

Organizzazione e funzionamento del muscolo scheletrico - 2



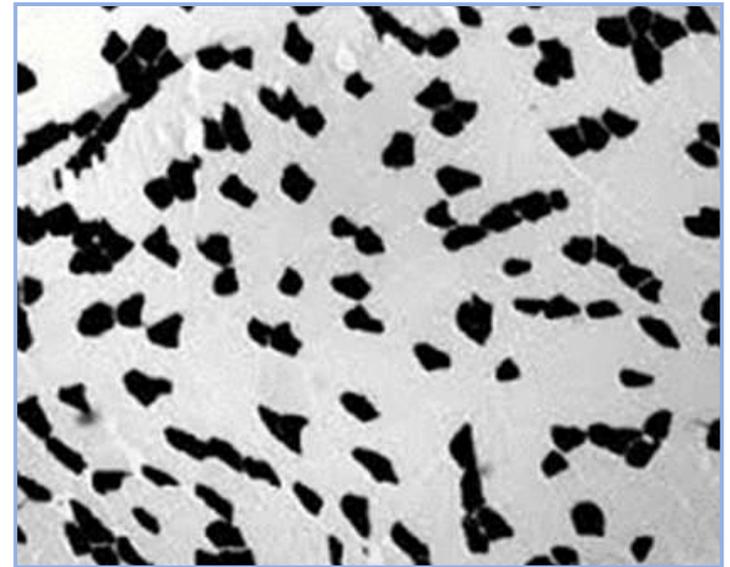
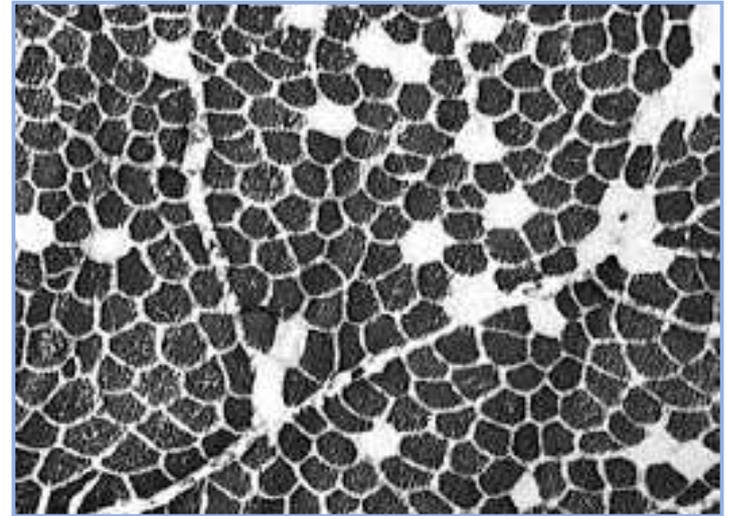
Organizzazione della lezione

- Eterogeneità del muscolo
- Fibre di tipo 1 e fibre di tipo 2:
 - innervazione
 - isoforme di MHC e velocità di contrazione
 - Effetto dell'allenamento su plasticità e ipertrofia
 - Meccanismi alla base dei fenomeni di plasticità muscolare
 - Meccanismi alla base dell'ipertrofia
 - Ormoni ad attività ipertrofica

Il muscolo scheletrico è eterogeneo, poiché è formato da più tipi di fibre muscolari:

Rosse (lente - ossidative)

Bianche (rapide ossidative)

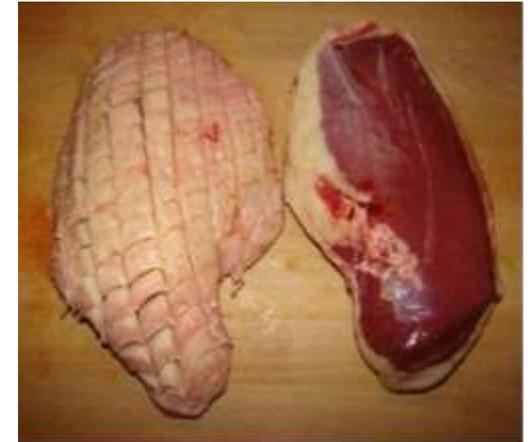


Muscolo: la prevalenza di un tipo di fibra o dell'altro **varia a seconda del tipo di esercizio svolto**

negli uccelli selvatici: vengono utilizzati per voli prolungati e vere e proprie maratone (migrazioni)



pettorale



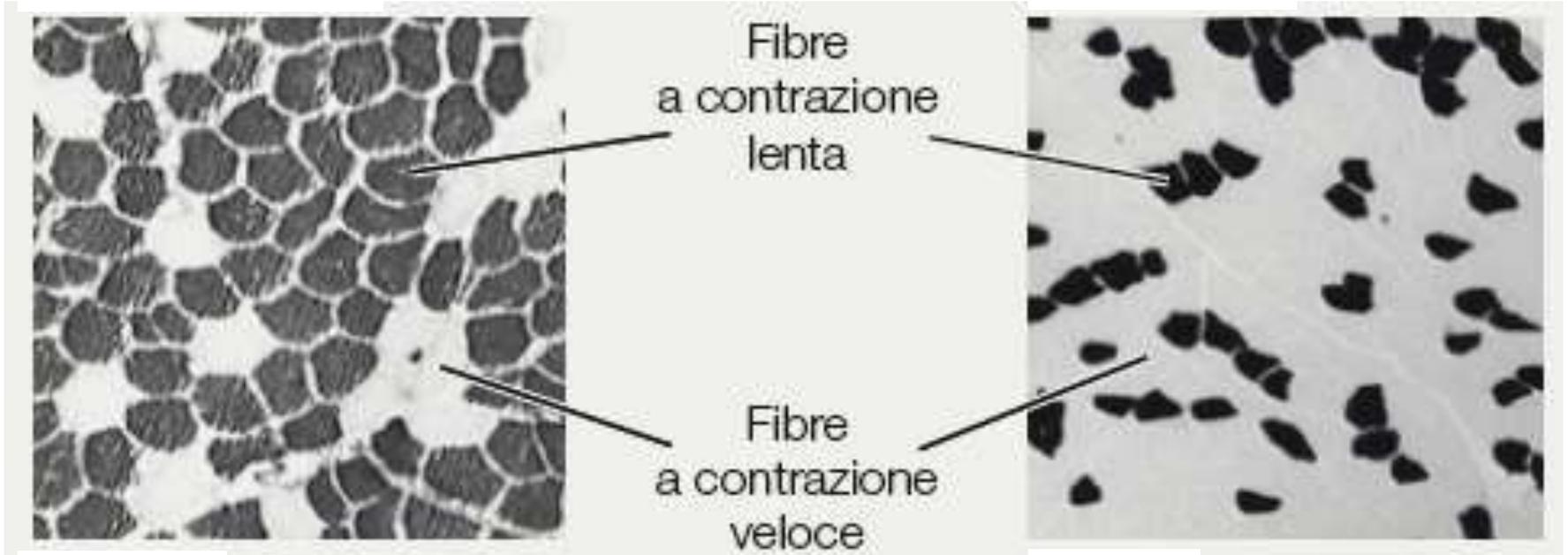
negli uccelli domestici: vengono utilizzati soltanto per brevi battute d'ala o corti voli



... lo stesso vale anche per gli uomini

maratoneta

scattista

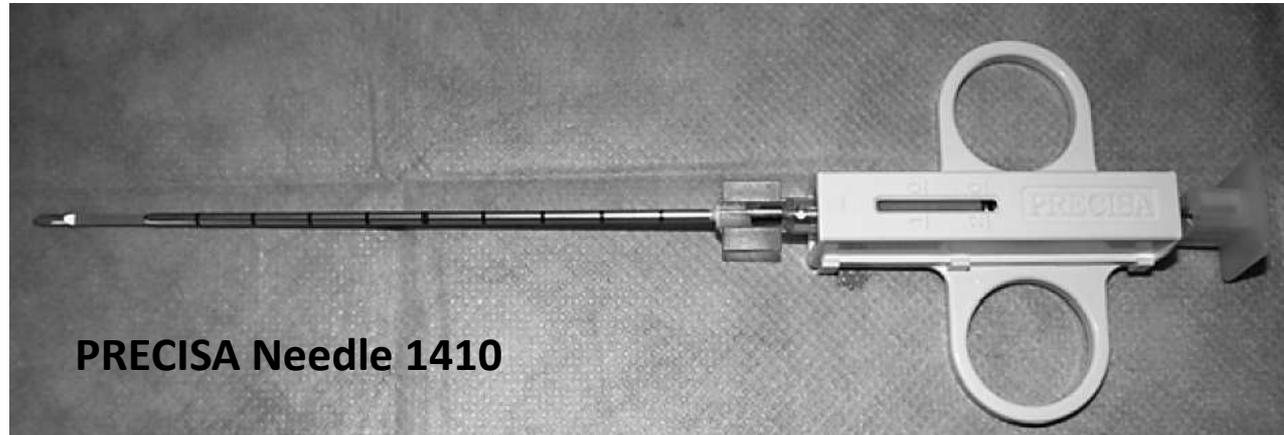


anatra

pollo

**Ogni fibra muscolare
possiede la sua
caratteristica
isoforma MHC**

Caratterizzazione delle isoforme MHC mediante biopsia di muscolo scheletrico



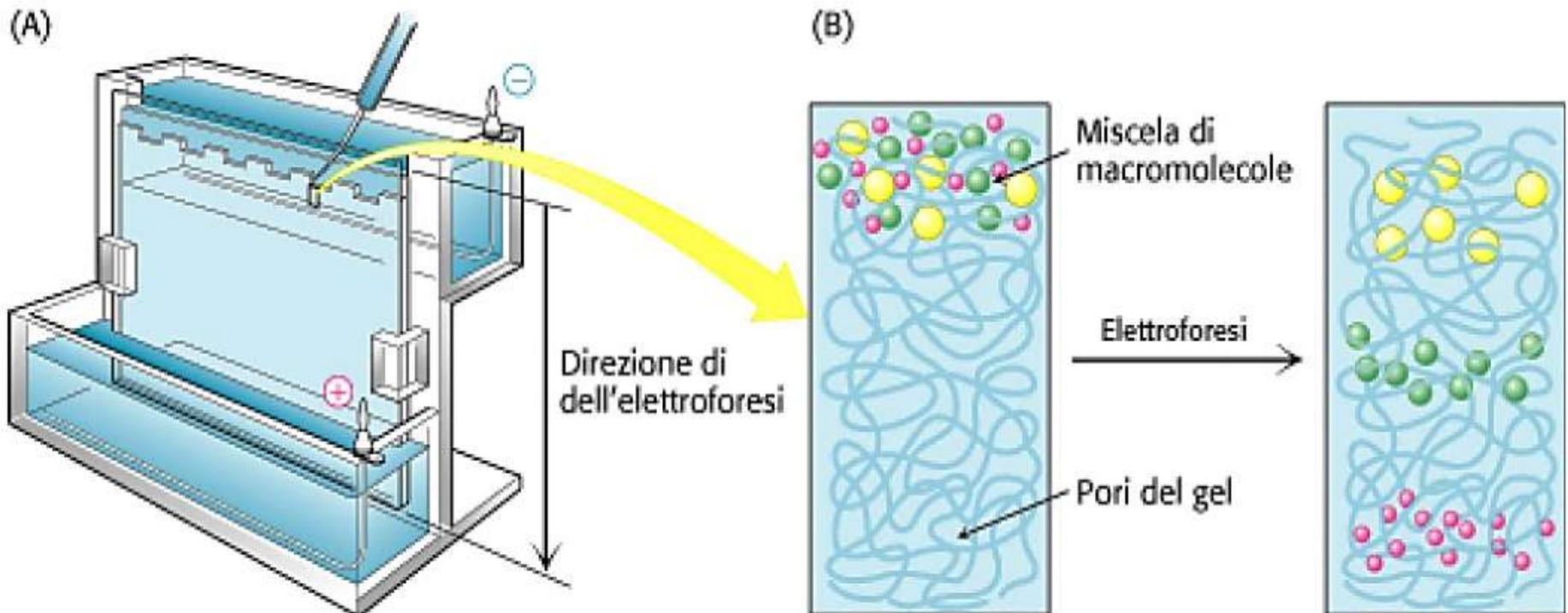
I **prelievi bioptici** vengono eseguiti su volontari soggetti a particolari programmi di allenamento, dopo anestesia locale e sterilizzazione, utilizzando aghi PRECISA Needle 1410 e una cannula di inserzione lunga 100 mm.

