

LE CONTROLE DU PHENOTYPE MUSCULAIRE



AWEDE¹ Bonaventure, LALEYE² Anatole et ALAO³ Jules

1. Unité de physiologie, 2. Unité de Biologie Humaine et 3. Unité de Pédiatrie et de Génétique médicale,

Faculté des Sciences de la Santé, Université d'Abomey-Calavi, République du Bénin

Correspondance : Bonaventure AWEDE Unité de physiologie Faculté des Sciences de la Santé Université d'Abomey-Calavi

01 Boîte Postale 188 Cotonou, BENIN Adresse électronique : Bonawed@yahoo.com

RESUME

Les muscles squelettiques sont spécialisés pour répondre avec efficacité à des types d'activité donnés. Ils sont donc constitués de différentes proportions de types de fibre, types de fibre définis sur la base de leurs propriétés contractiles, des enzymes du métabolisme énergétiques et des isoformes des protéines contractiles qu'elles expriment. Soumis à des modifications de demandes fonctionnelles ou de conditions environnementales, le muscle squelettique est doué d'une plasticité qui lui permet de changer sa composition en types de fibre pour s'adapter aux nouvelles conditions. Cette adaptation va mettre en jeu un contrôle de la transcription des gènes spécifiques des types de fibres faisant intervenir les facteurs myogéniques. Il est admis actuellement que l'expression des gènes spécifiques des fibres lentes, est sous le contrôle des voies de signalisation dépendant du calcium impliquant la calcineurine, la protéine kinase calcium calmoduline dépendante, CaMKIV et les facteurs de transcription NFAT et MEF-2. La CaMK II dont l'activation peut être indépendante du calcium, et les éléments du système IGF-IGFBPs sont également à prendre en considération dans le contrôle du phénotype musculaire.

Mots clés : type de fibre, changement de phénotype, calcineurine-NFAT, CaMK, facteurs myogéniques

ABSTRACT

Skeletal muscles are specialized to respond with efficiency to given ranges of activity. Each skeletal muscle is thus composed of a given proportion of different fiber types. This composition in fiber types is not irreversibly established. When changes in functional demands or in environmental conditions occur, skeletal muscle is able to change its phenotype in order to adapt to the new conditions. This adaptation involves transcriptional control of muscle specific genes expression. It is established that expression of slow fibers specific genes, in response to sustained activity, is under the control of calcium dependant signaling pathways involving calcineurin, calcium calmodulin dependant protein kinase IV (CaMKIV) and transcription factors such as nuclear factor of T activated cell (NFAT) and myocyte-specific enhancer binding factor (MEF-2). CaMKII, which activity can be independant of calcium, and members of IGF-IGFBPs system, could also play a role in the control of muscle phenotype.

Key Words: fiber type, phenotype change, calcineurin-NFAT, CaMK, myogenic factors

INTRODUCTION

Les muscles squelettiques, par leur contraction, produisent de la force et permettent les différents mouvements du corps. Ils sont amenés à couvrir une large gamme de demandes fonctionnelles. Ainsi certains muscles, appelés muscles à secousse lente, maintiennent une activité soutenue de façon continue alors que d'autres, les muscles à secousse rapide, sont impliqués dans des activités phasiques.

Pour répondre avec efficacité aux différents niveaux de demandes fonctionnelles, chaque cellule ou fibre musculaire exprime de façon spécifique, les différentes protéines majeures impliquées dans les différents aspects de la contraction musculaire. La nature des isoformes

des protéines myofibrillaires exprimées, en association aux propriétés enzymatiques des fibres et à leurs propriétés mécaniques définissent le type de fibre musculaire. Chaque muscle squelettique, en fonction de sa gamme d'activité est composé d'une proportion donnée de différents types de fibre si bien qu'une grande diversité est observée au sein des muscles squelettiques. Le terme phénotype musculaire est utilisé ici pour désigner la composition en types de fibre d'un muscle squelettique donné.

La diversité observée au sein des muscles squelettiques qui est le reflet de leur degré élevé de spécialisation fonctionnelle est à la base de la plasticité musculaire, une autre

caractéristique des muscles squelettiques. En effet au cours de la maturation, les changements dans les conditions environnementales interagissent avec le programme de développement et modulent le phénotype musculaire. En plus, quand des changements hormonaux ou des changements de demandes fonctionnelles surviennent en dehors de la gamme d'activité dédiée, un muscle complètement différencié est capable de s'adapter aux nouvelles conditions non seulement en modifiant sa masse mais aussi en changeant sa composition en types de fibre.

Dans cette revue il sera abordé successivement, la classification en différents types de fibres, les facteurs qui entraînent des changements de phénotype musculaire puis le point sur les mécanismes moléculaires qui en sont responsables.

Les types de fibres musculaires squelettiques

Le muscle squelettique est composé de fibres musculaires disposées plus ou moins en parallèle entre les extrémités tendineuses. Chaque fibre musculaire est une cellule plurinucléée, de configuration allongée, entourée d'une membrane cellulaire : le sarcolemme. La fibre musculaire est faite de myofibrilles qui sont composées de filaments individuels. Les protéines myofibrillaires spécialement la myosine, l'actine, la troponine et la tropomyosine sont responsables de la fonction contractile du muscle.

La **myosine** est une molécule composée de deux chaînes lourdes (MHC) et de quatre chaînes légères, chaque chaîne lourde étant associée à deux chaînes légères, une essentielle (LC1) et une régulatrice (LC2). Il existe plusieurs isoformes de chaînes lourdes et chacune d'entre elles est codée par un gène différent. Les différentes isoformes de chaînes légères sont elles aussi codées par des gènes différents à l'exception des isoformes rapides MLC1f et MLC3f qui sont générées à partir du même gène par épissage différentielle (Schiaffino and Reggiani, 1994, 1996). L'une des propriétés essentielles de la molécule de myosine est qu'elle est douée d'une activité enzymatique lui permettant de catalyser l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP).

Les molécules **d'actine** sont globulaires (actine G) et s'associent en filaments (actine F) ayant la forme d'une double hélice (Schiaffino and Reggiani, 1996). L'interaction entre les

filaments d'actine et de myosine, avec la formation de ponts acto-myosine, augmente de façon importante l'activité enzymatique adénosine triphosphatase de la myosine et conduit à la production de force et de mouvement couplés à l'hydrolyse de l'ATP. Cette interaction entre l'actine et la myosine est contrôlée par les protéines régulatrices que sont la tropomyosine et le complexe troponine (Schiaffino and Reggiani, 1996, Gordon et al. 2000).

La **tropomyosine** est une protéine dimérique allongée formant un filament ayant la forme d'une hélice qui s'étend dans le sillon majeur du filament d'actine. Chaque dimère de tropomyosine s'étend sur sept monomères d'actine.

Le **complexe troponine** est formée de trois sous-unités : la troponine C (TnC), la sous-unité qui lie le calcium, la troponine I (TnI), la sous-unité inhibitrice et la troponine T (TnT), la sous-unité qui se lie à la tropomyosine. Chaque complexe troponine se lie à une molécule d'actine, à chaque intervalle de 7 monomères d'actine. Ces protéines régulatrices existent elles aussi sous différentes isoformes.

