

ANNEE 2004

**ANALYSE DE LA TYPOLOGIE MUSCULAIRE DU
CHEVAL TROTTEUR FRANÇAIS**

THESE

Pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement
devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le

.....

par

Céline, Annie, Marie COTREL

Née le 19 octobre 1978 à Avranches (Manche)

JURY

Président : M.

Professeur à la faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : Pr Degueurce

Professeur en anatomie à l'ENVA

Assesseur : Dr Blot

Maître de conférences en médecine à l'ENVA

TITRE DE LA THESE

**ANALYSE DE LA TYPOLOGIE MUSCULAIRE DU CHEVAL
TROTTEUR FRANÇAIS**

NOM et prénom : **COTREL Céline, Annie, Marie**

RESUME : La typologie du muscle *gluteus medius* a été identifiée comme étant un critère de performance en course de plat, en concours de saut d'obstacles et en endurance. L'effort en course de trot a la particularité d'être un effort mixte, les trotteurs doivent posséder des qualités d'endurance aussi bien que des qualités de vitesse. Le but de cette étude était d'étudier les facteurs de variations de la typologie musculaire chez le Trotteur Français et de mettre en évidence, si elle existe, la relation liant typologie musculaire et performance en course au trot. Pour ce faire, des biopsies musculaires du *gluteus medius* gauche ont été réalisées sur 135 Trotteurs à l'entraînement, les échantillons musculaires ont été analysés par électrophorèse et les performances individuelles en course ont été répertoriées. Des analyses de variance ont permis d'observer les variations de la typologie musculaire en fonction de différents facteurs. Les effets de l'âge et entraînement ont été clairement identifiés : on observe une augmentation significative de la proportion relative en fibres lentes, une diminution significative de la proportion en fibres rapides à métabolisme anaérobie IIX et une tendance à l'augmentation des fibres rapides à métabolisme aéro-anaérobie IIA. Aucun lien entre typologie musculaire et performance en course au trot n'a pu être mis en évidence dans cette étude.

Mots-clés : **Cheval, muscle, typologie, performance**

JURY :

Président Pr....

Directeur Pr Degueurce

Assesseur Dr Blot

Adresse de l'auteur :

Melle Céline COTREL

Pégase Mayenne

Département de Médecine du Sport, CH de Laval, 53015 LAVAL cedex

TITLE :

MUSCLE FIBER COMPOSITION ANALYSIS IN FRENCH TROTTERS

SURNAME : **COTREL**

Given name : **Céline, Annie, Marie**

SYMMARY : The gluteus medius content in slow and fast myosin heavy chains has been previously described has an important factor of performance in gallop racing and in endurance racing. In France, trotters particularity is that they run about 3000 m, so they have to be in the same time tough and swift. The purpose of this study was to determine the percentage of fast myosin heavy chains in gluteus medius muscles of a population of French Trotters and to identify any relationship to performance. Left gluteus medius muscle was biopsied in 135 trained French Trotters on a standardised location . The percentages of slow and fast myosin heavy chains were measured using an electrophoretic method, six indexes were calculated and used to quantify the level of performance of each horse. Analysis of variance showed different factor's influence on muscle composition. Age/training effect had been identified as a significant increase in the percentage of type I fibres, a significant decrease in percentage of type IIX fibres and a tendency to an increase in percentage of type IIA fibres, in a nutshell we observed a high oxidative capacity when age/training status increased. Neither an effect of muscle's compartment nor an effect of the level of performance on gluteus medius muscle composition have been observed in that study.

KEY WORDS : **Horse, muscle, typology, performance**

JURY :

President Pr....

Director Pr Degueurce

Assessor Dr Blot

Author's Address :

Melle Céline COTREL

Pégase Mayenne

Département de Médecine du Sport, CH de Laval, 53015 LAVAL cedex

A Monsieur ,

Professeur à la faculté de Médecine de Creteil,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider cette thèse,

Qu'il trouve ici l'assurance de mon plus profond respect.

A Monsieur Degueurce,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui a accepté de diriger ce travail,

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur Blot,

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Qui a accepté de juger cette thèse,

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Auvinet,

Chef de service de Rhumatologie et de Médecine du Sport du C.H. de Laval,

Avec toute ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de Pégase Mayenne et m'avoir permis de découvrir la médecine du sport.

A Mademoiselle Claire LELEU,

Docteur vétérinaire et docteur en physiologie et biomécanique de l'effort,

Pour m'avoir épaulée tout au long de ce projet, pour avoir fait de ce protocole un véritable parcours initiatique, pour sa disponibilité et sa joie de vivre,

Toute ma gratitude et toute mon amitié.

Aux entraîneurs de trot,

Pour avoir accepté que leurs chevaux participent au protocole et sans qui rien n'eut été possible, pour leur patience et leur accueil,

Un très grand merci.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	p. 4
I- Rappels de physiologie de la contraction musculaire	p.5
A- Caractéristiques des fibres musculaires	p.8
B- Recrutement des fibres musculaires	p.10
II- Exploration de la typologie musculaire chez le cheval	p.10
A- Les techniques de biopsie musculaire	p.10
B- Les techniques d'analyse de la typologie musculaire	p.13
a- Méthodes de typage histoenzymatiques	p.14
b- Méthodes de typage par électrophorèse	p.14
c- Méthodes de typage immunologique	p.15
III- Facteurs de variation de la typologie musculaire	p.16
A- Relation entre typologie musculaire et fonction du muscle	p.16
B- Facteurs génétiques de variation de la typologie musculaire	p.17
C- Age et typologie musculaire	p.19
D- Sexe et typologie musculaire	p.20
E- Entraînement et typologie musculaire	p.21
F- Niveau de performance et typologie musculaire	p.25

I- Matériel et méthodes	p.30
A- Animaux	p.30
B- Méthodes	p.31
a- Les indices de performance en course au trot	p.31
b- Les prélèvements musculaires	p.33
1- Standardisation de la technique de prélèvement	p. 33
2- Réalisation pratique des biopsies	p.34
c- La technique d'analyse de la typologie musculaire	p.35
d- Analyse statistique	p.38
II- Résultats	p.38
A- Typologie musculaire du Trotteur Français	p.38
B- Effet du sexe sur la typologie musculaire	p.38
C- Effet de l'âge et de l'entraînement sur la typologie musculaire	p.39
a- Etude transversale de l'effet de l'âge/entraînement	p.39
b- Etude longitudinale de l'effet de l'âge/entraînement	p.40
D- Effet du compartiment musculaire prélevé	p.41
E- Effet de la relation entre aptitude sportive et typologie musculaire	p.41
a- Etude de la relation entre réussite à l'épreuve de qualification et typologie musculaire	p.41
b- Etude de la relation entre niveau de performance en course de trot et typologie musculaire	p.42
III- Discussion	p.44
A- La technique d'analyse par électrophorèse des biopsies musculaires	p.44
B- La typologie musculaire du Trotteur Français	p.45
C- Effet du sexe sur la typologie musculaire	p.46
D- Etude de la relation entre compartiment musculaire et typologie	p.47
E- Effet de l'âge et de l'entraînement sur la typologie	p.47
F- Relation entre niveau de performance en course de trot et typologie musculaire	p.48

Conclusion	p.50
Annexe	p.51
Bibliographie	p.52



INTRODUCTION

Plus de 10 000 courses au trot sont organisées chaque année en France. Ces courses ont vu le jour en 1836 à Cherbourg. Un jeune officier des Haras réussit alors à organiser la première confrontation de chevaux demi-sang, ancêtre du Trotteur Français. Il convient de souligner que le demi-sang était un cheval de service utile à l'économie nationale qui, au trot, assurait la traction des équipements militaires. Il devait donc allier résistance, force et vitesse.

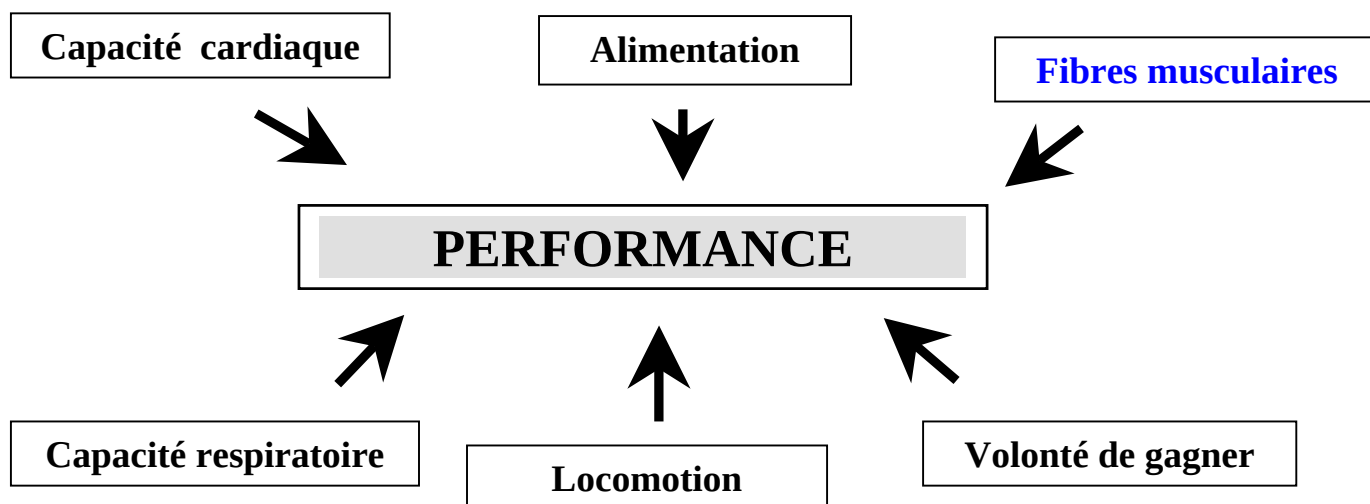
La France est de nos jours le premier pays du monde en ce qui concerne l'élevage des chevaux Trotteur avec plus de 13 000 naissances par an.

La proportion de ces poulains Trotteur qui se qualifieront sur une épreuve de 1500m, n'est, en moyenne, que d'un tiers de la population de chaque génération. En effet, les deux tiers restant sont des poulains qui ne présentent pas une bonne aptitude à l'effort.

Enfin, parmi les poulains qualifiés, tous ne montrent pas une bonne réponse à l'entraînement et à l'exercice physique. En pratique seuls deux tiers des poulains qualifiés feront carrière en course de trot.

C'est pourquoi une préoccupation des propriétaires et des entraîneurs de trotteurs est de connaître, de façon la plus objective et la plus précoce possible, des paramètres bien corrélés à la performance en course afin de limiter au maximum la mise à l'entraînement de chevaux qui, probablement, ne développeront pas les qualités nécessaires pour réussir en course de trot.

D'après Rose et Hodgson (1994), les facteurs de la performance sportive chez le cheval sont les suivants :



Ces facteurs interdépendants interviennent de façon variable suivant l'effort réalisé par le cheval ; ils n'ont donc pas le même impact selon la discipline considérée. Leur exploration permet de rassembler plusieurs critères d'évaluation de l'aptitude individuelle du cheval à sa discipline.

L'effort en course de trot est un effort de type demi-fond. Il requiert à la fois des qualités d'endurance (les courses se courent en moyenne sur 3000 à 4000 m) et des qualités de vitesse (la réduction kilométrique en course peut être inférieure à 1'10''). Il semble donc que la composition musculaire ait un impact décisif sur l'aptitude en course. Le rôle du muscle dans la détermination de la vitesse de mouvement est évident. Barrey (1994) a mis en évidence le fait que les propriétés contractiles et métaboliques des muscles propulseurs constituent l'un des facteurs limitants déterminant la force et l'endurance du cheval à la course.

Le système musculaire équin est remarquable par son potentiel athlétique et sa capacité d'adaptation à la charge de travail qu'on lui impose. En effet, il a été mis en évidence des variations dans l'organisation musculaire lorsque l'on entraîne des chevaux auparavant sédentaires (Essen-Gustavsson et Lindholm, 1985). D'autre part, Snow et Guy ont montré que la composition en fibres musculaires du muscle *gluteus medius* de certaines races de chevaux était bien corrélée au niveau de performance et pouvait donc être utilisée comme critère prédictif de performance chez ces chevaux (Snow et Guy, 1980).

Or, en moins de 10 ans de recherche appliquée en médecine du sport du cheval Trotteur, divers facteurs de la performance en course de trot ont, d'ores et déjà, été identifiés : capacité aérobie, aptitude cardiaque, geste sportif... Un autre facteur de performance présumé, la typologie musculaire, reste pour l'instant un élément méconnu quant à sa relation à la performance chez le trotteur.

L'étude de la composition en chaînes lourdes de la myosine des muscles propulseurs chez le cheval trotteur pourrait avoir un intérêt pour aider à pratiquer une sélection précoce des chevaux qui présenteraient dès leur jeune âge une bonne aptitude musculaire à la course au trot.

C'est pourquoi le but de cette étude est d'estimer la composition en fibres de myosine d'un muscle propulseur de la croupe chez le cheval Trotteur Français, le muscle fessier moyen (*gluteus medius*), qui a une fonction de propulsion déterminante, étudier ses facteurs de

variation (âge, sexe, stade d'entraînement) et la mettre en relation avec le niveau de performance des chevaux étudiés, afin de tenter de proposer des critères objectifs de sélection précoce des meilleurs chevaux de course.



Photo 1 : Course de trot sur l'hippodrome de Méral (53).

Revue bibliographique

I- Rappels de physiologie musculaire

L'analyse de la typologie musculaire consiste en l'étude des caractéristiques contractiles et métaboliques des différents types de fibres qui composent le muscle. Le muscle est constitué de fibres musculaires, elles mêmes composées de myofibrilles. La myofibrille est faite d'un assemblage de sarcomères, dont une des unités élémentaires est la myosine.



Figure 1 : Schéma de l'organisation musculaire.

Plusieurs nomenclatures de typologie musculaire ont été proposées selon les espèces et les méthodes d'analyse mises en œuvre. La notion de muscle à fibres rouges ou blanches n'est pas applicable chez le cheval car toutes les fibres contiennent de la myoglobine qui donne une teinte rouge plus ou moins foncée.

La myosine est la protéine la plus abondante du muscle squelettique, elle est la base de l'appareil contractile des fibres musculaires.

Cette protéine est composée de deux chaînes lourdes (**Myosin Heavy Chain**) et quatre chaînes légères. Les chaînes lourdes de myosine sont les composants principaux des filaments épais du muscle, elles sont codées par une famille multigénique.

La vitesse et la force de contraction développée par un muscle dépendent à la fois de la quantité de fibres actives et de leurs propriétés contractiles et métaboliques.

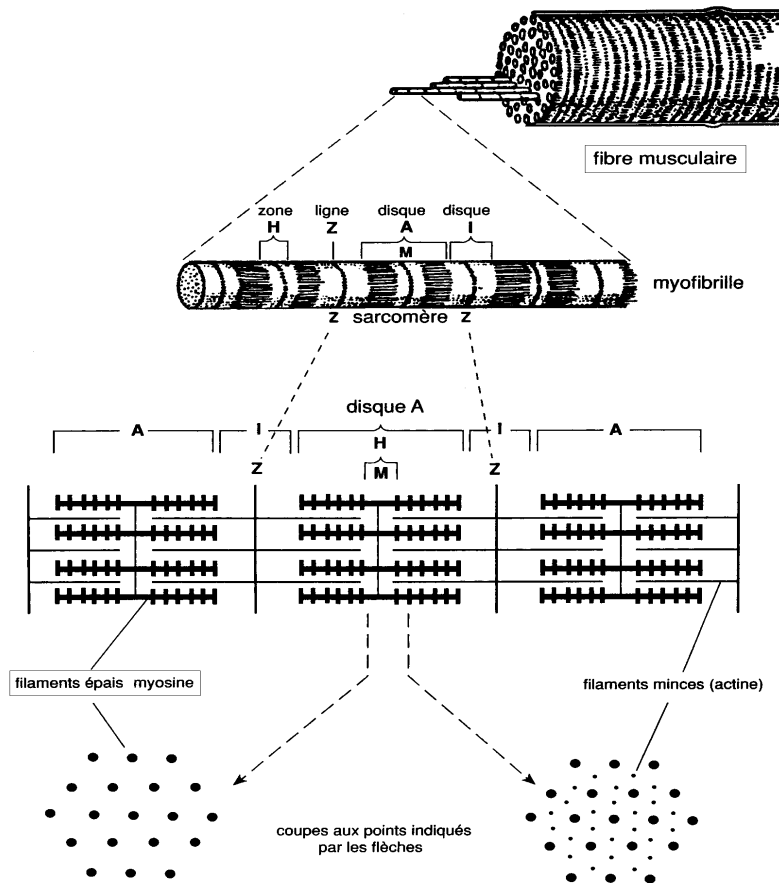


Figure 2 : Structure et ultrastructure de la fibre musculaire.

