

Tessuto muscolare

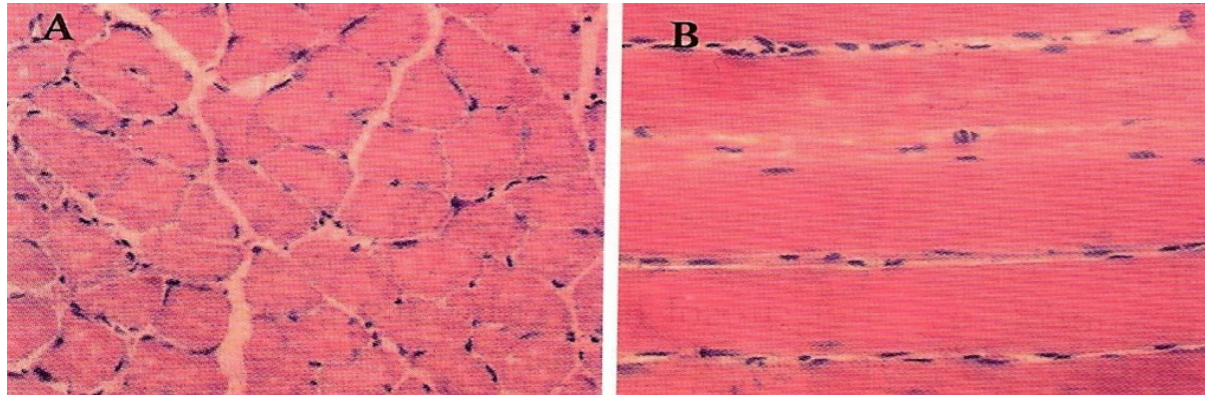
È un tessuto altamente specializzato che ha la funzione di garantire i movimenti volontari ed involontari dell'organismo.

