' qui coupe F1 en Met (point menton théorique). Le point menton théorique donne la hauteur faciale antérieure théorique, il ne reste plus qu'à la comparer à la hauteur faciale clinique (FM-Me).

*F6 parallèle à C2 passant par ENAt

*F7 tracée de Met à Got, elle coupe F4 en Om

*F8 tracée de Om à Pto (Pto est l'intersection F2 F6)

5.3.5 POINTS CONSTRUITS

*ENAt : épine nasale théorique, intersection F4 F5

*Met : menton théorique, intersection F1 et perpendiculaire à Me'

*Na' ou N' : situé 3mm en avant de Na ou N sur la parallèle à C1

*Me' : situé sur F5 de telle sorte que N'ENAt représente 45% de N'Me' et ENAt-Me' 55% de N'Me'

*Got : gonion théorique, intersection de F6 et F3

*Pto : intersection de F6 et F2

*Om : intersection de F7 et F4

5.3.6 LIGNES DENTAIRES

d1 : tracée à par de Np à 110° de F4, doit coïncider avec l'axe de l'incisive supérieure en cas de position orthodontique idéale des incisives maxillaires par rapport au maxillaire

d2 : tracée à 90° de No-Me, doit coïncider avec l'axe de l'incisive inférieure en cas de position orthodontique idéale des incisives mandibulaires par rapport à la mandibule

Une fois tracée, l'analyse céphalométrique se présente comme sur la figure 41. Un exemple de classe III open bite est représenté figure 42.

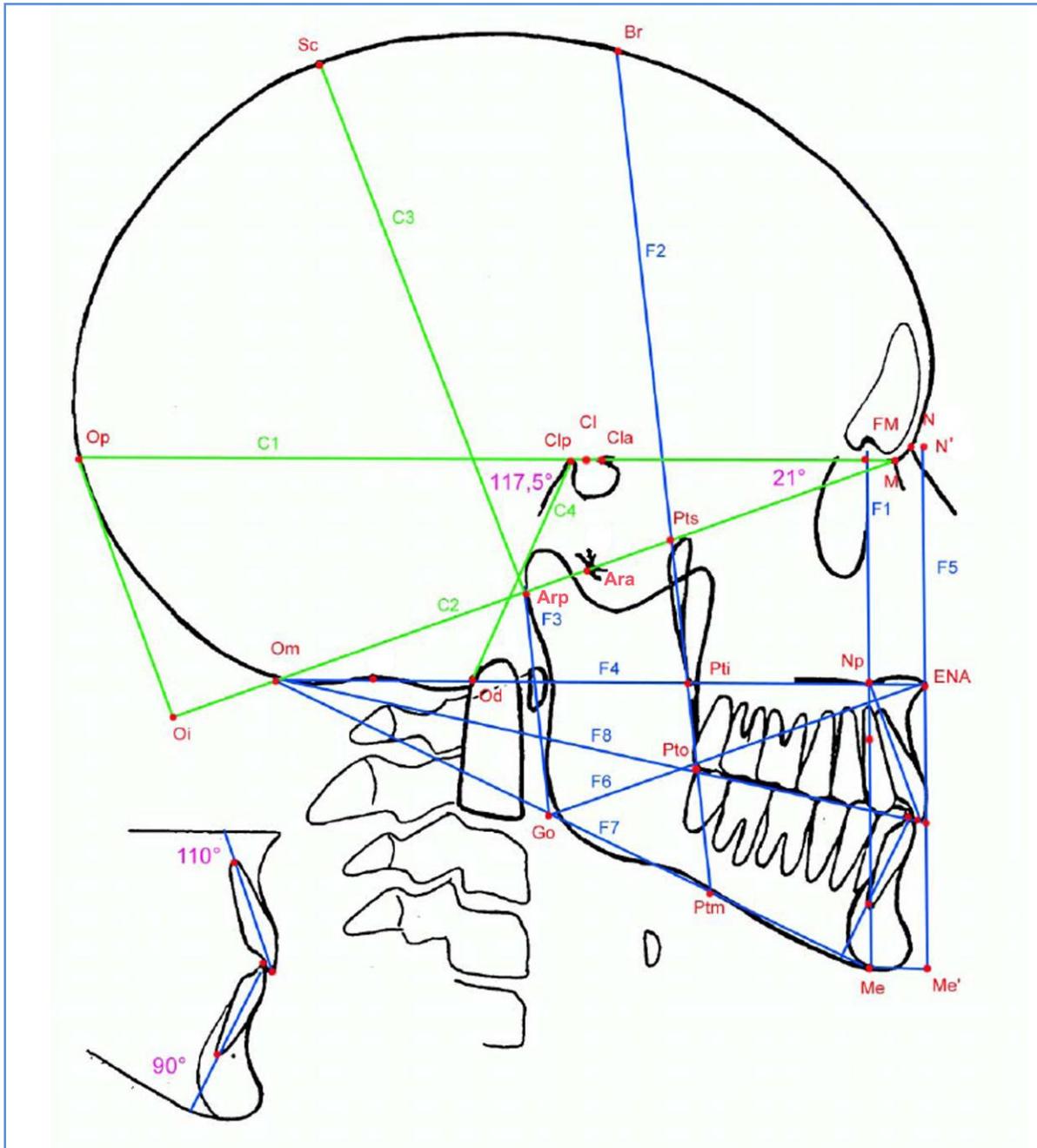


Figure 41 : Exemple de tracé téléradiographique « normal ».

F1 passe par NP et Me, ENA et ENAt sont confondus, Me et Met aussi ainsi que Go et Got. F4 passe par Od, Pti, Np et ENA.

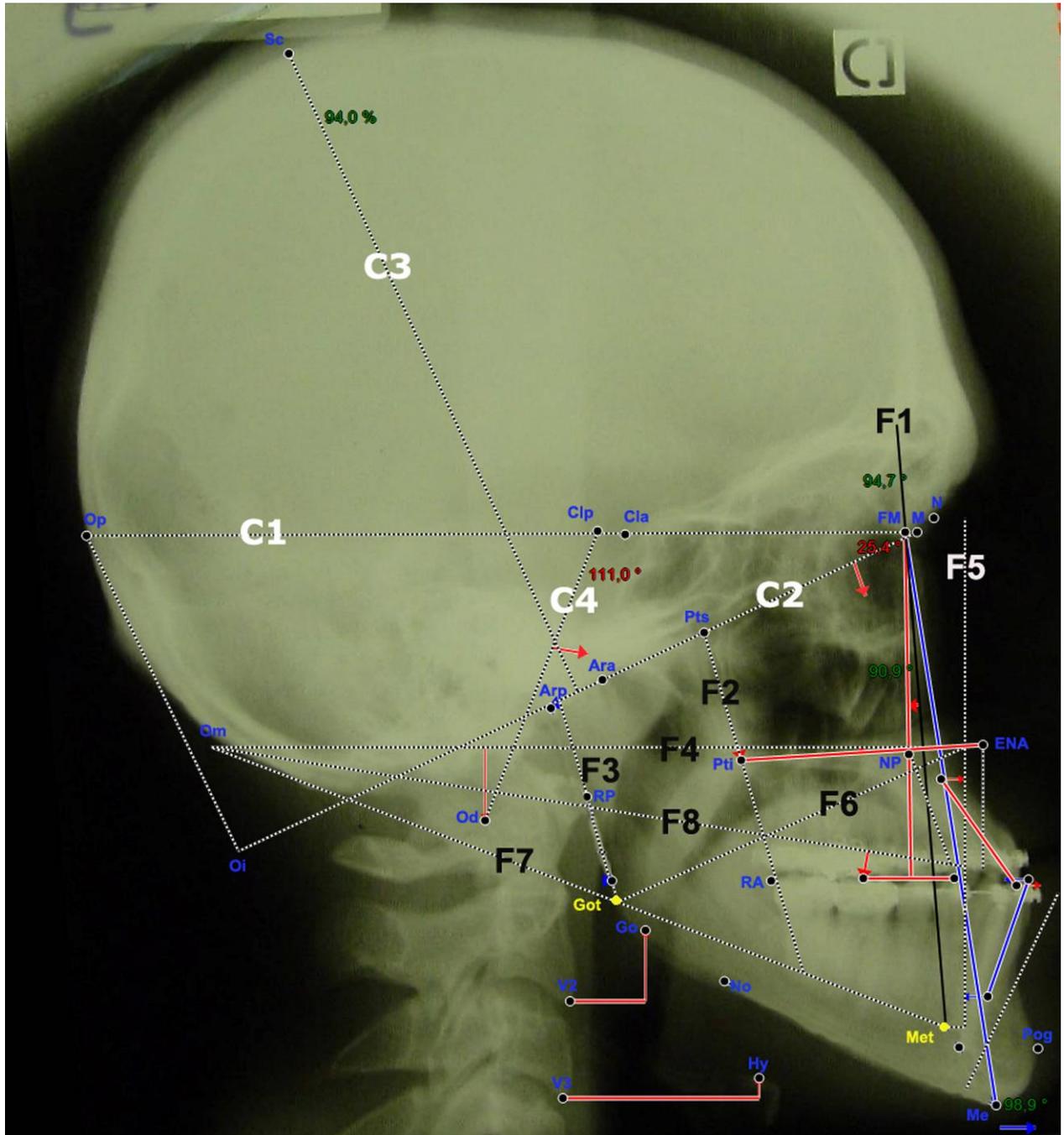


Figure 42 : Exemple de tracé de classe III open bite par rétro-maxillie.
 (ligne rouge FM-NP en arrière de F1) et promandibulie (ligne bleue FM-Me en avant de F1).
 Dans ce cas, F1 (ligne noire) est crânio-adaptée, et se trouve à 94,7° par rapport à C1. L'excès vertical antérieur se note par la différence de longueur entre FM-Me (hauteur constatée) et FM-Met (hauteur théorique).

5.3.7 RESUME DES RENSEIGNEMENTS TIRES DES ANALYSES CEPHALOMETRIQUES

5.3.7.1 DIAGNOSTIC SAGITTAL, CLASSE SQUELETTIQUE

Le diagnostic est exprimé selon l'appartenance à la classe I, classe II ou classe III.

Il s'agit de la position relative du maxillaire par rapport à la mandibule. La classe squelettique se détermine par calcul de l'angle maxillo-mandibulaire (Me-FM-NP). La limite de 1° a été fixée pour tenir compte d'une anomalie :

*Angle inférieur à 1° ou supérieur à -1° classe I (alignement)

*Angle supérieur ou égal à 1° classe II

(mandibule en arrière du maxillaire ou maxillaire en avant de la mandibule).

*Angle inférieur ou égal à -1° classe III

(mandibule en avant du maxillaire ou maxillaire en arrière de la mandibule).

Ce diagnostic est hautement dépendant des points M, FM, Me et NP.

5.3.7.2 LE DIAGNOSTIC VERTICAL ANTERIEUR

Le diagnostic vertical antérieur (openbite – normalbite – deepbite) ou Hauteur faciale antérieure est donné par calcul de la différence entre la hauteur faciale antérieure réelle (FM-Me) et la hauteur faciale antérieure théorique (FM-Met).

Afin de donner une réalité chirurgicale à cette valeur, la limite fixée pour tenir compte d'une anomalie était de 3mm.

Différence (FM-Me) (FM-Met) comprise entre -3 et +3 mm normalbite

Différence (FM-Me) (FM-Met) supérieure à 3mm : openbite

Différence (FM-Me) (FM-Met) inférieure à -3mm : deepbite

5.3.7.3 LA TYPOLOGIE BASICRANIENNE

La typologie basicrânienne est déterminée par le calcul de l'angle crâniadapté :

Ortho-frontal (correctif inférieur à 1° ou supérieur à -1)

Trans-frontal (correctif supérieur ou égal à 1°)

Cis-frontal (correctif inférieur ou égal à -1°)

La position du maxillaire et de la mandibule par rapport à F1 crânio-adaptée

5.3.7.4 LA POSITION DU MAXILLAIRE OU DE LA MANDIBULE PAR RAPPORT A F1

Ce paramètre nous renseigne sur la position absolue de la mandibule ou du maxillaire par rapport à l'équilibre crânien. Il s'agit de la position du maxillaire et de la mandibule par rapport à la ligne F1 crânio-adaptée. On parle alors de pro normo ou rétro-mandibulie. Il en est de même pour le maxillaire : pro normo ou rétro-maxillie. De même, la limite de 1° a été fixée pour tenir compte d'une anomalie :

Normo (angle inférieur à 1° ou supérieur à -1)

Pro (angle supérieur ou égal à 1°)

Rétro (angle inférieur ou égal à -1°)

5.3.7.5 NOMBRE DE CONTACTS DENTAIRES

Après examen de la téléradiographie de face, de profil et du panoramique dentaire, le nombre de contacts a été relevé.

5.3.7.6 LATERO-DEVIATION MANDIBULAIRE

Par l'examen de la céphalométrie de face et du panoramique dentaire, en cas de décalage d'une demi incisive, une latérodéviation a été définie (droite ou gauche).

5.4 ELABORATION DE LA TISSUTHEQUE

Lorsque du tissu musculaire apparaît disponible dans le champ opératoire, les fragments de masséter sont recueillis juste après l'ostéosynthèse (parfois trans-jugale) et donc avant la fermeture et le nettoyage du site opératoire. Les plus gros fragments sont recueillis et peuvent parfois atteindre 120mg, mais en moyenne ils font 60mg. Le ou les fragments sont déposés dans une compresse stérile humide et disposés dans un sachet plongé dans la glace. En moins de 10 minutes, le fragment est acheminé dans le laboratoire de biologie de Lille. Une congélation directe dans l'isopentane refroidi par de l'azote liquide (-196°C) est réalisée.

Juste avant de le congeler, le fragment de masséter est examiné à l'œil nu afin de repérer le sens des fibres. Une fois orienté, le fragment est déposé perpendiculairement à un disque de liège dans de la gélatine fluide ou Tissue-Tek[®] (OCT Optimalk Cutting Temperature). La partie la plus effilée du muscle est en général retirée pour exposer un large diamètre en vue de la cryosection ultérieure. Le petit fragment est conservé en vue de l'électrophorèse et est directement congelé dans l'isopentane sans support (Figure 43). Secondairement ce fragment sera broyé en vue de la réalisation de l'extraction protéique pour l'électrophorèse (Figure 44).



Figure 43 : Le prélèvement de masséter.

Le fragment est orienté, puis son extrémité est sectionnée. Le plus gros fragment à droite est congelé dans l'isopentane à -196°C après avoir été coulé dans de la gélatine fluide ou tissue-tek® (OCT) et perpendiculairement au support de liège en vue de la cryosection et de l'immunomarquage. Le petit fragment à gauche est directement congelé dans l'isopentane en vue de l'électrophorèse des protéines.



Figure 44 : Broyage des muscles dans un mortier refroidi par de la carboglace.

La poudre de muscle ainsi obtenue servira à l'électrophorèse des protéines après extraction.

5.5 ELECTROPHORESE DES CHAINES LOURDES DE MYOSINE

Il s'agit d'une procédure bien codifiée dans le laboratoire (155;157). Les petits fragments de muscle congelés dans l'isopentane sont acheminés dans l'azote liquide puis stockés dans le congélateur -80°C du Laboratoire de Plasticité Neuromusculaire, bâtiment SN4 Université des Sciences et Technologies de Lille 1.

5.5.1 BROYAGE DES MUSCLES

Les échantillons sont broyés dans un mortier refroidi à la carboglace afin d'obtenir une poudre fine et régulière (Figure 44, page précédente).

5.5.2 EXTRACTION DES PROTEINES

Le muscle broyé est ensuite extrait. Dans cette étude, deux types d'extraction ont été utilisés : l'extraction spécifique des chaînes lourdes de myosine et l'extraction globale selon un protocole spécifique au LPN de Lille 1. En effet, suite au premier type d'extraction, les transferts ne fonctionnant pas, la technique d'extraction a été changée et a permis de corriger le problème.

Extraction spécifique des protéines pour les échantillons M1 à M11 (Annexe 3)

Extraction globale des protéines pour les échantillons M12 à M28 (Annexe 4)

5.5.3 DOSAGE DES PROTEINES (ANNEXE 5)

Le dosage des protéines est réalisé après l'extraction.

5.5.4 GEL D'ELECTROPHORESE ET CUVE

Préparation des gels d'électrophorèse de séparation (7,5%) et de concentration (4,5%) est effectuée selon les annexes 6 et 7.

5.5.5 DEPOT DANS LES PUIITS

Suite au dosage des protéines, on dépose un volume adapté pour obtenir 5 µg de protéines par puits.

5.5.6 COLORATION A L'ARGENT TYPE LONG

Le protocole détaillé est fourni dans l'annexe 8.

5.5.7 COLORATION A L'ARGENT TYPE COURT

Le protocole détaillé est fourni dans l'annexe 9.

5.5.8 TRANSFORMATION DU PROFIL ELECTROPHORETIQUE EN DONNEES CHIFFREES

Dans le Laboratoire de Plasticité Musculaire de l'USTL de Lille 1, la procédure est désormais confiée à la suite matérielle et logicielle Biorad[®] (GS-700 Imaging Densitometer, Biorad[®], Ivry sur Seine, France). Ce procédé permet de scanner les gels colorés à l'argent à l'état frais et de quantifier la densité optique des différentes bandes retrouvées sur le gel. Pour la lecture de ces profils protéiques, nous nous sommes basés sur le marqueur connu (VL vastus latéralis), appuyés sur la littérature et l'expérience du laboratoire pour déterminer l'identité des bandes. En bas, nous retrouvons la bande la plus rapide correspondant à l'isoforme type I, au dessus l'isoforme type IIa et enfin, la plus lente, l'isoforme IIx (Figure 45).

L'utilisation d'une suite matérielle et logicielle dédiée de type Biorad[®] a été validée par de nombreuses équipes pour sa sensibilité et le caractère vérifiable des données enregistrées sous un format natif sans retouche d'image (215). En effet, les autres méthodes ont recours à une numérisation et une retouche d'image qui sont réalisées par l'opérateur et peuvent être sujettes à critiques dans la mesure où elles ne sont pas vérifiables. La méthode retenue est la sélection des bandes par surfaces rectangulaires en regard des bandes de migration des MHC I, IIa et IIx, ainsi que du bruit de fond dans le puits qui sera soustrait (Figure 45). Les résultats sont exprimés en volume de densité optique après soustraction du bruit de fond. Les résultats sont exportés sous forme de tableurs pour leur exploitation.

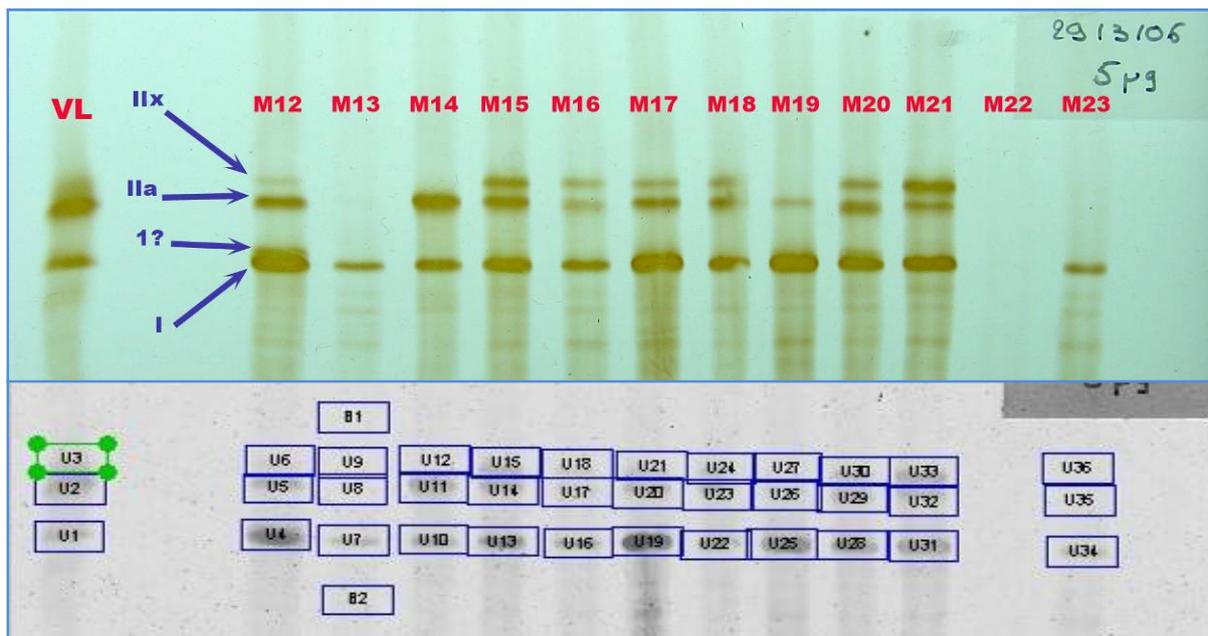


Figure 45 : Transformation du profil électrophorétique en données chiffrées.

En haut une photographie du gel, en bas le résultat une fois scanné avec le repérage des bandes pour calcul de la densité optique à l'aide du logiciel Biorad®. M12 à M23 représentent les différents échantillons de masséter. En bas, de U1 à U34 les aires correspondent aux bandes identifiables (I, Ila, Iix successivement). B1 et B2 sont les aires servant au calcul du bruit de fond.

5.6 WESTERN-BLOT

5.6.1 TRANSFERT SUR MEMBRANE DE NITROCELLULOSE EN MILIEU AQUEUX

Le protocole détaillé est fourni dans l'annexe 10.

5.6.2 TRANSFERT SUR MEMBRANE DE NITROCELLULOSE EN MILIEU SEMI-SEC

Le protocole détaillé est fourni dans l'annexe 11.

5.6.3 ANTICORPS PRIMAIRE

Après la fin du transfert (quelle que soit la méthode employée, semi-sec ou aqueux), la membrane est saturée au Blotto (Annexe 10 ou 11) pour une période d'au moins deux heures.

Puis on réalise trois rinçages de 10 minutes dans le PBS (Annexe 10 ou 11).

Ensuite on fait réagir l'anticorps monoclonal primaire pour une nuit, à la concentration adaptée et à température ambiante (Tableau 5).

La membrane est scellée dans deux feuilles plastifiées et mise sur agitateur avec un rouleau, permettant d'utiliser un volume restreint de solution d'anticorps primaire et d'éviter la déshydratation de la membrane.

Puis trois rinçages de 10 minutes dans le PBS (Annexe 10 ou 11) sont réalisés.

5.6.4 ANTICORPS SECONDAIRE BIOTINYLE

Ensuite on fait réagir l'anticorps secondaire biotinylé.

Dans notre cas, il s'agissait de l'Anti Mouse Immunoglobulin Biotin Conjugate B6398 de chez Sigma, dilué au 1/500 (20µl dans 10ml) dans une cuve sur agitateur pour 1 heure à température ambiante. Tous nos anticorps primaires ayant pour hôte la souris, l'anticorps secondaire est resté inchangé.

Puis trois rinçages de 10 minutes dans le PBS (Annexe 10 ou 11) sont réalisés.

Anticorps (Fournisseur)	Hôte	Isoforme de myosine	Concentration utilisée	Références (17;41;67;117;137;155;190 ;198)
MHC-Slow (Sigma France)	souris	I	1/500	<i>Picquet et al., (2005)</i>
SC-71 (DSM Germany)	souris	Ila	1/500	<i>Schiaffino et al., (1989)</i> <i>Gorza, (1990)</i>
BF-34 (DSM Germany)	souris	Néonatale	1/400	<i>Borrione et al., (1988)</i>
My-32 (Sigma France)	souris	Ila IIb IIx	1/1000	<i>Naumann et Pette (1994)</i> <i>Sciote et al., (1994)</i>
NCL-Dev (Tebu/ Novocastra France)	souris	Embryonnaire	1/250	<i>Davis et al., (1991)</i>

Tableau 5 : Liste des anticorps primaires utilisés pour la réalisation du western-blot.

5.6.5 AGENT TERTIAIRE

Dans notre cas il s'agissait de l'extravidine peroxydase conjugate E8386 de chez Sigma dilué au 1/500 (20µl dans 10ml) dans une cuve sur agitateur pour 1 heure à température ambiante et dans l'obscurité (Figure 46). Deux derniers rinçages de 10 minutes dans le PBS (Annexe 10 ou 11) sont effectués. Au terme de ce processus, il ne reste plus qu'à réaliser la révélation.

5.6.6 REVELATION

La révélation a été faite par la technique de l'ECL (Enhanced Chemi Luminescence) Amersham Biosciences. Les deux composants (solution détection 1 et 2) sont mélangés à quantités égales (5ml + 5ml) dans une chambre noire. La membrane est incubée dans le mélange durant quelques minutes. On place la membrane dans un film plastifié, protéines vers le haut et on la dispose au fond de la cassette. On applique le film auto radiographique (hyperfilm ECL) découpé à mesure sur la membrane. On referme la cassette et on expose par paliers de 15 à 30 secondes tout en développant au fur et à mesure les films auto radiographiques précédemment exposés. On tente ainsi de réaliser l'image la plus nette possible. L'ECL réagit plus de 20 minutes.

Le développement des films auto radiographiques est réalisé classiquement selon la séquence révélation, rinçage, fixation, rinçage et séchage. Le profil des clartés révélées sur les films est superposé au profil électrophorétique connu et au marqueur afin d'identifier les différentes bandes.

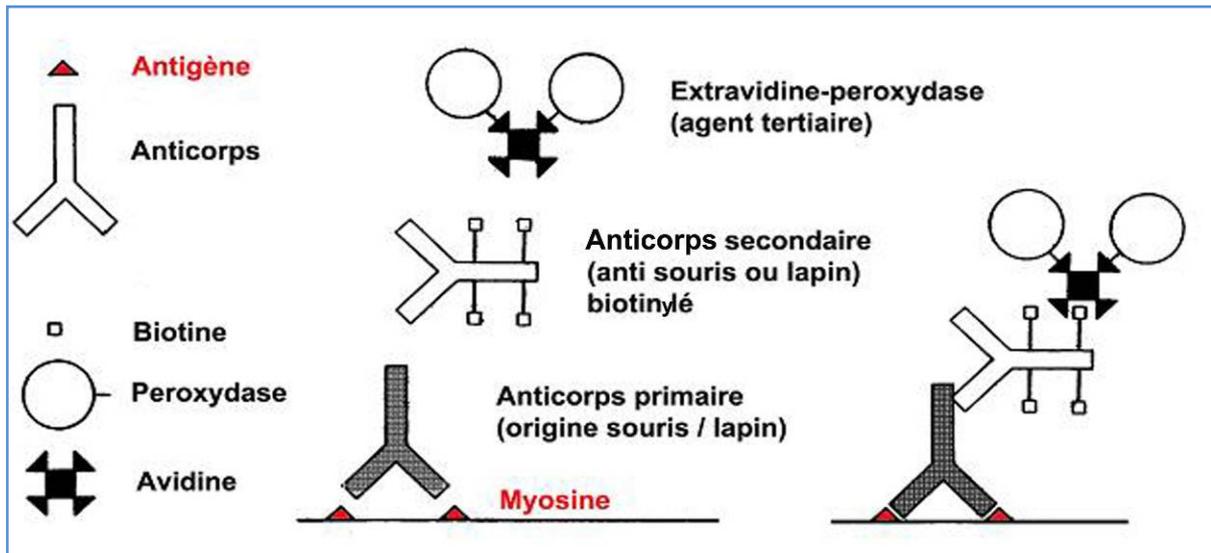


Figure 46 : Principe des trois agents réactifs du western-blot.

La myosine (chaînes lourdes) est fixée sur la membrane de nitrocellulose après transfert, l'anticorps primaire se fixe spécifiquement sur l'isoforme recherchée. L'anticorps secondaire biotinylé se fixe sur l'anticorps primaire (synthétisé par la souris ou le lapin). L'agent tertiaire se fixe à la biotine et expose l'extravidine-peroxydase qui sera révélée par l'ECL.

5.7 IMMUNOMARQUAGE

L'immunomarquage des coupes de masséter a été précédemment décrit et sa technique reste inchangée afin de garder des résultats homogènes dans la population au fur et à mesure de leur élaboration (165;182;197;198).

5.7.1 TRANSFERT DES RECUEILS DE MASSETER

Les masséters recueillis lors de l'intervention sont conservés dans des tubes dans un congélateur à -80°C du centre de biologie du CHRU de Lille, avec le numéro d'ordre de prélèvement attribué au patient. Une à deux fois par an, ils sont acheminés par TGV dans de la carboglace, au london King's College pour réalisation de l'immunomarquage.

5.7.2 CRYOSECTION

Une fois réceptionnés par le Dr Rowleron, ils sont comptabilisés, référencés et sectionnés au cryotome à 10µm d'épaisseur. Les coupes sont montées sur lame avec du biobond®. De nombreuses coupes sont réalisées afin d'obtenir au moins une série de 5 contiguës et de bonne qualité.

L'ensemble des coupes est examiné sous microscope et sont rejetées toutes celles qui ne sont pas de bonne qualité : fibres non perpendiculaires à la coupe, artéfacts, souillage, cristallisation ou trop faible surface exploitable.

5.7.3 INCUBATION DES ANTICORPS ET REVELATION

Le principe est identique au western-blot avec la séquence anticorps primaire, anticorps secondaire et agent tertiaire avant la révélation (Figure 46, page précédente).

Un trait de crayon hydrophobe circulaire délimite la coupe.

L'anticorps primaire est déposé à la pipette sur toute la surface de la coupe et jusqu'au en haut du trait de crayon. La liste des anticorps utilisés est détaillée dans le tableau 6. Il n'y a pas eu d'anticorps anti MHC embryonnaire utilisé dans ce cas, en raison de sa très faible représentation dans le muscle masséter humain.

Anticorps (Fournisseur)	Espèce hôte	Isoforme(s) de myosine identifiée(s)	Type de fibres identifiées	Références (17;67;137;189;190;195;198)
MY-32 (Sigma)	Souris	Ila, IIb, IIx,	IIA, IIB, IIX, IIAX	Naumann et Pette 1994, Sciote et al., 1994
BA-F8 (BSM Germany)	Souris	lentes	I	Borrione et al., 1988
SC-71 (DSM Germany)	Souris	Ila	IIA	Schiaffino et al., 1989 Gorza, 1990
Anti-atrial MAS 366 (Sera Lab, UK)	Souris	atriale (α -cardiaque)	Atriale	Sciote et al., 1994, Sciote and Kentish 1996
Anti-néonatal (polyclonal selon Scapolo et al, 1991)	Lapin	Néonatale	Développementales	Scapolo et al., 1991 Sciote et al., 1994

Tableau 6 : Liste des anticorps utilisés pour l'immunomarquage.

Cet immunomarquage est réalisé sur coupes sériées de masséter. Tous les anticorps sont d'origine monoclonale et de souris, seul le dernier (anti-néonatal) est polyclonal et ayant pour origine le lapin.

Anticorps	Type de fibre							
	I	IM	IIC	IIA	IIX	Néonatale	Atriale	Autres
anti-I	++	++	+	-	-	+/-	+/-	+/-
anti-II	-	+/-	+	++	++	++	+/-	+/ ++
anti-IIa	-	+/-	+/-	++	-	+/-	+/-	+/-
anti-néonatale	-	-	-	-	-	+	-	+
anti-atrial	-	-	-	-	-	-	+	+

Tableau 7 : Classification des fibres par l'intensité de l'immunomarquage.

La gamme de réaction varie de très forte à absente. Le repérage se fait par code de réaction positif et négatif pour chaque type de fibre. Il s'agit d'une étape très longue et fastidieuse. La catégorie « autres » regroupe les fibres hybrides néonatales atriales embryonnaires et non classifiables par ailleurs.

L'anticorps primaire incube durant deux nuits et un jour à température ambiante, dilué à concentration adaptée (1/200 BAF8 – SC71, 1/1500 anti-atrial, 1/5000 anti-néonatal, 1/6000 My 32) dans un petit container étanche pour éviter l'évaporation.

Trois rinçages de 5 minutes sont effectués au PBS-Tween20 (PBS 0,01M, 0,9% NaCl à pH 7,5 et 0,0025% de polysorbate 20). Un rinçage rapide à l'eau distillée.

L'anticorps secondaire biotinylé est incubé dans les mêmes conditions que le primaire. A ce stade, il faut absolument veiller à mettre l'anticorps secondaire biotinylé approprié au primaire (souris ou lapin). La durée est d'une nuit pour une concentration de 1/100 (anti-mouse) ou 1/400 (anti-rabbit) en fonction de l'anticorps primaire.

Trois rinçages de 5 minutes au PBS-Tween20 et un bref à l'eau distillée sont effectués.

L'agent tertiaire est mis à son tour, l'extravidine-peroxydase à 1/100 qui se lie sur l'anticorps secondaire, durant quelques heures.

Trois rinçages de 5 minutes au PBS-Tween20 et un bref à l'eau distillée sont effectués.

La réaction colorimétrique finale est obtenue grâce au mélange : PBS + H₂O₂ (1 goutte pour 20ml) + DAB (Diamino benzidine à 0,5mg/ml). La réaction se fait en dix minutes. Dès que la réaction est obtenue, on rince à l'eau distillée, on déshydrate à l'alcool et au xylène (Depex mounting medium) et on met sous lamelle.

5.7.4 NUMERISATION DES COUPES

Les coupes sont examinées sous microscope (Nikon labophot) au grossissement 10X relié à une caméra (système VIDS-V jusqu'en 2005 puis Moticam 2000), un ordinateur (sauvegarde des images et mesure des surfaces des fibres identifiées), une tablette graphique (contour des fibres identifiées) et une imprimante.

Plusieurs critères sont à vérifier pour inclure les coupes dans l'étude :

* Les coupes choisies doivent permettre de suivre toutes les fibres à analyser sur les cinq coupes successives afin de les identifier par leur réaction variable aux cinq anticorps différents. En moyenne 170 fibres sont analysées sur chaque coupe (extrêmes de 70 à 300).

*L'immunomarquage doit être de bonne qualité sur l'ensemble des coupes et ne doit pas révéler de réaction croisée anormale.

*Les coupes doivent être bien perpendiculaires aux fibres pour ne pas fausser les calculs de surface.

*Les coupes contenant des fuseaux neuromusculaires ou du tissu conjonctif sont écartées.

5.7.5 IDENTIFICATION DES FIBRES

Une fois sélectionnées, les aires à analyser sont photographiées avec une échelle pour la calibration et imprimées (Mitsubishi P66B). L'identification commence avec l'étude de l'intensité de la réaction pour chaque fibre en fonction de l'anticorps considéré (tableau 7 page 166). Chaque fibre doit appartenir à l'une des huit catégories avec certitude.

Ensuite les fibres sont délimitées pour que leur surface soit calculée (logiciel scion image : www.scionsorp.com). Chaque fibre porte un numéro et sa surface est calculée par le logiciel scion-image, et il lui est attribué l'appartenance à un type de fibre (Figure 47).

5.7.6 ORGANISATION DES DONNEES

Les données sont alors organisées par colonnes dans un tableur. Pour chacune des huit catégories (type I IM, IIC, IIA, IIX, Néonatale, Atriale, Autres) les différentes aires calculées sont mises l'une sous l'autre. La catégorie « autres » regroupe les fibres associant les isoformes néonatale et atriale ou embryonnaire.

Pour chacune des huit catégories, on calcule :

Le nombre de fibres

La surface moyenne d'une fibre

L'intervalle de confiance

La déviation standard

Le pourcentage relatif de chaque catégorie par rapport aux autres.

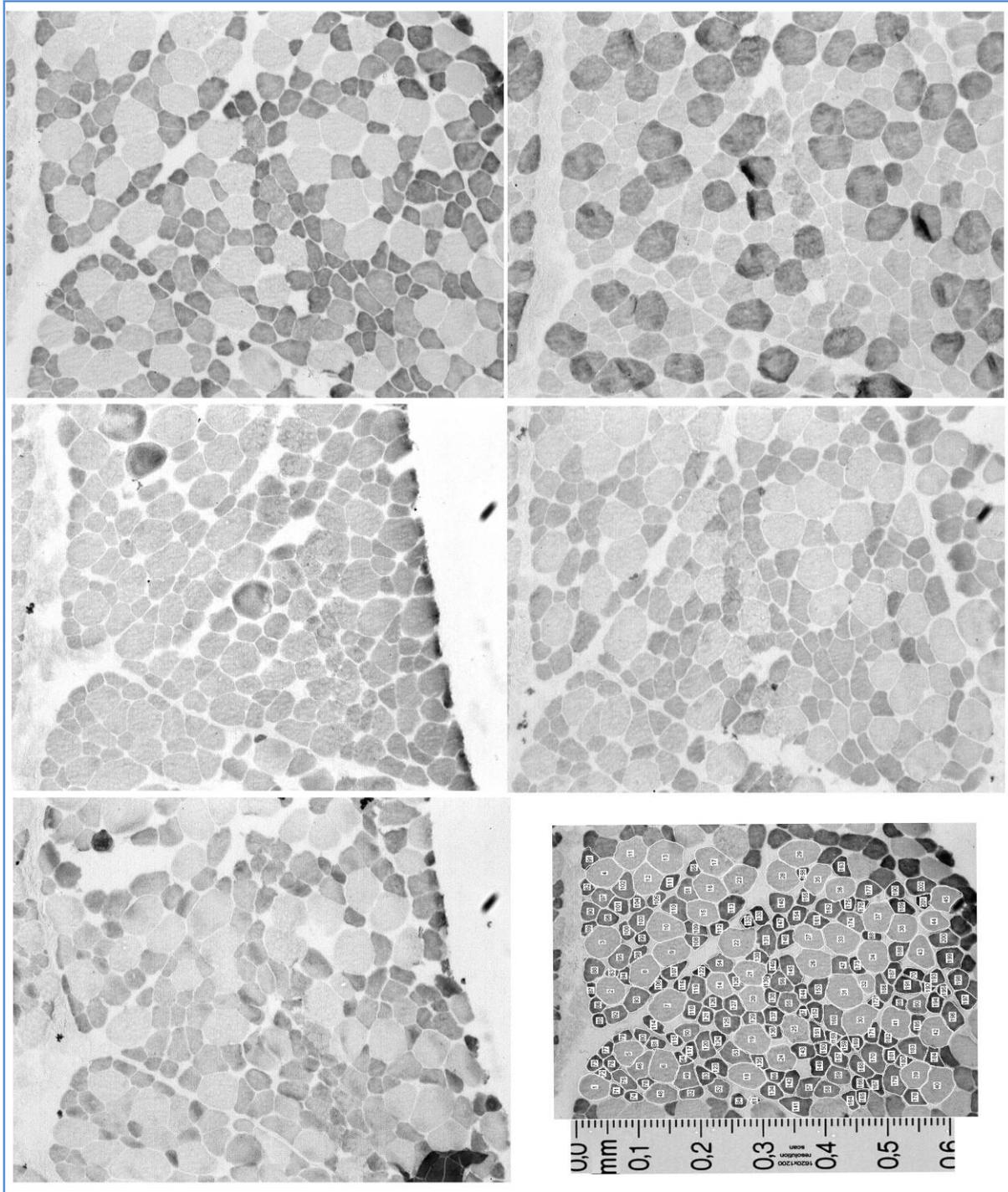


Figure 47 : Exemple de 5 coupes successives ayant subi l'immunomarquage.

En haut à gauche : anti-fast (My-32),

Au milieu à gauche : anti-néonatal,

En bas à gauche : anti-atrial (MAS 366).

en haut à droite : anti-I (BA-F8),

au milieu à droite : anti IIa (SC-71).

En bas à droite on voit l'image en

cours d'analyse avec l'échelle, chaque fibre délimitée et numérotée. Cet exemple illustre la difficulté d'identification. Il est intéressant d'observer l'aspect caractéristique du masséter humain avec la grande taille des fibres de type I par rapport à celles de type II qui sont en général plus petites, sauf pour certaines qui sont plus grandes et entourées de petites.

Pour des raisons pratiques (catégories parfois vides) et physiologiques (propriétés mécaniques proches), on regroupe ces 8 types de fibres musculaires en 4 classes selon le schéma suivant :

Type I	(fibres de type I) (fibres lentes)
Type hybride	(fibres de type IM et IIC) (fibres intermédiaires)
Type II	(fibres de type IIA, IIX et IIAX) (fibres rapides)
Type NéoAtrial	(type néonatal, type atrial, type néonatal-atrial et autres)

Les résultats seront donc exprimés pour chaque patient selon le pourcentage relatif et la surface moyenne d'une fibre de chacune des quatre catégories.

Au final les résultats sont présentés suivant l'organisation du tableau 8.

	Pourcentage (%)				Surface moyenne (μm^2)			
	Type I	Type Hydride	Type II	Type NéoAtrial	Type I	Type Hydride	Type II	Type NéoAtrial
Patient 1	W	X	Y	Z	a	b	c	d
...

Tableau 8 : Organisation finale des données de l'immunomarquage sur coupes. Les huit types de fibres identifiables sur les coupes sont regroupés en quatre catégories finales déclinées selon leur pourcentage respectif de chaque fibre et la surface moyenne de chaque fibre.

5.7.7 VALIDATION ET CALIBRATION DE LA TECHNIQUE

Cette technique d'immunomarquage a été testée sur le vastus latéralis et le pectoralis major humain. Les cinq anticorps précédemment décrits n'ont pas mis en évidence de fibres de type atrial ou néonatal (excepté dans les fuseaux neuromusculaires). Seules les fibres de type I IIA et IIX ont été mises en évidence.

L'anticorps primaire n'ayant pas été incubé en premier, il a été vérifié que l'incubation avec les anticorps secondaires et l'agent tertiaire ne montraient aucun marquage sur la coupe.

Le test de corrélation de deux lectures du résultat d'immunomarquage par des opérateurs expérimentés a été également réalisé.

5.8 RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'ELECTROPHORESE ET L'IMMUNOMARQUAGE

L'électrophorèse donne des résultats en termes de proportions d'isoformes de myosine présentes dans le muscle (I, IIA, IIX principalement) alors que l'immunomarquage nous renseigne sur le type et la quantité de fibres qui sont elles-mêmes composées de différentes proportions d'isoformes de chaînes lourdes de myosine. Le moyen de les mettre en correspondance est d'évaluer la proportion de chaque isoforme contenue dans chaque type de fibre. Ainsi, à partir de la composition en fibres issues de l'immunomarquage, on obtient une évaluation de la composition en isoformes. On se sert du tableau de conversion ci-contre (tableau 9). Ce dernier a été obtenu d'après des travaux non publiés de Morris, Sciote, Rowlerson sur les fibres unitaires masseter humain, dérivés de *Morris et al. 2001 (133)*.