C'est l'isoforme prédominant de la chaîne lourde de la myosine qui est responsable des propriétés de la fibre, telles que la vitesse de contraction ou la résistance à la fatigue.

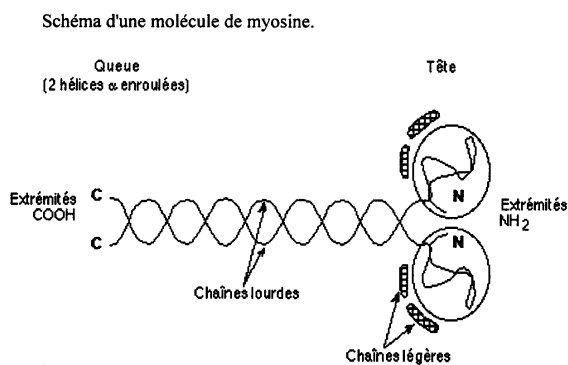


Figure 3 : Une molécule de myosine.

Au total, neuf isoformes MHC distincts ont été identifiés dans les muscles squelettiques adultes de diverses espèces.

Quatre protéines MHC ont été identifiées dans les muscles des membres, de la mâchoire et de l'appareil respiratoire du rat (Talmadge & Roy 1993) .

Les chaînes lourdes de myosine constituent des fibres rapides ou des fibres lentes.

Les fibres lentes sont appelées MHC-I, fibres de type I.

Les fibres rapides sont appelées fibres de type II, il en existe quatre types :

⇒ MHC-IIA : à contraction possible pendant quelques minutes, à métabolisme oxydatif.

⇒ MHC-IIB : qui produisent des contractions plus puissantes mais moins durables que les IIA.

⇒ MHC-IIC : qui sont caractéristiques du nouveau-né, très rarement présentes chez l'adulte.

⇒ MHC-IIX : qui ont une plus faible vitesse de contraction et un plus faible coût de tension que les fibres MHC-IIB, à métabolisme glycolytique.

Une fibre musculaire est souvent composée de plusieurs isoformes de la myosine. C'est le type de chaîne de myosine dominante qui détermine le type de fibre, parmi lente (I) ou rapide (IIA, IIB, IIX).

Chez le cheval, trois types de fibres musculaires ont été mis en évidence : un type de fibres musculaires lentes (MHC-I) et deux types de fibres musculaires rapides (MHC-IIA et MHC-IIX) (Rivero et al., 1996). Dans les études moins récentes concernant la typologie musculaire équine, les fibres rapides étaient réparties en IIA et IIB de la même manière que chez l'Homme. Rivero a montré que le deuxième type de fibres rapides avait des propriétés plus proches de l'isoforme IIX du rat que de l'isoforme IIB.

Le muscle squelettique équin n'exprime pas la MHC-IIB (Serrano et al. 1996), cette étude a, par ailleurs, montré que les différents types de fibres et d'isoformes MHC sont répartis de façon hétérogène dans le muscle. L'organisation musculaire est donc variable d'un muscle à l'autre mais aussi, au sein d'un même muscle, d'un compartiment à l'autre.

Chez de petits mammifères tels que le lapin, le rat ou la souris, on a pu mettre en évidence les trois isoformes rapides MHC (IIA, IIB et IIX) (Bar et al 1988).

Chaîne lourde de myosine	I	IIA	IIX
Vitesse de contraction	Lente	Rapide	Très rapide
Capacité oxydative (aérobie)	Elevée	Intermédiaire	Faible
Capacité glycolytique (anaérobie)	Faible	Elevée	Elevée
Fatigabilité	Faible	Modérée	Elevée
Contenu glycogénique	Modéré	Elevé	Elevé
Contenu lipidique (Triglycérides)	Elevé	Intermédiaire	Faible

Tableau 1: *Propriétés des différents types de fibres musculaires chez le cheval.*

A- Caractéristiques des fibres musculaires :

Chez le cheval, l'expression de l'isoforme MHC-IIX, et non de l'isoforme MHC-IIB, pourrait avoir un impact sur les propriétés physiologiques du muscle comme la vitesse de contraction, la période d'activation et le coût énergétique de tension.

La non - expression des fibres MHC-IIB dans le muscle équin, comme chez les grands animaux en général, est probablement à mettre en relation avec la taille corporelle et la longueur des fibres musculaires.

Les longues fibres musculaires des grands animaux, comme les chevaux, ont une vitesse de contraction intrinsèque moindre par rapport à des fibres musculaires équivalentes, plus courtes, chez les petits animaux.

Les fibres musculaires de type I sont constituées de 57 à 100% de myosine lente (MHC 1) et le complément de MHC 2A. Les fibres I ont une vitesse de contraction trois fois plus faible que celle des fibres rapides et un temps de relaxation cinq fois plus long. Le métabolisme énergétique est exclusivement aérobie et il consomme plus particulièrement les acides gras par l'intermédiaire de la bêta-oxydation. Ces caractéristiques métaboliques s'accompagnent d'une forte concentration en myoglobine, d'une densité élevée de mitochondries et de la présence de nombreux capillaires en périphérie de la fibre. Tous ces éléments contribuent à l'apport et à l'utilisation de l'oxygène nécessaire au métabolisme aérobie de cette fibre spécialisée pour les contractions successives de longue durée.

Les fibres II sont capables de délivrer des contractions puissantes pendant une durée plus limitée.

Les fibres IIA contiennent 69 à 100% de MHC 2A et le complément en MHC 1 et MHC 2X. Elles sont à la fois rapides et dotées d'un métabolisme énergétique aérobie utilisant principalement le glycogène comme source d'énergie, par l'intermédiaire de la glycolyse aérobie et du cycle de Krebs. Elles possèdent pratiquement autant de mitochondries, de myoglobine et de capillaires que les fibres lentes. Ce sont des fibres rapides adaptées à soutenir un effort musculaire de résistance, des contractions de forte puissance, développées pendant quelques minutes.

Les fibres IIX contiennent un mélange de MHC 2X et MHC 2A et sont plus puissantes que les IIA. La puissance élevée des contractions est associée à une fourniture rapide d'ATP mais limitée dans le temps. Elles consomment de la créatine phosphate et du glycogène par la voie de la glycolyse aérobie qui aboutit à la formation d'acide lactique. Leurs caractéristiques en font des fibres spécialisées dans les contractions très puissantes pendant quelques dizaines de secondes (Snow et Valberg 1994, Rivero 1996).

De par ces caractéristiques, les fibres de type I favorisent l'exercice d'endurance tandis que les fibres de type II permettent d'effectuer un exercice de puissance. Ainsi, en fonction de la composition en fibres lentes et rapides des différents muscles locomoteurs du cheval, on peut penser que celui-ci présentera une meilleure aptitude à soutenir un effort d'endurance ou de puissance.

Les propriétés contractiles et métaboliques des muscles propulseurs constituent l'un des facteurs limitants qui déterminent la force et l'endurance du cheval à la course (Barrey 1994) .

B- Recrutement des fibres musculaires :

Lorsqu'à l'exercice, le muscle se contracte c'est en réponse à un recrutement, d'ordre prédéterminé, de certaines fibres. Cet ordre de recrutement permet le mouvement en synchronisant l'action de toutes les unités motrices, donc de toutes les fibres. Chaque unité motrice contient des fibres de même type. Au début de l'exercice, des unités motrices sont sélectionnées pour fournir la force nécessaire qui permet par exemple d'avancer la jambe.

Pour des exercices de faible intensité, ce sont les fibres de type I et quelques fibres de type IIA qui sont recrutées. La force produite par un muscle est proportionnelle au nombre de fibres actives. Lorsque la durée ou l'intensité de l'exercice augmente, de plus en plus de fibres sont recrutées en fonction de leur rapidité de contraction.

Les fibres musculaires de type IIB ne sont recrutées que pour des exercices à des intensités proches du maximal ou après avoir soutenu pendant plusieurs heures un exercice sous-maximal.

L'organisation musculaire est donc variable, il est intéressant d'explorer quels sont ces facteurs de variation. Pour cela diverses techniques d'exploration peuvent être mises en œuvre.

II- Exploration de la typologie musculaire chez le cheval

A- Les techniques de biopsie musculaire

Le prélèvement musculaire en vue de l'étude de la répartition des fibres, pour être intéressant, doit être réalisé dans une région facilement accessible par l'expérimentateur, dont la typologie musculaire est variable selon divers critères intrinsèques propres au cheval (race, âge du cheval, entraînement...) et le moins variable possible en ce qui concerne les facteurs extrinsèques tel la réalisation pratique du prélèvement (site, profondeur...). D'autre part, la technique doit être peu traumatique. L'athlète prélevé, homme ou animal, ne doit pas subir de détérioration musculaire et doit pouvoir reprendre son activité physique rapidement.

Il existe différents modes de prélèvement musculaire utilisés chez le cheval. En effet, la biopsie peut s'effectuer à l'aide d'une aiguille à biopsie manuelle, à l'aide d'un pistolet à biopsie et de ses aiguilles automatiques, ou bien la biopsie peut se faire manuellement à l'aide d'une lame de bistouri.

L'emploi d'aiguille à biopsie de petit diamètre (2 à 5 mm) permet de prélever en toute sécurité des échantillons de muscle de taille suffisante.

La technique de biopsie à l'aide du pistolet et des aiguilles automatiques est la technique la plus coûteuse mais aussi celle qui assure la meilleure précision du geste et la plus grande reproductibilité de la méthode de prélèvement.

Il existe une variabilité de la typologie musculaire qui est considérable en fonction de la position et de la profondeur du prélèvement. C'est pourquoi une étude a été réalisée afin de standardiser la technique de prélèvement et de limiter le plus possible les facteurs de variation de la typologie qui seraient dus à une variabilité de la méthode de prélèvement.

Des biopsies musculaires ont été réalisées dans le cadre d'une étude chez deux chevaux trotteurs (de 4 et 7 ans) euthanasiés, alors qu'ils étaient en condition de course, au niveau du muscle *gluteus medius* en divers sites et à différentes profondeurs. Les prélèvements musculaires étaient d'une taille de 2 cm³. Deux régions de prélèvements ont été définies l'une entre le *tuber coxae* et le *tuber sacrale*, l'autre entre le *tuber coxae* et la tête du fémur. Au niveau de chaque site des biopsies ont été réalisées à 4 profondeurs différentes. La différenciation des fibres musculaires a été faite par la coloration ATPase, ainsi deux types de fibres musculaires ont pu être différenciés : des fibres lentes et des fibres rapides.

Entre le *tuber coxae* et la tête du fémur, les échantillons montrent des différences significatives dans leur proportion de fibres lentes et rapides. Une tendance à l'augmentation de la proportion de fibres lentes du *tuber coxae* vers la tête du fémur est observée. De même, la comparaison des muscles prélevés à différentes profondeurs, montre une augmentation du pourcentage des fibres lentes depuis les compartiments superficiels vers les compartiments profonds.

En ce qui concerne les échantillons prélevés entre le *tuber coxae* et le *tuber sacrale*, il n'y a pas de différence significative pour les échantillons en fonction du site de prélèvement. Par contre, des différences significatives sont observées pour les muscles biopsés à différentes profondeurs : le pourcentage de fibres lentes augmente depuis la superficie jusqu'en profondeur. Les deux compartiments moyens, le superficiel et le profond, ne sont pas significativement différents du point de vue de leur contenu en fibres lentes. Le muscle *gluteus medius* peut être ainsi séparé en deux en respectant le pourcentage de fibres lentes : une partie superficielle contenant un pourcentage assez faible de fibres lentes et une partie profonde en contenant un pourcentage relativement élevé (Bruce et al 1985).

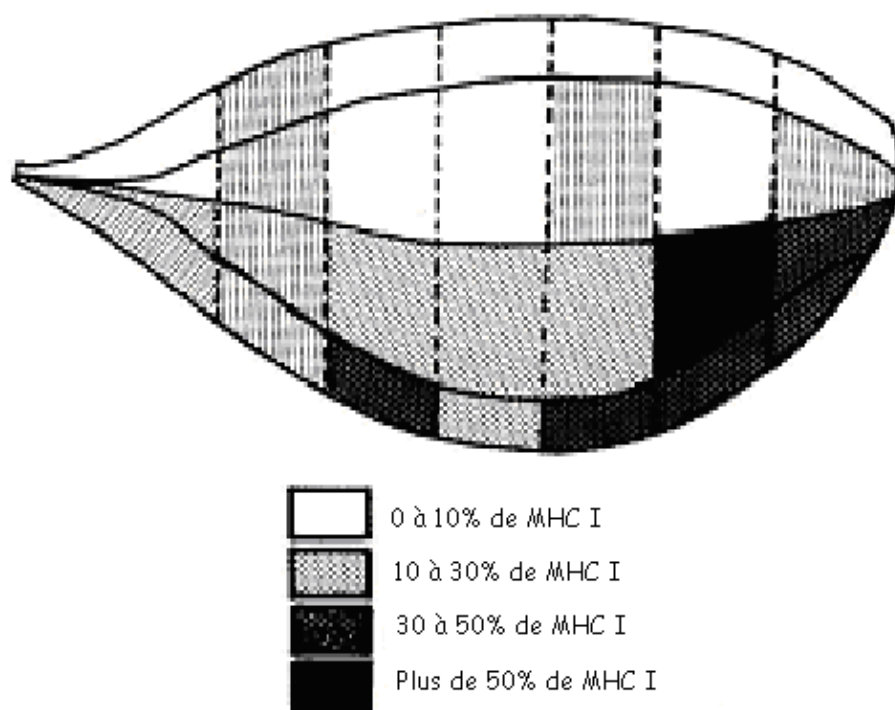


Figure 4 : Description de l'organisation structurale du muscle *gluteus medius* chez le cheval.

La technique a tout d'abord été décrite par Lindholm et Piehl. Cette technique constitue la technique de référence en matière de biopsie musculaire chez le cheval (Lindholm et Piehl 1974).

Valette et al (1999) ont établi les critères qui doivent être utilisés pour effectuer des prélèvements musculaires reproductibles en vue de leurs analyses biochimique et histochimique. Dans cette étude, 41 chevaux de race Trotteur Français à l'entraînement et âgés de 2 à 6 ans, ont été mesurés : poids, taille, largeur des hanches, circonférence du thorax au niveau du garrot. A l'aide d'un échographe de haute définition, les profondeurs totales des compartiments ventral et dorsal du muscle *gluteus medius* ont été mesurées. Les biopsies du muscle *gluteus medius* ont été réalisées en un site standardisé : pour le compartiment dorsal, au tiers de la distance séparant le *tuber sacrale* (TS) du *tuber coxae* (TC) et, pour le compartiment ventral, au tiers de la distance séparant le *tuber coxae* de l'espace intervertébral Cd1-Cd2 (attache de la queue). La biopsie est réalisée à une profondeur correspondant à la moitié de la profondeur totale du compartiment considéré.

Les résultats de cette étude sont que les distances TC-TS et TC-attache de la queue ne sont pas significativement différentes chez des chevaux d'âges et de sexes différents. La

profondeur des deux compartiment est significativement supérieure chez les mâles que chez les femelles. La composition musculaire en fibres est non homogène.

