

Università degli Studi di Napoli "Parthenope"

**CORSO
DI
Marcatori molecolari nello sport
aa 2021/22**

Docente del corso: Prof.ssa A. Alfieri
andreina.alfieri@uniparthenope.it

Corso di Marcatori molecolari per lo sport + ATP (aa 2021/22)

Prof A. Alfieri

Dott F. Cozzolino

PROGRAMMA

I contenuti del corso teorico sono:

- Il lattato come marcatore nello sport
- Il muscolo quale organo endocrino
- CK e patologie muscolari: miopatie
- Aspetti biochimici della fatica muscolare
- La valutazione biochimica dello stress ossidativo in Medicina dello Sport
- Valutazione dei principali marcatori biochimico-clinici nell'attività motoria
- Tessuto osseo, picco di massa ossea, rimodellamento osseo, marcatori di neoformazione ossea e di riassorbimento osseo. Osteopenia/osteoporosi: marcatori
- Tessuto adiposo: composizione del tessuto adiposo bianco e bruno; metabolismo e funzione secretoria del tessuto adiposo bianco. Termogenesi e proteine disaccoppianti. Dislipidemie.
- Diabete mellito- definizione; classificazione meccanismi patogenetici; marcatori molecolari; effetti benefici e dell'attività fisica

Corso di Marcatori molecolari per lo sport + ATP (aa 2021/22)

Prof A. Alfieri

Dott F. Cozzolino

PROGRAMMA

Nell'ambito delle attività tecnico-pratiche i principali contenuti sono:

- lo sport come strumento per mantenimento di benessere e salute sia in soggetti in età evolutiva e negli adulti, in soggetti sani e con patologie.
- Integratori alimentari nella pratica sportiva
- Sostanze dopanti nella pratica sportiva
- Verifica delle sostanze vietate
- Tecniche e controllo antidoping

Testi consigliati

Dispense fornite dai docenti; pubblicazioni scientifiche su argomenti del corso.

Bibliografia:

- P. Buono et al. "Attività fisica per la salute" Idelson-Gnocchi- Terza edizione 2020
- P. Buono et al. "Sport e nutrizione" Idelson-Gnocchi- 2018
- Francesco Salvatore "Biochimica Umana" Idelson Gnocchi – Febbraio 2013
- Qualsiasi testo di Biochimica Clinica purché aggiornato.



1^a lezione

Le basi strutturali della contrazione muscolare

TESSUTO MUSCOLARE

È un tessuto altamente specializzato che ha la funzione di garantire i movimenti volontari ed involontari dell'organismo.

È costituito da cellule muscolari, responsabili della contrazione muscolare e da involucri connettivali che nutrono il muscolo e lo ancorano al sistema scheletrico.

Sulla base di caratteristiche strutturali, funzionali e di localizzazione, si può classificare in tre tipi:

- Scheletrico o striato (volontario)
- Cardiaco (involontario)
- Liscio (involontario)



MUSCOLO SCHELETRICO: FUNZIONI

- movimenti volontari delle diverse parti dello scheletro
- mantenimento della postura
- protezione degli organi interni
- controllo degli orifizi



Tessuto muscolare scheletrico (o striato)

Prende il nome sia dalla sua utilizzazione in cooperazione con il sistema scheletrico sia dalla sua organizzazione ultrastrutturale.

È responsabile dell'esecuzione di tutti i movimenti volontari dell'organismo

TESSUTO MUSCOLARE SCHELETRICO

Caratteristiche morfologiche

- Cellule allungate e fusiformi
- Molti nuclei periferici
- Striature evidenti

Sincizio: fusione di
più cellule

In tal modo viene assicurata una propagazione dell'impulso nervoso alla massima velocità e con elevata precisione



OSSERVAZIONE DEL MUSCOLO SCHELETRICO

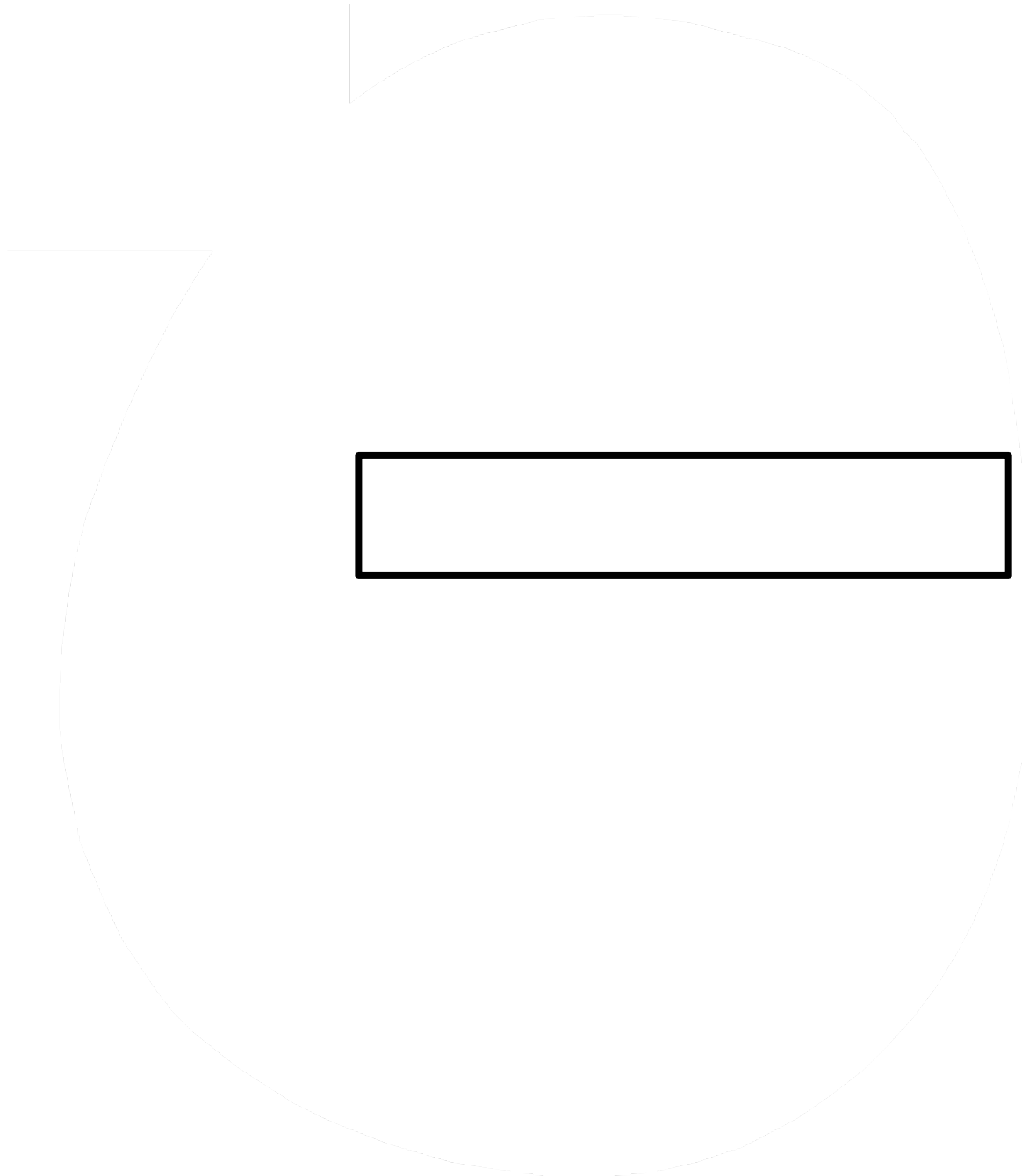
- **dall'aspetto morfologico
macroscopico...**
- **...alla struttura
microscopica...**
- **...all'ultrastruttura**