Le contrôle de l'interaction entre l'actine et la myosine par le complexe troponine-tropomyosine dépend de la concentration cytosolique de **calcium**.

Lorsque la concentration cytosolique de calcium est basse, le site de liaison de la myosine sur la molécule d'actine est occupé par la molécule de tropomyosine qui est maintenu dans sa position par le complexe troponine.

Lorsque la concentration cytosolique de calcium augmente, le calcium se lie à la troponine C, renforce la liaison TnC-TnI et affaiblit la liaison de la troponine I à l'actine. Il en résulte un dégagement de la tropomyosine de sa position rendant accessible le site de liaison de la myosine sur l'actine.

Dans les muscles squelettiques, l'augmentation de la concentration cytosolique de calcium provient essentiellement de sa libération du réticulum sarcoplasmique à travers les canaux calciques (récepteurs à la ryanodine) alors que sa diminution est due principalement à la récupération du calcium dans le réticulum sarcoplasmique par la pompe calcique de réticulum appelée SERCA (en anglais sarco(endo)plasmic reticulum calcium ATPase).

Selon la demande fonctionnelle, chaque fibre musculaire va exprimer des isoformes spécifi-

ques de protéines myofibrillaires associées à l'expression spécifique d'enzymes du métabolisme intermédiaire et de protéines impliquées dans l'homéostasie calcique. La détermination du type de fibre est basée sur l'identification de ces systèmes de protéines en plus des propriétés mécaniques des fibres.

Ainsi sur la base des propriétés contractiles des muscles, deux types de fibres ont été distingués : les fibres à secousse lente et les fibres à secousse rapide.

Deux critères histologiques, l'un basé sur le contenu en enzymes métaboliques et l'autre basé sur l'activité adénosine triphosphatase de la myosine en milieu acide et ou alcalin, ont conduit à la classification en **trois types de fibres** : les fibres oxydatives à secousse lente (fibres de type I avec activité ATPase stable à pH acide), les fibres oxydatives à secousse rapide (fibres de type IIA avec activité ATPase stable à pH alcalin) et les fibres glycolytiques à secousse rapide (fibres de type IIB avec activité ATPase stable à pH acide et à pH alcalin), (Sréter et al. 1966, Seidel 1967, Bårány 1967, Guth et Samaha 1969, Barnard 1971)

Des études utilisant l'électrophorèse sur gel de SDS-polyacrylamide ont révélé l'existence de différentes isoformes de myosine (d'Albis and Gratzer 1973, d'Albis et al. 1979, Hoh et al.

1976). L'immunohistochimie, par l'utilisation d'anticorps anti-myosine, a conduit à l'identification de ces isoformes de myosine et a permis de faire la corrélation entre la coloration sur base de l'activité ATPase et le contenu des fibres en isoforme de myosine (Termin et al. 1989, Schiaffino et al. 1989, Gorza 1980, Sant'ana Pereira et al. 1995).

Dans les muscles squelettiques adultes, on distingue, en fonction du contenu en myosine quatre types de fibres : I, IIA, IIX, IIB exprimant respectivement les isoformes de myosines 1, 2a, 2x, 2b (Schiaffino et al. 1989, Schiaffino and Reggiani, 1994, 1996). En plus de ces isoformes de myosine, d'autres isoformes ont été identifiées : embryonnaire, néonatale, et des isoformes exprimées spécifiquement dans des muscles spécialisés comme les muscles extraoculaires. Parfois une fibre musculaire donnée peut exprimer plus d'une isoforme de myosine réalisant ainsi une fibre mixte.

Les principaux types de fibre et leurs caractéristiques sont résumés au tableau 1. Le tableau indique les propriétés contractiles, le contenu en enzymes du métabolisme, les isoformes de myosine et de pompe calcique du réticulum sarcoplasmique (SERCA) qui différencient ces principaux types de fibres.

Tableau 1 : Les principaux types de fibres dans les muscles squelettiques adultes de rongeurs

ATPase type	I		IIA			IIX			IIB			
Vitesse de raccourcissement	+		++			+++			++++			
Résistance à la Fatigue	++++		+++			++			+			
enzymes glycolytiques	+		++			+++			++++			
Enzymes Oxydative	++++		+++			++			+			
MHC	1		2a			2x			2b			
Myosines Native	SM2	SM1	IM	FM3	FM2	FM1	FM3	FM2	FM1	FM3	FM2	FM1
MLC	1s1s 2s2s	1s1f 2s2s	1s1f 2f2f	1f1f 2f2f	3f1f 2f2f	3f3f 2f2f	1f1f 2f2f	3f1f 2f2f	3f3f 2f2f	1f1f 2f2f	3f1f 2f2f	3f3f 2f2f
SERCA	SERCA 2a		SERCA 1a			SERCA 1a			SERCA 1a			

MHC : chaîne lourde de myosine ; MLC : chaîne légère de myosine ; SERCA : pompe calcique du réticulum sarcoplasmique

Facteurs induisant les changements de phénotype musculaire

Plusieurs facteurs sont capables d'induire un changement de phénotype musculaire. Parmi ces facteurs nous avons principalement :

1. L'activité du motoneurone

Le type d'activité du motoneurone innervant le muscle squelettique est le premier facteur dont le rôle dans la modulation du phénotype musculaire a été démontré. Plusieurs auteurs (Narusawa et al. 1987, Gorza et al. 1988, Jakubiec-Puka et al. 1990, Roy et al. 1992) ont montré que la dénervation entraînait un changement de phénotype vers le type rapide dans le muscle soléaire. Cette observation les amena à suggérer que le phénotype musculaire par défaut, en l'absence de stimulation nerveuse était un phénotype rapide. Plus récemment la suppression de l'innervation motrice du soléaire a induit, elle aussi, un changement vers un phénotype rapide (Stevens et al. 2000a).

L'innervation croisée a apporté des preuves supplémentaires du contrôle du phénotype musculaire par l'activité nerveuse (Close 1965, Buller et al. 1969, Båràny et Close 1971, Mommaerts et al. 1977). Lorsqu'un nerf innervant normalement un muscle lent est sectionné et implanté dans un muscle rapide, le muscle ré-innervé acquiert les caractéristiques du muscle lent.

Des études consacrées à la stimulation électrique chronique des muscles ont montré, elles aussi, le rôle de l'innervation motrice dans la détermination et le maintien du phénotype musculaire. Plusieurs protocoles de stimulation ont été utilisés. La stimulation d'un muscle rapide avec un "pattern" de stimulation lent induit une transformation en muscle lent (Mabuchi et al. 1982, Pette and Vrbová 1992). Le degré de transformation observé varie d'une espèce animale à une autre. D'autres facteurs tels que des facteurs hormonaux et génétiques peuvent intervenir dans le changement de phénotype et interférer avec la réponse musculaire au "pattern" de stimulation.