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

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

Tessuto muscolare scheletrico: ² caratteristiche morfologiche

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

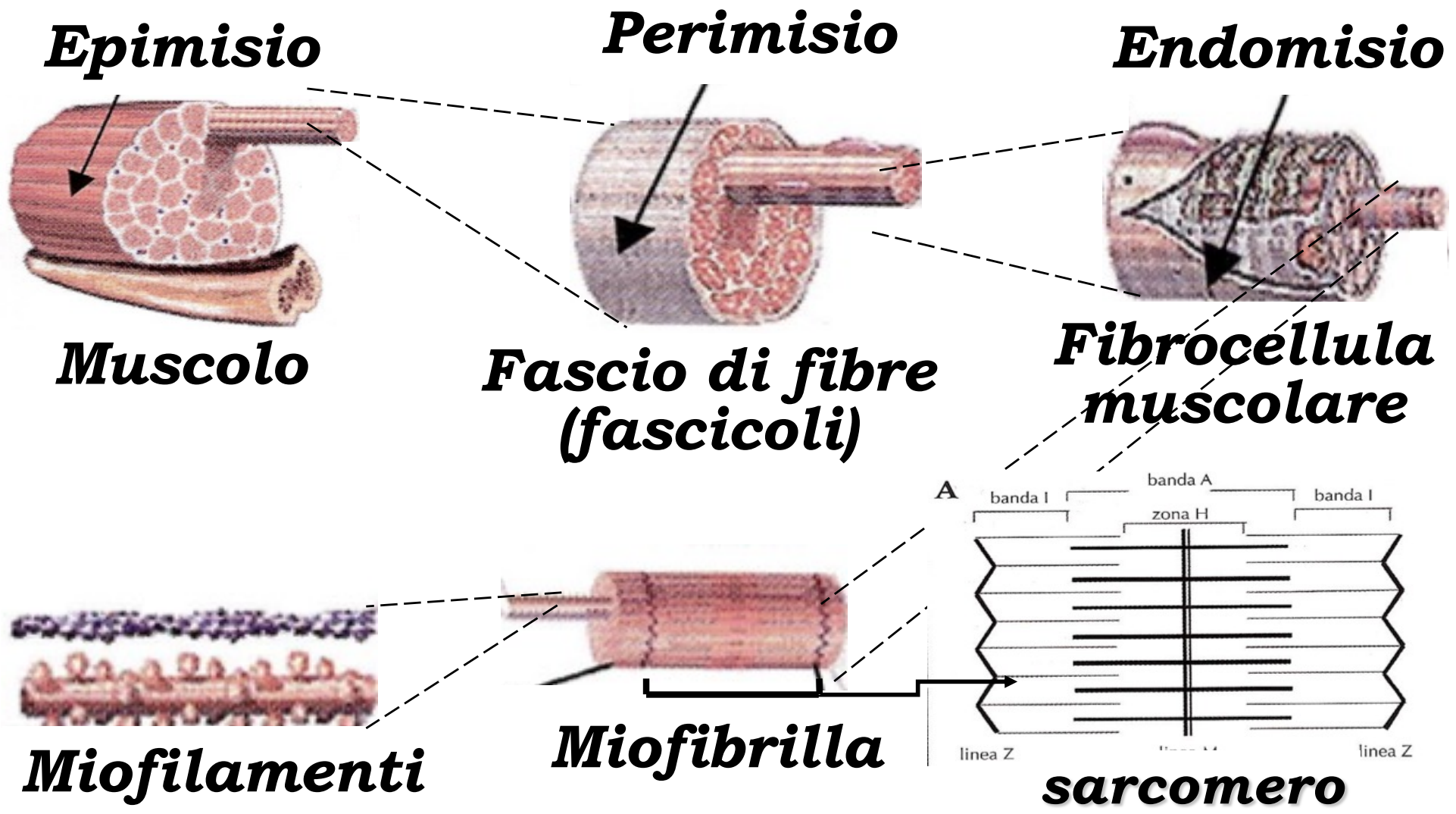


***Sincizio: più
cellule si
uniscono***

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

Livelli di organizzazione del tessuto muscolare striato

Organizzazione strutturale gerarchica



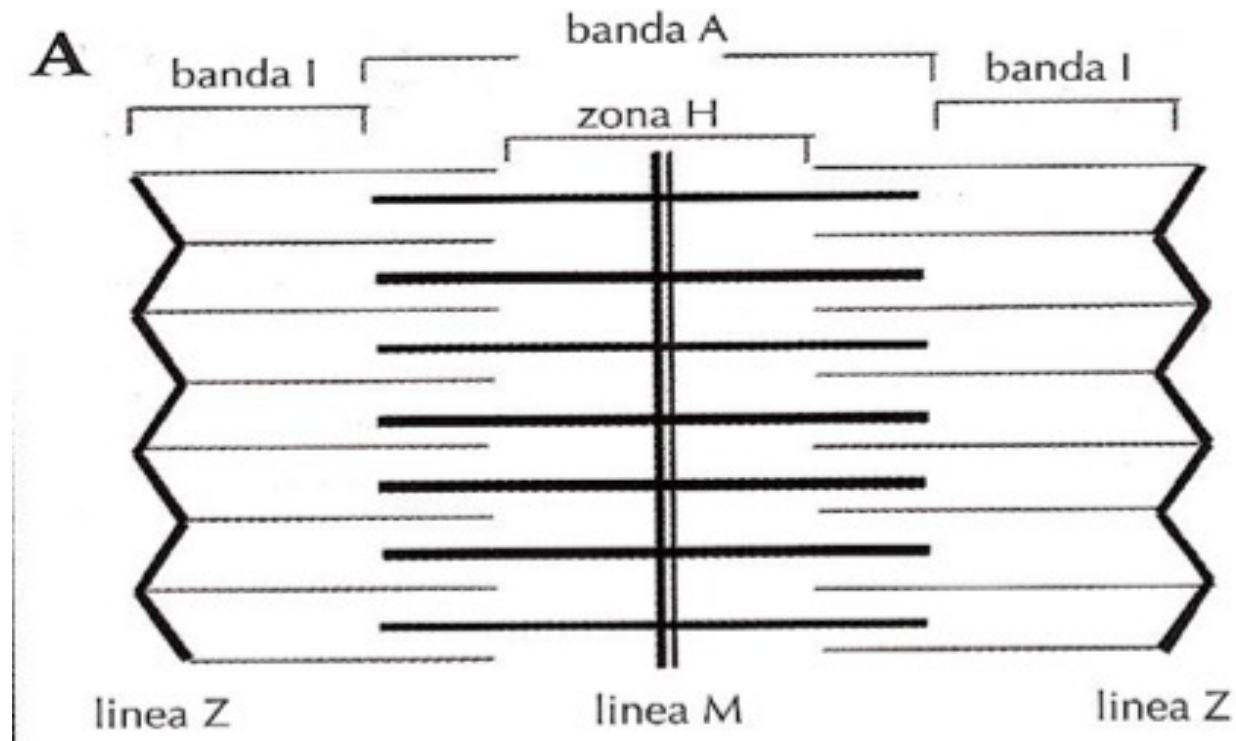
Struttura di una miofibrilla

L'organizzazione regolare ed intervallata delle miofibrille nei **sarcomeri** è data dalla disposizione di due **miofilamenti**.

Essi sono costituiti da diverse proteine tra cui le due più abbondanti sono:

-la **miosina** che costituisce **il filamento spesso**

-l'**actina** che costituisce **il filamento sottile**.



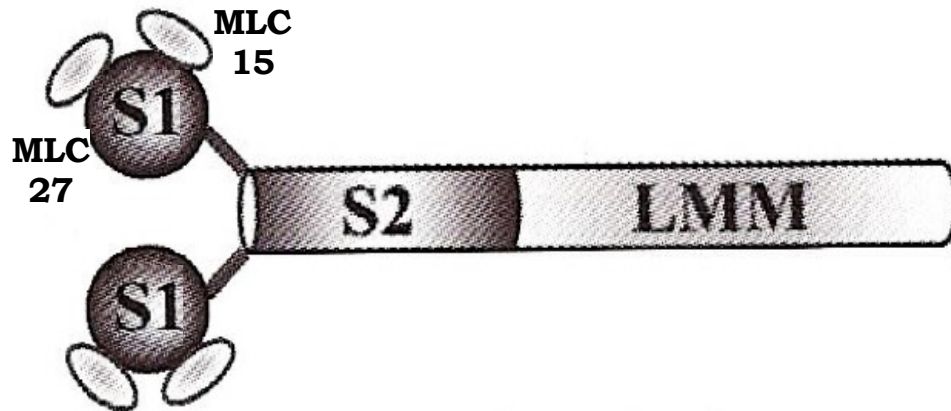
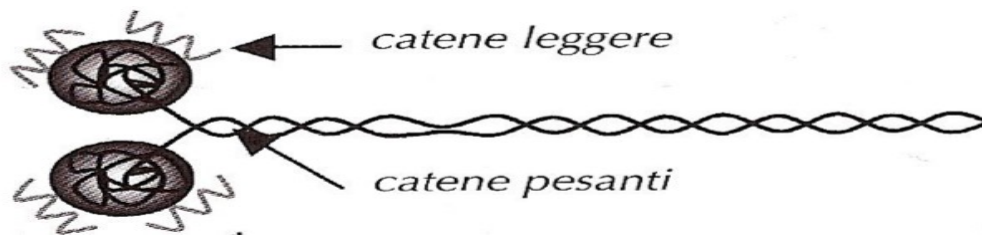
I filamenti sottili partono dalle linee Z e non arrivano al centro del sarcomero.

I filamenti spessi sono disposti al centro del sarcomero.

