

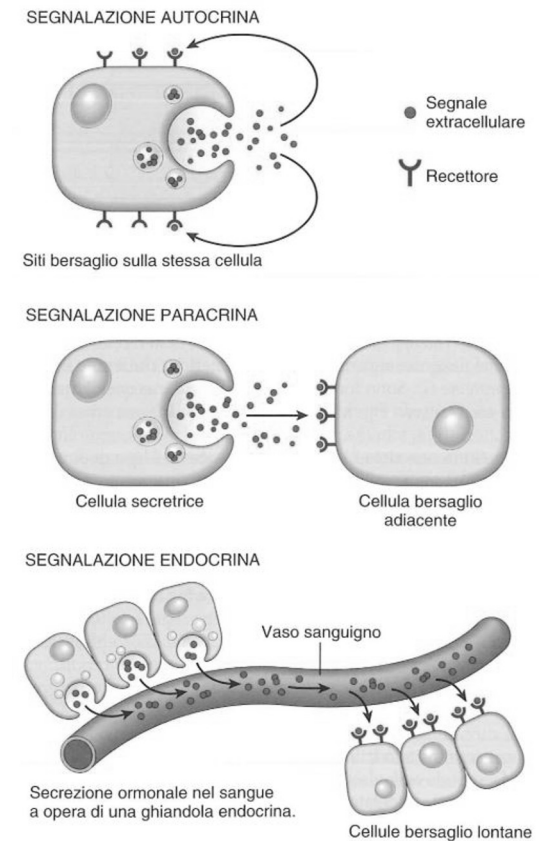
Il muscolo quale organo endocrino



MIOCHINE

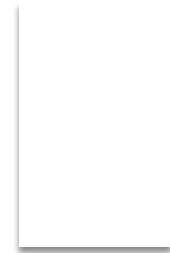
Durante la contrazione muscolare, le fibre muscolari scheletriche producono alcune citochine, chiamate MIOCHINE con differenti funzioni:

- ❖ lavorano localmente all'interno del muscolo attraverso meccanismi autocrini e paracrini, agendo su vie di segnalazione che regolano il metabolismo intermedio dei carboidrati e dei lipidi.
- ❖ svolgono funzione simile ad ormoni con effetti endocrini sul tessuto viscerale - mediante l'interazione tra tessuto muscolare - tessuto adiposo



CITOCHINE, ORMONI E FATTORI DI CRESCITA

CITOCHINE: CYTO= CELLULA; KINOS= MOVIMENTO



Struttura: piccole (glico)proteine (8-10 kDa)

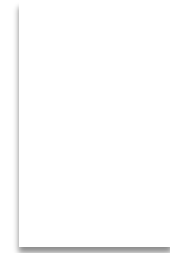
- **Monomeriche (Interleuchina 1)**
- **Dimeriche (Interferoni)**
- **Trimeriche (TNF- α)**
- **Eterotrimeriche (linfotossine)**

Funzione: come gli ormoni regolano la risposta cellulare

- ✓ **crescita**
- ✓ **differenziamento**
- ✓ **sviluppo**
- ✓ **riparo cellulare**

Le citochine sono prodotte soprattutto da Macrofagi e Linfociti T

Differenze tra citochine, ormoni e fattori di crescita



Gli ormoni sono prodotti da cellule specializzate: una volta prodotti, vengono immessi in circolo e svolgono la loro azione lontano dal sito di produzione (maniera endocrina)

Le citochine possono essere prodotte da qualsiasi tipo di cellula esercitando la loro azione su cellule vicine (azione paracrina) o anche sulle stesse cellule che le hanno prodotte (azione autocrina)

I livelli di ormoni circolanti sono facilmente misurabili nel siero o nel plasma a differenza dei livelli di citochine.

Per alcune citochine la variazione della concentrazione in seguito ad uno stimolo può essere anche di 100 volte, a differenza degli ormoni.

Le proprietà dei fattori di crescita sono intermedie tra gli ormoni e le citochine.

Differenze e proprietà comuni tra ormoni e citochine

Tabella 2.1 Differenze e proprietà comuni tra ormoni e citochine

Citochine	Ormoni
Differenze	
<i>Citochine</i> <ul style="list-style-type: none">• Agiscono localmente• Prodotte da differenti cellule• Prodotte in maniera transiente• Inattive in siero/plasma	<i>Ormoni</i> <ul style="list-style-type: none">• Agiscono a distanza• Prodotti da cellule specializzate• Prodotti costitutivamente• Attivi in siero/plasma
Proprietà comuni	
<ul style="list-style-type: none">• Recettori <i>omologhi</i>• Potenti segnali cellulari	

Adattato da: Oppenheim J.J. and Marc Feldmann (2000).

Classificazione delle citochine

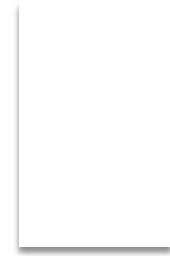
Strutturale

Su base STRUTTURALE si riscontrano 4 classi:

- ✓ **famiglia con 4 tratti ad α -elica, a catena lunga e corta e comprende la sottofamiglia delle IL**
- ✓ **Famiglia con struttura a foglietti β a catena lunga (TGF- β , TNF);**
- ✓ **Famiglia con struttura a catena corta α/β (IL-8, TGF- α , IGF-1);**
- ✓ **Famiglia con struttura a mosaico, in riferimento al fatto che citochine appartenenti a questa famiglia risultano strutturalmente piuttosto eterogenee.**