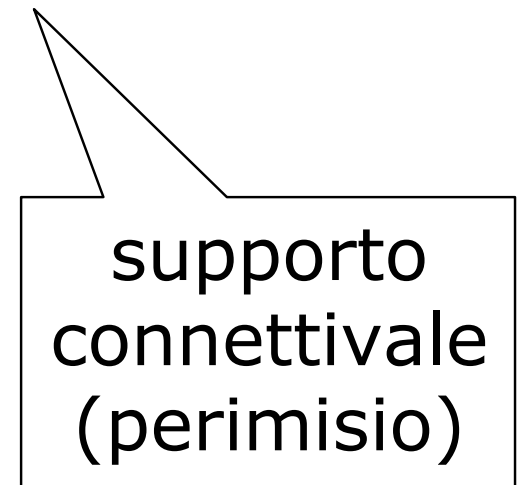
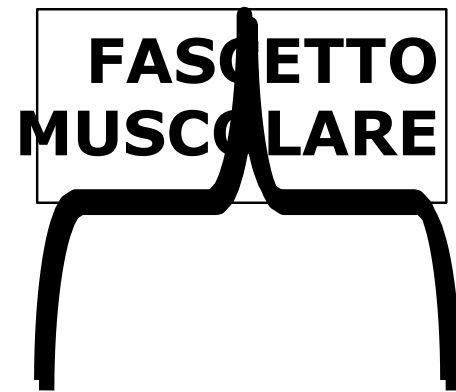
FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE IN SEZIONE LONGITUDINALE

**l'immagine non è molto
suggestiva (per il
momento); proviamo
invece
ad osservare una
sezione trasversale**

queste cellule possono essere MOLTO lunghe (fino ad alcuni cm)

sezione
trasversale
di muscolo
scheletrico



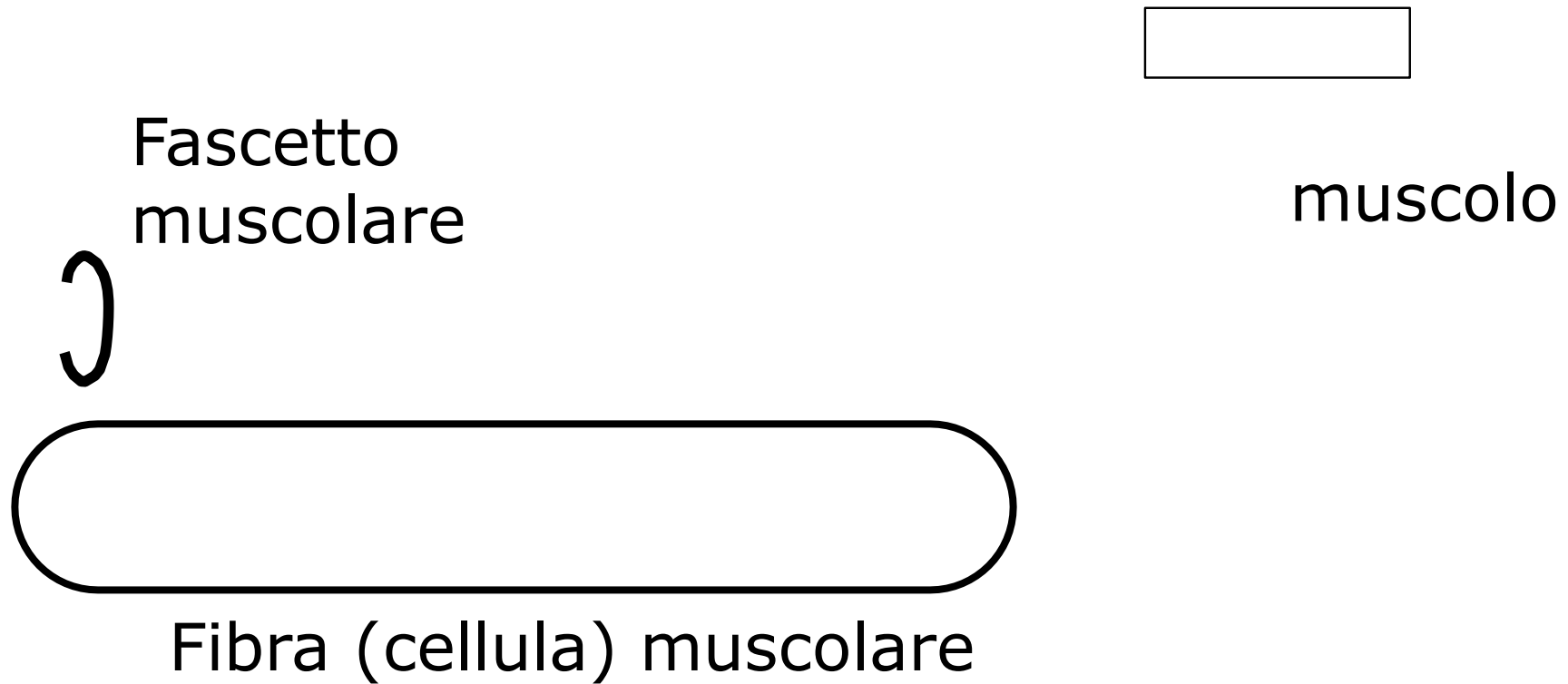




CELLULA
muscolare
scheletrica

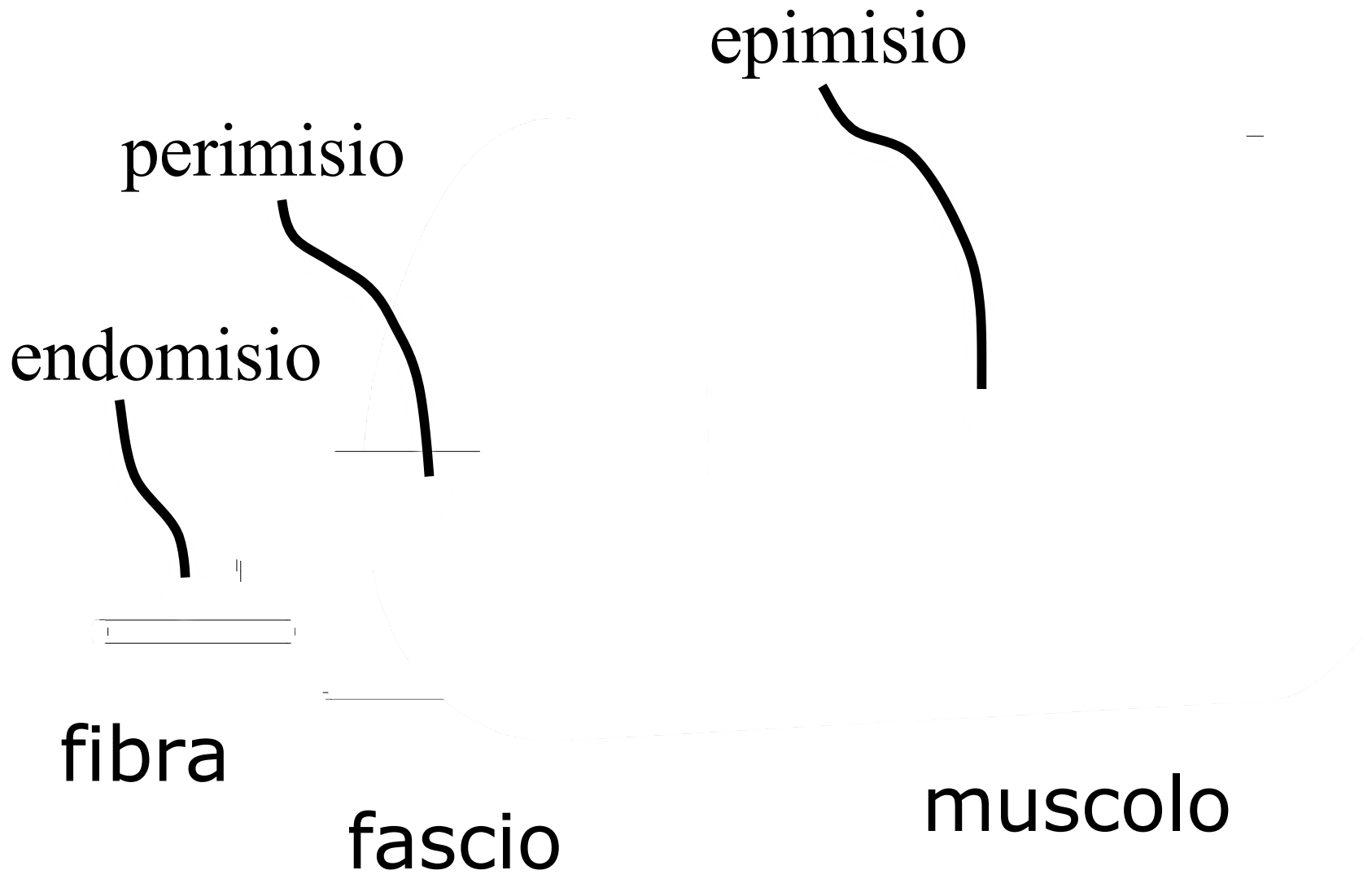
ogni cellula presenta molti nuclei,
disposti eccentricamente,
in prossimità della membrana
plasmatica (detta *sarcolemma*)