Le zone scure più intense della banda A sono dovute alla sovrapposizione dei due filamenti. La zona meno intensa è dovuta invece solo ai filamenti spessi.

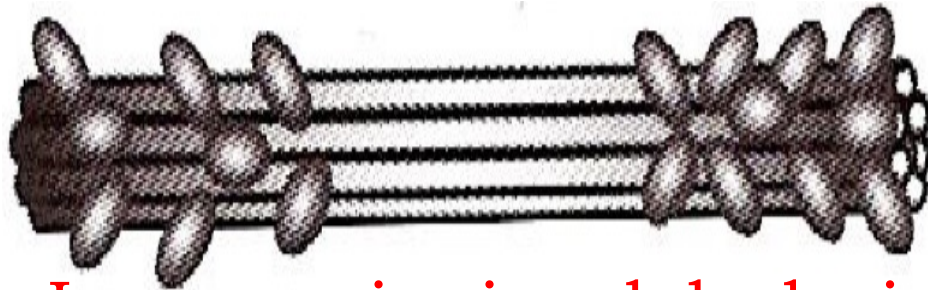
Caratteristiche strutturali delle proteine contrattili: la *miosina*

La miosina è una proteina oligomerica a sei subunità: **due catene pesanti identiche** (MHC; 200 kDa) e **due coppie di due catene leggere** differenti (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

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



Un **filamento spesso** mediamente contiene **400** molecole di **miosina**

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

Inoltre, le porzioni globulari (i frammenti S1) legano l'ATP e possiedono attività ATPasica.

L'idrolisi dell'ATP induce la dissociazione dell'**actina** dalla **miosina**.

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



La **tropomiosina** è una proteina filamentosa costituita da due subunità differenti (α e β) disposte nel solco tra le due eliche di **actina F**.

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.

Ulteriori proteine strutturali

11

Titina

E' una proteina molto grande (**3,7 MDa**) che si dispone **parallelamente ai filamenti di actina e miosina**. La sua estremità **N-terminale** è ancorata alla **linea Z** mentre l'estremità **C-terminale** arriva sino alla **linea M**. E' coinvolta nell'**assemblaggio** e nel **mantenimento** della struttura delle **fibrocellule**.

Nebulina

Regolazione della lunghezza dell' actina F.

alfa-actinina

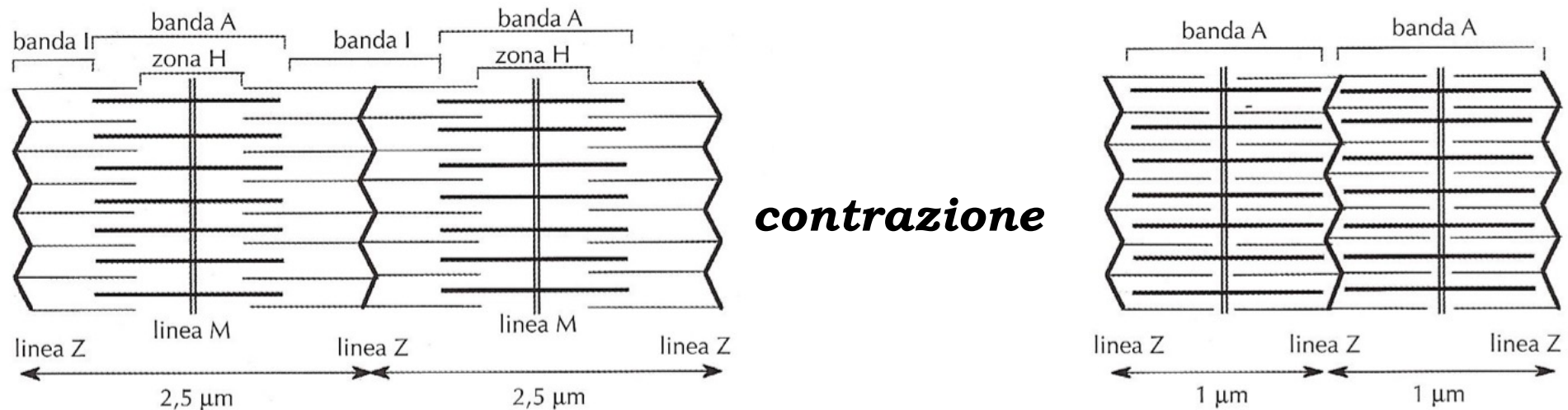
Esistono 4 isoforme e la **isoforma 3** viene espressa nelle **fibre veloci**. Evidenze sperimentali riportano la **correlazione** tra l'**iper-espressione** di tale isoforma e le prestazioni dei velocisti (**doping genico**).

***Cosa avviene
durante la
contrazione a
livello molecolare ?***

“Teoria dello scorrimento dei filamenti”

13

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.

Il meccanismo molecolare prevede che le teste della miosina si spostano (camminano) lungo i filamenti di actina provocando così l'accorciamento. La sequenza di eventi che si verificano sono:

- **rilascio degli ioni calcio dalle cisterne nel sarcoplasma e legame alla TnC;**
- **legame dell'actina alla miosina e induzione dell'attività ATPasica. ADP e P_i restano legati;**
- **“power stroke” a carico delle teste della miosina in seguito alla dissociazione del P_i ;**
- **scambio ADP-ATP per riottenere la forma attiva della miosina. Provoca anche il distacco della miosina dall'actina;**
- **trasporto degli ioni calcio nelle cisterne.**

L'energia liberata dall'idrolisi dell'ATP viene utilizzata per modifiche conformazionali a carico della miosina.

Classificazione delle fibre muscolari 15

Esistono due tipi di muscoli striati:

Muscoli rossi → attività lenta e continua;

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 rapide 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, allenamento (doping).**

Sviluppo tessuto muscolare

Nell'embrione si sviluppa dal mesoderma (**dermomiotomo**) a partire da cellule chiamate **mioblasti**.