Classificazione delle citochine

Funzionale



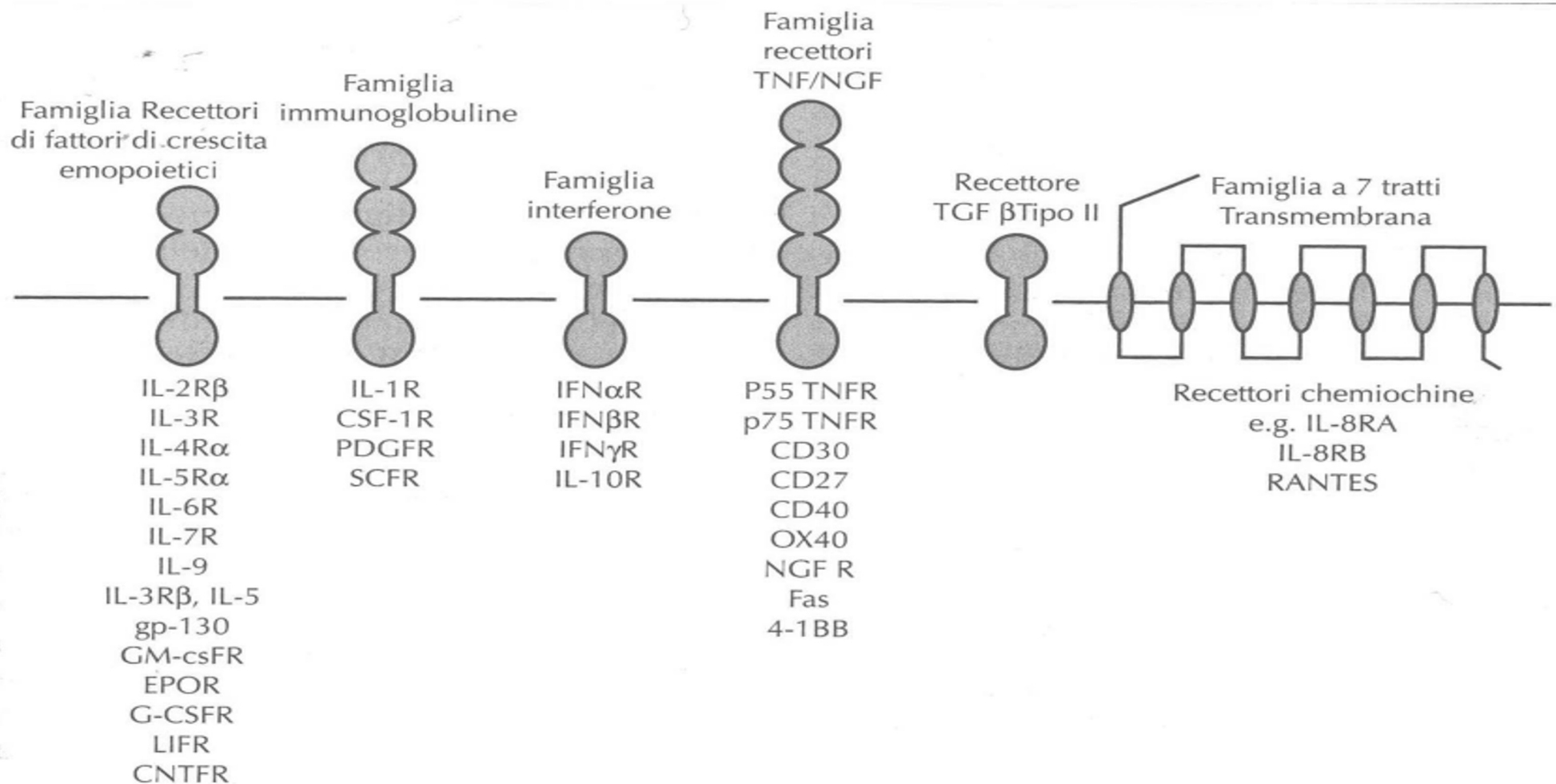
Su base FUNZIONALE si riscontrano 4 classi:

- famiglia delle ematopoietine che comprende numerose citochine: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21, IL-23, ormone della crescita, Prolattina, Eritropoietina/Ematopoietina
- famiglia dell'interferone che comprende IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24.
- famiglia del fattore di necrosi tumorale che comprende TNF- α , TNF- β .
- famiglia delle chemochine, proteine a basso peso molecolare con funzione chemiotattica

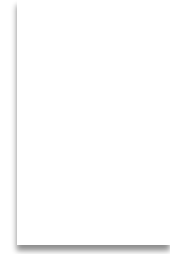
Recettori delle citochine

L'attività indotta dalle citochine deriva dalla loro interazione con uno specifico recettore.

Tali recettori si classificano in base alla loro struttura tridimensionale: si riscontrano 6 categorie



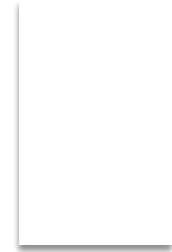
L'Interleuchina-6 (IL-6)



**Modello della struttura
cristallografica dell' IL-6
umana**

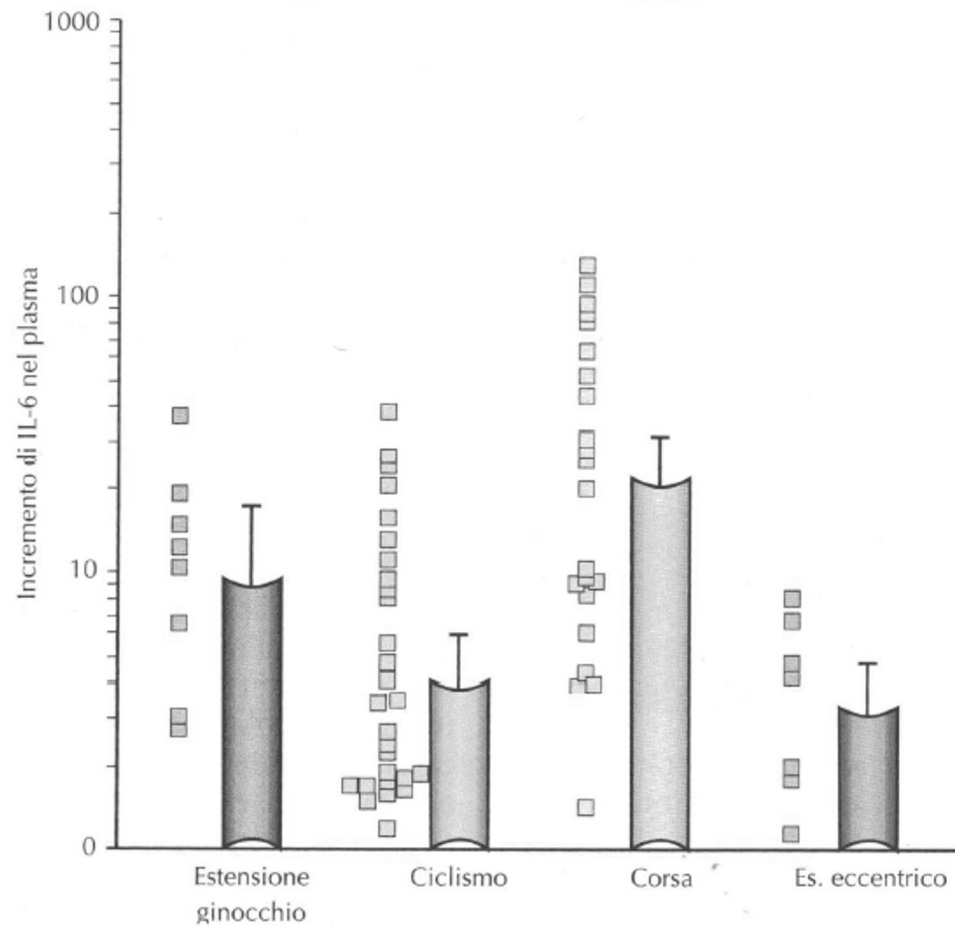
- ▶ **L'IL-6 è stata la prima miocina identificata.**
- **In seguito ad un esercizio fisico, i livelli di IL-6 circolante aumentano fino a 100 volte per poi ritornare ai valori basali nella fase post-esercizio. L'ampiezza dell'incremento è proporzionale alla massa muscolare coinvolta nel lavoro meccanico, all'intensità ed alla durata dell'esercizio fisico.**
- **Inoltre, nella fibrocellule muscolari si verifica anche un aumento dell'espressione del recettore per IL-6 (gp-130), (funzionamento autocrina/paracrina).**