ORGANIZZAZIONE GENERALE DEL MUSCOLO



riassumendo...

MUSCOLO, FASCI E FIBRE MUSCOLARI e rispettivi involucri connettivali



INVOLUCRI CONNETTIVALI

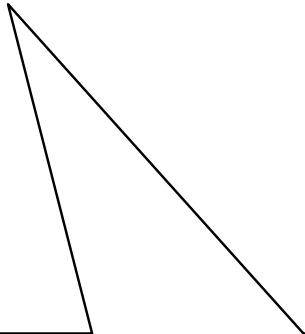
- dall'esterno all'interno:
 - l'*epimisio* avvolge l'intero muscolo
 - il *perimisio* avvolge un fascio di fibre all'interno del muscolo
 - l'*endomisio* avvolge una singola fibra muscolare
- le fibre collagene dei diversi involucri si fondono le une nelle altre e all'estremità del muscolo formano il *tendine*



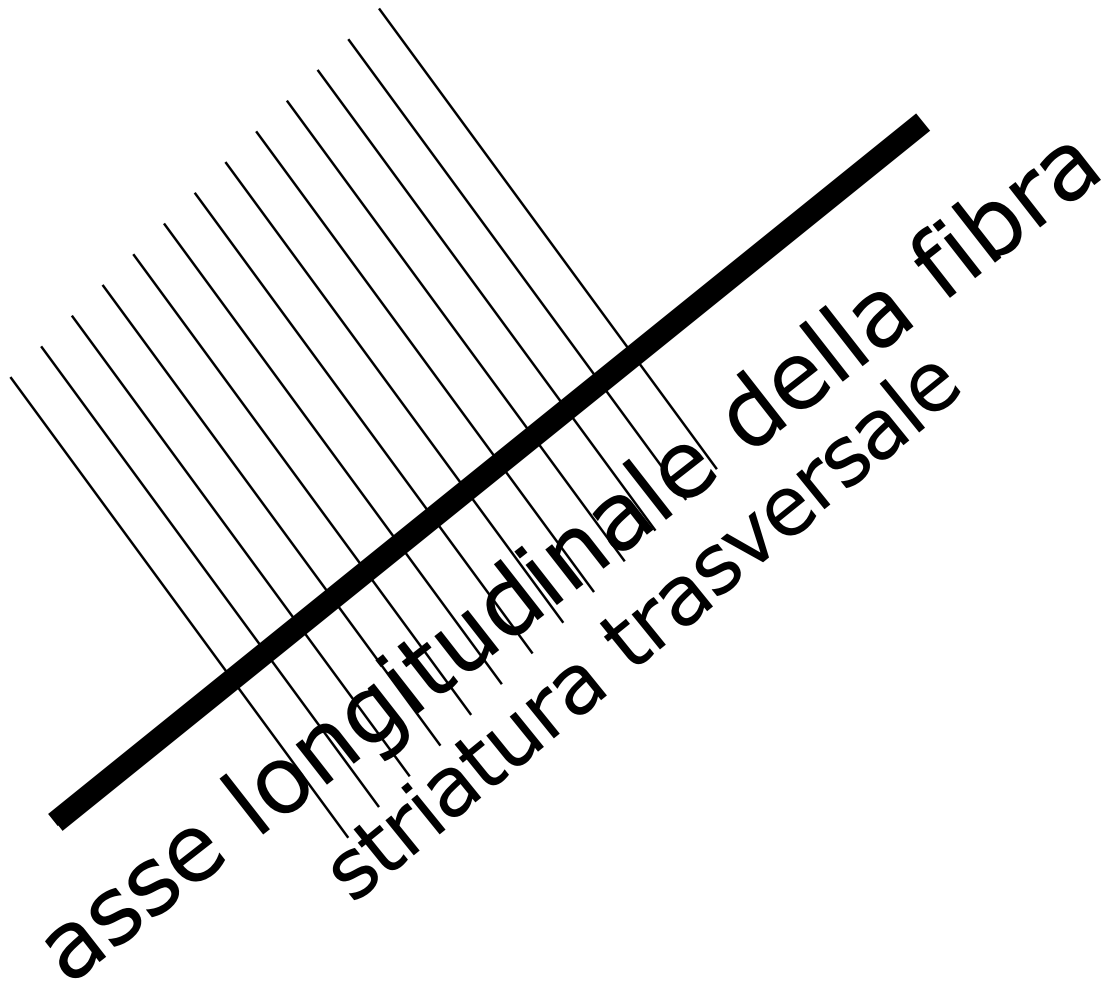
PERCHÉ IL MUSCOLO
SCHELETRICO È

anche detto "striato"?

FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE IN SEZIONE LONGITUDINALE



Sono visibili diversi nuclei
ed è appena percepibile
la caratteristica striatura
trasversale del muscolo
scheletrico



La striatura trasversale delle fibre scheletriche



COS'È LA STRIATURA TRASVERSALE?