2. Entraînement physique

Plusieurs études ont montré l'effet de l'entraînement physique sur le phénotype musculaire. Le changement observé dépend du type d'entraînement. La résistance et l'endurance induisent un changement de la myosine 2x vers la myosine 2a (Adams et al. 1993, Abernethy et al. 1994, Jurimae et al. 1996) alors que l'entraînement à la course de

vitesse (sprint) entraîne une transformation des myosines 2x et 1 vers la myosine 2a (Andersen et al. 1994, Allemeier et al. 1994). L'entraînement à la musculation induit une transformation vers le type de myosine 1 (Abernethy et al. 1994).

3. L'étirement

Plusieurs modèles d'étirement ont été utilisés pour induire un changement de phénotype des muscles squelettiques. Chez les mammifères, l'étirement passif du muscle a été induit par immobilisation du muscle en position allongée (Goldspink et al. 1991, 1992). Chez les oiseaux, les ailes ont été étirées en utilisant des poids suspendus à leur bout (Timson 1990). Ces modèles ont induit des changements de phénotype du type rapide vers le type lent.

4. La charge fonctionnelle

Un des facteurs de modulation de phénotype bien étudié est la charge supportée par le muscle. La spécialisation en type de fibre est en définitive une réponse à la charge fonctionnelle. Ainsi une surcharge musculaire induit un phénotype musculaire plus lent alors que la diminution de charge entraîne une transformation du type lent vers le type rapide.

La décharge

La réduction de charge et les conditions de microgravité entraînent une augmentation de l'expression des myosines rapides dans les muscles lents. La suspension du train postérieur a été utilisée pour réduire la charge sur les muscles chez le rat et la souris (Jaspers and Tischler 1984, Lowrie et al. 1989, Thomson et Booth 1990, Diffie et al. 1991, McDonald and Fitts 1993, Stevens et al. 1999). Utilisant cette méthode chez la souris, nous avons observé au bout de 2 semaines une modification du phénotype du soléaire vers le type rapide. Cette transformation est caractérisée par une diminution de la proportion de chaînes lourdes de myosine (MHC) 1 et de MHC 2a associée à une augmentation de la proportion de myosine 2x et l'expression de myosine 2b (Awede et al. 1999).

La surcharge

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour augmenter la charge musculaire. Il s'agit notamment de :

- La dénervation des muscles synergiques du muscle à surcharger (Binkhorst et Van Hof, 1973)

- La section du tendon du muscle synergique (Guttmann et al. 1971, James 1976, Mackova and Hnik 1971). Dans ce modèle, le tendon sectionné a tendance à se rattacher à la musculature restante au bout de 10 à 14 jours si bien que le muscle rattaché devient fonctionnelle et le processus de surcharge est ainsi aboli (Timson 1990)
- L'ablation du muscle synergique (Baldwin et al. 1982, Frischknecht et al. 1995, Yamaguchi et al. 1996). C'est la méthode la plus utilisée chez les rongeurs.

Nous avons, en outre, développé une nouvelle approche de surcharge qui consiste à insérer dans le dos de la souris, après une incision, des poids de plomb enrobés de silicone. Cette méthode a l'avantage de laisser en place tous les muscles et surtout de permettre d'étudier la réversibilité de la surcharge (Awede et al. 1999a).

Toutes ces méthodes de surcharge induisent une transformation des muscles vers un phénotype plus lent.

5. Les hormones

L'hormone thyroïdienne

Les changements du statut en hormone thyroïdienne entraînent des modifications de la composition en type de fibres des muscles. Ainsi, un traitement des rats par injection sous-cutanée de triiodothyronine (T3) induit une transformation du phénotype lent vers un phénotype rapide alors que l'hypothyroïdie est responsable d'une transformation inverse (Russel 1988, d'Albis et al. 1993, Xiaopeng and Larsson 1997, Awede et al. 2001).

Les androgènes

Le traitement des animaux aux androgènes, en dehors de ses effets sur la masse musculaire, entraîne lui aussi une transformation du lent vers le phénotype rapide (Holmäng et al 1990).

Les agonistes des récepteurs β 2 adrénergiques

Les agonistes des récepteurs β 2 adrénergiques, agents ayant des effets anaboliques importants sur le muscle squelettique, induisent aussi un changement de phénotype du type lent vers le type rapide lorsqu'ils sont administrés pendant une longue durée (Zeman et al. 1988, Petrou et al. 1995, Zhang et al. 1996, Rajab et al. 2000, Stevens et al. 2000b). Lorsque leur administration est associée à celle de la T3, la modification de phénotype du lent vers le type rapide observé est

spectaculaire (Modziak et al. 1998, Awede et al. 2001).

6. Le statut nutritionnel

Le statut nutritionnel peut avoir des influences sur le phénotype musculaire mais les données disponibles sont variées et souvent contradictoires de sorte qu'il est difficile d'avoir un consensus. Ainsi un régime riche en matières grasses, en expérimentation animale, induit une modification de phénotype vers le type lent avec une augmentation de la proportion de fibres lentes dans les muscles alors que les muscles des sujets obèses présentent un phénotype plus rapide. Quant à la restriction calorique, elle induit surtout une diminution de la taille des fibres musculaires avec une plus grande sensibilité des fibres rapides IIB, les effets sur les types de fibres étant variables d'une étude à l'autre (Matsukas et Patel, 2009)

Les mécanismes des changements de phénotype musculaire

Les mécanismes responsables de la modulation du phénotype musculaire ne sont pas complètement élucidés. Il est cependant clair que le contrôle de la transcription des gènes spécifiques au muscle squelettique y joue un rôle majeur. En effet, la stimulation électrique chronique du muscle entraîne des changements précoces de l'ARN messager de la myosine précédant de loin tout changement détectable en type de fibres (Pette and Vrbová, 1992).

Plusieurs intermédiaires moléculaires, principalement les facteurs myogéniques et la concentration intracellulaire de calcium sont impliqués dans les voies de signalisation conduisant aux changements phénotypiques.

1. Les facteurs myogéniques

Les facteurs myogéniques sont des facteurs de transcription importants pour la différenciation des cellules musculaires. Ils appartiennent à deux familles de molécules, qui sont capables d'induire la myogenèse dans les cellules non musculaires : la famille de MyoD (myogenic determination factor) et la famille de MEF2 (myocyte-specific enhancer binding factor)

La famille MyoD comporte quatre facteurs : MyoD, myogénine or Myf4, Myf5 and MRF4 or herculin (Olson 1990, 1993, Emerson 1990, Buckingham 1992, Edmonson et Olson 1993). Ces molécules s'associent avec les protéines E47 et E12 (les E protéines, produits du gène E2A) pour former des hétérodimères qui se lient à des motifs spécifiques de l'ADN appelés

E-Box (Blackwell and Weintraub 1990). La liaison d'un facteur myogénique à un E-Box active son promoteur et induit ainsi une augmentation de l'expression des gènes. En l'absence de facteur myogénique, l'Id (inhibiteur de différenciation), s'associe à la E protéine et empêche sa liaison au E-Box et la différenciation des myoblastes est ainsi inhibée (Jen et al. 1992).