Azioni e modulatori dell'IL-6

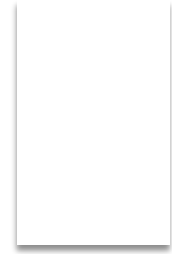


- Nella cellula muscolare, IL-6 agisce come sensore d'energia
- L'espressione del gene dell'IL-6 è modulata dalla disponibilità cellulare di carboidrati (glicogeno): bassi livelli di glucosio nel sangue e di glicogeno a livello muscolare aumentano i livelli circolanti di IL-6 (messaggero e proteina) in seguito ad esercizio.
- L'azione di IL-6 sul metabolismo del glucosio coinvolge un incremento nella traslocazione sulla membrana del trasportatore del glucosio GLUT-4, a cui contribuisce anche l'Insulina.
- Nel muscolo, oltre al glicogeno, anche l'ossido nitrico (NO) ed il Calcio (Ca^{++}) regolano la produzione e la secrezione dell'IL-6.
- IL-6 media l'incremento della massa muscolare in seguito ad un esercizio fisico, agendo sulla proliferazione delle cellule satelliti (ipertrofia muscolare, $\text{VO}_2\text{max} > 65\%$)

Variazioni della concentrazione plasmatica di IL-6 in base al tipo di esercizio effettuato



Interleuchina-8 (IL-8)



- ▶ Inizialmente caratterizzata come fattore prodotto dai neutrofili attivati.
- ▶ Appartiene alla famiglia delle citochine con il motivo CXC
- ▶ FUNZIONI dell'IL-8: attrae i neutrofili ed è angiogenica, legando il suo recettore (CXCR2) presente sulle cellule dell'endotelio vascolare, la cui espressione aumenta in maniera significativa nella fase post esercizio sulle fibre muscolari e sulle cellule endoteliali dei muscoli coinvolti.
- ▶ I livelli di IL-8 aumentano in seguito ad un esercizio fisico strenuo (corsa veloce con $\text{VO}_2\text{max} > 70\%$) per un periodo prolungato.

Interleuchina-15 (IL-15)

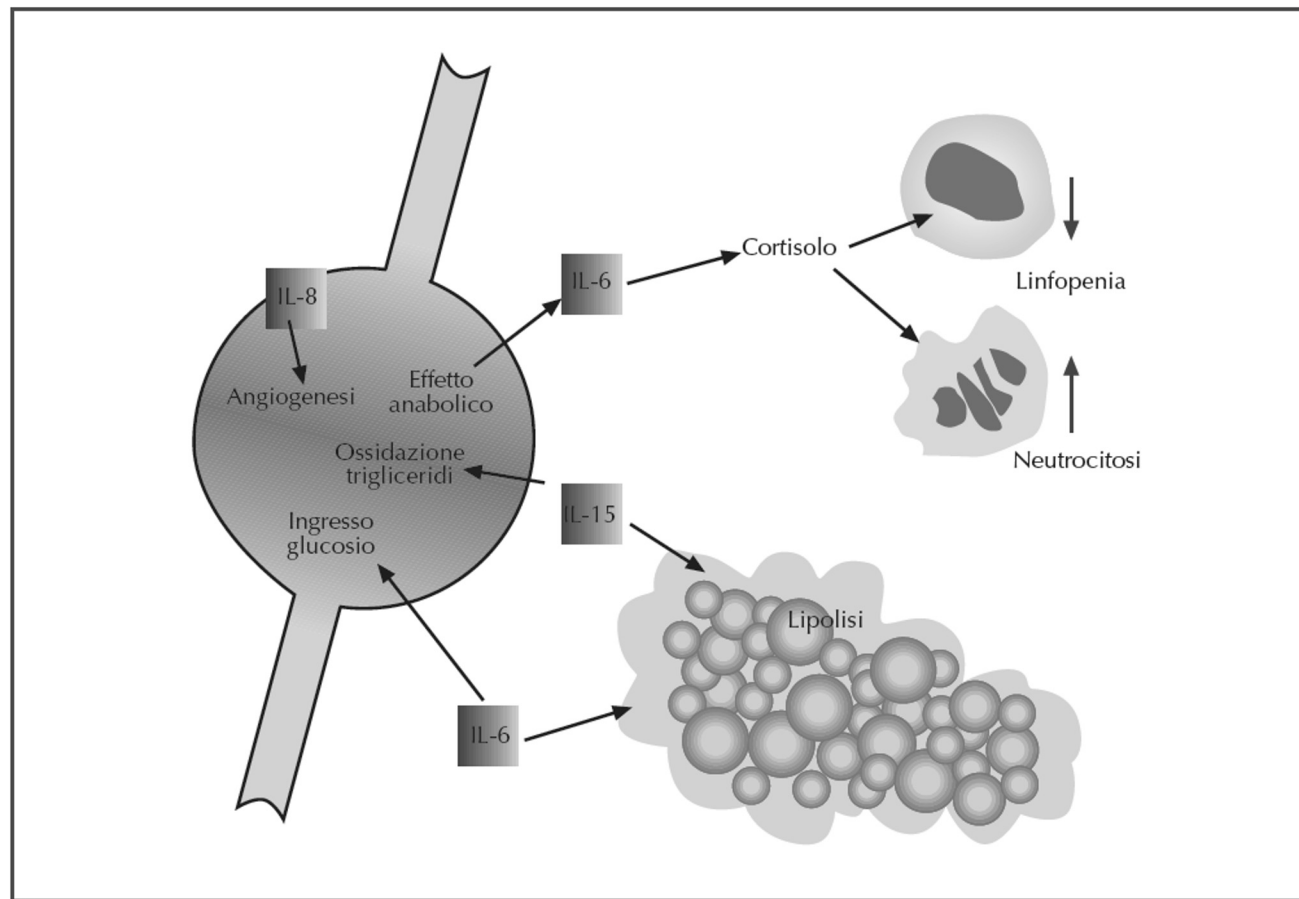
Ci sono 2 diverse isoforme con differente lunghezza:

- ✓ forma lunga di 48 aa che viene secreta,
- ✓ forma corta di 21 aa con localizzazione citoplasmatica.