- per comprenderlo, è necessario studiare l'ultrastruttura della fibra muscolare...

nucleo

A

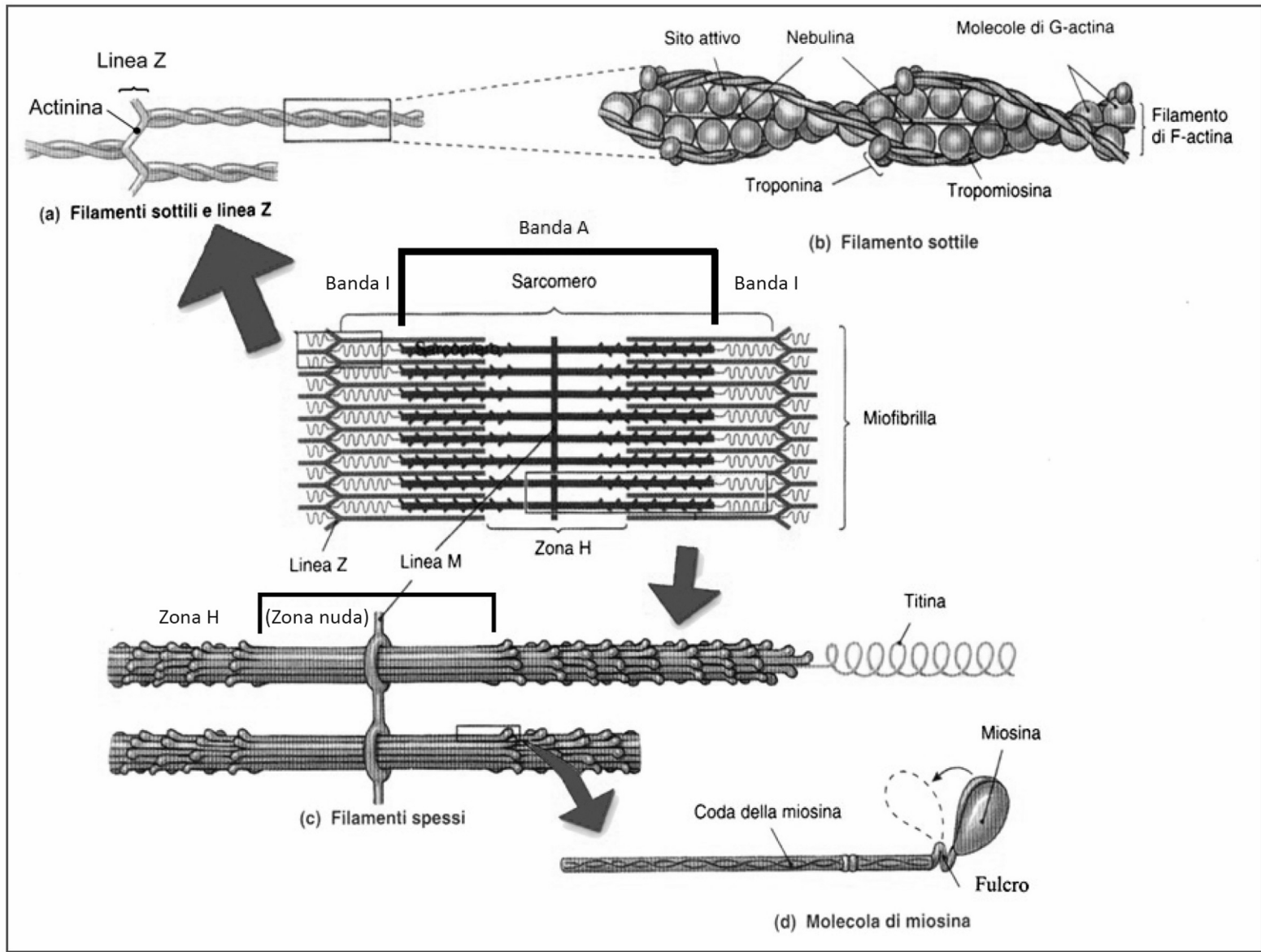
I

Z

al microscopio elettronico
la striatura si rivela
piuttosto articolata



Buono P et al.: Attività fisica per la salute Idelson-Gnocchi 2009



MIOFIBRILLE



Z A A Z
I I

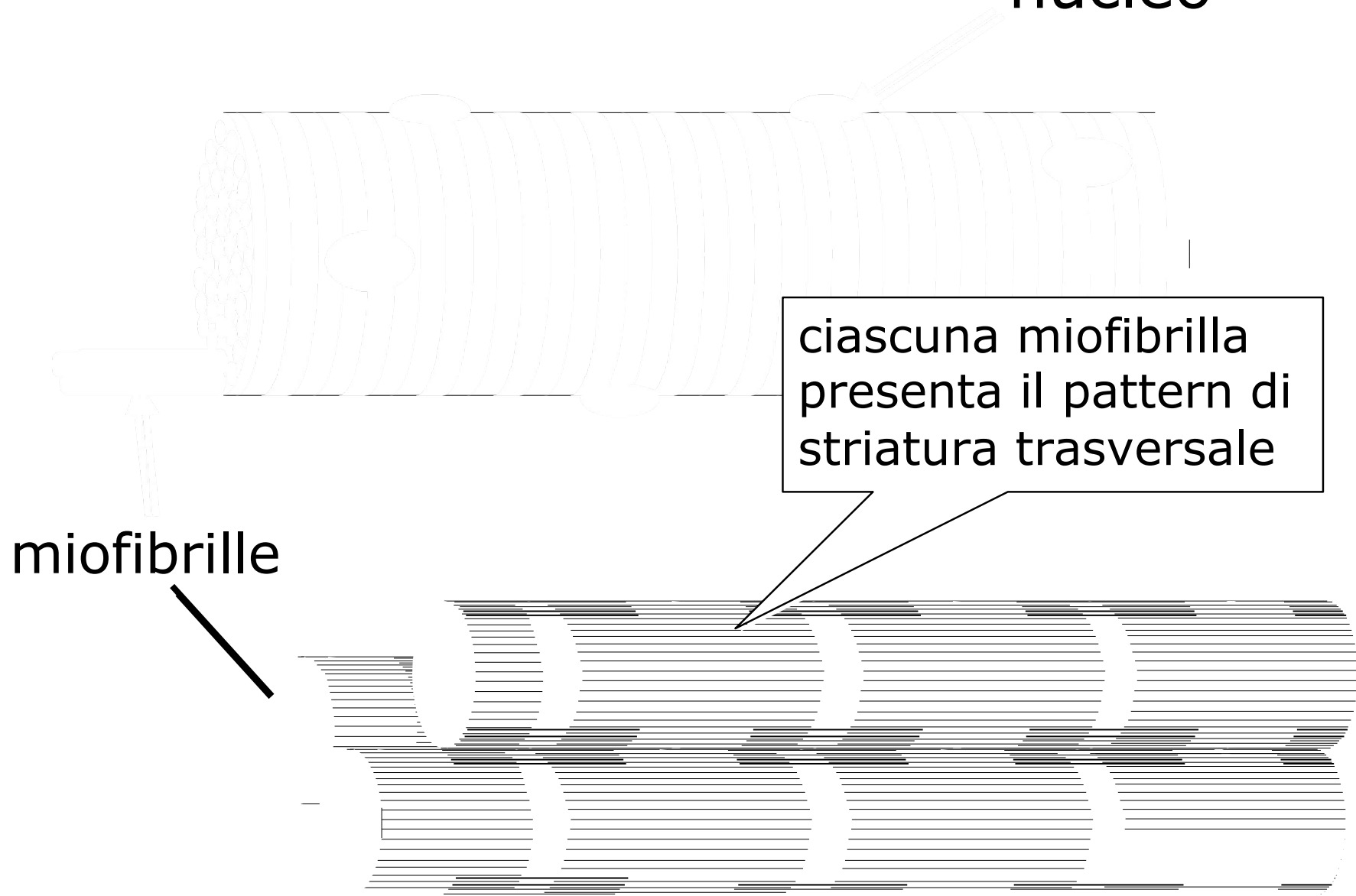
RIASSUMENDO... FIBRE MUSCOLARI E MIOFIBRILLE

...contiene
numerosissime
miofibrille

ciascuna fibra
muscolare scheletrica...