Il campione bioptico è un cilindro con **diametro di 0,8 mm**, **lunghezza di circa 8 mm** e **peso medio di 2,8 mg**.

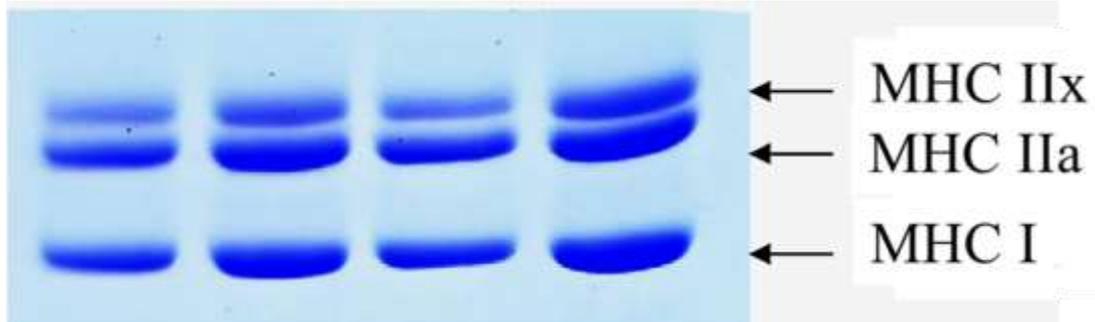
I campioni bioptici prelevati vengono sciolti in una soluzione denaturante in presenza di SDS, bolliti per alcuni minuti e caricati nei pozzetti di un gel di poliacrilamide.

Analisi delle isoforme di MHC

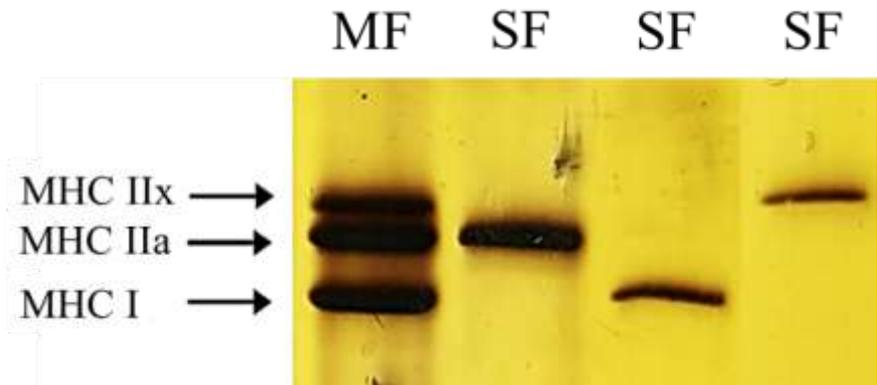
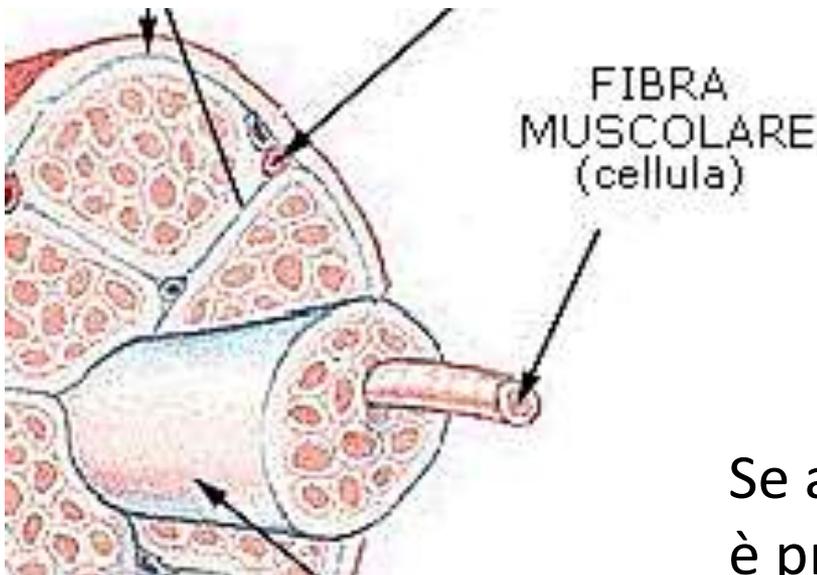
Elettroforesi su gel di poliacrilamide di biopsie muscolari scheletriche: le proteine, sottoposte ad un campo elettrico, migrano nel gel e si separano in bande in base alle dimensioni.



Nel muscolo sono presenti **3 isoforme di MHC**

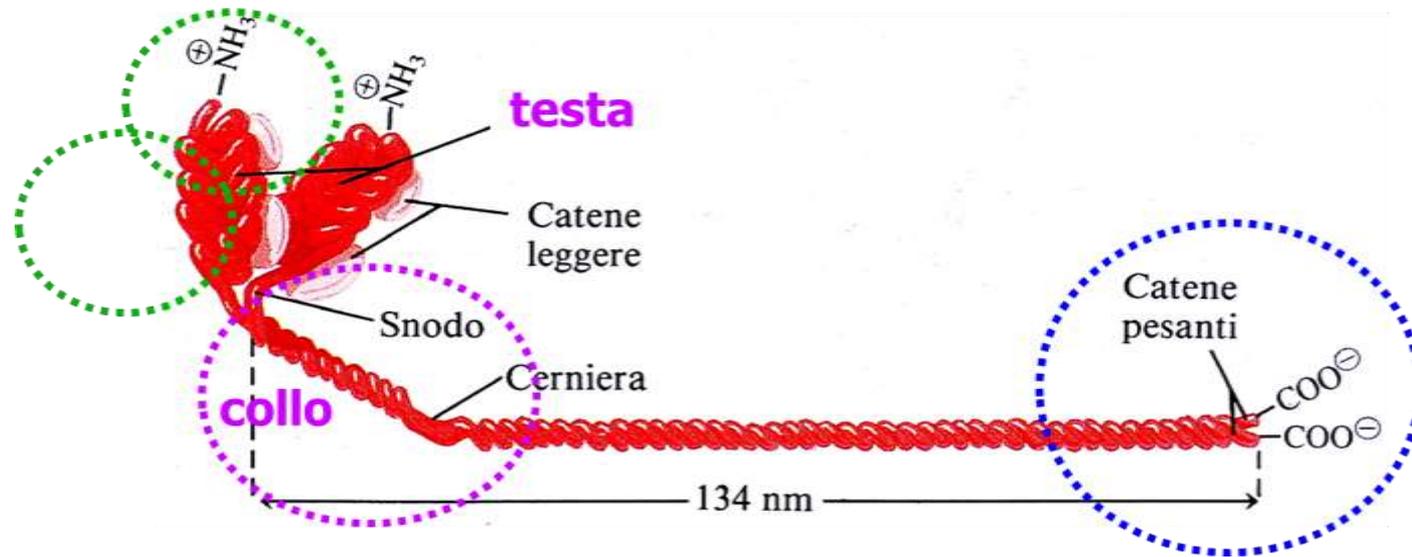


se analizzo un intero fascio muscolare:
sono presenti 3 isoforme MHC



Se analizzo una singola fibra muscolare è presente un solo tipo di isoforma MHC
MF = tessuto muscolare multi-fibra
SF = singola fibra

Le differenze aminoacidiche nelle diverse isoforme di MHC riguardano ...



- una regione **COOH-terminale**
- una regione ad **alfa-elica del collo**
- una regione della **testa della miosina**, in prossimità del **sito di legame** con l'ATP e con l'actina.

Le **modifiche nella regione della testa** permettono di ottenere isoforme con **differente attività ATPasica** e con **differente velocità di accorciamento**

Geni della catena pesante della Miosina nei Mammiferi

Le **isoforme** delle catene pesanti della miosina (MHC) sono espresse da una **famiglia di geni**.

Nell'uomo esistono 8 geni per la MHC

CROMOSOMA 17

MHC-emb (non espressa normalmente nell'adulto)

MHC-neo (non espressa normalmente nell'adulto)

Si riattivano nei processi rigenerativi

MHC-IIa (muscolo scheletrico)

MHC-IIx (muscolo scheletrico)

MHC-IIb (super fast ma non espressa nell'uomo)

MHC-m (muscoli masticatori- super fast ma non espressa nell'uomo)

CROMOSOMA 14

MHC-I (o MHC-beta) espressa in muscolo scheletrico e miocardio ventricolare

MHC-alfa espressa nel miocardio atriale

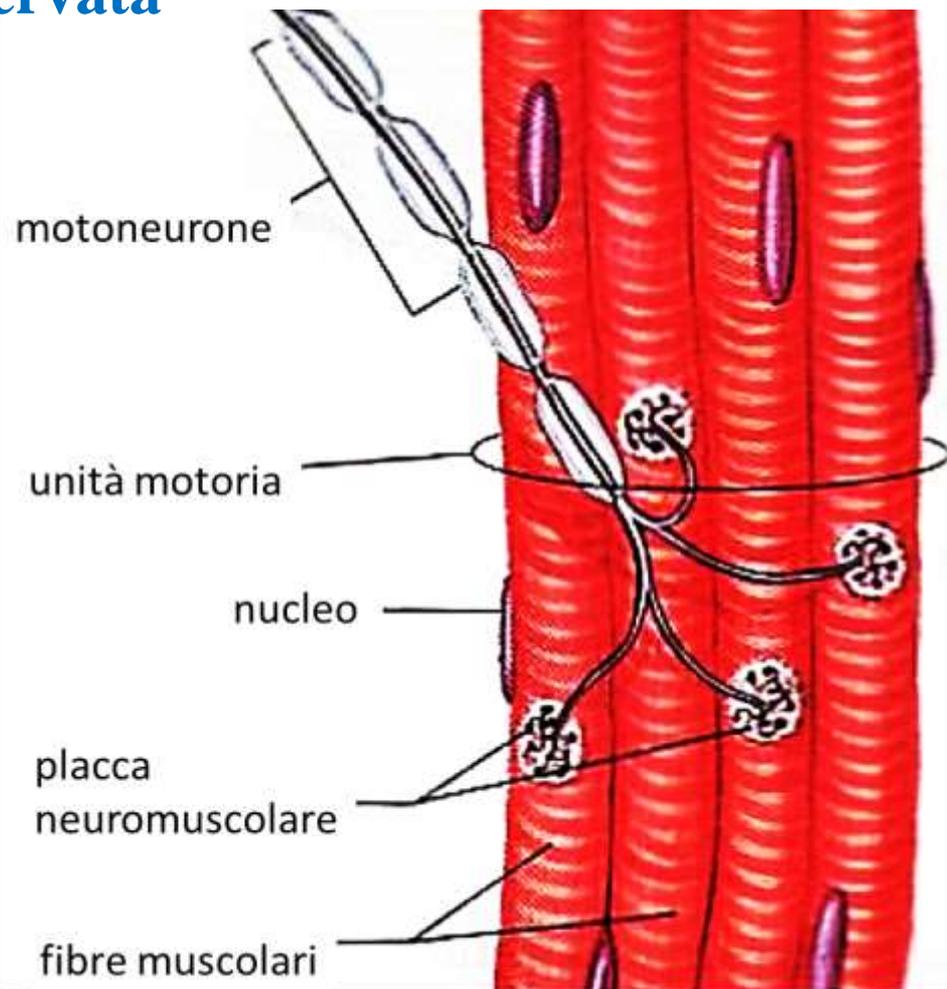
Innervazione delle fibre muscolari

Il tipo di innervazione stabilisce il destino della fibra muscolare

Ciascuna fibra muscolare è innervata da un solo tipo di motoneurone

- Le fibre **lente** sono innervate dal **motoneurone di tipo I**
- Le fibre **rapide** sono innervate dal **motoneurone di tipo II**