La famille MEF2 comprend au moins quatre membres appelés A, B, C, et D (Gosset et al. 1989). Ils se lient à des séquences relatives au SRF (serum response factor) élément de promoteurs de gènes spécifiques du muscle. Ces facteurs coopèrent avec les facteurs de la famille MyoD pour activer l'expression des gènes musculaires (Puri et Sartorelli 2000). Cette coopération nécessite l'interaction directe entre les domaines de liaison des MEF2 à l'ADN et les facteurs myogéniques de la famille de MyoD (Molkentin et al. 1995, Molkentin and Olson 1996, Black et al. 1998).

L'expression des facteurs myogéniques qui est spécifique du type de fibres et les changements de leur expression relatifs aux modifications de type de fibre suggèrent qu'ils pourraient jouer un rôle dans les mécanismes moléculaires des changements de phénotype.

Chez le rat, le MyoD est exprimé de façon prépondérante dans les muscles rapides alors que la myogénine l'est dans les muscles lents. En plus dans un muscle donné, on observe une corrélation entre l'expression du MyoD et de la myogénine et la proportion des fibres rapides et lentes (Hughes et al. 1993).

En plus, les changements de phénotype induits par les hormones thyroïdiennes et l'innervation croisée sont associés à des modifications d'expression de la MyoD et myogénine au niveau de l'ARN messenger. L'innervation croisée du soléaire, muscle lent avec le nerf d'un muscle rapide entraîne une diminution de l'ARN messenger de la myogénine dans les régions du muscles exprimant la myosine rapide alors que l'hormone thyroïdienne en association avec le clenbutérol induit dans le soléaire l'expression de la myosine rapide du gène du MyoD (Hughes et al. 1993, Modziak et al. 1998). La modification de l'expression des gènes des facteurs myogéniques par l'hormone thyroïdienne peut s'expliquer par la présence du TRE (thyroid response element) au niveau du promoteur du gène du MyoD et de la myogénine (Downes et al. 1993, Muscat et al. 1994).

L'implication des facteurs myogéniques dans le contrôle du phénotype musculaire a été investiguée en utilisant des souris transgéniques.

Dans les muscles rapides de souris transgéniques présentant une surexpression de la myogénine, une augmentation du niveau d'activité des enzymes oxydatives mitochondriales associé à une diminution du niveau des enzymes glycolytiques a été observée. Ces changements ne sont cependant pas associés à des modifications des types de fibres (Hughes et al. 1999). De plus la destruction du gène de MyoD chez la souris n'a entraîné dans les muscles rapides que des changements mineurs des types rapides vers des types lents alors que dans les muscles lents on a observé un changement vers le phénotype rapide (Hughes et al. 1997).

2. La voie calcium calmoduline calcineurine

Calcium et phénotype musculaire

Une des différences entre les muscles à secousse lente et les muscles à secousse rapide est le niveau de leur concentration cytosolique de calcium. Les fibres lentes qui sont impliquées dans des activités contractiles soutenues et toniques maintiennent une concentration cytosolique basale de calcium à un niveau relativement élevé (100-300nM) (Chin et al. 1998). Les fibres rapides glycolytiques qui développent des activités contractiles phasiques sont caractérisées par des transitoires de calcium brefs mais de grandes amplitudes survenant sur un niveau basal de calcium plus bas (<50nM) (Westerblad and Allen 1991). Ces différences de concentrations cytosoliques de calcium est le résultat de différents patterns de stimulation nerveuse motrice.

De plus, des changements de concentration intracellulaire de calcium sont associés aux transformations de type de fibre : les changements du type rapide vers le type lent induits par la stimulation électrique nerveuse sont associés à une augmentation du niveau de calcium intracellulaire (Sréter et al. 1987). De plus, le traitement chronique de myotubes avec un ionophore qui augmente la concentration intracellulaire de calcium entraîne un changement de phénotype du type rapide vers le type lent (Kubis et al. 1997). Ces données suggèrent un rôle possible du calcium dans la détermination du phénotype des cellules musculaires. Le niveau élevé de calcium pourrait agir via la voie calcium calcineurine.

La calcineurine

La calcineurine est une serine/thréonine phosphatase calcium dépendante. La liaison du calcium à un complexe calmoduline-calcineurine stimule l'activité de la calcineurine qui dès lors déphosphoryle ses substrats, les facteurs nucléaires des cellules (lymphocytes) T activées (NFATs) qui sont des facteurs de transcription. La déphosphorylation des NFATs par la calcineurine entraîne leur translocation du cytoplasme vers le noyau, où ils se lient à des séquences spécifiques de l'ADN et stimulent la transcription des gènes cibles (Rao et al. 1997). Il a été montré que l'activité de la calcineurine et la translocation nucléaire des NFATs qui en résulte sont insensibles aux transitoires de calcium de grande amplitude mais répondent plutôt à une élévation soutenue mais de faible amplitude de calcium intracellulaire (Timmerman 1996, Dolmetsch et al. 1997). Cette habilité de la voie de signalisation dépendante de la calcineurine de distinguer différents "patterns" d'amplitude et de durée de changement de la concentration en calcium en association avec les différences de concentration cytosolique de calcium entre les types de fibres suggèrent un rôle de la voie calcium calcineurine dans la détermination du type de fibre musculaire.

Calcineurine et phénotype musculaire

L'activation de la calcineurine dans les cellules musculaires squelettiques active les promoteurs des gènes spécifiques des fibres lentes (myoglobine et isoforme lente de la troponine I) et non ceux des gènes des fibres rapides (Chin et al. 1998). En plus, l'inhibition de l'activité de la calcineurine, par l'administration de la cyclosporine A aux rats, induit un changement du type lent vers le type rapide et l'administration d'inhibiteurs de la calcineurine prévient le changement du phénotype rapide vers le phénotype lent qu'on observe en cas de surcharge musculaire (Dunn et al. 1998). La surexpression de la calcineurine activée dans les muscles, par différentes méthodes, a conduit à l'expression d'un phénotype musculaire plus lent (Delling et al. 2000 ; Naya et al. 2000). L'expression de la myosine lente dans les myotubes traités par l'ionophore induisant l'augmentation de la concentration cytosolique de calcium est dépendante de la calcineurine (Meißner et al. 2001) Ces données montrent que l'activation de la calcineurine est impliquée dans la détermination du phénotype lent. Si la voie calcium calcineurine est essentielle pour l'expression des fibres lentes dans le muscle adulte, elle ne semble pas intervenir dans leur

expression au cours du développement embryonnaire ou postnatale précoce (Oh et al. 2005).