FIBRA MUSCOLARE E MIOFIBRILLE

nucleo

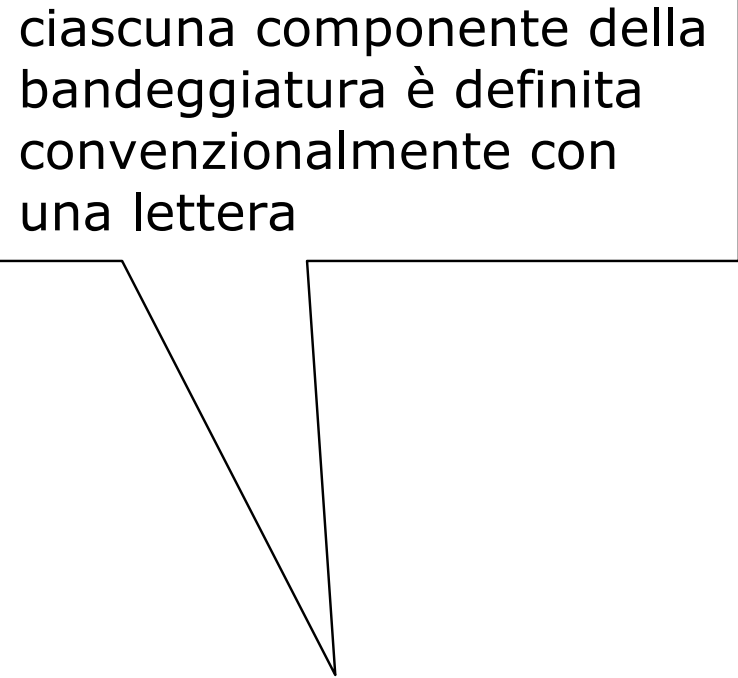


ciascuna miofibrilla
presenta il pattern di
striatura trasversale

miofibrille

FIBRE E MIOFIBRILLE

ciascuna componente della bandeggiatura è definita convenzionalmente con una lettera



la porzione di miofibrilla compresa fra due linee Z si definisce sarcomero

MIOFIBRILLE E MIOFILAMENTI



sarcomero

1-2 μm

le miofibrille sono a loro volta costituite da fasci di filamenti di natura proteica, detti *miofilamenti*

sarcomero

banda A

banda I

banda H

banda I



linea Z



linea M



linea Z

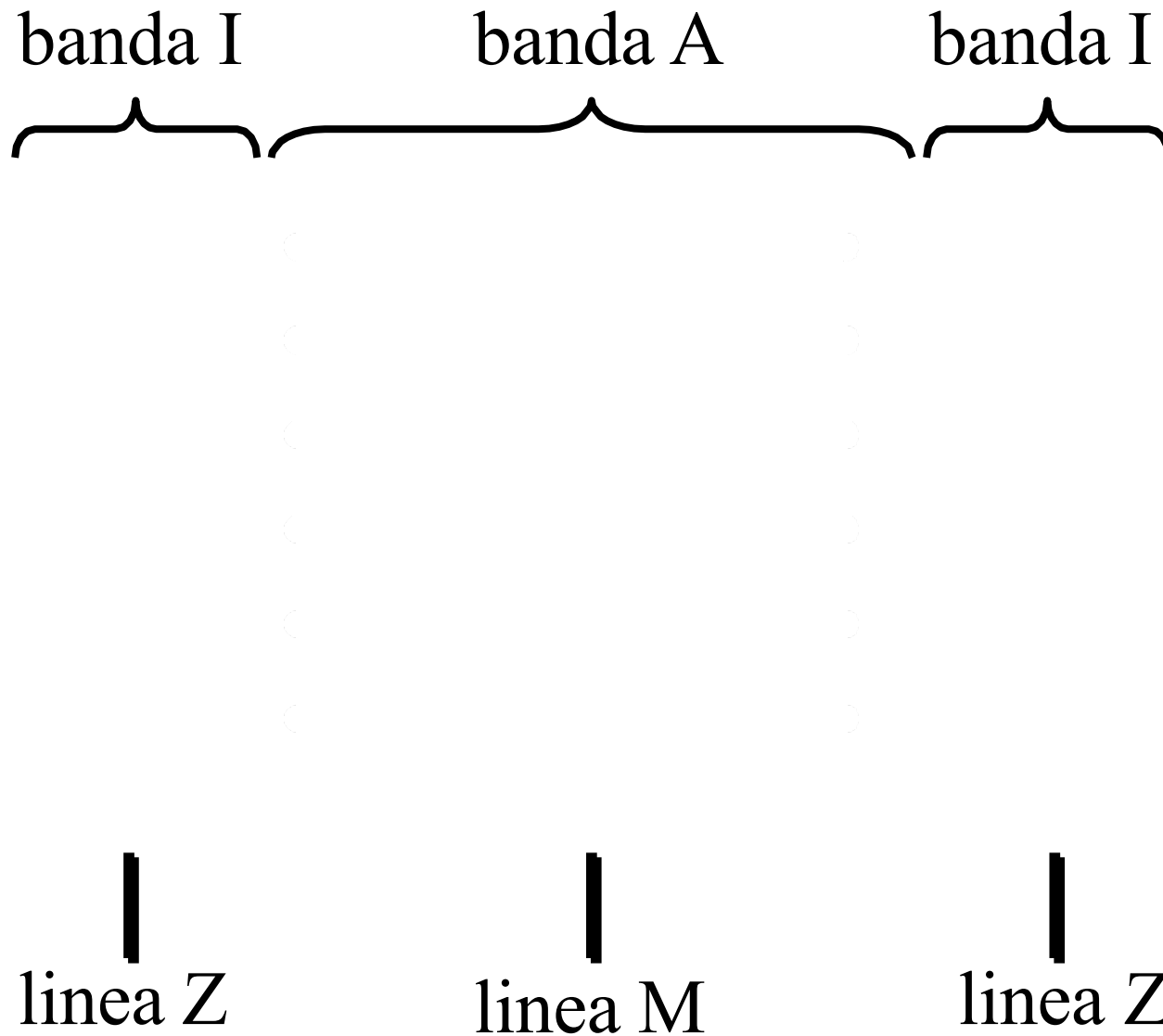
esistono due tipi
di miofilamenti:

- spessi
- sottili

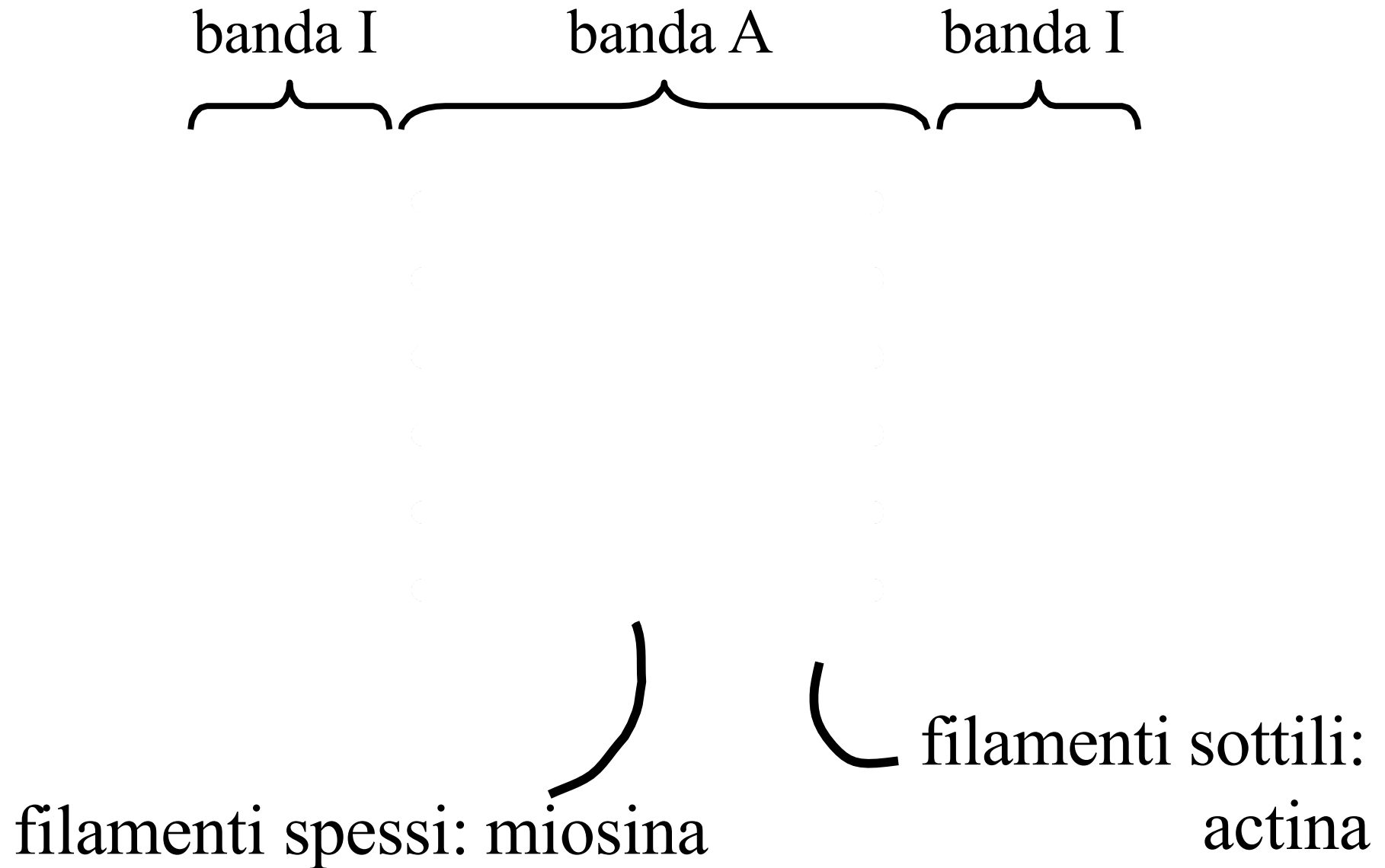


Actina (filamento sottile)
Miosina (filamento spesso)

SCHEMA STRUTTURALE DEL SARCOMERO



COMPONENTI STRUTTURALI DEL SARCOMERO



STRUTTURA DI UNA MIOFIBRILLA

L'organizzazione **regolare ed intervallata** delle miofibrille in un **sarcomero** è data dalla disposizione di due **miofilamenti**. Essi sono costituiti da diverse proteine tra cui le due più abbondanti sono:
la ***miosina*** che caratterizza il **filamento spesso** e la ***actina*** che costituisce il **filamento sottile**.

I **filamenti sottili (*actina*)** disposti parallelamente, partono dalle linee Z e non arrivano al centro del sarcomero.

I **filamenti spessi (*miosina*)** sono invece disposti al centro del sarcomero.

Banda A: le zone scure più intense sono dovute alla **sovrapposizione** dei due filamenti mentre la zona meno intensa è dovuta invece solo ai filamenti spessi.

CARATTERISTICHE STRUTTURALI DELLE PROTEINE CONTRATTILI:

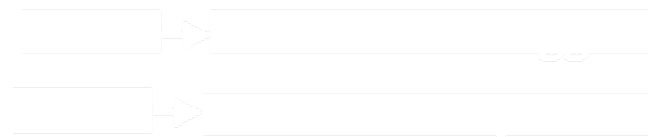
miosina

La miosina è una proteina composta da **due catene pesanti identiche** (Myosin Heavy Chain, MHC, 200 kDa) e **due coppie di catene leggere differenti** (Myosin Light Chain, MLC, 15 e 27 kDa)

Le **catene pesanti** sono costituite da una **porzione fibrosa** contenente lunghe catene ad **alfa-elica** che si intrecciano e da due **porzioni globulari** a cui si legano le due coppie di **catene leggere**

testa

coda



Le porzioni fibrose di molecole di **miosina** tendono ad aggregarsi lasciando verso l'esterno le porzioni globulari formando così i **filamenti spessi**

Le porzioni globulari nel **filamento spesso** sporgono in modo regolare e sono responsabili di legami crociati con i **filamenti sottili** durante la contrazione muscolare. Infatti esse hanno elevata affinità per l'**actina**.

CARATTERISTICHE STRUTTURALI DELLE PROTEINE

CONTRATTILI:

actina

L'**actina** contenuta nei filamenti sottili è una proteina globulare di circa 42 kDa (**actina G**) che in presenza di ioni Mg^{++} tende a polimerizzare formando la sua forma fibrosa (**actina F**) con struttura elicoidale.

Ogni monomero di **actina G** può legare una molecola di ATP o di ADP.

All'**actina F** si legano inoltre altre due proteine la **tropomiosina** e la **troponina**.

ALTRE PROTEINE CONTRATTILI: *TROPOMIOSINA*

La **tropomiosina** è costituito da due subunità differenti (α e β) che avvolgono l'**actina F**.

Troponina

La **troponina** è invece un eterotrimerico di 76 kDa: ogni subunità prende il nome dalla propria funzione

- **Troponina T (TnT)**: lega la tropomiosina;
- **Troponina I (TnI)**: impedisce il legame tra actina e miosina inibendo l'attività ATPasica;
- **Troponina C (TnC)**: presenta elevata affinità per gli ioni Ca^{++} .

INTERAZIONE TRA ACTINA, TROPOMIOSINA E TROPONINA.

Ogni molecola di **tropomiosina** interagisce con sette monomeri di **actina G**.

L'interazione **actina-tropomiosina**, in condizione di riposo, “nasconde” i siti di legame dell'**actina** per la **miosina**.

La contrazione muscolare prevede la dissociazione del complesso (“smascheramento” del sito di legame tra actina e miosina) che si basa sul legame di ioni Ca^{++} alla **troponina C**, che vengono liberati in seguito alla propagazione dell'impulso nervoso.

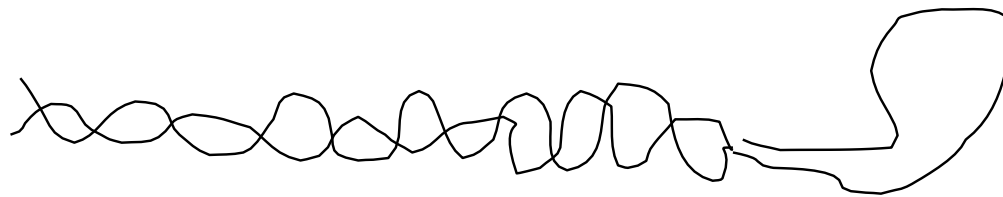
Nebulina



La **nebulina** è una proteina legante l'actina localizzata nel filamento sottile dei sarcomeri nel muscolo scheletrico. È una proteina molto grande (600-900 kDa) e lega fino a 200 monomeri di actina. Poiché la sua lunghezza è proporzionale alla lunghezza del filamento sottile, si ritiene che la nebulina agisca come un "righello" del filamento sottile regolando la lunghezza del filamento sottile durante l'assemblaggio del sarcomero; essa funge anche da rivestimento del filamento di actina.

Le mutazioni genetiche nella nebulina possono causare alcune forme di miopatia.