Classement en immunomarquage	Type de fibres	Composition en MHC	Regroupement de fibres	COMPOSITION EN MHC
CLASS1	Fibre type I	MHC Type I (100%)	Fibre type I	Type I (100%)
CLASS2	Fibre type IM	MHC Type I (85%) Type II (15%)		
CLASS3	Fibre type IIC	MHC Type I (40%) Type II (60%)	Fibre type I/II Hybrid	Type I (74%) type II (26%)
CLASS4	Fibre type IIA IIAx	MHC type II		
CLASS5	Fibre type IIX	MHC Type IIX (100%)	Fibre type II	Type II (100%)
CLASS6	Fibre type Néonatal	MHC type Néonatal (35%)		
CLASS7	Fibre type Atrial (alohacardiac)	MHC type Atrial (35%)		
CLASS0	Fibre type NéoAtrial	MHC type Néonatal (17,5%) Atrial (17,5%)	Fibre type NéoAtrial	Type I (30%) Type II (35%) Type Néonatal+Atrial (35%)

FORMULES DE CALCUL DE 3 CATEGORIES SIMPLIFIEES

$$\%MHC \text{ type I (immunomarquage)} = (F_{typeI})^{*1} + (F_{typeHybrid})^{*0,74} + (F_{typeNéoAtrial})^{*0,3}$$

$$\%MHC \text{ type II (immunomarquage)} = (F_{typeII})^{*1} + (F_{typeHybrid})^{*0,26} + (F_{typeNéoAtrial})^{*0,35}$$

$$\%MHC \text{ type Néonatal+Atrial (immunomarquage)} = (F_{typeNéoAtrial})^{*0,35}$$

Tableau 9 : Calcul utilisé pour convertir la proportion en type de fibres musculaires. Ceci permet d'estimer le pourcentage d'isoformes de chaînes lourdes de myosine contenues dans les différentes fibres musculaires identifiées en immunomarquage, sur les coupes.

Dans les fibres de type I on estime 100% de l'isoforme de type I

Dans les fibres de type II on estime 100% de l'isoforme de type II (sans différencier IIa et IIx).

Dans les fibres de type hybrides on estime 74% de l'isoforme type I et 26% de type II (sans différencier IIa et IIx).

Dans les fibres néoatriales on estime 30% de l'isoforme type I, 35% de type II et 35% de néonatale et Atriale.

Pour comparer les résultats obtenus suivant les deux méthodes (proportions issues de l'immunomarquage et proportions issues de l'électrophorèse) nous avons utilisé des Tests statistiques : test t de Student apparié et de Wilcoxon (petits échantillons). En effet, la limite entre ces deux outils statistiques est un effectif autour de 30. En dessous de n=30 il est préférable d'utiliser le test de Wilcoxon, à partir de n=30, le test de Student est utilisé. Nous avons donc choisi d'employer les deux sur notre échantillon de n=28 qui se situe à la limite entre les deux tests.

5.9 RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'IMMUNOMARQUAGE ET LA DYSMORPHOSE

5.9.1 DESCRIPTION DES VALEURS ET DES FACTEURS ETUDIÉS

L'immunomarquage nous fournit les résultats suivant deux séries de quatre valeurs quantitatives :

*La première série de valeurs est le pourcentage relatif de fibres de type I, type Hybride, type II et NéoAtrial avec la somme des quatre catégories égale à 100%. Ce facteur sera noté [%].

*La seconde série de valeurs est la surface moyenne de chaque catégorie de fibre en μm^2 type I, type Hybride, type II et NéoAtrial. Ce facteur sera noté [Mean].

L'analyse radiologique nous permet de répartir la population en quatre groupes contenant chacun trois diagnostics pour les 161 patients ayant bénéficié d'une analyse du phénotype musculaire du côté gauche, dont 36 patients du côté droit également.

L'analyse de la dysmorphose nous fournit les renseignements qualitatifs suivants

* La classe squelettique de type I, II ou III, sera notée [Classe].

* La hauteur faciale antérieure ou bite, de type Open Normal ou Deep, sera noté [Bite].

* La prédisposition crânienne ou frontalité, de type Normo, Trans ou Cis « frontal », sera notée [Frontalité].

*La position mandibulaire par rapport à la prédisposition crânienne de type Normo Pro ou Retro « mandibulie » sera notée [Mandibulie].

Le nombre de contacts dentaires A(bon) B(moyen) C(mauvais) sera noté [Contact dentaire].

Nous avons réalisé avec l'aide du CERIM (Dr Duhamel et Mme Ramdane) une analyse statistique sur l'ensemble des données :

5.9.2 DESCRIPTION DES TESTS STATISTIQUES UTILISES

Test de Student apparié :

Il sert pour la comparaison entre les résultats de l'électrophorèse et de l'immunomarquage (n=28).

Test Wilcoxon apparié:

Il sert pour la comparaison entre :

*le côté droit-et gauche chez les patients non déviés (n=14) ;

*le côté Homolatéral et controlatéral chez les patients déviés (n=22).

Le test d'ANOVA et Bonferroni

Nous avons donc procédé à l'analyse de la variance à l'aide du *test d'ANOVA* avec le *test de Sum of Square de type III* pour recherche de la tendance et de l'interaction et du test de *Bonferroni (Dunn)* pour explorer l'interaction éventuelle :

Les patients de la classe I ont été écartés étant donné leur faible effectif (4 patients).

5.9.3 PRELEVEMENTS DU COTE GAUCHE (161 PATIENTS)

Le test d'ANOVA 2x3x4x et Bonferroni est utilisé pour comparer la classe, le bite et les quatre groupes de fibres, selon leur pourcentage et leur surface moyenne.

La classe constitue un groupe à deux facteurs (2x) à comparaison intergroupes (Classe II; Classe III) pour la position sagittale relative.

Le bite constitue un groupe à trois facteurs (3x) à comparaison intergroupes (Open; Normal; Deep) pour la hauteur faciale antérieure.

Les quatre types de fibres constitue le groupe, à quatre facteurs (4x) à comparaison intragroupes (Type I; type Hybride; Type II; Type NéoAtrial) pour le type de fibres. Ce dernier groupe est décliné selon le pourcentage d'occupation et la surface moyenne.

Le test d'ANOVA 2x3x4x et Bonferroni est utilisé pour comparer la classe, la mandibule et les quatre groupes de fibres, selon leur pourcentage et leur surface moyenne.

La classe constitue un groupe à deux facteurs (2x) à comparaison intergroupes (Classe II; Classe III) pour la position sagittale relative.

La mandibulie constitue un groupe à trois facteurs (3x) à comparaison intergroupes (Retro; Normo; Pro) pour la position de la mandibule par rapport au crâne.

Les quatre types de fibres constituent le groupe, à quatre facteurs (4x) à comparaison intragroupes (Type I; type Hybride; Type II; Type NéoAtrial) pour le type de fibres. Ce dernier groupe est décliné selon le pourcentage d'occupation et la surface moyenne.

Le test d'ANOVA 3x3x4x et Bonferroni est utilisé pour comparer la frontalité, la mandibulie et les quatre groupes de fibres, selon leur pourcentage et leur surface moyenne.

La mandibulie constitue un groupe à trois facteurs (3x) à comparaison intergroupes (Retro; Normo; Pro) pour la position de la mandibule par rapport au crâne.

La frontalité constitue un groupe à trois facteurs (3x) à comparaison intergroupes (Trans; Ortho; Cis) la prédisposition crânienne ou frontalité.

Les quatre types de fibres constituent le groupe, à quatre facteurs (4x) à comparaison intragroupes (Type I; type Hybride; Type II; Type NéoAtrial) pour le type de fibre. Ce dernier groupe est décliné selon le pourcentage d'occupation et la surface moyenne.

Le test d'ANOVA 3x4x et Bonferroni est utilisé pour comparer les contacts dentaires et les quatre groupes de fibres, selon leur pourcentage et leur surface moyenne.

Les contacts dentaires constituent un groupe à trois facteurs (3x) à comparaison intergroupes.

Les quatre types de fibres constituent le groupe, à quatre facteurs (4x) à comparaison intragroupes (Type I; type Hybride; Type II; Type NéoAtrial) pour le type de fibre. Ce dernier groupe est décliné selon le pourcentage d'occupation et la surface moyenne.

5.9.4 COMPARAISONS DU COTE DROIT ET GAUCHE (36 PATIENTS).

Pour les 36 patients pour lesquels des prélèvements ont été disponibles des deux côtés, nous les avons séparés en deux catégories :

Patients non déviés (14) : comparaison côté droit et gauche

Patients déviés (22) : comparaison du côté de la déviation par rapport au côté opposé à la déviation, permettant ainsi de regrouper les latéro-déviation droite et gauche dans un même groupe statistique.

Dans les deux cas, des tests de Wilcoxon appariés ont été réalisés étant donné le faible effectif (14 et 22 patients). Il s'est agit de comparer le pourcentage des quatre types de fibres (côté droit vs côté gauche) et la surface moyenne des quatre types de fibres (côté droit vs côté gauche).

6 RESULTATS

6.1 RESULTATS DES DONNEES CLINIQUES

La population est composée de 161 patients avec recueil musculaire du côté gauche, 97 femmes (60%) 64 hommes (40%), moyenne d'âge 24 ans (15 à 65 ans). Pour l'ensemble de la population, le facteur de la croissance n'entre pas en ligne de compte. Lorsque l'âge du patient est inférieur à 18 ans, des radiographies de la main et du poignet sont réalisées pour vérifier l'ossification et s'assurer d'être en dehors de la phase de croissance. Cet élément est important afin de ne pas ajouter un facteur de plasticité musculaire supplémentaire. D'une manière générale, les interventions de chirurgie orthognatique sont exceptionnellement indiquées chez les patients en croissance. En effet, une chirurgie osseuse sur un processus de croissance occasionne des perturbations très importantes de la croissance par le biais de la dévascularisation induite par les décollements périostés et musculaires. Les ostéotomies créent des cals osseux qui perturbent également la croissance.

Pour 36 de ces patients, le côté droit a également été disponible, soit 36 patients avec recueil bilatéral. Cette opportunité est très intéressante pour l'étude des latéro-déviation.

Concernant le type d'intervention : sur les 161 patients tous ont eu un geste sur la mandibule et 107 sur le maxillaire dans le même temps.

6.2 RESULTATS DE L'ELECTROPHORESE DES PROTEINES

En tout, 28 patients (de M1 à M28) ont bénéficié d'une étude par électrophorèse de leur recueil de masséter. Deux groupes d'électrophorèse sont à différencier : de M1 à M11 qui a été réalisé après extraction spécifique des protéines (Annexe 3) et de M12 à M28 qui a été réalisé après extraction globale des protéines (Annexe 4) et dosage (Annexe 5). Les aspects sont exposés dans la figure 48.

Le résultat du calcul des proportions en isoformes de MHC I, IIa et IIx par le logiciel Biorad[®] se trouve dans le tableau 10.

Le profil de l'ensemble des 28 échantillons, correspond à une majorité de bandes de MHC de type I et une proportion variable de type IIa et IIx, comme cela semblait prévisible. Il n'est pas possible d'identifier avec certitude les bandes de la myosine de type néonatale ou atriale.

Sur la première électrophorèse portant sur les muscles M1 à M11, la technique d'extraction était spécifique aux MHC (Annexe 3) et des bandes supplémentaires semblent apparaître autour des bandes IIa et IIx. De plus, l'aspect de la bande MHC I n'est pas pur avec une large trainée, pouvant être partiellement expliquée par une concentration, trop importante en protéines, ou témoin d'une dégradation protéique, vraisemblablement durant le transport. Cependant, nous ne disposons pas de suffisamment d'échantillons pour recommencer ces électrophorèses, nous étions tenus par la petite taille initiale des prélèvements de masséter.

Sur les échantillons de M12 à M28, la présentation des bandes est conforme à la littérature. Il semblerait que pour M12 et M20 il y ait une bande juste au dessus de la MHC I, soit la bande correspondant à la forme atriale. D'après les résultats de l'immunomarquage, ces deux échantillons contiennent des taux élevés de fibres classifiées néoatriales.

Pour M12, d'après les résultats bruts (non fournis dans cette étude), la catégorie néoatriale était composée uniquement de fibres atriales, soit 23,54% de fibres atriales. D'après notre tableau n°9 (p174) de conversion « fibres vers MHC », on estime à 35% de MHC atriales dans les fibres atriales, correspondant dans notre cas à 8,24% de MHC atriales. Un tel taux est effectivement détectable en électrophorèse.

Pour M20, la composition en fibres néo-atriales est de 24,74% (17,7% atriale et 7,04% néonatal) d'après l'immunomarquage, soit une estimation de 6,2% de MHC atriale, expliquant également l'aspect de la bande atriale ou alpha-cardiaque juste au dessus de la MHC I.

Au niveau de M17, un aspect de bande atriale semble se dessiner, mais nous n'avons pas la correspondance en immunomarquage sur cet échantillon, ni le western blot

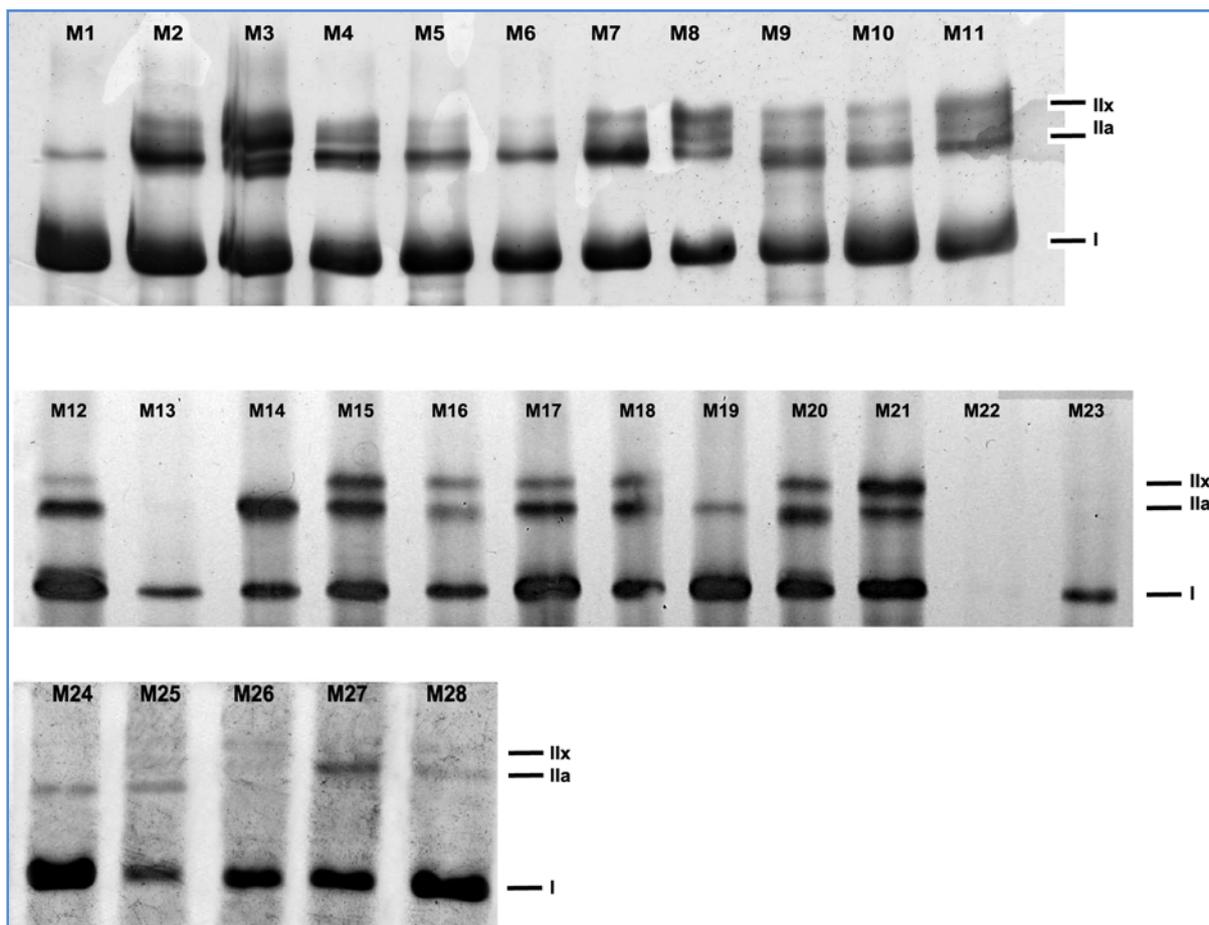


Figure 48 : Résultat visuel des électrophorèses pratiquées sur les extraits de M1 à M28.

6.3 RESULTATS DU WESTERN-BLOT

Pour les électrophorèses portant sur les échantillons M24 à M28, aucun western-blot n'a été réalisé. Les anticorps ont été testés sur les échantillons M1 à M23.

6.3.1 IDENTIFICATION DES ISOFORMES DE MHC I, IIA ET IIX.

Le Western-Blot nous a permis d'identifier de façon « quasi certaine » les bandes d'électrophorèse correspondant aux isoformes de MHC I, IIA et IIX.

Ainsi, l'anticorps MHC-slow a parfaitement identifié les bandes de type I (Figure 49 gauche) même si le témoin (Vastus Latéralis humain) n'a pas transféré ou n'a pas été repéré. Nous avons donc du nous baser i) sur le profil électrophorétique des bandes de MHC I pour comparer leur proportions respectives et affirmer leur identification, et ii) sur le fait que l'anticorps My-32 (anti-rapide) utilisé pour le blot de la figure 49 (droite) réagit de façon croisée avec la MHC I.

L'anticorps My-32 (anti-fast) a également réagi avec une bande de MHC rapide, mais uniquement avec la MHC IIA. Sur la figure 49 à droite, on voit une réaction avec la bande MHC IIA du témoin (VL) et de M17. Le marquage par le My-32 n'a donc pas fait apparaître toutes les bandes souhaitées (MHC IIA et IIX). L'anticorps BF-34 (anti Néonatal) a été couplé au My-32 et n'a pas montré de bande supplémentaire par rapport au BF-34 seul, mais a renforcé la réaction avec la bande MHC IIA (Figure 51).

Nous avons également testé l'anticorps SC-71 (anti-MHC IIA) mais celui-ci n'a pas réagi sur les deux essais réalisés.

Enfin, l'essai réalisé à la figure 50 avec le BF-34 (anti Néonatal) seul a montré une réaction croisée avec les bandes de MHC II (IIA et IIX) et même avec la MHC I en forçant la révélation. Cependant, ceci nous a permis de repérer la bande de MHC IIX à partir du témoin Vastus Latéralis adulte.

6.3.2 IDENTIFICATION DES ISOFORMES DEVELOPPEMENTALES

Le western blot (non illustré) effectué avec l'anticorps NCL-DV (anti-embryonnaire et fœtale) a montré l'absence totale de marquage, y compris pour de longues durées d'exposition (2 minutes 30 et 4 minutes) et plusieurs essais. Nous avons spécifiquement

essayé sur M12, M20 et M17 qui semblaient exprimer une bande supplémentaire au dessus de la MHC I, pouvant correspondre à la bande atriale. L'absence de marquage par le NCL-DEV est un résultat cohérent, puisque les isoformes embryonnaires et fœtales ne sont pas supposées être présentes dans le masséter humain adulte. L'incubation a été réalisée quatre fois, sur des portions de membranes ayant réagi en parallèle à l'anti MHC-slow, prouvant donc l'efficacité du transfert.

L'anticorps BF-34 (anti-Néonatal) a montré une réaction croisée avec la bande de l'isoforme MHC I et s'est fixé sur la « partie basse » de la bande de type IIa. (Figure 51). Le résultat du marquage par le BF-34 (anti-néonatal) est ambigu, car il présente une réaction croisée avec la bande de type I pour certains échantillons, tout en marquant au niveau de la bande MHC IIa. Le transfert a donc été réalisé sur une nouvelle électrophorèse reprenant l'ensemble des échantillons disponibles M12 à M23 (Figure 50) et si on fait abstraction de la réaction avec la bande de type I, on peut considérer qu'il y a un marquage juste sous la bande de MHC IIa pour trois échantillons : M12 M14 et M15. Ces échantillons contiennent d'après l'immunomarquage 8,24%, 0% et 5,6% de composition en fibres néoatriales (tableau 10). Ce qui est troublant est que M16 et M20 n'aient pas marqué, alors que leurs pourcentages respectifs sont de 9,2 et 8,66. Autre fait troublant, M14 dont la composition d'après l'immunomarquage est de 0% en néoatrial, se trouve avoir réagi au BF 34. On peut évoquer la précision de l'électrophorèse par rapport à l'immunomarquage, en ce sens que l'électrophorèse utilise un échantillon de plus grande taille que l'immunomarquage.

Sur les fibres atypiques telles que les néonatales et atriales, étant donné que leur présence est relativement rare (moins de 10%), il se peut que l'immunomarquage réalisé sur les coupes ne soit pas représentatif de l'ensemble du prélèvement de masséter, avec par exemple un défaut d'identification pour M14 et une identification en excès pour M16 et M20. D'autre part, s'agissant d'une faible quantité de protéines, on peut aussi supposer qu'il y a eu une perte durant le transfert.

Au total, on peut supposer que l'isoforme néonatale migre au niveau de la bande IIa, ce qui est conforme aux données de la littérature (216). Ceci nous conforte dans la nécessité de réitérer les transferts pour l'identification plus précise des bandes atypiques. La précision de l'électrophorèse étant à hauteur de 5%, elle ne peut pas servir de test quantitatif fiable pour les isoformes néonatales et atriales. Il faudra se focaliser sur les patients présentant

des niveaux d'isoformes néonatale et atriale le plus élevé possible pour repérer le niveau de migration de leurs bandes et permettre un transfert fiable.

Enfin, l'intérêt de l'électrophorèse était d'exploiter la totalité du prélèvement de masséter et de permettre une lecture plus fiable de la composition en isoformes, répondant certainement plus vite à la mise en évidence de différence significative et surtout de repérer les patients présentant des taux anormalement élevés ou bas de certaines isoformes.

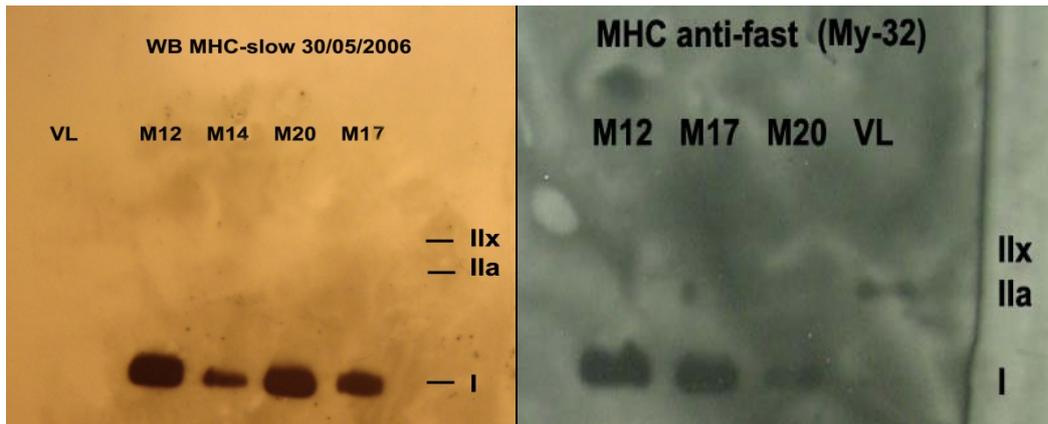


Figure 49 : Résultat du western-blot avec l'anti MHC-slow et l'anti MHC-fast.
 A gauche, M12 M14 M20 M17 et le témoin Vastus Lateralis (VL). Le témoin VL n'a pas réagi. Les échantillons M12 et M20 réagissent fortement, puis M17 et M14. Ce profil correspond à leur profil électrophorétique après coloration du gel.
 A droite, M12 M17 M20 et VL montrent une réaction croisée entre les bandes IIX et MHC I. Seule la MHC IIA de l'échantillon M17 et du témoin (VL) sont mises en évidence. De nombreux artéfacts sont présents car nous avons forcé la révélation.



Figure 50 : Résultat du western-blot réalisé sur M12 à M23 avec l'anticorps BF-34.
 L'antiBF-34 est dirigé contre l'isoforme néonatale, logiquement située sous la bande de la MHC IIA. Il faut noter la réaction croisée avec la bande MHC de type I pour M15 M17 et M19, et la révélation d'une fixation juste sous la bande IIA pour M12, M14 et très faiblement M15. De nombreux artéfacts sont présents car nous avons également forcé la révélation.

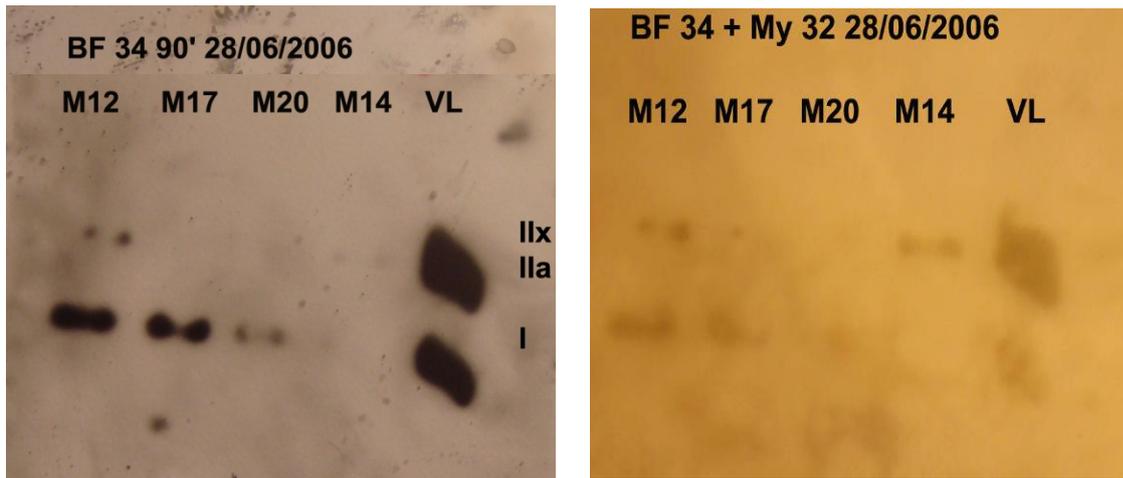


Figure 51 : Résultat du western-blot sur M12 M17 M20 M14

Après incubation du BF34 seul et de l'association BF34 + My 32. Le BF34 permettant de réagir avec l'isoforme néonatale, nous l'avons associé à l'anti-fast (My32) afin de le situer par rapport aux isoformes rapides. En effet, selon la littérature, l'isoforme néonatale se place entre les isoformes MHC IIa et IIX. L'association de l'anti-fast (My 32) au BF34 (anti-néonatal) a renforcé l'intensité de la réaction sur M12 M17 et M14 au niveau de la bande correspondant à la MHC IIa.

6.4 RESULTATS DE L'IMMUNOMARQUAGE

Nous avons vérifié de la corrélation de deux lectures par des opérateurs expérimentés pour chaque type de fibre.

Le test de corrélation a été réalisé sur plusieurs échantillons. Ce test compare le résultat de la surface de chaque fibre identifiée, par chaque opérateur, avec son degré de précision à entourer la surface de la fibre à l'aide de la tablette graphique. Tous les résultats de corrélation se sont avérés être compris entre 0.8884 (type I) et 0.9752 (type IIX). Le meilleur résultat est illustré par la figure 52. Ce test permet de valider la précision des mesures de l'immunomarquage. De plus, l'ensemble des mesures a été effectuées par le Dr Rowleron depuis le début des travaux, permettant de constituer des résultats parfaitement cohérents entre eux.

L'ensemble des résultats de l'immunomarquage et des données radiologiques se trouve regroupé dans les quatre tableaux 11 à 15. Les 197 échantillons sont représentés par une ligne chacun (161 du côté gauche et 36 du côté droit).

Ces résultats sont représentés sous forme de boîte à moustache (boxplot) afin d'obtenir un résultat visuel. Ils sont regroupés par pourcentage de chaque type de fibre (type I, type hybride, type II et type néoatrial) pour la population totale, les classe I, les classe II, les classe III, les Open, Deep et normal bite (Figures 53 à 59).

Le profil moyen de la population de 161 individus selon le pourcentage de répartition de chaque fibre est le suivant

52,8% de fibres de type I	(écart type 17,2)
23,41% de fibres de type Hybride	(écart type 17,3)
12,78% de fibres de type II	(écart type 16,9)
10,98% de fibres de type NéoAtrial	(écart type 12)

Le profil moyen de la population de 161 individus selon la surface moyenne de chaque type de fibre est le suivant :

2153 μm^2 pour la fibre de type I	(écart type 723,5)
1596 μm^2 pour la fibre fibres de type Hybrid	(écart type 767,1)
787 μm^2 pour la fibre de type II	(écart type 650)
814 μm^2 pour la fibre de type NéoAtrial	(écart type 543,2)

Chez tous les patients, il existait des fibres de type I. Les fibres de type Hybride étaient absentes chez 9 patients, les fibres de type II étaient absentes chez 14 patients et les fibres de type NéoAtrial étaient absentes chez 18 patients. Chez 5 patients seulement, on trouvait deux types de fibres absentes simultanément.

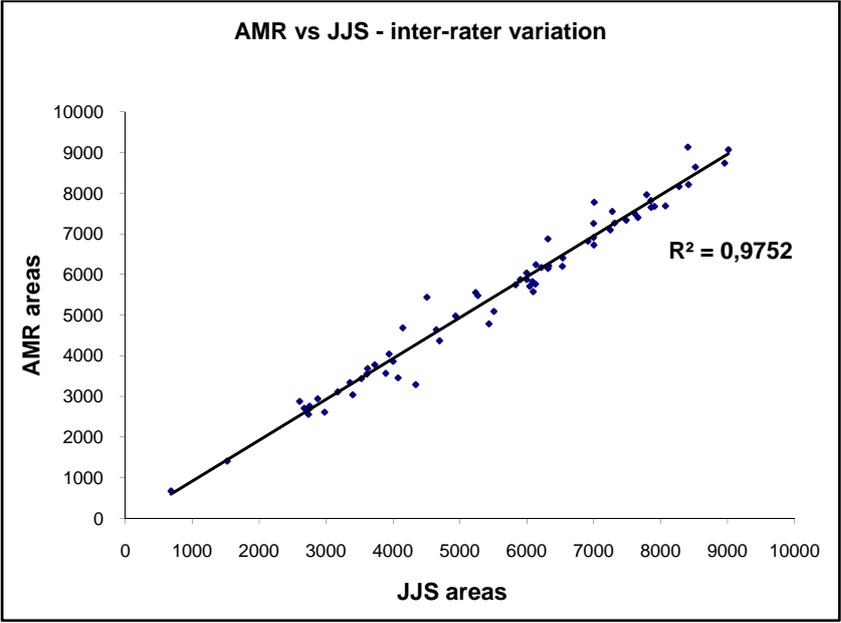


Figure 52 : Test de corrélation entre deux mesures des aires des fibres de type IIX.

Patient	Données qualitatives 4 groupes				GROUPE Dentaire		Données quantitatives 4 types fibres (%)				Données quantitatives 4 types fibres surf. moy. (µm2)			
	Classe squelettique I II III	Bite DEEP OPEN NORMO	Tendance base crâne ORTHO CIS TRANS	Mandibulie RETRO ORTHO PRO	Nombre Contacts Dentaires max32 min0	Qualité contact dentaire A>18 B(9-18) C<9	% fibres type I	% fibres type hybride	% fibres type II	% fibres type Neo-Atrial	Type I fibers Mean A (µm2)	Type III hybrid fibers Mean A (µm2)	Type II fibers Mean A (µm2)	Type neonatal atrial fibers Mean A (µm2)
Numéro	Classe	Bite	Skull	Mandibulie	Nbdent	Qdent	FibresI	FibresHybrid	FibresII	FibresNA	MeanI	MeanHybrid	MeanII	MeanNA
1	III	NORMO	ORTHO	RETRO	0	C	26,14	7,99	61,03	4,83	847,0	763,1	436,0	265,8
2	II	OPEN	TRANS	RETRO	18	B	53,78	15,60	7,22	23,40	3593,1	2179,4	357,7	1498,0
3	II	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	42,23	35,42	2,98	19,37	1568,6	1346,9	297,1	1288,9
4	II	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	54,49	42,53	0,14	2,84	1829,3	2366,3	267,0	1382,3
5	III	OPEN	ORTHO	PRO	28	A	60,34	10,43	15,26	13,97	2201,2	1077,6	641,8	666,7
6	III	DEEP	TRANS	PRO	0	C	20,87	23,88	41,42	13,82	3195,0	3655,6	404,7	761,7
7	III	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	65,03	0,00	0,00	34,97	2632,4	0,0	0,0	748,0
8	II	DEEP	ORTHO	NORMO	24	A	46,10	12,00	9,41	32,50	2967,8	2231,2	1125,0	1813,5
9	II	OPEN	TRANS	RETRO	7	C	44,18	11,22	1,91	42,69	1413,9	1077,6	412,4	867,8
10	II	OPEN	CIS	RETRO	16	B	62,18	11,55	3,92	22,35	2759,1	2407,9	2727,4	1456,8
11	II	OPEN	CIS	PRO	12	B	58,90	10,10	24,76	6,23	2089,2	1205,4	649,8	584,4
12	II	OPEN	CIS	RETRO	16	B	44,06	40,78	0,46	14,70	2275,9	1798,3	416,9	984,3
13	III	OPEN	ORTHO	PRO	16	B	65,81	6,20	23,86	4,13	2910,4	2248,3	1881,1	1247,9
14	III	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	47,69	0,00	0,91	51,40	2747,1	0,0	521,5	1432,5
15	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	61,42	18,71	0,07	19,79	2730,9	1976,1	182,3	643,0
16	III	OPEN	TRANS	RETRO	26	A	86,50	3,65	0,00	9,85	3065,1	6080,6	0,0	1261,9
17	III	OPEN	ORTHO	PRO	23	A	31,70	15,60	35,71	17,00	2543,6	2441,3	1414,6	1208,9
18	III	OPEN	TRANS	PRO	28	A	69,70	9,37	0,57	20,36	2387,1	2165,3	265,6	818,5
19	II	OPEN	ORTHO	RETRO	6	C	60,76	8,71	22,07	8,46	2525,2	1214,9	695,3	569,5
20	III	OPEN	ORTHO	PRO	4	C	73,50	21,08	0,01	5,41	2219,4	1407,9	41,1	988,0
21	II	OPEN	TRANS	RETRO	18	B	79,12	4,96	7,52	8,40	3191,5	1241,1	1343,3	1105,9
22	I	OPEN	TRANS	PRO	30	A	68,77	14,46	6,10	10,66	1264,2	1137,3	454,4	718,7
23	III	NORMO	TRANS	PRO	4	C	65,67	7,02	16,35	10,96	2347,1	1777,5	1601,8	665,8
24	III	OPEN	ORTHO	PRO	6	C	11,45	50,12	0,00	38,43	4611,1	4249,8	0,0	1440,0
25	III	OPEN	TRANS	PRO	18	B	58,76	10,09	30,47	2,69	2079,0	1718,2	837,0	1017,4
26	II	DEEP	ORTHO	RETRO	20	A	32,07	47,37	0,24	20,32	2945,9	1832,5	177,1	995,7
27	III	NORMO	TRANS	PRO	12	B	41,79	30,97	23,82	3,42	2090,4	2753,6	908,0	2735,9
28	II	OPEN	ORTHO	RETRO	12	B	62,64	21,84	2,80	12,73	1515,4	893,0	600,4	624,6
29	II	OPEN	CIS	PRO	20	A	59,50	31,14	7,82	1,55	2346,7	1859,9	1325,1	1076,8
30	III	OPEN	ORTHO	PRO	22	A	60,78	5,38	28,60	5,24	2027,9	1974,9	1614,8	1282,7
31	II	OPEN	CIS	RETRO	16	B	33,76	19,96	16,41	29,86	2718,0	2276,5	575,8	1201,9
32	III	OPEN	ORTHO	PRO	8	C	51,69	39,89	8,11	0,30	1570,7	1390,8	548,4	495,4
33	III	OPEN	ORTHO	PRO	10	B	31,81	38,59	28,30	1,30	1026,3	715,8	411,7	482,6
34	II	NORMO	CIS	RETRO	12	B	46,32	52,03	0,43	1,21	1542,9	1701,1	380,5	1069,4
35	II	NORMO	TRANS	RETRO	25	A	47,10	11,98	40,92	0,00	2566,0	2488,5	1942,4	0,0
36	II	OPEN	ORTHO	RETRO	10	B	13,41	49,33	27,81	9,44	1127,7	1095,5	317,8	444,6
37	III	DEEP	ORTHO	NORMO	30	A	62,63	19,69	11,12	6,56	1977,9	1523,5	860,2	781,3
38	II	DEEP	TRANS	RETRO	18	B	40,36	6,06	35,82	17,76	2500,0	1911,9	970,6	1620,7
39	III	OPEN	CIS	PRO	12	B	62,36	27,63	3,40	6,60	1962,6	1925,5	243,0	339,0
40	II	OPEN	ORTHO	RETRO	24	A	39,18	48,81	6,47	5,54	3484,5	2026,1	1007,7	590,8
41	III	OPEN	TRANS	PRO	12	B	49,31	45,71	2,78	2,20	1419,6	1069,9	333,6	453,3

Tableau 11 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (1/5).

42	II	OPEN	ORTHO	RETRO	16	B	59,40	28,43	6,51	5,66	1795,9	1301,3	386,1	756,3
43	II	DEEP	ORTHO	RETRO	6	C	38,10	61,71	0,00	0,19	1150,6	1717,0	0,0	478,9
44	III	OPEN	TRANS	PRO	8	C	40,09	19,96	0,11	39,84	1861,4	1199,3	110,6	726,8
45	III	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	49,13	24,61	7,28	18,98	1735,8	1705,5	452,2	976,9
46A	II	DEEP	ORTHO	RETRO	24	A	32,96	8,99	53,12	4,92	3592,2	3079,5	3184,0	1179,4
46B	II	DEEP	ORTHO	RETRO	24	A	42,38	11,16	33,98	12,49	4099,1	2466,7	2286,5	2319,2
47	II	OPEN	TRANS	RETRO	4	C	43,86	15,25	12,06	28,83	1560,8	1860,6	528,0	1062,7
48	II	OPEN	ORTHO	RETRO	12	B	50,76	46,13	0,00	3,10	2848,7	3377,0	0,0	1742,4
49	II	DEEP	CIS	RETRO	16	B	29,87	45,69	0,33	24,12	1344,7	1537,3	262,7	811,5
50	II	DEEP	CIS	RETRO	24	A	79,13	18,33	1,88	0,65	2078,0	1497,8	691,9	205,1
51	III	OPEN	TRANS	PRO	12	B	42,31	57,69	0,00	0,00	1361,3	1663,8	0,0	0,0
52	II	OPEN	CIS	RETRO	6	C	61,31	34,21	0,56	3,92	2181,1	1742,2	271,8	654,3
53	III	OPEN	TRANS	PRO	16	B	69,35	21,22	0,00	9,44	1948,1	1192,0	0,0	726,1
54	III	OPEN	CIS	PRO	9	C	46,16	39,20	0,55	14,10	1407,7	1451,6	424,0	953,2
55	III	OPEN	ORTHO	PRO	18	B	64,39	27,81	4,68	3,12	2131,1	1242,8	522,5	1394,8
56	II	DEEP	CIS	PRO	28	A	41,87	54,87	0,54	2,72	2224,3	2398,5	265,2	392,1
57	II	OPEN	CIS	RETRO	28	A	29,80	45,94	5,32	18,94	1359,6	923,6	371,1	423,8
58	I	NORMO	TRANS	NORMO	24	A	50,12	26,87	0,07	22,94	1673,8	1549,9	373,7	962,6
59	III	OPEN	ORTHO	NORMO	16	B	24,34	58,35	9,11	8,20	1951,3	2742,9	506,9	485,8
60	II	OPEN	CIS	RETRO	4	C	79,98	17,82	2,16	0,04	2144,2	1270,4	1204,9	47,1
61	II	NORMO	CIS	RETRO	14	B	79,20	12,17	2,39	6,24	2453,3	1159,8	311,3	315,6
62	III	NORMO	ORTHO	PRO	10	B	18,07	14,57	60,34	7,02	2733,6	2203,3	2231,0	2124,0
63	II	DEEP	ORTHO	PRO	28	A	26,01	23,26	0,00	50,73	2829,8	2869,0	0,0	1968,8
64	II	OPEN	CIS	RETRO	12	B	49,21	48,41	1,80	0,57	1477,4	1318,9	233,5	206,4
65	III	OPEN	CIS	RETRO	4	C	27,35	68,26	3,81	0,59	1735,9	1348,0	451,3	348,1
66	II	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	65,42	6,46	20,20	7,93	2539,5	2205,4	1500,0	1933,9
67	II	DEEP	TRANS	PRO	28	A	36,92	45,49	13,72	3,87	1634,4	1654,3	481,8	984,3
68	II	OPEN	ORTHO	RETRO	15	B	36,43	58,87	2,47	2,22	1341,3	1125,8	324,3	461,1
69	III	OPEN	TRANS	PRO	20	A	60,75	8,61	24,69	5,95	4010,5	1780,6	1473,3	683,5
70	II	OPEN	TRANS	RETRO	16	B	60,98	6,36	31,78	0,88	1974,3	1811,3	1275,1	629,3
71	III	OPEN	ORTHO	NORMO	12	B	59,89	13,07	4,90	22,15	3100,7	1522,9	2281,3	1375,9
72	II	DEEP	ORTHO	RETRO	26	A	79,02	4,99	5,41	10,58	1301,6	904,3	522,8	666,8
73	III	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	55,37	22,30	3,84	18,50	2587,9	2188,3	537,8	907,9
74	II	NORMO	TRANS	RETRO	28	A	55,97	43,34	0,00	0,69	2922,4	2196,2	0,0	1189,0
75	III	DEEP	ORTHO	PRO	20	A	18,24	48,95	12,93	19,88	1466,8	1330,7	656,7	892,3
76	II	OPEN	ORTHO	RETRO	12	B	42,24	16,21	34,14	7,41	1859,9	2141,6	775,7	881,2
77	II	OPEN	ORTHO	RETRO	16	B	39,77	25,65	14,34	20,25	1153,9	1307,1	855,7	729,3
78A	III	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	89,56	3,57	4,58	2,30	2930,7	1542,0	549,4	550,8
78B	III	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	68,47	3,19	27,89	0,45	1503,1	1201,4	553,3	1025,8
79	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	58,75	37,70	2,32	1,24	1884,4	1564,9	682,1	873,8
80	II	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	25,25	47,73	21,24	5,78	1814,5	1314,8	467,9	796,2
81	II	NORMO	TRANS	RETRO	28	A	53,73	32,10	2,76	11,42	1932,7	1215,4	567,6	1059,7
82	II	DEEP	ORTHO	NORMO	4	C	34,17	0,00	65,83	0,00	1402,1	0,0	1311,8	0,0
83	II	OPEN	CIS	RETRO	16	B	78,16	17,64	0,73	3,47	4412,9	2041,3	377,1	1004,9
84	II	DEEP	CIS	PRO	28	A	55,29	30,71	10,92	3,08	1598,7	1265,8	391,9	458,7
85	II	OPEN	TRANS	RETRO	10	B	28,18	1,93	69,89	0,00	3730,8	1784,6	2491,3	0,0
86	III	NORMO	ORTHO	NORMO	24	A	73,89	6,97	8,11	11,04	1035,9	770,2	951,7	864,1
87	III	OPEN	ORTHO	PRO	8	C	37,71	27,77	5,30	29,22	1211,1	1086,4	1036,4	1030,5
88	II	DEEP	TRANS	RETRO	26	A	43,46	43,47	4,50	8,56	1504,2	1148,9	251,7	444,5

Tableau 12 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (2/5).