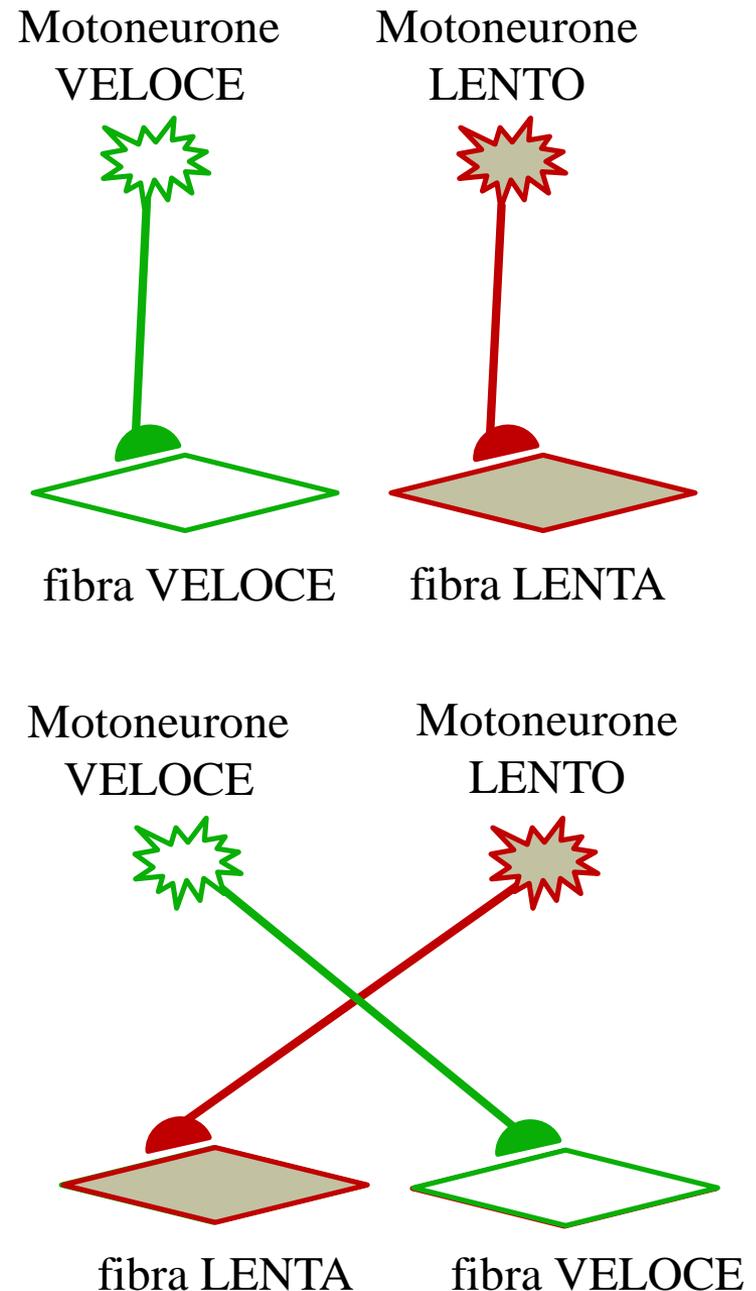
Il **motoneurone stabilisce** se la fibra innervata sarà di tipo **lento o veloce** (esperimenti di innervazione crociata)



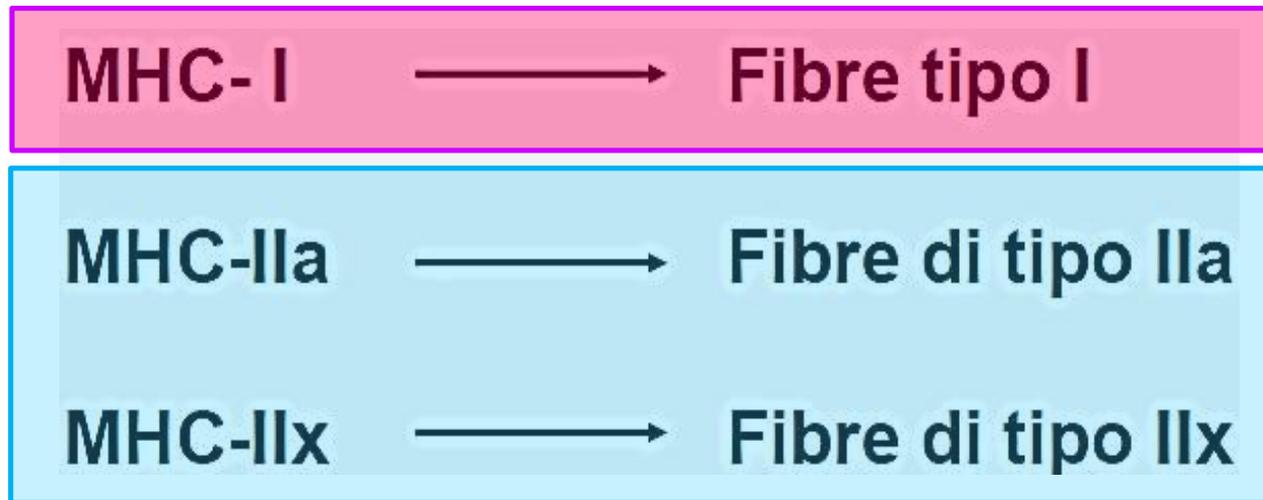
Il motoneurone determina il tipo di fibra muscolare

Gli esperimenti di **innervazione crociata** (nei quali si scambia l'innervazione delle fibre diverse) hanno dimostrato che **la fibra muscolare lenta si può convertire a veloce** o viceversa **in funzione del motoneurone che la stimola.**

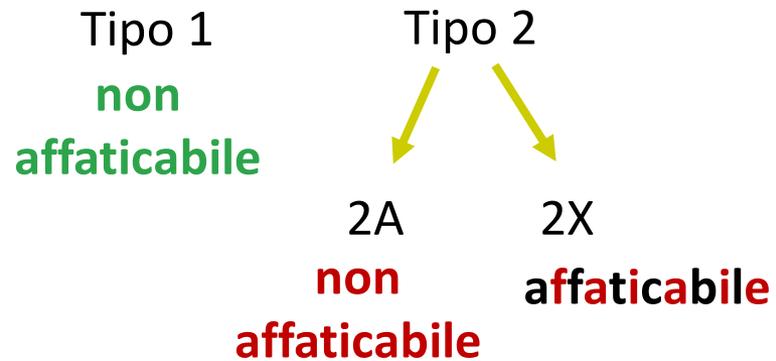
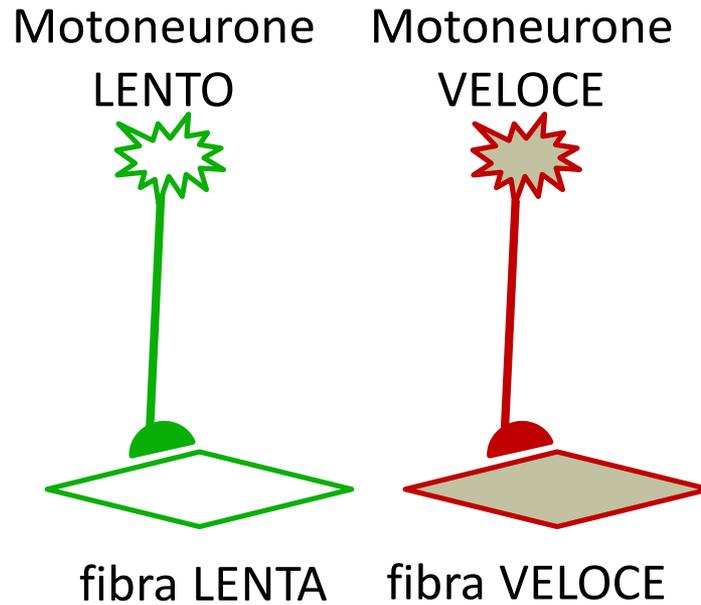
Questi studi hanno quindi chiarito che **è il tipo di nervo a determinare la tipologia della fibra.**



→ **Ogni fibra** muscolare esprime un solo tipo di **isoforma MHC** (da cui dipende la proprietà contrattile della fibra).