La standardisation du prélèvement musculaire par biopsie passe donc par le repérage anatomique des *tuber sacrale* et *coxae* et une prise des mesures précise afin de localiser le site de prélèvement. Enfin, la profondeur de prélèvement à 50% de la profondeur du compartiment à prélever a été mesurée par échographie. Il en découle que les biopsies doivent être réalisées entre 33 à 36 mm de profondeur dans le compartiment dorsal et entre 31 et 35 mm dans le ventral.

Enfin, la biopsie musculaire est une technique invasive. Son principal intérêt est de permettre l'investigation des modifications musculaires en fonction de diverses situations et en particulier les changements induits par l'entraînement. Il a donc fallu vérifier que le prélèvement musculaire par biopsie est compatible avec la pratique d'un exercice physique, c'est-à-dire vérifier qu'il n'est pas traumatisant.

Pour cela, une équipe a réalisé des biopsies du muscle *gluteus medius*, à droite et à gauche, répétées sur 7 chevaux Trotteurs afin de mettre en évidence, si elle existe, l'action traumatisante des prélèvements musculaires lorsqu'ils sont fréquents (Lindner et al. 2002).

Chaque site de prélèvement a fait l'objet de six biopsies : trois à la profondeur de 6 mm et trois à la profondeur 2 mm avec une aiguille à biopsie d'un diamètre de 6 mm, à intervalles réguliers de 7 semaines. 38 des 52 échantillons musculaires ont montré une morphologie normale au microscope tandis que 14 échantillons ont montré un remaniement musculaire. Un examen plus poussé au microscope électronique de ces zones a donc été réalisé, il a été observé dans ces zones en régénération des fibres musculaires dont l'aire est modifiée, mais l'ultra structure des cellules musculaires y est très souvent normale.

Cette étude montre que des biopsies réalisées à un intervalle de 7 semaines dans le muscle *gluteus medius* laissent au muscle le temps de se régénérer complètement dans la quasi totalité des cas.

Après un traumatisme, le tissu musculaire semble avoir une excellente capacité de régénération et de cicatrisation.

Le prélèvement musculaire par biopsie ne constitue pas, par conséquent, un élément limitant à l'étude de l'organisation musculaire chez des chevaux à l'entraînement.

B- Les techniques d'analyse de la typologie musculaire

Les analyses du tissu musculaire caractérisent le type métabolique (aérobie, anaérobie ou mixte) ou le type contractile (lent ou rapide) des fibres musculaires.

Il existe plusieurs méthodes d'analyse de la composition en fibres musculaires du muscle. Trois catégories d'analyses sont communément décrites : l'histologie, l'électrophorèse et l'immunoenzymologie.

a- Méthodes de typage histoenzymatiques

La plupart des travaux chez le cheval et l'athlète humain ont eu recours à une technique histologique : l'histoenzymologie. Elle a l'avantage de donner de nombreuses caractéristiques sur les fibres musculaires mais sa mise en œuvre est très longue (Lindholm et Piehl 1974, Snow et Guy 1980). C'est cette méthode qui a été à l'origine de la classification des fibres selon les types I, IIA et IIX.

Après dissection de la biopsie musculaire, des coupes transversales à l'axe des fibres musculaires sont préparées au microtome pour être ensuite colorées spécifiquement. Les différences d'activité enzymatiques des ATPases de la myosine sont révélées par une double incubation des coupes dans des solutions tampon acides (pH 4,3 puis 4,6), puis alcaline (10,3). Au microscope, les fibres lentes (I) apparaissent alors en foncé, les fibres rapides IIA en clair et les fibres rapides IIX en gris.

Le dénombrement de 200 à 500 fibres sur chacune des coupes histologiques conduit au calcul des proportions numériques des trois types de fibre. La surface relative des fibres musculaires peut être mesurée par des procédés informatisés d'analyse d'images. D'autres coloration peuvent être utilisées pour mesurer la densité des capillaires et des mitochondries.

b- Méthodes de typage par électrophorèse

Les différences de poids moléculaire et de charges électriques des chaînes lourdes de la myosine lente et rapide permettent de les séparer par la technique de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. La méthode de séparation par électrophorèse est utilisable dans le cadre d'une simple mise en évidence ou d'un dosage semi-quantitatif de chaque type de myosine. Dans ce cas, la migration différentielle des particules chargées électriquement se fait sous l'influence d'un champ électrique. Seules les particules chargées positivement ou négativement sont attirées par les pôles opposés du champ électrique.

La lecture des bandes par un densitomètre fournit une mesure quantitative de la composition en fibres des trois types. La séparation des fibres lentes et rapides est facile à réaliser, les fibres I étant celles qui migrent le plus lentement. Par contre, la séparation des fibres rapides IIA et IIB (ou IIX) est plus délicate. L'identification des bandes peut se faire à l'aide de deux références en myosine lente et rapide : le muscle de la joue (*masseter*) qui ne contient que de la myosine lente et le muscle cutané du tronc (*cutaneus tronci*) qui ne contient que des fibres rapides.

Par ailleurs, des anticorps monoclonaux anti-myosine lente et rapide peuvent être utilisés pour identifier les bandes sur le gel, il s'agit alors de la technique dite d'« immunoblotting ».

c- Méthodes de typage immunologique

Les chaînes lourdes de la myosine lente et rapide ont des propriétés antigéniques distinctes qui ont permis de préparer des anticorps monoclonaux anti-myosine lente et anti-myosine rapide ou encore anti- α -tubuline. L'emploi de ces anticorps en association avec différents procédés de marquage permet d'effectuer soit des dosages quantitatifs (*Immunoblotting et Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* ou ELISA), soit des colorations immunohistologiques. L'emploi d'anticorps monoclonaux dirigés contre les myosines lente ou rapide présente l'intérêt d'une grande sélectivité de dosage ou de marquage histologique.

La technique de dosage de la myosine lente est applicable chez le cheval (Valette et al 1995). Elle permet d'effectuer une analyse quantitative de la proportion de myosine lente (MHC I) contenue dans une biopsie musculaire. Par rapport aux méthodes histologiques, cette technique est plus rapide et permet de traiter par série un grand nombre d'échantillons.

Les méthodes de dosage immunoenzymatique et électrophorétique, permettent l'emploi de petites aiguilles à biopsie peu traumatisantes. En effet, pour ces techniques, l'intégralité de l'échantillon musculaire prélevé peut être dosée puisque, contrairement à l'histologie, l'orientation des fibres n'intervient pas. L'analyse par technique immunoenzymatique ou électrophorétique porte ainsi sur une quantité pondérale de muscle bien supérieure à celle d'une coupe histologique.

Rivero, dans son étude de 1999, a réalisé une comparaison de ces différentes techniques de typage sur 18 échantillons musculaires, il en conclut que les différentes techniques d'analyse donnent des résultats statistiquement peu différents. La méthode de typage immunologique ELISA ne donne pas des résultats différents de ceux obtenus par électrophorèse. Toutefois, les

méthodes histochimiques et immunohistochimique donnent des résultats différents de l'ELISA ou de l'électrophorèse en particulier en ce qui concerne les fibres rapides (Figure 5).

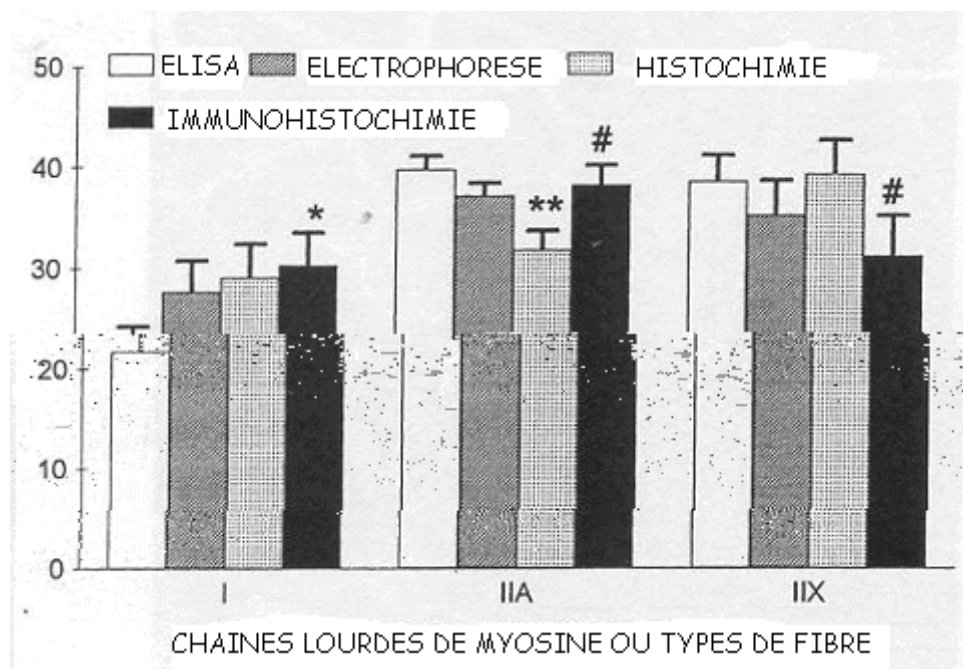


Figure 5 : Pourcentage des différents types de fibres musculaires obtenus par 4 techniques de typage sur 18 biopsies musculaires. D'après Rivero 1999.

III- Facteurs de variation de la typologie musculaire

A- Relation entre typologie musculaire et fonction du muscle

La typologie d'un muscle dépend avant tout de sa fonction principale : posturale, propulsive, respiratoire ou autre. Des muscles très spécialisés présentent des typologies types. Par exemple le muscle de la joue (*masseter*) est constitué à 100% de fibres lentes tandis que le muscle cutané du tronc dans la région du grasset (*cutaneus tronci*) est constitué de 98,5% de fibres rapides. Le diaphragme est riche en fibres lentes (près de 70%) qui permettent d'assurer la fonction ventilatoire sans fatigue. D'autre part, plusieurs études ont montré qu'il existe une répartition non homogène des types de fibres à l'intérieur de chaque muscle. Le fessier moyen, par exemple, comporte davantage de fibres lentes en profondeur qu'en surface (Kai 1984). A l'inverse, les fibres rapides IIX sont présentes en plus grande proportion en surface tandis que les fibres IIA ont une répartition plus homogène (Barrey 1994).

Le cheval est une espèce dont les muscles locomoteurs sont, de manière générale, très riches en fibres rapides : en moyenne 80% (IIA + IIX) contre 40% en moyenne chez l'homme pour le muscle fessier moyen.

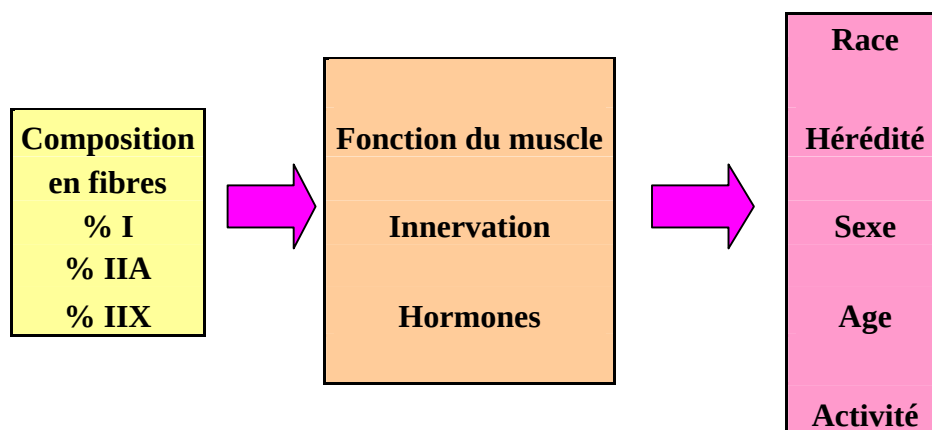
La composition musculaire du muscle gluteus medius équin fut décrite par Lindholm et Piehl en 1974. Cette première typologie a été obtenue grâce à des analyses histochimiques.

	n	Proportion (%)	Ecart type
Fibres lentes	12	24 %	5,8 %
Fibres rapides oxydatives IIA	12	54 %	9,1 %
Fibres rapides glycolytiques IIB	12	22 %	8,6 %

Tableau 2 : Exemple de typologie musculaire du muscle gluteus medius chez un groupe de Trotteurs américains adultes bien entraînés (Lindholm et Piehl 1974).

Le muscle squelettique locomoteur équin est composé de plus de trois quarts de fibres oxydatives (I + IIA), c'est donc un muscle bien adapté à la pratique sportive.

Facteurs de variation de la typologie d'un muscle



B- Facteurs génétiques de variation de la typologie musculaire

Chez l'homme, plusieurs études ont montré une plus grande ressemblance de la typologie musculaire entre des vrais jumeaux qu'entre des faux jumeaux, ou des frères et sœurs. Les facteurs génétiques ont donc une influence sur la typologie. Cependant, chez le cheval, aucune étude n'a mis en évidence la composante génétique de ces caractéristiques musculaires du fait de la lourdeur des analyses à mettre en œuvre. Par contre, l'influence de la race sur la typologie moyenne de certains muscles locomoteurs a été étudiée.

Une étude réalisée chez 20 étalons sédentaires de différentes races (8 andalous, 7 Arabes et 5 Anglo-arabes) qui ont été mis en entraînement d'endurance pendant trois mois, montre des réponses à l'entraînement différentes selon la race considérée. Les étalons Anglo-arabes ont une proportion plus faible de fibres de type I dans les échantillons de muscle superficiel et un pourcentage plus élevé de fibres de type IIA dans les échantillons de muscle profond comparés aux chevaux Andalous et Arabes. La proportion de fibres de type IIB oxydatives dans le muscle superficiel est plus élevée chez les Anglo-arabes que chez les Andalous.

La particularité des chevaux Anglo-arabes peut s'expliquer par le fait qu'ils sont mieux adaptés à des efforts de haute intensité : ils possèdent des fibres plus petites et mieux capillarisées qui favorisent les métabolismes oxydatif et glycolytique par une meilleure diffusion de l'oxygène et une meilleure élimination des déchets métaboliques. Par contre cette petite taille confère une moindre force de contraction du fait de la diminution du nombre de protéines contractiles. Or, il faut que plus d'unités motrices soient recrutées pour maintenir une même force lorsque la taille des fibres diminue.

Les différences de typologie musculaire chez des chevaux de différentes races sont plus évidentes dans les compartiments superficiels du muscle *gluteus medius* (Rivero et al 1995). En effet, les différentes races ont des caractéristiques locomotrices propres. Or les fibres des parties profondes du muscle fessier moyen sont recrutées pour exercer des fonctions de posture tandis que les fibres des compartiments superficiels exercent un rôle important dans la locomotion.

D'autre part, il a été démontré que les chevaux qui ont un très faible pourcentage de fibres de type IIA utilisent moins de glycogène et produisent moins de lactates que les chevaux qui ont un pourcentage élevé de fibres de type IIX (Lindholm 1986, Lindholm 1995).

Une étude menée sur 4 chevaux Pur-Sang et 4 chevaux Trotteurs Américains de même stade d'entraînement montre que les Trotteurs possèdent un plus grand pourcentage de fibres I ($p < 0,05$) et un plus faible pourcentage de fibres IIB ($p < 0,05$) que les Pur-Sang (Valberg 1987). Les Pur-Sangs seraient musculairement plus adaptés à de brefs efforts de vitesse.

Tableau 3 : Composition du muscle gluteus medius de différentes races de chevaux. Pourcentage des différents types de fibres. D'après Snow et Valberg (1994).