89	I	OPEN	CIS	RETRO	28	A	82,05	14,67	0,33	2,95	1444,4	871,0	385,5	383,1
90	II	NORMO	ORTHO	PRO	24	A	74,04	24,78	0,15	1,02	2399,6	1445,7	67,7	895,1
91	III	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	13,25	10,66	34,96	41,13	1999,0	3485,4	1959,3	2017,3
92	II	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	46,25	13,18	0,00	40,57	1881,4	1450,6	0,0	766,8
93	II	DEEP	ORTHO	RETRO	28	A	62,98	32,41	3,15	1,46	1972,9	1056,4	980,7	683,7
94	II	OPEN	ORTHO	RETRO	12	B	52,48	23,65	0,33	23,54	2370,0	1922,0	405,1	819,9
95	II	DEEP	TRANS	RETRO	24	A	52,81	41,48	1,61	4,09	1836,0	1345,0	637,8	523,3
96	III	DEEP	ORTHO	PRO	16	B	66,78	1,86	31,36	0,00	3071,0	1497,0	1577,0	0,0
97	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	62,86	10,56	6,90	19,67	1690,0	885,3	1092,1	1001,1
98	II	DEEP	CIS	RETRO	22	A	34,67	2,69	62,64	0,00	1785,0	1872,0	2090,0	0,0
99	III	OPEN	ORTHO	PRO	12	B	31,87	61,66	2,98	3,49	1241,0	1268,0	321,1	354,7
100	II	DEEP	ORTHO	RETRO	26	A	43,46	26,06	3,48	27,01	2531,0	1833,0	681,9	1071,0
101	III	OPEN	TRANS	PRO	18	B	43,48	48,89	3,12	4,51	1537,0	1263,0	349,8	662,7
102	III	OPEN	ORTHO	PRO	12	B	49,57	44,65	5,78	0,00	1569,0	1302,0	652,5	0,0
103	II	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	44,07	4,29	51,64	0,00	2920,0	3031,0	2281,0	0,0
104	II	DEEP	CIS	NORMO	26	A	35,87	0,00	64,13	0,00	1717,0	0,0	1797,0	0,0
105	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	63,76	8,50	2,05	25,68	2766,0	1299,0	655,0	911,5
106	III	OPEN	TRANS	PRO	8	C	45,55	4,67	37,26	12,52	2047,0	1596,0	1591,0	1425,0
107A	II	OPEN	TRANS	RETRO	22	A	31,05	44,22	0,45	24,28	1060,0	719,6	90,2	326,7
107B	II	OPEN	TRANS	RETRO	22	A	59,66	6,91	28,29	5,13	2019,0	1248,0	1121,0	980,1
108	II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	63,78	29,28	0,82	6,12	1730,0	904,0	551,4	558,4
109	II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	91,96	5,38	2,19	0,47	1925,0	1038,0	633,2	824,3
110	III	OPEN	TRANS	PRO	5	C	57,05	18,30	11,32	13,33	2312,0	1519,0	939,2	1452,0
111	II	OPEN	ORTHO	RETRO	15	B	16,73	46,06	5,05	32,16	1096,0	1714,0	250,5	721,2
112	II	DEEP	ORTHO	PRO	30	A	32,88	60,26	6,86	0,00	2074,2	1341,8	649,2	0,0
113	II	DEEP	ORTHO	RETRO	7	C	39,11	40,28	10,95	9,66	2331,0	1662,0	559,6	768,0
114	II	OPEN	CIS	RETRO	8	C	49,32	39,00	11,68	0,00	2085,0	1413,0	444,3	0,0
115	III	OPEN	ORTHO	NORMO	14	B	61,46	13,82	9,69	15,04	2168,0	1488,0	1166,0	1465,0
116	III	OPEN	TRANS	RETRO	10	B	54,00	28,28	4,76	12,96	2409,0	1967,0	1185,0	1532,0
117	III	NORMO	TRANS	PRO	8	C	50,88	5,21	40,31	3,60	1506,0	1680,0	999,9	1003,0
118	II	OPEN	ORTHO	RETRO	16	B	42,67	43,92	3,19	10,22	1533,0	859,6	384,0	346,6
119	III	OPEN	TRANS	PRO	22	A	52,27	22,09	24,34	1,29	2226,0	1547,0	995,7	1335,0
120	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	34,27	48,49	17,24	0,00	1942,0	1517,3	2008,5	0,0
121	II	OPEN	TRANS	RETRO	18	B	77,89	21,66	0,00	0,45	1548,0	1025,0	0,0	298,4
122	III	DEEP	TRANS	RETRO	0	C	44,88	2,50	52,62	0,00	1532,0	925,6	1946,0	0,0
123A	II	OPEN	ORTHO	RETRO	28	A	83,95	16,05	0,00	0,00	3462,0	2495,0	0,0	0,0
123B M1	II	OPEN	ORTHO	RETRO	28	A	71,37	28,63	0,00	0,00	3010,0	3277,0	0,0	0,0
124A	II	DEEP	ORTHO	NORMO	26	A	72,11	13,54	2,12	12,23	2099,0	1007,0	568,7	818,8
124B M12	II	DEEP	ORTHO	NORMO	26	A	62,62	3,26	10,59	23,54	2371,0	1269,0	379,8	1234,0
125A	II	OPEN	ORTHO	RETRO	13	B	53,48	13,75	20,00	12,77	1832,0	1625,0	525,3	1161,0
125B M2	II	OPEN	ORTHO	RETRO	13	B	25,82	22,99	25,51	25,68	1945,0	1588,0	1057,0	1468,0
126A	III	DEEP	ORTHO	PRO	22	A	41,63	7,54	2,12	48,70	2185,0	1187,0	501,7	871,4
126B M3	III	DEEP	ORTHO	PRO	22	A	41,23	23,62	31,26	3,89	2720,0	2056,0	809,3	1224,0
127	II	OPEN	TRANS	RETRO	18	B	79,47	12,77	7,49	0,28	2433,0	1805,0	817,9	148,1
128A	III	OPEN	CIS	PRO	16	B	57,93	17,47	5,89	18,71	2210,0	1333,0	702,3	964,6
128B M4	III	OPEN	CIS	PRO	16	B	37,77	55,60	1,40	5,23	1882,0	2067,0	1096,0	1224,0
129A	II	DEEP	ORTHO	PRO	17	B	48,69	42,08	1,83	7,39	1396,0	923,8	515,6	371,0
129B M5	II	DEEP	ORTHO	PRO	17	B	46,98	44,75	2,35	5,93	2483,6	2073,4	880,9	718,8

Tableau 13 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 3/5).

130A	II	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	64,87	10,97	23,63	0,54	2631,0	1662,0	1173,0	1543,0
130B M6	II	OPEN	ORTHO	RETRO	8	C	47,36	42,63	10,01	0,00	2434,0	2139,0	2637,0	0,0
131A	II	DEEP	ORTHO	NORMO	15	B	57,00	37,73	4,03	1,23	1925,0	1699,0	1199,0	913,7
131B M7	II	DEEP	ORTHO	NORMO	15	B	67,55	13,69	14,53	4,23	2519,0	2552,0	951,9	1710,0
132A	II	DEEP	ORTHO	RETRO	14	B	73,08	0,00	23,70	3,22	2561,0	0,0	523,0	239,5
132B M8	II	DEEP	ORTHO	RETRO	14	B	48,95	0,00	40,05	11,00	3188,0	0,0	818,4	619,8
133A	III	OPEN	ORTHO	RETRO	0	C	53,18	10,55	12,18	24,10	2151,3	1621,3	1080,0	1355,1
133B M9	III	OPEN	ORTHO	RETRO	0	C	70,54	8,09	8,63	12,75	1981,4	1135,9	784,3	916,1
134A	I	DEEP	ORTHO	NORMO	16	B	36,84	46,44	3,92	12,80	1369,6	1385,3	590,2	684,1
134B M10	I	DEEP	ORTHO	NORMO	16	B	48,71	30,96	4,30	16,03	1788,0	1461,0	584,6	823,9
135A	II	DEEP	TRANS	RETRO	28	A	33,30	4,94	61,76	0,00	2371,8	1596,5	1621,8	0,0
135B M11	II	DEEP	TRANS	RETRO	28	A	54,81	1,77	32,97	10,45	2208,0	1233,0	1771,0	1216,0
136A	II	NORMO	ORTHO	RETRO	24	A	48,61	41,14	4,03	6,21	2461,0	2268,0	499,8	1027,0
136B	II	NORMO	ORTHO	RETRO	24	A	50,07	43,61	0,98	5,34	4082,0	2765,0	1400,0	1015,0
137A	II	OPEN	TRANS	NORMO	4	C	42,62	21,37	3,76	32,25	2237,0	1729,0	811,5	1278,0
137B	II	OPEN	TRANS	NORMO	4	C	48,41	14,70	1,04	35,85	2530,0	1920,0	541,6	1196,0
138A	III	DEEP	ORTHO	NORMO	19	A	70,75	0,68	17,59	10,97	1149,0	251,4	582,3	497,1
138B	III	DEEP	ORTHO	NORMO	19	A	88,00	4,79	1,23	5,98	1451,0	861,8	203,8	587,5
139	III	OPEN	TRANS	PRO	28	A	73,32	25,88	0,80	0,00	2112,0	1958,0	673,5	0,0
140A	III	OPEN	TRANS	PRO	24	A	60,31	28,27	0,84	10,58	1503,0	1510,0	470,6	624,6
140B	III	OPEN	TRANS	PRO	24	A	59,83	25,75	1,14	13,28	1191,0	956,9	253,4	501,7
141A	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	58,30	27,30	10,32	4,08	1668,0	1546,0	684,3	481,7
141B	III	OPEN	ORTHO	PRO	14	B	55,71	21,93	17,04	5,32	1758,0	837,2	619,8	530,6
142A	III	DEEP	ORTHO	PRO	16	B	44,18	27,07	2,34	26,41	2290,0	1330,0	1840,0	1400,0
142B	III	DEEP	ORTHO	PRO	16	B	55,71	17,61	21,03	5,65	2342,0	1311,0	1034,0	1133,0
143A	II	OPEN	CIS	RETRO	14	B	78,81	7,26	3,21	10,71	3378,0	2121,0	1072,0	1472,0
143B	II	OPEN	CIS	RETRO	14	B	47,19	51,66	0,04	1,11	3169,0	2643,0	179,5	1583,0
144A	III	OPEN	TRANS	PRO	14	B	64,55	11,33	23,46	0,65	1521,0	877,5	454,0	709,1
144B	III	OPEN	TRANS	PRO	14	B	51,50	22,19	24,73	1,58	1320,0	1037,0	387,9	442,5
145 M13	III	OPEN	ORTHO	NORMO	16	B	71,44	25,38	2,54	0,63	1752,7	1056,8	873,3	288,9
146A	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	60,01	0,00	34,38	5,61	2077,0	0,0	1552,0	1457,0
146B	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	42,35	4,48	52,46	0,71	1646,0	1218,0	1110,0	680,6
147A	II	OPEN	CIS	RETRO	22	A	66,74	31,03	1,23	1,00	2777,0	2213,0	357,6	1170,0
147B	II	OPEN	CIS	RETRO	22	A	67,49	9,55	11,81	11,15	1903,0	1675,0	981,3	1174,0
148A	III	NORMO	TRANS	PRO	17	B	76,72	3,92	14,96	4,40	4010,0	1865,0	2093,0	2327,0
148B	III	NORMO	TRANS	PRO	17	B	62,20	30,22	4,15	3,43	1794,0	1732,0	915,5	889,1
149 M14	II	NORMO	TRANS	RETRO	12	B	64,74	6,23	29,04	0,00	1367,0	985,9	2139,0	0,0
150 M15	II	OPEN	ORTHO	RETRO	20	A	60,60	7,24	16,16	16,00	3049,0	2394,4	2877,4	1763,0
151A	II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	54,30	4,71	1,06	39,93	1562,0	916,9	670,1	972,0
151B M16	II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	40,75	19,12	14,36	25,77	1800,0	1349,0	970,0	1160,0
152	II	OPEN	ORTHO	RETRO	24	A	39,27	0,00	60,38	0,35	1856,0	0,0	1468,0	117,8
153A	II	OPEN	CIS	RETRO	20	A	61,17	4,07	2,38	32,38	3319,0	1949,0	1052,0	2217,0
153B	II	OPEN	CIS	RETRO	20	A	73,55	13,48	0,65	12,31	3748,0	2462,0	260,1	1542,0
154A	III	OPEN	TRANS	PRO	22	A	83,51	11,96	0,22	4,31	3391,0	2081,0	524,0	657,0
154B M24	III	OPEN	TRANS	PRO	22	A	89,04	5,87	1,60	3,49	2262,9	1002,4	350,8	716,2
155A M19	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	51,76	47,54	0,39	0,32	1838,3	2026,3	82,4	67,3
155B	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	58,76	40,41	0,64	0,19	1092,7	780,4	53,7	97,0

Tableau 14 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 4/5).

156A	M20	III	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	65,84	6,96	2,47	24,74	3227,4	1785,0	489,0	836,5
156B		III	OPEN	TRANS	RETRO	12	B	62,51	1,17	4,03	32,30	2091,4	958,5	733,4	735,4
157A	M25	II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	72,00	22,34	4,13	1,53	1463,0	1338,9	247,4	131,3
157B		II	OPEN	TRANS	RETRO	14	B	46,79	32,62	17,91	2,68	1510,7	1433,3	363,1	235,5
158A	M26	II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	67,40	28,30	0,68	3,62	1898,8	1404,4	203,1	327,9
158B		II	OPEN	ORTHO	RETRO	14	B	93,17	0,00	4,06	2,77	1771,1	0,0	201,8	260,4
159A	M27	II	DEEP	TRANS	RETRO	27	A	45,90	3,08	44,73	6,29	1621,9	1337,1	1213,8	910,0
159B		II	DEEP	TRANS	RETRO	27	A	81,73	0,65	10,12	7,49	3420,0	1307,5	924,3	627,3
160A	M28	II	NORMO	TRANS	RETRO	16	B	85,05	4,23	0,38	10,34	3726,1	1513,0	1643,0	1530,4
160B		II	NORMO	TRANS	RETRO	16	B	66,60	10,46	0,00	22,94	3688,5	1931,3	0,0	1466,3
161A		II	DEEP	ORTHO	PRO	28	A	61,25	37,42	0,15	1,19	2759,8	1990,3	279,6	651,9
161B		II	DEEP	ORTHO	PRO	28	A	75,47	24,25	0,14	0,14	3063,5	1921,4	115,3	236,8

Tableau 15 : Résultats des données radiologiques et de l'immunomarquage (suite 5/5).

La première colonne de gauche contient les numéros de patient. Lorsqu'un numéro porte la mention A et B, ceci correspond au cote gauche (A) et droit (B). Lorsque le numéro ne porte pas de mention, il s'agit du cote gauche par défaut. Les mentions M1 à M28 font référence aux échantillons ayant bénéficié d'une électrophorèse. M17 M18 M21 M22 M23 sont absents de cette liste car il n'y avait pas de résultat concernant l'immunomarquage pour ces échantillons.

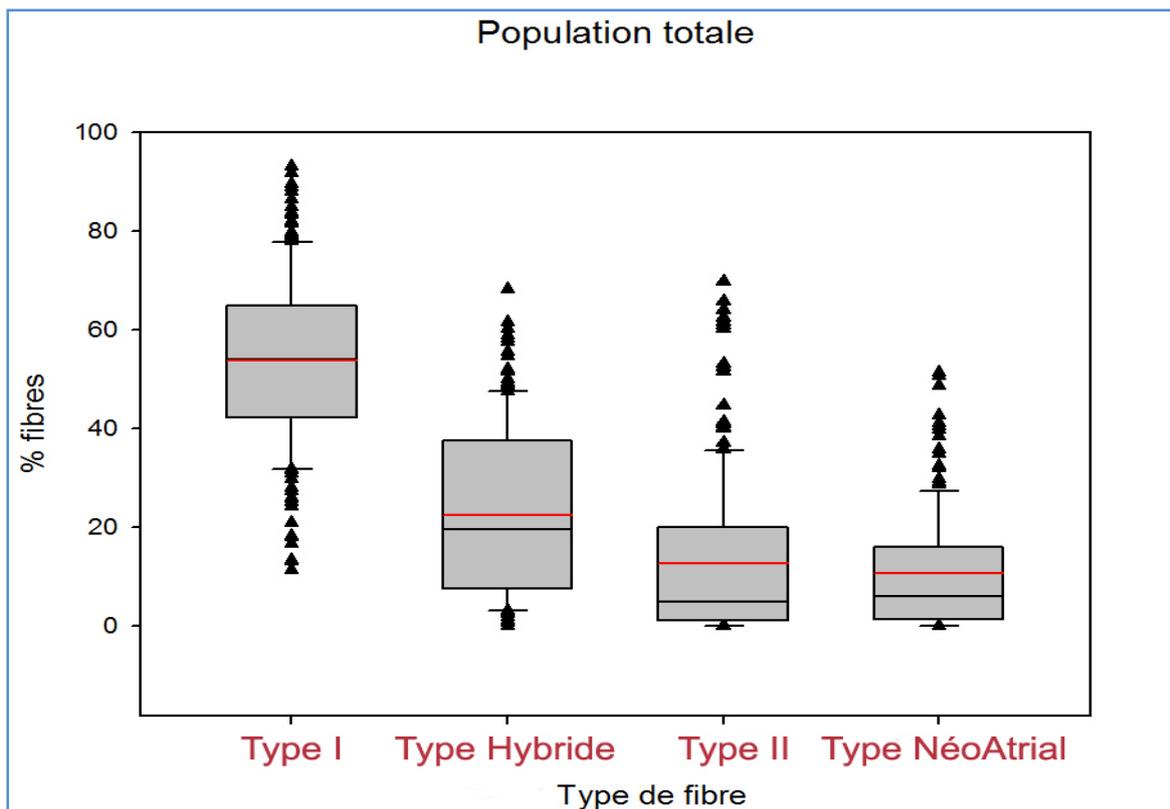


Figure 53 : Répartition du pourcentage de fibres de la population totale (Box plot). Les fibres de type I sont majoritaires.

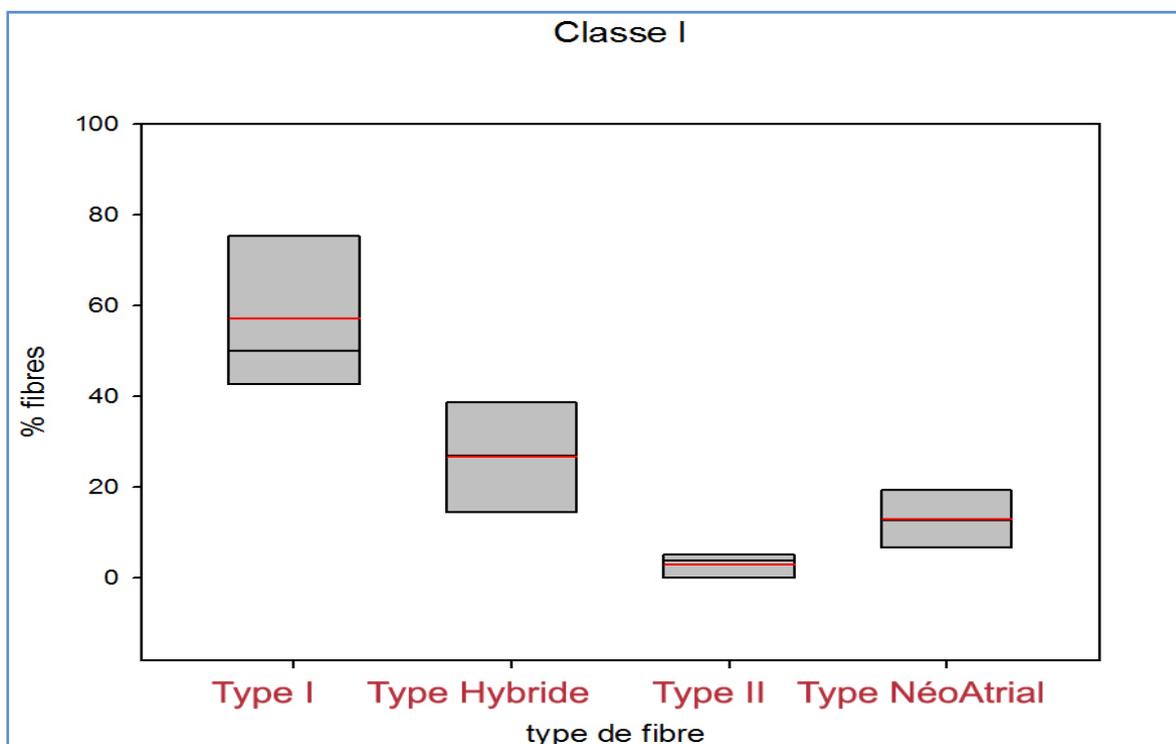


Figure 54 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe I (Box plot).

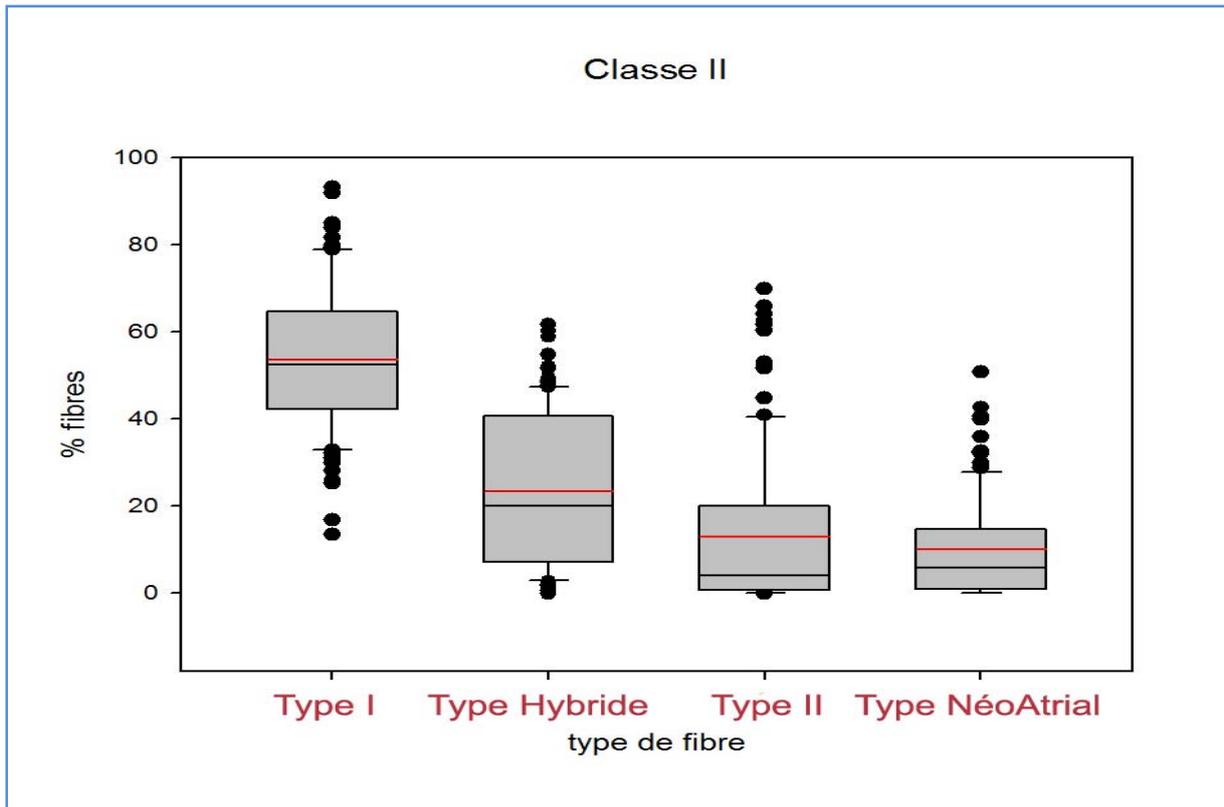


Figure 55 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe II (Box plot).

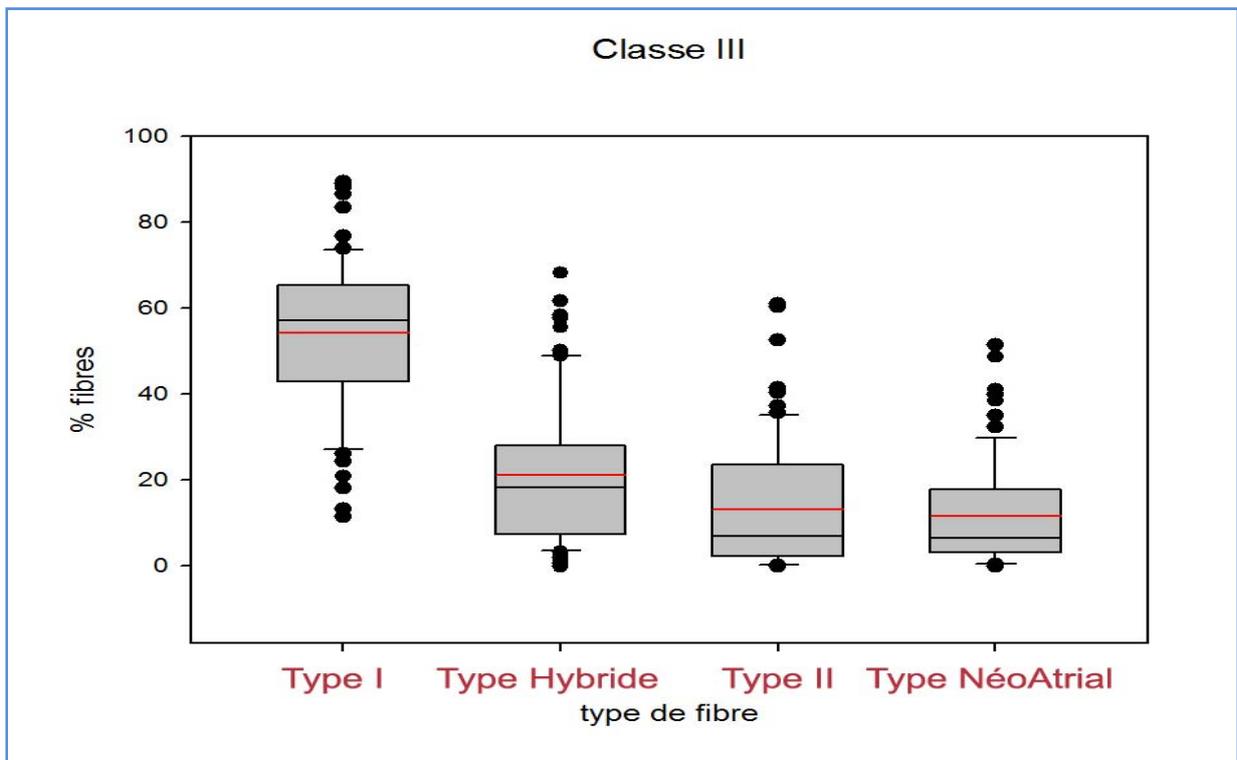


Figure 56 : Répartition du pourcentage de fibres dans les classe III (Box plot).

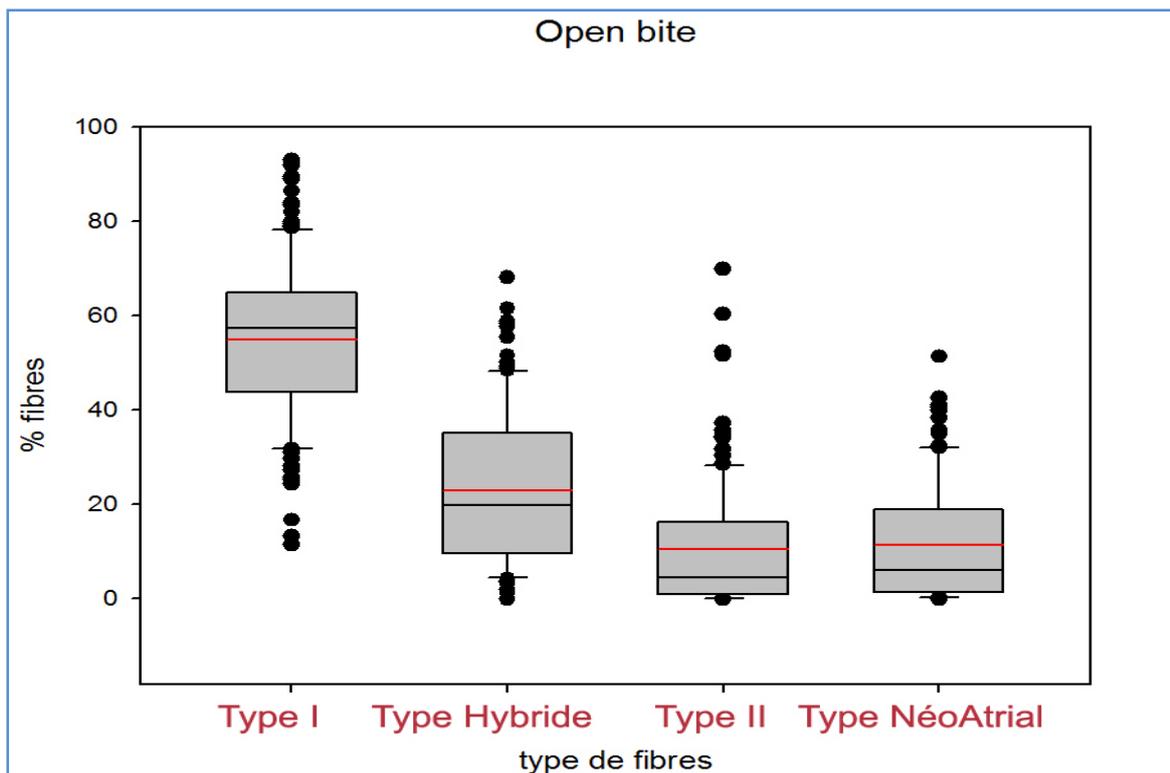


Figure 57 : Répartition du pourcentage de fibres dans les open bite (Box plot).

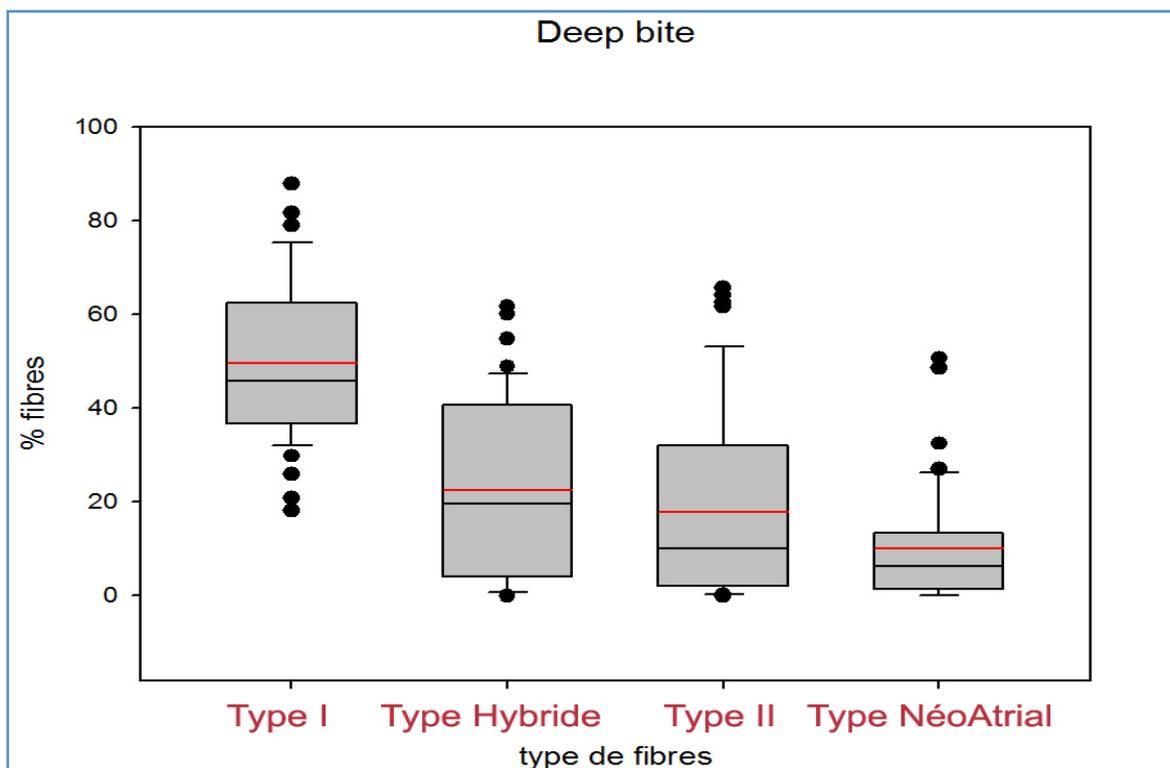


Figure 58 : Répartition du pourcentage de fibres dans les deep bite (Box plot).

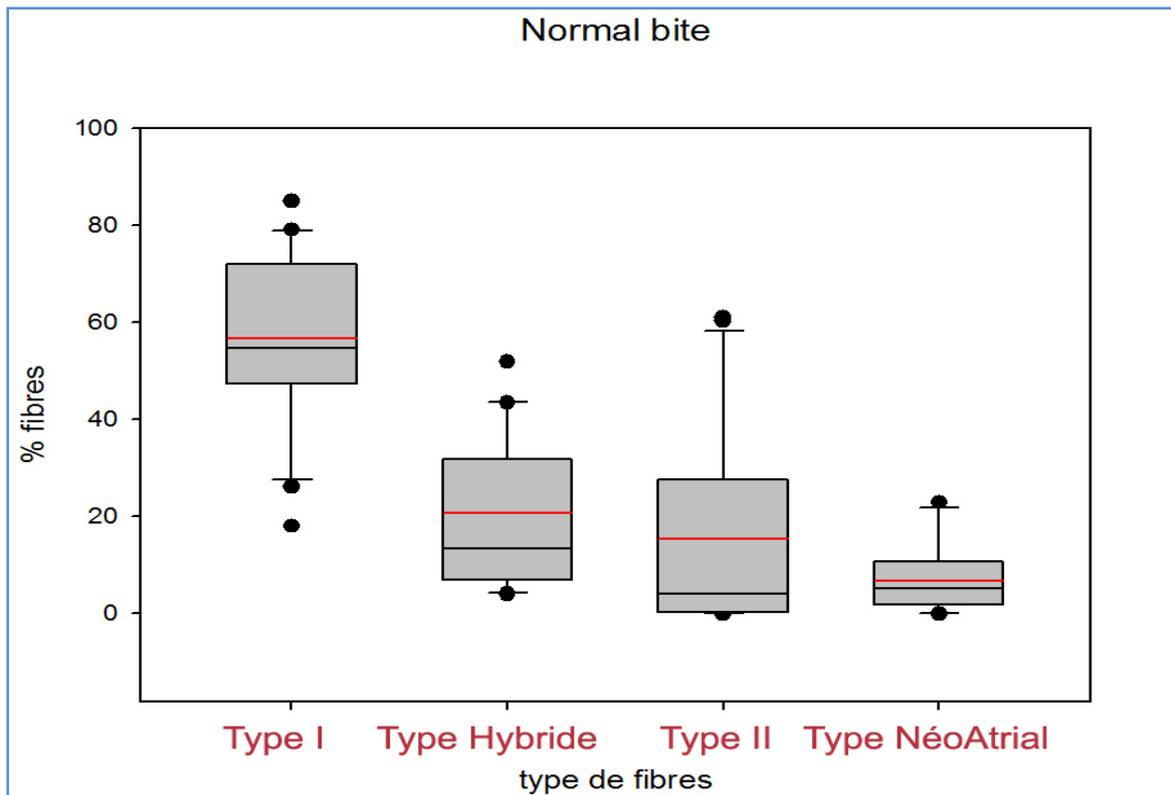


Figure 59 : Répartition du pourcentage de fibres dans les normal bite (Box plot).

Pour l'ensemble des boîtes à moustache de la figure 53 à 59 incluse, la moyenne est représentée en rouge, la médiane en noir, la limite inférieure du rectangle représente le 1^{er} quartile, la limite supérieure du rectangle représente le troisième quartile, la moustache inférieure représente le 5^{ème} percentile, la moustache supérieure le 95^{ème} percentile. Les points en dehors des moustaches sont représentés afin de caractériser l'ensemble de la population.

6.5 RESULTATS DES DONNEES RADIOLOGIQUES

6.5.1 LATERO-DEVIATION

83 patients sans latéro-déviations mandibulaire (51,5%).

78 patients avec latéro-déviations mandibulaire droite ou gauche (48,5%).

La latéro-déviations mandibulaire est une déformation très fréquente dans notre population. Il faut préciser néanmoins que l'existence d'une latéro-déviations mandibulaire justifie un geste sur la mandibule, ne serais-ce que pour le recentrage. Ceci explique la haute fréquence des latéro-déviations dans notre population puisque pour bénéficier d'échantillons de muscle masséter il faut obligatoirement qu'il y ait un geste chirurgical sur la mandibule (Epker).

6.5.2 CLASSE DENTAIRE

92 patients en classe II (57,1%)

65 patients en classe III (40,3%)

4 patients en classe I (2,4%) (opérés pour latéro-déviations et problème vertical)

6.5.3 HAUTEUR FACIALE ANTERIEURE

107 patients open bite (66,5%)

37 patients deep bite (22,9%)

17 patients normal bite (10,6%)

6.5.4 TENDANCE BASI-CRANIENNE (PREDISPOSITION CRANIENNE)

76 patients Ortho-frontaux (47,2%)

58 patients Trans-frontaux (36%)

27 patients Cis-frontaux (16,7%)

6.5.5 MANDIBULIE (POSITION DE ME PAR RAPPORT A F1)

89 patients en Rétro-mandibulie (55,3%)

54 patients en Pro-mandibulie (33,5%)

18 patients en Normo-mandibulie (11,1%)

6.5.6 CONTACTS DENTAIRES

Pour les 161 patients, on retrouve une moyenne de 16 dents en contact avec des extrêmes de 0 à 30.

6.5.7 PROFIL RADIOLOGIQUE DES DYSMORPHOSES

La carte d'identité, ou la caricature de notre population nous donne par l'expression de la proportion la plus élevée : Classe II (57%) Open bite (66%) non dévié (51%) orthofrontal (47%) avec rétromandibulie (55%) et une moyenne de 16 contacts dentaires. Ce profil majoritaire sera à suivre dans l'évolution de l'incrémentation des patients dans l'échantillon.

6.6 RESULTATS DE LA RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'ELECTROPHORESE ET L'IMMUNOMARQUAGE

Le test de Student apparié (seuil alpha 0,05), réalisé sur la proportion de MHC de type I et de type II (IIa + IIx) en comparant les résultats de l'électrophorèse et de l'immunomarquage a retrouvé une différence entre les moyennes n'est pas significative ($p=0,1503$). Le test de Test de Wilcoxon retient également l'hypothèse H_0 ($p=0,142$).

On peut donc considérer les deux séries de mesure comme statistiquement identiques d'après le test de Student et de Wilcoxon.

Les résultats en proportion de MHC de type I et de type II (IIa et IIx) obtenus à partir de l'immunomarquage et de l'électrophorèse sont comparables (tableau 16).

L'immunomarquage ne fournit pas de renseignement quantitatif sur la répartition de l'isoforme IIa au sein des fibres IM, IIC et IIAX. Ainsi, les isoformes IIa et IIx sont confondues dans leur calcul. L'électrophorèse fournit la quantité séparée de l'isoforme IIa et IIx. Mais elles sont ajoutées entre elles pour ne faire qu'une seule catégorie type II qui est comparée à l'immunomarquage.

Le fait de trouver une bonne correspondance entre la lecture des électrophorèses et l'immunomarquage (concernant les fibres de type I et II uniquement), sur un prélèvement de masséter partagé entre ces deux méthodes, nous conforte dans la précision et la cohérence des expérimentations. Ce résultat n'a été possible qu'en incluant toutes les électrophorèses afin d'avoir un échantillon suffisamment grand du point de vue statistique. De plus, ceci nous montre que les résultats de l'immunomarquage qui explorent une petite partie du prélèvement de masséter, peuvent s'extrapoler à l'ensemble du prélèvement étudié (pour les fibres de type I et de type II), puisque les résultats sont confirmés par l'électrophorèse qui intéresse l'ensemble du tissu étudié. En effet, nous aurions pu voir une différence significative étant donnée la grande variabilité intrinsèque de la composition en chaînes lourdes de myosine du masséter. A l'échelle du prélèvement (de 3 à 5 mm de long), il n'y a pas de variation significativement importante de la composition.