L' IL-15 :

- ✓ media l' interazione tra muscolo scheletrico e tessuto adiposo durante l' esercizio fisico;
- ✓ svolge un ruolo chiave sia nel metabolismo del glucosio (favorendone l'uptake nel muscolo) che nel metabolismo dei lipidi (favorendo l'ossidazione dei trigliceridi, sempre nel muscolo);
- ✓ Induce un aumento della sintesi della catena pesante della miosina favorendone l' accumulo nelle miocellule differenziate
- ✓ l' espressione di questa miochina aumenta in seguito ad esercizi di resistenza di moderata intensità

Effetti biologici svolti dalle miochine 6, 8 e 15





Attività fisica e salute

L'attività fisica moderata (VO_2max 60-70%) e costante (60 min 3 volte a settimana) protegge dalle cause di mortalità indotte da patologie cardiovascolari e dismetaboliche (aterosclerosi e diabete mellito di tipo 2).

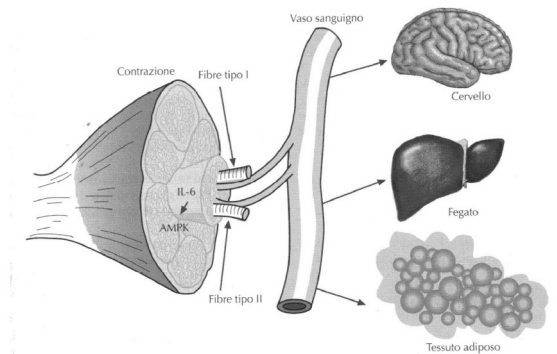
Tra i meccanismi che correlano la contrazione muscolare con i benefici della salute, sono stati identificati i seguenti fenomeni:

- ✓ Un aumento dell'ingresso del glucosio nel muscolo scheletrico, compensato dal suo rilascio nel torrente circolatorio da parte del fegato (regolazione glicemia);
- ✓ Rilascio degli acidi grassi liberi dal tessuto adiposo

Attività fisica e salute: ruolo di IL-6

IL-6 è considerata un fattore protettivo per le fibrocellule muscolari sia di tipo 1 che di tipo 2.

- ✓ Attivazione della *proteina chinasi cAMP dipendente (AMPK) nel muscolo scheletrico e nel tessuto adiposo*
- Aumento della ossidazione dei grassi nel muscolo e nel tessuto adiposo (favorisce l'ingresso acidi grassi attivati nella matrice mitocondriale)
- Riduzione della lipogenesi (inibizione, attraverso fosforilazione, dell'enzima chiave nella biosintesi dei lipidi, Acetil-Coa-Carbossilasi, ACC)

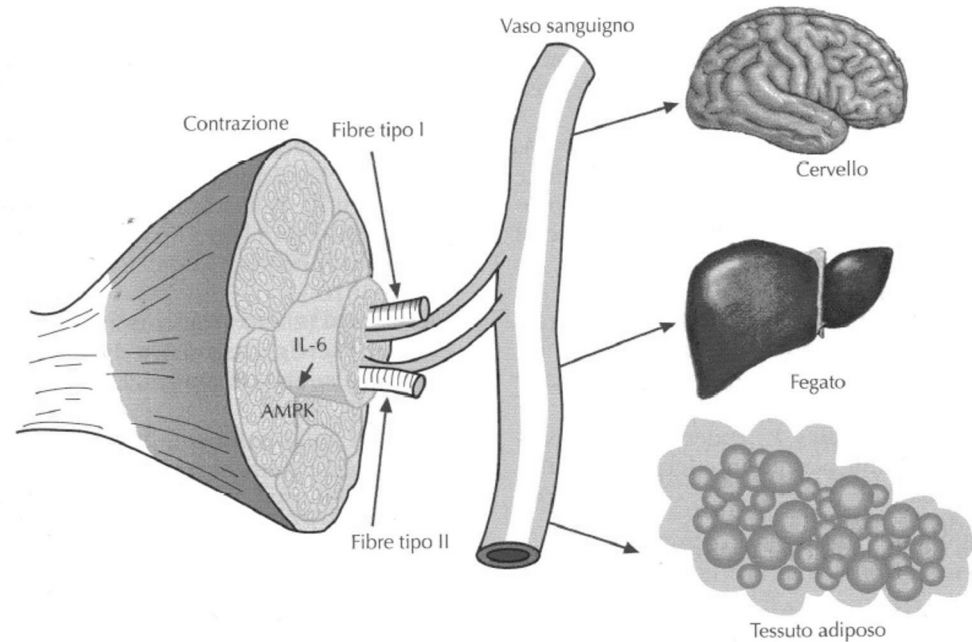


Attività fisica e salute: ruolo di IL-6

Aumenta *uptake* glucosio nel muscolo -
aumento reclutamento di GLUT4
(aumento glicogenosintesi)