Da alcuni **mioblasti** (cellule staminali) si ottengono cellule allungate polinucleate detti **miotubi** in cui i nuclei si trovano ancora in posizione centrale.

Altri rimangono **quiescenti** e saranno utilizzate sia nell'**accrescimento muscolare** sia nella **rigenerazione** del tessuto muscolare danneggiato.

Nel controllo del **differenziamento** partecipa la **miostatina**, un membro della famiglia del **fattore di crescita** trasformante beta (**TGF-beta**), che esercita un **effetto bloccante** la crescita muscolare.

Mutazioni nel gene per la **miostatina** provocano una **iperplasia** muscolare (**doping genico**).

Fonti energetiche della contrazione muscolare

La sintesi dell'ATP per la contrazione muscolare avviene essenzialmente mediante tre meccanismi diversi:

✓ **meccanismi anaerobici**

- *alattacidi*
- *lattacidi*

✓ **meccanismi aerobici**

La prevalenza/utilizzo di tali meccanismi dipende dal tipo di muscolo scheletrico e/o dal lavoro da esso svolto.

Meccanismi *anaerobici* *alattacidi*

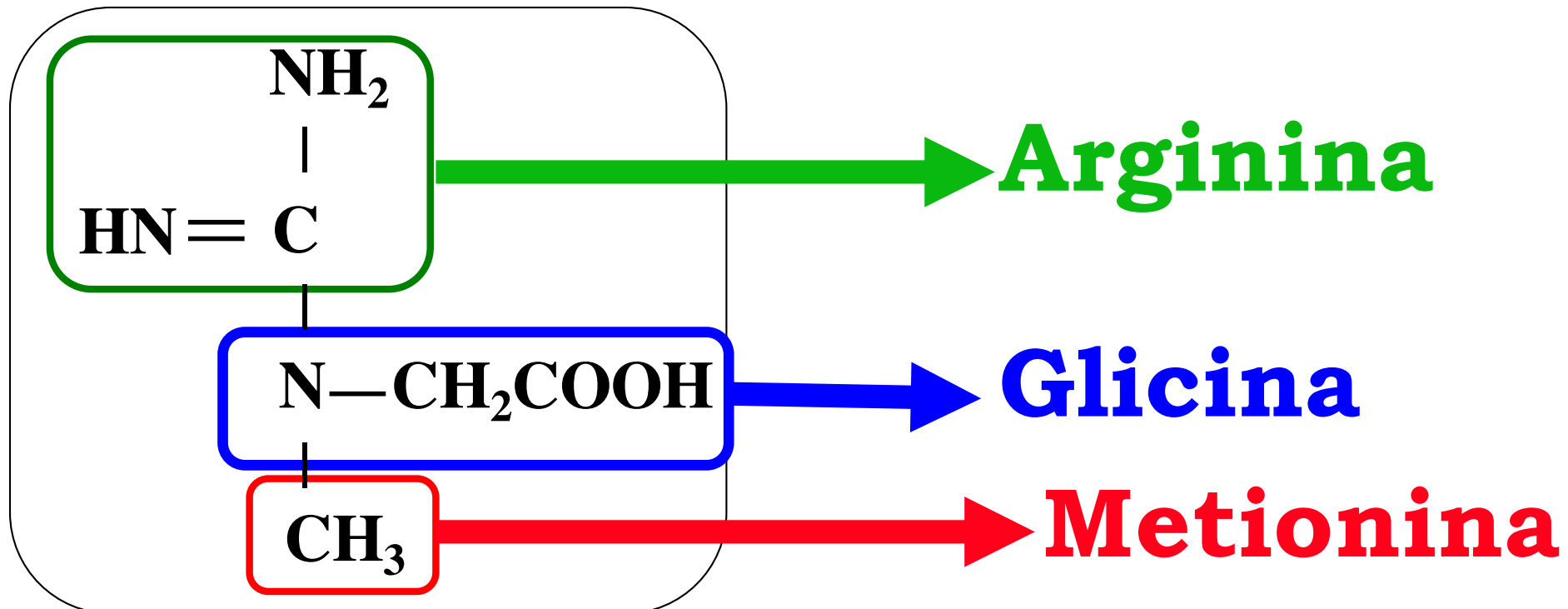
Esistono **due** meccanismi di sintesi di **ATP alattacido**:

- **Sintesi di ATP da fosfocreatina**
- **Sintesi di ATP da attività miochinastica**

La creatina (1)

La creatina (Cr) composto azotato non proteico (acido metil-guanidil-acetico) è introdotta con la dieta (carni rosse) ed è sintetizzata sia a livello epatico sia renale a partire da tre amminoacidi:

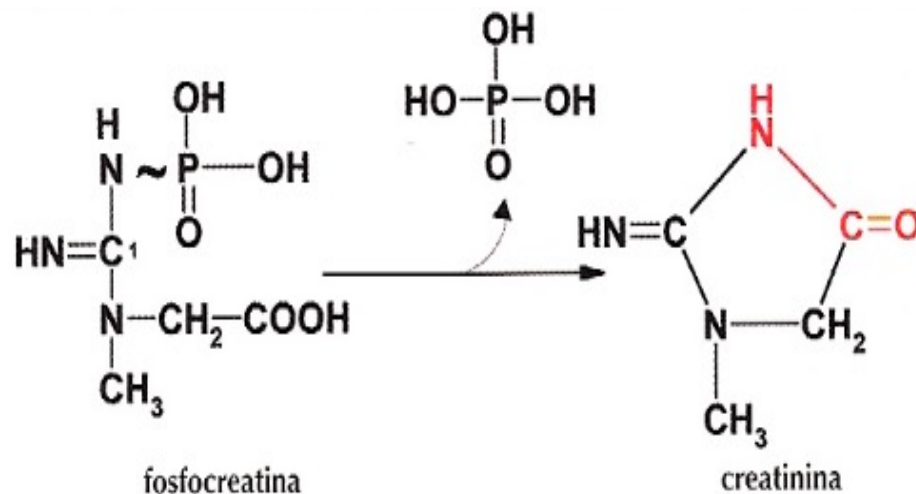
arginina, **glicina** e **metionina**.