Echantillon de masséter	Pourcentage de fibres de type I en immuno marquage	Pourcentage de fibres de type II en immuno marquage	Pourcentage de fibres de type I en électrophorèse	Pourcentage de fibres de type II en électrophorèse
	IS I	IS II	EP I	EP II
M 1	92,6%	7,4%	98,1%	1,9%
M 2	55,5%	44,5%	67,9%	32,1%
M 3	60,7%	39,3%	47,1%	52,9%
M 4	82,0%	18,0%	71,7%	28,3%
M 5	83,6%	16,4%	84,6%	15,4%
M 6	78,9%	21,1%	88,7%	11,3%
M 7	80,1%	19,9%	59,4%	40,6%
M 8	54,3%	45,7%	57,0%	43,0%
M 9	84,1%	15,9%	68,9%	31,1%
M 10	81,0%	19,0%	86,2%	13,8%
M 11	61,5%	38,5%	63,0%	37,0%
M 12	78,6%	21,4%	76,7%	23,3%
M 13	90,6%	9,4%	85,0%	15,0%
M 14	69,3%	30,7%	40,6%	59,4%
M 15	75,0%	25,0%	55,0%	45,0%
M 16	68,8%	31,2%	59,6%	40,4%
M 17	NA	NA	77,9%	22,1%
M 18	NA	NA	50,7%	49,3%
M 19	87,1%	12,9%	84,0%	16,0%
M 20	85,8%	14,2%	58,9%	41,1%
M 21	NA	NA	46,9%	53,1%
M 22	NA	NA	NA	NA
M 23	NA	NA	81,0%	19,0%
M 24	95,6%	4,4%	96,0%	4,0%
M 25	89,5%	10,5%	62,5%	37,5%
M 26	90,6%	9,4%	88,3%	11,7%
M 27	51,2%	48,8%	87,7%	12,3%
M 28	94,7%	5,3%	97,6%	2,4%

Tableau 16 : Valeurs comparées entre l'immunomarquage et l'électrophorèse.

6.7 PROFIL MUSCULAIRE DE LA POPULATION

Le profil global des prélèvements révélant une majorité de fibres de type I (53,6%) avec une surface moyenne supérieur aux fibres de type II et à toutes les autres fibres. La composition globale et la surface moyenne d'occupation est tout-à-fait conforme à la littérature, le masséter apparaissant comme un muscle globalement lent (107).

Ce profil affirme l'absence de pathologie véritable dans les dysmorphoses, mais des variations dans la limite de la normale, rendant leur caractérisation très difficile. La population globale sert de référence, et ceci nous aidera à trouver les profils anormaux et statistiquement différents lorsque le nombre de sujets aura encore augmenté.

6.8 RESULTATS DE LA RECHERCHE DE RELATION ENTRE L'IMMUNOMARQUAGE ET LA DYSMORPHOSE

6.8.1 COMPARAISONS DU COTE GAUCHE (161 PATIENTS), CLASSE I EXCLUE.

6.8.1.1 FIBRES HYBRIDES ET CLASSE SQUELETTIQUE

%fibres hybrides vs classe p=0,0419

Nous avons mis en évidence une augmentation tout juste significative ($p=0,0419$) du pourcentage de fibres hybrides dans les classes II (moyenne de 25,1%) par rapport aux classe III (moyenne 17,1%).

Cette notion est nouvelle par rapport aux travaux antérieurs qui n'avaient pas réussi à trouver de relation significative avec la dimension sagittale. Les fibres hybrides peuvent être considérées comme des fibres transitionnelles, et il y aurait dans les classes II plus de fibres en phase transitionnelle, sans que l'on sache dans quel sens va la transition (profil lent ou rapide). Dans les classes III le pourcentage de fibres hybride diminue. Cette particularité tout juste significative doit être gardée et vérifiée sur un plus grand nombre de patients.

Du point de vue morphologique, on sait que le masséter est significativement différent en volume en orientation en cas de prognathisme (Classe III) par rapport à la position normale (Classe I) (7;97). Ces études ont été réalisées sur des reconstructions tridimensionnelles à partir d'images scanner et d'IRM, puis vérifiées sur des coupes histologiques. La morphologie du masséter, du moins son orientation plus ou moins oblique en bas et en arrière, semble influencer son phénotype. Ainsi la fonction apparaît reliée au phénotype, permettant de supposer que le muscle est physiologiquement sain et répond à une architecture osseuse différente par le biais de sa plasticité. De plus, lors des mouvements d'ouverture et fermeture buccale, en cas de dysmorphose dans le sens sagittal, il y a nécessairement un rattrapage de la position antéro-postérieure qui doit s'effectuer pour amener à la congruence interarcades et permettre au patient de retrouver sa position d'intercuspidie maximale.

6.8.1.2 FIBRES DE TYPE II ET CLASSE SQUELETTIQUE

%fibres type II vs classe p=0,0234

Nous retrouvons une augmentation significative du pourcentage de fibres type II dans les classes III (moyenne de 20,9%) par rapport aux patients en classe II (moyenne 12,5%). Cette constatation est intéressante car elle nous oriente vers une différence entre les classes II et les classes III. La variation du pourcentage de fibres de type II semble se faire en miroir avec les fibres hybrides. Cette constatation semble nous orienter vers une variation en miroir entre les fibres hybrides et des fibres de type II

Le profil des classes II est en faveur d'une augmentation du pourcentage des fibres hybrides au détriment des fibres de type II.

Le profil des classes III est en faveur d'une baisse du pourcentage des fibres hybrides à l'avantage des fibres de type II.

6.8.1.3 FIBRES DE TYPE II ET HAUTEUR VERTICALE ANTERIEURE

%fibres type II vs bite p=0,0073

Nous retrouvons une augmentation significative du pourcentage de fibres type II dans les Deep bite (19,5%) et Normal bite (moyenne de 20,5%) par rapport aux Open bite (moyenne 10,2%).

Ce résultat est très important car il confirme celui que nous avons trouvé précédemment (Résultats présentés dans les publications suivantes : (165;182)) et se trouve d'autant plus intéressant que le profil du muscle masséter est lent (la moyenne globale de fibres de type II chez les 161 patients est de 12,8%). La hauteur faciale semble imprimer une modification de la fonction agissant sur la plasticité musculaire au niveau du masséter.

La hauteur faciale est un élément clinique assez facile à mettre en évidence, ce qui n'est pas le cas pour la position sagittale de la mandibule. Sur des échantillons plus petits, cette tendance significative à la baisse du pourcentage de fibres de type II dans les open bite et l'augmentation dans les deep bite avait été retrouvée. La hauteur faciale répond assez souvent à une dysfonction respiratoire : les respirateurs buccaux. Il s'agit alors d'un élément fonctionnel déterminant dans la croissance de la face et la réponse du masséter par le biais de la plasticité. Yabushita a mis en évidence une grande adaptabilité des fuseaux neuromusculaires à la modification de la hauteur faciale (243;244). En effet, la hauteur

faciale n'est pas déterminée fonctionnellement et il est possible de la modifier cliniquement par des prothèses et gouttière d'occlusion sans induire de trouble majeur. Il n'y a pas de référence dentaire comme dans les troubles de position antéropostérieurs qui permette de quantifier en une seule étape la hauteur faciale. Pour déterminer la hauteur faciale il faut passer par une analyse céphalométrique en tenant compte de points construits sur la face, le crâne et le rachis cervical. D'ailleurs, Hunt en 1993, sur une étude par marquage de l'ATPase de biopsies de masséter de 12 patients présentant des « long-face » (open bite) (87). Il a été mis en évidence une différence significative entre la période préopératoire et postopératoire concernant la proportion de fibres hybrides. Ici encore, cette population réduite a permis de retrouver une différence significative puisqu'elle s'adressait à deux prélèvements réalisés chez le même patient avant et après chirurgie orthognatique. D'autre part cette étude était basée sur le marquage à l'ATPase qui fournit des résultats moins précis que l'immunomarquage.

6.8.1.4 FIBRES TYPE II VS CLASSE ET BITE

%fibres type II vs classe X bite p=0,0205

Il existe une interaction entre la classe (II, III) et le bite (open, normal, deep) pour le pourcentage de fibres de type II, le test complémentaire de Bonferroni (Dunn) montre une significativité complémentaire (p=0,0001) pour le pourcentage de fibres type II dans les classes III entre les Open bite qui ont une moyenne significativement plus basse (10,9%) par rapport aux Deep bite (21,4%) et aux Normal bite (32,2%).

Cette interaction (p=0,0205) entre la classe et le bite pour le pourcentage de fibres de type II confirme la plus forte proportion de fibres de type II chez les deep bite et les normal bite une nouvelle fois, mais dans les classes III plus précisément.

Le reste des interactions est non significatif.

6.8.1.5 SURFACE MOYENNE DES FIBRES ET HAUTEUR FACIALE ANTERIEURE

Meanfibres NéoAtriales vs bite p=0,0401

Concernant la surface moyenne d'une fibre néoatriale et hauteur faciale, nous avons mis en évidence une baisse significative ($p=0,0401$) de la surface moyenne d'une fibre type NéoAtrial dans les Deep bite (moyenne de $664 \mu\text{m}^2$) et les Open bite (moyenne de $831,1 \mu\text{m}^2$) par rapport aux patients Normal bite (moyenne $1107 \mu\text{m}^2$). La surface moyenne d'une fibre est bien corrélée à son diamètre. Dans ce cas, on peut dire que les fibres atypiques (néonatales et atriales) ont des petits diamètres pour les patients à anomalie de hauteur verticale (Open ou Deep bite) en comparaison à ceux considérés comme normaux. Si leur diamètre est petit, c'est qu'elles sont moins utiles ou moins sollicitées. Il est difficile de trouver d'autre explication exploitable à l'heure actuelle, d'autant qu'il n'existe pas de modification significative de leur pourcentage. Ce résultat devra si possible être confirmé et complété par l'augmentation de la population.

Le reste des interactions est non significatif.

6.8.1.6 FIBRES HYBRIDES ET POSITION MANDIBULAIRE SELON F1 CRANIO-ADAPTE

%fibres Hybrides vs Mandibulie p=0,0023

Nous retrouvons une baisse significative du pourcentage de fibres hybrides dans les normo-mandibulies (moyenne 15,5%) par rapport aux retro-mandibulies (moyenne 19,5%) et aux pro-mandibulies (moyenne 31,6%).

Le reste des interactions est non significatif.

La position de la mandibule par rapport à F1 crânio-adaptée est une manière de revisiter le concept de classe II ou classe III. Dans ce cas, la position relative de la mandibule par rapport au maxillaire n'est pas prise en compte, mais uniquement la position absolue de la mandibule par rapport à la base du crâne. Cette classification est intéressante car elle tient compte de la position de la mandibule par rapport au crâne. Ainsi, les classes II (97 sujets) et classe III (65 sujets) sont globalement réparties en respectivement rétro (89 sujets)

et pro-mandibulie (54 sujets), mais pas systématiquement. Cette répartition ainsi modifiée amène à d'intéressantes constatations.

Nous constatons la baisse significative ($p=0,0023$) du pourcentage de fibres hybrides dans les normo-mandibulies (moyenne 15,5%) par rapport aux pro-mandibulies (moyenne 31,6%) et aux rétro-mandibulies (moyenne 19,5%). La moyenne de référence de la population étudiée est de 23,4%. La pro-mandibulie est donc associée à une augmentation du pourcentage de fibres hybrides alors que la normo et la rétro-mandibulie sont associées à une baisse.

Ce résultat renforce l'intérêt à porter au diagnostic de la prédisposition crânienne développé par l'analyse de Delaire. Ainsi, ce paramètre de position de la mandibule alignée sur sa position crânio-adaptée, semble relié au pourcentage de fibres hybrides. Les fibres hybrides ayant une vocation supposée de fibres transitionnelles relativement lentes, il s'agirait schématiquement de soutenir l'idée que les patients en normomandibulie (par rapport au rachis et la base du crâne) ont un équilibre fonctionnel ne stimulant pas la production de fibres hybrides. Cette notion est purement radiologique et basée elle-même sur des études statistiques. En chirurgie orthognatique, nous tenons compte néanmoins de ce paramètre afin de nous placer dans les conditions supposées optimales pour la stabilité à long terme. Ainsi les fibres hybrides semblent jouer un rôle dans l'équilibre sagittal de la mandibule par rapport à la prédisposition crânienne.

6.8.1.7 SURFACE MOYENNE DES FIBRES ET MANDIBULIE

Mean hybrid vs mandibulie p=0,0387

Nous retrouvons une baisse significative de la surface moyenne d'une fibre de type Hybride dans les normo-mandibulies ($1177,8 \mu\text{m}^2$) par rapport aux rétro-mandibulies (moyenne $1741,8 \mu\text{m}^2$) et aux pro-mandibulies ($1708,9 \mu\text{m}^2$)

Le reste des interactions est non significatif.

Surface moyenne d'une fibre hybride et position de la mandibule par rapport à la base du crâne.

Ce résultat est cohérent avec le précédent, et la baisse significative du pourcentage de fibres hybrides chez les patients en normo-mandibulie. Ainsi, chez les patients en normo-mandibulie, le profil est celui d'un plus faible pourcentage de fibres de type hybride qui possèdent de surcroît un diamètre moyen plus faible. Ce double résultat concordant confirme l'intérêt scientifique de l'analyse architecturale de Delaire qui a servi à fournir l'ensemble des diagnostics de dysmorphose de ce travail. Malheureusement, on ne connaît pas l'autre catégorie de fibre bénéficiant de cette variation de fibres hybrides.

6.8.1.8 POURCENTAGE DE FIBRES, FRONTALITE ET MANDIBULIE

Nous ne retrouvons aucune relation significative.

6.8.1.9 SURFACE MOYENNE DES FIBRES, FRONTALITE ET MANDIBULIE

Nous ne retrouvons aucune relation significative.

Nous ne retrouvons pas de relation entre la prédisposition crânienne (ortho, normo, cis – frontal) et la position de la mandibule par rapport à F1 crânio-adapté (pro, rétro, normo-mandibulie). Que ce soit en termes de pourcentage ou de surface moyenne, aucune des quatre fibres n'a présenté de profil particulier en fonction de cette subdivision. Cette subdivision n'a pas de traduction au niveau du phénotype musculaire.

Il s'agit d'une classification basée sur des constatations radiologiques d'après l'analyse architecturale de Delaire. Cette absence de relation nous incite à donner une importance capitale à la présentation clinique et pas aux considérations purement radiologiques. C'est une attitude en général adoptée en chirurgie orthognatique. On se base en effet sur l'analyse architecturale pour connaître les tendances, mais on ne cherche pas à tout prix à corriger ce paramètre. Ainsi, chez un patient en classe II, avec d'après l'analyse une rétro-mandibulie (par rapport à F1 crânio-adaptée) et une promaxillie, si cliniquement le maxillaire apparaît en bonne place (position de la lèvre supérieure, hauteur du maxillaire, absence de décalage du point interincisif) on ne corrigera que la mandibule. En effet, on s'attachera à corriger la dysmorphose en termes de position relative de la mandibule par rapport au maxillaire, mais pas forcément à corriger également la position absolue de la mandibule et du maxillaire par rapport à la base du crâne. Dans cet exemple, on gardera à l'esprit que la position du maxillaire et de la mandibule est légèrement en avant de leur position idéale par rapport à la base du crâne, mais que la présentation clinique et donc fonctionnelle du patient est meilleure dans cette position. La primauté du sens clinique est confirmée.

6.8.1.10 COMPARAISON DU POURCENTAGE FIBRES ET DES CONTACTS DENTAIRES

Nous ne retrouvons aucune relation significative.

6.8.1.11 COMPARAISON DE LA SURFACE MOYENNES DES FIBRES ET DES CONTACTS DENTAIRES

Nous ne retrouvons aucune relation significative.

Il n'y a pas de relation entre le pourcentage ou la surface d'une fibre avec les contacts dentaires dans le cadre de notre étude.

6.8.2 COMPARAISONS DU COTE DROIT ET GAUCHE (36 PATIENTS).

Pour les 36 patients pour lesquels des prélèvements ont été disponibles des deux côtés, nous les avons séparés en deux catégories (tableau 17) :

Pour la catégorie des patients non déviés (n=14), nous avons comparé le côté droit et le côté gauche selon le test de Wilcoxon. Aucune différence significative n'est retrouvée quelque soit le type de fibre, en terme de pourcentage ou de surface moyenne. En conclusion, les patients ne présentant pas de latéro-déviations mandibulaires ne présentent pas de différence significative de composition de leur muscle masséter entre le côté gauche et le côté droit.

Pour la catégorie des patients déviés (n=22), nous avons comparé le côté de la déviation par rapport au côté opposé à la déviation. Le test de Wilcoxon montre une différence significative ($p=0,0286$) au niveau du pourcentage de fibres de type II chez les patients présentant une latérodéviations. Le pourcentage de fibres de type II est plus élevé du côté homolatéral à la déviation. Ainsi les patients déviés à droite ont un taux de fibres de type II plus élevé du côté droit.

A titre anecdotique, le seuil de significativité était également très proche pour la surface moyenne des fibres de type II. Etant donné que ce résultat n'est pas significatif, on s'interdit de l'interpréter, mais l'augmentation de la population devrait pouvoir nous fournir assez rapidement un nouveau résultat permettant de nous donner une interprétation sur le diamètre des fibres de type II dans les latérodéviations.

Paramètre étudié	Non déviés (n=14)				Déviés (n=22)			
	Droit		Gauche		Homolatéral		Controlatéral	
	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type
% type I	56	11,8	58,3	13,1	58,5	15,7	62,4	18,4
% Hybrid	26,15	18,2	18,8	14,8	15,3	12,8	16,9	15,1
% type II	10,6	15,6	11,7	17,5	15,5*	14,4	9,07*	12,5
% NeoAtrial	7,23	6,5	11,3	10,2	10,6	11	11,5	13,9
Mean I (μm^2)	2548,36	875,5	2424,4	696,2	2270,7	732,1	2175,8	868
Mean Hybrid (μm^2)	1763,9	640,5	1526	561,5	1543,9	707,5	1353,4	746,2
Mean II (μm^2)	867,2	732,5	1013,3	505,7	760,6**	626,1	632,46**	593,5
Mean NeoAtrial (μm^2)	911,7	488	1078,2	596	842,7	445,6	800,6	611,9

* différence significative entre le côté homolatéral et controlatéral à la déviation ($p=0,0286$) pour le pourcentage de fibres de type II

** tendance entre le côté homolatéral et controlatéral à la déviation ($p=0,0785$) pour la surface moyenne des fibres de type II

Paramètre étudié	Non déviés Droit vs Gauche	Déviés Homolatéral vs controlatéral
% type I	0,5016	0,2725
% Hybrid	0,3575	0,6624
% type II	0,5016	0,0286
% NeoAtrial	0,1726	0,4077
Mean I (μm^2)	0,9515	0,3336
Mean Hybrid (μm^2)	0,2412	0,2123
Mean II (μm^2)	0,4631	0,0785
Mean NeoAtrial (μm^2)	0,2412	0,1756

Tableau 17 : Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les deux côtés prélevés. En haut les valeurs moyennes et écart-type. En bas les résultats du test de Wilcoxon chez les patients déviés et non déviés, p limite = 0,05

7 DICUSSION GENERALE

7.1 RESUME DES RESULTATS PRINCIPAUX

L'ensemble des résultats principaux est résumé dans le tableau 18.

Concernant la hauteur faciale antérieure, nous avons mis en évidence une augmentation du pourcentage de fibres de type II chez les « deep bite » par rapport aux « open bite », chez qui on retrouve une baisse du pourcentage des fibres de type II. Pour ces deux groupes (open et deep bite) on constate en parallèle une baisse de la surface moyenne des fibres néoatriales le par rapport aux « normal bite ». Il aurait été intéressant d'obtenir des résultats portant sur les quatre types de fibres permettant d'expliquer la variation d'un type vers l'autre. Ce n'est actuellement pas possible par rapport à cet échantillon.

La position sagittale de la mandibule est reliée à la fois par les fibres de type II et les fibres hybrides. Dans les classes II, on voit une augmentation du pourcentage de fibres hybrides au détriment des fibres de type II. C'est le contraire dans les classes III. Cet effet est renforcé par l'interaction entre la position de la mandibule par rapport à la ligne F1 crânio-adaptée.

La constatation qui ressort de ce travail est la suivante : mis à part le contingent des fibres de type I qui est prépondérant, on retrouve une relation, entre les déformations dans les trois sens de l'espace liées à la dysmorphose, sur le phénotype du masséter. Que ce soit la hauteur faciale, la latéro-déviaton ou la position sagittale, cette modification des rapports osseux se traduit par une réponse du masséter en termes de phénotype. Sur le plan de la recherche de l'étiologie de la dysmorphose, on cherche à savoir s'il s'agit du muscle ou de l'os. Tous deux sont doués d'adaptation par le biais du remodelage (os) ou de la plasticité (muscle). La différence entre ces deux types d'adaptation étant que la plasticité est beaucoup plus rapide que le remodelage. On peut supposer alors différents modèles pour expliquer la dysmorphose :

- *un défaut de régulation de la plasticité musculaire
- *un défaut de régulation du remodelage osseux
- *un défaut d'équilibre ou de synchronisation entre la plasticité et le remodelage.

Classification clinique					
	Classe II	Classe III	Openbite	Normalbite	Deepbite
%hybride	↑ 25,1% <i>p=0,0419</i>	↓ 17,2% <i>p=0,0419</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
% type II	↓ 12,5% <i>p=0,0234</i>	↑ 20,9% <i>p=0,0234</i>	↓ 10,2% <i>p=0,0073</i>	↑ 20,5% <i>p=0,0073</i>	↑ 19,5% <i>p=0,0073</i>
% type II			↓ <u>Pour Classe III</u> 10,9% <i>p=0,0001</i>	↑ <u>Pour Classe III</u> 32,2% <i>p=0,0001</i>	↑ <u>Pour Classe III</u> 21,4% <i>p=0,0001</i>
Surface NéoAtriale	<i>ns</i>	<i>ns</i>	↓ <i>p=0,0401</i> 664µm²	↑ <i>p=0,0401</i> 1107 µm²	↓ <i>p=0,0401</i> 831 µm²
Tendance basi-crânienne					
	Rétro-mandibulie	Normo-mandibulie	Pro-mandibulie		
%hybride	↑ 19,5% <i>p=0,0023</i>	↓ 15,5% <i>p=0,0023</i>	↑ 31,6% <i>p=0,0023</i>		
Surface hybride	↑ <i>p=0,0387</i> 1741,80 µm²	↓ <i>p=0,0387</i> 1177,86 µm²	↑ <i>p=0,0387</i> 1708,89 µm²		
Latéro-déviations					
	Non-déviés	Déviés			
%type II	<i>ns</i> (10,6% vs 11,7%)	↑ du côté homolatéral à la déviation <i>p=0,0286</i> (15,5% vs 9,1%)			

Tableau 18 : Récapitulatif des résultats principaux obtenus par immunomarquage. Ne figurent que les résultats sur la composition en fibres musculaire (pourcentage ou surface moyenne) avec $p < 0,05$.

Dans tous ces cas de dysmorphose, le masséter répond par le biais de la plasticité musculaire en adaptant son phénotype. La question demeure en ce sens qu'on ne sait pas si cette réponse est physiologique et présente un avantage. Malheureusement, il apparaît que le phénotype du masséter n'est pas constant et semble relié à la dysmorphose.

Si on pousse ce raisonnement, il serait tentant de supposer que c'est un évènement donné lors de la croissance, indépendant du muscle, qui a été à l'origine de la modification des rapports maxillo-mandibulaires. On peut alors tout supposer : un trouble de l'éruption dentaire, une respiration buccale, la mastication unilatérale, une perte dentaire, une anatomie dentaire modifiée etc.... A partir de cet évènement, la position relative des maxillaires est déterminée et la croissance se poursuit en s'adaptant à la situation. Le muscle s'adapte à sa nouvelle position anatomique par une modification du phénotype par le biais de sa plasticité.

A l'opposé, on peut supposer que la régulation du phénotype massétérien soit défaillante, son profil protéique change, induisant une modification de sa fonction et de la croissance du squelette osseux maxillo-facial.

7.2 HAUTEUR FACIALE ANTERIEURE ET FIBRES DE TYPE II

La hauteur faciale antérieure est associée à des variations significatives de la proportion en fibres de type II du masséter. Ce résultat confirme et conforte ceux que nous avons obtenus précédemment sur une partie de notre population en cours de constitution.

D'un point de vue pragmatique et terre à terre, cette découverte nous est apparue compréhensible. Chez les patients « deep bite » présentant une faible hauteur faciale antérieure (short face), le fait de retrouver une plus grande proportion de fibres de type II, rapides et puissantes, semblerait indiquer que ces patients ayant une force masticatoire importante et une vitesse d'élévation de la mandibule plus rapide, s'accompagnerait d'une plus faible croissance du massif facial dans sa région antérieure. Cliniquement les patients « deep bite » ont une mandibule dont les contours ont un aspect très rectangulaire avec des angles très prononcés en raison des reliefs osseux et surtout du volume des masséters. En général l'angle mandibulaire est fermé, expliquant la faible hauteur faciale antérieure. De plus, comme leur dimension verticale est plus faible, l'aspect de largeur est accentué.

A l'opposé, les patients « open bite » ont un aspect de « long face », avec un visage qui apparaît plus fin et allongé, un angle mandibulaire ouvert, avec par voie de conséquence une dimension verticale antérieure plus importante.

Outre l'aspect architectural, ces patients ont également un faciès différent : les « short face » ont un visage plus tonique et expressif, alors que les long face ont un aspect plus lymphatique avec moins d'expressivité. Du point de vue de la stabilité à long terme, les « short face » sont plus stables, en partie par le fait qu'ils favorisent plus la fermeture buccale et le calage occlusal, alors que les « long face » ont plus tendance à avoir la bouche ouverte. Le calage occlusal étant moindre, on s'expose à plus de récurrences à long terme.

7.3 CAS DES LATÉRODEVIIATIONS

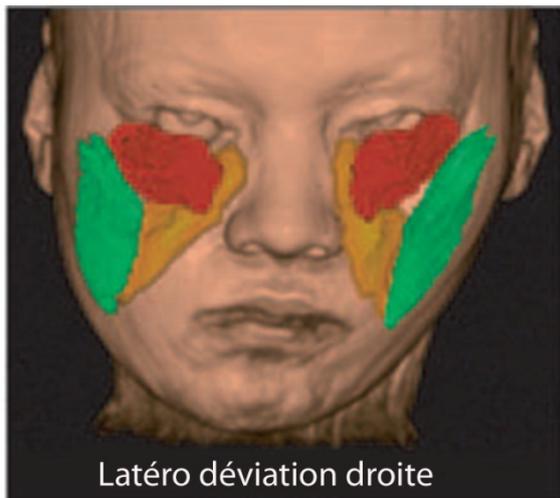
L'absence de différence significative entre les deux côtés chez les patients non déviés est une information très importante. D'une part, ceci nous conforte sur le fait que dans une dysmorphose symétrique, la fonction des masséters est identique. D'autre part, ce résultat nous démontre que les prélèvements ont bien été réalisés au même endroit. Si ce n'était pas le cas, nous aurions constaté une grande disparité entre les deux côtés chez les patients sans latéro-déviatiion, étant donné la grande variabilité de composition intrinsèque du masséter.

Chez les patients déviés, la preuve a été faite qu'il existe une différence significative entre le côté homolatéral à la déviatiion et le côté controlatéral, précisément sur le pourcentage de fibres de type II ($p=0,0286$). Concernant la surface moyenne d'une fibre, on constate également que pour le côté latéro-dévié, le niveau de significativité était proche ($p=0,0785$), mais encore non interprétable. Cette information est à prendre avec beaucoup de précaution car elle porte sur deux petits échantillons de 14 et 22 patients. Il faudra vérifier ce paramètre sur un plus grand échantillon et espérer voir la surface moyenne nous donner une indication supplémentaire. Cette tendance a néanmoins pu être vérifiée chez le rat, avec une augmentation du nombre de fibres rapides (IIB) du côté court, donc opposé à la mise en place d'une cale molaire (136). Il faut bien sûr émettre de nombreuses réserves dans la mesure où il s'agissait dans cette étude d'un modèle animal, qu'il s'agit de plus d'une mise en place de cale molaire et enfin que les observations portent sur l'isoforme IIB qui n'est pas retrouvée chez l'homme.

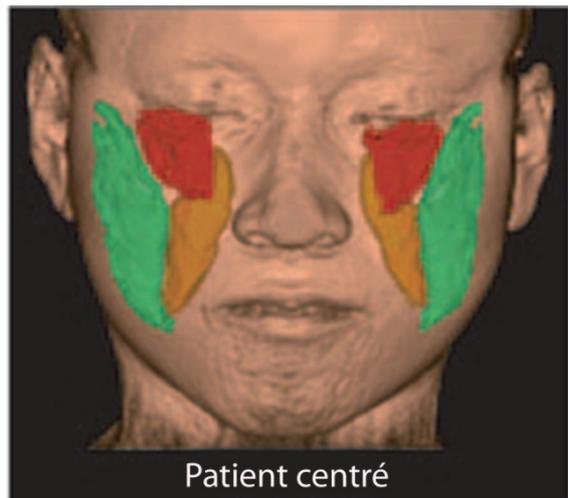
Nous pouvons donc argumenter qu'une occlusion asymétrique induit des modifications phénotypiques indiscutables, dans la limite de notre étude.

D'autre part, en cas de latéro-déviations, la morphologie des muscles masséters est significativement différente. Ainsi des travaux réalisés sur des images issues de l'IRM ou du scanner (98;121), après reconstructions tridimensionnelles, on constate une différence de morphologie significative du masséter entre le côté dévié et le côté non dévié par rapport aux patients contrôle non déviés. Ainsi, dans les déviations mandibulaires, le masséter est plus court et moins volumineux du côté de la déviation, sa direction est également plus verticale et plus oblique en bas et en arrière, toujours du côté de la déviation (69;70). Les études de l'épaisseur du masséter dans les asymétries confirment cette différence avec un muscle plus fin du côté de la déviation. Plus intéressant encore, cette asymétrie disparaît après traitement de l'asymétrie (100). Le muscle semble victime de la position des bases osseuses, elles-mêmes déterminées par le type d'occlusion lors de l'éruption de la denture définitive. Finalement, pour répondre à la problématique initialement posée de la genèse des dysmorphoses entre les bases osseuses et les muscles masticateurs, on serait tenté de dire ni l'un ni l'autre mais l'occlusion initiale. Les bases osseuses se développent sur l'occlusion initiale et la fonction musculaire s'adapte aux bases osseuses. Afin d'apporter la preuve histologique de cette supposition, il faudrait disposer de prélèvements postopératoires tardifs pour constater la symétrisation du phénotype massétéral après recentrage mandibulaire.

Anatomiquement, le masséter est oblique en bas en dedans et en arrière. En cas de latéro-déviations mandibulaires, les arcades dentaires ne sont plus face à face, mais l'arcade mandibulaire et son arcade se déplacent latéralement du côté de la déviation, avec également une composante de rotation. Il s'ensuit une position plus verticale du masséter due au déplacement latéral ainsi qu'un axe plus oblique en bas et en arrière en raison de la composante de rotation vers le côté dévié (Figure 60).



Latéro déviation droite



Patient centré

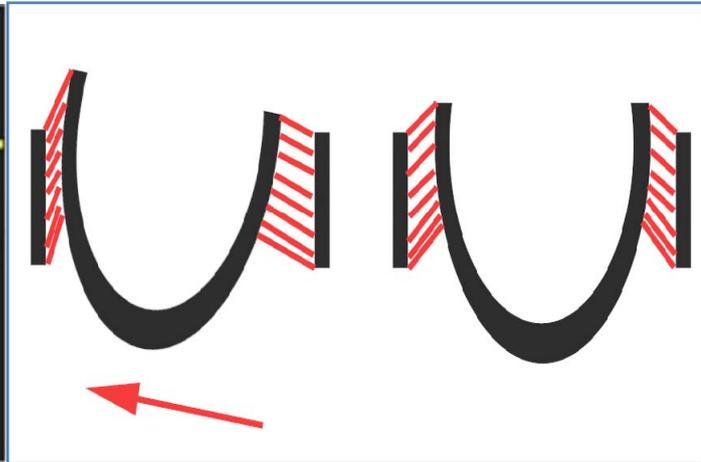
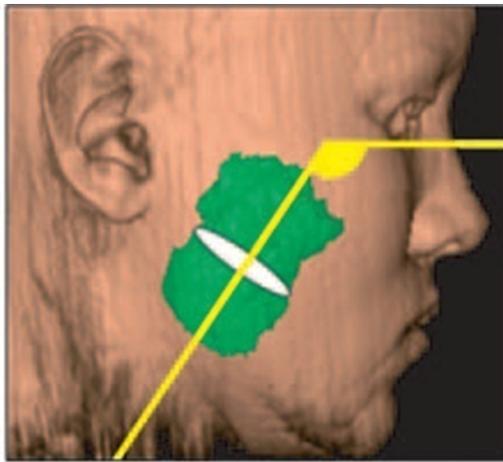


Figure 60 : Orientation du masséter en cas de latéro-déviaton.

En haut à droite, en vert apparaît par transparence le masséter chez un patient sans latéro déviation mandibulaire (en orange le ptérygoïdien médial et en rouge le ptérygoïdien latéral). La direction du masséter est alors oblique en bas et en dedans.

En haut à gauche, le masséter du côté de la déviation est beaucoup plus vertical et le masséter du côté opposé à la déviation est beaucoup plus oblique en bas et en dedans.

En bas à gauche, le masséter apparait oblique en bas et en arrière. Cette obliquité s'exagère du côté de la déviation. Modifié d'après Goto (69).

En bas à droite, schéma rudimentaire vu de dessus de l'arche mandibulaire avec les arcades zygomatiques. En position centrée, les fibres du masséter apparaissent obliques en bas en arrière et en dedans. En cas de latéro-déviaton droite, du côté dévié, le masséter est plus oblique en bas et en arrière et moins oblique en bas et en dedans.

D'après les résultats des travaux effectués précédemment sur une plus petite partie de notre population (40;86;165;182) (Annexes 13, 14, 15, 18, 19) nous avons mis en évidence une relation entre un taux plus élevé de fibres de type II et les patients « deep bite » ou présentant une short face. Les patients « deep bite » ont pour caractéristique commune d'avoir une hauteur faciale antérieure plus courte que les « normal bite » et les « open bite ». Le fait de retrouver une plus grande quantité de fibres de type II, donc rapides et puissantes, chez des patients avec une faible croissance verticale nous semble cohérent. Concernant les latéro-déviation, nous avons mis en évidence une plus grande quantité de fibres de type II du côté homolatéral à la déviation qui correspond de surcroît au côté où le muscle masséter est plus court. Cette constatation apparaît également cohérente avec les résultats précédents sur la hauteur faciale : plus de fibres rapides du côté de la déviation, donc du côté où le muscle est le plus court en fermeture buccale. Les conditions d'utilisation du muscle masséter étant différentes chez les patients asymétriques, le côté homolatéral à la déviation correspond au côté où le masséter possède une amplitude de travail plus courte.

Chez un patient présentant une latéro-mandibulie, les contacts dentaires sont par définition différents des deux côtés, et lors de la fermeture buccale, la direction du masséter du côté de la déviation est différente par rapport au côté opposé.

Sur ce point, il faut se poser la question de savoir si justement, le phénotype musculaire avec une plus grande proportion de fibres de type II n'est pas à l'origine de la dysmorphose. En effet, la forte proportion de fibres de type II est plutôt inattendue dans un muscle réputé lent. D'autre part, on constate l'élévation significative du pourcentage de fibres de type II du côté de la déviation, et de surcroît, on a confirmé l'existence de l'élévation de cette proportion aussi chez les patients à face courte.

Il est alors légitime de penser que la composition en fibres de type II puisse être à l'origine de la dysmorphose par le biais d'une croissance déviée avec raccourcissement du muscle et donc des pièces osseuses sur lesquelles il est inséré.

D'un point de vue scientifique, il serait intéressant de comparer la quantité d'ARN messenger codant pour les différentes isoformes chez les patients déviés et non déviés, et de comparer cette quantité d'ARN messenger avec la quantité de l'isoforme correspondante. Si le message n'est pas proportionnel au niveau d'isoforme, c'est un argument en faveur de la genèse de la dysmorphose par une anomalie de régulation de l'expression du phénotype musculaire. Si la quantité de messenger est proportionnelle au niveau d'isoforme, on incriminera plutôt l'anomalie osseuse dans la modification du phénotype musculaire. Le problème sera alors de déterminer la cause de l'anomalie osseuse qui a conduit à ce changement de phénotype musculaire. Une récente étude sur la croissance de la mandibule dans les asymétries, ne retrouve pas d'exagération de l'asymétrie lors de la poussée de croissance (50). Ainsi l'asymétrie semble constituée d'emblée et se pérenniser tout au long de la croissance. L'os ne semble pas être le moteur de l'asymétrie mais la victime, en adaptant sa croissance aux rapports occlusaux asymétriques.

Le fait de pouvoir bénéficier de deux prélèvements chez le même patient (côté droit et gauche), gomme la variabilité inter-individus et nous aiderait à trouver cette relation y compris sur un petit échantillon. Une étude de l'ARN messenger a été effectuée sur quelques uns de nos échantillons, mais sur un seul côté, ne permettant pas de conclure (86) (Annexe 15)

Sans population de contrôle, il est impossible de connaître la normalité. Cette variation de pourcentage de type II entre le côté homolatéral et controlatéral à la déviation est peut-être à interpréter dans le sens d'une baisse significative mais modeste de la proportion de fibres de type II du côté opposé à la latéro-déviatation. En regardant les moyennes, du côté homolatéral à la déviation nous avons 15,6% de type II et du côté controlatéral, 9%. La moyenne globale de notre population est 12,8% de type II, se situant exactement à mi-chemin. Pour autant, le phénotype du masséter étant globalement lent, on aurait plutôt tendance à interpréter cette variation comme une augmentation de la proportion en fibres de type II du côté homolatéral à la déviation.

Malheureusement, cette constatation sur la différence significative entre les patients déviés et non déviés va nécessiter de reconsidérer l'organisation des groupes de la population globale des 161 patients. Jusqu'alors, le côté prélevé était par habitude le gauche

(dernier côté fermé par le Pr Ferri, droitier) et ne tenait pas compte de l'existence d'une latéro-déviations et encore moins de son sens. Il sera nécessaire pour les travaux futurs, de prendre en considération les patients déviés et non déviés de manière séparée et d'homogénéiser la population en non-déviés d'une part, et déviés d'autre part. Il sera tout-à-fait possible de regrouper les latéro-déviations droite et gauche, en considérant la comparaison entre le côté homolatéral à la déviation versus le côté controlatéral. Le côté positif de ce travail supplémentaire est l'espoir de trouver d'autres relations significatives sur ces deux populations plus réduites mais finalement beaucoup plus homogènes entre elles.

7.4 RELATION ENTRE LE POURCENTAGE OU LA SURFACE D'UNE FIBRE AVEC LES CONTACTS DENTAIRES

Il est surprenant de ne pas avoir trouvé de relation entre les contacts dentaires et le pourcentage ou la surface moyenne des fibres du masséter. En effet, sur le plan de la plasticité musculaire du masséter, l'importance des forces occlusales est primordiale sur le régime d'utilisation du muscle. Nous nous attendions à une différence de phénotype entre les patients présentant des contacts dentaires nombreux par rapport à ceux en présentant très peu. Depuis longtemps cette relation est recherchée mais pas mise en évidence au niveau des isoformes de myosine (170).

Hunt a cependant mis en évidence une différence significative du taux d'ARN des différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine chez 9 patients bénéficiant d'une chirurgie orthognatique. Ces patients ont été comparés à des cas témoins sans dysmorphose, avec une augmentation significative de l'ARN messager des fibres périnatales (néonatales, embryonnaires) au fur et à mesure de la baisse des contacts dentaires (88;89;138).

Les raisons majeures de l'absence de relation dans notre travail sont à mon sens le timing du prélèvement, l'absence de second prélèvement post-opératoire et l'absence de population contrôle saine. Le prélèvement est réalisé lors de l'intervention chirurgicale, après un traitement orthodontique de décompensation. Cette décompensation des arcades entraîne une modification majeure des contacts dentaires en termes de quantité et de

qualité. Le muscle subit alors une modification de son phénotype en rapport avec les modifications de sa fonction au fur et à mesure de l'évolution du traitement orthodontique. Le prélèvement devrait être idéalement réalisé avant toute prise en charge orthodontique afin d'avoir un phénotype stable et correspondant à la dysmorphose, et non pas en cours de modification. D'ailleurs, les récents travaux de Harzer portant sur l'ARN messenger des isoformes de type I, IIa et IIx, avant et après chirurgie orthognatique (30 patients, 240 biopsies) ont trouvé une relation significative pour l'augmentation du pourcentage de type IIa et la baisse du type MHC I, expliqué selon lui par l'augmentation du nombre et de la qualité des contacts dentaires (78). Dans cette expérimentation, l'avantage étant de bénéficier de biopsies pendant et après la chirurgie (6 mois), ce qui renforce la puissance des tests statistiques par la comparaison de l'évolution pour chaque individu. De plus, l'étude de l'ARN messenger permet de connaître la demande en production d'une isoforme par rapport à l'autre, mais ne semble pas en rapport avec la répartition d'isoformes constatées dans les biopsies (85). Ainsi, d'après Harzer, le taux de type IIa calculé par l'ARN messenger augmente après la chirurgie et se trouve corrélé à l'augmentation des contacts dentaires, sans rapport avec la dysmorphose. Il s'agit d'une méthodologie et de résultats comparables à ceux de Hunt. Dans ces expérimentations, le facteur mis en avant pour expliquer la modification du phénotype est le nombre de contacts dentaires. Il est vrai que dans les modèles de plasticité musculaire, nous avons pu décrire que la période du sevrage (1;228), avec l'apparition des dents sur les arcades, modifiait profondément le phénotype musculaire. Pour ce qui est de comparer le phénotype musculaire avant et après la chirurgie orthognatique, il ne faut pas oublier que le traumatisme chirurgical induit une amyotrophie importante des masséters pour une durée de plus de 6 mois. Pourtant les contacts dentaires sont parfaitement restitués puisqu'il s'agit du but de la chirurgie orthognatique. Il ne faut pas oublier que les ostéotomies mandibulaires nécessitent de dépérioster très largement l'angle et la branche montante de la mandibule, désinsérant les attaches du masséter et du ptérygoïdien médial. La transmission des forces occlusales au masséter est donc très largement diminuée, associée à une dévascularisation et une réaction inflammatoire du masséter. Au final, la modification du nombre de contacts dentaires ne semble pas constituer le seul élément de plasticité musculaire présent dans ces expérimentations, mais associé à l'hypovascularisation, la réaction inflammatoire et la baisse des forces transmises au muscle.

Il ne s'agit donc pas ici d'un modèle pur de variation de la plasticité musculaire mais d'un ensemble de facteurs, rendant très difficile la détermination de l'implication de chacun de ces facteurs.