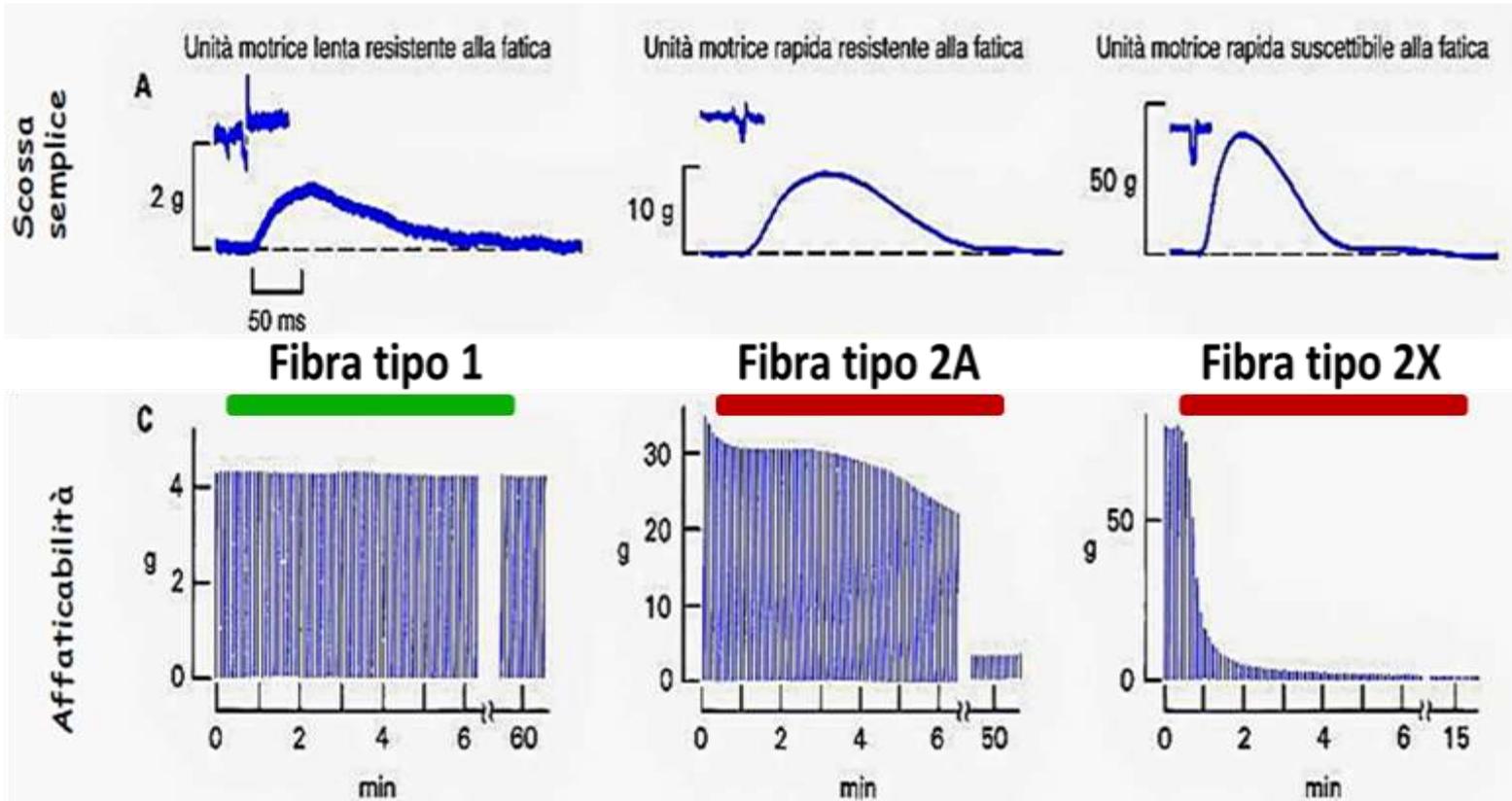


- Le fibre innervate dal **motoneurone 1** esprimono la **MHC 1**
- Le fibre innervate dal **motoneurone 2** possono esprimere uno dei due differenti tipi di MHC 2: **MHC 2A** oppure **MHC 2X**.



Le fibre hanno differenti proprietà contrattili

... le fibre hanno differenti prestazioni contrattili



LENTA
non affaticabile

RAPIDA
non affaticabile



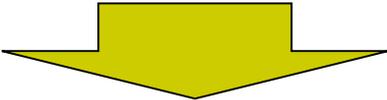
RAPIDA
affaticabile

**Il recupero energetico
dipende dallo
specifico
metabolismo attivo
nella fibra muscolare**

La contrazione muscolare richiede 4 attività funzionali coordinate e compartimentalizzate:

- ✓ **Eccitazione della membrana**
- ✓ **Accoppiamento eccitazione/contrazione**
- ✓ **Contrazione**

4) **Ripristino delle molecole energetiche ?**



metabolismo

differente a seconda del tipo di fibra muscolare

Le fibre di tipo 1 (fibre lente - ossidative)

- è presente la isoforma lenta della miosina-ATPasi → idrolizza l'ATP a una **velocità lenta** rispetto alle altre isoforme → le contrazioni avvengono ad una frequenza più lenta e la forza massima prodotta è piccola (rispetto alle fibre di tipo 2).
- diametro piccolo (sopportano piccoli carichi)
- produzione di ATP sostenuta dal **metabolismo ossidativo** (ossidazione completa di carboidrati e grassi) per cui necessitano di ossigeno:
 - sono rosse - per la presenza di mioglobina, che permette di trattenere l'ossigeno nei muscoli, ma anche perché sono molto capillarizzate, per consentire un maggior afflusso di sangue
 - contengono **grandi quantità di mitocondri**, che consentono di produrre ATP in maniera aerobica per lunghi periodi di tempo.
- sono **altamente resistenti alla fatica** (utilizzano fonti energetiche durature) e sono attive durante gli esercizi di resistenza, come la corsa della maratona o le gare ciclistiche.

Le fibre di tipo 2X (fibre rapide - glicolitiche)

- è presente la isoforma veloce della miosina-ATPasi → idrolizza l'ATP a **velocità elevata** → le contrazioni avvengono ad una frequenza elevata e la forza massimale è massima.
- produzione di ATP sostenuta dal **metabolismo anaerobico** (**fosfocreatina** e **glicolisi**).
- hanno **pochissimi mitocondri**, quasi privi di creste (non necessitano di ossigeno)
- sono di **colore bianco** poiché prive di mioglobina e ricche in depositi di glicogeno.
- sono le **poco resistenti alla fatica** tra tutte le fibre e sono attive durante gli esercizi che richiedono la massima velocità di produzione di forza, come nello **sprint** e nel **sollevamento pesi**.
- queste fibre diventano ipertrofiche (cioè diventano più grandi) durante l'esecuzione di programmi di allenamento intensi, grazie all'aumento del numero di miofibrille in seguito all'attivazione delle cellule satellite.

Le fibre di tipo 2A (fibre rapide - glicolitiche/ossidative)

fibre intermedie tra quelle di tipo 1 e di tipo 2X

- è presente la isoforma a velocità intermedia dell'enzima miosina-ATPasi → idrolizza l'ATP a una **velocità intermedia** (3-5 volte maggiore a quella delle fibre di tipo 1, ma un po' meno veloce delle 2X).
- produzione di ATP sostenuta da **metabolismo aerobico e anaerobico**.
- sono di **colore rosso pallido** poiché contengono mioglobina
- sono **moderatamente resistenti alla fatica** poiché **contengono mitocondri** (anche se in quantità minore rispetto alle fibre di tipo 1)
- Comportamento ibrido: essendo capaci di idrolizzare l'ATP velocemente producono una forza maggiore di quella generata dalle fibre di tipo 1; ma sono meno veloci delle fibre 2X. Ciò le rende particolarmente utili durante le attività muscolari ad alta intensità svolte in condizioni di massima capacità aerobica (per esempio nella **corsa** dei **400-800 m**).

Distribuzione delle fibre muscolari

In generale i nostri **muscoli** contengono tutte e tre i tipi di fibre in distribuzione variabile a seconda della:

- **funzione** da loro svolta
- dal loro **stato di allenamento** (attività motoria o sedentarietà)
- dalla **genetica individuale** (il **numero di fibre** di tipo 1 e di tipo 2 è determinato alla nascita dalla genetica)

Predisposizione genetica:

- gli atleti di resistenza come i **corridori** e i **ciclisti** tendono ad avere una percentuale maggiore di **fibre di tipo I**.
- gli atleti degli sport di potenza/velocità come i **sollevatori di pesi** e i **velocisti**, hanno una percentuale maggiore di **fibre di tipo II** (sono anche ipertrofiche).

L'allenamento trasforma il muscolo

Tipi di fibre muscolari

In realtà si distinguono **tre tipologie di fibre** in accordo con le loro proprietà biochimiche-contrattili

Fibre di tipo 1 → rosse

1

Fibre di tipo 2 → bianche

allenamento

→ rosse
(rosa)

2X

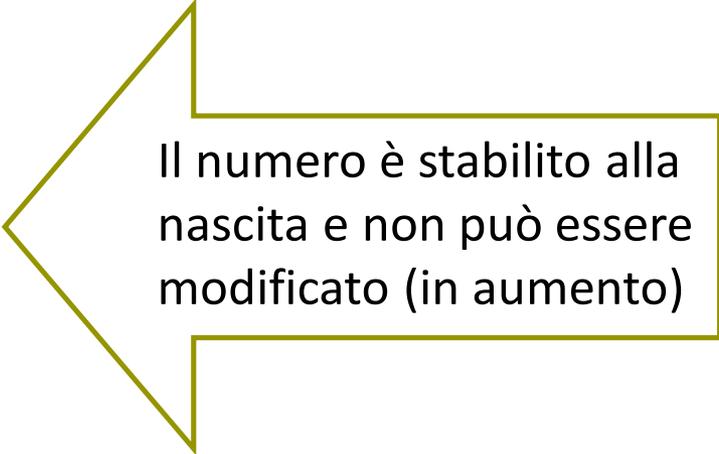
2A

2X

2A

L'allenamento trasforma il muscolo

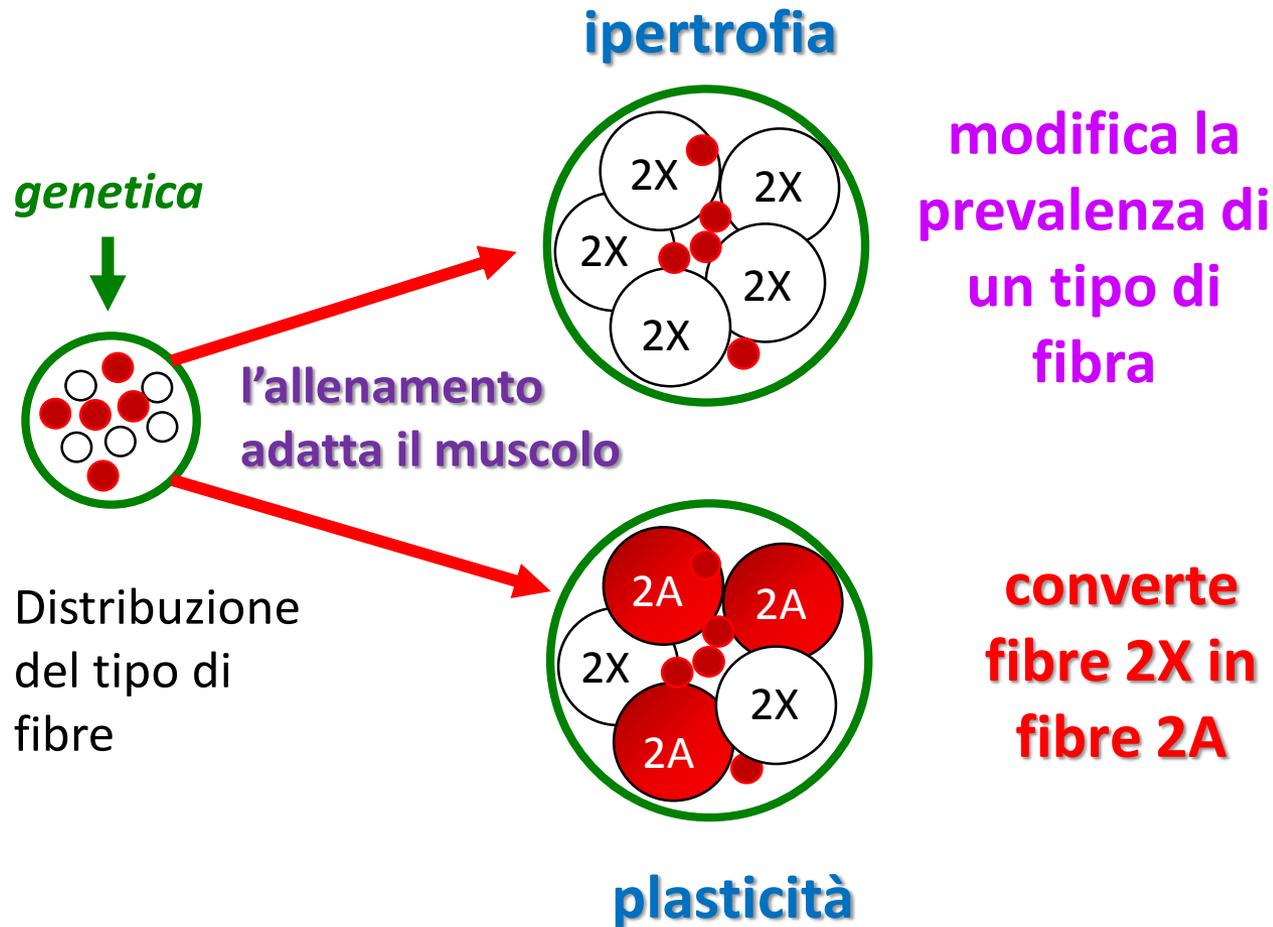
- **Iperplasia** - aumento del numero delle fibre