Les signaux en aval de la calcineurine: NFAT et MEF2

Activation de la transcription des gènes spécifiques des fibres lentes semblent être contrôlée par des mécanismes combinés impliquant les protéines des familles NFAT et MEF2. Les éléments du contrôle de la transcription qui aboutissent à l'expression spécifique des types de fibres ont été décrits au niveau du gène de la troponine I : une séquence appelée SURE (slow upstream regulatory element) permet la transcription des gènes spécifiques des fibres lentes alors que le FIRE (fast intronic regulatory element) contrôle l'expression des gènes spécifiques du type rapide (Nakayama et al. 1996). Une séquence de l'ADN spécifique pour la liaison du NFAT est présent au niveau de SURE. Ainsi le NFAT déphosphorylé se lie au SURE pour contrôler l'expression des gènes spécifiques des fibres lentes. Observation intéressante, le niveau d'expression de NFATc1 est plus élevé dans les muscles lents que dans les muscles rapides et cette expression se fait exclusivement dans les fibres de type I et IIA (Mutungi 2008). Cependant en l'absence de liaison de NFAT à l'ADN, l'activation de l'expression des gènes en réponse à l'activation de la calcineurine est réduite mais persiste, ce qui indique l'intervention d'autres facteurs en coopération avec le NFAT (Chin et al. 1998).

Les MEF2 représentent de tels facteurs, médiateurs de l'effet de la voie calcium calcineurine sur l'expression des gènes spécifiques des fibres lentes. MEF2 peut être déphosphorylé par la calcineurine et la séquence de liaison de MEF2 à l'ADN est présente au niveau de SURE. Il a été montré que MEF2 activait la transcription des gènes spécifiques des fibres lentes en réponse à l'activation de la calcineurine par un état d'activité musculaire soutenue (Wu et al. 2001).

En plus de la calcineurine, la protéine kinase calcium calmoduline dépendante IV (CaMK IV) active aussi MEF2 et amplifie la fonction d'activation de MEF2 dépendante de la calcineurine (Wu et al. 2000). Le mécanisme d'action pourrait être la dissociation de MEF2 de HDAC (histone deacetylase) suite à la phosphorylation de HDAC. En effet il a été montré que MEF2 s'associe à des isoformes spécifiques de HDAC et que le complexe

MEF2-HDAC se lie à l'ADN et agit comme un répresseur de la transcription des gènes. CAMK agit donc en levant cette inhibition (McKinsey et al. 2000, Lu et al. 2000). Les facteurs de transcription MEF2 servent donc comme intégrateurs des différentes voies de signalisation dépendantes du calcium qui contrôlent l'expression des gènes dans les muscles squelettiques.

La CaMKII dont l'activité est soit dépendante soit indépendante du calcium interviendrait aussi dans les mécanismes de changement vers un phénotype musculaire plus lent (Chin, 2005, Mu et al. 2007)

Autres cibles de la calcineurine

En plus de ce modèle, on peut prendre en considération d'autres mécanismes de contrôle du phénotype par la voie calcium calcineurine. Récemment, une nouvelle famille de protéines sarcomériques se liant à la calcineurine a été décrite. Cette famille comprend 3 protéines : la calsarcin-1 et calsarcin-2 et calsarcin-3. Chez les animaux adultes, la calsarcin-1 est spécifiquement exprimée dans le muscle cardiaque et dans fibres lentes alors que la calsarcin-2 et la calsarcin-3 est exclusivement exprimée dans les fibres rapides (Frey et al. 2000, Frey and Olson 2002).

Les études réalisées avec des souris chez lesquelles les gènes des calsarcin-1 et calsarcin-2 ont été invalidés ont permis de mieux appréhender leur rôle. En effet les muscles lents des souris déficientes en calsarcin-1 présentent un niveau d'activité de la calcineurine plus élevé avec une augmentation de la proportion des fibres lentes (Frey et al. 2004)

Les muscles des souris déficientes en calsarcin-2 sont plus performantes sur le plan de l'exercice physique, sont plus résistantes à la fatigue et leurs muscles présentent une activité calcineurine plus élevée et un changement de phénotype vers le type lent suggérant un rôle

CONCLUSION

La composition en types de fibre du muscle squelettique dépend du type et du niveau d'activité du muscle, activité corrélée avec le pattern de stimulation nerveuse du muscle. Elle est aussi influencée par l'environnement hormonal du muscle. L'expression des gènes spécifiques des fibres lentes est sous le contrôle de voies de signalisation dépendantes du calcium dont toutes les cibles moléculaires ne sont pas encore connues. Les données actuelles suggèrent aussi que des mécanismes indépendants du calcium pourraient aussi intervenir dans le contrôle du phénotype musculaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abernethy PJ, Jurimae J, Logan PA, Taylor AW, Thayer RE (1994) Acute and chronic response of skeletal muscle to resistance exercise. *Sports Med.* 17: 22-38
Adams GR (1998) Role of insulin-like growth factor I in the regulation of skeletal muscle adaptation to increased loading. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 26: 31-60

inhibiteur de la calsarcin-2 sur la calcineurine (Frey et al. 2008).

3. Relation entre l'IGF-1, les IGFBP et les changements de phénotype

L'adaptation du muscle squelettique à la surcharge et à l'administration de clenbuterol fait intervenir l'IGF-1 qui contribue à l'augmentation de masse musculaire (DeVol et al. 1990, Adams 1998, Awede et al. 2002). Mais ces situations s'accompagnent d'une modification de phénotype vers un type plus lent en ce qui concerne la surcharge et un type rapide pour les agonistes des récepteurs β . Bien que le rôle de l'IGF-1 dans la modification de phénotype musculaire ne soit pas clair, il a été montré que l'IGF-1, dans les myotubes, mobilise le calcium et active la voie de signalisation calcium calcineurine NFAT (Musarò et al. 1999, Semsarian et al. 1999). Mais l'IGFBP-5, l'une des protéines porteuses de l'IGF-1, qui module son activité au niveau des cellules musculaires, est exprimée de façon préférentielle dans les fibres musculaires rapides. De plus, la surcharge musculaire induisant un phénotype plus lent entraîne une diminution de l'expression de l'IGFBP-5 alors que la diminution de charge, la dénervation et l'administration de clenbutérol, toutes situations induisant l'expression d'un phénotype rapide entraînent une augmentation de l'expression de l'IGFBP-5 (Awede et al. 1999b, 2002, Bayol, 2000). Ces changements d'expression de l'IGFBP-5 surviennent précocement bien avant tout changement de phénotype musculaire, ce qui est en faveur d'un possible rôle de l'IGFBP-5 dans la détermination du type de fibre musculaire d'autant que certains des effets de l'IGFBP-5 sont indépendants de l'IGF-1, et que des récepteurs spécifiques à l'IGFBP-5 et la translocation nucléaire de l'IGFBP-5 ont été décrits dans certains types cellulaires (Andress 1998, Schedlich et al. 1998, Miyakoshi et al. 2001).