7.5 BIAIS DE L'ETUDE

Le premier point de critique concerne le moment du prélèvement. Les patients sont prélevés au moment de l'intervention chirurgicale, plus précisément au temps mandibulaire. Or, tous ces patients ont bénéficié au préalable d'un traitement orthodontique visant à décompenser les arcades dentaires, c'est-à-dire à positionner les dents par rapports à leur base osseuse et non pas pour obtenir un engrènement optimal. Ce traitement orthodontique de préparation dure de 1 à 3 ans. Ainsi, durant cette période, la qualité et la quantité des contacts dentaires sont souvent meilleures avant le début du traitement orthodontique, par rapport à celui obtenu en fin de préparation préopératoire, c'est-à-dire à la fin de la décompensation des arcades. Lorsqu'on analyse le phénotype musculaire au moment de l'intervention, la fonction manducatrice et les contacts dento-dentaires ont été largement remaniés. Il s'agit alors de l'analyse d'un muscle en pleine évolution au niveau fonctionnel.

Il faut préciser d'une part que les modifications du phénotype musculaire interviennent parfois très rapidement après les modifications fonctionnelles appliquées au muscle, des exemples relatent une durée de moins d'une semaine pour mettre en évidence les effets de la plasticité musculaire au niveau protéique (219;221). Pour autant, le traitement orthodontique ne corrige pas la dysmorphose mais prépare seulement l'alignement des arcades pour favoriser le calage occlusal per opératoire. La dysmorphose et la dysfonction qui l'accompagne sont donc présentes et simplement modifiées en intensité.

D'autre part, il faut presque une année complète postopératoire aux muscles élévateurs pour retrouver une force occlusale supérieure à ce qu'elle était en préopératoire (102).

Le phénotype retrouvé lors des prélèvements per-opératoires correspondra moins exactement à la dysmorphose pour cette raison. La variabilité du phénotype se trouve donc augmentée, nécessitant un plus grand échantillon pour obtenir une significativité.

L'ensemble des études réalisant un prélèvement per-opératoire, y compris ce travail, que ce soit pour l'analyse de la composition en isoformes de chaînes de myosine ou de l'ARN messager de ces isoformes, se mettent dans les conditions défavorables d'un muscle en cours d'adaptation fonctionnelle.

Ainsi, l'idéal serait de pouvoir bénéficier d'un prélèvement de masséter avant toute prise en charge orthodontique, servant ainsi de véritable référence en rapport avec l'équilibre architectural que le patient présente depuis de nombreuses années, et pour lequel il vient demander une correction chirurgicale. Nous aurions ainsi accès au phénotype musculaire stabilisé par rapport à la dysfonction.

Il s'agit donc du biais le plus important de cette étude et de nombreuses autres portant sur le même sujet, et incluant dans leur méthodologie un prélèvement per-opératoire.

Concernant les prélèvements postopératoires, il semblerait opportun de les réaliser au moins après un an de stabilité occlusale, donc un an après la fin de l'éventuel traitement orthodontique de finition. Dans ce cas, il serait possible de profiter de l'opportunité de l'ablation de matériel, mais qui est loin d'être systématique dans notre prise en charge.

Au final, ces conditions de prélèvement idéales seraient très difficilement acceptables pour les patients : prélèvement de masséter spécifique avant tout traitement et très à distance de l'intervention.

7.6 INTERET DU SECOND PRELEVEMENT

Dans notre étude, il n'y a pas eu de second prélèvement à distance, permettant de connaître l'éventuelle transition ou transformation de phénotype suite à l'établissement d'un équilibre architectural de classe I et hauteur faciale normale. Les auteurs réalisant des prélèvements durant l'intervention de chirurgie orthognatique et six mois après, profitent de l'ablation du matériel d'ostéosynthèse sur le site pour réaliser un second prélèvement. Dans notre pratique, les ablations de matériel d'ostéosynthèse sont très rarement réalisées. Aux vues des résultats, il apparaît une grande variabilité inter-individus dans le phénotype du masséter. Ainsi, la réalisation de deux prélèvements aura plus de chances de mettre en évidence une différence significative, puisqu'on gomme le problème de la variabilité inter-individus.

7.7 REGROUPEMENT DES FIBRES IDENTIFIEES PAR L'IMMUNOMARQUAGE SUR COUPES

Sur les cinq coupes contiguës incubées par les cinq anticorps, il est possible d'identifier 8 types de fibres. Dans la majorité des cas, plusieurs types de fibres ne sont pas retrouvés. Ces huit types de fibres sont alors regroupés en quatre groupes permettant de profiter de leur similitude physiologique en termes de propriétés mécaniques, donc en gardant une entité fonctionnelle. L'avantage de ce regroupement étant de limiter les catégories vides, soit 35 patients (17,8%) chez qui on n'a pas identifié au moins une catégorie de fibres (Hybrides, ou de type II ou de type NéoAtrial) et 5 chez qui deux catégories manquaient (2,5%). Les fibres de type I étaient toujours présentes. Si nous avions conservé les huit groupes initiaux, le nombre de groupes présentant un effectif nul serait beaucoup plus élevé, notamment pour les fibres atriales et néonatales. Ces groupes présentant des effectifs nuls peuvent s'expliquer éventuellement par la taille du champ exploré qui ne met pas forcément en évidence des fibres très peu représentées dans nos prélèvements de masséter. Ce type de regroupement oblige donc à augmenter la taille de l'échantillon pour mettre en évidence des variations significatives du phénotype en rapport avec la dysmorphose.

7.8 TAILLE DES PRELEVEMENTS

Les fragments de masséter recueillis pèsent de 20 à 160mg, avec une moyenne de 51mg. Il s'agit de très petites quantités en rapport avec le côté non expérimental du prélèvement et également le faible volume du muscle par rapport à ceux des membres par exemple. Ainsi lors de biopsies proprement dites, et sur des muscles locomoteurs, le poids des prélèvements est dix fois plus important (213), permettant également de réaliser les études sur fibres pelées. Sur de si petits échantillons, il est possible de ne pas avoir suffisamment de fibres exploitables (vaisseaux, aponévroses et fascias). Néanmoins à peine plus de 10% des prélèvements n'ont pas pu être analysés en immunomarquage, ce qui nous procure un assez faible taux de rejet.

La petite taille des aires explorées, de surcroît variable, ne permet pas d'utiliser la notion de « densité » de fibres musculaires, mais uniquement la surface moyenne

d'occupation et la proportion d'occupation. Afin d'utiliser ce paramètre, il faudrait pouvoir utiliser une surface donnée commune à tous les prélèvements, et identifier l'ensemble des fibres dans cette surface. Le problème étant que les faisceaux de fibres ne sont pas toujours parfaitement perpendiculaires aux cinq coupes contiguës, si bien que l'aire commune utilisable est parfois réduite. De plus, la quantité de tissu conjonctif présente entre les fibres musculaires du prélèvement est variable en fonction du lieu du prélèvement, notamment de par sa proximité avec le périoste ou les compartiments fibreux. Afin d'utiliser ce paramètre, il aurait fallu obtenir des prélèvements de taille constante et de situation strictement reproductible, ce qui n'est pas le cas dans cette étude. Nous devons donc étudier le pourcentage d'occupation relatif des fibres les unes par rapport aux autres et la surface moyenne des différentes fibres ;

7.9 HETEROGENEITE DU MASSETER

Le faible nombre de relations retrouvé sur l'étude de cette population pourtant large (161 patients), nous confirme la grande variabilité du phénotype du masséter, d'un point de vue inter-individus, d'un point de vue intrinsèque au niveau de la répartition des fibres entre les différents chefs, mais peut-être également au sein de la fibre elle-même.

Concernant la variabilité intracellulaire, Rosser a montré en 2003 que la composition en isoformes de myosine était variable entre la partie proche de la jonction neuro-musculaire et la partie éloignée qui voit sa composition en isoforme de type néonatal augmenter (177). Le ratio de plaques neuro-musculaires et de fibres musculaires étant de une plaque pour 640 fibres (236), il apparaît que les fibres sont longues et leurs extrémités loin de la plaque, le phénotype peut donc être différent entre les extrémités et la plaque. Il faut donc intégrer une variabilité du masséter au niveau intramusculaire, dans sa répartition, mais également au niveau intra-cellulaire, en fonction de l'éloignement de la jonction neuromusculaire. Ceci rajoute un degré de difficulté et nous incite à devoir grossir le nombre de cas dans notre échantillon.

Concernant la variabilité inter-individu, pour le même sous groupe réparti en fonction de la position mandibulaire et de la hauteur faciale, on retrouve une grande variabilité.

En effet, étant donné la taille de la population, on aurait voulu obtenir un profil significatif pour tous les types de fibres, car si certaines diminuent, d'autres doivent

augmenter et réciproquement. Ce manque de précision, notamment avec aucune indication sur les fibres de type I, confirme la notion de haute variabilité de la composition en fibres du masséter.

7.10 ANALYSE CEPHALOMETRIQUE

7.10.1 CHOIX DE L'ANALYSE CEPHALOMETRIQUE

Tout d'abord, le choix de l'analyse céphalométrique conditionne une partie des diagnostics, pas tant sur le plan sagittal, mais surtout sur le plan vertical. En effet, en fonction de l'analyse choisie, les points servant de repère au calcul de la hauteur faciale ne sont pas les mêmes. Certaines disparités dans la catégorisation des patients peuvent apparaître, surtout pour les patients limite.

Les analyses céphalométriques sont dépendantes de l'anthropométrie. Ainsi, en fonction de l'origine ethnique, l'équilibre est différent (79). Chez les caucasiens et les méditerranéens, l'angle C1F1 à 90° est considéré comme la position de référence, alors que chez les Africains, il faut considérer 95°. Dans notre étude, seuls des Caucasiens ou Méditerranéens ont composé notre population, évitant ainsi une potentielle source d'erreur. En fonction des patients nouvellement inclus dans l'étude, ce paramètre devra être soigneusement surveillé.

Jusqu'alors, aucune analyse céphalométrique téléradiographique ne peut être considérée comme parfaite et remporter tous les suffrages. Aucun consensus n'existe sur ce point, prouvé par le nombre important d'analyses différentes. Les valeurs de référence et proportions utilisées dans l'établissement des diagnostics par analyse céphalométrique font référence à la population contrôle ne présentant pas de dysmorphose et se basent sur des normes obtenues statistiquement.

Dans ce travail, les téléradiographies originales ont été scannées pour être interprétées dans le logiciel tridim. Lors de la numérisation, il peut y avoir un certain degré de distorsion de l'image, mais cette distorsion n'affecte pas significativement le diagnostic céphalométrique (26). Pour la plupart des cas, les dysmorphoses étaient très marquées, voire extrêmes, puisque concernant le décalage maxillo-mandibulaire, nous avons des

extrêmes entre -15 et +17°(Figure 61). Pour la hauteur faciale, les extrêmes allaient de -12 à +20mm (Figure 61).

7.10.2 VERACITE DES ANALYSES CEPHALOMETRIQUES

Avant de débiter cette étude, nous avons au préalable vérifié que les différents diagnostics radiologiques portés sur les patients étaient du point de vue radiologique, significativement différents. L'étude a été réalisée par l'équipe du Pr Sciote, en utilisant l'analyse de Sassouni et le logiciel Dolphin imaging.

Sur 16 mesures céphalométriques, 11 sont significativement différentes pour la hauteur faciale antérieure et la position sagittale des maxillaires

(Analyse de Sassouni / Dolphin imaging[®] – Delaire / Orqual[®])

En conclusion, les groupes de patients classés selon analyse téléradiographique sont différents (Annexes 16 et 17)

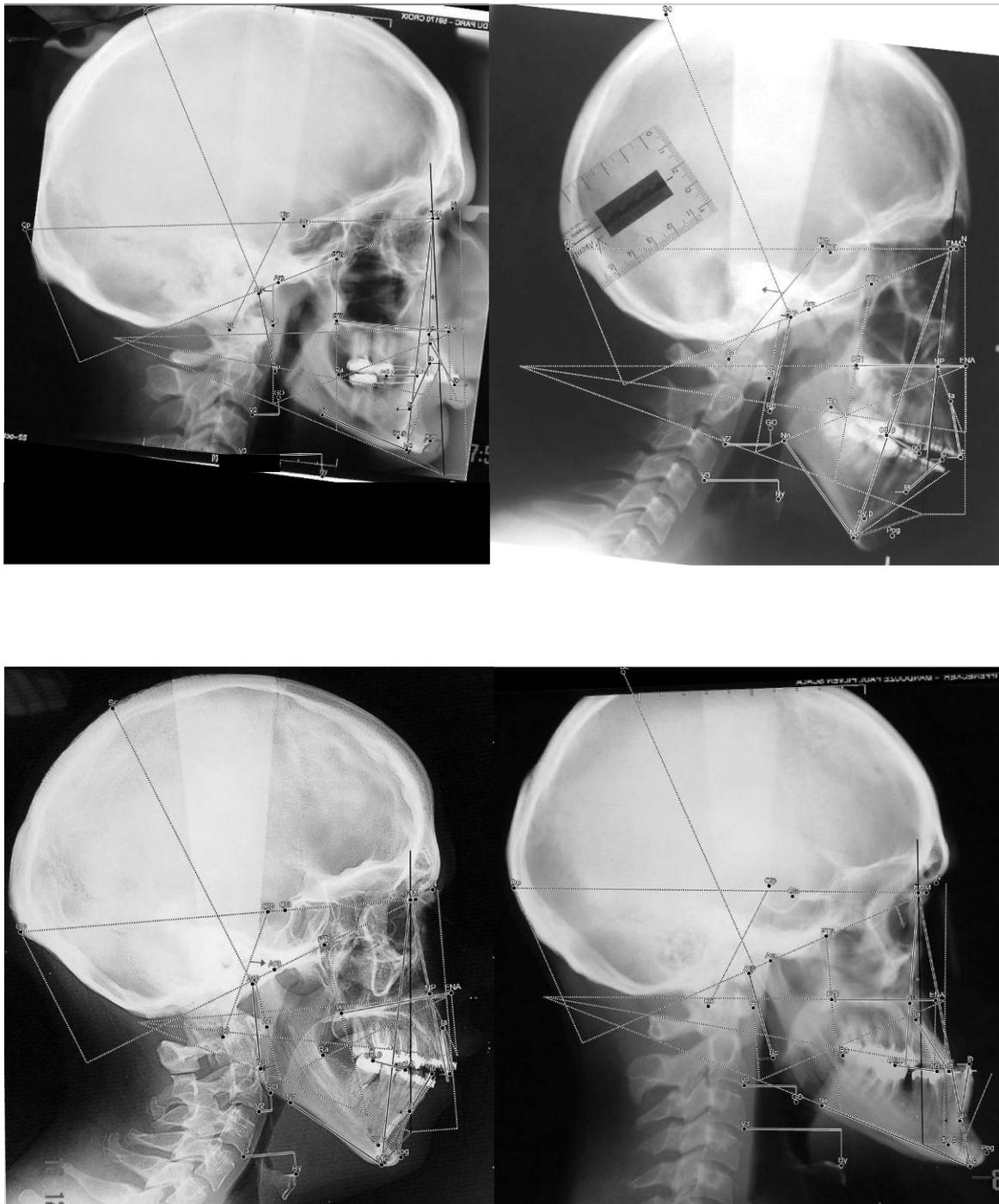


Figure 61 : Aspects extrêmes en termes de hauteur faciale.
 En haut à gauche -12mm, en haut a droite +17mm. Aspects extrêmes de décalage maxillo-
 mandibulaire, en bas à gauche classe II +17° et en bas a droite classe III -15°.

7.10.3 DETERMINATION DE LA HAUTEUR FACIALE ANTERIEURE

La hauteur verticale demeure l'élément le plus difficile à évaluer quelle que soit l'analyse choisie. L'analyse de Delaire prend en compte les points de repère faciaux, crâniens et rachidiens et propose plusieurs tracés se référant à ces points pour évaluer la hauteur faciale idéale (185). Ce point peut toujours être discuté et être sujet à erreur d'interprétation.

C'est pourquoi, le recours au logiciel a permis de rationaliser le diagnostic et a également permis une double lecture des analyses. En effet, j'ai pu demander à un collaborateur d'entrer les analyses de son côté, me permettant ainsi de les comparer avec les miennes et de confirmer le diagnostic. Dans seulement 26 cas (16%) sur 161, il a fallu choisir une option différente de F4 par NP calculé (option par défaut du logiciel) afin d'affiner le diagnostic vertical. Dans ces 26 cas, 11 cas ont été déterminés en utilisant F4 par NPOD, 6 par Pti, 5 par Od et 4 par NP.

7.10.4 LA HAUTEUR FACIALE POSTERIEURE

La hauteur faciale postérieure n'est pas une donnée analysée en pratique clinique dans la construction des analyses céphalométriques. Pour autant, étant donné l'insertion anatomique du masséter, l'étude de la hauteur faciale postérieure entre la région zygomatique et l'angle mandibulaire semble opportune. A la différence de la hauteur faciale antérieure qui comporte une dimension unique et centrale, la hauteur postérieure est parfois différente entre le côté droit et le côté gauche. Afin de déterminer la hauteur faciale postérieure, il faudra avoir recours au moins à deux incidences radiologiques, une de face et une de profil. Idéalement une étude céphalométrique tridimensionnelle pourrait désormais s'envisager avec les progrès réalisés en termes d'acquisition des images scannographiques à l'aide des consoles multibarettes. Ainsi, les doses de radiations ionisantes sont désormais beaucoup plus faibles et fournissent des renseignements tridimensionnels sur l'ensemble des dimensions de l'extrémité céphalique. Le contrôle de la symétrie est ainsi beaucoup plus facile à réaliser.

7.11 CHOIX DES TESTS STATISTIQUES

Le test d'analyse de la covariance d'ANOVA a été choisi parce qu'il permettait de comparer des entités cliniques à priori cohérentes deux à deux, et non pas comparer toutes les catégories entre elles à l'image d'un test de MANOVA, et créer des subdivisions de groupes avec des effectifs de plus en plus petits, réduisant d'autant la puissance de test. Le but de ces tests statistiques était de répondre à une question posée et non pas de mixer l'ensemble des données ensemble afin de trouver une relation significative entre certains groupes, pour ensuite chercher la question à se poser.

Les patients ont été principalement classés selon leur diagnostic clinique du point de vue orthodontique, en prenant en compte la position relative de la mandibule par rapport au maxillaire (classe I, II et III) et la hauteur faciale (Open, Normal, Deep).

L'autre classement a fait appel aux prédispositions crâniennes. Il n'y a pas eu de test mixant tous ensemble les paramètres et subdivisant la population en autant de sous-groupes.

Avant de créer des subdivisions multiples, il est nécessaire d'avoir plus de renseignements sur le profil musculaire attendu de chaque grande catégorie. Au sein de ces six catégories (2 types de classe X 3 types de hauteur faciale), il est toujours possible de subdiviser en tenant compte des différents angles et proportions de la base du crâne (84). La création de sous-groupes permet ainsi de regrouper des patients supposés homogènes dans leur équilibre crâniofacial clinique, mais aussi leur étiologie supposée. Malheureusement, les subdivisions réduisent la population de chaque sous-groupe, et avec la variabilité intrinsèque connue du masséter, ceci fait perdre beaucoup de puissance à l'analyse statistique. Il sera alors nécessaire d'avoir une population plus importante (au moins 230 patients).

7.12 DEFINITION DES GROUPES ET CLASSES

Les dysmorphoses sont décrites selon leur appartenance à l'un des groupes (classe I II III, open normal deep, pro retro normo, ortho cis trans). Il a été décidé 1° de différence pour le décalage en degré entre maxillaire mandibule et ligne F1 crânio-adaptée, 3mm pour la hauteur faciale. Ces limites peuvent être remises en cause et il est possible de les faire varier (choisir 2° et 5mm, ou 0,5° et 1mm) mais ceci aurait pour conséquence de se heurter à la

précision de repérage des points sur la téléradiographie et rendrait la composition des différents groupes totalement différente, avec une augmentation ou une baisse de la composition des patients « normaux » en fonction de l'abaissement ou de relevage des limites.

En définitive, il semblerait intéressant de pratiquer les tests statistiques futurs sur les données chiffrées et non des groupes ou classes afin d'éviter toute ambiguïté de définition desdits groupes ou classes.

8 PERSPECTIVES

8.1 ETUDE DE LA HAUTEUR FACIALE POSTERIEURE

La hauteur faciale antérieure jouant un rôle de nouveau confirmé dans l'expression des fibres de type II, il faut s'intéresser à la hauteur faciale postérieure, avec par exemple des distances Pts-Go et Pts-Got qui sont directement alignés sur la direction du chef superficiel masséter et permettraient par l'étude du rapport entre les deux pour objectiver des hauteurs faciales postérieures courtes ou longues.

Il n'y a pas d'analyse spécifique de la hauteur faciale postérieure en radiologie. Une des voies de recherche serait l'utilisation des reconstructions scannographiques tridimensionnelles sur patient normal et dsymorphotique.

8.2 REORGANISATION DE LA POPULATION AFIN DE POUVOIR COMPARER LES PATIENTS DEVIES ET NON DEVIES ENTRE EUX

En effet, une différence significative ayant été trouvée sur un petit échantillon, entre les patients déviés ou non déviés, il est primordial de le vérifier sur un échantillon plus grand et d'appliquer cette notion à l'ensemble de la population qui sera subdivisée. L'avantage étant de créer de nouveaux groupes beaucoup plus homogènes, permettant une analyse plus fine.

8.3 REALISATION DE PRELEVEMENTS A LONG TERME POST-OPERATOIRE

Afin de nous affranchir partiellement de la variabilité inter-individus du masséter (y compris au sein des mêmes sous-groupes de dysmorphose), des prélèvements pratiqués, soit par demande spécifique lors d'un protocole de recherche, soit lors de la demande d'ablation du matériel d'ostéosynthèse par le patient, seraient très informatives. Cet

élément nouveau permettrait de voir l'existence d'une normalisation du phénotype, en particulier en cas de latérodéviations.

8.4 IDENTIFICATION DES ISOFORMES ATRIALE ET NEONATALE

L'expérimentation réalisée avec électrophorèse et western-blot doit être répétée, avec nouveaux western-blot afin d'identifier les bandes supplémentaires. Pour la sélection des patients, nous pourrions nous aider des résultats de l'immunomarquage. L'utilisation des mêmes anticorps que ceux de l'immunomarquage est souhaitable.

8.5 ETUDE DE LA STABILITE CLINIQUE A LONG TERME

En profitant de la nécessité de recontacter les patients pour la demande d'utilisation des prélèvements dans le cadre de la recherche, une étude de la stabilité clinique à long terme avec téléradiographie de contrôle pourrait se faire (au-delà de 3 ou 5 ans).

8.6 COMPARAISON DES DONNEES BRUTES

Afin de pouvoir affiner les tests statistiques, il serait intéressant de supprimer l'ensemble des groupes (classe I II III, open normal deep, pro retro normo, ortho cis trans) et d'exploiter directement les données brutes caractérisant les dysmorphoses. Ceci d'autant que ces données ont été saisies et utilisées dans ce travail pour la caractérisation des groupes (degrés de déviation entre le maxillaire et la mandibule, hauteur faciale antérieure constatée et théorique en millimètres). Cette méthode sera intéressante à appliquer lors de l'implémentation des nouveaux cas dans la base de données et se trouve facilitée par l'utilisation d'un logiciel de céphalométrie qui annule pratiquement les erreurs de recopie et de calculs d'angles et mesures par rapport à la méthode du papier calque.

8.7 ETUDE DE L'ARN MESSAGER CODANT POUR L'ISOFORME MHC II

Il serait intéressant d'étudier le rapport entre l'ARN messager MHC type II et l'isoforme de MHC type II chez les patients avec ou sans latéro-déviations serait intéressant. Ainsi, il serait éventuellement possible de connaître le mode de régulation (up ou down) responsable de la plus grande proportion de fibres de type II du côté dévié.

Dans une étude préliminaire portant sur l'ARNm sur un échantillon de notre population (31 sujets), il a été mis en évidence un excès de messager aux dépens des formes atriales et néonatales dans notre population dysmorphotique (86). Ces formes atypiques semblent ainsi jouer un rôle dans l'équilibre des dysmorphoses. Pour autant, sans population de référence, ces constatations sont difficiles à appliquer. L'avantage de la comparaison des côtés chez les patients déviés et non déviés étant de supprimer la nécessité d'une population contrôle.

8.8 ETUDE DE LA COMPOSITION EN CHAINES LEGERES

Les chaînes légères semblant jouer un rôle grandissant sur les propriétés mécaniques de la fibre, il semble indispensable de s'y intéresser dans le cadre de cette étude. Tout comme l'étude des protéines régulatrices, ce travail nécessite au préalable l'identification de profils en chaînes lourdes de myosine dans les différents types de dysmorphose.

8.9 ETUDE DES PROTEINES REGULATRICES

Les protéines régulatrices situées sur le myofilament fin (tropomyosine et troponines) semblent associées par leur isoformes à des profils musculaires rapides ou lents. Il sera intéressant de s'y intéresser en rapport avec le profil des chaînes lourdes de myosine établi pour les dysmorphoses.

8.10 POPULATION CONTROLE

Afin d'analyser plus finement les variations de phénotype chez les patients avec dysmorphose, il faudrait créer une population de référence sans dysmorphose en proposant un prélèvement de masséter chez des patients en classe I hauteur faciale normale et symétriques. L'opportunité de l'avulsion des dents de sagesse après traitement orthodontique semble possible, que ce soit sous anesthésie locale ou générale. Un protocole spécifique devra être mis en place après régularisation de l'actuelle population.

8.11 TRANSPOSITION DES DONNEES RADIOLOGIQUES DANS D'AUTRES SYSTEMES D'ANALYSE CEPHALOMETRIQUE.

Dans ce travail, nous avons utilisé l'analyse céphalométrique selon Delaire. Il sera intéressant de comparer les résultats des diagnostics donnés par cette analyse versus d'autres analyses utilisées par d'autres équipes.

8.12 SITUATIONS PATHOLOGIQUES PARTICULIERES

Le recueil de prélèvements de masséter ou autre muscles élévateurs de la mandibule chez des patients présentant des pathologies marquées serviraient de référence des extrêmes dans les phénotypes musculaires. Chaque situation pathologique marquée s'impose comme un modèle expérimental pouvant agir sur la plasticité musculaire. Ainsi dans les cas d'ankylose, d'hémiatrophie latérofociale, de syndrome de Parry-Romberg, de torticolis congénital, nous serions amenés à mettre en évidence des changements significatifs du phénotype masséterin.

8.13 EFFETS DU BOTOX SUR LE PHENOTYPE DU MASSETER

La toxine botulinique contenue dans le botox[®] est connue pour ses effets paralysants sur le SMAS (Système Musculo Aponévrotique Superficiel) avec une amélioration esthétique des rides d'expression. Le botox[®] est également utilisé sur les contractures musculaires, les

problèmes d'hypersalivation, les blépharospasmes et également dans le traitement des SADAM (Syndrome Algo-Dysfonctionnel des Articulations temporo-Mandibulaires).

Il serait intéressant d'étudier les modifications du phénotype musculaire suite à l'injection de botox[®]. De même il faudrait de comparer l'effet du botox[®] et d'une dénervation chirurgicale sur le phénotype de masséter.

De plus, comme l'effet du botox[®] est réversible, il serait judicieux d'étudier le phénotype musculaire avec la force de contraction maximale au cours avant et après l'injection du botox[®]. Il s'agirait d'un nouveau modèle de plasticité musculaire et également d'un test d'efficacité du traitement.

9 CONCLUSION

Nous étions partis de l'hypothèse que les rapports occlusaux avaient une influence sur le phénotype musculaire et réciproquement, surtout durant la croissance. Tous les travaux entrepris sur le sujet cherchent à le prouver et le rationaliser. Pour illustrer cette hypothèse, un exemple empirique de changement de phénotype du à la fonction observé par le Pr Sciote, relate qu'une adulte jeune a présenté durant dix ans des spasmes incontrôlés du masséter. Une hypertrophie clinique s'est alors développée et une biopsie a été analysée. Son aspect était similaire à celui d'un muscle locomoteur : une majorité de fibres de type II et de surcroît avec un diamètre moyen supérieur aux fibres de type I. De plus, il fallait constater une absence de fibres néonatales, embryonnaires ou atriales (alpha-cardiaques) qui sont considérées comme normales dans le masséter (196).

Le muscle masséter humain est un sujet d'étude fascinant, participant à la croissance et l'équilibre crânio-facial ainsi qu'à un très grand nombre de fonctions. Son étude est difficile en raison de sa variabilité intrinsèque au niveau inter et intracellulaire, mais également la grande diversité de ses fonctions. Cette grande diversité fonctionnelle nous limite dans l'étude de sa plasticité. Néanmoins, ce travail a permis de mettre en évidence trois relations importantes.

Tout d'abord, par la comparaison entre les deux côtés chez les patients déviés et non déviés, où le côté homolatéral à la déviation est plus riche en fibres de type II, et correspond au côté mécaniquement plus court.

De plus, la confirmation du profil plus riche en fibres de type II chez les patients deep-bite et normal-bite, d'autant plus qu'il s'agit de patients en classe III.

Enfin, les fibres de type hybride semblent jouer un rôle dans le sens sagittal. En effet, le pourcentage des fibres hybrides diminue dans les classes III par rapport aux classes II, et parallèlement les fibres de type II augmentent dans ces mêmes classes III. Le profil global des fibres hybrides semble également dépendant de la tendance basi-crânienne selon l'analyse de Delaire, ce qui ajoute à l'intérêt de cette analyse et montre leur dépendance vis-à-vis de la dimension sagittale.

On peut conclure qu'il existe une relation entre la fonction et le phénotype, mais sans pouvoir déterminer qui de la cause ou de la conséquence. L'établissement de l'occlusion

durant la croissance et surtout l'arrivée sur arcade de la première molaire définitive semble constituer le point d'orgue de la dysmorphose.

Il n'a pas été possible de répondre à la question du facteur déterminant de l'équilibre crânio-facial : la position des pièces osseuses ou le phénotype musculaire. Le rôle de l'occlusion et des rapports dento-dentaires lors de la mise en place de la denture définitive semblent déterminant, tout comme les capacités adaptatives du système sensoriel musculaire en cas de modification de la hauteur faciale (243;244).

L'idéal aurait été de trouver un profil musculaire intéressant les quatre classes de fibres étudiées en fonction de la dysmorphose, afin de repérer les individus discordants.

En passant de 52 à 161 individus, il nous a été possible de repérer des profils significatifs sur les fibres de type II et les fibres hybrides, intéressant la hauteur faciale, la déviation et le sens sagittal. Le résultat est selon nous très prometteur et confirme l'intérêt de la poursuite de l'étude. Le nombre d'individus nécessaire à la réalisation de ce but n'est pas encore atteint. Il faudrait idéalement atteindre les 230 patients afin de pouvoir peupler suffisamment l'ensemble des sous-groupes étudiés et estomper la variabilité inter-individus du masséter tout comme l'imprécision en raison de la taille des analyses par immunomarquage. Il faudra aussi inclure la notion de latéro-déviations qui apparaît comme primordiale. L'idéal serait de pouvoir obtenir des variations significatives pour les quatre types de fibres en fonction des profils.

Concernant l'identification des bandes correspondant aux formes néonatales et atriales, il est primordial de pouvoir les repérer avec certitude afin d'obtenir une parfaite lisibilité des profils électrophorétiques du masséter humain dans notre échantillon et repérer plus facilement des cas anormaux dans leur composition en isoformes de chaînes lourdes de myosine. En effet, il est tout-à-fait possible de proposer cet examen aux patients dans leur prise en charge afin d'encadrer un suivi et une rééducation fonctionnelle plus poussée chez les patients avec un profil discordant : faible taux de type II dans les deep bite et taux élevé dans les « open bite » par exemple. Ce travail est donc parvenu à relier des notions fondamentales avec la clinique.

L'ensemble des résultats de ce travail sont à interpréter en tenant compte qu'il s'agit exclusivement de la face profonde du faisceau superficiel du masséter et non pas de la

totalité du muscle. Cette localisation a été choisie pour sa reproductibilité chirurgicale et son innocuité vis-à-vis des axes vasculaires et nerveux.

10 REFERENCES

- (1) Abe S, Sakiyama K, Ide Y. Muscle plasticity: changes in oral function of muscle fiber characteristics. *J Oral Biosci* 2007;49(3):219-23.
- (2) Al-Farra ET, Vandenborne K, Swift A, Ghafari J. Magnetic resonance spectroscopy of the masseter muscle in different facial morphological patterns. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001 Oct;120(4):427-34.
- (3) Andersen JL, Aagaard P. Myosin heavy chain IIX overshoot in human skeletal muscle. *Muscle Nerve* 2000 Jul;23(7):1095-104.
- (4) Andersen JL, Gruschy-Knudsen T, Sandri C, Larsson L, Schiaffino S. Bed rest increases the amount of mismatched fibers in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999 Feb;86(2):455-60.
- (5) Anderson JE. The satellite cell as a companion in skeletal muscle plasticity: currency, conveyance, clue, connector and colander. *J Exp Biol* 2006 Jun;209(Pt 12):2276-92.
- (6) Arai C, Ohnuki Y, Umeki D, Saeki Y. Effects of bite-opening and cyclosporin A on the mRNA levels of myosin heavy chain and the muscle mass in rat masseter. *Jpn J Physiol* 2005 Jun;55(3):173-9.
- (7) Arijji Y, Kawamata A, Yoshida K, Sakuma S, Nawa H, Fujishita M, et al. Three-dimensional morphology of the masseter muscle in patients with mandibular prognathism. *Dentomaxillofac Radiol* 2000 Mar;29(2):113-8.
- (8) Armijo-Olivo S, Magee DJ. Electromyographic activity of the masticatory and cervical muscles during resisted jaw opening movement. *J Oral Rehabil* 2007 Mar;34(3):184-94.
- (9) Baldwin KM, Haddad F. Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. *J Appl Physiol* 2001 Jan;90(1):345-57.
- (10) Bamman MM, Clarke MS, Talmadge RJ, Feeback DL. Enhanced protein electrophoresis technique for separating human skeletal muscle myosin heavy chain isoforms. *Electrophoresis* 1999 Mar;20(3):466-8.
- (11) Bar A, Pette D. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett* 1988 Aug 1;235(1-2):153-5.
- (12) Bastide B. Plasticité de l'expression des protéines clés du couplage excitation-contraction du muscle squelettique dans un modèle d'atrophie fonctionnelle. Lille: Université des Sciences et Technologies de Lille; 2003.
- (13) Benoit R, Falque E. Embryologie génétique et développement des muscles masticateurs. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Stomatologie/Odontologie*, 23-460-E-50. Paris: Elsevier; 2001. p. 1-9.

- (14) Biral D, Betto R, nieli-Betto D, Salviati G. Myosin heavy chain composition of single fibres from normal human muscle. *Biochem J* 1988 Feb 15;250(1):307-8.
- (15) Boileau MJ, Miquel JL. Physiologie et physiopathologie de la mastication. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Stomatologie/Odontologie*, 22-008-A-15.Paris: Elsevier; 1993. p. 1-9.
- (16) Boom HP, Van Spronsen PH, Van Ginkel FC, van Schijndel RA, Castelijns JA, Tuinzing DB. A comparison of human jaw muscle cross-sectional area and volume in long- and short-face subjects, using MRI. *Arch Oral Biol* 2008 Mar;53(3):273-81.
- (17) Borrione AC, Zanellato AM, Saggin L, Mazzoli M, Azzarello G, Sartore S. Neonatal myosin heavy chains are not expressed in Ni-induced rat rhabdomyosarcoma. *Differentiation* 1988 Jun;38(1):49-59.
- (18) Bottinelli R. Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story? *Pflugers Arch* 2001 Oct;443(1):6-17.
- (19) Bottinelli R, Betto R, Schiaffino S, Reggiani C. Unloaded shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform composition in rat skeletal muscle fibres. *J Physiol* 1994 Jul 15;478 (Pt 2):341-9.
- (20) Bottinelli R, Canepari M, Pellegrino MA, Reggiani C. Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres: myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *J Physiol* 1996 Sep 1;495 (Pt 2):573-86.
- (21) Bottinelli R, Reggiani C. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. *Prog Biophys Mol Biol* 2000;73(2-4):195-262.
- (22) Boyd SB, Gonyea WJ, Finn RA, Woodard CE, Bell WH. Histochemical study of the masseter muscle in patients with vertical maxillary excess. *J Oral Maxillofac Surg* 1984 Feb;42(2):75-83.
- (23) Boyd SB, Gonyea WJ, Legan HL, Bell WH. Masseter muscle adaptation following surgical correction of vertical maxillary excess. *J Oral Maxillofac Surg* 1989 Sep;47(9):953-62.
- (24) Bozzo C. Variations in myosin light chain phosphorylation in relation to skeletal muscle plasticity. Lille: Université des Sciences et Technologies de lille; 2004.
- (25) Bredman JJ, Wessels A, Weijs WA, Korfage JA, Soffers CA, Moorman AF. Demonstration of 'cardiac-specific' myosin heavy chain in masticatory muscles of human and rabbit. *Histochem J* 1991 Apr;23(4):160-70.
- (26) Bruntz LQ, Palomo JM, Baden S, Hans MG. A comparison of scanned lateral cephalograms with corresponding original radiographs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006 Sep;130(3):340-8.
- (27) Burhanudin R, McDonald F, Rowleron A. Muscle spindles in the jaw-closer muscles of the domestic cat. *J Anat* 1996 Apr;188 (Pt 2):299-309.
- (28) Buschang PH, Throckmorton GS, Austin D, Wintergerst AM. Chewing cycle kinematics of subjects with deepbite malocclusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 May;131(5):627-34.
- (29) Carter NE. Facial growth. In: Mitchell L, editor. *An introduction to Orthodontics*. 2nd Edition ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2001. p. 33-43.
- (30) Cha BK, Kim CH, Baek SH. Skeletal sagittal and vertical facial types and electromyographic activity of the masticatory muscle. *Angle Orthod* 2007 May;77(3):463-70.

- (31) Chang C, Chew W, Decrespigny AJ, Alcantara M, McNeill C, Miller AJ. Effect of maturation on 31P magnetic resonance spectroscopy of the rabbit masseter muscle. *J Dent Res* 1995 Dec;74(12):1861-9.
- (32) Charge S, Rudnicki MA. Fusion with the fused: a new role for interleukin-4 in the building of muscle. *Cell* 2003 May 16;113(4):422-3.
- (33) Charge SB. [Interleukin-4 and muscle cell fusion]. *Med Sci (Paris)* 2003 Dec;19(12):1185-7.
- (34) Charge SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 2004 Jan;84(1):209-38.
- (35) Chawanaputorn D, Patanaporn V, Malikaew P, Khongkhunthian P, Reichart PA. Facial and dental characteristics of Padaung women (long-neck Karen) wearing brass neck coils in Mae Hong Son Province, Thailand. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 May;131(5):639-45.
- (36) Cohen-Levy J, Berdal A. [Twins: a response to the question of genetic/environmental influence on development?]. *Orthod Fr* 2007 Mar;78(1):63-7.
- (37) Cohen-Levy J, Kamoun-Goldrat AS, Simon Y, Lautrou A. [Twins and the heritability of dentofacial phenotype]. *Orthod Fr* 2007 Mar;78(1):69-77.
- (38) D'Antona G, Lanfranconi F, Pellegrino MA, Brocca L, Adami R, Rossi R, et al. Skeletal muscle hypertrophy and structure and function of skeletal muscle fibres in male body builders. *J Physiol* 2006 Feb 1;570(Pt 3):611-27.
- (39) D'Antona G, Pellegrino MA, Adami R, Rossi R, Carlizzi CN, Canepari M, et al. The effect of ageing and immobilization on structure and function of human skeletal muscle fibres. *J Physiol* 2003 Oct 15;552(Pt 2):499-511.
- (40) Daniel Y, Ferri J, Krivosic-Horber RM, McDonald F, Raoul G, Reyford H, et al. Masseter muscle fibre types in relation to craniofacial form. *J Physiol* 2001;531(P):154-5.
- (41) Davis CE, Harris JB, Nicholson LV. Myosin isoform transitions and physiological properties of regenerated and re-innervated soleus muscles of the rat. *Neuromuscul Disord* 1991;1(6):411-21.
- (42) Delaire J. Les mécanismes de la croissance du squelette facial. *Orthopédie dento-faciale tome 1*. Paris: Lavoisier; 1993. p. 72-124.
- (43) Delaire J. The "adaptative" development of the cranial base. A justification for early treatment of class III discrepancies. *Rev Orthop Dento Faciale* 2003;37:243-65.
- (44) Delaire J, Gaillard A, Billet H, Landais Y, Renaud Y. Considérations sur les synostoses prématurées et leurs conséquences au crâne et à la face. *Rev Stomatol* 1963;3:97-106.
- (45) Delaire J, salagnac J, Nottari J. Diagnostic des dysmorphoses dento-maxillo-faciales. Apport de l'analyse architecturale informatisée. *Actual Odonto-Stomatol Encycl Prat* 1994;187:477-511.
- (46) Delaire J, Schendel SA, Tulasne JF. An architectural and structural craniofacial analysis: a new lateral cephalometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981 Sep;52(3):226-38.
- (47) Desjardins PR, Burkman JM, Shrager JB, Allmond LA, Stedman HH. Evolutionary implications of three novel members of the human sarcomeric myosin heavy chain gene family. *Mol Biol Evol* 2002 Apr;19(4):375-93.