La creatina (2)

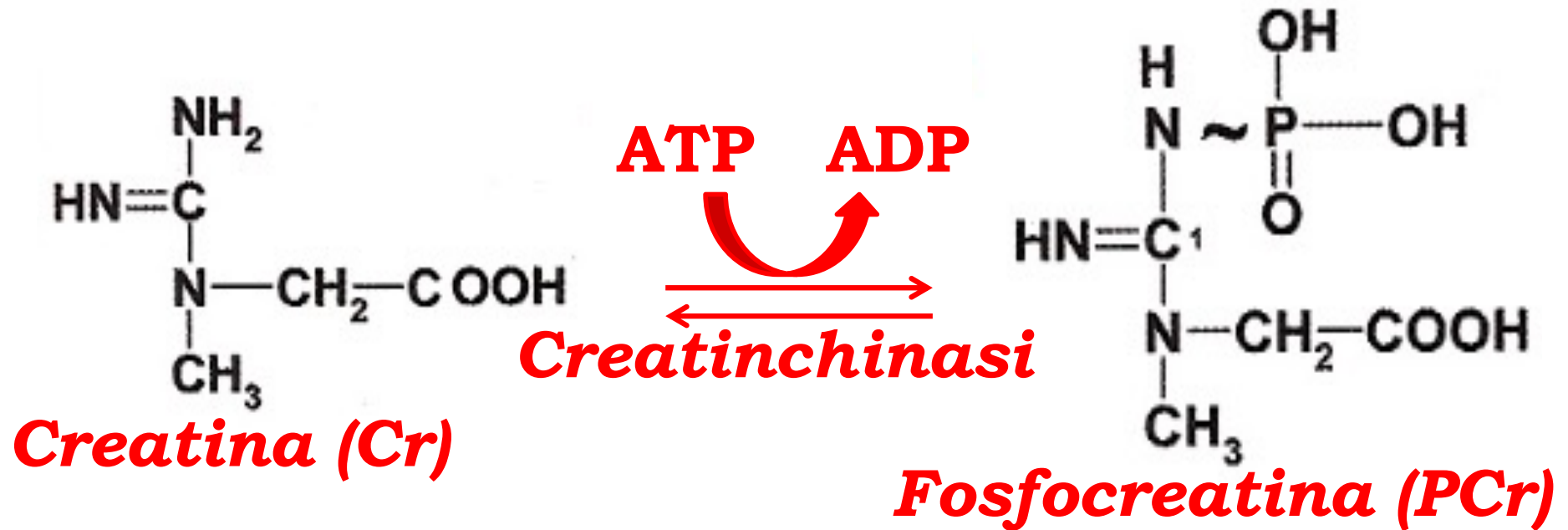
L'organismo umano possiede circa 2 g/Kg di creatina (**Cr**) ed il suo turn-over giornaliero è di circa 2 g. Il muscolo scheletrico contiene circa il 95% di creatina, di cui circa i due terzi sono presenti in forma di fosfocreatina (**PCr**).

La Cr viene trasportata ai tessuti di utilizzo (**muscolo e cervello**) dove viene fosforilata e trasformata in fosfocreatina (**PCr**)



La fosfocreatina viene eliminata a livello renale sotto forma di **creatinina** che viene sintetizzata a partire da PCr.

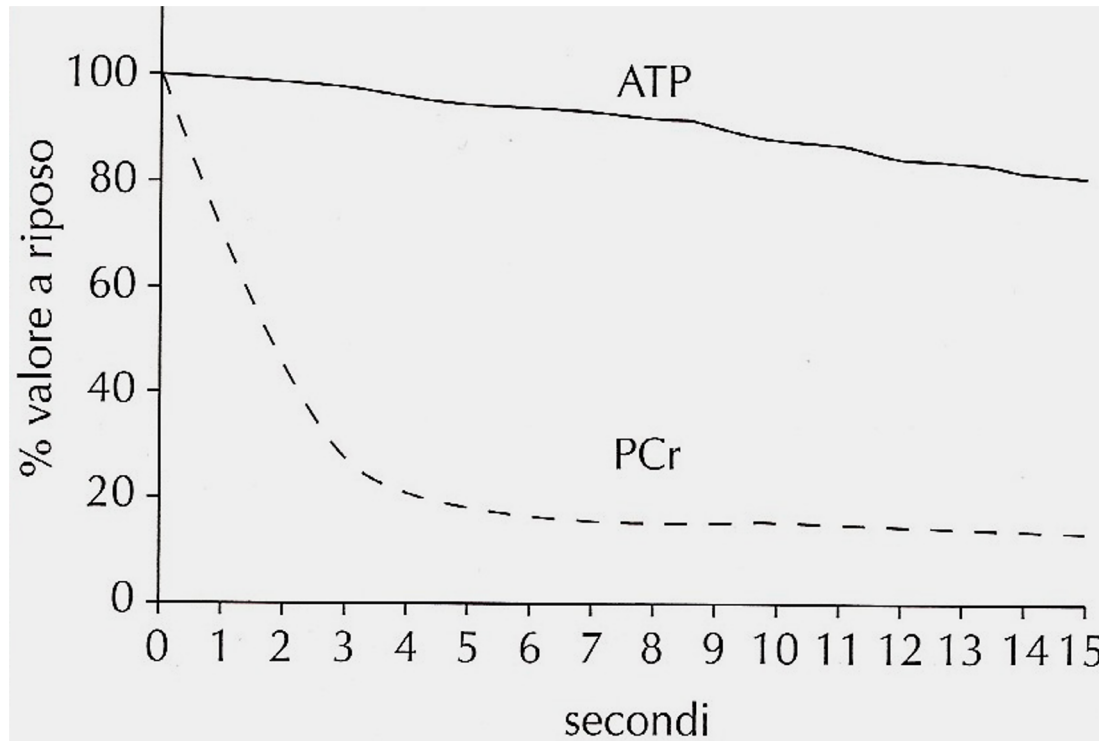
Sintesi di Fosfocreatina (PCr)



L'enzima **creatina chinasi (CK)** è in grado di catalizzare anche la reazione inversa.