Induzione del differenziamento dei
mioblasti in miociti

Rilascio di citochine antinfiammatorie in
altri tessuti



Diseasome of physical inactivity

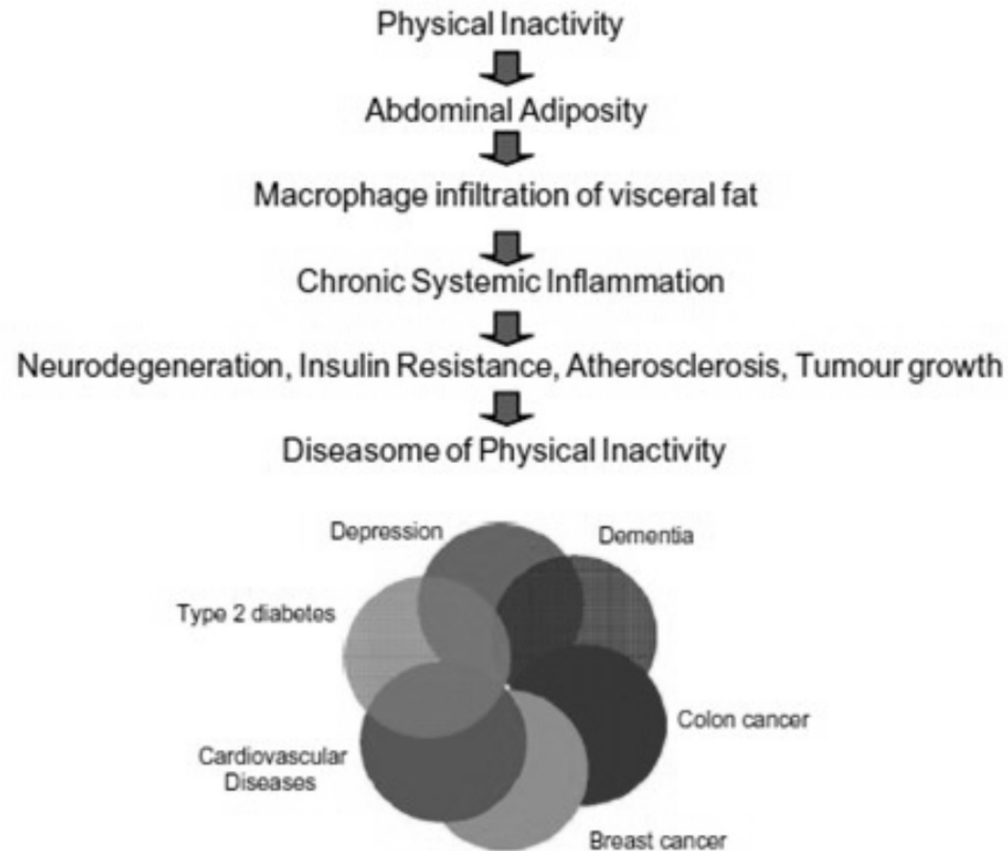
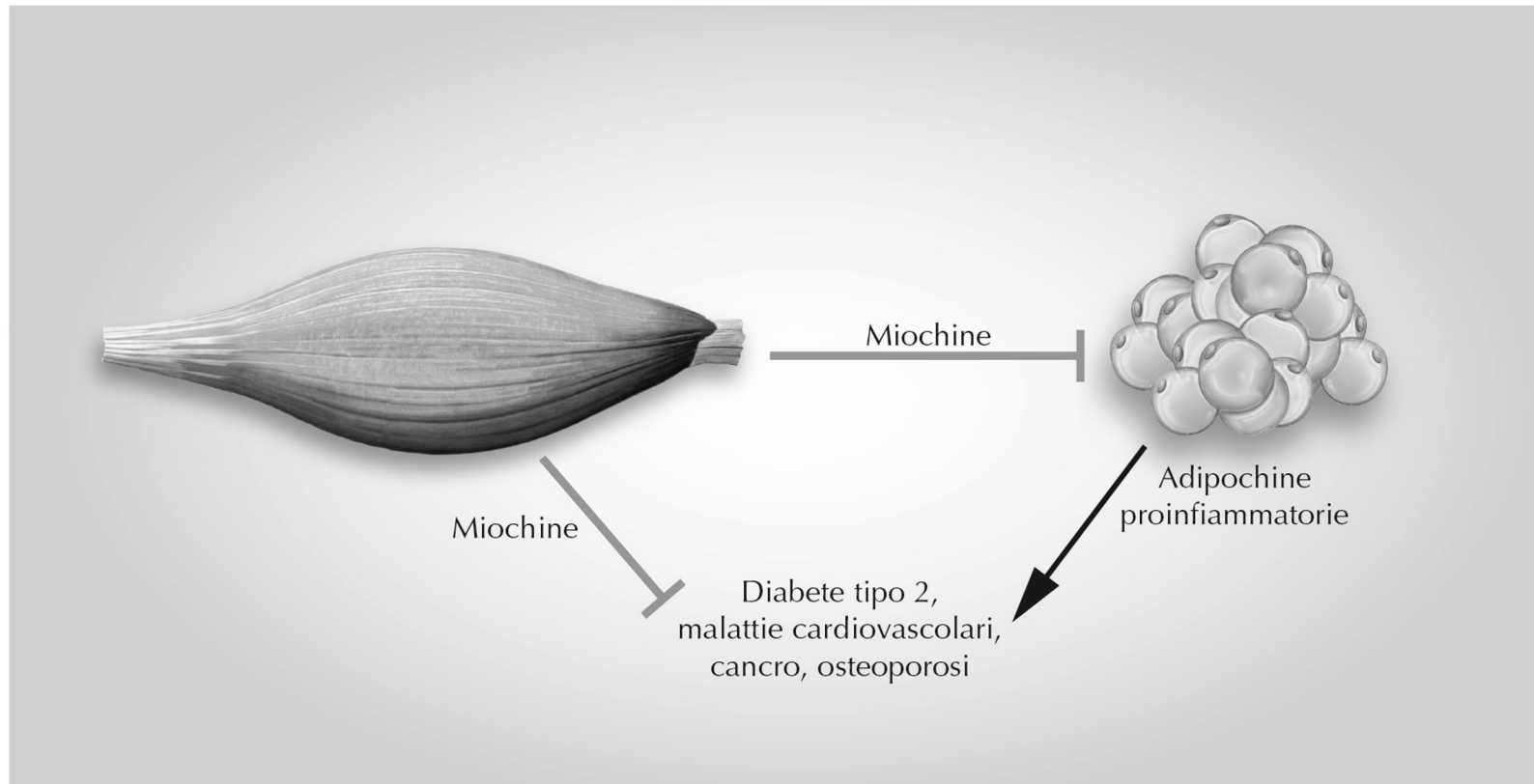


Fig. 1. Hypothesis: Physical inactivity leads to accumulation of visceral fat and consequently to invasion of macrophages and the activation of a network of systemic inflammatory pathways, which promotes the development of neurodegeneration, insulin resistance, atherosclerosis, and tumour growth, leading to the formation of “the diseasome of physical inactivity”. Modified from (Pedersen,

Pedersen, 2011

Miochine

Cross-talk tra muscolo scheletrico e tessuto adiposo



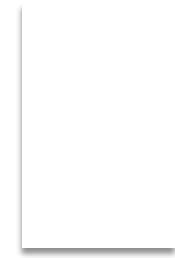
Il tessuto adiposo secerne adipochine che promuovono un ambiente infiammatorio cronico scatenando l'insorgenza di processi patologici come l'aterosclerosi e l'insulino-resistenza. I muscoli scheletrici in contrazione producono miochine che potrebbero contrastare gli effetti nocivi dati dalle adipochine pro-infiammatorie.