- (48) Dicker G, Van SP, Van SR, van GF, Manoliu R, Boom H, et al. Adaptation of jaw closing muscles after surgical mandibular advancement procedures in different vertical craniofacial types: a magnetic resonance imaging study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 Apr;103(4):475-82.
- (49) Durham LE. Genetic predisposition of facial growth patterns: Concordance among siblings. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:692.
- (50) Duthie J, Bharwani D, Tallents RH, Bellohusen R, Fishman L. A longitudinal study of normal asymmetric mandibular growth and its relationship to skeletal maturation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 Aug;132(2):179-84.
- (51) Eason JM, Schwartz G, Shirley KA, English AW. Investigation of sexual dimorphism in the rabbit masseter muscle showing different effects of androgen deprivation in adult and young adult animals. *Arch Oral Biol* 2000 Aug;45(8):683-90.
- (52) Eason JM, Schwartz GA, Pavlath GK, English AW. Sexually dimorphic expression of myosin heavy chains in the adult mouse masseter. *J Appl Physiol* 2000 Jul;89(1):251-8.
- (53) Elkerdany MK, Fahim MA. Age changes in neuromuscular junctions of masseter muscle. *Anat Rec* 1993 Oct;237(2):291-5.
- (54) Enlow DH. *Handbook of facial growth*. 1st ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 1982.
- (55) Ennion S, Sant'ana PJ, Sargeant AJ, Young A, Goldspink G. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J Muscle Res Cell Motil* 1995 Feb;16(1):35-43.
- (56) Evensen JP, Ogaard B. Are malocclusions more prevalent and severe now? A comparative study of medieval skulls from Norway. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 Jun;131(6):710-6.
- (57) Ferri J, Bennani K, Sebille S, Caprioli F. [Growth: responses to pathology. Preliminary study]. *Orthod Fr* 2000 Sep;71(3):241-8.
- (58) Ferri J, Doual JM, Kulik JF, Donazzan M. Craniofacial behavior of sutures in young rabbits postimmobilization. *J Craniofac Surg* 1997 Nov;8(6):483-9.
- (59) Ferri J, Girod A, Serghini A, Lemièrre E. [Lengthening the mandibular ramus without external access]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2006 Feb;107(1):38-40.
- (60) Foth BJ, Goedecke MC, Soldati D. New insights into myosin evolution and classification. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 Mar 7;103(10):3681-6.
- (61) Furuuchi T, Kochi S, Sasano T, Iikubo M, Komai S, Igari K. Morphologic characteristics of masseter muscle in cleidocranial dysplasia: a report of 3 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005 Feb;99(2):185-90.
- (62) Ganong W, Jobin M. *Tissu excitable : le muscle*. Physiologie Médicale. De Boeck Université; 2008. p. 61-80.
- (63) Gedrange T, Buttner C, Schneider M, Lauer G, Mai R, Oppitz R, et al. Change of mRNA amount of myosin heavy chain in masseter muscle after orthognathic surgery of patients with malocclusion. *J Craniomaxillofac Surg* 2006 Sep;34 Suppl 2:110-5.

- (64) Gedrange T, Luck O, Hesske G, Buttner C, Seibel P, Harzer W. Differential expression of myosin heavy-chain mRNA in muscles of mastication during functional advancement of the mandible in pigs. *Arch Oral Biol* 2001 Mar;46(3):215-20.
- (65) Gibbs CH, Mahan PE, Mauderli A, Lundeen HC, Walsh EK. Limits of human bite strength. *J Prosthet Dent* 1986 Aug;56(2):226-9.
- (66) Goodson HV, Dawson SC. Multiplying myosins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 Mar 7;103(10):3498-9.
- (67) Gorza L. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J Histochem Cytochem* 1990 Feb;38(2):257-65.
- (68) Goto TK, Langenbach GE, Hannam AG. Length changes in the human masseter muscle after jaw movement. *Anat Rec* 2001 Mar 1;262(3):293-300.
- (69) Goto TK, Nishida S, Yahagi M, Langenbach GE, Nakamura Y, Tokumori K, et al. Size and orientation of masticatory muscles in patients with mandibular laterognathism. *J Dent Res* 2006 Jun;85(6):552-6.
- (70) Goto TK, Yahagi M, Nakamura Y, Tokumori K, Langenbach GE, Yoshiura K. In vivo cross-sectional area of human jaw muscles varies with section location and jaw position. *J Dent Res* 2005 Jun;84(6):570-5.
- (71) Gros J, Manceau M, Thome V, Marcelle C. A common somitic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells. *Nature* 2005 Jun 16;435(7044):954-8.
- (72) Gur H, Gransberg L, vanDyke D, Knutsson E, Larsson L. Relationship between in vivo muscle force at different speeds of isokinetic movements and myosin isoform expression in men and women. *Eur J Appl Physiol* 2003 Feb;88(6):487-96.
- (73) Habets PE, Franco D, Ruijter JM, Sargeant AJ, Pereira JA, Moorman AF. RNA content differs in slow and fast muscle fibers: implications for interpretation of changes in muscle gene expression. *J Histochem Cytochem* 1999 Aug;47(8):995-1004.
- (74) Hannam AG. The response of periodontal mechanoreceptors in the dog to controlled loading of the teeth. *Arch Oral Biol* 1969 Jul;14(7):781-91.
- (75) Hannam AG, Inster WC, DeCou RE, Scott JD. Speed of jaw movement during mastication and clenching tasks in man. *J Dent Res* 1977 Apr;56(4):442.
- (76) Hannam AG, McMillan AS. Internal organization in the human jaw muscles. *Crit Rev Oral Biol Med* 1994;5(1):55-89.
- (77) Harridge SD. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol* 2007 Sep;92(5):783-97.
- (78) Harzer W, Worm M, Gedrange T, Schneider M, Wolf P. Myosin heavy chain mRNA isoforms in masseter muscle before and after orthognathic surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 Oct;104(4):486-90.
- (79) Hassan AH. Cephalometric norms for the Saudi children living in the western region of Saudi Arabia: a research report. *Head Face Med* 2005 Aug 24;1:5.
- (80) Hernandez OM, Jones M, Guzman G, Szczesna-Cordary D. Myosin essential light chain in health and disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007 Apr;292(4):H1643-H1654.

- (81) Hilber K. Skeletal myocyte plasticity: basis for improved therapeutic potential? *Curr Opin Pharmacol* 2008 Jun;8(3):327-32.
- (82) Hodge T, Cope MJ. A myosin family tree. *J Cell Sci* 2000 Oct;113 Pt 19:3353-4.
- (83) Hoh JF. 'Superfast' or masticatory myosin and the evolution of jaw-closing muscles of vertebrates. *J Exp Biol* 2002 Aug;205(Pt 15):2203-10.
- (84) Hong SX, Yi CK. A classification and characterization of skeletal class III malocclusion on etio-pathogenic basis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001 Aug;30(4):264-71.
- (85) Horton MJ, Brandon CA, Morris TJ, Braun TW, Yaw KM, Sciote JJ. Abundant expression of myosin heavy-chain IIB RNA in a subset of human masseter muscle fibres. *Arch Oral Biol* 2001 Nov;46(11):1039-50.
- (86) Horton MJ, Sciote J, Ferri J, Raoul G, Rowlerson A. Expression of myosin isoforms in masseter of human subjects with malocclusions. *J Physiol* 2005;565(P):48.
- (87) Hunt N. Changes in masseter histochemical characteristics following surgical correction of long face deformity. *J Dent Res* 1993;72:689.
- (88) Hunt N, Shah R, Sinanan A, Lewis M. Muscling in on malocclusions: Current concepts on the role of muscles in the aetiology and treatment of malocclusion. *J Orthod* 2006;33:187-97.
- (89) Hunt N, Shah R, Sinanan A, Lewis M. [Muscular interference in malocclusion: present concepts of the role of the muscles in the etiology and therapy of malocclusion]. *Orthod Fr* 2007 Jun;78(2):79-88.
- (90) Hunt NP, Cunningham SJ. The influence of orthognathic surgery on occlusal force in patients with vertical facial deformities. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997 Apr;26(2):87-91.
- (91) Huxley AF. Muscle structure and theories of contraction. *Prog Biophys Biophys Chem* 1957;7:255-318.
- (92) Huxley HE. The mechanism of muscular contraction. *Science* 1969 Jun 20;164(886):1356-65.
- (93) Huxley HE. Past, present and future experiments on muscle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2000 Apr 29;355(1396):539-43.
- (94) Huxley HE. Fifty years of muscle and the sliding filament hypothesis. *Eur J Biochem* 2004 Apr;271(8):1403-15.
- (95) Huxley HE. Memories of early work on muscle contraction and regulation in the 1950's and 1960's. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 Apr 25;369(1):34-42.
- (96) Kasai K, Richards LC, Kanazawa E, Ozaki T, Iwasawa T. Relationship between attachment of the superficial masseter muscle and craniofacial morphology in dentate and edentulous humans. *J Dent Res* 1994 Jun;73(6):1142-9.
- (97) Katsumata A, Fujishita M, Arijii Y, Arijii E, Langlais RP. 3D CT evaluation of masseter muscle morphology after setback osteotomy for mandibular prognathism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004 Oct;98(4):461-70.
- (98) Katsumata A, Fujishita M, Maeda M, Arijii Y, Arijii E, Langlais RP. 3D-CT evaluation of facial asymmetry. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005 Feb;99(2):212-20.

- (99) Kiliaridis S. The importance of masticatory muscle function in dentofacial growth. *Semin Orthod* 2006;12(2):110-9.
- (100) Kiliaridis S, Mahboubi PH, Raadsheer MC, Katsaros C. Ultrasonographic thickness of the masseter muscle in growing individuals with unilateral crossbite. *Angle Orthod* 2007 Jul;77(4):607-11.
- (101) Kiliaridis S, Thilander B, Kjellberg H, Topouzelis N, Zafiriadis A. Effect of low masticatory function on condylar growth: a morphometric study in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999 Aug;116(2):121-5.
- (102) Kim YG, Oh SH. Effect of mandibular setback surgery on occlusal force. *J Oral Maxillofac Surg* 1997 Feb;55(2):121-6.
- (103) Koolstra JH, Van Eijden TM. Biomechanical analysis of jaw-closing movements. *J Dent Res* 1995 Sep;74(9):1564-70.
- (104) Koolstra JH, Van Eijden TM. Dynamics of the human masticatory muscles during a jaw open-close movement. *J Biomech* 1997 Sep;30(9):883-9.
- (105) Koolstra JH, Van Eijden TM. The jaw open-close movements predicted by biomechanical modelling. *J Biomech* 1997 Sep;30(9):943-50.
- (106) Korfage JA, Brugman P, Van Eijden TM. Intermuscular and intramuscular differences in myosin heavy chain composition of the human masticatory muscles. *J Neurol Sci* 2000 Sep 15;178(2):95-106.
- (107) Korfage JA, Schueler YT, Brugman P, Van Eijden TM. Differences in myosin heavy-chain composition between human jaw-closing muscles and supra- and infrahyoid muscles. *Arch Oral Biol* 2001 Sep;46(9):821-7.
- (108) Korfage JA, van WT, Langenbach GE, Ay F, Van Eijden TM. Postnatal transitions in myosin heavy chain isoforms of the rabbit superficial masseter and digastric muscle. *J Anat* 2006 Jun;208(6):743-51.
- (109) Kubo K, Kawata T, Ogawa T, Watanabe M, Sasaki K. Outer shape changes of human masseter with contraction by ultrasound morphometry. *Arch Oral Biol* 2006 Feb;51(2):146-53.
- (110) Kuschel R, Yablonka-Reuveni Z, Bornemann A. Satellite cells on isolated myofibers from normal and denervated adult rat muscle. *J Histochem Cytochem* 1999 Nov;47(11):1375-84.
- (111) Kwon TG, Lee KH, Park HS, Ryoo HM, Kim HJ, Lee SH. Relationship between the masticatory muscles and mandibular skeleton in mandibular prognathism with and without asymmetry. *J Oral Maxillofac Surg* 2007 Aug;65(8):1538-43.
- (112) Landsverk ML, Epstein HF. Genetic analysis of myosin II assembly and organization in model organisms. *Cell Mol Life Sci* 2005 Oct;62(19-20):2270-82.
- (113) Larsson L, Moss RL. Maximum velocity of shortening in relation to myosin isoform composition in single fibres from human skeletal muscles. *J Physiol* 1993 Dec;472:595-614.
- (114) Lautrou A. [Growth and morphogenesis of the craniofacial bones. Applications in orthodontics. The concepts of J. Delaire]. *Orthod Fr* 2002 Mar;73(1):5-18.
- (115) Lim D, Beitzel F, Lynch G, Woods MG. Myosin heavy chain isoform composition of human masseter muscle from subjects with different mandibular plane angles. *Aust Orthod J* 2006 Nov;22(2):105-14.

- (116) Liu JX. Human muscle spindles, complex morphology and structural organisation. Umeå: Centre for Musculoskeletal Research, Gävle University, Umeå, Sweden; 2004.
- (117) Lucas CA, Hoh JF. Distribution of developmental myosin heavy chains in adult rabbit extraocular muscle: identification of a novel embryonic isoform absent in fetal limb. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003 Jun;44(6):2450-6.
- (118) Lund JP. Mastication and its control by the brain stem. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2(1):33-64.
- (119) Lund JP, Lamarre Y, Lavigne G, Duquet G. Human jaw reflexes. *Adv Neurol* 1983;39:739-55.
- (120) Lund JP, McLachlan RS, Dellow PG. A lateral jaw movement reflex. *Exp Neurol* 1971 May;31(2):189-99.
- (121) Maeda M, Katsumata A, Arijji Y, Muramatsu A, Yoshida K, Goto S, et al. 3D-CT evaluation of facial asymmetry in patients with maxillofacial deformities. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Sep;102(3):382-90.
- (122) Marx JO, Kraemer WJ, Nindl BC, Larsson L. Effects of aging on human skeletal muscle myosin heavy-chain mRNA content and protein isoform expression. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002 Jun;57(6):B232-B238.
- (123) Matic DB, Yazdani A, Wells RG, Lee TY, Gan BS. The effects of masseter muscle paralysis on facial bone growth. *J Surg Res* 2007 May 15;139(2):243-52.
- (124) McCollum MA, Sherwood CC, Vinyard CJ, Lovejoy CO, Schachat F. Of muscle-bound crania and human brain evolution: the story behind the MYH16 headlines. *J Hum Evol* 2006 Feb;50(2):232-6.
- (125) McMillan AS, Hannam AG. Motor-unit territory in the human masseter muscle. *Arch Oral Biol* 1991;36(6):435-41.
- (126) Mercier J. [Delaire's craniofacial architectural analysis. A reminder of the changes introduced by its designer in 1994]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2000 Jan;101(1):12-6.
- (127) Michel RN, Parry DJ, Dunn SE. Regulation of myosin heavy chain expression in adult rat hindlimb muscles during short-term paralysis: comparison of denervation and tetrodotoxin-induced neural inactivation. *FEBS Lett* 1996 Aug 5;391(1-2):39-44.
- (128) Miles TS. Postural control of the human mandible. *Arch Oral Biol* 2007 Apr;52(4):347-52.
- (129) Mitchell L. The aetiology and classification of malocclusion. In: Mitchell L, editor. *An introduction to Orthodontics*. 2nd Edition ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2001. p. 10-6.
- (130) Monemi M, Eriksson PO, Dubail I, Butler-Browne GS, Thornell LE. Fetal myosin heavy chain increases in human masseter muscle during aging. *FEBS Lett* 1996 May 13;386(1):87-90.
- (131) Monemi M, Eriksson PO, Eriksson A, Thornell LE. Adverse changes in fibre type composition of the human masseter versus biceps brachii muscle during aging. *J Neurol Sci* 1998 Jan 21;154(1):35-48.
- (132) Monemi M, Eriksson PO, Kadi F, Butler-Browne GS, Thornell LE. Opposite changes in myosin heavy chain composition of human masseter and biceps brachii muscles during aging. *J Muscle Res Cell Motil* 1999 May;20(4):351-61.
- (133) Morris TJ, Brandon CA, Horton MJ, Carlson DS, Sciote JJ. Maximum shortening velocity and myosin heavy-chain isoform expression in human masseter muscle fibers. *J Dent Res* 2001 Sep;80(9):1845-8.

- (134) Mouly V, Edom F, Barbet JP, Butler-Browne GS. Plasticity of human satellite cells. *Neuromuscul Disord* 1993 Sep;3(5-6):371-7.
- (135) Mu L, Su H, Wang J, Han Y, Sanders I. Adult human mylohyoid muscle fibers express slow-tonic, alpha-cardiac, and developmental myosin heavy-chain isoforms. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004 Aug;279(2):749-60.
- (136) Muller J, Vayssiere N, Muller A, Marti-Mestres G, Mornet D. Bilateral effect of a unilateral occlusal splint on the expression of myosin heavy-chain isoforms in rat deep masseter muscle. *Arch Oral Biol* 2000 Dec;45(12):1017-24.
- (137) Naumann K, Pette D. Effects of chronic stimulation with different impulse patterns on the expression of myosin isoforms in rat myotube cultures. *Differentiation* 1994 Feb;55(3):203-11.
- (138) Nelson-Moon Z, Morgan M, Hunt N, Madgwick A. Does occlusion determine perinatal myosin heavy chain expression in masseter muscles ? *Eur J Orthod* 1998;20:635.
- (139) Ngom PI, Diagne F, idara-Tamba AW, Sene A. Relationship between orthodontic anomalies and masticatory function in adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 Feb;131(2):216-22.
- (140) Nordstrom MA. Insights into the bilateral cortical control of human masticatory muscles revealed by transcranial magnetic stimulation. *Arch Oral Biol* 2007 Apr;52(4):338-42.
- (141) Ogawa T, Kawata T, Tsuboi A, Hattori Y, Watanabe M, Sasaki K. Functional properties and regional differences of human masseter motor units related to three-dimensional bite force. *J Oral Rehabil* 2006 Oct;33(10):729-40.
- (142) Ohnuki Y, Saeki Y, Yamane A, Kawasaki K, Yanagisawa K. Adaptation of guinea-pig superficial masseter muscle to an increase in occlusal vertical dimension. *Arch Oral Biol* 1999 Apr;44(4):329-35.
- (143) Ozturk E, Mutlu H, Sonmez G, Sildiroglu HO, Basekim CC, Kizilkaya E. Unilateral temporalis muscle hypertrophy with contralateral masseteric hypertrophy. *Dentomaxillofac Radiol* 2007 Jul;36(5):296-7.
- (144) Paraque AR. [The craniofacial architectural factors predisposing to a skeletal Class II identified by Jean Delaire's architectural analysis]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2000 Jan;101(1):3-11.
- (145) Pearce SL, Miles TS, Thompson PD, Nordstrom MA. Responses of single motor units in human masseter to transcranial magnetic stimulation of either hemisphere. *J Physiol* 2003 Jun 1;549(Pt 2):583-96.
- (146) Peck CC, Hannam AG. Human jaw and muscle modelling. *Arch Oral Biol* 2007 Apr;52(4):300-4.
- (147) Peck CC, Langenbach GE, Hannam AG. Dynamic simulation of muscle and articular properties during human wide jaw opening. *Arch Oral Biol* 2000 Nov;45(11):963-82.
- (148) Pepicelli A, Woods M, Briggs C. The mandibular muscles and their importance in orthodontics: a contemporary review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005 Dec;128(6):774-80.
- (149) Pereira Sant'Ana JA, Ennion S, Sargeant AJ, Moorman AF, Goldspink G. Comparison of the molecular, antigenic and ATPase determinants of fast myosin heavy chains in rat and human: a single-fibre study. *Pflugers Arch* 1997 Dec;435(1):151-63.
- (150) Pette D. Historical Perspectives: plasticity of mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2001 Mar;90(3):1119-24.

- (151) Pette D. The adaptive potential of skeletal muscle fibers. *Can J Appl Physiol* 2002 Aug;27(4):423-48.
- (152) Pette D, Staron RS. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990;116:1-76.
- (153) Pette D, Staron RS. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech* 2000 Sep 15;50(6):500-9.
- (154) Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol* 2001 May;115(5):359-72.
- (155) Picquet F, Bouet V, Cochon L, Lacour M, Falempin M. Changes in rat soleus muscle phenotype consecutive to a growth in hypergravity followed by normogravity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005 Jul;289(1):R217-R224.
- (156) Picquet F, De-Doncker L, Falempin M. Expression of Myosin heavy chain isoforms in rat soleus muscle spindles after 19 days of hypergravity. *J Histochem Cytochem* 2003 Nov;51(11):1479-89.
- (157) Picquet F, Falempin M. Compared effects of hindlimb unloading versus terrestrial deafferentation on muscular properties of the rat soleus. *Exp Neurol* 2003 Jul;182(1):186-94.
- (158) Piette E, Reychler H. *Traité des pathologie buccale et maxillo-faciale*. Bruxelles: De Boeck-Wesmael; 1991.
- (159) Precious D, Delaire J. Balanced facial growth: a schematic interpretation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987 Jun;63(6):637-44.
- (160) Proffit WR, Fields HW. Occlusal forces in normal- and long-face children. *J Dent Res* 1983 May;62(5):571-4.
- (161) Proffit WR, Fields HW, Nixon WL. Occlusal forces in normal- and long-face adults. *J Dent Res* 1983 May;62(5):566-70.
- (162) Raadsheer MC, Kiliaridis S, Van Eijden TM, Van Ginkel FC, Prah-Andersen B. Masseter muscle thickness in growing individuals and its relation to facial morphology. *Arch Oral Biol* 1996 Apr;41(4):323-32.
- (163) Raadsheer MC, Van Eijden TM, Van Ginkel FC, Prah-Andersen B. Contribution of jaw muscle size and craniofacial morphology to human bite force magnitude. *J Dent Res* 1999 Jan;78(1):31-42.
- (164) Raadsheer MC, Van Eijden TM, Van Spronsen PH, Van Ginkel FC, Kiliaridis S, Prah-Andersen B. A comparison of human masseter muscle thickness measured by ultrasonography and magnetic resonance imaging. *Arch Oral Biol* 1994 Dec;39(12):1079-84.
- (165) Raoul G, Sciote JJ, Rowleron A, Stevens L, Ferri J. Human Masseter Fiber Type and its Relation with Facial Morphology. *World J Orthod* 2005;6 Suppl:56.
- (166) Reggiani C, Bottinelli R, Stienen GJ. Sarcomeric Myosin Isoforms: Fine Tuning of a Molecular Motor. *News Physiol Sci* 2000 Feb;15:26-33.
- (167) Reiser PJ, Bicer S. Multiple isoforms of myosin light chain 1 in pig diaphragm slow fibers: correlation with maximal shortening velocity and force generation. *Arch Biochem Biophys* 2006 Dec 15;456(2):112-8.

- (168) Reyford H, Adnet PJ, Tavernier B, Beague S, Ferri J, Krivosic-Horber RM, et al. Halothane induces calcium release from human skinned masseter muscle fibers. *Anesthesiology* 1999 Apr;90(4):1019-25.
- (169) Riesmeijer AM, Prahl-Andersen B, Mascarenhas AK, Joo BH, Vig KW. A comparison of craniofacial Class I and Class II growth patterns. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004 Apr;125(4):463-71.
- (170) Ringqvist M. Fibre sizes of human masseter muscle in relation to bite force. *J Neurol Sci* 1973 Jul;19(3):297-305.
- (171) Ringqvist M. Histochemical enzyme profiles of fibres in human masseter muscles with special regard to fibres with intermediate myofibrillar ATPase reaction. *J Neurol Sci* 1973 Feb;18(2):133-41.
- (172) Ringqvist M. Size and distribution of histochemical fibre types in masseter muscle of adults with different states of occlusion. *J Neurol Sci* 1974 Aug;22(4):429-38.
- (173) Ringqvist M, Ringqvist I, Eriksson PO, Thornell LE. Histochemical fibre-type profile in the human masseter muscle. *J Neurol Sci* 1982 Feb;53(2):273-82.
- (174) Ringqvist M, Ringqvist I, Thornell LE. Differentiation of fibres in human masseter, temporal and biceps brachii muscles. A histochemical study. *J Neurol Sci* 1977 Jun;32(2):265-73.
- (175) Robertson JN. heritability of maxillomandibular anteroposterior relationship. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130:689.
- (176) Rohrle O, Pullan AJ. Three-dimensional finite element modelling of muscle forces during mastication. *J Biomech* 2007 Jun 27.
- (177) Rosser BWC, Bandman E. Heterogeneity of protein expression within muscle fibers. *J Anim Sci* 2003;81(E. Suppl. 2):94-101.
- (178) Rouvière H. Muscles de la tête : masséter. In: Rouvière H, editor. *Anatomie Humaine descriptive et topographique*, Tome 1, Tête, cou et tronc. 6ème ed. Paris: MASSON; 1948. p. 134-7.
- (179) Rowlerson A, Heizmann CW, Jenny E. Type-specific proteins of single IIM fibres from cat muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1983 Jun 15;113(2):519-25.
- (180) Rowlerson A, Mascarello F, Veggetti A, Carpena E. The fibre-type composition of the first branchial arch muscles in Carnivora and Primates. *J Muscle Res Cell Motil* 1983 Aug;4(4):443-72.
- (181) Rowlerson A, Pope B, Murray J, Whalen RG, Weeds AG. A novel myosin present in cat jaw-closing muscles. *J Muscle Res Cell Motil* 1981;2:415-38.
- (182) Rowlerson A, Raoul G, Daniel Y, Close J, Maurage CA, Ferri J, et al. Fiber-type differences in masseter muscle associated with different facial morphologies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005 Jan;127(1):37-46.
- (183) Ruhin B, Bennaceur S, Raoul G, Lemiere E, Baralle MM, Ferri J. [Progressive hemifacial atrophy in the young patient: surgical problems in children]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2000 Dec;101(6):298-302.
- (184) Saito T, Ohnuki Y, Yamane A, Saeki Y. Effects of diet consistency on the myosin heavy chain mRNAs of rat masseter muscle during postnatal development. *Arch Oral Biol* 2002 Feb;47(2):109-15.

- (185) Salagnac JM, Delaire J, Mercier J. [Vertical development of the face and cervical spine. Diagnostic and therapeutic significance in orthodontics and maxillofacial surgery]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1999 Apr;100(1):13-26.
- (186) Sano R, Tanaka E, Korfage JA, Langenbach GE, Kawai N, Van Eijden TM, et al. Heterogeneity of fiber characteristics in the rat masseter and digastric muscles. *J Anat* 2007 Oct;211(4):464-70.
- (187) Sarnat BG, Muchnic H. Facial skeletal changes after mandibular condylectomy in growing and adult monkeys. *Am J Orthod* 1971 Jul;60(1):33-45.
- (188) Sartore S, Mascarello F, Rowlerson A, Gorza L, Ausoni S, Vianello M, et al. Fibre types in extraocular muscles: a new myosin isoform in the fast fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 1987 Apr;8(2):161-72.
- (189) Scapolo PA, Rowlerson A, Mascarello F, Veggetti A. Neonatal myosin in bovine and pig tensor tympani muscle fibres. *J Anat* 1991 Oct;178:255-63.
- (190) Schiaffino S, Gorza L, Sartore S, Saggin L, Ausoni S, Vianello M, et al. Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 1989 Jun;10(3):197-205.
- (191) Schiaffino S, Reggiani C. Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol Rev* 1996 Apr;76(2):371-423.
- (192) Schiaffino S, Serrano A. Calcineurin signaling and neural control of skeletal muscle fiber type and size. *Trends Pharmacol Sci* 2002 Dec;23(12):569-75.
- (193) Sciote JJ. Fibre type distribution in the muscle spindles of cat jaw-elevator muscles. *Arch Oral Biol* 1993 Aug;38(8):685-8.
- (194) Sciote JJ, Horton MJ, Rowlerson AM, Link J. Specialized cranial muscles: how different are they from limb and abdominal muscles? *Cells Tissues Organs* 2003;174(1-2):73-86.
- (195) Sciote JJ, Kentish JC. Unloaded shortening velocities of rabbit masseter muscle fibres expressing skeletal or alpha-cardiac myosin heavy chains. *J Physiol* 1996 May 1;492 (Pt 3):659-67.
- (196) Sciote JJ, Morris TJ. Skeletal muscle function and fibre types: the relationship between occlusal function and the phenotype of jaw-closing muscles in human. *J Orthod* 2000 Mar;27(1):15-30.
- (197) Sciote JJ, Rowlerson A. Skeletal fiber types and spindle distribution in limb and jaw muscles of the adult and neonatal opossum, *Monodelphis domestica*. *Anat Rec* 1998 Aug;251(4):548-62.
- (198) Sciote JJ, Rowlerson AM, Hopper C, Hunt NP. Fibre type classification and myosin isoforms in the human masseter muscle. *J Neurol Sci* 1994 Oct;126(1):15-24.
- (199) Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA. Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther* 2001 Nov;81(11):1810-6.
- (200) Scutter SD, Turker KS. Muscle spindle afferent input to motoneurons in human masseter. *J Neurophysiol* 1999 Jul;82(1):505-7.
- (201) Scutter SD, Turker KS. The role of the muscle spindles in human masseter. *Hum Mov Sci* 2001 Nov;20(4-5):489-97.
- (202) Sellers JR. Myosins: a diverse superfamily. *Biochim Biophys Acta* 2000 Mar 17;1496(1):3-22.

- (203) Serrano AL, Perez M, Lucia A, Chicharro JL, Quiroz-Rothe E, Rivero JL. Immunolabelling, histochemistry and in situ hybridisation in human skeletal muscle fibres to detect myosin heavy chain expression at the protein and mRNA level. *J Anat* 2001 Sep;199(Pt 3):329-37.
- (204) Serratrice G, Pellissier JF, Vignon C, Baret J. The histochemical profile of the human masseter. An autopsy and biopsy study. *J Neurol Sci* 1976 Nov;30(1):189-200.
- (205) Sfondrini G, Reggiani C, Gandini P, Bovenzi R, Pellegrino MA. Adaptations of masticatory muscles to a hyperpropulsive appliance in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996 Dec;110(6):612-7.
- (206) Shinkai RS, Lazzari FL, Canabarro SA, Gomes M, Grossi ML, Hirakata LM, et al. Maximum occlusal force and medial mandibular flexure in relation to vertical facial pattern: a cross-sectional study. *Head Face Med* 2007;3:18.
- (207) Smerdu V, Karsch-Mizrachi I, Campione M, Leinwand L, Schiaffino S. Type IIx myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIb fibers of human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1994 Dec;267(6 Pt 1):C1723-C1728.
- (208) Sokoloff AJ, Li H, Burkholder TJ. Limited expression of slow tonic myosin heavy chain in human cranial muscles. *Muscle Nerve* 2007 Aug;36(2):183-9.
- (209) Soussi-Yanicostas N, Barbet JP, Laurent-Winter C, Barton P, Butler-Browne GS. Transition of myosin isozymes during development of human masseter muscle. Persistence of developmental isoforms during postnatal stage. *Development* 1990 Feb;108(2):239-49.
- (210) Staron RS, Pette D. Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry* 1986;86(1):19-23.
- (211) Staron RS, Pette D. The continuum of pure and hybrid myosin heavy chain-based fibre types in rat skeletal muscle. *Histochemistry* 1993 Aug;100(2):149-53.
- (212) Stedman HH, Kozyak BW, Nelson A, Thesier DM, Su LT, Low DW, et al. Myosin gene mutation correlates with anatomical changes in the human lineage. *Nature* 2004 Mar 25;428(6981):415-8.
- (213) Steinacker JM, Opitz-Gress A, Baur S, Lormes W, Bolkart K, Sunder-Plassmann L, et al. Expression of myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle of patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Vasc Surg* 2000 Mar;31(3):443-9.
- (214) Stevens L. Plasticité musculaire lors d'atrophies fonctionnelles : étude des caractéristiques structurales et contractiles des fibres isolées de muscles squelettiques. Lille 1: Université des sciences et Technologies de lille; 1997.
- (215) Stevens L, Bastide B, Bozzo C, Mounier Y. Hybrid fibres under slow-to-fast transformations: expression is of myosin heavy and light chains in rat soleus muscle. *Pflugers Arch* 2004 Aug;448(5):507-14.
- (216) Stevens L, Bastide B, Maurage CA, Dupont E, Montel V, Cieniewski-Bernard C, et al. Childhood spinal muscular atrophy induces alterations in contractile and regulatory protein isoform expressions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008 Mar 20.
- (217) Stevens L, Bozzo C, Nemirovskaya T, Montel V, Falempin M, Mounier Y. Contractile properties of rat single muscle fibers and myosin and troponin isoform expression after hypergravity. *J Appl Physiol* 2003 Jun;94(6):2398-405.

- (218) Stevens L, Firinga C, Gohlsch B, Bastide B, Mounier Y, Pette D. Effects of unweighting and clenbuterol on myosin light and heavy chains in fast and slow muscles of rat. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000 Nov;279(5):C1558-C1563.
- (219) Stevens L, Gohlsch B, Mounier Y, Pette D. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in single fibers of unloaded rat soleus muscle. *FEBS Lett* 1999 Dec 10;463(1-2):15-8.
- (220) Stevens L, Gohlsch B, Mounier Y, Pette D. Upregulation of myosin heavy chain MHCIalpha in rat muscles after unweighting and clenbuterol treatment. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 Aug 28;275(2):418-21.
- (221) Stevens L, Sultan KR, Peuker H, Gohlsch B, Mounier Y, Pette D. Time-dependent changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in unloaded soleus muscle of rat. *Am J Physiol* 1999 Dec;277(6 Pt 1):C1044-C1049.
- (222) Suda N, Matsuda A, Yoda S, Ishizaki T, Higashibori N, Kim F, et al. Orthodontic treatment of a case of Becker muscular dystrophy. *Orthod Craniofac Res* 2004 Feb;7(1):55-62.
- (223) Talmadge RJ. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. *Muscle Nerve* 2000 May;23(5):661-79.
- (224) Talmadge RJ, Castro MJ, Apple DF, Jr., Dudley GA. Phenotypic adaptations in human muscle fibers 6 and 24 wk after spinal cord injury. *J Appl Physiol* 2002 Jan;92(1):147-54.
- (225) Talmadge RJ, Garcia ND, Roy RR, Edgerton VR. Myosin heavy chain isoform mRNA and protein levels after long-term paralysis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 Dec 3;325(1):296-301.
- (226) Talmadge RJ, Otis JS, Rittler MR, Garcia ND, Spencer SR, Lees SJ, et al. Calcineurin activation influences muscle phenotype in a muscle-specific fashion. *BMC Cell Biol* 2004 Jul 28;5:28.
- (227) Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Persistence of hybrid fibers in rat soleus after spinal cord transection. *Anat Rec* 1999 Jun 1;255(2):188-201.
- (228) Taylor AB, Jones KE, Kunwar R, Ravosa MJ. Dietary consistency and plasticity of masseter fiber architecture in postweaning rabbits. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2006 Oct;288(10):1105-11.
- (229) Timson DJ. Fine tuning the myosin motor: the role of the essential light chain in striated muscle myosin. *Biochimie* 2003 Jul;85(7):639-45.
- (230) Topinard P. Du prognatisme alvéolo-sous-nasal. In: Reinwald C, editor. *Revue d'Anthropologie*. Paris: Broca, P.; 1872. p. 628-68.
- (231) Tourne LP, Schweiger J. Immediate postural responses to total nasal obstruction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996 Dec;110(6):606-11.
- (232) Trulsson M. Force encoding by human periodontal mechanoreceptors during mastication. *Arch Oral Biol* 2007 Apr;52(4):357-60.
- (233) van den BW, van der GH, van der BA, Bosman F. Masticatory function in retrognathic patients, before and after mandibular advancement surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 2004 May;62(5):549-54.
- (234) Van Eijden TM, Korfage JA, Brugman P. Architecture of the human jaw-closing and jaw-opening muscles. *Anat Rec* 1997 Jul;248(3):464-74.
- (235) Van Eijden TM, Raadsheer MC. Heterogeneity of fiber and sarcomere length in the human masseter muscle. *Anat Rec* 1992 Jan;232(1):78-84.

- (236) Van Eijden TM, Turkawski SJ. Morphology and physiology of masticatory muscle motor units. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(1):76-91.
- (237) Vignon C, Pellissier JF, Serratrice G. Further histochemical studies on masticatory muscles. *J Neurol Sci* 1980 Mar;45(2-3):157-76.
- (238) Wahl N. Orthodontics in 3 millennia. Chapter 8: The cephalometer takes its place in the orthodontic armamentarium. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006 Apr;129(4):574-80.
- (239) Wang J, Han Y, Su H, Mu L. Expression of unique and developmental myosin heavy chain isoforms in adult human digastric muscle. *J Histochem Cytochem* 2004 Jul;52(7):851-9.
- (240) Weijs WA, Korfage JA, Langenbach GJ. The functional significance of the position of the centre of rotation for jaw opening and closing in the rabbit. *J Anat* 1989 Feb;162:133-48.
- (241) Widmer CG, English AW, Morris-Wiman J. Developmental and functional considerations of masseter muscle partitioning. *Arch Oral Biol* 2007 Apr;52(4):305-8.
- (242) Widmer CG, Morris-Wiman JA, Nekula C. Spatial distribution of myosin heavy-chain isoforms in mouse masseter. *J Dent Res* 2002 Jan;81(1):33-8.
- (243) Yabushita T, Zeredo JL, Fujita K, Toda K, Soma K. Functional adaptability of jaw-muscle spindles after bite-raising. *J Dent Res* 2006 Sep;85(9):849-53.
- (244) Yabushita T, Zeredo JL, Toda K, Soma K. Role of occlusal vertical dimension in spindle function. *J Dent Res* 2005 Mar;84(3):245-9.
- (245) Yonemitsu I, Muramoto T, Soma K. The influence of masseter activity on rat mandibular growth. *Arch Oral Biol* 2007 May;52(5):487-93.
- (246) Yu CC, Wong FH, Lo LJ, Chen YR. Craniofacial deformity in patients with uncorrected congenital muscular torticollis: an assessment from three-dimensional computed tomography imaging. *Plast Reconstr Surg* 2004 Jan;113(1):24-33.

11ANNEXES

11.1 ANNEXE 1 CCPRB

COMITE CONSULTATIF de PROTECTION des PERSONNES dans LA RECHERCHE BIOMEDICALE de LILLE

Lille, le 16/04/03

Mr le Pr J. FERRI
Stomatologie
Hôpital SALENGRO
CHRU de LILLE

Vos réf. :

Réf. : à rappeler dans toute correspondance : «CP 03/36»

Monsieur,

Lors de sa réunion du mardi 1er avril 2003, le CCPRB de Lille a examiné votre projet intitulé :

«Prélèvement de tissu musculaire lors des interventions d'ostéotomie sagittales des angles de la mandibule»

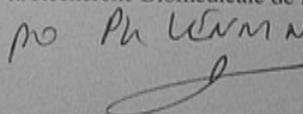
Dans la mesure où l'étude se déroulera sur des prélèvements déjà disponibles, et qu'il n'y aura pas de geste chirurgical supplémentaire, il a estimé que ce projet ne s'intégrait pas dans le cadre de la loi Huriet.

Etaients présents lors de la délibération :

Professeur PY HATRON - Représentant des personnes qualifiées en recherche biomédicale
Professeur J LIEFOOGHE - Représentant des personnes qualifiées en recherche biomédicale
Docteur C SULMAN - Représentant des personnes qualifiées en recherche biomédicale
Docteur P VENNIN - Représentant des personnes qualifiées en recherche biomédicale
Docteur P LESTAVEL - Représentant des personnes qualifiées en recherche biomédicale
Docteur JC ARCHANGE - Représentant des médecins généralistes
Monsieur JP GORLIER - Représentant des pharmaciens
Madame D. BEUGIN - Représentant des infirmiers
Madame ML LAMAU - Représentant des personnes qualifiées en matière d'éthique
Monsieur JF PERNOT - Représentant des psychologues
Monsieur X LABBEE - Représentant des personnes qualifiées en matière juridique

Avec l'expression de nos sentiments dévoués,

Professeur PY HATRON
Président du Comité Consultatif
de Protection des Personnes dans
la Recherche Biomédicale de Lille



91 8.27
Secrétariat :

S. DURIEZ Pharmacologie
CH & U - Fac de Médecine Pôle Recherche - 1 place de Verdun 59045 LILLE Cédex
☎ 03 20 44 54 49 Fax 03 20 44 68 63 e-mail : sduriez@univ-lille2.fr

11.2ANNEXE 2 INFORMATION PATIENT

INFORMATION AU PATIENT SUR LA CONSERVATION DE PRELEVEMENTS

IDENTIFIANT DU PATIENT (étiquette)

Nom

Prénom

Date de l'information et de la remise du présent document au patient :

Madame, Monsieur,

Dans le cadre de votre prise en charge au sein de notre établissement, vous allez être le sujet d'actes médicaux diagnostiques et thérapeutiques. Ces actes médicaux font partie de la prise en charge habituelle et serviront à établir le diagnostic de votre maladie afin de vous proposer le traitement le mieux adapté.

Lorsque cela est possible, nous conserverons une partie des prélèvements sanguins, de moelle ou de tissus pour une utilisation ultérieure dans le cadre de votre traitement. Ces prélèvements seront conservés dans le service d'anatomie et cytologie pathologiques du CHRU de LILLE ou au laboratoire d'hématologie de CALMETTE

Sauf opposition de votre part une partie de ces échantillons pourra être utilisée pour la recherche médicale ou scientifique sur le cancer, dans le respect de la confidentialité.

Aucun examen de vos caractéristiques génétiques ne sera réalisé sans votre consentement écrit.

Posez toutes les questions qui vous semblent nécessaires sur l'intérêt et les modalités de conservation de prélèvements.

Si vous changez d'avis, vous pouvez à tout moment faire part de votre opposition par écrit. Pour tout renseignement veuillez vous adresser au secrétariat de la tumorothèque au 03 20 44 49 85.

Nom et qualité de la personne ayant délivré l'information :

Signature de la personne ayant délivré l'information :

« Les données médicales recueillies sur le prélèvement seront réunies sur un fichier informatique permettant leur traitement automatisé dans le cadre de recherches. Conformément à la loi « informatique et libertés » du 6 janvier 1978, vous disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification et d'opposition. Si vous souhaitez exercer ce droit et obtenir communication des informations vous concernant, veuillez vous adresser au secrétariat de la Tumorothèque au 03 20 44 49 85 »

OPPOSITION

Oui

« Conformément à la loi, les prélèvements ne pourront être cédés à titre commercial ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice. Ils pourront être utilisés pour des recherches effectuées par un ou plusieurs organismes publics ou privés »

Un exemplaire de ce document doit être remis au patient et l'original conservé dans le dossier médical.

11.3 ANNEXE 3 EXTRACTION DES MHC EN VUE D'UNE ELECTROPHORESE

1/ Muscles préalablement broyés finement dans la carboglace ou l'azote liquide. L'extraction se fait dans des Eppendorfs plongés dans la glace

2/ Fabrication du tampon d'extraction conservé à 4°C pour 50ml :

Na ₄ P ₂ O ₇ 10H ₂ O	100 mM	2,23g
EGTA	5 mM	95,1g
MgCl ₂	5 mM	50,8 g
KCl (6H ₂ O)	0,3 mM	1,12g
DDT	1 mM	7,7 mg
Ajuster au pH 8,55		

3/ Déposer 50µl de tampon d'extraction dans les tubes

4/ Faire le zéro sur la balance pour chaque tube et déposer 20 mg de poudre de muscle préalablement broyée

5/ Rajouter X µl de tampon d'extraction de façon à obtenir 7µl de tampon pour 1 mg de poudre de muscle :

volume de tampon à rajouter = (y mg de poudre de muscle x 7 µl) – 50 µl

6/ Incuber le mélange 15 minutes dans la glace en agitant à l'aide de spatules

7/ Centrifuger le mélange 10 minutes à 10 000g à 4°C

5/ Prélever le surnageant

6/ Dosage des protéines (cf. annexe 5)

7/ Après estimation du volume du surnageant, ajouter volume à volume du glycérol à 50% sous hotte aspirante.