I livelli di PCr nel muscolo sono 3-5 volte superiori a quelli di ATP.

Sintesi di ATP da fosfocreatina



Durante uno sforzo intenso e breve (anaerobico) per pochi secondi, i livelli di ATP sono mantenuti costanti dalla rapida conversione di PCr in creatina.

Tamponamento energetico temporale

Nella **fase di recupero**, le scorte di **PCr** vengono **recuperate** in **tempi** significativamente **più lunghi (2-3 min)** attraverso i **meccanismi ossidativi aerobici**.

Sintesi di ATP dall'attività miochinasi

L'enzima ***miochinasi*** (*adenilato chinasi muscolare*) catalizza la sintesi di ATP in base alla reazione:



Questa reazione contribuisce a mantenere relativamente **costante** la **[ATP]**. Inoltre, nella cellula **[ATP] > [ADP] >> [AMP]** in quanto l'AMP viene prodotto dalla miochinasi. Quindi durante uno sforzo muscolare di breve durata, il **consumo di ATP** porterà ad una **produzione** più significativa di **AMP**.

Pertanto **[AMP]** rappresenta un ottimo segnale energetico per la cellula. ***Aumentate concentrazioni di AMP significano che la cellula è in "debito" energetico.***

L'AMP è un attivatore allosterico di due enzimi coinvolti nel metabolismo dei carboidrati:

- ***fosfofruttochinasi (glicolisi, PFK-1)***
- ***glicogeno fosforilasi (glicogenolisi)***

La PFK-1 catalizza la fosforilazione ATP-dipendente del fruttosio-6-P in fruttosio-1,6-bis fosfato (tappa limitante) nella fase di “investimento” energetico della glicolisi. L'attivazione allosterica dell'enzima provoca un aumento della velocità di tutta la via glicolitica (utile in condizioni di elevata richiesta energetica).

Inoltre, attraverso meccanismi più complessi, aumentate [AMP] sono in grado di incrementare l'ingresso di acil-CoA all'interno del mitocondrio, provocando quindi un aumento del “flusso dei substrati della β -ossidazione” nella lipolisi.

Si definisce carica energetica il rapporto:

$$\boxed{\text{Carica Energetica}} = \frac{[\text{ATP}] + 0,5 [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

Il numeratore rappresenta la quantità di ATP presente e potenzialmente ottenibile dall'ADP.

La carica energetica quindi rappresenta la frazione molare di ATP potenzialmente disponibile sul contenuto totale di nucleotidi adenilici.

In condizioni fisiologiche la carica energetica è di circa 0,85 cioè la maggior parte dei nucleotidi adenilici si trova sotto forma di ATP. Le condizioni di carica energetica più bassa attivano il catabolismo ossidativo per rigenerare ATP.

Meccanismi *anaerobici lattacidi*

Si attivano dopo pochi secondi dall'inizio di un esercizio intenso, dopo che la concentrazione di **PCr si è molto ridotta.**

In tali condizioni, il muscolo utilizza le riserve di **glicogeno per produrre, attraverso la **glicolisi anaerobica**, l'ATP.**

Infatti, durante un esercizio intenso, la velocità di trasporto dell'ossigeno e la **bassa velocità di ossidazione del ciclo di Krebs e della fosforilazione ossidativa, non sono compatibili con la velocità di utilizzo dell'ATP a livello muscolare.**

Pertanto il **piruvato**, invece di entrare nel ciclo di Krebs (sotto forma di Acetil-CoA), viene **ridotto ad acido lattico** nella **fermentazione omolattica** che, **rigenerando il NAD ossidato** impedisce il **blocco della glicolisi**.

*La resa energetica per mole di glucosio è di **2 moli di ATP** per il **glucosio libero** o **3** per il glucosio derivante dal **glicogeno**.*

Tale meccanismo di sintesi di ATP lattacida caratterizza gli **sforzi muscolari intensi** e di durata **oltre i 4 secondi**.

La formazione di acido lattico produce un **aumento di [H⁺]** che **inibisce la PFK-1 bloccando** quindi la **produzione di ATP** anaerobica lattacida (riduzione potenza, fatica).

L'abbassamento del pH viene controbilanciato dai²⁸
sistemi tampone cellulari **inorganici** (fosfati, bicarbonati) o **organici** (proteine, peptidi).

In particolare nelle cellule muscolari, questo effetto viene attribuito al **di-peptide carnosina** (Ala-His).

Inoltre, il lattato, insieme allo ione H^+ , viene trasportato all'esterno della cellula dai **trasportatori dei monocarbossilati (MCT)** per poter essere utilizzato da altri tessuti per destini diversi quali **gluconesi** (fegato) e **ossidazione** (muscolo cardiaco)

Quindi, l'**attività muscolare** può essere monitorata determinando la **quantità di lattato rilasciato**.

Potenza e capacità lattacida (1)

Potenza lattacida: è la quantità di ATP prodotto nell'unità di tempo con il meccanismo lattacido.

La potenza lattacida è importante nelle prove di corsa veloce (100-200 m). Data la breve durata, non si raggiungono i valori critici di pH intra-cellulari e non si esauriscono le scorte di glicogeno.