- Adams GR, Hather BM, Baldwin KM, Dudley GA (1993) Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. *J. Appl. Physiol.* 74: 911-915
- Allemeier CA, Fry AC, Johnson P, Hikida RS, Hagerman FC, Staron RS (1994) Effects of sprint on human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 77: 2385-2390
- Andersen JL, Kligaard H, Saltin B (1994) Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m. Vastus lateralis of sprinters: influence of training. *Acta Physiol. Scand.* 151: 135-142
- Andress DL (1998) Insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5) stimulates phosphorylation of the IGFBP-5 receptor. *Am. J. Physiol.* 274: E744-E750
- Awede B, Berquin A, Wuytack F, Lebacqz J (1999a) Adaptation of skeletal muscle to a novel functional overload test: changes in myosin heavy chains and SERCA and physiological consequences. *Eur. J. Appl. Physiol.* 80: 519-526
- Awede B, Thissen JP, Gailly P, Lebacqz J (1999b) Regulation of IGF-I, IGFBP-4 and IGFBP-5 gene expression by loading in mouse skeletal muscle. *FEBS Lett.* 461: 263-267
- Awede B, Thissen JP, Lebacqz J (2002) Role of IGF-I and IGFBPs in the changes of mass and phenotype induced in rat soleus muscle by clenbuterol. *Am. J. Physiol. Endo. metab.*
- Baldwin KM, Valdez V, Herrick RE, MacIntosh AM, Roy RR (1982) Biochemical properties of overloaded fast-twitch skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 52: 467-472
- Bárány M (1967) ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J. Gen. Physiol.* 50: 197-218
- Bárány M, Close RI (1971) The transformation of myosin in cross-innervated rat muscles. *J. Physiol.* 213: 455-474
- Barnard RJ, Edgerton VR, Peter JB (1971) Histochemical, biochemical and contractile properties of red white and intermediate fibers. *Am. J. Physiol.* 220: 410-414
- Bayol S, Loughna PT, Brownson C (2000) Phenotypic expression of IGF binding proteins transcripts in muscle, in vitro and in vivo. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.* 273: 282-286
- Binkhorst RA, van't Hof MA (1973) Force-velocity relationship and contraction time of the rat fast plantaris muscle due to compensatory hypertrophy. *Pflugers Archiv. Eur. J. Physiol.* 342: 145-158
- Black BL, Molkentin JD, Olson EN (1998) Multiple roles for the MyoD basic region in transmission of transcriptional activation signals and interaction with MEF2. *Mol. Cell. Biol.* 18: 69-77
- Blackwell KT, Weintraub H (1990) Differences and similarities in DNA-binding preferences of MyoD and E2A protein complexes revealed by binding site selection. *Science* 250: 1104-1110
- Buckingham M (1992) Making muscle in mammals. *Trends Genet.* 8: 144-148
- Buller AJ, Mommaerts WFHM, Seraydarian K (1969) Enzymic properties of myosin in fast and slow twitch muscles of the cat following cross-innervation. *J. Physiol.* 205: 581-597
- Chin ER (2005) Role of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinases in skeletal muscle plasticity. *J. Appl. Physiol.* 99:414-423
- Chin ER, Olson EN, Richardson JA, Yang Q, Humphries C, Shelton JM, Wu H, Zhu W, Bassel-Duby R, Williams RS (1998) A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. *Genes and Development* 12: 2499-2509
- Close R (1965) Effects of cross-union of motor nerves to fast and slow muscles. *Nature* 206: 831-832
- d'Albis A, Couteaux R, Jannot C, Mira JC (1993) Opposite regulations by androgenic and thyroid hormones of V1 myosin isoform expression in the two types of rabbit striated muscle: skeletal and cardiac. *FEBS Lett.* 318: 53-56
- d'Albis A, Gratzner W (1973) Electrophoretic examination of native myosin. *FEBS Lett.* 29: 292-296
- d'Albis A, Pautaloni C, Béchet J-J (1979) An electrophoretic study of native myosin isozymes and of their subunit content. *Eur. J. Biochem.* 99: 261-272
- Delling U, Tureckova J, Lim HW, De Windt LJ, Rotwein P, Molkentin JD (2000) A calcineurin-NFATc3-dependent pathway regulates skeletal muscle differentiation and slow myosin heavy chain expression. *Mol. Cell. Biol.* 20: 6600-6611
- DeVol DL, Rotwein P, Sadow JL, Novakofski J, Bechtel PJ (1990) Activation of insulin-like growth factor gene expression during work-induced skeletal muscle growth. *Am. J. Physiol.* 259: E89-E95
- Diffie GM, Caiozzo VJ, Herrick RE, Baldwin KM (1991) Contractile and biochemical properties of rat soleus muscle and plantaris after hindlimb suspension. *Am. J. Physiol.* 260: C528-C534
- Dolmetsch RE, Lewis RS, Goodnow CC, Healy JI (1997) Differential activation of transcription factors induced by Ca²⁺ response amplitude and duration. *Nature* 386: 855-858
- Downes M, Griggs R, Atkins A, Olson EN, Muscat GE (1993) Identification of a thyroid hormone response element in the mouse myogenin gene: characterisation of the thyroid hormone and retinoid X receptor heterodimeric binding site. *Cell Growth Differ.* 4: 901-911
- Dunn SE, Burns JL, Michel RN (1999) Calcineurin is required for skeletal muscle hypertrophy. *J. Biol. Chem.* 274: 21908-21912
- Edmondson DG, Olson EN (1993) Helix loops Helix proteins as regulators of muscle specific transcript. *J. Biol. Chem.* 268: 755-758
- Emerson Jr CP (1990) Myogenesis and developmental control genes. *Current Opin. Cell Biol.* 2: 1065-1075
- Frey N, Ricardson JA, Olson EN (2000) Calsarcins, a novel family of sarcomeric calcineurin-binding proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 14632-14637