CCL2 (ligando 2 della chemochina con motivo C-C)

un marcatore dell'infiammazione molto noto. CCL2 è anche conosciuto come proteina chemiotattica dei *monociti* (MCP-1).

Nel muscolo scheletrico, CCL2 è coinvolto nell'infiltrazione di *macrofagi* dopo danno tissutale.

Recentemente, è stato dimostrato che i livelli di mRNA di CCL2 sono elevati nel muscolo scheletrico durante l'esercizio fisico acuto, con conseguente aumento dei livelli plasmatici della proteina.



CCL2

- ◆ L'esercizio fisico di moderata intensità determina un aumento nell'espressione genica di CCL2 nel muscolo scheletrico; un esercizio di lunga durata porta ad una diminuzione dei livelli plasmatici di CCL2, analogamente a quanto avviene per l'IL-6.
- ◆ CCL2 è un fattore esercizio molto interessante che può avere una funzione importante nella mediare (almeno in parte) la risposta infiammatoria e metabolica dopo un esercizio fisico acuto.



SPARC (la proteina secreta acidica e ricca di cisteina)

❖ Nota anche come BM-40, è stata inizialmente identificata nell'osso e definita col nome di osteonectina.

Durante l'osteogenesi, gli studi evidenziano che SPARC collega le componenti organica e minerale nella matrice ossea.

❖ Studi recenti hanno rivelato che SPARC è espressa anche nei mioblasti, nei miotubi e nelle fibre muscolari, dove i suoi livelli aumentano durante lo sviluppo muscolare e la rigenerazione.

SPARC

❖ Aumenta nel muscolo scheletrico, non solo durante la rigenerazione, ma anche nell'ipertrofia muscolare indotta da esercizio fisico di elevata intensità.

❖ In particolare, SPARC si ritrova aumentata nel siero di soggetti giovani sani, immediatamente dopo un esercizio fisico di elevata intensità ($>70\% \text{VO}_2\text{max}$) per 30 minuti, ma gradualmente diminuisce a riposo.

❖ Tuttavia, in esercizi di elevata intensità per un lungo periodo (4 settimane al $70\% \text{VO}_2\text{max}$) determinano un significativo aumento di SPARC nel siero, che permane anche a riposo.

SPARC

Identificata come una delle miochine che riduce l'accumulo di grasso in quanto attiva una via di trasduzione del segnale che inibisce l'*adipogenesi*.

E' coinvolta nel metabolismo del glucosio attraverso AMPK: stimola l'ingresso di glucosio nel muscolo scheletrico, aumentando l'espressione del trasportatore di glucosio, GLUT-4.

Ulteriori studi sono necessari per meglio comprendere la modulazione dell'espressione di SPARC durante l'esercizio fisico ed il suo ruolo nel metabolismo del glucosio e dei grassi.

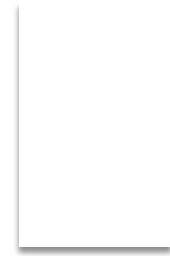
Irisina (1)

Miochina dipendente dal coattivatore del recettore attivante dalla proliferazione dei perossisomi (PGC1-a) e sembra capace di indurre la trasformazione del tessuto adiposo bianco in bruno e di indurre l'espressione della proteina disaccoppiante 1 (UCP1).

PGC1-a è indotto nei muscoli scheletrici con l'esercizio fisico dove stimola la biogenesi mitocondriale ed il metabolismo ossidativo.



Irisina (2)



L'esercizio fisico può aumentare i livelli plasmatici di irisina: risultati di diversi studi hanno suggerito che i livelli plasmatici di irisina sono elevati sia nei roditori che nell'uomo dopo esercizio fisico.

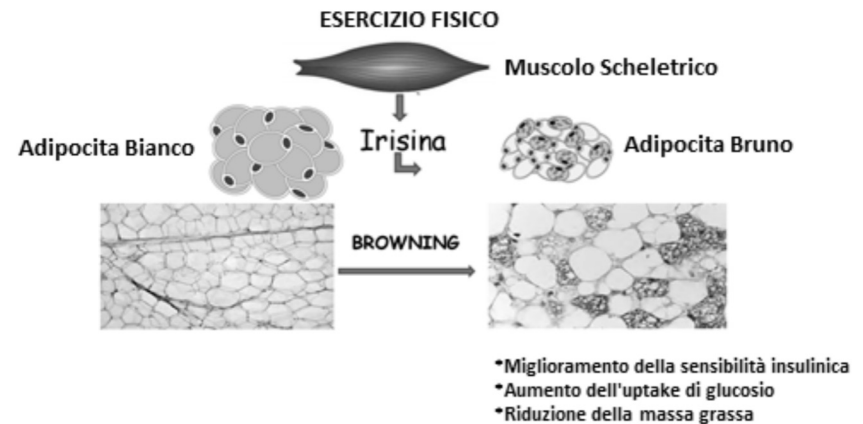
Alcuni studi hanno dimostrato un aumento dei livelli plasmatici di irisina in topi dopo 3 settimane di esercizio aerobico di moderata intensità ed un aumento dei livelli plasmatici di irisina in topi adulti dopo 10 settimane di esercizi di resistenza (rispetto al gruppo controllo).

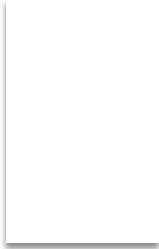
Altri studi invece non hanno dimostrato una variazione nei livelli di irisina sia nel plasma che nel muscolo scheletrico dopo l'esercizio fisico.

Irisina (3)

Nell'uomo, è dimostrata una correlazione positiva tra i livelli plasmatici di irisina e le variazioni di massa muscolare dopo esercizio aerobico e/o di resistenza in soggetti obesi (*aumento dei livelli plasmatici di irisina correla con un aumento della massa magra*)

È stata dimostrata una correlazione negativa tra i livelli di irisina circolante e % di massa grassa (*aumento dei livelli plasmatici di irisina correla con una diminuzione in % della massa grassa*)





FGF21 (1)

FGF21 è un membro della famiglia dei fattori di crescita che comprende 22 membri nell'uomo; FGF21 è prodotto da numerosi tessuti quali fegato, tessuto adiposo e pancreas ed ha come organi bersaglio diversi tessuti.

Studi in vivo in topi geneticamente modificati indicano che FGF21 stimola l'ossidazione dei grassi a livello epatico, la chetogenesi, la glucogenesi e, nel tessuto adiposo bruno, stimola l'ingresso del glucosio e la termogenesi.

FGF21 (2)

FGF 21 abbassa i livelli plasmatici di colesterolo-LDL, aumentando la quota di colesterolo-HDL.