Il numero è stabilito alla nascita e non può essere modificato (in aumento)

- **Ipertrofia** - aumento il diametro delle fibre di tipo 2 dovuto all'aumento del numero delle miofibrille (in seguito alla **proliferazione delle cellule satellite**)
- **Plasticità** - converte un tipo di fibra 2 in un'altra attraverso allenamenti specifici (**2X ↔ 2A**)

NB → atleti con maggior **NUMERO di fibre alla nascita** tipo 2X saranno naturalmente predisposti per sport di velocità/forza; quelli con maggior numero di fibre 1 saranno predisposti per sport di resistenza (*genetica*)

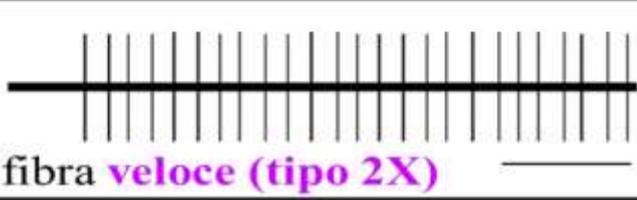
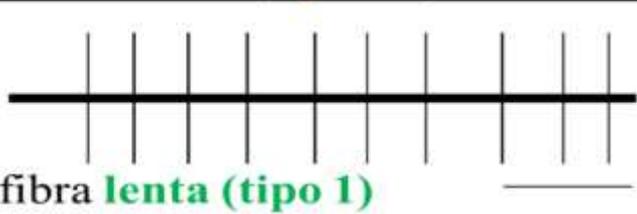


Il meccanismo della plasticità muscolare

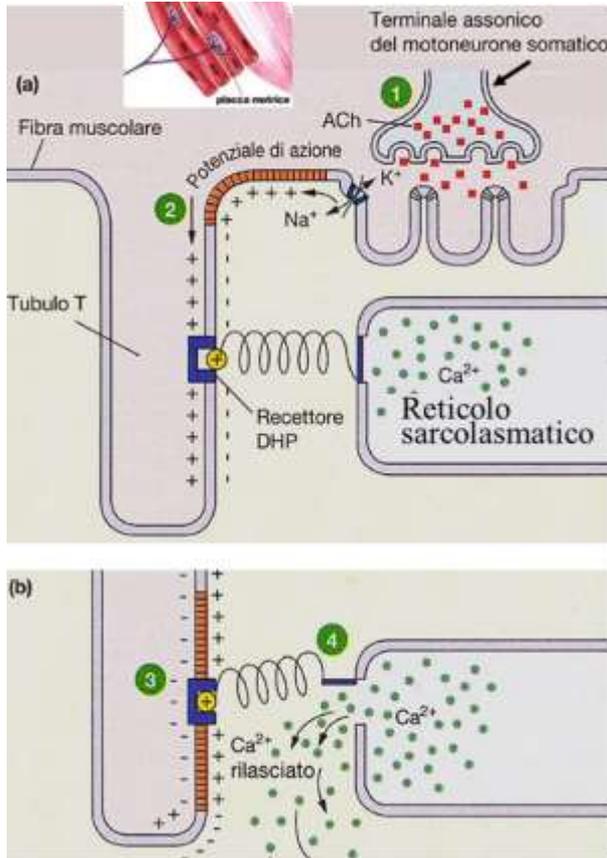
A livello molecolare ...

- Nelle **fibre veloci** la stimolazione del **motoneurone 2** avviene ad **alta frequenza** ed ha **breve durata** (stimolazione intermittente, fasica o clonica)
- Nelle **fibre lente** la stimolazione del **motoneurone 1** avviene a **bassa frequenza** ed è **più duratura** (stimolazione prolungata o tonica)

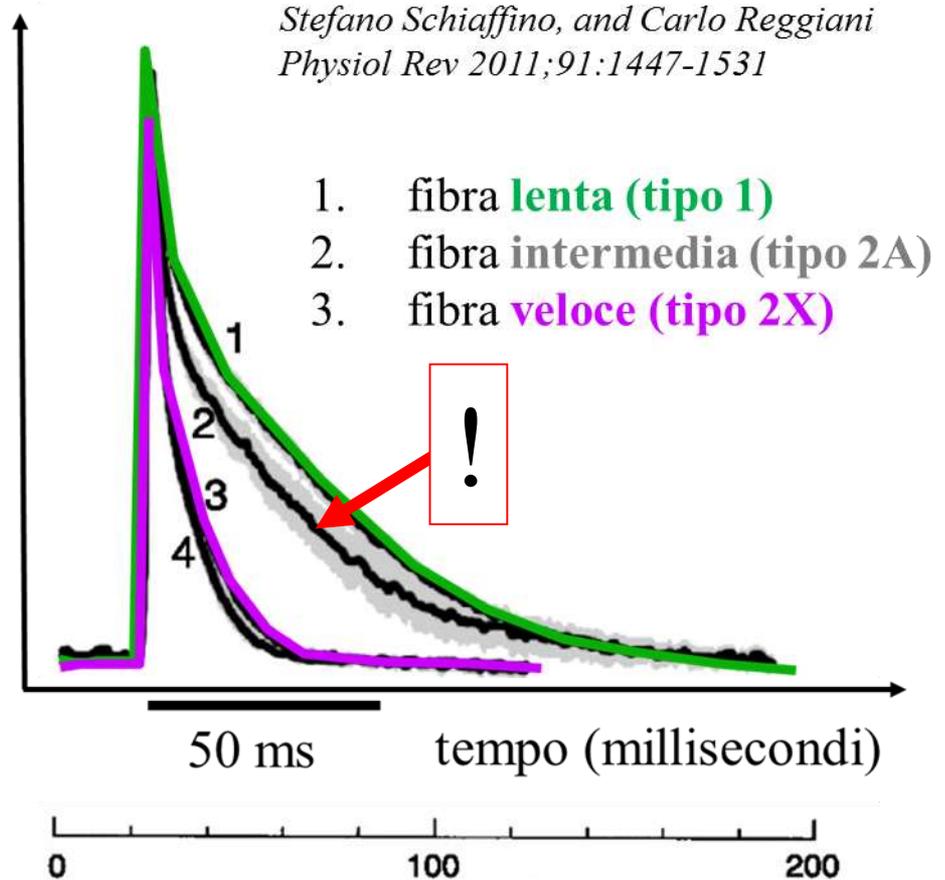
modalità di
scarica dei
motoneuroni
lenti e veloci

scarica motoneurone (contrazione)	frequenza di scarica (Hz)
 fibra veloce (tipo 2X)	48-83
 fibra lenta (tipo 1)	18-21

A seconda del tipo di motoneurone coinvolto, la stimolazione comporta un diverso rilascio di Ca^{2+} intracellulare nelle fibre muscolari lente e veloci



$[\text{Ca}^{2+}]_i$



Nella **fibra lenta** vengono rilasciate **maggiori quantità di Ca^{2+} intracellulare** rispetto alla **fibra veloce**

... nel muscolo durante l'esercizio lento ...

... le **fibres veloci (2X)** vengono 'educate' a contrarsi a lentamente come le **fibres di tipo 1** ...

→ il motoneurone 2 adegua la sua frequenza di scarica e nella fibra muscolare **aumenta il rilascio di Calcio intracellulare** ...

... è l'aumento della $[Ca^{2+}]$ intracellulare nelle fibre 2X che le trasforma in fibre 2A !

In che modo?

nelle fibre veloci 2X ...

l'aumento della quantità di **Ca²⁺ intracellulare** (in seguito all'esercizio lento) attiva l'espressione dei geni che permettono di utilizzare il metabolismo ossidativo

trasformandole in fibre 2A

Espressione di nuovi geni:

Mioglobina

MHC differente (2A)

Proteine metabolismo ossidativo

Pochi mitocondri → tanti mitocondri

E viceversa ...

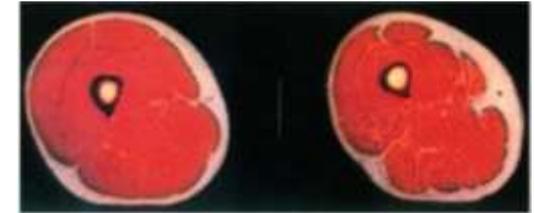
Interconversione delle fibre muscolari 2A → 2X

1. normali processi biologici dell'invecchiamento (es. perdita di unità motorie);
2. specifici stili di vita (sedentarietà)
3. lesioni spinali, malattie neurodegenerative

- comportano l'**atrofia** del muscolo, con **riduzione della massa muscolare** (riduzione del numero delle miofibrille) **e della forza.**

- si assiste ad una **perdita dell'organizzazione sarcomerica** e progressiva **sostituzione delle fibre muscolari con tessuto adiposo e connettivo.**

- nel muscolo atrofico avviene una progressiva trasformazione delle fibre 2A
→ 2X