- Frey N, Frank D, Lippl S, Kuhn C, Kögler H, Barrientos T, Rohr C, Will R, Müller OJ, Weiler H, Bassel-Duby R, Katus HA, and Olson EN (2008) Calsarcin-2 deficiency increases exercise capacity in mice through calcineurin/NFAT activation. *J. Clin. Invest.* 118:3598-3608
- Frey N and Olson EN (2002) Calsarcin-3, a novel skeletal muscle-specific member of the calsarcin family, interacts with multiple Z-disc proteins. *J. Biol. Chem.* 277:13998-14004
- Frey, N., et al. (2004) Mice lacking calsarcin-1 are sensitized to calcineurin signaling and show accelerated cardiomyopathy in response to pathological biomechanical stress. *Nat. Med.* 10:1336-1343
- Frischknecht R, Belverstone D, Vrbová G (1995) The response of adult and developing rat plantaris muscle to overload. *Pflugers Archiv. Eur. J. Physiol.* 431: 204-211
- Goldspink G, Scutt A, Martindale J, Jaenicke T, Turay L, Gerlach G F (1991) Stretch and force generation induce rapid hypertrophy and myosin isoform gene switching in adult skeletal muscle. *Biochem. Soc. Trans.* 19: 368-373
- Goldspink G, Scutt A, Loughna PT, Wells DJ, Jaenicke T, Gerlach G F (1992) Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. *Am. J. Physiol.* 262: R327-R328
- Gordon AM, Homsher E, Regnier M (2000) Regulation of contraction in striated muscle. *Physiol. Rev.* 80: 853-924
- Gorza L (1990) 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.* 38: 257-265
- Gorza L, Gundersen K, Lomo T, Schiaffino S, Westgaard RH (1988) Slow-to-fast transformation of denervated soleus muscles by chronic high-frequency stimulation in the rat. *J. Physiol.* 402: 627-649
- Gosset LA, Kelvin DJ, Sterberg EA, Olson EN (1989) A new myocyte specific enhancer-binding factor that recognizes a conserved element associated with multiple muscle-specific gene. *Mol. Cell Biol.* 9: 5022-5033
- Guth L, Samaha FJ (1969) Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp. Neurol.* 25: 138-152
- Gutmann ES, Schiaffino, Hanzlikova (1971) Mechanism of compensatory hypertrophy in skeletal muscle of the rat. *Exp. Neurol.* 31: 451-464
- Hoh JFV, McGrath PA, White RI (1976) Electrophoretic analysis of multiple forms of myosin in fast twitch and slow twitch muscle of the chick. *Biochem. J.* 157: 87-95
- Holmäng A, svedberg J, Jennische E, Björntorp P (1990) Effects of testosterone on muscle insulin sensitivity and morphology in female rats. *Am. J. Physiol.* 259: E555-E560
- Hughes SM, Chi M-Y, Lowry OH, Gundersen K (1999) Myogenin induces a shift of enzyme activity from glycolytic to oxidative metabolism in muscles of transgenic mice. *J. Cell. Biol.* 145: 633-642
- Hughes SM, Koishi K, Rudnicki M, Maggs AM (1997) MyoD protein is differentially accumulated in fast and slow skeletal muscle fibres and required for normal fibre type balance in rodents. *Mech. Dev.* 61: 151-163
- Hughes SM, Taylor JM, Tapscott SJ, Gurley CM, Carter WJ, Peterson CA (1993) Selective accumulation of MyoD and Myogenin mRNAs in fast and slow adult skeletal muscle is controlled by innervation and hormones. *Development* 118: 1137-1147
- Jakubiec-Puka A, Kordowska J, Catanic C, Carraro U (1990) Myosin heavy chain isoform composition in striated muscle after denervation and self-reinnervation. *Eur. J. Biochem.* 193: 623-628
- James NT (1976) Compensatory hypertrophy in the extensor digitorum longus muscle of the mouse. *J. Anat.* 122: 121-131
- Jaspers SR, Tischler ME (1984) Atrophy and growth failure of rat hindlimb muscles in tail-cast suspension. *J. Appl. Physiol.* 57: 1472-1479
- Jen Y, Weintraub H, Benezra R (1992) Overexpression of id protein inhibits the muscle differentiation program: in vivo association of id with E2A proteins. *Gene-Dev.* 6: 1466-1479
- Jurimae J, Abernethy PJ, Blake K, McEniery MT (1996) Changes in the myosin heavy chain isoform profile of the triceps brachii muscle following 12 weeks of resistance training. *Eur. J. Appl. Physiol.* 74: 287-292
- Kubis H-P, Haller E-A, Wetzel P, Gros G (1997) Adult fast myosin pattern and Ca²⁺-induced slow myosin pattern in primary skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 4205-4210
- Lu J, McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN (2000) Regulation of skeletal myogenesis by association of the MEF2 transcription factor with class II histone deacetylases. *Mol. Cell* 6: 233-244
- Mabuchi K, Szvetko D, Gergely J, Sréter FA (1982) Type IIB and IIA fiber transformation in intermittently stimulated rabbit muscles. *Am. J. Physiol.* 242: C373-C381
- Mackova E, Hník P (1971) Compensatory muscle hypertrophy in the rat induced by tenotomy of the synergistic muscles. *Experientia Basel* 27: 1037-1040
- Matsakas A and Patel K (2009) Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. *Histol. Histopathol.* 24: 611-629
- McDonald KS, Fitts RH (1993) Effects of hindlimb unweighting on single soleus fiber maximal shortening velocity and ATPase activity. *J. Appl. Physiol.* 74: 2949-2957
- McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN (2000) Activation of the myocyte enhancer factor-2 transcription factor by calcium/calmodulin-dependent protein kinase-stimulated binding of 14-3-3 to histone deacetylase 5. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 14400-14405