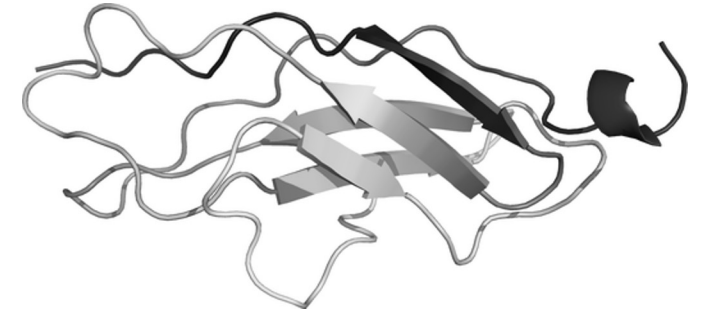
ACTINA E miosina



coda della miosina:
doppia elica proteica

testa della miosina:
proteina globulare

Titina



La **titina** è una **proteina gigante**; è costituita da circa 27.000-33.000 amminoacidi (a seconda delle diverse isoforme) ed è presente nei muscoli che forma una connessione elastica tra i filamenti spessi di miosina e la *linea Z* del sarcomero.

La titina è la terza proteina più abbondante nel muscolo, dopo la miosina e l'actina.

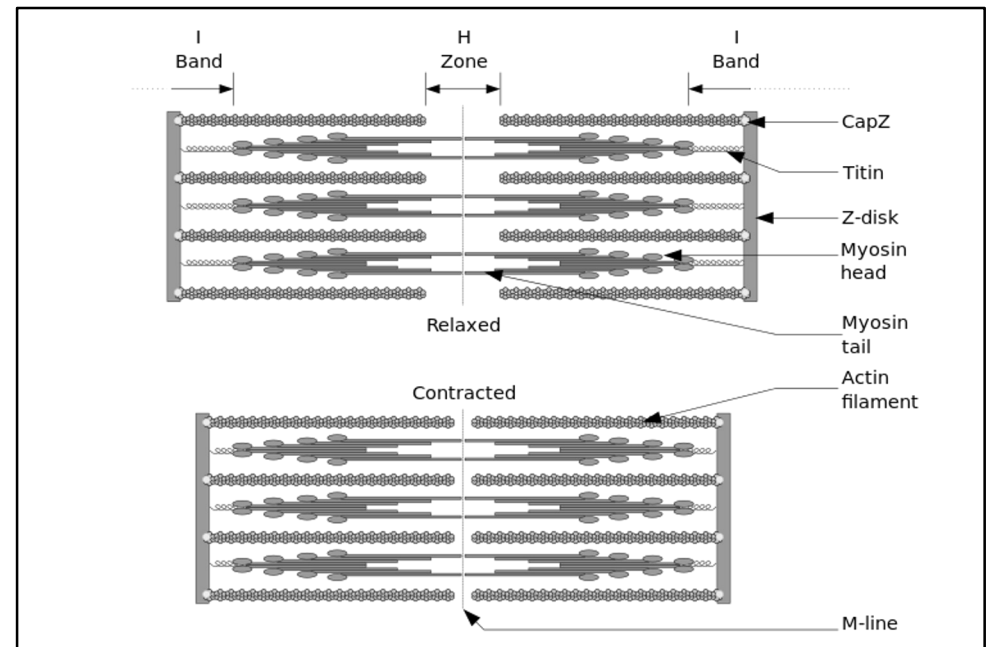
Il gene che codifica per la titina contiene il maggior numero di esoni (363) che siano stati scoperti in un singolo gene, e pure il più lungo singolo esone (17.106 bp).

Titina (2)

Le funzioni principali della titina sono di stabilizzare il filamento spesso, di allinearlo centralmente tra i filamenti sottili, prevenendo l'eccessivo allungamento del sarcomero, e riportando il sarcomero alla sua condizione originaria dopo l'allungamento.

Estendendosi dalla regione della linea Z fino alla linea M, una singola molecola di titina attraversa la metà della lunghezza del sarcomero.

Mutazioni del gene delle titina sono associate a una serie di miopatie, cardiomiopatie e distrofie muscolari ereditarie.



PROPAGAZIONE DELL'IMPULSO NERVOSO (1)

L'impulso nervoso giunge al muscolo attraverso i motoneuroni: l'assone del motoneurone si suddivide in più rami ognuno dei quali innerverà una singola fibrocellula per mezzo di una giunzione neuromuscolare (un tipo specializzato di sinapsi)

assone

**placca
motrice**

Ciascuna fibra muscolare e' innervata
da un motoneurone (*placca
neuromuscolare*)

STRUTTURA DELLA SINAPSI NEUROMUSCOLARE

La sinapsi è composta da tre elementi:

1. Terminale assonico (porzione presinaptica – bottone);
2. fessura sinaptica;
3. Porzione post sinaptica (placca neuromuscolare)

PROPAGAZIONE DELL'IMPULSO NERVOSO

(2)

Quando l'impulso nervoso giunge nel terminale assonico vengono rilasciate nella fessura sinaptica molecole di acetilcolina (ACh).

Sulla membrana della cellula muscolare scheletrica sono presenti appositi recettori che riconoscono l'ACh: l'interazione recettore-ligando determina la propagazione dell'impulso all'interno della fibrocellula muscolare.

PROPAGAZIONE DELL'IMPULSO NERVOSO (3)

Quando questo recettore nicotinic per ACh (recettore canale composto da 5 subunità) viene attivato, il canale viene aperto e si determina un selettivo passaggio di ioni. In particolare, si ha l'ingresso di ioni sodio e, in percentuale minore, una fuoriuscita di ioni potassio, a favore di gradiente di concentrazione. Questo evento determina la depolarizzazione della placca neuromuscolare

PROPAGAZIONE DELL'IMPULSO NERVOSO (4)

Quando l'onda di depolarizzazione si trasmette alla membrana delle cisterne terminali viene provocata l'apertura dei canali del calcio, evento che determina un incremento della concentrazione citosolica di ioni calcio (Ca^{++}).

Tubulo a T

Sarcolemma

Filamento sottile

spesso

Triade

**Reticolo
sarcoplasmatico**

**Cisterna
terminale**



SCHEMA RIASSUNTIVO

“SLIDING FILAMENT THEORY” della contrazione muscolare

La contrazione muscolare si basa su un meccanismo di **scorrimento reciproco** dei **filamenti** spessi e sottili presenti nei sarcomeri. A riposo la dimensione media di un sarcomero è di **2,5 μm** .



In seguito alla contrazione la lunghezza dei sarcomeri si accorcia fino a circa **1 μm** .

Scompaiono le **bande I (filamenti sottili)** e le **zone H** e le **linee Z** si avvicinano.

RUOLO DEL Ca^{2+} NELLA CONTRAZIONE MUSCOLARE

i n

sito di
legame

actina

In assenza di Ca^{2+} la **tropomiosina** blocca i siti attivi sull'actina

Quando il Ca^{2+} si lega alla **troponina (TnC)**:

- Il complesso della troponina cambia configurazione
- La **troponina** sposta la tropomiosina, esponendo i siti di binding dell'actina per la miosina
- L'actina e la miosina possono interagire

CICLO DELLA CONTRAZIONE

5) La testa della miosina ritorna al suo orientamento originale

1) Fibra a riposo: la testa della miosina non è attaccata all'actina

2) Legame della testa della miosina all'actina

4) Legame di ATP e rilascio della testa della miosina dall'actina

3) Scorrimento dei filamenti di miosina e actina

Rilascio di ADP e P_i

1) A riposo: miosina distaccata dall'actina ($ADP + P_i$)

2) $Ca^{2+} \rightarrow$ la miosina si lega all'actina

3) Rilascio di $ADP + P_i \rightarrow$ scorrimento dei filamenti

4) Legame di ATP \rightarrow rilascio della miosina

5) Idrolisi di ATP \rightarrow la miosina ritorna al suo orientamento originale

TESSUTO MUSCOLARE CARDIACO

Viene considerato come una forma specializzata di muscolatura striata che si contrae in maniera *involontaria* e *ripetitiva*.