8/ Vortexer

9/ Conserver à -20°C

11.4 ANNEXE 4 EXTRACTION GLOBALE DES PROTEINES MUSCULAIRES EN VUE D'UNE ELECTROPHORESE

1/ Muscles préalablement broyés finement dans la carboglace ou l'azote liquide. L'extraction se fait dans des Eppendorfs plongés dans la glace

2/ Fabrication du tampon d'extraction conservé à 4°C

	Pour 25ml	Pour 50ml
Tris HCl à pH 6.8	0.184g	0.378g
SDS 2.3%	0.575g	1.15g
Glycérol 10%	2.5ml	5ml
QSP	25ml	50ml

3/ Mélanger le tampon d'extraction au broyat musculaire. La dose dépend du volume musculaire à diluer. La concentration protéique sera calculée secondairement.

4/ Centrifuger le mélange 10 minutes à 10 000g à 4°C

5/ Prélever le surnageant

6/ Dosage des protéines (cf. annexe 5)

7/ Mélanger au Laemly pour obtenir la concentration voulue (3 ou 5 µg/µl)

Laemly à fabriquer au moment de l'emploi

(tampon d'extraction + bleu et beta mercapto éthanol)

	Pour 25ml	Pour 50ml
0.5 M Tris HCl/L à pH 6.8	0.184g	0.378g
SDS 2.3%	0.575g	1.15g
Glycérol 10%	2.5ml	5ml
QSP	25ml	50ml
Retirer	1.25ml	2.5ml
beta mercapto éthanol bleu 0.02%	1.25ml	2.5ml

8/ Aliquoter et conserver à -20°C

11.5 ANNEXE 5 DOSAGE DES PROTÉINES

Réf. Lowry O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.

BSA à 1mg/ml (Bovine Serum Albumine)

X quantité d'échantillon à doser

Tube N°	1	2	3	4	5	6	7	8	x
BSA (µl)	0	1	2,5	5	10	25	50	100	0
Echantillon (x)									X
SDS 7% (µl)	20	20	20	20	20	20	20	20	20
H ₂ O (µl)	180	179	177,5	175	170	155	130	80	180-X
Solution D (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Attendre 10 minutes									
Solution C (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Attendre 30 à 60 minutes à l'abri de la lumière									

Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre

Régler la longueur d'onde à 750nm

Faire le zéro avec le tube 1

Passer les tubes de la gamme de la plus petite à la plus forte concentration en notant les absorbances respectives

Passer les tubes X et noter les absorbances

NB : toujours bien rincer la micro cuve avec de l'eau MQ entre chaque lecture et bien essuyer les parois avec du papier

Exploitation des résultats

Tracer la courbe d'absorbance en fonction de la quantité connue de protéines des tubes 1 à 8

Extrapoler les absorbances des échantillons à doser pour connaître leur concentration.

Solutions

BSA à 1mg/ml

NaOH 1N : 2g dans 50 ml eau

SDS 7% : 0,7g pour 10ml d'eau

Solution A

1g de Na_2CO_3 dans 50 ml de NaOH à 0,1N

(NaOH 0,1N : 5ml de NaOH 1N dans 45ml d'eau)

Solution B

a/ tartrate de sodium 2% (2g pour 100 ml)

b/ CuSO_4 1% (1g pour 100 ml)

Solution C : Réactif Folin au 1/2 dans l'eau, à préparer au dernier moment

Solution D :

50 ml de solution A

0,5 ml de solution Ba

0,5 ml de solution Bb

11.6 ANNEXE 6 PREPARATION DU GEL D'ELECTROPHORESE ET DE LA CUVE.

Utilisation de gants et sous hotte aspirante lors de la manipulation de l'acrylamide et du bisacrylamide

1/ Montage

Nettoyer les plaques de verre à l'alcool

Disposer les plaques, spacers (0,75 mm) et serre-plaques dans le système de coulage et serrer l'ensemble avec les vis noires

Vérifier l'horizontalité au niveau à bulle

Tracer un trait à 4cm du haut de la plaque de verre

2/ Gel de séparation à 7,5%

Préparer le gel de séparation (Annexe 6)

Couler le gel jusqu'au trait (4cm du haut) en évitant les bulles d'air

Déposer délicatement 1cm d'eau MQ à surface du gel

Laisser polymériser 30 minutes à température ambiante

3/ Tampon de migration

Préparer le tampon de migration (Annexe 6)

Mettre le tampon dans la cuve

Mettre en route la réfrigération (12°C) et l'agitateur magnétique

4/ Gel de concentration à 4,5%

Préparer le gel de concentration (Annexe 6)

Retirer l'eau de la surface du gel (renverser)

Disposer le peigne à moitié enfoncé entre les deux plaques de verre

Couler le gel de concentration et enfoncer le peigne totalement. Faire attention aux bulles d'air et compléter avec le gel

Laisser polymériser 45 minutes à température ambiante

5/ Dépôts

Prélever 500 ml de tampon de migration

Retirer délicatement le peigne avec du tampon

Rincer les puits avec du tampon

Remplir les puits avec du tampon

Déposer les échantillons qui sont dans la glace (volume ajusté en fonction du dosage de protéines)

6/ Migration

S'il n'y a qu'une seule plaque d'électrophorèse, remplacer la place de la seconde par une plaque de plexiglas dans le poste de coulage.

Poser le réservoir supérieur de la cuve avec les joints sur le poste de coulage

Retirer les vis noires du bas pour les mettre en haut et maintenir les plaques dans le réservoir

Poser l'ensemble dans la cuve et verser du tampon de migration dans le réservoir supérieur

Brancher les électrodes sur le couvercle

Mettre en route le générateur et régler les paramètres :

1 gel de 0,75 mm d'épaisseur : 180 V, 13 mA pendant 18 heures

2 gels de 0,75 mm d'épaisseur : 180 V, 26 mA pendant 18 heures

11.7 ANNEXE 7 SOLUTIONS POUR GELS MHC

Gel de séparation à 7,5%

	1 gel
H ₂ O	0,82 ml
Tris HCl pH 8,6 (2M)	3,09 ml
Glycérol (50%)	9,9 ml
SDS (10%)	165 µl
Acry/Bis	2,475 ml
APS (10%)	33 µl
Temed (tétraméthyl éthylène diamine)	16,5µl

Gel de concentration à 4,5%

	1 gel
H ₂ O	3,51 ml
Tris HCl pH 6,7 (500mM)	1,375 ml
SDS (10%)	55 µl
Acry/Bis	0,495 ml
APS (10%)	55 µl
Temed (tétraméthyl éthylène diamine)	5,5µl

Acrylamide / Bisacrylamide 50% (99/1)

Acrylamide (g)	49,5	24,75	9,9
Bisacrylamide	0,5	0,25	0,1
QSP H ₂ O MQ ml	100	50	20

Tris HCl Ph 8,6 (2M)

Tris 12,11g dans 30ml H₂O MQ

Ajuster au pH 8,6 avec de l'HCl fumant

QSP H₂O 50ml

Tris HCL pH 6,7 (500mM)

Tris 3,08g dans 30ml H₂O MQ

Ajuster au pH 6,7 avec de l'HCl fumant

A partir de pH 7 ajuster avec l'HCl 1N

QSP H₂O 50 ml

Glycérol

Glycérol 50% dans de l'eau MQ

SDS (sodium dodécyl sulfate)

SDS à 10% dans eau MQ

Persulfate d'ammonium (APS)

APS 10% dans eau MQ

A préparer juste avant utilisation

Tampon de migration pour électrophorèse des MHC

	Pour 5 litres de tampon
Glycine	71,35g
Tris 7,9	15,135g
SDS	5g
H ₂ O	QSP 5 litres

11.8 ANNEXE 8 COLORATION A L'ARGENT TYPE LONG

1^{ère} fixation 30 minutes sous agitation dans

Méthanol (50%) 250ml

Acide acétique (10%) 50 ml

H₂O distillée 200ml

2nd fixation 60 minutes sous agitation dans

Méthanol (5%) 12,5ml

Acide acétique (7%) 17,5 ml

H₂O distillée 220ml

3^{ème} fixation 20 heures sous agitation dans

Glutaraldéhyde 100ml

H₂O distillée 150ml

Lavages 2h30 sous agitation dans 250ml H₂O distillée par baignes de 20 minutes

A l'abri de la lumière

Bain DDT 30 minutes sous agitation dans 200ml eau distillée avec 1mg de DDT

Coloration 20 minutes sous agitation dans

NaOH 90mM 42ml (préparation de la solution 0,9g de NaOH pour 250ml eau distillée)

Ammoniaque 3,5ml

Eau distillée 154,5ml

AgNO₃ 8ml (solution : 1,6g dans 8ml eau distillée)

Lavages

5 lavages d'une minute dans 250 ml d'eau distillée

Révélation

Laisser jusqu'à apparition des bandes dans

500ml d'eau distillée

25ml Solution de développement (Sodium citrate 1,25g, formaldéhyde (37%) 1,25ml QSP
eau distillée : 250ml)

Arrêt de la coloration

5 minutes dans 500ml eau distillée et 5ml d'acide acétique

Lavage

30 minutes dans l'eau distillée

Numérisation sur le scanner GS700 biorad

Conservation

Glycérol 120ml et eau distillée 280ml

Placer entre deux feuilles de cellophane et placer à l'étuve une nuit

11.9ANNEXE 9 COLORATION A L'ARGENT TYPE COURT

1/

20 minutes dans

100ml de méthanol (50%)

10ml d'acide acétique (5%)

90ml eau MQ (45%)

2/

10 minutes dans

100ml éthanol (50%)

100ml eau MQ (50%)

3/

10 minutes de Lavage MQ

4/ Préparer au dernier moment, 1 minute dans

0,004g Sodium thiosulfate (0,02%)

40ml methanol (20%)

13,6g de sodium acétate (6,8%)

QSP 200ml eau MQ

5/ Deux lavages MQ d'une minute

6/ A l'abri de la lumière 20 minutes à 4°C sous agitation

0,25% nitrate d'argent 0,5g

0,02% formaldéhyde à 35% 40µl

QSP 200ml eau MQ

7/ Deux lavages MQ d'une minute

8/ Solution de développement durant le temps nécessaire à la visualisation des bandes

0,04% formaldéhyde à 35% 80µl

2% sodium carbonate 4g

QSP 200ml eau MQ

9/ Solution d'arrêt

5% acide acétique 10ml

190ml eau MQ

10/ Solution de conservation

1% acide acétique 2ml

198ml eau MQ

Numérisation sur le scanner GS700 biorad

Conservation ultérieure

Glycérol 120ml et eau distillée 280ml

Placer entre deux feuilles de cellophane et placer à l'étuve une nuit

11.10 ANNEXE 10 TRANSFERT SUR MEMBRANE DE NITROCELLULOSE

Matériel nécessaire

Membrane de nitrocellulose 0,45 μm découpée à la taille du gel (14cm X 14cm)
HYBOND-ECL (Amersham Biosciences) 0,45 μm , (Rouleau 30 cm X 3m).

Tampon de transfert Tris/HCl 25mM, glycine 192 mM, méthanol et eau MQ

Générateur

Hoefler Scientific Instruments (HSI) model PS500XT 2,5A

Blotto

5% lait écrémé

PBS QSP 100ml

PBS pour 1 litre

5 pastilles de PBS (Phosphate Buffered Saline Sigma P4417)

Tamponner à l'acide propionique pour obtenir un pH 7,4

Protocole

Disposer dans l'ordre, la grille, la mousse, le papier Whatman, le gel, la membrane de nitrocellulose, une nouvelle couche de papier Whatman, la seconde mousse et la seconde grille. La membrane de nitrocellulose a un sens : côté lisse au contact du gel. Chaque couche est imbibée de tampon de transfert. Le côté positif est côté membrane de nitrocellulose, le côté négatif du côté gel.

La migration se déroule à 60V durant 4 heures à 4°C, avec contrôle horaire de la tension.

Témoin de transfert : la bande correspondant aux marqueurs moléculaires est découpée puis colorée au rouge ponceau. On laisse agir 5 minutes et on rince à l'eau déminéralisée. Si le transfert a réussi, les bandes apparaissent en rouge sur la membrane de nitrocellulose.

A la fin du transfert, placer la membrane dans le BLOTTO après avoir vérifié que la membrane a été orientée (découper le coin en bas à gauche par défaut).

La membrane est saturée au BLOTTO pour une durée de 4 heures minimum ou toute la nuit (over night) à température et air ambiants.

11.11 ANNEXE 11 TRANSFERT SEMI-SEC

PROTOCOLE DE TRANSFERT SEMI-SEC DES MHC DU GEL DE TRANSFERT SUR LA MEMBRANE DE NITROCELLULOSE POUR WESTERN-BLOT.

Matériel nécessaire

Membrane de nitrocellulose 0,45 µm découpée à la taille du gel (14cm X 14cm)

HYBOND-ECL (Amersham Biosciences) 0,45 µm, (Rouleau 30 cm X 3m).

Cuve de transfert

LKB Bromma 2117 Multiphor II Electrophoresis Unit

Supports anode et cathode : Pharmacia Biotech Nova Blot

Générateur

Hoefer Scientific Instruments (HSI) model PS500XT 2,5A

Papier filtre

15 feuilles de la taille du gel démoulé, soit 14cm X 14cm

Solution Anode I

Pour 1 litre

36,3g Tris/HCl (300 mM)

200ml Méthanol (20%)

pH 10,4

Conserver à 4°C

Solution Anode II

Pour 1 litre

3,03g Tris/HCl (25 mM)

200ml Méthanol (20%)

pH 10,4

Conserver à 4°C

Solution Cathode

Pour 1 litre

5,2 g 6 aminocaproic acid (SIGMA A2504) (40 mM)

200 ml Méthanol (20%)

pH 7,6

Conserver à 4°C

Blotto

5% lait écrémé

PBS QSP 100ml

PBS pour 1 litre

5 pastilles de PBS (Phosphate Buffered Saline Sigma P4417)

Tamponner à l'acide propionique pour obtenir un pH 7,4

Pinces à disséquer pour retirer la membrane

Gants

3 bacs pour recevoir le gel et les solutions

Ciseaux et cutter

Rouleau pour étaler et appliquer les feuilles de papier filtre

Protocole

Démouler le gel dans une cuve avec de la cathode, faire un repère en coupant un angle du gel (par défaut en bas à gauche).

Disposer 6 feuilles de papier filtre dans le bac avec la solution anode I

Poser les 6 feuilles anode I sur la plaque de transfert anode. Passer le rouleau.

Disposer 3 feuilles de papier filtre dans le bac avec la solution anode II

Poser les 3 feuilles anode II sur les 6 précédentes. Passer le rouleau.

Poser la membrane de nitrocellulose sur les 3 feuilles anode II.

La membrane de nitrocellulose a un sens : elle est sous forme de rouleau, et il faut disposer le coté centripète au contact du gel (comme s'il s'agissait d'un rouleau de ruban adhésif).

NE PAS PASSER LE ROULEAU. Manipuler la membrane à l'aide des pinces à disséquer.

Déposer le gel sur la membrane. A ce stade, il est possible de découper l'angle en bas à gauche correspondant de la membrane, ou d'attendre la fin du transfert.

Disposer 6 feuilles de papier filtre dans le bac avec la solution cathode

Poser les 6 feuilles anode I sur la plaque de transfert anode. Passer le rouleau.

Refermer l'ensemble en disposant la plaque de transfert cathode au dessus. Placer les plaques de transfert dans la cuve. Brancher les contacteurs des plaques dans les répéteurs de la cuve.

Refermer le couvercle de la cuve en vérifiant la congruence des contacteurs du couvercle avec les répéteurs des plaques de transfert.

Brancher les électrodes sur le générateur après avoir réglé sur **45ma 5V**.

Lancer le transfert pour une durée de **1h45** à air et température ambiants.

Témoin de transfert : la bande correspondant aux marqueurs moléculaires est découpée puis colorée au rouge ponceau. On laisse agir 5 minutes et on rince à l'eau déminéralisée. Si le transfert a réussi, les bandes apparaissent en rouge sur la membrane de nitrocellulose.

A la fin du transfert, placer la membrane dans le BLOTTO après avoir vérifié que la membrane a été orientée (découper le coin en bas à gauche par défaut).

La membrane est saturée au BLOTTO pour une durée de 4 heures minimum ou toute la nuit (over night) à température et air ambiants.

11.12 **ANNEXE 12 SUPPORT LOGICIEL**

Microsoft windows XP et Vista (EOM)

Microsoft Excel, Word, Powerpoint, Paint, Adobe Photoshop (suite Vaio).

Biorad quantity one version basic et professionnel, LPN USTL Lille 1

Tridim 2006 v2 orthalis avec correctif révisé du calcul de l'angle crânio-adapté, fourni gracieusement par la société Orthalis.

Sas stat, CERIM Université de Lille 2

Xlstat2007 et sigma plot (version évaluation).

Logiciel scion : www.scionsorp.com (freeware).

11.13 ANNEXE 13 ARTICLE (AM J ORTHOD DENTOFACIAL ORTHOP 2005)

ORIGINAL ARTICLE

Fiber-type differences in masseter muscle associated with different facial morphologies

Anthea Rowleron,^a Gwénaél Raoul,^b Yousif Daniel,^c John Close,^d Claude-Alain Maurage,^e Joel Ferri,^f and James J. Sciote^g

London, United Kingdom, Lille, France, and Pittsburgh, Pa.

Background: The influence of muscle forces and associated physiologic behaviors on dental and skeletal development is well recognized but difficult to quantify because of the limited understanding of the interrelationships between physiologic and other mechanisms during growth. **Methods:** The purpose of this study was to characterize fiber-type composition of masseter muscle in 44 subjects during surgical correction of malocclusion. Four fiber types were identified after immunostaining of biopsy sections with myosin heavy chain-specific antibodies, and the average fiber diameter and percentage of muscle occupancy of the fiber types were determined in each of 6 subject groups (Class II or Class III and open bite, normal bite, or deepbite). A $2 \times 3 \times 4$ analysis of variance was used to determine significant differences between mean areas for fiber types, vertical relationships, and sagittal relationships. **Results:** There were significant differences in percentage of occupancy of fiber types in masseter muscle in bite groups with different vertical dimensions. Type I fiber occupancy increased in open bites, and conversely, type II fiber occupancy increased in deepbites. The association between sagittal jaw relationships and mean fiber area was less strong, but, in the Class III group, the average fiber area was significantly different between the open bite, normal bite, and deepbite subjects. In the Class III subjects, type I and I/II hybrid fiber areas were greatly increased in subjects with deepbite. **Conclusions:** Given the variation between subjects in fiber areas and fiber numbers, larger subject populations will be needed to demonstrate more significant associations between sagittal relationships and muscle composition. However, the robust influence of jaw-closing muscles on vertical dimension allowed us to conclude that vertical bite characteristics vary according to the fiber type composition of masseter muscle. (Am J Orthod Dentofacial Orthop 2005;127:37–46)

Subjects undergoing orthognathic surgery to correct skeletal and dental relationships are characterized by diverse craniofacial morphologies. These morphologies are not craniofacial anomalies or the result of recognized genetic syndromes but, rather, are extreme variations from the “normal” range that are severe enough to require surgical correction. Growth in

orthognathic surgery patients clearly deviates significantly from a normative pattern, and these patients could be considered to have a craniofacial growth disturbance. These patterns have been characterized (on the basis of vertical dimension) into 2 extreme archetypes: the long-faced, open bite pattern and the short-faced, deepbite pattern.¹ After much investigation, the etiology of extreme facial patterns remains an enigma, because of a limited understanding of the basic physiologic (functional) and genetic mechanisms controlling skeletal growth and adaptation.^{2,3}

Sassouni¹ outlined the concept that vertical alignment (and subsequent force) of jaw-closing muscles directed skeletal growth toward a shallow mandibular plane angle, an acute gonial angle, and deepbite, whereas obliquely aligned jaw-closing muscles (with subsequent diminished force) permitted a steep mandibular plane, an obtuse gonial angle, and open bite. Bite force studies have documented diminished occlusal force at the molar occlusal plane in long-faced adults.⁴ These force differences might not be due to intrinsic muscle differences but, rather, to mechanical advantage loss in obliquely applied force.⁵ Others have

^aLecturer in physiology, Applied Biomedical Research Group, Guy's, King's and St. Thomas' School of Biomedical Sciences, Kings College, London, United Kingdom.

^bChef de clinique assistant, Department of Maxillofacial Surgery, University of Lille 2, Lille, France.

^cFormer orthodontic resident, Guy's Hospital; private practice, London.

^dAssistant professor, Dental Public Health, University of Pittsburgh, School of Dental Medicine, Pittsburgh, Pa.

^eAssistant professor, Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Régional Universitaire et Faculté de Médecine, Lille, France.

^fHead, Department of Maxillofacial Surgery, University of Lille.

^gAssociate professor and chair, Department of Orthodontics, University of Pittsburgh, School of Dental Medicine.

Reprint requests: Dr James Sciote, University of Pittsburgh School of Dental Medicine, Department of Orthodontics, 3501 Terrace St, Pittsburgh, PA 15261-1032; e-mail, jjs6@pitt.edu.

Submitted, September 2003; revised and accepted, March 2004.

0889-5406/\$30.00

Copyright © 2005 by the American Association of Orthodontists.

doi:10.1016/j.ajodo.2004.03.025

imaged muscle to determine overall size and orientation using a variety of techniques, including cephalometrics,⁵ computed tomography,⁶ ultrasound,⁷ and magnetic resonance imaging (MRI),^{8,9} but they do not agree with regard to muscle size, orientation, and craniofacial form.

Because the relationship between muscle architecture and jaw growth is complex, an important aspect is the intrinsic composition of muscle in terms of its fiber types. Skeletal muscle is composed of a variety of fiber types with different functional and histologic characteristics. For example, postural muscles are composed mostly of type I fibers (fatigue resistant, slow contracting), whereas muscles used in rapid locomotion have higher proportions of type II fibers (fast contracting, relatively fatigable). Some human cranial muscles, including the jaw-closers, are very different in fiber-type composition compared with skeletal muscle from the limbs or abdomen. Using the isoforms of myosin (the major motor protein in these fibers) as the discriminator, we can currently characterize 8 fiber types in masticatory muscles, whereas limb muscle contains only 3 main types.¹⁰ In addition, human masseter shows wide individual variations in fiber-type composition, as demonstrated in biopsy studies.¹⁰⁻¹²

An important clinical consideration is whether this variability in masseter muscle composition is related to differences in craniofacial form. Previous studies based on small sample sizes, in which a less-discriminating histologic technique for identifying fiber types was used, demonstrated positive correlations¹³ but are too limited in scope to draw firm conclusions. Although some recent MRI studies have attempted to determine fiber-type composition by estimating tissue inorganic phosphate/phosphocreatine ratios, inaccuracy of imaging whole muscle with this technology is a significant shortcoming.¹⁴ Additional complications with imaging jaw-closing muscles are aberrant signals originating from the bone closely approximating the muscle and differences in fiber-type composition in comparison with skeletal muscles previously imaged with MRI.^{10,15}

In this study, we investigated the relationship between masseter muscle fiber-type composition and craniofacial form. We sampled masseter muscle from a large number of orthognathic surgery patients at the time of operation to determine fiber-type composition and compared this result with the Angle classification and vertical dimension for each subject.

MATERIAL AND METHODS

Masseter muscle biopsies were collected from a consistent site on the deep surface of the superficial

layer of the left masseter muscle on the anterior border 3 to 4 cm above the mandibular angle in patients (mean age 28 years) undergoing a variety of orthognathic surgery procedures at the University of Lille. One surgeon (J.F.) excised the tissue, and a second (G.R.) collected information regarding clinical diagnosis and surgical procedures. Subject participation was in accordance with the research ethics committee of the University Hospital of Lille and with French patient privacy regulations. Limb muscle samples used as an internal "reference" for the fiber-type analysis came from patients undergoing soft tumor resections at Guy's Hospital London, where a separate informed consent procedure was conducted for these subjects, with permission from Guy's research ethics committee. The size of the biopsy was approximately 0.5 cm³. Tissue was snap-frozen, cryosectioned serially at 10 μ m, and sections were mounted on glass microscope slides for immunostaining (indirect immunoperoxidase method) with antibodies specific for myosin heavy chain (MyHC) isoforms. These antibodies were specific for MyHC isoforms type I (BA-F8), all type II (MY-32), type IIA only (SC-71), neonatal (a polyclonal antibody prepared by A.R.) and α -cardiac (MAS 366) (also termed *atrial myosin*) and have been described previously.^{10,16} Batches of serial sections from several masseter biopsies were always stained with sections of at least one reference muscle, in many cases on the same slide, for comparison.

The panel of antibodies used permitted identification of 8 fiber types in masseter and the types present in the reference muscles, although these types were subsequently collapsed into 4 groups for statistical analysis as follows: type I: containing only type I MyHC; type II: containing only type IIA and/or IIX MyHC; type I/II hybrid fibers: containing both type I and II isoforms; and type neonatal/atrial: fibers that contained the neonatal or α -cardiac isoform in combination with other type I and II isoforms. For fiber type classification, only series with consistent antibody reactions from all stains and acceptable morphology of muscle fibers were used (ie, excluding any areas showing signs of handling or processing damage, such as ice crystal artifact or folds). A specific area was identified on each of the serially immunostained sections that was clearly in transverse section and had both adequate morphology and staining to type the fibers. This area was photographed in all relevant stained sections, so that individual fibers could be identified on serial images. All fibers within the selected areas were type-classified by 1 operator (ie, identified as I, I/II hybrid, II, or neonatal/atrial), and

this classification was checked by a second operator before their cross-sectional areas were measured with image-analysis software.¹⁰ The area of each identified fiber on 1 stain from the series of sections was displayed as a digital image and sharpened, and its outer border traced with a VIDS-V image-analysis system (Ai, Cambridge, United Kingdom) linked to a Nikon Labophot microscope (Nikon, Tokyo, Japan). If the composition was uniform across the biopsy, only 1 area was analyzed; if there was any heterogeneity, 2 or more areas were analyzed to obtain a more representative sample. In general, every fiber with adequate staining and morphology was included in the analysis of a given area; only occasional fibers that were damaged were excluded. Tests for measurement error included intrarater reliability in determination of fiber area (by repeating morphometric tracing of all fiber areas in 1 biopsy by 1 examiner), which resulted in an R^2 value of 0.9452, and interrater reliability in determination of fiber area error, which resulted in an R^2 value of 0.9752.

An orthodontic diagnosis was made before surgery. To test the reproducibility of diagnosis, 4 board-certified (American Board of Orthodontics) orthodontists on faculty at the University of Pittsburgh were asked to classify pretreatment cephalometric and panoramic radiographs for the following diagnostic criteria: Angle Class II or III (the sagittal relationship of the molars), and open bite, deepbite, or normal bite (the vertical relationship of the anterior bite). Classifications by these orthodontists matched the original presurgical diagnoses. If there was disagreement regarding the orthodontic classification, we were prepared to remove the subject from the study, but disagreement did not occur. Cephalometrics were not necessary, because of the obvious skeletal and dental discrepancies, which were typically deemed severe.

Morphometric analyses of fiber types and orthodontic classifications were carried out independently so as not to induce bias. Data for the subjects were analyzed with an analysis of variance (ANOVA) for a mixed between-within $2 \times 3 \times 4$ design, whereby class and bite were the between factors and fiber type the within factor ($2 \times 3 \times 4$ design = Class II or III relationship \times open bite, normal bite, or deepbite \times I, I/II hybrid, II, or neonatal/atrial fiber type). This analysis aims to show how each entity as a group varies compares with other groups (ie, whether the variations in the 4 fiber types, as a group, are significantly different in open bite versus normal bite versus deepbite, or significantly different in Class II versus Class III malocclusions).

RESULTS

General characteristics of biopsies and their fiber types

Of the tissue we collected, 2 upper limb, 8 lower limb, and 44 masseter muscle samples were of adequate quality to be sectioned, stained, and analyzed for fiber types and mean fiber cross-sectional area. The minimum number of fibers analyzed in a single masseter biopsy was 47 fibers in 1 area, but when there was heterogeneity across the biopsy, 2 or more areas were analyzed to give a representative sample. Overall, the mean number of fibers analyzed was 156 in masseter but only 77 in limb samples, which showed less heterogeneity. For each study subject, the orthodontic classification of malocclusion, the vertical dimension of bite, and the mean fiber area and number by fiber type are summarized in Table I. From these data, an additional calculation was performed to determine the percentage of total area of muscle tissue occupied by each fiber-type class. The mean fiber area was multiplied by the total number of fibers for each class to determine the total area occupied by class. From these total areas, the percent occupancy for each class was determined (Fig 1).

The limb samples, which were the internal reference for the fiber-typing methodology, showed the expected fiber type composition: approximately 40% type I fibers, nearly 60% type II fibers, few hybrid I/II fibers (0%-8%), and none in the neonatal/atrial group. An example is shown in Figure 2. Masseter fibers were, on average, smaller than their limb counterparts, especially for type II fibers (mean equivalent diameters 53.6 μm and 32.4 μm for types I and II, respectively). As expected, in masseter samples, the proportion of hybrid I/II fibers was generally higher, and there was a significant proportion of neonatal/atrial fibers (Fig 3). The presence of these hybrid and neonatal/atrial fibers is also reflected in the "occupancy" values, which take into account both fiber area and frequency, as shown in Figure 1.

Statistical analysis

The ANOVA with the area measure as the dependent variable resulted in significant main effects for bite ($P \leq .0134$) and for fiber type ($P \leq .0004$) (Table II). A significant class \times bite \times fiber-type interaction was also found ($P \leq .0374$), but only in the Class III group. No other effects in the model were statistically significant ($P \geq .3640$).

Post hoc tests with Fisher's least significant difference (LSD) procedure found that all fiber-type area means, except those between type II and neonatal/atrial, differed

Table 1. Mean fiber areas (μm), confidence intervals (CI), and number of fibers analyzed by fiber type for all subjects

Class	Bite	Type I fibers			Type I/II hybrid fibers			Type II fibers			Type neonatal/atral fibers		
		Mean $\bar{\phi}$	CI	n	Mean $\bar{\phi}$	CI	n	Mean $\bar{\phi}$	CI	n	Mean $\bar{\phi}$	CI	n
2	Open	1568.6	177.0	43	1346.9	208.3	42	297.1	44.1	16	1288.9	365.8	24
2	Open	1829.3	248.3	58	2366.3	220.9	35	267.0		1	1382.3	203.1	4
2	Open	1413.9	113.8	54	1077.6	135.6	18	412.4	162.2	8	867.8	63.3	85
2	Open	2759.1	233.8	47	2407.9	523.0	10	2727.4	4045.0	3	1456.8	158.6	32
2	Open	2730.9	338.2	57	1976.1	250.8	24	182.3		1	643.0	90.1	78
2	Open	2525.2	236.3	47	1214.9	456.7	14	695.3	64.2	62	569.5	58.1	29
2	Open	1515.4	108.4	71	893.0	114.9	42	600.4	51.2	8	624.6	64.2	35
2	Open	1127.7	213.7	14	1095.5	99.3	53	317.8	27.3	103	444.6	74.8	25
2	Open	3484.5	487.0	42	2026.1	230.1	90	1007.7	490.8	24	590.8	135.8	35
2	Open	1150.6	84.2	82	1717.0	132.8	89			0	478.9		1
2	Open	1560.8	105.9	144	1860.6	289.4	42	528.0	48.3	117	1062.7	50.5	139
2	Normal	3593.1	340.8	23	2179.4	308.1	11	357.7	94.5	31	1498.0	316.8	24
2	Normal	2089.2	120.3	37	1205.4	355.9	11	649.8	108.3	50	584.4	108.7	14
2	Normal	2275.9	309.6	35	1798.3	270.7	41	416.9	235.7	2	984.3	108.8	27
2	Normal	3191.5	212.3	62	1241.1	230.9	10	1343.3	229.8	14	1105.9	214.5	19
2	Normal	2346.7	144.3	159	1859.9	198.4	105	1325.1	185.1	37	1076.8	332.1	9
2	Normal	2718.0	330.7	17	2276.5	384.3	12	575.8	108.7	39	1201.9	196.3	34
2	Normal	1795.9	135.5	53	1301.3	197.7	35	386.1	41.8	27	756.3	131.4	12
2	Deep	2967.8	326.1	26	2231.2	528.6	9	1125.0	417.7	14	1813.5	208.9	30
2	Deep	1542.9	164.5	53	1701.1	133.7	54	380.5	189.3	2	1069.4	26.7	2
2	Deep	2500.0	218.1	56	1911.9	510.7	11	970.6	127.4	128	1620.7	192.9	38
2	Deep	3592.2	723.4	22	3079.5	753.6	7	3184.0	270.2	40	1179.4	882.2	10
3	Open	1196.1	121.8	73	1389.9	116.0	106	565.6	467.1	7	780.6	70.6	69
3	Open	2201.2	222.6	68	1077.6	286.5	24	641.8	68.3	59	666.7	92.1	52
3	Open	2632.4	174.5	56			0			0	748.0	79.6	106
3	Open	2910.4	422.5	41	2248.3	763.9	5	1881.1	399.8	23	1247.9	109.3	6
3	Open	2747.1	364.4	30			0	521.5	186.4	3	1432.5	146.7	62
3	Open	2543.6	522.6	39	2441.3	376.0	20	1414.6	204.4	79	1208.9	244.7	44
3	Open	2387.1	210.2	54	2165.3	730.4	8	265.6	52.1	4	818.5	147.3	46
3	Open	1898.4	181.2	41	1321.8	155.0	60	820.0	145.7	12	669.7	145.4	5
3	Open	1895.4	145.2	55	621.5	71.7	15	470.2	48.0	44	609.0	49.2	42
3	Open	2219.4	152.2	115	1407.9	130.8	52	41.1		1	988.0	186.9	19
3	Open	1570.7	97.3	109	1390.8	93.1	95	548.4	56.9	49	495.4	292.0	2
3	Open	1962.6	111.1	93	1925.5	210.9	42	243.0	35.3	41	339.0	77.6	57
3	Open	1419.6	101.0	100	1069.9	93.9	123	333.6	76.9	24	453.3	72.0	14
3	Open	1861.4	188.0	44	1199.3	197.3	34	110.6	125.9	2	726.8	62.1	112
3	Normal	2347.1	135.3	85	1777.5	169.5	12	1601.8	171.9	31	665.8	58.6	50
3	Normal	2090.4	403.9	16	2753.6	930.8	9	908.0	133.9	21	2735.9		1
3	Normal	2027.9	194.0	44	1974.9	159.8	4	1614.8	278.8	26	1282.7	731.6	6
3	Normal	1026.3	147.9	23	715.8	88.4	40	411.7	25.5	51	482.6	125.6	2
3	Normal	1735.8	164.2	51	1705.5	308.4	26	452.2	115.7	29	976.9	78.7	35
3	Deep	3195.0	1214.5	9	3655.6	487.1	9	404.7	101.6	141	761.7	451.7	25
3	Deep	2721.2	138.3	70	2169.9	521.7	12	1521.3	134.3	123	1206.8	256.8	30
3	Deep	4611.1	465.3	4	4249.8	461.7	19			0	1440.0	186.6	43

significantly ($P \leq .0004$). Only open bite and deepbite area means were significantly different ($P \leq .0044$). Tests for simple main effects in the class \times bite \times fiber-type interaction found that the bite \times fiber-type interaction was not significant in Class II patients ($P = .6621$) but was significant in Class III patients ($P \leq .0457$) (Fig 4, a).

For Class III patients, the differences among bite groups in area were significant only for type II ($P \leq .0024$) and type I/II hybrid ($P \leq .0024$) fiber types. Simple-simple main effects tests found that open bite

and normal bite patients differed significantly (both $P \leq .0014$) from deepbite patients on the type II fiber-type area means. Open bite and normal bite means for type II areas did not differ from each other ($P \geq .4030$) in these Class III patients. The type I/II hybrid fiber-type areas also differed significantly between open bite and deepbite Class III patients ($P \leq .0014$), and between normal bite and deepbite ($P \leq .0054$). Again, normal bite and open bite group means did not differ significantly for this fiber type ($P \geq .4730$).

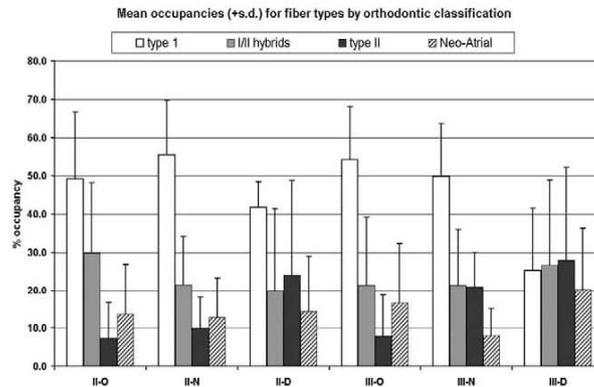


Fig 1. Mean percentages and standard deviations of total area of masseter sample occupied by each fiber class (“occupancy”) for 6 masseter subject groups. *II*, Angle Class II; *III*, Angle Class III; *O*, open vertical bite; *N*, normal bite; *D*, deepbite.

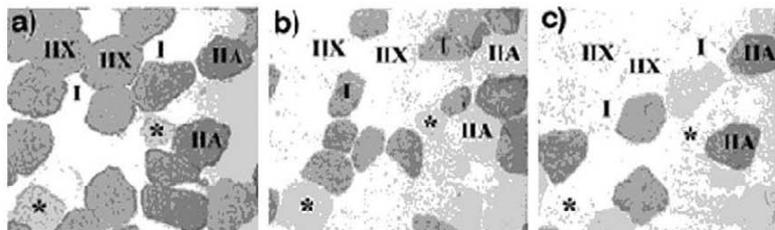


Fig 2. Immunostaining of serial sections of adductor magnus muscle biopsy. Panels show staining with **a**, anti-type II myosin, **b**, anti-type I, and **c**, anti-type IIA. Fiber types I, IIA, and IIX as labeled. *I/II hybrid fiber type.

The ANOVA results for percent occupancy were also highly significant for the main effect of fiber type ($P \leq .0004$) (Table II). A significant bite \times fiber-type interaction was also found ($P \leq .0164$) (Fig 4, *b*). No other effects in the model were significant ($P \geq .2964$).

The post hoc LSD tests for fiber-type percent occupancy differences found type I fibers to differ significantly from each of the other types ($P \leq .0014$). Type I/II hybrid fibers differed significantly from neonatal/atrial ($P \leq .0364$), and type II differed significantly from neonatal/atrial ($P \leq .0504$). Tests for simple main effects found that bite differences in percent occupancy occurred only within type II fibers ($P \leq .0006$). None of the other bite \times fiber-type differences was significant ($P \geq .1046$). Tests for simple-simple main effects found type II fiber percent occupancy to differ significantly between open bite and deepbite patients ($P \leq .0004$), and between normal bite and deepbite patients ($P \leq .0154$). Open bite and normal bite type II fibers did not differ on percent occupancy ($P \geq .1540$).

DISCUSSION

We investigated variations in skeletal muscle fiber type in orthognathic surgery subjects classified according to sagittal and vertical jaw relationships. In previous studies, we classified masseter fibers into 8 types according to variations in the type and amount of MyHC.¹⁰ In the present study, we categorized fibers into only 4 groups according to both MyHC composition and associated physiologic characteristics. Physiologic studies have shown that type I fibers have slow shortening velocities, whereas type II fibers have more rapid shortening velocities, and this applies to masseter as in other muscles. However, type II fibers in masseter muscle have a substantially smaller mean area than type I fibers and therefore produce substantially less force. Type I/II hybrids share features of both Classes I and II and possess physiologic capacity intermediate between the fast and slow fiber types.¹⁷ Finally, the neonatal/atrial type contains fibers with unusual motor protein expression, whose physiologic properties are not un-

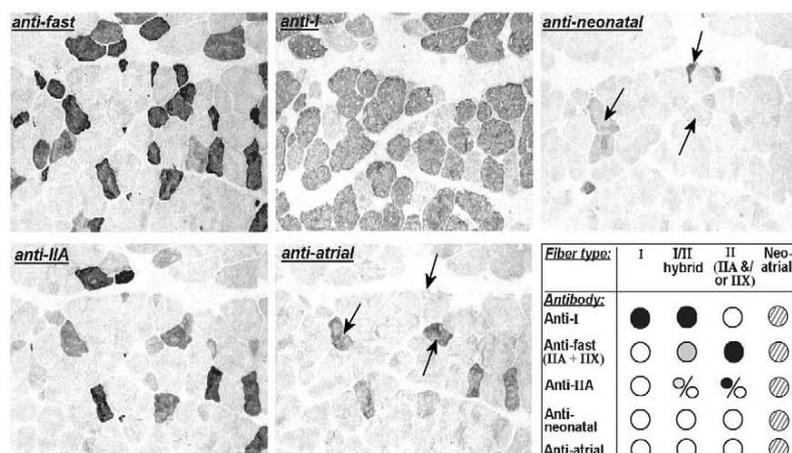


Fig 3. Immunostaining of serial sections of masseter muscle biopsy. Antimyosin antibodies used are named on each panel. *Lower right panel* shows staining profiles for type classification. *Arrows* indicate some fibers of neonatal/atrial category: note that their reactivity with type I and II antibodies is variable, but they must react with either anti-neonatal or anti-atrial antibody to be classified as neonatal/atrial fiber type.

Table II. Significance of interactions as determined by ANOVA

	Mean fiber areas	Percent occupancy, vertical dimension
Fiber type	$P \leq .0004$	$P \leq .0004$
Fiber type \times class	NS	NS
Fiber type \times bite	NS	$P \leq .0164$
Fiber type \times bite \times class*	$P \leq .0374$	NS

NS, Nonsignificant.

*Significance found for Class III subjects only.

derstood because they have not yet been examined at the single-fiber level.