↓ massa muscolare
↑ massa grassa

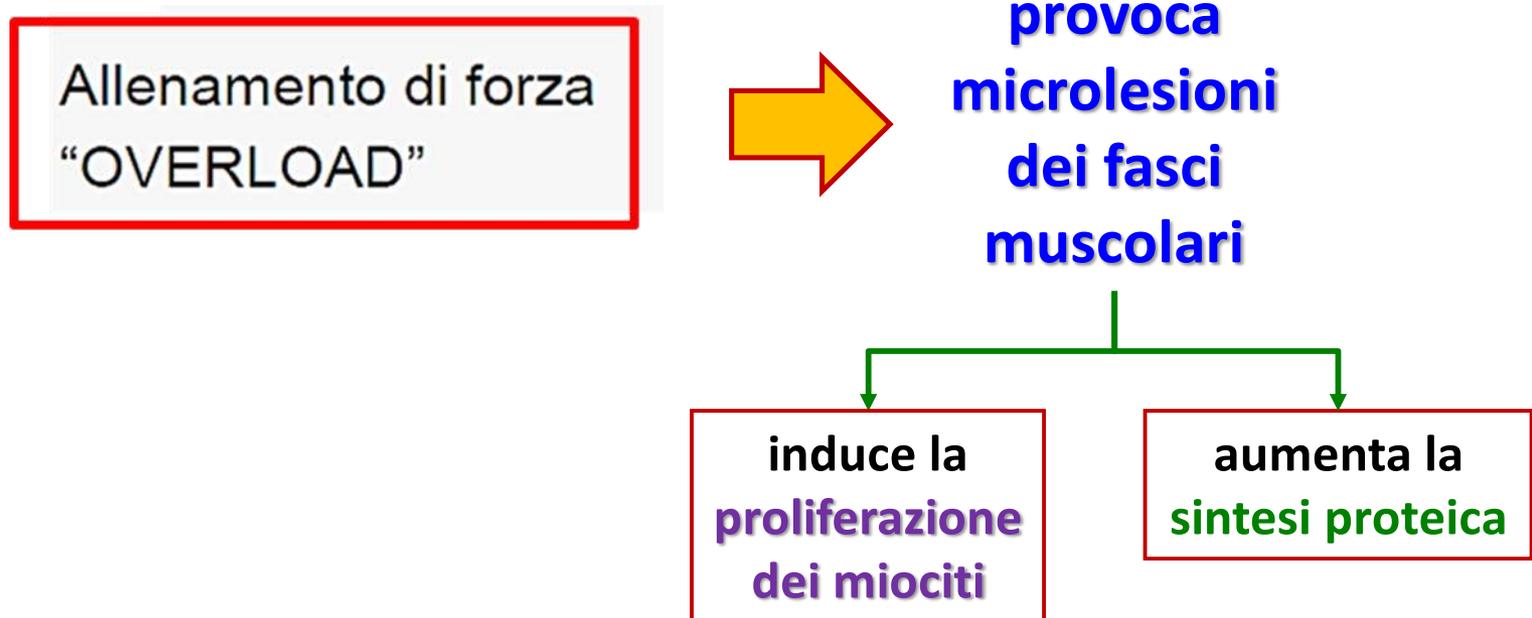
Ipertrofia muscolare

aumento della massa muscolare

IPERTROFIA MUSCOLARE

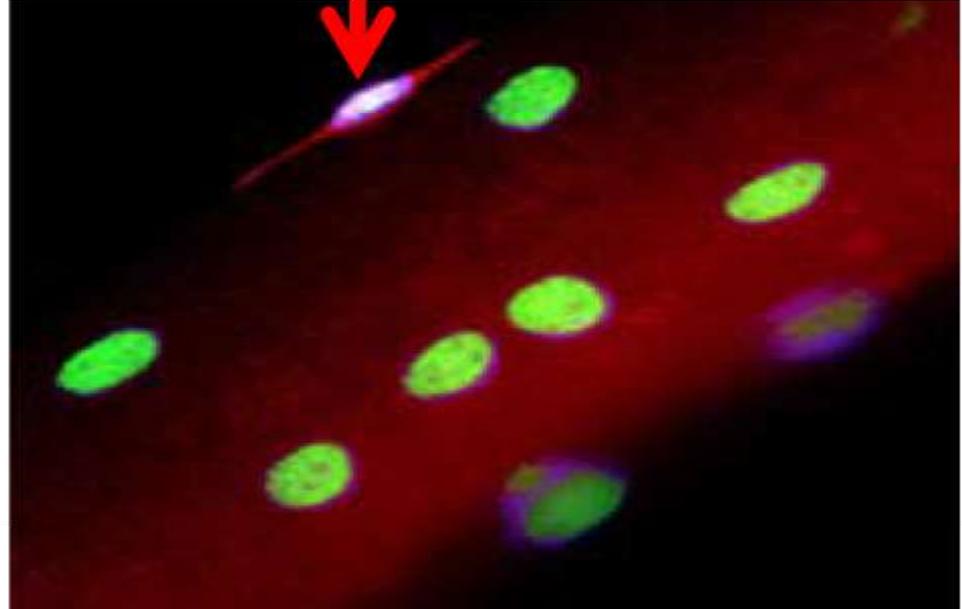
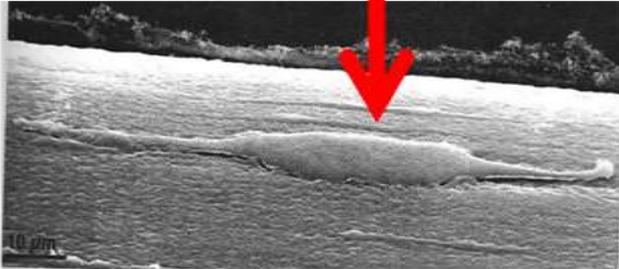
L'**allenamento** determina l'**aumento delle dimensioni muscolari** aumentando **la sezione trasversale delle fibre**

Interessa tutti i tipi di fibre, ma soprattutto quelle **veloci**, per cui è utilizzato per migliorare la **forza** e la **velocità**.



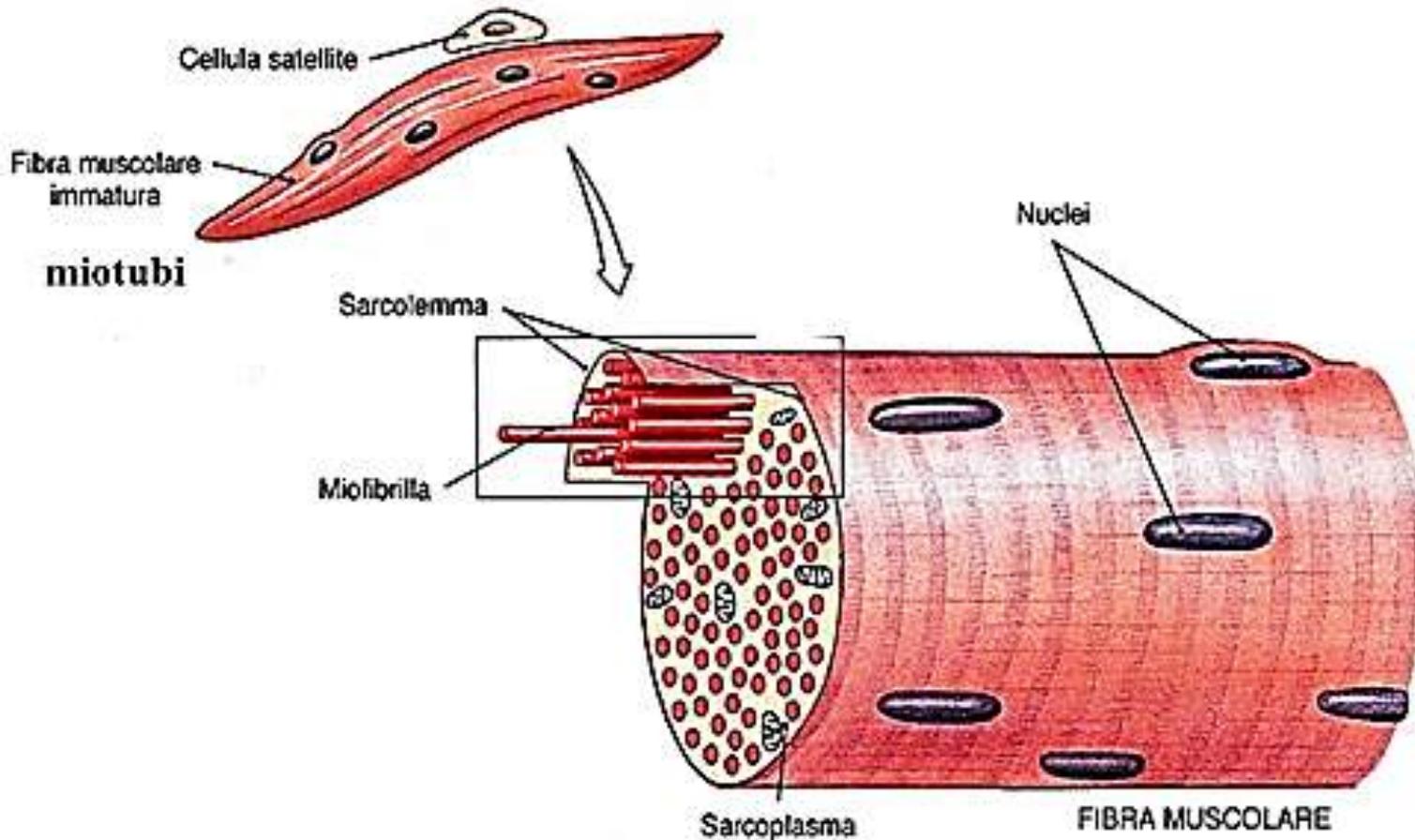
L'ALLENAMENTO IN SOVRACCARICO INDUCE LA PROLIFERAZIONE DELLE CELLULE SATELLITE

Nel muscolo adulto persistono delle cellule staminali quiescenti (cellule satellite)



- sono cellule appiattite in stretto contatto con la cellula muscolare, mantenute in uno stato di quiescenza, ma disponibili per l'autorinnovamento;

- Si attivano, iniziando a proliferare e poi a fondersi, in risposta a fattori di crescita (es. FGF) o in seguito ad un danno muscolare.



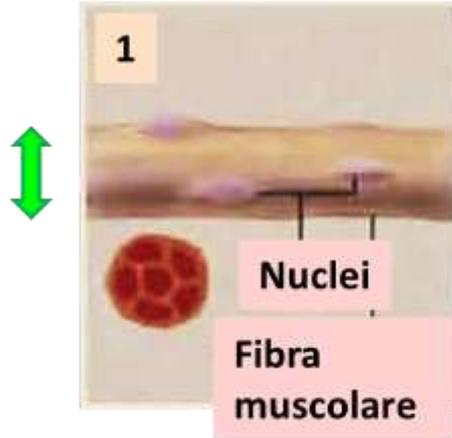
CONTROLLO DELLA PROLIFERAZIONE DELLE CELLULE SATELLITI

Fattore di competenza - **FGF**, legato alla lamina basale che avvolge i fasci muscolari, **viene rilasciato dopo la lesione**, **agisce sulle cellule satelliti sbloccandole dallo stato di quiescenza.**

Fattore di progressione

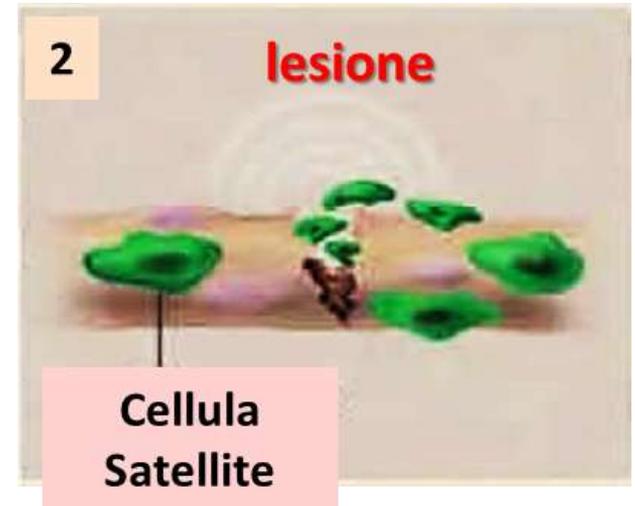
- **IGF-1** (prodotto dal fegato in risposta all'ormone della crescita) o
- **mIGF-1** (prodotto dal muscolo in seguito all'allenamento):
 - IGF nello sviluppo dell'individuo (bambino → adulto)
 - **mIGF-1** responsabile dell'ipertrofia conseguente all'allenamento (nell'adulto).
- La **combinazione** di **FGF** e **mIGF** stimola **la duplicazione delle cellule satelliti.**

CONTROLLO DELLA PROLIFERAZIONE DELLE CELLULE SATELLITI



Fibra
(pre-esercizio)

Esercizio = lesione

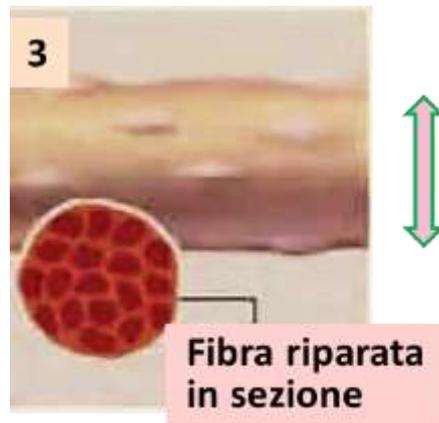


FGF

la cellula satellite diventa competente (si sveglia)

FGF + mIGF

la cellula satellite prolifera (moltiplicazione)