Race	n	Fibres I moyenne (écart-type)	Fibres IIA moyenne (écart-type)	Fibres IIX moyenne (écart-type)
Quarter Horse	28*\$	8,7 (0,8)	51,0 (1,6)	40,3 (1,6)
Pur-sang	50*\$	11,0 (0,7)	57,1 (1,3)	32,0 (1,3)
Pur-sang	22*+	7,3 (0,9)	61,2 (1,5)	28,8 (1,5)
Arabe	6*	14,4 (2,5)	47,8 (3,2)	37,8 (2,8)
Trotteur	8	24,0 (3,6)	49,0 (3,1)	27,0 (3,3)
Trotteur	9*+	18,1 (1,6)	55,4 (2,2)	26,6 (2,0)
Poney Shetland	4*	21,0 (1,2)	38,8 (1,9)	40,2 (2,7)
Poney	8*	22,5 (2,6)	40,4 (2,3)	37,1 (2,8)
Cheval de chasse	7*	30,8 (3,1)	37,1 (3,3)	37,8 (2,8)
Ane	5*	24,0 (3,0)	38,2 (3,0)	32,1 (3,4)

* hors entraînement, + étalons (haras), \$ juments

C- Age et typologie musculaire

Lindholm et Piehl (1974) ont tout d'abord montré chez 68 trotteurs américains âgés de 6 mois à 8 ans que le pourcentage de fibres IIA augmente de 5 pour cent entre le groupe des poulains de 6 mois et le groupe des chevaux de 4 à 8 ans, tandis que le pourcentage des fibres IIX diminue de 6 pour cent. L'étude de la composition musculaire en fibres a été réalisée en utilisant la coloration de l'activité de l'ATPase.

Afin d'étudier l'effet de l'âge sur l'organisation musculaire, Ronéus (1993) a réalisé des biopsies en un site standardisé du muscle gluteus medius chez 107 Trotteurs américains à l'entraînement âgés de 1 à 6 ans, chez des mâles et des femelles (48 femelles, 59 étalons). Les échantillons musculaires ont été analysés par la méthode histochimique de coloration de l'activité de l'ATPase. Le résultat de cette étude transversale est que le pourcentage de fibres de type I augmente systématiquement avec l'âge, indépendamment du sexe, entre 1 et 6 ans.

En effet, la typologie musculaire est influencée par l'âge : le pourcentage de fibres IIA augmente chez les mâles de 34 à 53 pour cent, et chez les femelles de 27 à 45 pour cent. A l'inverse, la proportion de fibres IIB diminue avec l'âge : de 56 à 29 pour cent chez les mâles et de 65 à 40 pour cent chez les femelles (Roneus et al. 1991).

Il a été mis en évidence qu'un groupe de yearlings possède un pourcentage plus faible de myosine rapide qu'un groupe de plus vieux chevaux, ceci est vrai jusqu'à l'âge de 4 ans chez des chevaux sélectionnés sur de bonnes performances (Barrey et al. 1999).

En ce qui concerne les enzymes musculaires, Ronéus, dans son étude de 1993 précédemment citée, a étudié l'activité de la citrate synthase : son activité augmente de façon marquée entre l'âge de un an et jusqu'à 6 ans (de 30 à 62 mmol/kg/min). L'activité de la lactate déshydrogénase diminue avec l'âge (de 1,930 à 1,565 mmol/kg/min) mais n'est pas différente selon le sexe. Dans cette étude, il n'a pas pu être mis en évidence de changement avec l'âge de l'activité de la 3-OH-acyl-CoA Dehydrogénase (HAD).

D- Sexe et typologie musculaire

Les mâles ont toujours été considérés comme de meilleurs athlètes que les femelles. Ce sont souvent eux qui remportent les courses classiques (depuis 1968, soit en 35 éditions du Prix d'Amérique, seules 7 femelles ont été victorieuses) . En fait, des différences ont été mises en évidence entre les mâles et les femelles en ce qui concerne le nombre relatif de fibres de type II.

Ronéus a montré chez 107 Trotteurs Suédois que la proportion de fibres de type I augmente avec l'âge, indépendamment du sexe. Par contre, la proportion de fibres de type IIA et IIX varie avec l'âge de manière différente chez les mâles et chez les femelles : l'augmentation des fibres IIA est différente chez les femelles (de 37 à 47% entre 1 et 4 ans) que chez les mâles (de 40 à 48%), et la diminution des fibres IIX également (de 49 à 34% chez les femelles, et de 43 à 30% chez les mâles) (Ronéus, 1993).

Ronéus a montré que la proportion de fibres de type II chez des chevaux Pur sang anglais est différente entre les mâles et les femelles alors que cette différence liée au sexe n'est pas retrouvée pour des chevaux Trotteur américain de même âge (Ronéus et Lindholm, 1991).

La plus grande différence mise en évidence entre les deux sexes est l'aire relative occupée par les fibres II, les étalons montrent une aire relative plus grande des fibres IIA et une aire plus petite des fibres IIB comparativement aux femelles (Ronéus, 1993).

Les mâles montrent une proportion plus élevée de fibres de type IIA que les femelles de même âge, et une proportion plus faible de fibres de type IIB. Le ratio de fibres IIA/IIB est plus élevé chez les mâles que chez les femelles (Ronéus, 1993). Dans cette étude, Ronéus n'a pas pu mettre en évidence de différence liée au sexe en ce qui concerne les activités enzymatiques.

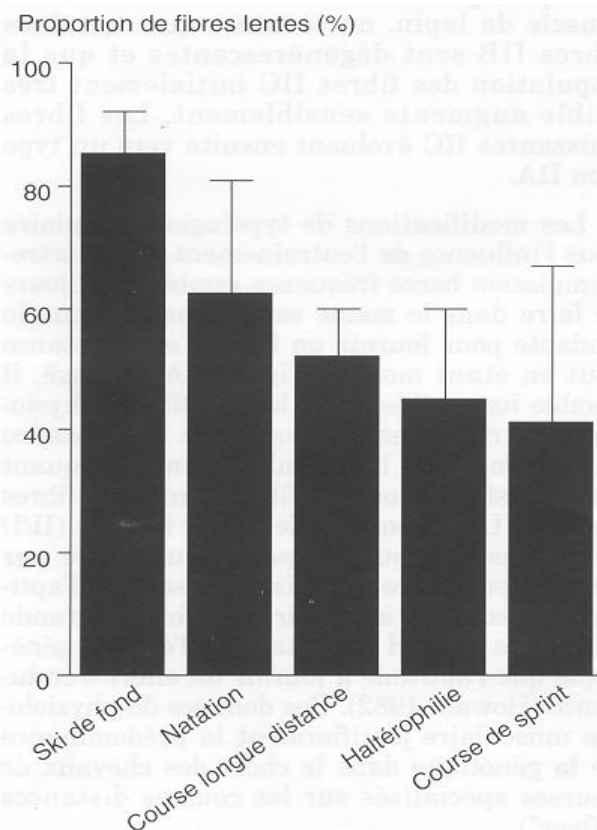
Barrey et al. (1999) ont étudié la typologie du muscle *gluteus medius* et du muscle *biceps femoris* chez 100 chevaux de race Anglo-Arabe, comprenant 46 mâles et 54 femelles. Les biopsies ont été réalisées en des sites standardisés. Les pourcentages de fibres lentes et rapides

ont été définis par la méthode ELISA. Une analyse de variance a permis d'étudier l'effet du sexe sur la typologie. Les résultats montrent que les mâles possèdent un pourcentage plus élevé de fibres de type rapide que les femelles. Les mâles présentent dans cette étude 69,5% ($\pm 0,7$) de fibres rapides (IIA + IIX) contre 66,6% ($\pm 0,7$) pour les femelles.

E- Entraînement et typologie musculaire

Chez l'homme, un sujet sédentaire possède autant de fibres rapides que de fibres lentes, alors que les sportifs de haut niveau spécialisés dans les efforts de longue durée montrent un pourcentage prédominant de fibres I. Pour les sprinters, ce sont, à l'opposé, les fibres II qui dominent (Lacour 1989). L'entraînement influe donc sur la distribution relative des fibres de l'athlète humain.

Figure 6 : Pourcentage de fibres lentes en fonction de la discipline sportive pratiquée par des athlètes humains. D'après Bergh et al. 1978.



Une étude a été réalisée par Henckel sur 5 chevaux trotteurs mâles sédentaires sains de deux ans mis à l'entraînement. Les biopsies musculaires du muscle gluteus medius avaient lieu après deux, quatre et six mois d'entraînement. Les chevaux étaient entraînés six jours par semaine en intervalle training et endurance (1h de trot une à deux fois par semaine).

Un groupe de 5 trotteurs non entraînés de trois ans a été étudié en parallèle afin d'observer les différences liées à l'entraînement mais aussi de façon inévitable à l'âge, les deux effets étant inséparables.

La classification des fibres n'était basée que sur la coloration ATPase.

Henckel a pu observer une augmentation ($p < 0.05$) du pourcentage de fibres lentes (de 18 à 25% des fibres totales) et une augmentation du pourcentage des fibres de type IIA (de 36 à 45%) après six mois d'entraînement. Ils ont pu observer, en même temps, une diminution du pourcentage des fibres de type IIB (de 46 à 30%).

L'augmentation de la proportion de fibres I n'est significative qu'après 4 mois d'entraînement.

Il n'a pas pu être mis en évidence de différence entre les 2 et 3 ans (Henckel 1983).

Type de fibre	2 ans non entraînés	Après 2 mois d'entraînement	Après 4 mois d'entraînement	Après 6 mois d'entraînement
I	18,3 (6,1)	17,1 (7,3)	21,1 (3,0)	25,4 (3,8)
IIA	35,6 (10,0)	39,0 (5,3)	46,1 (5,5)	44,8 (6,1)
IIX	46,2 (9,1)	44,0 (11,4)	32,9 (4,9)	29,9 (3,8)

moyenne (EC)

Tableau 4 : Influence de l'entraînement sur le pourcentage de la distribution des différents types de fibres chez cinq trotteurs âgés de deux ans. D'après Henckel (1983).

Plusieurs études ont permis de montrer que l'âge et l'entraînement provoquent des modifications dans les caractéristiques musculaires du muscle fessier moyen : augmentation du ratio IIA/IIB et augmentation de la capacité oxydative (Essen 1980 ; Lindholm 1983 ; Essen-Gustavsson 1985).

Rivero et al. (1995) ont étudié une population de 20 étalons sédentaires âgés de 5 à 14 ans, appartenant à différentes races (8 Andalous, 7 Arabes et 5 Anglo-arabes) mis à l'entraînement d'endurance pendant trois mois. Sur ces chevaux, ont été réalisées des biopsies du muscle fessier moyen à deux profondeurs (20 mm et 60 mm) avant et après entraînement puis après trois mois de repos.

Une augmentation significative de la proportion des fibres I est observée dans les échantillons prélevés en profondeur dans le muscle et des fibres de type IIB oxydatives dans les échantillons prélevés en superficie, dans le muscle après entraînement chez les chevaux Andalous et chez les Anglo-Arabes. Il est donc possible que se produise une transformation progressive des fibres de type IIA en fibres de type I avec un entraînement d'endurance.

Cette étude a permis de mettre en évidence une augmentation de taille des fibres I et IIA dans les échantillons prélevés en profondeur chez les chevaux Andalous et Arabes. Or, le travail demandé aux chevaux était un travail de faible intensité et de longue durée, donc un travail typiquement aérobie. L'augmentation de taille des fibres à métabolisme aérobie était donc attendue.

Il n'a pas pu être montré de différence significative dans la typologie musculaire chez ces chevaux avant entraînement et après une période de repos.

Une autre étude menée chez 14 chevaux Andalous âgés de 2 à 4 ans met en évidence, après une période d'entraînement de huit mois, une diminution des fibres IIX et une augmentation des fibres I. Le pourcentage de fibres IIA n'était pas modifié par l'entraînement. Ils ont pu noter une augmentation de la proportion de fibres à haut pouvoir oxydatif (Rivero et Serrano 1999).

Le pourcentage de fibres rapides oxydatives (IIA) et peu oxydatives (IIX) est significativement différent chez les chevaux entraînés par rapport aux chevaux non entraînés (Lindholm et Piehl 1974 ; Essen-Gustavsson 1985) :

Lindholm et Piehl (1974) montrent que la proportion de fibres IIA augmente de 5% entre un groupe de jeunes chevaux (6 mois) et un groupe de chevaux d'âge (4 à 8 ans) ce qui est probablement à mettre en relation avec l'entraînement. A l'inverse, les fibres rapides non oxydatives (IIX) voient leur proportion diminuer de 6% avec l'âge donc avec l'entraînement.

Le nombre et la taille des mitochondries augmentent linéairement. 0 Ts m

Une étude a montré qu'une période d'entraînement intense (1h de travail foncier par jour, 6 jours par semaine) d'une durée de cinq semaines ne modifie pas la typologie musculaire des 5 trotteurs, par contre il a été mis en évidence une augmentation du diamètre des fibres IIA de 19 pour cent et une augmentation de la densité capillaire de 17 pour cent. Ces résultats montrent qu'une période d'entraînement intense entraîne une augmentation rapide de la capacité oxydative et de la densité capillaire d'un muscle au travail. Ces modifications métaboliques sont ensuite conservées lorsque l'on diminue la charge de travail (Essen-Gustavsson et al. 1989).

Chez 10 chevaux Pur-Sang, âgés de deux à neuf ans, il a été réalisé une période d'entraînement de six semaines consistant en 3000 m par jour sur tapis roulant, à une intensité de 40% de VO₂max pour le groupe 1 (n = 5) et 80% de VO₂max pour le groupe 2 (n = 5). Des biopsies du muscle fessier moyen ont été réalisées sur ces chevaux selon la technique décrite par Lindholm avant la mise à l'entraînement, après 6 semaines de travail foncier, puis après 6 semaines de semi-repos. Dans le groupe ayant travaillé à 80% de VO₂max, une élévation de 28% du pourcentage de fibres musculaires IIA et une baisse de 29% des fibres musculaires rapides IIB ont été observées après la période d'entraînement.

Après six semaines de semi-repos, la proportion de fibres est restée inchangée et la proportion relative des fibres rapides IIA augmente.

Mais une immobilisation forcée réduit chez certains muscles locomoteurs majeurs le nombre des fibres rapides IIB et augmente le nombre des fibres lentes.

Dans le groupe ayant travaillé à 40% de VO₂max, les proportions de fibres I, IIA et IIX et le ratio IIA/IIX restent inchangés après entraînement et après repos (Sinha et al 1991).

L'activité de la citrate synthase augmente avec l'âge et l'entraînement, cette augmentation pouvant être mise de sur le compte de l'augmentation des fibres de type I et IIA et de la diminution des fibres de type IIB. L'entraînement, on le sait, participe à l'augmentation de l'activité oxydative dans le muscle (Ronéus 1993). Henckel a mis en évidence chez 5 trotteurs de 2 ans mis à l'entraînement, comparés à un groupe témoin de sujets sédentaires, une augmentation de l'activité de la citrate synthase de 31% et une augmentation de l'activité de l'HAD de 50% (Henckel 1983). D'autres études ont montré qu'elle augmente avec l'entraînement chez le Pur-Sang anglais (Lindholm 1983 ; Snow et Guy 1979 ;1981).

L'augmentation de l'activité de l'HAD est toutefois controversée. En effet, dans certaines études réalisées chez des Trotteurs Américains, l'activité de l'HAD est identique pour des chevaux entraînés et des chevaux non entraînés (Lindholm 1983 ; Henckel 1983).

Il semble donc que l'entraînement modifie la composition musculaire du muscle squelettique équin selon un ordre de conversion que voici :

Fibres de type IIX → Fibres de type IIA → Fibres de type I

Ce qui suggère une réduction de la vitesse de contraction du muscle associée à une augmentation de la résistance à la fatigue musculaire.

En conclusion, l'entraînement modifie le profil contractile et métabolique du muscle squelettique dans le sens d'une augmentation de son potentiel aérobie, donc dans le sens de l'augmentation de la proportion de fibres lentes I puis rapides IIA, qui ont un métabolisme oxydatif, au dépend des fibres rapides IIB.