Inoltre, anche a livello strutturale è caratterizzato da cellule mononucleate. In questo caso si parla di *sincizio funzionale*. Rimangono le striature.

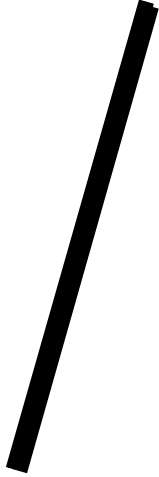
Le cellule comunicano tra loro attraverso i *canalicoli comunicanti* o *giunzioni comunicanti*



MUSCOLO CARDIACO IN SEZIONE TRASVERSALE

MUSCOLO CARDIACO IN SEZIONE LONGITUDINALE

come nel muscolo
scheletrico, è possibile
osservare la striatura
trasversale.



asse
longitudinale
delle cellule


cellule adiacenti sono
saldamente ancorate
fra loro a livello del
disco intercalare

CELLULA MUSCOLARE CARDIACA

la striatura è dovuta alla
presenza di sarcomeri
regolarmente allineati

mitocondri più
numerosi che nel
muscolo scheletrico

disco intercalare



schema di
tessuto
muscolare
cardiaco

MUSCOLO LISCIO O INVOLONTARIO

- cellule fusiformi, mononucleate
- prive di striatura trasversale
(le proteine contrattili non sono allineate come nella fibra muscolare scheletrica e cardiaca)
- il controllo della contrazione è indipendente dalla volontà

TESSUTO MUSCOLARE LISCIO

Circonda gli organi interni dotati di contrazione ***involontaria*** controllata dal sistema nervoso vegetativo (simpatico e parasimpatico).

Anche nella muscolatura liscia le cellule formano un ***sincizio funzionale***.

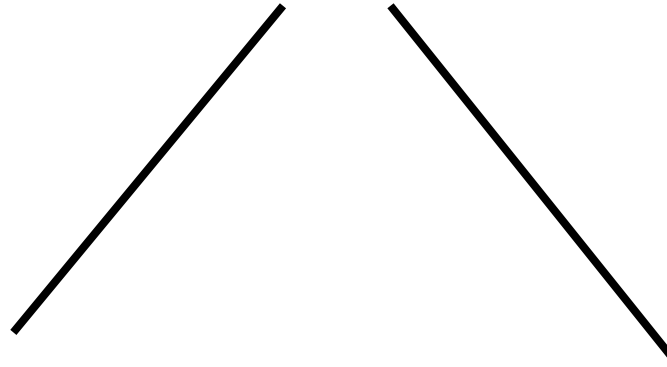
- ***Caratteristiche morfologiche***

- • Cellule fusiformi
- • Singolo nucleo centrale
- • Poche striature visibili

SEZIONE DI MUSCOLO LISCIO

SEZIONE DI
MUSCOLO
LISCIO

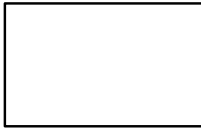
**MUSCOLO
STRIATO**



Muscoli rossi
lavori continui e lenti

Muscoli bianchi
lavori rapidi e di potenza

—



TIPO DI SPORT	DURATA MEDIA DEL GESTO ATLETICO
SPORT DI POTENZA (alattacidi) <i>100 e 110 hs atletica, lanci, salti, sollevamento pesi</i>	10" - 15"
SPORT prevalentemente ANAEROBICI <i>200 e 400 atletica, 100 nuoto stile libero</i>	15" - 45"
SPORT ANAEROBICI - AEROBICI MASSIVI <i>800 e 1500 atletica, 200 nuoto</i>	45" - 180"
SPORT prevalentemente AEROBICI <i>5000 e 10000 atletica, maratona, ciclismo su strada, 800 e 1500 nuoto, marcia, canottaggio, sci fondo</i>	superiore a 180"

SPORT ANAEROBICI - AEROBICI ALTERNATI

tennis, sport di squadra (calcio, basket, volley, rugby), sport di combattimento (pugilato, lotta, arti marziali)

SPORT di DESTREZZA

Scarso impegno muscolare *tiro con armi da fuoco, bocce, bowling*

Intenso impegno muscolare *scherma, ginnastica, windsurf, alpinismo*

Impegno muscolare posturale e direzionale *sport di guida (auto, moto, motonautica, aerei con e senza motore, deltaplano), surf, equitazione, sport subacquei, arco*



I TIPI DI FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE E DI CONTRAZIONI

- I muscoli scheletrici contengono tre tipi di fibre:

1.ossidative lente;

2.ossidative-glicolitiche rapide;

3.glicolitiche rapide.

Classificazione delle fibre muscolari

Esistono due tipi di muscoli striati:

1. **Muscoli rossi** → **attività lenta e continua;**
2. **Muscoli bianchi** → **attività veloce e di potenza.**

Tale classificazione è basata sull'esistenza di due tipi diversi di fibre muscolari

Fibre lente di tipo I a bassa velocità ossidativa: provvedono alla sintesi dell'ATP per via aerobica mediante fosforilazione ossidativa mitocondriale (elevato numero di mitocondri)

Fibre lente di tipo II ad alta velocità glicolitica: producono ATP in modo anaerobico attraverso la via glicolitica che può essere **alattacida** e **lattacida**

I diversi muscoli striati presentano diversa composizione di tali fibre muscolari. Essa può variare anche in base a età, sesso, condizioni fisiche, ecc.



I TIPI DI FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE E DI CONTRAZIONI

- Le **fibre ossidative lente** (o rosse)
- sono piccole di diametro;
- contengono molta mioglobina;
- si contraggono e si rilassano in tempi più lunghi rispetto alla fibre rapide;
- possono sostenere contrazioni prolungate e intense.



I TIPI DI FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE E DI CONTRAZIONI

- Le **fibre ossidative glicolitiche rapide** (o intermedie)
- sono intermedie di diametro;
- contengono molta mioglobina;
- hanno un alto contenuto di glicogeno e generano molto ATP.



I TIPI DI FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE E DI CONTRAZIONI

- Le **fibre glicolitiche rapide** (o fibre bianche)
- sono le più grandi di diametro;
- contengono poca mioglobina e pochi mitocondri;
- generano ATP per glicolisi anaerobica.



I TIPI DI FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE E DI CONTRAZIONI

La maggior parte dei muscoli scheletrici è costituita da tutti e tre i tipi di fibre.

Le fibre muscolari di una qualsiasi unità motoria sono tutte dello stesso tipo e si ha l'attivazione di una certa unità in base al tipo di sforzo fisico cui il corpo va incontro.



LA CONTRAZIONE E IL RILASCIAMENTO DEL MUSCOLO SCHELETRICO

- Dopo la contrazione **la fibra si rilassa**
- per effetto della degradazione dell'acetilcolina a opera dell'enzima acetilcolinesterasi;
- per effetto della diminuzione degli ioni calcio nel sarcoplasma, che vengono riassorbiti dal reticolo sarcoplasmatico e ritornano nelle cisterne.
- I siti di legame sulla miosina vengono coperti e i filamenti di actina scorrono all'indietro in posizione di rilassamento.



IL METABOLISMO DEL TESSUTO MUSCOLARE SCHELETRICO

- L'ATP presente nelle fibre è sufficiente soltanto a rifornire energia per i primi secondi di attività muscolare.
- In seguito deve essere sintetizzato dell'altro da tre fonti: **creatinfosfato; respirazione cellulare anaerobica; respirazione cellulare aerobica.**