Capacità lattacida: quantità di ATP formato se tutti i substrati disponibili fossero consumati.

Non è valida, in quanto si può avere una riduzione di potenza prima che il substrato (glicogeno muscolare) sia esaurito completamente.

Potenza e capacità lattacida (2)

La capacità lattacida dipende da componenti muscolari e non muscolari.

Componenti muscolari

- elevate concentrazioni di sistemi **tampone intracellulari**
- capacità delle fibre muscolari di **lavorare a pH critici**
- **diffusione rapida** di lattato e H^+ dalla fibra (**MCT**)
- **tamponamento** di $[H^+]$ nei **liquidi extracellulari**
- **metabolismo del lattato** nelle fibre di tipo I (muscolo).

Componenti non muscolari

- tamponamento a **livello ematico**
- **eliminazione** del lattato ematico negli **organi addetti**.

I trasportatori dei monocarbossilati (MCT)

Catalizzano la **diffusione facilitata** del **lattato** (secondo gradiente di concentrazione) ma anche di altri **monocarbossilati** quali il **piruvato**, i **corpi chetonici** ed altri **chetoacidi**.

È una famiglia di **9 membri** e le isoforme **MCT1** e **MCT4** sono quelle espresse nel **tessuto muscolare**

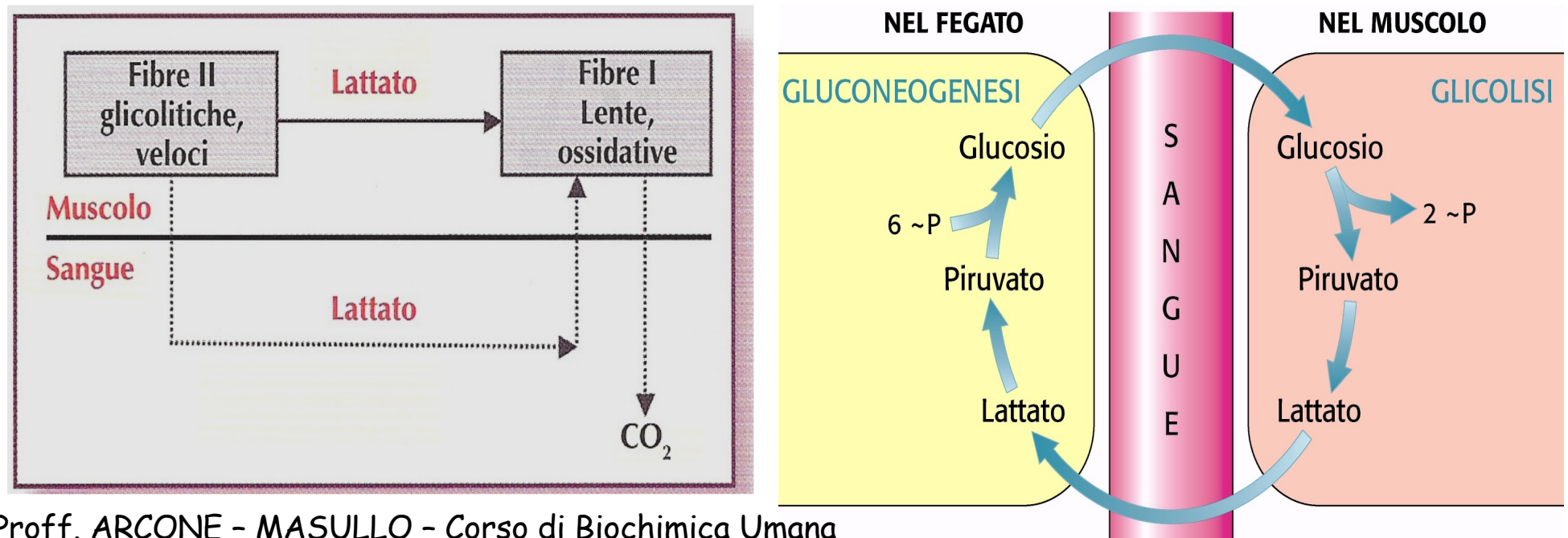
In particolare, **MCT1** è più espresso nelle **fibre di tipo I** (muscoli **rossi**, bassa velocità ossidativa) e **MCT4** in quelle di **tipo II** (muscoli **bianchi**, alta velocità glicolitica)

In alcuni casi, la quantità di **MCT1** aumenta nei muscoli rossi con l'allenamento (resistenza).

Utilizzo del lattato

In seguito all'immissione nel torrente circolatorio, la sua rimozione potrà avvenire mediante:

- **Ciclo di Cori** (glucogenesi da lattato)
- **Ossidazione** nel tessuto **muscolare scheletrico** mediante lo Shuttle **fibre bianche** ----> **fibre rosse**
- **Ossidazione** nel tessuto **muscolare cardiaco**



Fonti energetiche della contrazione muscolare³³

La sintesi dell'ATP per la contrazione muscolare avviene mediante tre meccanismi diversi:

Alattacidi, basati sull'utilizzo di ATP da miochinasi e fosfocreatina

Meccanismi anaerobici:

Lattacidi, basati sull'utilizzo dell'ossidazione parziale di glucosio (fermentazione omolattica)

Meccanismi aerobici:

Basati sull'utilizzo di substrati (carboidrati, acidi grassi, amminoacidi) metabolizzati in presenza di O₂.

La prevalenza/utilizzo di tali meccanismi dipende dal tipo di muscolo scheletrico e/o dal lavoro da esso svolto.

I meccanismi aerobici si verificano nel tessuto muscolare prevalentemente formato da fibre rosse, ricche di mitocondri e ben vascolarizzate.

Meccanismi aerobici di sintesi dell'ATP

34

Nelle prove di lunga durata ma di intensità non massimale (es. maratona) l'energia viene fornita dalla ossidazione aerobica di carboidrati, acidi grassi ed amminoacidi.