F- Niveau de performance et typologie musculaire

Chez l'athlète humain plusieurs études ont montré les rapports entre la typologie musculaire et la discipline sportive pratiquée (Bergh et al. 1978).

Une étude réalisée sur 100 chevaux Anglo-arabes (46 mâles ou hongres et 54 femelles âgés de 1 à 24 ans) a cherché à calculer le pourcentage d'héritabilité des chaînes lourdes de myosine rapide du muscle squelettique équin et sa relation à la performance (Barrey et al. 1999). Dans cette étude, l'indice moyen de performance est corrélé positivement avec le pourcentage de myosine rapide des muscles *gluteus medius* et *biceps femoris*, cette corrélation est meilleure pour le muscle *gluteus medius* que pour le *biceps femoris*. Une analyse de variance a montré un effet significatif du niveau de performance sur le pourcentage de myosine rapide dans le muscle fessier moyen. Le pourcentage de myosine rapide est significativement plus élevé (6 points) chez les chevaux de niveau élite que chez les chevaux avec un faible indice de performance en ce qui concerne les disciplines de galop et de saut d'obstacles. Cette différence significative n'a pas pu être mise en évidence pour les chevaux des disciplines de steeple chase ou de concours complet, preuve que l'aptitude pour ces disciplines est probablement liée à d'autres facteurs plus importants que la seule proportion entre myosine lente et rapide.

Une étude sur le cheval trotteur américain a montré que sa vitesse sous maximale V200, mesurée au cours d'un test d'effort, était corrélée positivement avec le pourcentage de fibres rapides IIA et négativement avec celui des fibres rapides IIB (Valberg et Essen-Gustavsson 1987). Or, la V200 est un paramètre physiologique bien corrélé à la performance en course de trot (Couroucé 2000 ; Leleu et al. 2003).

Chez les chevaux d'endurance, une étude a été réalisée sur 36 chevaux d'endurance de différentes races (17 Anglo-arabes, 9 Arabes purs, 10 Arabes croisés), de différents sexes (1 étalons, 17 hongres et 18 juments), âgés de 4 à 17 ans, entraînés de façon similaire depuis au moins deux ans et vivant dans des conditions comparables.

Les biopsies musculaires étaient réalisées à trois profondeurs différentes (20 mm, 40 mm, 60 mm) à travers la même incision dans le muscle fessier moyen selon la technique de Lindholm et Piehl, 1974. Les biopsies ont été réalisées par le même expérimentateur ; le site de prélèvement a été fixé à un tiers de la distance séparant le *tuber coxae* de la base de la queue, c'est à dire que les prélèvements étaient donc systématiquement effectués dans le compartiment ventral du muscle *gluteus medius*.

Cette étude montre par le biais d'une analyse discriminante et d'une analyse en composante principale que les meilleurs individus (classés selon leurs trois meilleures performances depuis deux à trois ans) ont des muscles *gluteus medius* plus riches en fibres I et IIA dont la taille est plus grande que chez des chevaux de moins bon niveau, les meilleurs chevaux possèdent une moins grande proportion de fibres IIB et enfin ils possèdent une plus grande capacité oxydative que les chevaux de niveau moyen (Rivero 1996).

Cette étude met en évidence l'importance de l'utilisation d'une analyse statistique multi variable pour traiter les informations résultantes des multiples biopsies réalisées dans le muscle fessier moyen, dans le but de les mettre en relation avec la performance. La précision de ces informations sera d'autant plus grande que des biopsies auront été pratiquées à différentes profondeurs sur le même site.

Une étude, dont le but était de mettre en évidence un rapport entre la meilleure performance sur 1600m et la typologie musculaire, a été réalisée sur 13 jeunes chevaux Trotteur Américain de deux ans, cliniquement sains. Les résultats de cette étude sont qu'il n'y a pas de corrélation entre le pourcentage de fibres de type I, IIA et IIB dans le muscle fessier moyen et la vitesse atteinte sur 1600m de trot à vitesse maximale (Ronéus 1997).

Ronéus et Essen-Gustavsson ont réalisé un protocole d'étude concernant 25 chevaux Trotteur Américains (Ronéus et al. 1999). Sur ces chevaux, étaient réalisés des prélèvements sanguins à la veine jugulaire et des biopsies musculaires du muscle *gluteus medius* 5 à 10 minutes après une course. Les caractéristiques musculaires, les lactates et l'ammoniaque plasmatiques après la course ont été comparés pour chaque cheval avec son indice de performance individuel IPI (calculé annuellement en prenant compte de : % de 1^{ère}, 2^{ème} ou 3^{ème} places, les gains annuels, la moyenne des gains rapportée au nombre de départs pris et le record en course). Il n'a pu être mis en évidence de rapport à la performance.

Hodgson, Rose et Allen (1982) ont mis en évidence, chez des chevaux d'endurance, que les chevaux réalisant les meilleures performances ont plus de fibres de types I et IIA dans leur muscle *gluteus medius* que des compétiteurs de niveau moyen.

Une étude réalisée sur 36 chevaux Trotteurs Américains, dont 12 sédentaires, 12 chevaux de niveaux moyens et 12 chevaux avec d'excellents niveaux de performance montre que le pourcentage de fibres de type I est similaire dans les trois groupes, par contre on note des différences très significatives en ce qui concerne la répartition des fibres de types II. En effet, les chevaux les meilleurs présentaient une plus forte proportion de fibres de type IIA et une plus faible proportion de fibres IIB :

Niveau de performance/type de fibres II	IIA	IIB
Niveau excellent (n=12)	58 %	15 %
Niveau moyen (n=12)	49 %	26 %
Sédentaires (n=12)	41 %	35 %

Tableau 5 : Typologie musculaire et niveau de performance chez le Trotteur Américain (Essen-Gustavsson et Lindholm, 1985).

La typologie musculaire du muscle fessier moyen du cheval est donc variable selon divers critères que sont la race, l'âge, le stade d'entraînement, le niveau de performance. Ces éléments ont été décrits chez les chevaux d'endurance, chez les Pur-Sangs, et chez des chevaux de concours hippiques. Le rapport entre typologie musculaire et niveau de performance a été mis en évidence chez des chevaux qui sont usuellement spécialisés dans des disciplines d'endurance pour les uns et dans des disciplines de puissance (sprint, saut) pour les autres.

Chez le trotteur, athlète de demi-fond, la question se pose de savoir si la typologie musculaire est, comme dans d'autres disciplines, un critère de performance.

Partie expérimentale

Le but de cette étude est d'estimer la composition en fibres de myosine d'un muscle propulseur de la croupe chez le cheval Trotteur Français, le muscle fessier moyen.

Nous souhaitons étudier ses facteurs de variation (âge, sexe, stade d'entraînement, niveau de performance) dans le but de mettre en évidence, si elle existe, la relation entre typologie musculaire chez le Trotteur Français et niveau de performance en course.

Si nous pouvons mettre en évidence cette relation, elle nous permettra de tenter de proposer un nouveau critère objectif de sélection précoce des meilleurs chevaux de course.

I- Matériel et méthode

A- Animaux

Les sujets sont répartis dans deux populations :

Population A :

La première population (A) est constituée de chevaux Trotteurs dont le muscle *gluteus medius* a été prélevé alors qu'ils étaient en début d'entraînement et qui, pour la majorité d'entre eux, ont aujourd'hui fini leur carrière de course. Les données concernant ces chevaux serviront de support à une étude longitudinale de la relation liant typologie musculaire et performance chez le Trotteur Français.

La population pour cette étude est constituée de 64 chevaux de race Trotteur Français biopsés au début de leur carrière alors qu'ils étaient à l'entraînement et dont les performances en course au trot ont été répertoriées. 30 chevaux ont été biopsés, en 1998 et 1999, à 2 ans, 16 chevaux à 2,5 ans, 8 à 3 ans et 10 à 4 ans et plus. L'âge moyen des chevaux est 2,4 ans.

Sachant que l'engagement en course au trot n'est possible que jusqu'à l'âge de 10 ans, et que les trotteurs ne courent, en moyenne, que jusqu'à l'âge de 7 ans, les chevaux considérés dans cette étude ont, pour la quasi totalité, fini leur carrière de course. De la sorte, toutes leurs performances ont pu être exploitées.

Les chevaux se répartissent en 30 femelles et 34 mâles. 22 chevaux ne se sont pas qualifiés en course de trot ; ils sont donc non performants par défaut. 4 chevaux se sont qualifiés mais ont trop peu courus pour avoir un ITR, leurs gains sont nuls ; ils sont non performants.

Ces chevaux, d'âges similaires, étaient entraînés de façon très comparable dans deux centres d'entraînement voisins. L'entraînement était réalisé à des intensités contrôlées, à l'aide des fréquences cardiaques FC2 et FC4, correspondant aux seuils SL1 et SL2, calculées après un test d'effort standardisé de terrain pour le cheval trotteur (Couroucé 2000).

Population B :

La seconde population (B) est constituée de chevaux Trotteurs de tous âges et de tous niveaux de performance dont le muscle *gluteus medius* a été prélevé au cours de l'année. Les données concernant ces chevaux permettront de réaliser une étude transversale sur le même thème.

D'autre part, 71 chevaux Trotteurs Français à l'entraînement ont été prélevés, entre le 1^{er} octobre 2002 et le 30 juin 2003, chez 13 entraîneurs différents. Ces chevaux sont répartis en différentes classes d'âge allant de 2 à 9 ans (9 chevaux biopsés à 2 ans, 21 biopsés à 3 ans, 14 biopsés à 4 ans, 11 biopsés à 5 ans, 6 biopsés à 6 ans, 2 biopsés à 7 ans, 3 biopsés à 8 ans, 1 à 9 ans et 2 à 10 ans). Cette population est constituée de mâles et hongres (n = 36) et de femelles (n = 34).

B- Méthodes

a- Les indices de performance en course au trot

Le but de ce protocole est d'étudier la relation liant la typologie musculaire chez le trotteur à son niveau de performance. Six critères de performance ont donc été définis :

- 1- la réussite à la qualification sur une épreuve de 1500 m,
- 2- la valeur maximale de l'ITR au cours de la carrière de course (répartition normale).

L'ITR (Index de TRot) est un index de performance annuel officiel publié par les Haras Nationaux.

L'ITR est calculé sur la base du total des gains accumulés par le cheval sur une année de compétition en fonction du nombre de courses courues. L'accumulation des gains forme une répartition exponentielle. Pour normaliser ce paramètre, le calcul de l'ITR prend en compte le logarithme des gains totaux ramenés aux nombres de départs.

$$\text{ITR} = \text{Log} (\text{Gains totaux} / \text{Nbre de départs})$$

Enfin, ce résultat est corrigé en fonction de $\left\{ \begin{array}{l} \text{l'année des performances,} \\ \text{le sexe,} \\ \text{l'âge.} \end{array} \right.$

L'ITR moyen est 100, un écart type = 20.

Les chevaux de niveau moyen ont donc un ITR autour de 100, les chevaux bons performers ont un ITR supérieur à 120, les moins bons ont un ITR inférieur à 80.

Les individus peuvent ainsi être classés en fonction de leur niveau de performance par leur ITR.

L'ITR étant un indice annuel, c'est la valeur maximale atteinte par l'ITR qui est prise en compte (ITR max).

- 3- le total des gains accumulés par le cheval, exprimés en Euros (distribution non normale).
- 4- le record en course homologué par la Société du Cheval Français (distribution normale),
- 5- le pourcentage de réussite en course de trot, calculé en divisant le nombre de courses dans lesquelles le cheval gagne ou est placé par le nombre total de courses courues (distribution normale),
- 6- le gain moyen par course courue, calculé en divisant le total des gains par le nombre de courses courues (distribution non normale).

Tableau 5 : Description de la population A des 64 chevaux biopsés en 1998-1999..

Critère de performance	ITR max	Gains totaux (€)	Record (min'seconde'')	% réussite	Gain/course (€)
Moyenne	109	36 784	1'18''6	37	881
Ecart-type	18	46 490	2''5	20	822
Min - Max	65 - 141	0 – 162 491	1'14''3-1'23''6	0 - 74	0 - 3022
n	38	42	37	42	39

Tableau 6 : Description de la population B des 71 chevaux biopsés en 2002-2003.

Critère de performance	ITR max	Gains totaux (€)	Record (min'seconde'')	% réussite	Gain/course (€)
Moyenne	107	23 774	1'18''8	52	776
Ecart-type	18	46 736	2''5	18	738
Min - Max	58 - 143	0 – 332 019	1'13''4-1'26''3	0 - 100	0 - 5031
n	47	70	54	70	56

Les chevaux, leurs indices de performances (BTR, ITR, pourcentage de réussite en course) et leurs performances brutes sont fournis en annexe.

b- Les prélèvements musculaires

1- Standardisation de la technique de prélèvement

Il a été vu précédemment que de nombreux facteurs comme l'âge, l'entraînement... provoquent des modifications des caractéristiques du muscle fessier moyen : augmentation du ratio IIA/IIB, augmentation de la capacité oxydative... (Essen 1980 ; Lindholm 1983 ; Essen-Gustavsson 1985). Cela amène à penser que ce muscle est très actif et très influencé par l'entraînement, ce qui en fait un très bon témoin d'étude de la typologie musculaire et de ses facteurs de variation.

Le muscle fessier moyen est subdivisé en plusieurs compartiments. Il apparaît évident, à la vue des études précédentes, que la distribution régionale des différents types de fibres au sein de ce muscle reflète une interrelation structure-fonction. Cette interrelation est la cause d'une différenciation fonctionnelle du muscle. Les régions profondes du muscle semblent intervenir plus particulièrement dans la posture ; ces régions profondes sont constituées, en majeure partie, de fibres de longue mais de faible activité, c'est-à-dire des fibres de type I.

Différentes parties de ce muscle sont utilisées dans différentes phases du mouvement, ainsi la sollicitation fonctionnelle des fibres varie selon la région musculaire. Les fibres développent donc différentes propriétés.

La distribution des fibres dans les parties superficielles indique une fonction orientée vers la génération de contractions de courte durée, rapides et développant une force de propulsion, ce qui est primordial dans la locomotion (Rivero et al. 1992). Il semble donc intéressant de pratiquer des prélèvements musculaires dans une région assez superficielle du muscle *gluteus medius*.

Les échantillons de muscle ont été prélevés au moyen d'une biopsie musculaire au niveau du muscle fessier moyen gauche selon la technique préconisée par Valette et al. (1999).

Les prélèvements ont donc tous été réalisés au tiers dorsal de la distance séparant le sommet du relief du *tuber sacrale* du relief le plus latéral de la pointe crâniale du *tuber coxae* gauches (processus cranialis) et à une profondeur de 35 mm dans le compartiment dorsal du muscle *gluteus medius* gauche et de la même manière dans le compartiment ventral gauche (Valette et al. 1999).