- Meißner JD, Gros G, Scheibe RJ, Scholz M, Kubis H-P (2001) Calcineurin regulates slow myosin, but not fast myosin or metabolic enzymes, during fast-to-slow transformation in rabbit skeletal muscle cell culture. *J. Physiol.* 533: 215-226
- Miyakoshi N, Richman C, Kasukawa Y, Linkharts TA, Baylink DJ, Mohan S (2001) Evidence that IGF-binding protein-5 functions as a growth factor. *J. Clin. Invest.* 107: 73-81
- Molkentin JD, Black BL, Martin JF, Olson EN (1995) Cooperative activation of muscle gene expression by MEF2 and Myogenic bHLH proteins. *Cell* 83: 1125-1136
- Molkentin JD, Olson EN (1996) Combinatorial control of muscle development by basic helix-loop-helix and MADS-box transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9366-9373
- Mommaerts WFHM, Seraydarian K, Suh M, Kean CJC, Buller AJ (1977) The conversion of some biochemical properties of mammalian skeletal muscles following cross-reinnervation. *Exp. Neurol.* 55: 637-653
- Mozdziak PE, Greaser ML, Schultz E (1998) Myogenin, MyoD and myosin expression after pharmacologically and surgically induced hypertrophy. *J. Appl. Physiol.* 84: 1359-1364
- Mu X, Brown LD, Liu Y, Schneider MF (2007) Roles of the calcineurin and CaMK signaling pathways in fast-to-slow fiber type transformation of cultured adult mouse skeletal muscle fibers. *Physiol. Genomics* 30: 300-312
- Muscat GE, Mynett-Johnson L, Dowhan D, Downes M, Griggs R (1994) Activation of MyoD gene transcription by 3,5,3'-triiodo-L-thyronine: a direct role for thyroid hormone and retinoid X receptors. *Nucleic Acids Res.* 22: 583-591
- Musarò A, McCullagh KJA, Naya FJ, Olson EN, Rosenthal N (1999). IGF-1 induces myocyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature* 400: 581-585
- Nakayama M, Stauffer J, Chen J, Banerjee-Basu S, Wawrousek E, Buonanno A (1996) Common core sequences are found in skeletal muscle slow- and fast-fiber-type-specific regulatory elements. *Mol. Cell. Biol.* 16: 2408-2417
- Narusawa N, Fitzsimons RB, Izumo S, Nadal-Ginard B, Rubinstein NA and Kelly AM (1987) Slow myosin in developing rat skeletal muscle. *J. Cell Biol.* 104: 447-459
- Naya FJ, Mercer B, Shelton J, Richardson JA, Williams RS and Olson EN (2000) Stimulation of slow skeletal muscle fiber gene expression by calcineurin in vivo. *J. Biol. Chem.* 275: 4545-4548
- Oh M, Rybkin II, Copeland V, Czubryt MP, Shelton JM, Rooij EV, Richardson JA, Hill JA, De Windt LJ, Bassel-Duby R, Olson EN, Rothermel BA (2005) Calcineurin is necessary for the maintenance but not embryonic development of slow muscle fibers. *Mol. Cell. Biol.* 15: 6629-6638
- Olson EN (1990) The MyoD family: a paradigm for development? *Genes Dev.* 43: 1454-1461
- Olson EN (1993) Signal transduction pathways that regulate skeletal muscle gene expression. *Mol. Endo.* 1369-1378
- Petrou M, Wynne DG, Boheler KR and Yacoub MG (1995) Clenbuterol induced hypertrophy of the latissimus dorsi muscle and heart in the rat with molecular and phenotypic changes. *Circulation* 92: 483-489
- Pette D, Vrbová G (1992) Adaptation of mammalian skeletal muscle fibers to chronic electric stimulation. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 120: 115-220
- Puri PL, Sartorelli V (2000) Regulation of muscle regulatory factors by DNA-binding, interacting proteins, and post-transcriptional modifications. *J. Cell. Physiol.* 185: 155-173
- Rajab P, Fox J, Riaz S, Tomlinson D, Ball D, Grenhaff PL (2000) Skeletal muscle myosin heavy chain isoforms and energy metabolism after clenbuterol treatment in the rat. *Am. J. Physiol.* 279: R1076-R1081
- Rao A, Luo C, Hogan PG (1997) Transcription factors of NFAT family: Regulation and function. *Annu. Rev. Immunol.* 15: 707-747
- Roy RR, Pierotti DJ, Flores V, Rudolf W, Edgerton VR (1992) Fibre size and type adaptations to spinal isolation and cyclical passive stretch in cat hindlimb. *J. Anat.* 180: 491-499
- Russell SD, Cambon N, Nadal-Ginard B, Whalen RG (1988) Thyroid hormone induces a nerve-independent precocious expression of fast myosin heavy chain mRNA in the rat hindlimb skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 263: 6370-6374
- Sant'ana Pereira J, Wessels A, Nijtmans L, Moorman AF, Sargeant A (1995) New method for the accurate characterization of single human muscle fibres demonstrates a relation between mATPase and MyHC expression in pure and hybrid fibre types. *J. Muscle Res. Cell Mot.* 16: 21-34
- Schedlich LJ, Young TF, Firth SM, Baxter RC (1998) Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP-3) and IGFBP-5 share a common nuclear transport pathway in T47D human breast carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* 273: 18347-18352
- Schiaffino S, Gorza L, Sartore S, Saggin L, Ausoni S, Vianello M, Gundersen K and Lomo T (1989) Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J. Muscle Res. Cell Mot.* 10: 197-205
- Schiaffino S, Reggiani C (1996) Molecular diversity of myofibrillar proteins: gene regulation and functional significance. *Physiol. Rev.* 76: 371-423
- Schiaffino S, Reggiani C (1994) Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 77: 493-501
- Seidel JC (1967) Studies on myosin from red and white skeletal muscle of the rabbit. Inactivation of myosin from red muscle under mild alkaline conditions. *J. Biol. Chem.* 242: 5623-5629
- Semsarian C, Wu M-J, Ju Y-K, Marciniak T, Yeoh T, Allen DG, Harvey RP, Graham RM (1999) Skeletal muscle hypertrophy is mediated by a Ca²⁺-dependent calcineurin signalling pathway. *Nature* 400: 576-581
- Sréter FA, Seidel JC, Gergely J (1966) Studies on myosin from red and white skeletal muscles of the rabbit. 1 Adenosine triphosphatase activity. *J. Biol. Chem.* 241: 5772-5776

- Sréter FA, Lopez JR, Alamo L, Mabuchi K, Gergely J (1987) Changes in intracellular ionized Ca concentration associated with muscle fiber type transformation. *Am. J. Physiol.* 253: C296-C300
- Stevens L, Sultan KR, Peuker H, Gohlsch B, Mounier Y, Pette D (1999) Time-dependent changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in unloaded soleus muscle of rat. *Am. J. Physiol.* 277: C1044-C1049
- Stevens L, Tournel T, Lenfant AM, Falempin M, Mounier Y (2000a) Suppression of motor innervation induces fiber diversity in rat soleus muscle. *Basic Appl. Myol.* 10: 181-190
- Stevens L, Firinga C, Gohlsch B, Bastide B, Mounier Y, Pette D (2000b) Effects of unweighting and clenbuterol on myosin light and heavy chains in fast and slow muscles of rat. *Am. J. Physiol.* 279: C1558-C1563
- Termin A, Staron RS, Pette D (1989) Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscles. *Histochemistry* 92: 453-457
- Thomason DB, Booth FW (1990) Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. *J. Appl. Physiol.* 68: 1-12
- Timmerman LA, Clipstone NA, Ho SN, Northrop JP, Crabtree GR (1996) Rapid shuttling of NFAT in discrimination of Ca²⁺ signal and immunosuppression. *Nature* 383: 837-840
- Timson BF (1990) Evaluation of animal models for the study of exercise-induced muscle enlargement. *J. Appl. Physiol.* 69: 1935-1945
- Westerblad H, Allen DG (1991) Changes in myoplasmic calcium concentration during fatigue in single mouse muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* 98: 615-635
- Wu H, Naya FJ, McKinsey A, Mercer B, Shelton JM, Chin ER, Simard AR, Michel RN, Bassel-Duby R, Olson EN, Williams RS (2000) MEF-2 responds to multiple calcium-regulated signals in the control of skeletal muscle fiber type. *Embo J.* 19: 1963-1973
- Wu H, Rothermel B, Kanatous S, Rosenberg P, Naya FJ, Shelton JM, Chin ER, Hutcheson KA, Dimairo JM, Olson EN, Bassel-Duby R, Williams RS (2001) Activation of MEF-2 by muscle activity is mediated through calcineurin-dependent pathway. *The EMBO J* 22:6414-6423
- Xiaopeng Li, Lars Larsson (1997) Contractility and myosin isoform compositions of skeletal muscles and muscle cell from rats treated with thyroid hormone for 0, 4, and 8 weeks. *J. Muscle Res. Cell Mot.* 18: 335-344
- Yamaguchi A, Sakuma K, Morita I, Soya H, Takeda H, Katsuta S (1996) Changes in fibre types in rat soleus and plantaris muscles following hypophysectomy and compensatory overload. *Acta Physiol. Scand* 158: 89-95
- Zeman R, Ludemann R, Easton TG, Etlinger JD (1988) Slow to fast alterations in skeletal muscle fibers caused by clenbuterol, a β 2-receptor agonist. *Am. J. Physiol.* 254: E726-E732
- Zhang KM, Hu P, Wang SW, Feher JJ, Wright LD, Wechsler AS, Spratt JA, Briggs (1996) Salbutamol changes the molecular and mechanical properties of canine skeletal muscle. *J. Physiol.* 496: 211-220