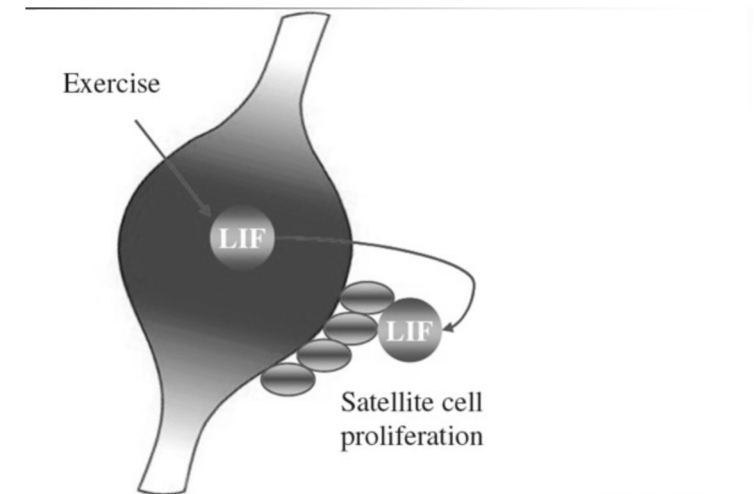
FGF21 sembra in grado di ridurre il peso corporeo, di migliorare il profilo lipidico, la sensibilità insulinica in soggetti obesi con diabete di tipo 2: oggi è considerata la «*miochina regolatrice dell'insulina*».

FGF21 è espresso anche nel muscolo scheletrico. È stato dimostrato un effetto positivo dell'esercizio fisico acuto di intensità medio-alta (da 50 all'80% VO₂max) sull'espressione di FGF21.

LIF (1)

LIF è una miochina da poco identificata: è prodotta dal muscolo scheletrico. Tra i suoi diversi ruoli quello più importante, nelle cellule satelliti muscolari, è la proliferazione cellulare per una corretta ipertrofia e rigenerazione muscolare.

Studi pregressi hanno dimostrato un aumento dell'espressione di LIF dopo infortunio muscolare, compresi lo schiacciamento muscolare o danno da contusione.

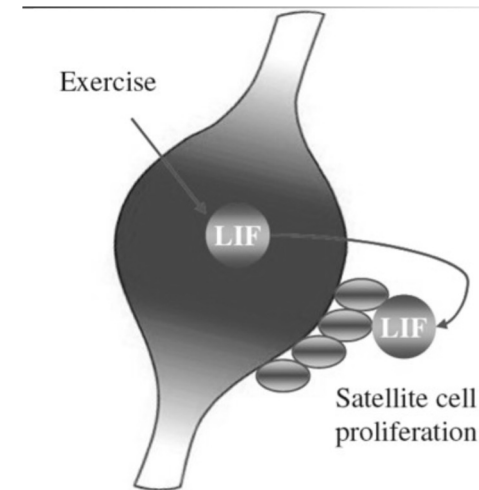


LIF (2)

Diversi studi dimostrano un aumento del messaggero di LIF nel muscolo-scheletrico durante l'esercizio fisico (di circa quattro volte durante l'esercizio di endurance e di circa 9 volte durante l'esercizio di resistenza); i livelli del messaggero diminuiscono gradualmente nel periodo post esercizio.

I livelli sierici della proteina risultano inalterati – *la proteina ha una emivita molto breve che rende difficile rilevarne la quantità nel siero.*

LIF promuove la sopravvivenza dei mioblasti nei muscoli distrofici e questi studi hanno suggerito che LIF possa rappresentare un metodo terapeutico alternativo e stimolare la rigenerazione del muscolo scheletrico, in modo autocrino o paracrino, dopo un infortunio.





BDNF (1)

Le neurotrofine sono importanti regolatori di diversi processi neuronali nei mammiferi: tra queste, BDNF(**fattore neurotrofico cerebrale**) ed il suo recettore sono espressi non solo nel cervello, ma anche in altri tessuti tra cui i muscoli scheletrici.

BDNF è un modulatore chiave della via ipotalamica che controlla l'omeostasi energetica; esso gioca un ruolo anche come regolatore metabolico nel muscolo scheletrico, favorendo un maggiore utilizzo del glucosio nel muscolo scheletrico in soggetti diabetici.

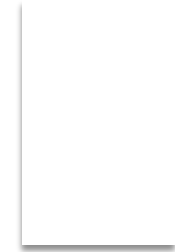
BDNF riduce l'assunzione di cibo e abbassa il livello di glucosio nel sangue in topi obesi geneticamente modificati, suggerendo che BDNF possa svolgere un ruolo nel bilancio energetico e nelle vie di segnalazione dell'insulina.



BDNF (2)

BDNF aumenta (sia messaggero che proteina) dopo esercizio fisico aerobico sia acuto che cronico, mentre gli esercizi di forza non hanno effetti sull'espressione di BDNF.

Studi recenti dimostrano che BDNF, in maniera autocrina e paracrina sul muscolo scheletrico, ha effetti sul metabolismo ossidativo: aumenta la fosforilazione sia di AMPK che dell'Acetil-Coa Carbossilasi (ACC), enzima chiave della biosintesi dei trigliceridi, rendendoli inattivi e favorendo una maggiore ossidazione degli acidi grassi.



BDNF (3)

Questa molecola è stata proposta modulatore chiave di numerose malattie metaboliche tra cui il diabete di tipo 2 .

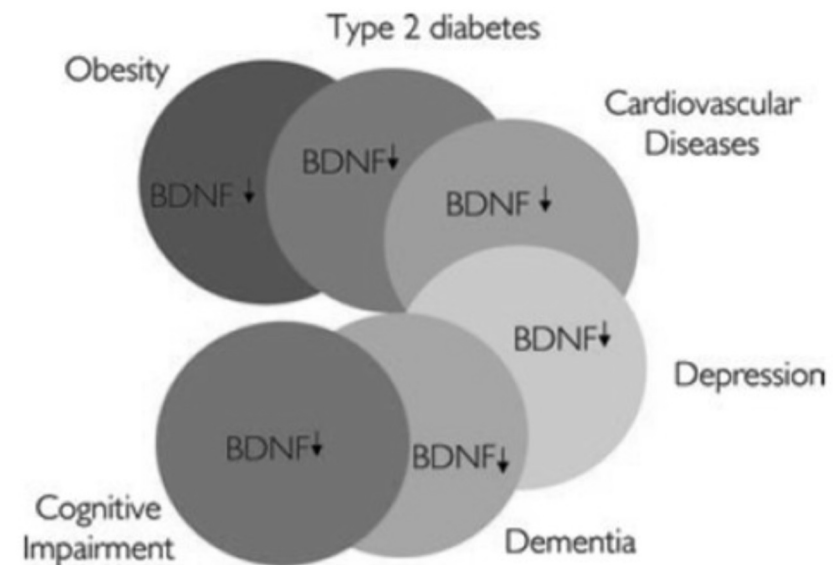
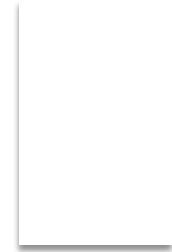