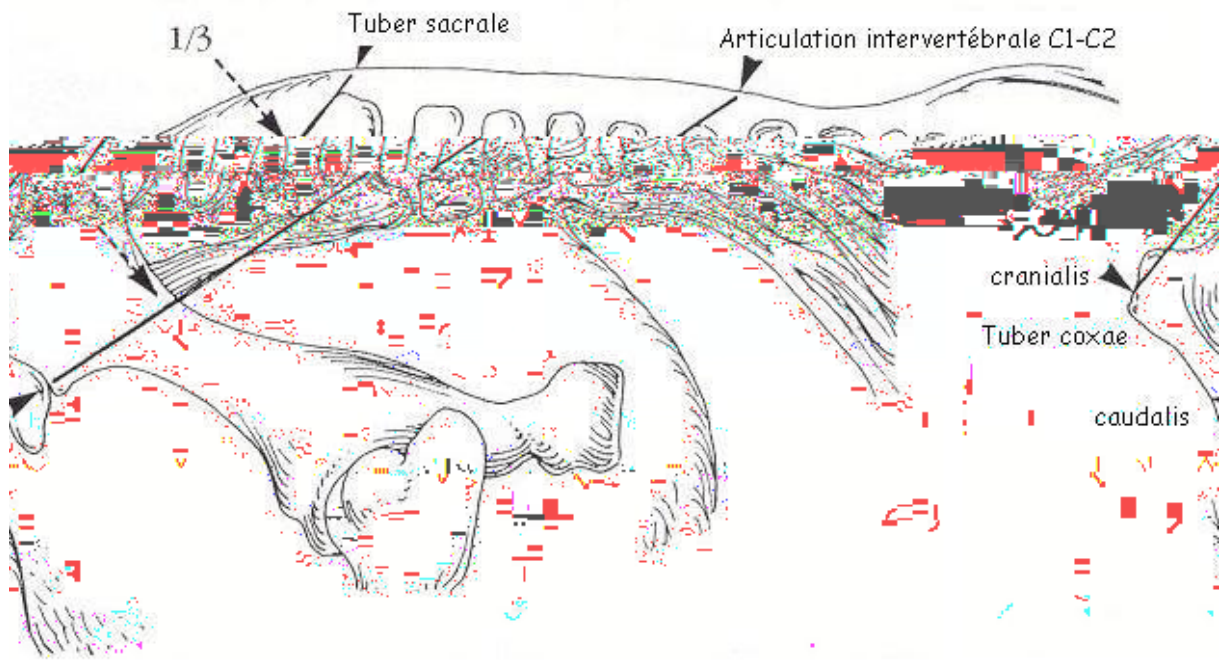


Figure 7 : Localisation standardisée du site de biopsie musculaire dans le compartiment dorsal du muscle gluteus medius ou dans son compartiment ventral.

2- Réalisation pratique des biopsies



La première étape consiste donc à repérer les formations anatomiques citées et à localiser le site de prélèvement musculaire.



Une anesthésie locale du site de prélèvement est ensuite réalisée par voie sous-cutanée et intradermique. Cette anesthésie est réalisée avec 1 ml de Laocaïne® (20 mg de lidocaïne).



Un micro prélèvement musculaire (10-20 mg) est réalisé à une profondeur standard de 3,5 cm au moyen d'un pistolet à biopsie et d'une aiguille à biopsie automatique (Bard, Magnum MN1410) de faible diamètre (14G – 2mm de diamètre).



L'aiguille à biopsie est graduée tous les 0,5 cm, on peut donc facilement repérer la profondeur à laquelle se fait le prélèvement.



L'échantillon de muscle est alors immédiatement placé dans un cryotube identifié et congelé dans l'azote liquide puis conservé à -80°C jusqu'au moment de l'analyse.

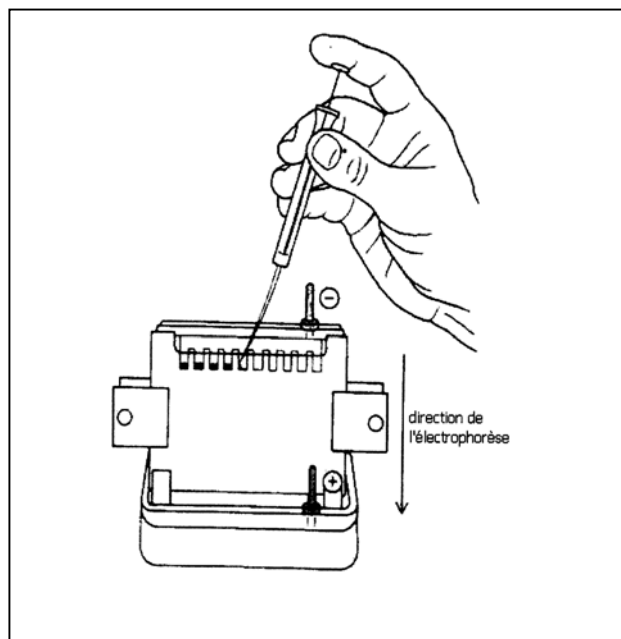
c- La technique d'analyse de la typologie musculaire

Il existe plusieurs méthodes d'analyse de la myosine du muscle fessier moyen, entre autres la méthode immunoenzymatique ELISA, l'électrophorèse mais aussi des techniques

histologiques beaucoup plus exhaustives dans l'analyse de la composition musculaire (enzymes, ions, aires des fibres...).

La technique de séparation des différents types de fibres est l'électrophorèse des chaînes lourdes de myosines suivant le protocole de séparation SDS-PAGE (protocole Sodium Dodecyl Sulphate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis) décrit en détail par Talmadge et Roy en 1993. L'objectif est de séparer les protéines d'un muscle selon leur poids moléculaire. La technique décrite concerne la séparation des chaînes lourdes de myosine.

Figure 8 : Schéma de la préparation d'un gel : dépôt des échantillons en vue de leur séparation.



Electrophorèse sur gel de polyacrylamide :

L'électrophorèse permet de mettre en évidence les trois types de chaînes lourdes de myosine sous forme de trois bandes :

⇒ La bande contenant les chaînes MHC-I migre le plus rapidement. Ces fibres sont donc contenues dans la bande du bas sur le gel de migration de l'électrophorèse.

⇒ La bande contenant les chaînes MHC-IIA migre le plus lentement. Ces fibres sont donc contenues dans la bande du haut sur le gel de migration de l'électrophorèse.

⇒ Enfin, la bande contenant les chaînes MHC-IIX migre en un temps intermédiaire des deux précédentes. Elle se situe entre les deux autres sur le gel.

Les électrophorèses ont été réalisées à l'INRA de Jouy-en-Josas pour celles de la population A et à l'INRA de Theix pour celles de la population B, en collaboration avec Thierry Sayd, spécialiste en électrophorèse musculaire, ingénieur d'étude au laboratoire de biochimie et physiologie du muscle de l'INRA de Theix.

Analyse des gels d'électrophorèse :

Les gels sont séchés de façon à les conserver intacts. Ils sont ensuite scannés. L'analyse de l'image du gel est obtenue grâce au scanner à l'aide d'un logiciel spécialisé (SigmaGel) qui déduit de l'intensité de la coloration des trois bandes de migration leur teneur en protéines respective.

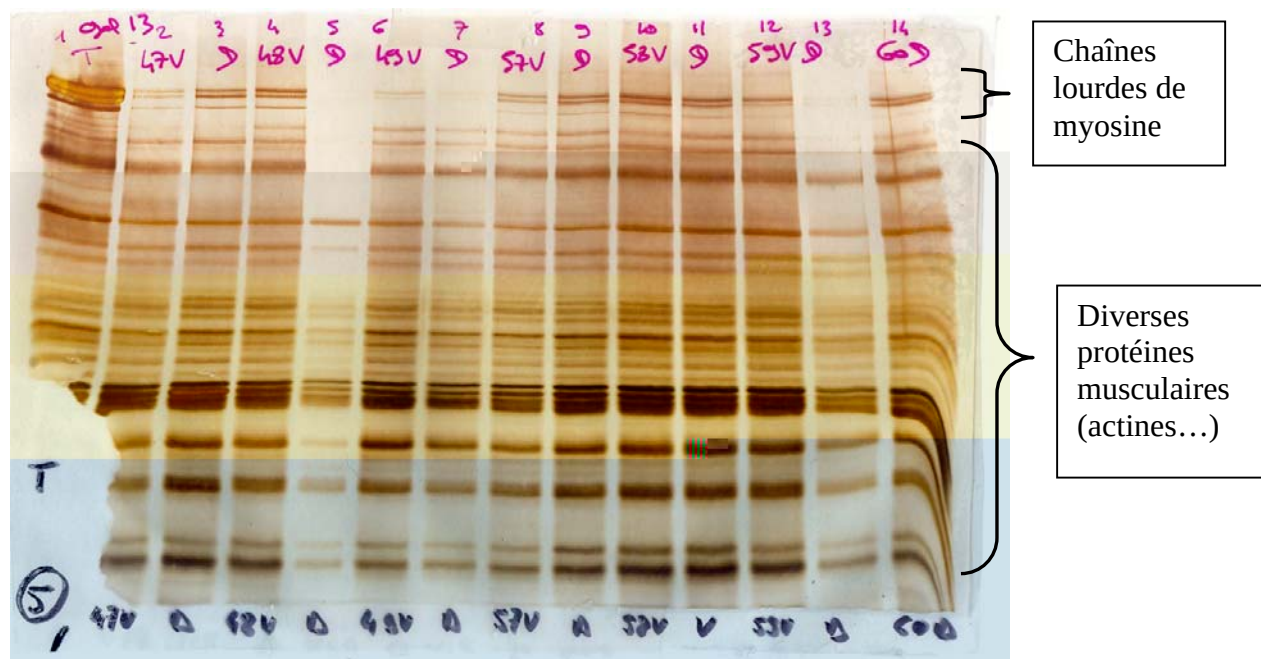


Figure 9 : Exemple d'un gel d'électrophorèse de prélèvements du muscle gluteus medius de chevaux trotteurs. Les différentes protéines musculaires ont migré selon leur poids moléculaires. Les myosines, qui sont les plus lourdes (200 kD), migrent peu. Elles restent situées en haut du gel.



Figure 10 : Détails d'un gel, les trois types de fibres musculaires sont clairement distincts. Les fibres de type I, plus légères, migrent davantage. Elles constituent la bande la plus basse. Les fibres IIA sont les plus lourdes. Elles présentent la migration la plus lente. On les retrouve dans la bande la plus haute sur le gel.

Les électrophorèses des prélèvements musculaires de la population B sont pour le moment un échec. Aucune analyse n'est pour le moment utilisable pour cette population. Les extraits

musculaires qui ont été analysés à l'INRA de Theix montrent des gels d'électrophorèse sur lesquels toutes les protéines musculaires sont visibles sauf les myosines qui sont absentes. L'hypothèse concernant cet échec est que les myosines n'ont pas été extraites en quantité suffisante au moment de l'extraction des protéines. Elles seraient donc trop peu concentrées pour être visible sur les gels.

d- Analyse statistique

L'analyse statistique a été faite à partir du logiciel statistique NCSS97. Une analyse de variance a été réalisée afin d'étudier l'effet du sexe sur la typologie musculaire.

Des séries de tests T appariés ont été calculées pour étudier les différences de typologie liées à l'âge des chevaux. Une matrice de corrélation puis une analyse de variance ont permis de mettre en évidence les relations entre la typologie et les critères de performance. Le seuil d'erreur a été fixé à 5%.

II- Résultats

A- Typologie musculaire du cheval Trotteur

Les résultats des analyses de la typologie du muscle fessier moyen, dans les compartiments dorsal et ventral, des chevaux de la population A sont présentés dans le tableau X.

Les fibres du compartiment dorsal sont nommées I D, IIA D et IIX D. Les fibres du compartiment ventral sont nommées I V, IIA V et IIX V.

	I D	IIA D	IIX D	I V	IIA V	IIX V
Moyenne (%)	21,4	39,0	39,6	21,5	39,6	39,3
Ecart-type	8,6	9,3	8,1	8,5	11,0	9,9
n	43	43	43	43	43	43

Tableau 7 : Typologie du muscle gluteus medius gauche des chevaux de la population A.

B- Effet du sexe sur la typologie musculaire

Afin d'évaluer l'influence du sexe sur la typologie musculaire, les mâles et les femelles de même niveau de performance et de même âge de la population A ont été séparés. Le groupe des femelles est composé de 15 individus, celui des mâles de 16 individus. Les âges moyens, ITR max, gains totaux, record, pourcentage de réussite ne sont pas significativement différents entre les deux populations.

	Fibres I D	Fibres IIA D	Fibres IIX D	Fibres I V	Fibres IIA V	Fibres IIX V
Femelles	15,9 (2,6)	39,1 (3,0)	45,1 (2,5)	16,4 (2,8)	39,7 (3,4)	45,2 (3,0)
Mâles	18,8 (2,6)	43,7 (2,9)	37,6 (2,4)	19,0 (2,0)	43,4 (2,6)	37,5 (2,3)
Différence	ns	ns	0,03	ns	ns	0,05

moyenne (écart type)

Tableau 8 : Effet du sexe sur la typologie du muscle *gluteus medius*.

Une différence significative de la proportion en fibres IIX a été mise en évidence. A âge et niveau de performance équivalents, les femelles possèdent significativement plus de fibres rapides IIX que les mâles, tant dans le compartiment dorsal du muscle fessier moyen que dans son compartiment ventral.

C- Effet de l'âge et de l'entraînement sur la typologie musculaire

a- Etude transversale de l'effet de l'âge/entraînement.

Cette étude n'ayant pas été réalisée sur des chevaux d'expérimentation mais des trotteurs de course à l'entraînement, il n'a pas été possible de considérer un groupe témoin de chevaux sédentaires permettant de mettre en évidence l'effet de l'entraînement, indépendamment de celui de l'âge. Sur nos populations de chevaux, les deux effets âge et entraînement sont donc indissociables. Nous les envisagerons ensemble par une analyse de variance.

Les grands axes du déroulement de l'entraînement du jeune trotteur sont sensiblement les mêmes chez tous les entraîneurs : les poulains sont travaillés dès l'âge de 18 mois en vue de la préparation de l'épreuve de qualification à l'âge moyen de 2,5 ans.

Les chevaux biopsés à 4 et 5 ans ont été exclus car ils étaient trop peu nombreux (n = 4 pour les 4 ans, n = 4 pour les 5 ans). Les poulains ont été séparés en trois groupes d'âges selon s'ils

avaient été biopsés à 2 ans, 2,5 ans ou 3 ans. Le groupe des 2 ans contient 29 poulains, celui des 2,5 ans 8 poulains et celui des 3 ans 7 poulains.

Les indices de performance ITR max, gains totaux, record, pourcentage de réussite ne sont pas statistiquement différents dans les trois groupes d'âges.

	Fibres I D	Fibres IIA D	Fibres IIX D	Fibres I V	Fibres IIA V	Fibres IIX V
2 ans	15,9 a	41,2	42,9	17,8 a	40,8 a	41,9
2,5 ans	28,5 b	33,3	38,5	29,6 b	30,4 b	39,8
3 ans	24,6 b	35,4	39,9	17,6 a	43,1 a	39,1

a ≠ b

Tableau 9 : Effet de l'âge étudié en transversal sur la typologie du muscle *gluteus medius*.

Il apparaît donc une augmentation significative de la proportion en fibres lentes dans le compartiment dorsal du muscle fessier moyen entre 2 et 2,5 ans.

D'autre part, une tendance à la diminution de la proportion en fibres rapides est observée dans ce compartiment sans que cette tendance

fibres	moy (EC)	p	Variation
IIA 1	41,1 (4,6)	ns	
IIA 2	42,9 (10,6)		
II X 1	50,3 (5,4)	0,002	
IIX 2	38,5 (5,8)		
I 1	8,6 (1,3)	0,02	
I 2	18,8 (9,9)		

Tableau 10 : Effet de l'âge étudié en longitudinal sur la typologie du muscle *gluteus medius*.

Ce tableau met en évidence une augmentation significative de la proportion en fibres I ($p = 0,02$), une diminution très significative de la proportion en fibres rapides IIX ($p = 0,002$), et une tendance à l'augmentation des fibres rapides IIA sans pour autant atteindre le seuil de significativité.

D- Effet du compartiment musculaire prélevé

Les prélèvements musculaires ont été effectués, sur la population A, dans le compartiment dorsal du muscle fessier moyen gauche, ou dans son compartiment ventral, ou encore dans les deux pour chaque cheval. 53 chevaux ont été biopsés dans le compartiment dorsal, 51 dans le compartiment ventral.

L'analyse de variance permettant d'étudier une éventuelle différence de typologie entre les deux compartiment donne les résultats suivants :

	Fibres I	Fibres IIA	Fibres IIX	Fibres IIA+IIX
Compartiment dorsal n = 43	21,4 (1,3)	39,0 (1,5)	39,6 (1,4)	78,6 (1,3)
Compartiment ventral n = 43	21,5 (1,3)	39,3 (1,5)	39,2 (1,4)	78,4 (1,3)
p	ns	ns	ns	ns

Moyenne (écart type)

Tableau 11 : Effet du compartiment musculaire prélevé sur la typologie du muscle *gluteus medius*.