We stratified the subjects by clinical diagnosis and surgical repositioning during treatment into 6 groups as either Class II or III with a vertical bite dimension of open, normal, or deep. Subject groups were compared in terms of variation in average cross-sectional area of fibers and the percent of total muscle sample composition (percent occupancy) of fiber type. All statistical comparisons of fiber types with each other, either for cross-sectional area or percent occupancy, were highly significant, indicating that the 4 fiber types identified in the study were distinct entities in masseter muscle. In comparing fiber-type area with the subject groups, there was a significant interaction between malocclusion class and vertical bite dimension, but this interaction was significant only for the Class III groups. However, differences in fiber-type percent occupancy were significant in the different vertical bite dimensions but not for malocclusion class. These results are summarized in

Table II. ANOVA produces significant findings when a group of values as a whole varies significantly, and the nature of the significant variances of our data is shown in Figure 4. To take Figure 4, *a*, as an example, some of the fiber types for a given vertical bite dimension seem to be very similar numerically but nonetheless are significantly different because it is the way in which all 4 fiber types, as a group, vary across the bite dimensions that produces the significance. Hence, this study demonstrated that vertical bite characteristics vary with the fiber-type composition of masseter muscle.

One constant feature of masseter muscle is the predominance of type I fibers: they have the largest mean area and often are the most numerous type. At normal vertical dimension, type I fibers occupy approximately half the tissue volume of masseter muscle and type II fibers only approximately 15%. In open-bite subjects, there is little difference in the size and occupancy of type I fibers, but the occupancy of type II fibers drops to approximately 8%, with an increase in hybrid fibers. In deepbite subjects, there are significant changes in percent composition of all 3 of these fiber types; that is, type I and hybrid fibers are substantially decreased in occupancy and type II fibers substantially increased in occupancy. The neonatal/atrial group typically occupies a modest area of masseter muscle. Although much speculation is possible regarding these variations, a striking observation is the nature of variation in the type II fiber group. In open-bite subjects, type II fibers occupy the smallest area of masseter muscle, but, at the other extreme, in deepbite subjects,

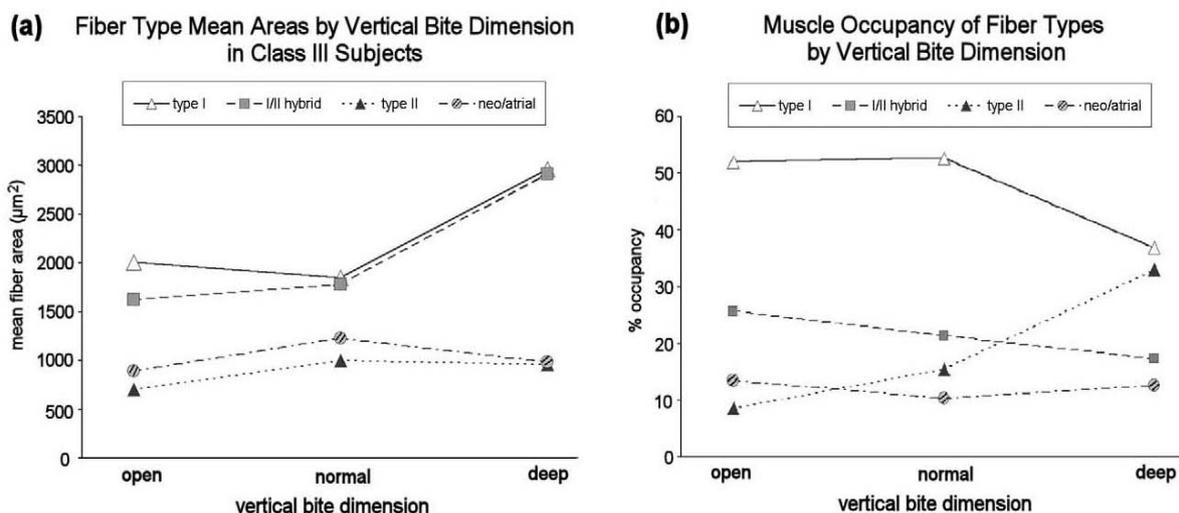


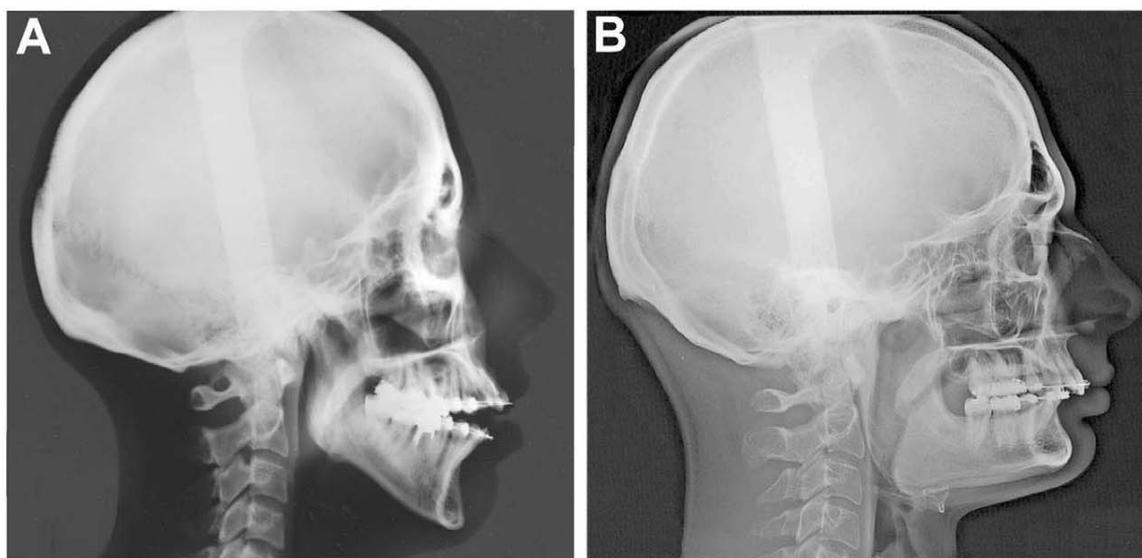
Fig 4. Significant interactions found by ANOVA test of significance. Mean fiber areas differed with vertical bite dimension and Angle classification for Class III subjects only (a). Muscle occupancy for fiber type was significant for vertical bite dimension (b) but not for Angle classification.

they are approximately equal in occupancy to the type I fibers. This is best illustrated in Figure 5, in which 2 subjects with rather severe open bite and deepbite are compared. Here the deepbite subject had approximately 50% greater type II fiber occupancy in masseter muscle. Our discussion of the impact of average fiber area to sagittal relationships was limited to Class III subjects because statistical results found significant interactions between bite dimension and fiber areas for only this subject class. Average fiber area for the type II fibers was smaller in deepbite than in Class III subjects with normal bite dimension, but the overall muscle occupancy was greatly increased, meaning that the type II fibers were more abundant. Class III open-bite subjects also had type II fibers of smaller fiber area, but the number of these fibers was small, making their occupancy in the muscle minimal. Type I/II hybrid fibers varied accordingly because, as the percent occupancy of type II fibers increased, that of the type I/II hybrids decreased.

This variation between type II and type I/II hybrid fibers is consistent with current understanding of myosin transitions in skeletal muscle. Fiber transitions from one type to another are common occurrences in development, altered function demands, disease, and aging.¹⁸ In limb muscles, these transitions might be in the direction of slow type or fast type fibers in the sequence of I ↔ I/IIA ↔ IIA ↔ IIA/IIX ↔ IIX.¹⁹ In this study, the transition has been simplified to I ↔ I/II ↔ II because we did not subclassify the type II fiber groups. In endurance training, as exemplified by extensive

treadmill running in animals, there is a transition toward type I fibers, with a greater resistance to fatigue.²⁰ Resistance training, which demands significant force production against a load over short periods of time, produces transitions to type II fibers, with increases in muscle mass and strength, but with greater susceptibility to fatigue.²¹ Inferring that similar adaptations occur in masseter muscle however, must take into account anatomic and functional differences. Resistance and endurance training studies usually describe changes in muscles of the upper or lower limb after extreme functional demands are placed on locomotion around a particular joint. The joint associated with masseter muscle is by no means simple and represents an articulation between 2 cartilaginous structures (the temporomandibular joints) and the dentition. Furthermore, humans are unlikely to engage in the same type of functional activities with their jaws that would lead to extreme transitions in fiber-type composition.

The finding that greater percentages of type II fibers are found in deepbite seems at first to be intuitive, but not all investigators have agreed with this association. A recent MRI study of masseter muscle has come to the opposite conclusion, that a possible increase in type I fibers is associated with a decrease in maxillary-to-mandibular divergence.¹⁴ MRI of muscle measures the relative amount of inorganic phosphate, phosphocreatine, and metabolically active forms of adenosine triphosphate. Variations in these metabolites reflect the metabolic nature of the muscle. When a muscle composed predominantly of type I fibers (the soleus muscle



Fiber Type Occupancy compared: an Open Bite and a Deep Bite Subject

Fiber Type:	I	I/II hybrid	II	neo-atrial
Subject A:	54.49%	42.53%	0.14%	2.84%
Subject B:	32.96%	8.99%	53.12%	4.92%

Fig 5. Lateral cephalograms of 2 representative subjects demonstrating extremes of vertical bite discrepancies in relation to fiber-type occupancy of their masseter muscle biopsies.

of the lower limb) is compared by MRI with other muscles of mixed-fiber composition, the soleus is found to have higher levels of inorganic phosphate. There are 2 main interpretations for this: it might indicate greater metabolic activity from cross-bridge cycling of myosin with actin, or it could be related to the much higher capacity for oxidative metabolism in type I fibers compared with type II in limb muscles. The finding that inorganic phosphate levels increase with decreases in maxillary-to-mandibular divergence thus might not mean that there is an increase in type I fibers¹⁴ but, rather, only that metabolic activity is increased or more oxidative.

The association of type I fibers with inorganic phosphate levels might be true for an archetypical slow muscle, the soleus, but might not hold true for highly adapted cranial muscles, such as the masseter. For example, a preliminary survey of 15 of our masseter samples showed a similarly high oxidative activity in all fibers, including type II, as shown by histochemical staining for the mitochondrial enzyme cytochrome

oxidase. Only a few of the smallest-diameter masseter fibers were low in cytochrome oxidase activity, whereas in the limb reference samples type II fibers always had lower cytochrome oxidase staining. This is consistent with previous studies in which a higher oxidative activity and capillarization of masticatory muscles compared with limb muscles in man was reported.^{22,23} Any hypothesis regarding the etiology of open bite or deepbite must take into account differences in fiber type, especially the presence or absence of unusually small-sized type II fibers. It is unlikely that the increased amounts of type II fibers we found in our deepbite subjects would lead to increased basal metabolic activity in masseter muscle. The findings of Al-Farra et al¹⁴ might also not apply to our results, because of differences in subjects. Our subjects were recruited from an orthognathic surgery population, whereas Al-Farra et al¹⁴ imaged healthy volunteers who apparently had no orthodontic problems.

Two other important attributes regarding masseter activity are data ascertained from electromyography -

(EMG) recordings and bite-force measurements. Bite-force transducers determine the amount of force muscles transfer to the dentition, and EMG determines the characteristics and amount of electrical activity used in generating the force in muscle fibers. A combined fiber-type analysis, EMG, and bite force study has not yet been conducted, and the associations between fiber-type content and bite force have been described only once previously.²⁴ Here, increases in the amount and size of type II fibers in masseter muscle were associated with increases in average bite force.

Others have looked at craniofacial dimensions and bite force but without ascertaining fiber-type content of muscle. Long-faced subjects have less of a mechanical advantage during biting than normally proportioned ones, because of their more obtuse gonial angle and subsequent jaw divergence at the occlusal plane.²⁵ Yet this does not seem to fully explain decreases in bite force associated with open bites. Long-faced and normally proportioned children produce similar bite forces, which approximate the typical bite force of long-faced adults,²⁶ but the normal children at maturity develop bite forces that nearly double from adolescent levels. The inability of long-faced subjects to develop normal bite forces in adulthood cannot therefore be attributed to differences in skeletal relationships. This factor and the association of variations of fiber type with bite force²⁶ are strong evidence that muscle tissue regulates force levels at the occlusal plane, regardless of facial pattern. In an individual patient, the final outcome of growth is determined by the balance between the different elements. One of these elements is muscle activity, and the results of our study are interesting because they show a link between a vertical growth disturbance and a particular muscle fiber-type composition. Further study of the associations between EMG activity, bite force, fiber-type content, and craniofacial morphology will be necessary to understand vertical development of the face.

We thank the late Dr Hugo Reyford (Lille), who initiated this study; it could not have started without his interest and input. We also thank Ms Tessa Garley and Mr M. A. Smith, FRCS (Guy's Hospital, London), for assistance in collecting the limb (reference) muscle samples; Professor Krivosic-Horber, for providing facilities for biopsy collection and handling in Lille; and the University of Pittsburgh faculty involved in the orthodontic classification of subjects: Drs Richard Doerfler, Robert Mortimer, Janet Robison, and Robert Robison.

REFERENCES

1. Sassouni V. A classification of skeletal facial types. *Am J Orthod* 1969;55:109-23.
2. Carlson DS. Craniofacial biology as "normal science." In: Johnston LE, editor. *New vistas in orthodontics*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1985. p. 12-37.
3. Carlson DS. Orthodontics for the next millennium: paradigms lost. In: Sachdeva RCL, editor. *Dallas: Great Impressions*; 1997. p. 21-5.
4. Proffit WR, Fields HW, Nixon WL. Occlusal forces in normal- and long-face adults. *J Dent Res* 1983;62:566-71.
5. Takada K, Lowe AA, Freund VK. Canonical correlations between masticatory muscle orientation and dentoskeletal morphology in children. *Am J Orthod* 1984;86:331-41.
6. Weijs WA, Hillen B. Relationships between masticatory muscle cross-section and skull shape. *J Dent Res* 1984;63:1154-7.
7. Benington PCM, Gardner JE, Hunt NP. Masseter muscle volume measured using ultrasonography and its relationship with facial morphology. *Eur J Orthod* 1999;21:659-70.
8. Hannam AG, Wood WW. Relationships between the size and special morphology of human masseter and medial pterygoid muscles. The craniofacial skeleton and jaw biomechanics. *Am J Phys Anthropol* 1989;80:429-45.
9. van Spronsen PH, Weijs WA, Valk J, Prah-Anderson B, van Ginkel FC. Relationships between jaw muscle cross-section and craniofacial morphology in normal adults, studied with magnetic resonance imaging. *Eur J Orthod* 1991;13:351-61.
10. Sciote JJ, Rowlerson AM, Hopper C, Hunt NP. A fiber type classification scheme for the human masseter muscle. *J Neurol Sci* 1994;126:15-24.
11. Ringqvist M. Histochemical enzyme profiles of fibres in human masseter muscles with special regard to fibres with intermediate myofibrillar ATPase reaction. *J Neurol Sci* 1971;18:133-41.
12. Ringqvist M, Ringqvist I, Thornell LE. Differentiation of fibres in human masseter, temporal and biceps brachii muscles. A histochemical study. *J Neurol Sci* 1977;32:265-73.
13. Ringqvist M. Isometric bite force and its relation to dimensions of the facial skeleton. *Acta Odontol Scand* 1973;31:35-42.
14. Al-Farra ET, Vandenborne K, Swift A, Ghafari J. Magnetic resonance spectroscopy of the masseter muscle in different facial morphological patterns. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001;120:427-34.
15. Aji Y, Kawamata A, Yoshida K, Sakuma S, Nawa H, Fujishita M, Aji E. Three-dimensional morphology of the masseter muscle in patients with mandibular prognathism. *Dentomaxillofac Radiol* 2000;29:113-8.
16. Sciote JJ, Rowlerson A. Skeletal fiber types and spindle distribution in limb and jaw muscles of the adult and neonatal opossum, *Monodelphis domestica*. *Anat Rec* 1998;251:548-62.
17. Morris TJ, Brandon CA, Horton MJ, Sciote JJ. Maximum shortening velocity and myosin heavy-chain isoform expression in human masseter fibers. *J Dent Res* 2001;80:1845-8.
18. Goldspink DF. The influence of contractile activity and nerve supply on muscle size and protein turnover. In: Pette D, editor. *Plasticity of muscle*. Berlin: de Gruyter; 1980. p. 525-39.
19. Schiaffino S, Reggiani C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1994;77:493-501.
20. Holloszy JO, Booth FW. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Ann Rev Physiol* 1976;38:273-91.
21. Gordon EEMS, Kowalski MA, Fritt M. Adaptations of muscle to various exercises. *JAMA* 1967;199:139-44.
22. Stål P, Eriksson P-O, Eriksson A, Thornell L-E. Enzyme-

- histochemical differences in fibre type between the human major and minor zygomatic and the first dorsal interosseus muscles. *Arch Oral Biol* 1987;32:833-41.
23. Stål P, Eriksson P-O, Thornell L-E. Differences in capillary supply between human oro-facial, masticatory and limb muscles. *J Muscle Res Cell Motil* 1996;17:183-97.
24. Ringqvist M. Fiber sizes of human masseter muscle in relation to bite force. *J Neurol Sci* 1973;19:297-305.
25. Throckmorton G, Finn R, Bell WH. Biomechanics of differences in lower face height. *Am J Orthod* 1980;77:410-20.
26. Proffit WR, Fields HW, Nixon WL. Occlusal forces in normal- and long-face children. *J Dent Res* 1983;62:571-4.

**Editors of the *International Journal of Orthodontia* (1915-1918),
International Journal of Orthodontia & Oral Surgery (1919-1921),
International Journal of Orthodontia, Oral Surgery and Radiography (1922-1932),
International Journal of Orthodontia and Dentistry of Children (1933-1935),
International Journal of Orthodontics and Oral Surgery (1936-1937), *American Journal of Orthodontics and Oral Surgery* (1938-1947), *American Journal of Orthodontics* (1948-1986), and *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* (1986-present)**

1915 to 1931 Martin Dewey
1931 to 1968 H. C. Pollock
1968 to 1978 B. F. Dewel
1978 to 1985 Wayne G. Watson
1985 to 2000 Thomas M. Graber
2000 to present David L. Turpin

Human Masseter Fiber Type and its Relation with Facial Morphology

Gwenaël Raoul; France; J. Sciotte; United States; A. Rowleron; United Kingdom; L. Stevens, J. Ferri; France

Objective

To study variations of human masseter phenotype with malocclusion.

Subject and Method

Masseter biopsies were performed on 180 subjects undergoing surgical treatment of malocclusion since 1997. Patients were classified in six craniofacial groups (Class II and III and open, normal, and deep bite). Immunostaining on myosins heavy chains with specific antibodies identified four fiber types (I, II, I/II hybrid, and neonatal/atrial) on 72 subjects. Mandibular sagittal classification (Class II–III) and vertical facial dimension (open, deep, or normal bite) were compared using a 2×3 multiple analysis of variance (MANOVA) on fiber type morphology and percent fiber type occupancy in muscle tissue.

Results

Muscle fiber morphology was significantly different for vertical facial dimension ($P = .045$) but not for sagittal classification (where a trend was evident but not significant at the 5% level) (Table 1). Deep bite appears to be associated with significant increase of type II fiber area, and open bite with significant decrease of type II fiber area.

Conclusion

Vertical facial dimension is significantly linked to masseter muscle phenotype, but sagittal dimension is not. Further analysis on 108 other cases may lead to significant results for sagittal classification.

Table 1 Vertical facial dimension and masseter muscle phenotype

	Type I (%)	Type II (%)	Type I/II hybrid (%)	Type neonatal/atrial (%)
Deep bite	39.48	18.41	28.39	14.43
Normal bite	53.63	10.88	25.27	10.21
Open bite	52.05	8.29	27.12	12.54

11.15 ANNEXE 15 ABSTRACT (J PHYSIOL)

48P

with a wide range of gas mixtures including air. Upon further investigation we found that gas bubbling resulted in the loss of $78\% \pm 1\%$ (mean \pm SEM, $n=4$) of 3H arachidonic acid from the bulk phase of solution within an hour. We suggest that this may be due to the amphiphatic nature of arachidonic acid favouring its redistribution to the air water interface aided by the passage of bubbles through solution.

By using a gas equilibration method which avoided bubbling induced loss of arachidonic acid from solution, we found mTREC-1 to be strongly activated by arachidonic acid under both normoxic and hypoxic conditions. Mean mTREC-1 current measured at 0 mV in the presence of 10 μ M arachidonic acid was 4.6 ± 1.2 nA in air equilibrated solutions and 4.7 ± 1.0 nA in hypoxic solutions ($P_2 < 4$ torr); both values were significantly ($P < 0.02$, paired Student's t test) greater than their respective control levels (0.37 ± 0.1 nA in air & 0.4 ± 0.1 nA in N_2 , $n=6$). Indeed hypoxia had no significant effect upon mTREC-1 currents under either control conditions or in the presence of arachidonic acid.

These data demonstrate that TREC-1 is strongly activated by arachidonic acid even under hypoxic conditions and thus support the proposed role for TREC-1 in ischemic neuroprotection. Miller P, Kemp PJ, Lewis A, Chapman CG, Meadows JJ & Peers C. (2003). *J. Physiol.* 548, 31-37.

Patel AJ & Honnoré E (2001) *Trends Neurosci.* 24, 339-346.

This work was funded by the British Heart Foundation and the CNRS.

Where applicable, the experiments described here conform with Physiological Society ethical requirements.

C93

Expression of myosin isoforms in masseter of human subjects with malocclusions

M. Horton¹, J.J. Sciote¹, J. Ferri², G. Raoul² and A. Rowleron³

¹Department of Orthodontics, School of Dental Medicine, Pittsburgh, PA, USA, ²Service de Stomatologie & Chirurgie Maxillofaciale, CHRU de Lille, Lille, France and ³Applied Biomedical Research, King's College London, London, UK

Samples are obtained from masseter of subjects undergoing orthognathic surgery for treatment of malocclusion, snap frozen for myosin immunostaining to identify fibre types and processed in parallel with samples of limb muscle taken from the margin of excised soft tissue tumours. Sample collection from consenting subjects was approved by the local Research Ethics Committees of Guy's Hospital (limb samples) and Lille (masseter). Cross-sectional areas of typed fibres (identified according to Sciote et al. 1994) are measured to work out their relative 'occupancy' (% area) of the biopsy and serial sections are collected for quantification of myosin heavy chain gene expression by RT-PCR using isoform-specific probes. Values of myosin message in each reaction are calculated as pg of amplified DNA per ng of internal 18S RNA, and the relative content of each individual MHC isoform RNA is obtained as a percent of the total of all myosin message in that sample. Malocclusion is diagnosed from sagittal (class I, II and III) and vertical dimensions (Open, Normal and Deep) from lateral cephalograms.

All corrections to abstracts must be emailed to proceedings@physoc.org, otherwise publication cannot be guaranteed.

The relative abundance of the mRNAs for each isoform was compared with an estimate of the corresponding myosin protein content obtained from the fiber type occupancy values, in the form of a simple ratio (protein:message). The Table shows mean ratios for masseter samples separately for the 9 different craniofacial groups and for the limb muscle samples.

Values are close to 1 for limb muscle samples, but show more mismatch in masseter samples where there is generally a 'deficit' of type I message (ratios greater than 1) and a very variable 'excess' of message for neonatal and atrial isoforms in most cases. We conclude that in subjects with malocclusion, translational control of myosin expression is different in masseter muscle compared with limb muscles.

Protein: mRNA (p:m) ratios (s.e.m.) for myosin heavy chain isoform

Malocclusion	n	type I ratio p:m	type IIa + IIx ratio p:m	neonatal ratio p:m	atrial ratio p:m
I-open	1	1.6	0.5	2.46	0.49
I-normal	3	1.69±0.55	0.76±0.16	0.01±0.01	0.56±0.33
I-deep	1	7.45	0.41	0.78	0.09
II-open	8	1.12±0.08	2.17±0.51	0.18±0.07	0.63±0.26
II-normal	4	1.43±0.29	0.90±0.31	0.06±0.04	1.0±0.63
II-deep	5	1.43±0.28	1.16±0.35	0.37±0.2	0.51±0.22
III-open	4	1.13±0.11	0.92±0.17	0.34±0.19	0.67±0.48
III-normal	4	1.49±0.11	1.12±0.22	0.05±0.05	0.52±0.2
III-deep	1	1.45	1.28	#	0.54
limb	6	0.91±0.13	1.32±0.18	~	~

#Message present but no protein; ~neither message nor protein.

Sciote et al. (1994). *J. Neurol. Sci.* 126, 15-24.

Where applicable, the experiments described here conform with Physiological Society ethical requirements.

C94

The use of *in vivo* microdialysis to detect reactive oxygen species (ROS) in skeletal muscle extracellular fluid

G.L. Close, T. Ashton, A. McArdle and M.J. Jackson

School of Clinical Sciences, University of Liverpool, Liverpool, UK

To allow differentiation between the pathological and physiological role that ROS play in skeletal muscle, it is essential to identify and quantify these species. We have previously demonstrated increased superoxide ($O_2^{\cdot-}$) and hydroxyl ($\cdot OH$) production in muscle extracellular space during exercise (McArdle *et al.*, 2001;2004). These methods involved the assumption that $O_2^{\cdot-}$ reduces cytochrome c (CC) and that $\cdot OH$ causes the hydroxylation of salicylate; however, nitric oxide (NO) and peroxynitrite ($ONOO^{\cdot}$) may also contribute to these processes (Murrant and Reid, 2001). This study examined the effects of specific ROS inhibitors on the reduction of CC and hydroxylation of salicylate *in vivo* using microdialysis.

24 male C57Bl/6 mice were allocated into 4 groups. Group 1 received an IV injection of 50mg/kg b.wt of the NO synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME). Group 2 received 10mg/kg of the iron chelator desferrioxamine mesylate (desferal) which prevents the formation of $\cdot OH$ via Fenton chemistry, and group 3 received 5,000U/kg superoxide dismutase (SOD), which catalyses the dismutation of $O_2^{\cdot-}$, both by IP

2642 Cephalometric Measurements are Predictive of Masseter Muscle Fiber Type Characteristics

[L. VECCHIONE](#)¹, J. SCIOTE¹, G. RAOUL², J. CLOSE¹, A. ROWLERSON³, and J. FERRI², ¹University of Pittsburgh, PA, USA, ²University of Lille, France, ³Kings College, London, United Kingdom

Objective: This study examined the relationship between fiber type composition of masseter muscle and selected cephalometric measurements to determine the influence of muscle characteristics on facial morphology. Methods: Masseter biopsies were obtained in 31 subjects undergoing surgical correction of malocclusion. Four fiber types (type I, type I/II hybrids, type II and type neonatal/atrial) were identified from immunostaining of biopsy sections with myosin antibodies, and the mean area of the fiber types and the percent muscle composition for each fiber type (percent occupancy) were determined. Seventeen measurements of sagittal and vertical facial dimension were made utilizing cephalometric analysis software. A multiple regression analysis was used to define the best set of cephalometric predictors for mean fiber area and percent occupancy. Results: Of the 17 cephalometric measures 11 were found to be significantly ($p < .05$) predictive of fiber type area or percent occupancy in masseter muscle. These measurements were distributed among sagittal (S), vertical (V) or sagittal and vertical (S + V) dimensions. (shown below) Vertical cephalometric measurements were more predictive of fiber types and mean fiber areas correlated more closely with cephalometric measurements than fiber type percent occupancy. The most common predictor of fiber type, obtaining significance five times, was the measure Frankfort horizontal to the sella nasion plane. Conclusion: Fiber type composition of masseter is related to vertical and sagittal aspects of facial morphology.

	Mean area	S	V	S + V	% occupancy	S	V	S + V
I		1	5	1		0	1	0
I/II		2	2	1		0	0	0
II		1	3	1		0	3	0
Neo/Atrial		0	1	0		0	0	0

[IADR/AADR/CADR 82nd General Session \(March 10-13, 2004\)](#)

2502 Masseter Muscle and Facial Type Variations Characterize Orthodontic Diagnosis

[J. SCHUCHERT](#)¹, L. VECCHIONE¹, J. SCIOTE¹, J. CLOSE¹, M. ROWLERSON², and J. FERRI³, ¹University of Pittsburgh, PA, USA, ²King's College London, England, ³University of Lille, France

Objectives: This study investigated the relationship between masseter muscle phenotype and facial form in 120 subjects undergoing orthognathic surgery.

Methods: Four fiber types were identified after immunostaining of biopsy sections with myosin heavy chain specific antibodies, and the average occupancy area for each fiber type was determined in each of 6 subject groups (class II or class III and open, normal or deep bite). A 2 x 3 x 4 ANOVA was used to determine significant differences between mean areas for fiber types, vertical relationships and sagittal relationships.

Results: There were significant differences in percent occupancy of fiber types in masseter muscle in bite groups with different vertical dimensions. 16 cephalometric measurements were also used to determine how facial morphology varied in the 6 subject groups. The cephalometric data was analyzed using a multivariant analysis of variance for a 2X3 between cases design. The main effect for class was significant at $p=.004$. A significant bite by class interaction was also found ($p=.0004$). Post hoc ANOVAS were used to test for significant mean differences for each of the 16 cephalometric measurements. 10 were significant for class ($p<.0200$) and 8 for vertical dimension ($p<.0004$).

Conclusions: Hence, morphology of the facial skeleton and masseter muscle phenotype were significantly different in each subject group.

[IADR/AADR/CADR 83rd General Session \(March 9-12, 2005\)](#)

0225 Masseter Muscle Fiber Types Vary With Facial Morphology

[J. SCIOTE](#)¹, G. RAOUL², A. ROWLERSON³, J. FERRI², and J. CLOSE¹, ¹University of Pittsburgh, PA, USA, ²University of Lille, France, ³Kings College, London, United Kingdom

Objectives: This study characterized fiber type composition of masseter muscle to determine the extent to which fiber type composition of a jaw-closing muscle varies with or modifies facial growth.

Methods: Masseter biopsies were obtained on 44 subjects during surgical correction of severe malocclusion. Four fiber types were identified after immunostaining of biopsy sections with myosin heavy chain specific antibodies, and the mean area of the fiber types and fiber number were determined in each of 6 subject groups (class II or class III and open, normal or deep bite). In addition, percent occupancy of biopsy for each fiber type was calculated from mean fiber area and fiber number data. ANOVAs for a 2 x 3 x 4 mixed between-within design were used to determine significant differences between mean areas for fiber types, vertical relationships and sagittal relationships.

Results: The ANOVA using the area measure as the dependent variable resulted in significant main effects for bite ($p=0.0134$) and fiber type ($p=0.0004$), and a significant class by bite by fiber type interaction ($p=0.0374$) for the class III group.

Mean percentage occupancies of open, normal and deep bite biopsies respectively for each fiber type were – type I: 52.04%, 52.67%, 36.93%; type II: 8.62%, 15.48%, 33.02%; type I/II hybrid: 25.77%, 21.445, 17.38%; neonatal/atrial: 13.58%, 10.40%, 12.68%. There were significant differences in percent occupancy for all the fiber types in bite groups with different vertical dimensions. Type I fiber occupancy was greater in open and normal bites and type II fibers in the deep bites. The fiber type with cardiac and developmental myosins (neonatal/atrial) varied little with facial type.

Conclusions: We conclude that masseter muscle fiber type composition varies with craniofacial morphology, and that in this subject population the relation with vertical bite

characteristics was stronger than with sagittal characteristics.

[IADR/AADR/CADR 82nd General Session \(March 10-13, 2004\)](#)

0027 Skeletal Muscle Fiber Types Vary with Malocclusion: A Case Report from a Severe Class III Malocclusion

[J. SCIOTE](#), University of Pittsburgh, PA, USA

A long-standing physiologic question in orthodontics is to what extent fiber type content of masticatory muscles varies with craniofacial morphology.

Objective: To determine, in the case of a middle aged male who underwent surgical correction of a severe class III malocclusion, if the fiber type composition of masseter muscle is significantly different in comparison to a group of 40 subjects undergoing orthognathic surgery for treatment of less severe malocclusions (a mixed population of class II, class III, open bite and deep bite morphologies).

Methods: *Orthodontic diagnosis:* The subject was characterized as a severe class III malocclusion using the McNamara cephalometric analysis and Grummons frontal analysis. Craniofacial morphometric data for fiber types in the comparison group have been presented previously in an abstract.¹ *Fiber type analysis:* Masseter tissue biopsies were excised during surgical repositioning of the mandible. From serial sections fiber type and average area were determined by immunohistochemical staining and morphometric analysis.¹ Fiber type classes were condensed into the following groups: type I – containing type I myosin heavy chain (MHC), type II – IIA and/or IIX MHC, type I/II hybrid fibers – I and IIA or IIX, and type neonatal/atrial – neonatal and/or α cardiac MHC in addition to other myosins.

Results: For our subject all four fiber type classes were notably larger. The mean fiber area (μm^2) for comparison group vs. the case subject was as follows:

	Type I	Type II	Type I/II hybrid	Type neo/atrial
Subject	4,611.1 μm^2	5,828.03	4,162.16	1,439.99
Control group	2,167.7 μm^2	784.97	1,592.53	923.21

Conclusion: This report demonstrates that fiber type differences vary in accordance with the severity of malocclusion.

1. Daniel Y, Ferri J, Krivosic-Horber R, McDonald F, Raoul G, the late H. Reyford, Rowlerson A. Masseter muscle fiber types in relation to craniofacial form. J Physiol 2001;531:154-155P.

[81st General Session of the International Association for Dental Research \(June 25-28, 2003\)](#)

<http://iadr.confex.com/iadr/2004Hawaii/techprogram/index.html>

12 RESUME SUBSTANCIEL

PLASTICITE DU MASSETER HUMAIN : RELATION ENTRE LES CHAINES LOURDES DE MYOSINE ET LA DYSMORPHOSE DENTO-MAXILLO-FACIALE

OBJECTIFS :

Notre objectif est l'étude des variations entre la malocclusion et le phénotype du muscle masséter humain. Nous sommes partis de l'hypothèse qu'une relation existe entre la dysmorphose dentomaxillofaciale et le phénotype musculaire.

MATERIEL ET METHODE :

Des recueils de masséter ont été réalisées sur 161 sujets ayant bénéficié d'un traitement chirurgical de leur malocclusion depuis 1996. Les prélèvements ont intéressé les 161 patients du côté gauche et également le côté droit de ces mêmes patients dans 36 cas.

Données cliniques et radiologiques

Les 161 patients ont été répartis en différents groupes selon l'analyse céphalométrique de Delaire informatisée :

La classe squelettique selon la classification d'Angle (Classe III ou II)

La dimension verticale antérieure (Open, Normal ou Deep)-bite

La prédisposition basicrânienne (Ortho, Cis ou Trans)-frontal

La position absolue de la mandibule par rapport à la base du crâne (Pro, Normo ou Rétro)-mandibulie.

L'existence d'une latéro-déviatation mandibulaire a été notée,

Le nombre de contacts dentaires présents pour chaque patient.

Le groupe complémentaire de 36 patients a été séparé en latéro-dévié ou non.

Electrophorèse des protéines et western-blot

Sur 28 échantillons, après extraction nous avons réalisé une électrophorèse des chaînes lourdes de myosine selon la technique SDS-PAGE et coloration à l'argent. Des transferts sur membrane de nitrocellulose ont permis de réaliser des western-blots afin de situer précisément le niveau de migration des différentes isoformes de chaînes lourdes de myosine

contenues dans les prélèvements (MHC-Slow, SC-71, BF-34, My-32, NCL-DEV). Ces anticorps permettent l'identification des différentes bandes (MHC type I - IIa - IIx) et la recherche des bandes Néonatale, Atriale et embryonnaire. La quantification des bandes repérées sur le gel a été obtenue par étude de la densité optique à l'aide de la suite biorad.

Immunomarquage sur coupes

Sur 197 prélèvements (côté gauche 161 et côté droit 36), l'immunomarquage des chaînes lourdes de myosine est réalisé à partir de 5 anticorps spécifiques (My-32, BA-F8, SC-71, MAS-366, Antinéonatal) permettant d'identifier les 8 types de fibres décrits dans le masséter humain (I, IM, IIC, IIA, IIX, Néonatal, Atrial, Autres) regroupées en 4 (I, Hybride, II, NéoAtrial). Pour chaque patient, nous avons obtenu : le pourcentage de composition en fibres de type I, Hybride, II et NéoAtrial, ainsi que la surface moyenne d'une fibre de chaque catégorie.

Etude statistique

Un test de Student apparié et de Wilcoxon ont été réalisés afin de comparer les données quantitatives de la composition en isoformes des 28 échantillons selon l'immunomarquage et l'électrophorèse.

Un test de Wilcoxon apparié a été réalisé pour la comparaison des deux côtés chez les patients déviés et non déviés, portant sur le pourcentage et la surface moyenne de chaque fibre.

Un test d'ANOVA (Sum of square III) complété de Bonferroni (Dunn) a été pratiqué à la recherche de relations et interactions entre le pourcentage ou la surface de chaque type de fibre et les différents groupes de patients ([Classe] X [bite] ; [frontalité] X [mandibulie] ; [Classe]X[mandibulie] ; [contact dentaire]).

RESULTATS :

La comparaison entre les résultats de l'électrophorèse et de l'immunomarquage n'a pas retrouvé de différence, ce qui valide les deux techniques et la faible variation intrinsèque au sein du prélèvement.

La comparaison entre les patients déviés et non-dévié a conduit à une absence de différence entre les deux côtés chez les patients non-déviés et une différence significative du côté homolatéral à la déviation chez les patients déviés en termes de pourcentage de fibres de type II ($p=0,0286$). Le pourcentage de fibres de type II est plus élevé du côté de la déviation donc du côté le plus court.

Le morphotype Deepbite toutes classes confondues apparait significativement associé à une élévation du pourcentage de fibres de type II ($p=0,0073$) d'autant plus qu'il s'agit d'une classe III ($p=0,0001$). Le morphotype deepbite est également associé à une baisse de la surface moyenne d'une fibre NéoAtriale ($p=0,0401$).

Le morphotype classe II apparait associé à une augmentation du pourcentage de fibres hybrides ($p=0,0419$) et une baisse du pourcentage de fibres de type II ($p=0,0234$) par rapport à la classe III.

La position absolue de la mandibule par rapport à la base du crâne apparait relié au pourcentage ($p=0,0023$) et la surface moyenne ($p=0,0387$) des fibres de type Hybride selon une augmentation des deux paramètres dans les pro et rétro-mandibulie, et une baisse des deux paramètres dans les normo-mandibulie.

CONCLUSION :

Nous avons partiellement identifié la position de la bande néonatale. D'autres essais doivent être entrepris pour confirmer ce résultat et localiser la bande Atriale.

L'électrophorèse et l'immunomarquage fournissent des résultats concordants.

La hauteur faciale et la latérodéviation sont étroitement liés au pourcentage de fibres de type II et à la surface moyenne des fibres NéoAtriales.

La position sagittale de la mandibule apparait étroitement liée au pourcentage et la surface moyenne des fibres hybrides, et dans une moindre mesure au pourcentage de fibres de type II.

Ces résultats obtenus sur un échantillon de 161 doivent être confirmés et complétés par le reste de la population en cours d'étude afin d'obtenir 230 patients.

Mots clés : Chaînes lourdes de myosine, Masséter, Humain, SDS-PAGE, Malocclusion, Western-blot, Immunomarquage, Analyse de variance.

Mots clés RAMEAU : Physiologie humaine ; Muscle masséter – prélèvement ; Protéines des myofilaments ; Myosine ; Malocclusion dentaire ; Protéines – électrophorèse ; Buvardage de western ; Immunocytochimie ; Analyse de variance.

13SUMMARY

HUMAN MASSETER PLASTICITY: MYOSIN HEAVY CHAINS ISOFORMS MAY VARY WITH MALOCCLUSIONS

OBJECTIVE:

Study variations of human masseter phenotype with malocclusion. We suppose there is a relationship between masseter phenotype and craniofacial morphology.

SUBJECT AND METHOD:

Masseter samples were retrieved on 161 subjects undergoing surgical treatment of malocclusion since 1996. 161 patients had samples on left side and 36 of them on the right side too.

Clinical and radiological data

Patients were classified according to computer-assisted cephalometric analysis from Delaire

Angle class (Class II and Class III)

Anterior facial height (Open, Normal, Deep)-bite

Skull base trend (Ortho, Cis, Trans)-frontalité

Mandibular position according to skull base (Retro, Normo, Pro)–mandibulie

Mandibular latero-deviation

Dental contact

The 36 patients with both side samples are shared them as deviated or not.

Myosin heavy chain electrophoresis and western-blot

SDS-PAGE was performed on 28 biopsies after extraction and silver staining

Five antibodies (MHC-Slow, SC-71, BF-34, My-32, NCL-DEV) were incubated to locate type I, IIa, IIx, atrial, embryonic and neonatal isoforms. Quantification of each isoform was obtained by using biorad system.

Immunostaining

Immunostaining was performed on section for the 161 patients with myosins heavy chains specific antibodies (My-32, BA-F8, SC-71, MAS-366, Antineonatal) and permitted to identify 8 fibers type present in the human masseter (I, IM, IIC, IIA, IIX, Neonatal, Atrial, Other). We merged into 4 fibers types (I, Hybride,II, NéoAtrial). For each fiber type we obtained percent occupancy and mean area.

Statistics

Student and Wilcoxon tests were used to compare 28 results electrophoresis and immunostaining.

Wilcoxon test was performed to compare 36 deviated and non-deviated patients according to percent and mean area for each fiber type.

ANOVA test (Sum of square III) and Bonferroni (Dunn) were done to find out relationship between percent and mean area of each fiber type versus radiological classification ([Classe] X [bite] ; [frontalité] X [mandibulie] ; [Classe]X[mandibulie] ; [contact dentaire]).

RESULTS:

Electrophoresis and immunostaining gave same results concerning type I and Type II levels.

Deviated patients were associated to significant increase of type II fiber ($p=0,0286$) on the same side as the deviation (shorter one).

Deep bite is significantly associated with increase of type II fibers ($p=0,0073$), and if considering only class III patients significant level increases ($p=0,0001$). Deep bite is associated to decrease of NeoAtrial mean area ($p=0,0401$).

Class II is significantly associated to hybrid fibers increase ($p=0,0419$) and decrease of type II ($p=0,0234$) as compared with Class III.

Mandibular position according to skull base trend is associated to increase of percent ($p=0,0023$) and mean area ($p=0,0387$) of hybrid fibers in case of pro or retro-mandibulie.

CONCLUSION:

Western-blot partially identified neonatal location on gels, but further works must confirm and find out atrial.

Electrophoresis and immunostaining gave same results.

Facial vertical dimension and mandibular deviation is significantly linked to type II fibers percentage and NeoAtrial mean.

Saggital mandibular position is linked to mean and percent of hybrid fibers, and partially to type II fibers.

Results were obtained over 161 samples and may go further until 230 to complete.

Keywords : Myosin heavy chains; Masseter muscle; Human; Malocclusion; SDS-PAGE; Blotting, western; immunohistochemistry; Analysis of variance.