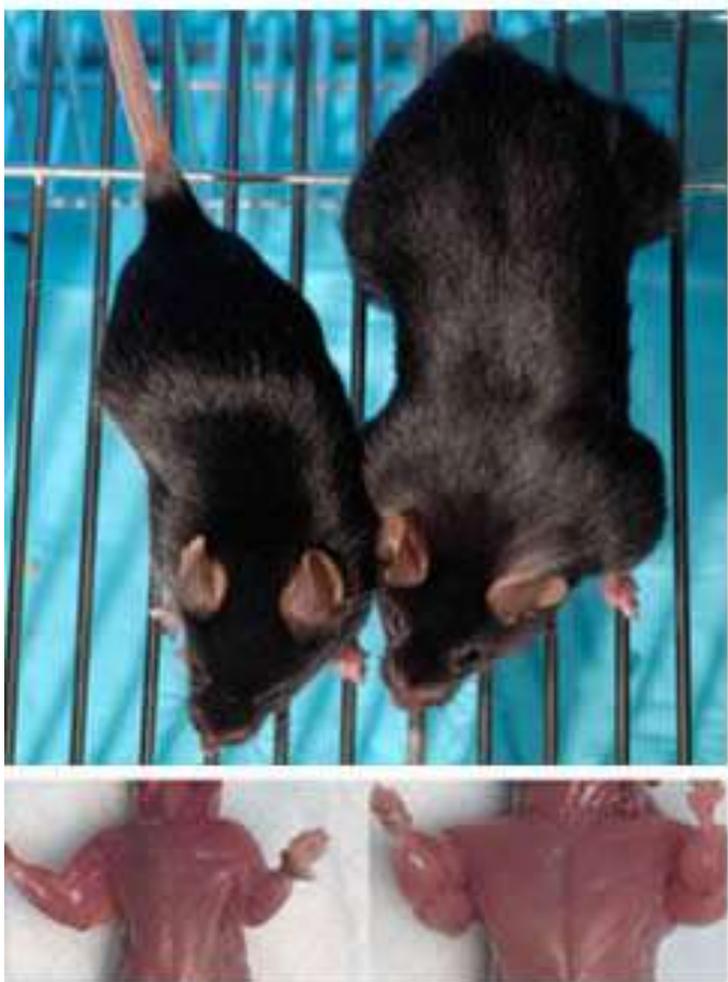


Fibra
(post-esercizio)

Il diametro della
fibra è aumentato

Il **muscolo** scheletrico produce l'**mIGF-1** (isoforma dell'**IGF**) in seguito a fenomeni di lesione delle fibre indotte dall'**allenamento**.

L'aumento della massa muscolare dipende dall'mIGF

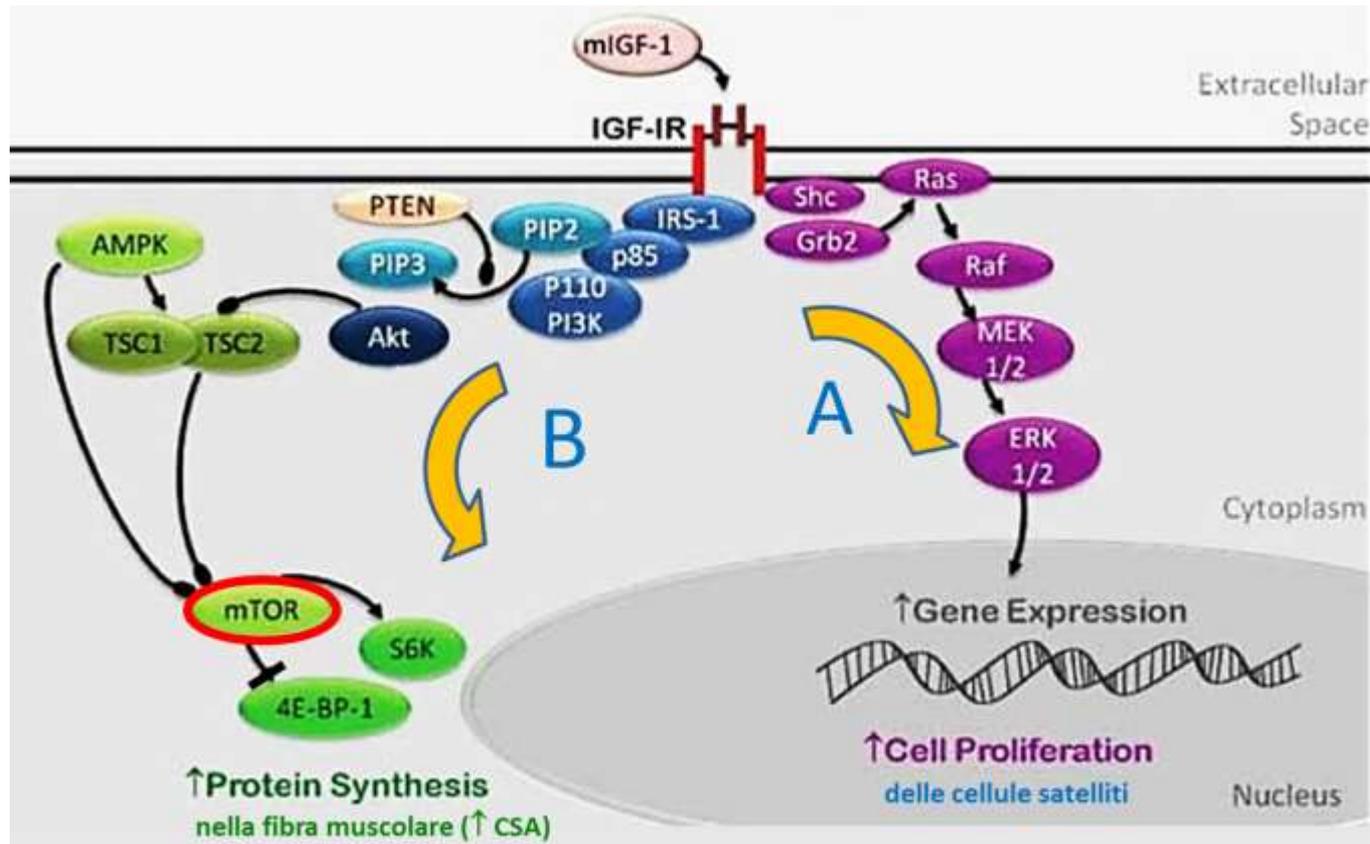


Topi transgenici l'iper-espressione di **mIGF** determina:

- ✓ **ipertrofia selettiva della muscolatura del tronco e degli arti** (23,3 % di massa muscolare in più)
- ✓ aumento della forza muscolare (14,4 % in più)
- ✓ se hanno arti danneggiati → riparazione più veloce del danno muscolare.

Come agisce l'mIGF ?

mIGF-1, legando il suo recettore (IGF-1R), **innesca una cascata** di modificazioni intracellulari (p.e. fosforilazioni) **che modificano l'attività di numerose proteine**.

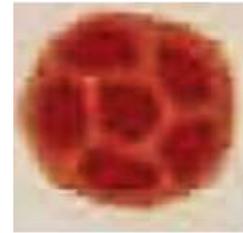


Come conseguenza vengono **attivate due vie** distinte: una che provoca l'espressione di proteine necessarie alla proliferazione cellulare (A), l'altra che potenzia la sintesi delle proteine in generale (B)

La maggiore efficienza nella sintesi delle proteine

permette alle fibre muscolari di aumentare il numero di miofibrille →

IPERTROFIA delle fibre muscolari



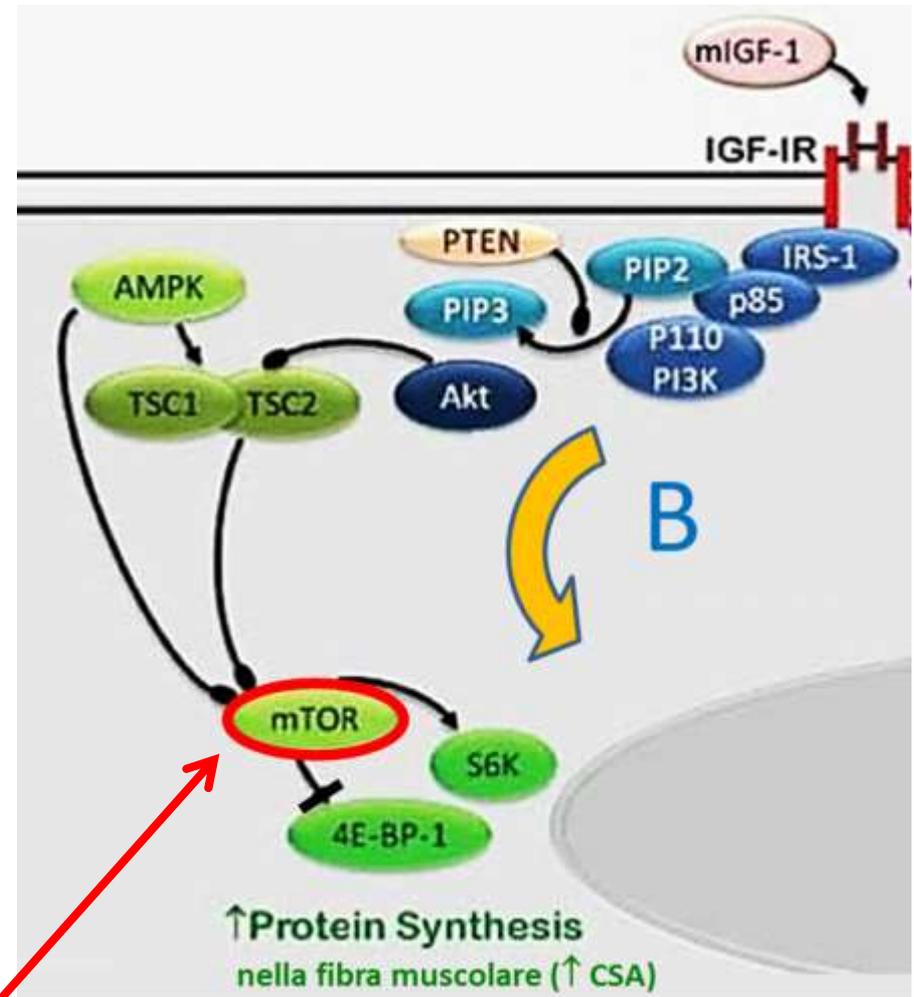
LA SINTESI PROTEICA AUMENTA già dopo **40 MIN dal termine dell'ESERCIZIO FISICO ...**

... e SI MANTIENE ELEVATA PER ORE (cioè DURANTE LA FASE DI RECUPERO avviene la sintesi della nuova massa muscolare)

L'**aumento della efficienza di sintesi proteica** indotto dall'**allenamento di forza** (attraverso **mIGF-1**) può essere ulteriormente incrementato da:

- **una particolare nutrizione** (supplemento di **proteine** o di **aminoacidi essenziali** come la **leucina**)
- **stress ambientale** (ipossia)
- **ormoni** (tiroideo T3, GH, testosterone).