Figure 4. The diseaseome of low circulating levels of brain derived neurotropic factor (BDNF) has a major overlap with the diseaseome of physical inactivity

Pedersen, 2009

Miostatina (1)



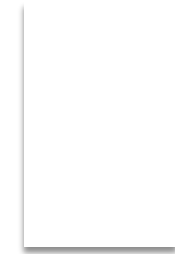
Appartiene alla superfamiglia di TGF-beta ed è una delle prime miochine individuate.

La miostatina svolge un ruolo importante nella regolazione della massa muscolare. Un aumento dei livelli di miostatina inibisce la differenziazione dei mioblasti.

Il gene della miostatina è espresso quasi esclusivamente nelle cellule muscolari scheletriche. In molte specie, compreso l'uomo, il ruolo fisiologico della miostatina è quello di limitare la crescita della massa muscolare.

Mutazioni genetiche (es. ceppo bovino Belgian blue bull) provocano abnormi crescite dei muscoli.





Miostatina (2)

L'espressione del gene della miostatina ed i livelli plasmatici della proteina diminuiscono dopo l'esercizio fisico.

I livelli di espressione del gene della miostatina diminuiscono durante l'esercizio fisico di resistenza: ridotti livelli di miostatina determinano un'up-regolazione di PGC1- α nel muscolo scheletrico, stimolando così la biogenesi mitocondriale.

PGC1- α , a sua volta, induce un aumento dell'attività di AMPK, nel muscolo scheletrico, che influenza il metabolismo glucidico, aumentando così la sensibilità all'insulina.



Miostatina (3)

- La miostatina non è secreta esclusivamente dal muscolo-scheletrico; recenti studi indicano che essa è espressa anche nel tessuto adiposo. Nei soggetti obesi, risultano aumentati i livelli della proteina sia nel muscolo-scheletrico che nel siero rispetto a soggetti normopeso;

-topi knockout per la miostatina presentano un aumento della massa muscolare e un miglioramento della sensibilità insulinica con riduzione della massa grassa, quest'ultima dovuta alla trasformazione del tessuto adiposo bianco in bruno, probabilmente ad opera dell'irisina.

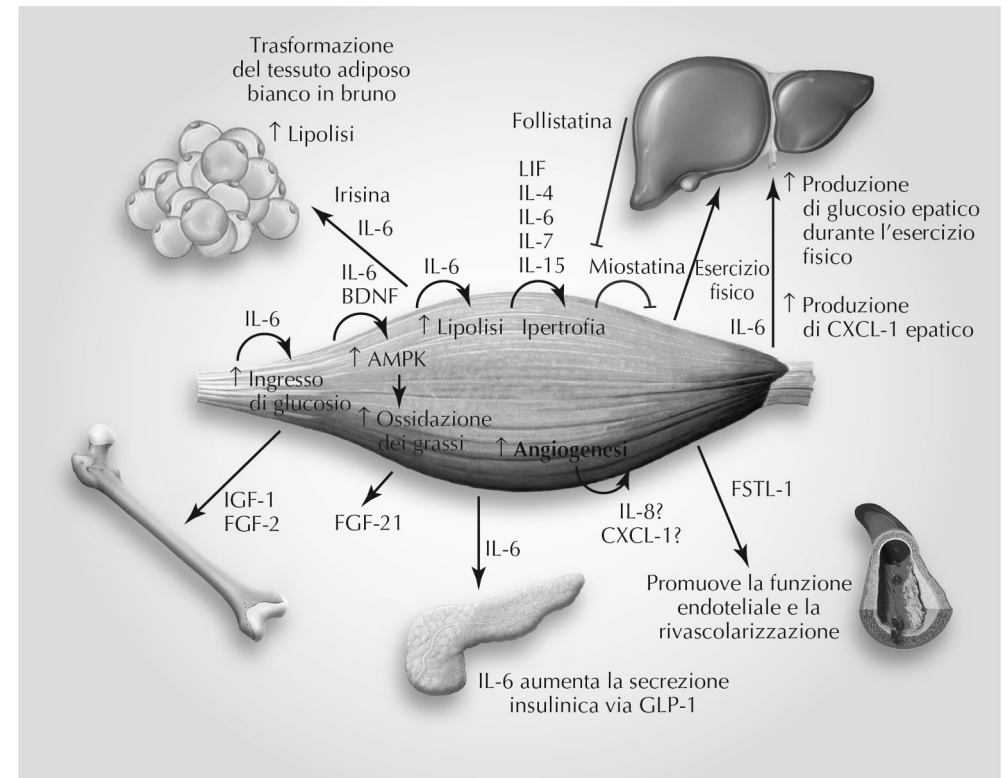
In conclusione, la miostatina è una miochina coinvolta nell'ipertrofia muscolare che mostra ridotti livelli di espressione dopo esercizi di resistenza; l'ipotesi che possa costituire un target farmacologico per la prevenzione ed il trattamento delle complicanze metaboliche associate all'obesità è ancora in attesa di conferme.

Riassumendo

Azione delle principali miochine su organi bersaglio

LIF, IL-6 e IL-15 promuovono l'ipertrofia muscolare, la miostatina inibisce l'ipertrofia muscolare e l'esercizio fisico provoca il rilascio di un inibitore della miostatina la follistatina, dal fegato. BDNF ed IL-6 sono coinvolti nell'ossidazione degli acidi grassi mediata da AMPK e l'IL-6 aumenta l'ingresso del glucosio nel muscolo scheletrico, indipendentemente dall'insulina.

L'IL-6 sembra avere effetti sistemici sul fegato e sul tessuto adiposo. Infine, l'irisina ha un ruolo nella trasformazione del tessuto adiposo bianco in bruno.





Conclusioni

I benefici sulla salute forniti dall 'esercizio fisico sono in larga misura spiegabili attraverso lo studio degli effetti delle diverse miochine prodotte dal muscolo in contrazione.

L'identificazione di nuove miochine potrà servire potenzialmente come bersaglio per il trattamento dei numerosi disordini metabolici correlati all' inattività.