L'analyse de variance ne met en évidence aucune différence significative dans la répartition des différents types de fibres aussi bien dans le compartiment dorsal du fessier moyen que dans le compartiment ventral. Les typologies sont très sensiblement les mêmes dans les deux compartiments.

E- Etude de la relation entre aptitude sportive et typologie musculaire

a- Etude de la relation entre réussite à l'épreuve de qualification et typologie musculaire

Tous les poulains biopsés à 2 ans ont été pris en compte ici. La population a été scindée en deux groupes, le premier comprenant les chevaux n'ayant pas réussi à se qualifier sur une épreuve standardisée de 1500 m, le second comprenant les chevaux qualifiés. La population est constituée de 20 poulains non qualifiés et de 26 poulains qualifiés, soit un total de 46 poulains. Parmi ces poulains, 37 ont été biopsés dans le compartiment dorsal du muscle *gluteus medius* et 36 dans le compartiment ventral.

Les résultats de l'analyse de variance permettant l'étude de l'effet « qualification » sont consignés dans le tableau 12.

	Fibres I D	Fibres IIA D	Fibres IIX D	Fibres I V	Fibres IIA V	Fibres IIX V
Qualifiés	17,7 (2,1) n = 23	39,6 (2,0) n = 23	42,7 (2,1) n = 23	20,5 (2,2) n = 21	37,8 (2,3) n = 21	41,6 (2,1) n = 21
Non qualifiés	20,2 (2,6) n = 14	39,2 (2,6) n = 14	40,6 (2,7) n = 14	21,1 (2,5) n = 15	37,9 (2,7) n = 15	40,9 (2,5) n = 15
p	ns	ns	ns	ns	ns	ns

moyenne (écart-type)

Tableau 12 : Etude de la relation entre réussite à l'épreuve de qualification et typologie du muscle *gluteus medius* à deux ans.

Il apparaît que la typologie musculaire n'est pas statistiquement différente chez les poulains biopsés à deux ans, entre ceux qui réussissent à se qualifier et ceux qui ne se qualifieront pas pour les courses au trot. Il semble donc que l'analyse de la typologie musculaire ne puisse pas constituer un critère de sélection précoce d'aptitude physique chez le trotteur.

b- Etude de la relation entre niveau de performance en course de trot et typologie musculaire

Une matrice de corrélation a été calculée sur les individus de la population A afin d'étudier la relation entre la typologie musculaire et le niveau de performance en course de trot.

	Fibres I D	Fibres IIA D	Fibres IIX D	Fibres I V	Fibres IIA V	Fibres IIX V
ITR max	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Gains totaux	-0,35	ns	ns	ns	ns	ns
Record	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Réussite	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Gain/course	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Données en gras: $p < 0,05$. Données en italique: $p \sim 0,05$

Tableau 13 : Matrice de corrélation : typologie musculaire et performance.

Un seul coefficient de corrélation est significatif, celui qui relie le total des gains et le pourcentage de fibres lentes dans le compartiment dorsal du muscle *gluteus medius*. Ce coefficient est négatif ; il semble donc que plus le pourcentage de fibres lentes dans le compartiment dorsal diminue plus le total des gains est élevé.

Toutefois, la valeur de ce coefficient et l'absence d'autre coefficient de corrélation laisse penser que ce lien est assez faible.

Une analyse de variance a été calculée sur la population A pour étudier les variations de typologie du muscle fessier moyen en fonction du niveau de performance en course de trot. Les chevaux ont pour cela été classés en deux groupes de performance selon la valeur de leur ITR max. Les chevaux ayant un ITR max inférieur à 100 sont considérés comme des chevaux de mauvais niveau, ceux ayant un ITR max supérieur à 100 comme des chevaux de bon niveau. Les deux groupes sont décrits dans le tableau 14.

	Bon niveau n = 28	Niveau faible n = 36
ITR max	117 (2)	85 (3)
Gains totaux (€)	54 302 (7490)	1748 (10 592)
Record	1'17"7 (0"3)	1'21"6 (0"6)
% de réussite	47 (3)	17 (4)
Gains/Course (€)	1 171 (130)	143 (207)

moyenne (écart-type)

III- Discussion

A- La technique d'analyse par électrophorèse des biopsies musculaires

La biopsie musculaire est une technique peu utilisée en pratique, qui présente pourtant un intérêt indéniable. Cette technique a contre elle d'être invasive. Pourtant des milliers de biopsies ont été réalisées chez le cheval de nos jours sans causer de boiteries ni même de lésions secondaires. Il a été réalisé jusqu'à 30 biopsies du même muscle sur le même cheval sans qu'aient pu être mis en évidence de douleur, de problème d'allures ou de fibrose musculaire (Lindholm et Piehl, 1974). Aucun des 135 chevaux prélevés au cours de notre étude n'a présenté de complication suite à la biopsie musculaire.

Une des difficultés de l'étude de la typologie musculaire de chevaux à l'entraînement réside dans la réalisation d'une anesthésie locale au niveau du site de prélèvement musculaire. En effet, la détection de la lidocaïne lors d'un contrôle anti-dopage conduit à un test positif. Nos chevaux ont été prélevés chez divers entraîneurs alors qu'ils étaient en condition de courir. Il a donc fallu organiser les dates de prélèvement afin qu'elles soient le plus éloignées possible des dates des engagements en course de chaque cheval.

La méthode électrophorétique pour le typage des fibres musculaires est moins informative que les techniques histologiques car elle ne procure que les pourcentages de myosines lente et rapide sans information sur la distribution spatiale des fibres, leur diamètre. Elle présente cependant de nombreux avantages :

- ✓ Le prélèvement par micro biopsies, sous anesthésie locale, n'entraîne aucune complication chez les chevaux,
- ✓ Le dosage de la myosine n'implique pas le respect de l'orientation des fibres lors du prélèvement, ce qui limitait antérieurement l'utilisation des biopsies,
- ✓ Le coût du dosage est moindre,
- ✓ La représentativité du dosage est bonne car la quantité de muscle utilisé est grande (forte concentration de protéines),
- ✓ La productivité permet de traiter de nombreux échantillons en même temps.

Par contre, cette méthode électrophorétique reste difficile à maîtriser même par un personnel qualifié. Sa fiabilité n'est pas encore parfaite. Les échantillons de la population B n'ont donc

pour le moment pas pu être analysés de ce fait. Certaines étapes comme l'extraction des protéines du prélèvement musculaire peuvent encore poser problème.

B- La typologie musculaire du Trotteur Français

La typologie du muscle fessier moyen des Trotteurs étudiés ici est très proche de celle des Standardbreds, Trotteurs Américains, étudiés par Snow et Guy (1980) dans leur étude de l'effet de la race (Figure 11).

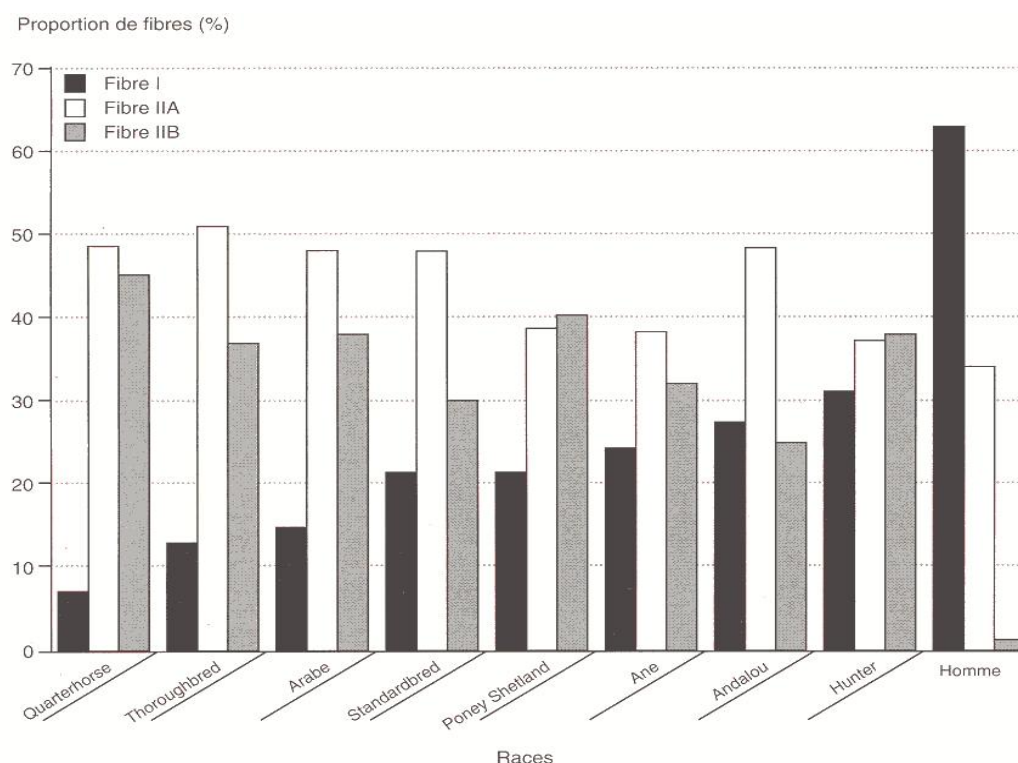


Figure 11 : Variation inter-races de la typologie musculaire du muscle fessier moyen chez le cheval. D'après Snow et Guy 1980.

Les résultats obtenus dans cette étude permettent de définir une typologie moyenne du muscle *gluteus medius* chez le Trotteur à l'entraînement : 21,4% ($\pm 8,6$) de fibres lentes, 39,0% ($\pm 9,3$) de fibres rapides IIA et 39,6% ($\pm 8,1$) de fibres rapides IIX. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Rivero en utilisant la technique électrophorétique : 27% (± 4) de fibres lentes, 39% (± 2) de fibres IIA et 34% (± 3) de fibres IIX dans le compartiment dorsal du muscle fessier moyen de 6 chevaux de race Andalouse de 4 ans (Rivero, 1999). Ils sont également cohérents avec ceux publiés chez le Trotteur Français : 79% de fibres rapides dans

le fessier moyen (Valette 1995). Dans notre étude, la proportion des fibres rapides est en moyenne de 78,6%.

Les équipes ayant travaillé sur la typologie musculaire chez le Trotteur utilisent assez couramment les techniques histologiques pour le typage des fibres. Or, les résultats obtenus lors de ces études diffèrent des nôtres ; la répartition en fibres lente et rapide est très similaire, par contre, au sein des fibres rapides la proportion occupée par les fibres IIX par rapport aux fibres IIA est très variable lorsqu'on l'étudie par les techniques histologiques. Rivero a réalisé une comparaison des différentes techniques de typage. Il en conclut que les différentes techniques d'analyse donnent des résultats statistiquement peu différents (Rivero, 1999). Toutefois, les méthodes histochimique et immunohistochimique donnent des résultats différents de l'ELISA ou de l'électrophorèse en particulier en ce qui concerne la répartition des fibres rapides. La méthode histochimique de coloration de l'activité de l'ATPase sous-estime la proportion des fibres IIA et surestime la proportion des fibres IIX. Cette technique induit une erreur de classement pour 18% des fibres par rapport à l'électrophorèse (Rivero, 1996). Cela peut expliquer les différences de répartition des fibres rapides observées ici par rapport aux résultats, obtenus par histologie, de Henckel (1983), Ronéus et al. (1995) chez des Trotteurs suédois.

C- Effet du sexe sur la typologie musculaire

Il a été mis en évidence dans cette étude une différence significative de la typologie musculaire du muscle *gluteus medius* selon le sexe. En effet, les résultats montrent que les femelles présentent significativement plus de fibres rapides IIX que les mâles de même âge et de même niveau de performance.

Les résultats des autres équipes sont assez divers sur ce sujet.

Chez l'athlète humain, force est de constater l'existence d'un dimorphisme sexuel net. Les performances, anaérobies surtout, sont inférieures chez les femmes par rapport à celles des hommes. Or, des différences morphométriques significatives existent entre les deux sexes. Une étude de la variation de la composition musculaire liée au sexe, chez l'humain, montre que les hommes sont 25% plus lourds que les femmes, 7% plus grands, leur indice de masse corporelle 7% plus élevé. Au niveau musculaire, c'est la taille des fibres qui est significativement supérieure chez les hommes (29% plus large pour les fibres I, 52% pour les fibres IIA et 75% pour les fibres IIX). La typologie n'est pas différente dans les deux sexes (Esbjörnsson et al., 1993).

Chez le cheval, Ronéus a montré que l'évolution de la proportion de fibres rapides dans le fessier moyen avec l'augmentation de l'âge diffère selon le sexe. L'augmentation relative des fibres IIA est la suivante chez les femelles : de 37 à 47% entre 1 et 4 ans contre 40 à 48% chez les mâles. La diminution relative des fibres IIX est de 49 à 34% chez les femelles contre 43 à 30% chez les mâles (Ronéus, 1993).

Dans cette étude, comme dans la nôtre, les femelles possèdent significativement plus de fibres IIX que les mâles. Nous n'avons pas observé de différence significative au niveau des fibres IIA, mais les femelles possèdent, dans notre étude, systématiquement moins de fibres IIA que les mâles.

D- Etude de la relation entre compartiment musculaire et typologie

Il n'y a pas, dans notre étude, de différence significative de la typologie du muscle *gluteus medius* entre son compartiment ventral et son compartiment dorsal. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus par Valette et al. (1999). Ils avaient observé que la proportion de fibres rapides (IIA + IIX) était significativement supérieure dans le compartiment ventral par rapport au dorsal, respectivement 81,3% ($\pm 7,1$) et 75,6% ($\pm 7,0$).

D'autre part, Bruce et al. (1993) ont montré que le compartiment dorsal du muscle *gluteus medius* est composé d'une plus grande proportion de fibres rapides (IIA + IIX) que le compartiment ventral.

Rivero (1992) a montré l'effet de la profondeur du prélèvement dans le muscle *gluteus medius* sur la typologie ; cet effet consiste en une augmentation de la proportion des fibres lentes depuis l'échantillon prélevé au niveau le plus superficiel du muscle jusqu'à celui prélevé le plus profondément, les fibres IIX diminuent des prélèvements les plus superficiels dans le muscle aux prélèvements les plus profonds, la proportion des fibres IIA est similaire quelque soit la profondeur de prélèvement. Par contre, Rivero et al. (1993) ont mis en évidence l'absence de différence significative dans la typologie des prélèvements réalisés à la même profondeur (4 cm). Ces résultats sont similaires aux nôtres, puisque dans notre étude tous les prélèvements sont réalisés à 35 mm de profondeur.

E- Effet de l'âge et de l'entraînement sur la typologie

Nous avons pu mettre en évidence dans cette étude une augmentation significative ($p = 0,02$) de la proportion de fibres lentes dans le muscle *gluteus medius* entre l'âge de deux ans ($8,6\% \pm 1,3$) et celui de trois ans ($18,8\% \pm 9,9$) de jeunes trotteurs à l'entraînement, une diminution significative ($p = 0,002$) de la proportion en fibres rapides non oxydatives IIX au cours de cette même période (de $50,3\% \pm 5,4$ à deux ans à $38,5\% \pm 5,8$ à trois ans) et enfin une augmentation non significative de la proportion en fibres rapides oxydatives IIA (de $41,1\% \pm 4,6$ à deux ans à $42,9\% \pm 10,6$ à trois ans).

Lindohlm et Piehl trouvaient en 1974 que le pourcentage de fibres lentes dans ce muscle n'était pas différent entre des chevaux de 6 mois à 8 ans. Ils avaient mis en évidence une diminution de la proportion des fibres rapides non oxydatives au profit des fibres rapides oxydative. Le typage des fibres étant réalisé par histologie, au début de son utilisation chez le cheval, ces résultats sont à considérer avec précaution.