aumentano l'attività di mTOR

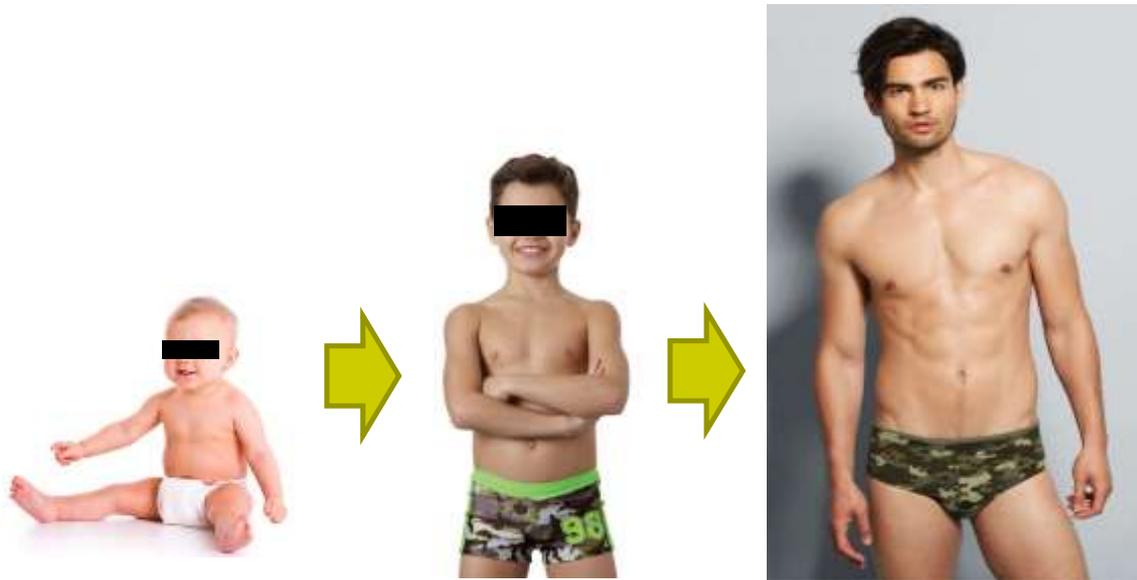


Ipertrofia muscolare

L'aumento abnorme
della massa muscolare
viene evitato grazie
alla miostatina

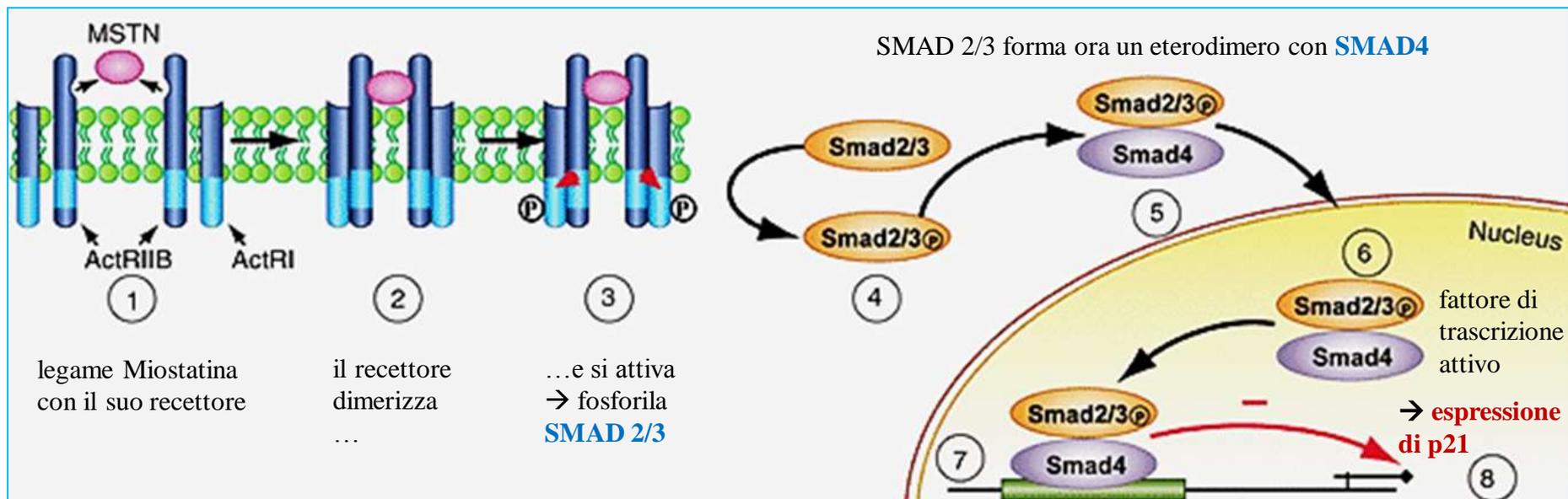


Durante l'accrescimento corporeo - la proliferazione delle fibre muscolari è controllata dalla miostatina



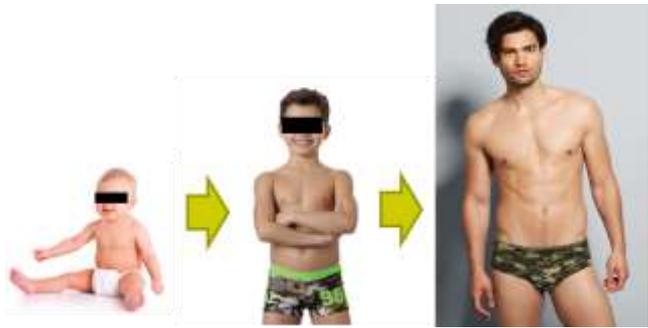
Le fibre muscolari producono **Miostatina**
che mette fine all'accrescimento

Meccanismo d'azione della Miostatina



La **Miostatina** (MSTN) lega il suo recettore posto sulla membrana della fibra muscolare e causa una cascata di eventi che **attiva** l'espressione della **proteina p21^{CIP1/WAF1}** che è un **inibitore della proliferazione cellulare** → le cellule satellite smettono di proliferare

La muscolazione si realizza attraverso lo spostamento bilanciato di equilibri ... molecolari !



GH
(ipofisi)



IGF1
(fegato)



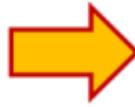
mIGF
(muscolo)



Proliferazione
dei miociti



miostatina



Ipertrofia
muscolare



Condizioni normali

Equilibrio **IGF** / **Miostatina**

il muscolo mantiene la sua massa

Sviluppo fisico/esercizio

IGF / **Miostatina**

la massa del muscolo aumenta

Fine evento

IGF / **Miostatina**

la massa del muscolo smette di aumentare

Ipertrofia muscolare

**La miostatina inibisce
lo sviluppo della
muscolatura:
evidenze**

1 – effetto delle mutazioni genetiche naturali che riducono l'espressione della Miostatina



Belgian blue e Piemontese: possiedono masse muscolari abnormi (il doppio del normale) e presentano mutazioni nel gene della Miostatina.

2 – Lo spegnimento del gene della Miostatina nell'uomo

- Nel 2004, in un bambino tedesco di 5 anni (**Mighty Baby**), è stato osservato uno sviluppo abnorme della forza e della massa muscolare. **La forza muscolare del bambino era simile a quella di un adulto.**
- La madre del bambino era una sprinter professionista
- alcuni dei suoi antenati erano ricordati per la forza straordinaria.
- Nel suo DNA era presente una **mutazione nel gene per la Miostatina.**



le gambe del bimbo a 7 mesi

3 – Topi transgenici con inattivazione del gene della Miostatina



**TOPO
NORMALE**

**TOPO transgenico in cui è stato
inattivato il gene della MIOSTATINA**

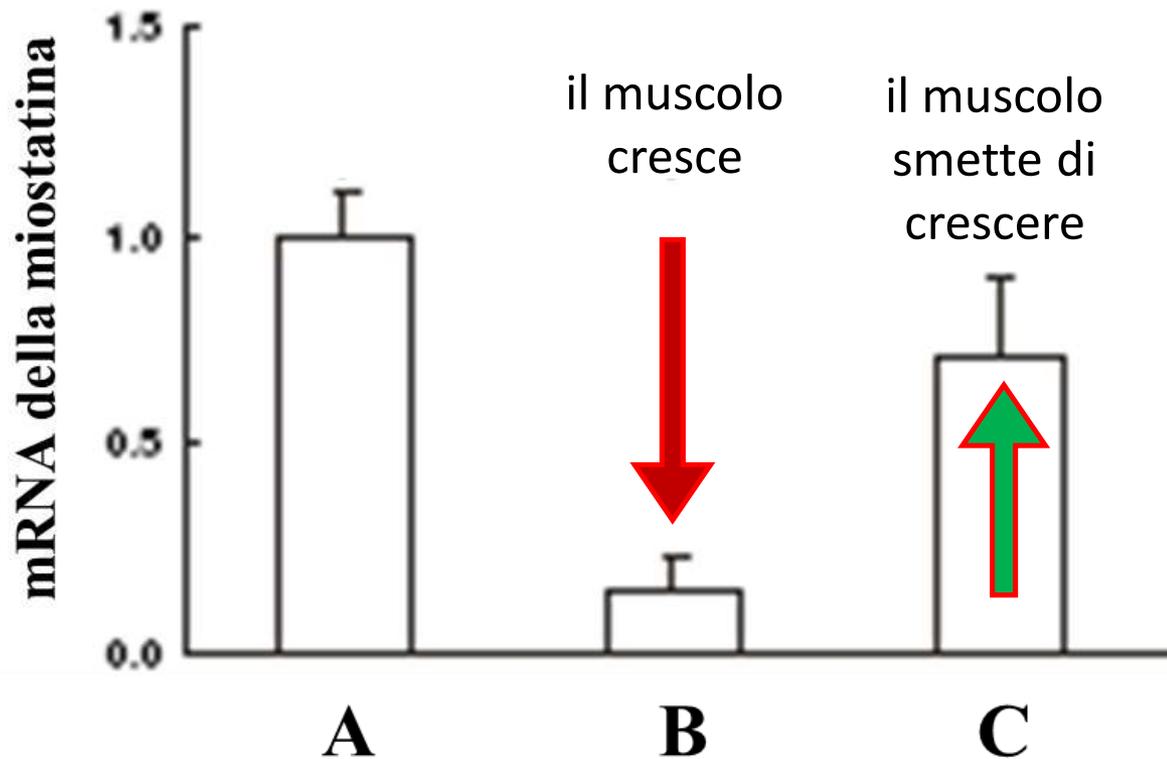
- Sviluppo muscolare superiore rispetto ai topi normali.
- Dimensione corporea superiore del 30%
- Muscolo ipertrofico
- Peso 2 o 3 volte maggiore rispetto alle cavie normali.

L'analisi istologica evidenzia un **aumento della dimensione delle singole fibre muscolari (ipertrofia)**.

4 - L'esercizio fisico riduce i livelli di miostatina

esperimenti condotti sui ratti

Matsuka et al. Acta Physiol Scand 2005; 183: 299-307



Livelli dell'mRNA per la miostatina in ratti non allenati (A), oppure dopo 7 h (B) e 24 h (C) dal primo allenamento

Che cosa succederebbe se i livelli di miostatina non risalissero???

In conclusione nella lezione ...

- ✓ abbiamo visto che il muscolo è eterogeneo, formato cioè da fibre di differente rapidità di contrazione e sviluppo di forza.
- ✓ abbiamo visto che le fibre hanno una differente affaticabilità che dipende dal tipo di metabolismo disponibile nella fibra per la ricarica dell'ATP consumato dalla contrazione.
- ✓ abbiamo visto che, seppure esista una predisposizione genetica individuale ad un tipo di attività rispetto ad un'altra, l'allenamento è in grado di modificare il muscolo, sia nel tipo di fibre (plasticità) sia nel loro diametro (ipertrofia).
- ✓ abbiamo capito quali sono i meccanismi alla base dell'accrescimento muscolare e l'importanza di taluni tipi di alimenti e di alcuni ormoni.

Materiale didattico di supporto

- Materiale delle lezioni sarà reperibile nel minisito dell'insegnamento; esso è utile come traccia degli argomenti svolti, ma non sostituisce il libro di testo
- Piattaforma on line Moodle: approfondimenti e test di autovalutazione

Raccomandazione importante: Il materiale delle lezioni è per USO PERSONALE dello studente iscritto al corso di Biochimica per le Scienze Motorie UniFE ed è fatto divieto di diffonderlo in qualsiasi maniera, potendo contenere immagini/filmati per i quali valgono i diritti di copyright.