SUBSTRATO

Glicogeno —> **Glucosio**
(Muscolo e fegato)

Trigliceridi —> **Acidi grassi**
(adipociti)

Proteine —> **Amminoacidi**
(muscolo e fegato)

VIA CATABOLICA

- **Glicolisi**
- **Decarbossilazione ossidativa del piruvato**

β -ossidazione

Transamminazione

Dal catabolismo di questi substrati sono prodotti NADH e FADH₂ (glicolisi, beta-ossidazione, ciclo di Krebs) che attraverso la catena respiratoria portano alla sintesi di ATP mediante ***fosforilazione ossidativa***

Trasportatori del glucosio (glicemia 5 mM) ⁵

Sono **proteine trans-membrana** di 5 tipi diversi (**GLUT1-5**) in base alla loro espressione tissutale.

La loro **efficacia** nel trasportare il glucosio viene valutata in base al valore di K_T :

è la **concentrazione di glucosio** a cui si misura **metà** della **massima velocità** di trasporto; rappresenta quindi una misura dell'**affinità** per il **glucosio**. Valori più piccoli caratterizzano un'efficienza di trasporto più alta.

GLUT1 e GLUT3: ubiquitariamente espressi; sono coinvolti nel **trasporto continuo** del glucosio ($K_T = 1$ mM).

GLUT2: fegato e cellule β del pancreas; coinvolto nella **captazione** del glucosio per la **glicogenosintesi** ($K_T = 15-20$ mM).

GLUT4: muscolo; coinvolto nell'ingresso del glucosio per la sua ossidazione ($K_T = 5$ mM). La loro espressione **aumenta** in seguito alla secrezione di **insulina**.

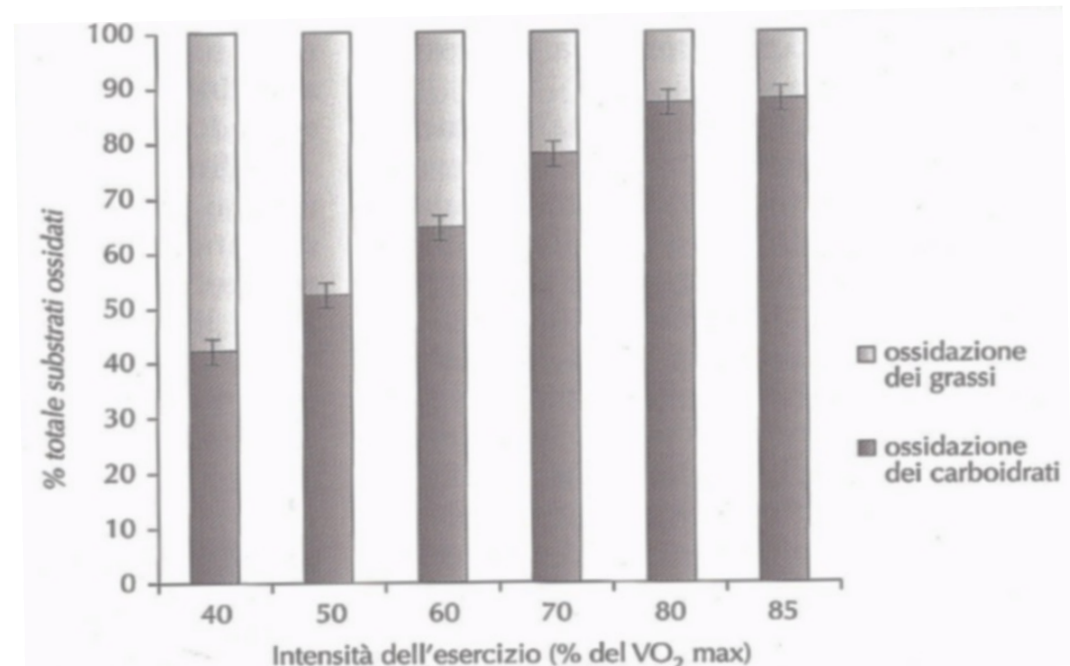
GLUT5: intestino; trasporta glucosio nel circolo sanguigno.

Regolazione metabolismo glucidico e lipidico

Glucosio ed acidi grassi rappresentano le fonti energetiche fondamentali durante il lavoro muscolare.

La loro ossidazione proporzionale dipende dalla intensità e dalla durata dell'esercizio.

A parità di durata, più è bassa l'intensità di lavoro maggiore sarà la proporzione dell'ossidazione degli **acidi grassi**. Per es. al **25-30%** della VO_2 max, il **70-90%** dell'energia deriva dall'ossidazione degli **acidi grassi**. Tale quota tende a **diminuire all'aumentare dell'intensità di esercizio**.



“**Crossover point**”: % della VO_2 max a cui predomina l'utilizzo (**oltre il 50%**) dei **glucid** come fonte ossidativa.

Potenza, capacità e resa energetica

37

Potenza: quantità di ATP sintetizzata nell'unità di tempo

Capacità: quantità di ATP sintetizzata in condizione o di esaurimento dei substrati (PCr) o di blocco del meccanismo (es. raggiungimento del pH critico)

Resa energetica: moli di ATP sintetizzate per mole di substrato consumato

	Potenza (mol ATP/min)	Capacità (mol ATP Tot.)	Resa (mol ATP/mol substrato)
An. alattacidi	3.8	0.4	1 ATP/PCr
An. lattacidi	1.9	1.2	2 ATP/glucosio* 3 ATP/glucosio**
Aerobici	1.0	∞ (o fino all'esaurimento del glicogeno)	30-32 ATP/glucosio# 106 ATP/palmitato##

*glicolisi anaerobica; **glicogenolisi + glicolisi An.; #glicolisi + Krebs + Fosf. Oss.; ##β-Ossid.