Des études plus récentes, comme celle de Henckel en 1983, démontrent une augmentation significative du pourcentage des fibres lentes après une période d'entraînement de 6 mois de Trotteurs âgés de deux ans de 18 à 25%, des fibres rapides IIA de 36 à 45% et une diminution significative des fibres rapides IIX de 46 à 30%. Les mêmes résultats sont trouvés par Rivero en 1991, Ronéus en 1992, en 1993 et en 1994. Ces résultats sont tout à fait cohérents avec ceux obtenus dans notre étude.

Hodgson et Rose ont étudié l'effet de l'entraînement sur la composition musculaire en différents types de fibres. Ils n'ont mis en évidence qu'une augmentation du pourcentage des fibres IIX après un programme d'entraînement foncier de neuf mois. Cependant la méthode de typage utilisée était celle de la coloration NADH-TR qui était trop peu discriminante pour mettre en évidence facilement des changements dans les proportions de fibres oxydatives I et IIA (Hodgson, 1987). Cependant, cette augmentation significative des fibres IIX a été retrouvée par Rivero chez des chevaux ayant suivi une période d'entraînement de trois mois (Rivero, 1995). Dans cette étude, il a également mis en évidence une augmentation significative du pourcentage de fibres lentes associée à l'entraînement.

Enfin, dans une étude de 1999, Rivero décrit l'effet entraînement sur la typologie du muscle *gluteus medius* équin : la composition en MHC est modifiée par l'entraînement dans le sens IIX → IIA → I. Ces effets suggèrent une réduction de la vitesse de contraction du muscle entraîné et une augmentation de sa résistance à la fatigue (Rivero et Serrano, 1999).

F- Relation entre niveau de performance en course de trot et typologie musculaire

Aucun lien entre typologie musculaire et performance en course de trot n'a pu être mis en évidence dans cette étude, dont l'importance de l'effectif et la différence des niveaux de performance des chevaux étudiés semble autoriser une étude sérieuse de la relation liant ces deux facteurs.

Chez le cheval d'endurance, spécialisé dans des efforts très longs de résistance (jusqu'à 160 Km par jour, soit des efforts soutenus pendant 8 à 10 heures), il a été mis en évidence une différence significative dans l'organisation musculaire du muscle *gluteus medius* chez les meilleurs athlètes : les chevaux de bon niveau possèdent un plus grand pourcentage de fibres oxydatives (I + IIA), qui sont les fibres de l'effort de résistance. Ils possèdent un pourcentage significativement plus faible de fibres IIX par rapport aux chevaux de niveau médiocre (Rivero, 1993).

D'autre part, dans d'autres disciplines très spécialisées dans l'effort bref et intense, comme la course de plat (sprint) ou le saut d'obstacles, Barrey et al. (1997) ont mis en évidence des différences significatives de typologie musculaire du muscle *gluteus medius* chez les meilleurs. En sprint, comme à l'obstacle, les meilleurs chevaux (classés selon leur indice de performance officiel) possèdent un muscle fessier moyen significativement plus riche en fibres rapides (IIA et IIX) que des chevaux de niveau moyen à faible.

Enfin, chez le cheval Trotteur Américain, spécialisé dans la course sur courtes distances (de 1000 à 1609 m), qui est un sprinter long, il a été montré une différence significative de la typologie du fessier moyen des chevaux d'excellent niveau par rapport aux moins bons ; les meilleurs possèdent significativement moins de fibres IIX (Essen et Lindholm, 1985).

Les études des facteurs de performance en course sont toujours assez complexes à réaliser et à analyser. Il est primordial de réunir des conditions optimales d'effectif étudié. Il doit contenir un maximum d'individus ; ces derniers doivent être de niveau de performance très distincts. Réunir des individus de très bon niveau et de niveau médiocre en grand nombre est souvent difficile, en particulier chez le cheval où les animaux de niveau médiocre sortent très rapidement du circuit des courses.

Chez le Trotteur Français, assimilable à un athlète de demi-fond, les fibres musculaires doivent être capables de fournir un effort mixte : à la fois en endurance puisque les courses se

courent sur environ 3000 m, et de vitesse puisque les réductions kilométriques atteignent fréquemment 1'12'' et que les plus rapides courent le kilomètre sous la barre des 1'10''.

La non spécialisation, en sprint ou en endurance, des fibres musculaires des Trotteurs Français explique probablement l'absence de relation entre la typologie musculaire des muscles propulseurs et la performance dans cette discipline.



Photo 2 : Course de trot sur l'hippodrome de Saint Pierre La Cour (53).

Conclusion

La variation de la typologie musculaire du muscle *gluteus medius* chez le Trotteur Français semble ne pas être liée au niveau de performance en course de trot. Les effets du sexe, de l'âge et de l'entraînement sont retrouvés chez nos Trotteurs Français de la même manière que dans les études réalisées chez d'autres races de chevaux.

Les femelles présentent significativement plus de fibres rapides IIX que les mâles et ont tendance à montrer plus de fibres rapides IIA que les mâles.

L'âge et l'entraînement, dont l'effet est indissociable dans cette étude concernant des Trotteurs de course qui sont tous à l'entraînement, ont pour conséquence de modifier la typologie du muscle *gluteus medius* dans le sens d'une augmentation significative des fibres lentes, d'une diminution significative de la proportion relative des fibres rapides glycolytiques IIX et d'une augmentation non significative des fibres rapides IIA.

L'effet du compartiment musculaire prélevé semble non significatif si les prélèvements sont réalisés à la même profondeur dans les deux compartiments.

L'effet du niveau de performance en course au trot des Trotteur Français sur la typologie du muscle *gluteus medius* est non significatif du fait, probablement, de la non spécialisation musculaire à l'effort de demi-fond.



Photo 3 : Course de trot sur l'hippodrome de Laval (53).

Annexe:
Relevé des performances en course au trot et
typologie musculaire des chevaux de la
population A

Bibliographie

BAR A. & PETTE D. (1988) Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Letters* 35.

BARREY E. (1994) Propriétés contractiles des fibres musculaires et performance physique chez le cheval. *INRA Prod. Anim.* 7, 41-53.

BARREY E., VALETTE J.P., JOUGLIN M., PICARD B., GEAY Y., BOBELIN J. (1995) Enzyme-linked immunosorbent assay for myosin heavy chains in the horse. *Reprod. Nutr. Dev.* 35. 619-628.

BARREY E., VALETTE J-P., JOUGLIN M., BLOUIN C. & LANGLOIS B. (1997) Qualités des fibres musculaires et performances sportives chez le cheval anglo-arabe. *Equathlon* 29.

BARREY E., VALETTE J-P., JOUGLIN M., BLOUIN C. & LANGLOIS B. (1997) Relationship between the fast myosin heavy chain percentage of the gluteus medius muscle and the competitive performance in horses. *Book of abstracts of the 48th Annual Meeting of European Association for Animal Production*. 25-28 August, Vienna, 156.

BARREY E., VALETTE J-P., JOUGLIN M. & LANGLOIS B. (1999) Heritability of percentage of fast myosin heavy chains in skeletal muscles and relationship with performance. *Equine Vet.J.Suppl.*30 , 289-292.

BERGH U. (1978) Maximal oxygen uptake and muscle fiber types in trained and untrained humans. *Med. Sci. Sports*. 10, 151.

COUROUCE A., CHATARD J.C., AUVINET B. (1997) Estimation of performance potential of Standardbred trotters from blood lactate concentrations measured in field conditions. *Equine Vet. J.* Vol. 29 (5). 365-369.

COUROUCE A. (2000) Epreuves d'effort de terrain et applications pratiques. *Prat. Vét. Equine*. Vol. 32. 87-94.

ESBJÖRNSSON M., SYLVÉN C., HOLM I. & JANSSON E. (1993) Fast twitch fibres may predict anaerobic performance in both females and males. *Int.J.Sports Med.* 14, 257-263.

ESSEN-GUSTAVSSON B. & LINDHOLM A. (1985) Muscle fibre characteristics of active and inactive standardbred horses. *Equine Vet.J.* 17, 434-438.

- ESSEN-GUSTAVSSON B., MCMIKEN D., LINDHOLM A. & PERSSON S. (1989) Muscular adaptation of horses during intensive training and detraining. *Equine Vet.J.* 21 (1), 27-33.
- HENCKEL P. (1983) Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young Standardbred trotters. *Equine Vet. J.* 15 (2), 134-140.
- HODGSON D.R., ROSE R. & ALLEN J.R. (1982) Muscle glycogen depletion and repletion patterns in horses performing various distances of endurance exercise. *Equine Exercise Physiology* 1, 229-236.
- HODGSON D.R. & ROY R.R. (1987) Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse. *The Vet. Record* 121, 271-274.
- KAI M. (1984) Distribution of fiber types in equine middle gluteal muscle. *Bull. Equine Res. Inst!;*, 21, 46-50.
- LACOUR J.R. (1989) Etude physiologique de la course à pied. *Les courses – Traité d’athlétisme*, Eds : (Dessons, Drut, Hebrard, Hubiche, Lacour, Maigrot, Monneret, Vigot) Paris, vol 1, 7-76.
- LELEU C., COTREL C., COUROUCE-MALBLANC A. (2003) Relationship between physiological variables and race performances in French standardbred trotters. *The Vet. Record*. In press.
- LINDHOLM A. & PIEHL K. (1974) Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of standardbred horses. *Acta.vet.scand.* 15, 287-309.
- LINDHOLM A. & SALTIN B. (1974) The physiological and biochemical response of standardbred horses to exercise of varying speed and duration. *Acta.vet.scand.* 15, 310-324.
- LINDNER A., DAG S., MARTI-KORFF S., QUIROZ-ROTHER E., LOPEZ RIVERO J.L. & DROMMER W. (2002) Effects of repeated biopsying on muscle tissue in horses. *Equine Vet.J.* 34, 619-624.
- LOVELL D.K. & ROSE R. (1991) Changes in skeletal muscle composition in response to interval and high intensity training. *Equine Exercise Physiology* 3, 215-222.

RANATTUNGA K.W. & THOMAS P.E. (1990) Correlation between shortening, force-relation and histochemical fiber-type composition in rat muscles. *J.Muscle Res.Cell Motil.* 11, 240-250.

RIVERO J-L.L., MORALES-LOPEZ J.L., GALISTEO A.M. & AGUERA E. (1991) Muscle fibre type composition in untrained and endurance-trained Andalusian and Arab horses. *Equine Vet.J.* 23, 91-93.

RIVERO J-L.L., SERRANO A.L., DIZ A.M. & GALISTEO A.M. (1992) Variability of muscle fibre composition and fibre size in the horse gluteus medius: an enzyme-histochemical and morphometric study. *J.Anat.* 181.

RIVERO J-L.L., SERRANO A.L., HENCKEL P. & AGUERA E. (1993) Muscle fiber type composition and fiber size in successfully and unsuccessfully endurance-raced horses. *J.Appl.Physiol.* 75 (4), 1758-1766.

RIVERO J-L.L., SERRANO A.L., DIZ A.M. & MORALES J.L. (1993) Changes in cross-sectionnal area and capillary supply of the muscle fiber population in equine gluteus medius muscle as a function of sampling depth. *Am. J. Vet. Res.* 54. 32-37.

RIVERO J-L.L., RUZ M.C., SERRANO A.L. & DIZ A.M. (1995) Effects of a 3 month endurance training programme on skeletal muscle histochemistry in Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. *Equine Vet.J.* 27, 51-59.

RIVERO J-L.L., SERRANO A.L. & HENCKEL P. (1995) Activities of selected aerobic and anaerobic enzymes in the gluteus medius muscle of endurance horses with different performance records. *Veterinary Record* 137, 187-192.

RIVERO J-L.L. & HENCKEL P. (1996) Muscle biopsy index for discriminating between endurance horses with different performance records. *Research in Veterinary Science* 61, 49-54.

RIVERO J-L.L. (1996) Discrimination between endurance horses with different performance records. *Pferdeheilkunde* 12, 510-513.

RIVERO J-L.L. (1996) Muscle biopsy as a tool for assessing muscular adaptation to training in horses. *AJVR* 57 (10), 1412-1416.

RIVERO J-L.L., TALMADGE R.J. & EDGERTON V.R. (1996) Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: an immunohistochemical and electrophoretic study. *The Anatomical Record* 246, 185-194.

RIVERO J-L.L. & SERRANO A.L. (1999) Skeletal myosin heavy chain composition and carriage training. *Equine Exercise Physiology* 5, 318-323.

RIVERO J-L.L., SERRANO A.L., BARREY E., VALETTE J-P. & JOUGLIN M. (1999) Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horse skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 20, 211-221.

RONEUS M., ESSEN-GUSTAVSSON B. & ARNASON T. Racing performance and longitudinal changes in muscle characteristics in standardbred trotters. *Journal of equine veterinary science* 13, 355-361. 0 AD.

RONEUS M., LINDHOLM A. & ASHEIM A. (1991) Muscle characteristics in Thoroughbreds of different ages and sexes. *Equine Vet.J.* 23 (3), 150.

RONEUS M., ESSEN-GUSTAVSSON B., LINDHOLM A. & PERSSON S. (1992) Skeletal muscle characteristics in young trained and untrained Standardbred trotters. *Equine Vet.J.* 24 (4), 292-294.

RONEUS M. (1993) Muscle characteristics in Standardbreds of different ages and sexes. *Equine Vet.J.* 25, 143-146.

RONEUS M., ESSEN-GUSTAVSSON B., LINDHOLM A. & PERSSON S. (1999) Muscle characteristics and plasma lactate and ammonia response after racing in standardbred trotters: relation to performance. *Equine Vet.J.* 31, 170-173.

RONEUS N., ESSEN-GUSTAVSSON B., LINDHOLM A. & ERIKSSON Y. (1994) Plasma lactate response to submaximal and maximal exercise tests with training, and its relationship to performance and muscle characteristics in Standardbred trotters. *Equine Vet.J.* 26, 117-121.

SERRANO A.L., PETRIE J.L., RIVEIRO J-L.L. & HERMANSON J.W. (1996) Myosin isoforms and muscle fiber characteristics in equine gluteus medius muscle. *The Anatomical Record* 244, 444-451.

SINHA A.K., RAY S.P. & ROSE R. (1991) Effect of training intensity and detraining on adaptations in different skeletal muscles. *Equine Exercise Physiology* 3, 223-230.

- SNOW D.H. & BAXTER P. (1981) Muscle fibre composition and glycogen depletion in horses competing in an endurance ride. *Veterinary Record* 108, 374-378.
- SNOW, D.H. & GUY, P.S. (1980) Muscle fibre type composition of a number of limb muscles in different types of horse. *Res. Vet. Sci.* 28, 137-144.
- TALMADGE R.J. & ROY R.R. (1993) Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms. *The American Physiological Society* , 2337-2340.
- VALBERG S., ESSEN-GUSTAVSSON B., LINDHOLM A. & PERSSON S. (1985) Energy metabolism in relation to skeletal muscle fibre properties during treadmill exercise. *Equine Vet.J.* 17, 439-444.
- VALBERG S. & ESSEN-GUSTAVSSON B. (1987) Metabolic response to racing determined in pools of type I, IIA and IIB fibers. *Equine Exercise Physiology* , 290-301.
- VALBERG S., ESSEN-GUSTAVSSON B. & WALLBERG H. (1988) Oxidative capacity of skeletal muscle fibres in racehorses: histochemical versus biochemical analysis. *Equine Vet.J.* 20, 291-295.
- VALETTE J-P., BARREY E. & JOUGLIN M. (1995) Slow myosin heavy chain content of muscles measured by ELISA. *Equine Vet. J. Suppl.* 18, 248-251.
- VALETTE J-P., BARREY E., JOUGLIN M., COUROUCE A., AUVINET B. & FLAUX B. (1999) Standardisation of muscular biopsy of *gluteus medius* in French trotters. *Equine Vet.J. Suppl.* 30, 342-344.
- WOOD C.H., ROSS T.T., ARMSTRONG J.B. & HALL D.C. (1998) Variation in muscle fiber composition between successfully and unsuccessfully raced quarter horses. *Equine Veterinary Science* 8, 217-220.