

Nadia Papini

Biochimica muscolare 18h- 9lez

Esame scritto di 3 moduli, 31 domande, 30 min, 31 domande – 1 sola giusta, 4 opzioni

18/31 superi

## BIOCHIMICA MUSCOLARE

1° LEZIONE – 19.10.2021

### DIFFERENZIAMENTO MUSCOLARE SCHELETRICO

**Differenziamento cellulare:** processo attraverso il quale le cellule somatiche acquisiscono caratteristiche morfologiche, biochimiche e funzionali specifiche.

Questo processo è molto importante, noi lo vediamo riferito al muscolo scheletrico, ma di fatto succede in tutti i tipi di cellule, considerando lo stesso soggetto, noi abbiamo cellule che svolgono funzioni diverse: cellula muscolare, cellula nervosa, etc. Queste cellule pur essendo diverse, hanno lo stesso corredo genico, hanno delle forme, caratteristiche, forme diverse. Ciò avviene perché in una cellula si esprimono solo certi geni, quindi si ha un'espressione genica differenziale, si esprime in maniera diversa il corredo genico, posso spegnere dei geni e non ottenere mai quel gene, quindi la proteina che è codificata da quel gene. Per esempio tutte le cellule dell'organismo hanno il gene per l'insulina, però questa è prodotta dalle cellule pancreatiche da alcune cellule particolari, però l'informazione di base per farla si ha anche in altre cellule che però viene spenta.

Attraverso l'**espressione genica differenziale**, io posso indirizzare una cellula verso una certa funzione, quindi acquisisce delle caratteristiche particolari che gli permettono di svolgere la sua funzione. Questo è il processo di differenziamento cellulare.

Nell'uomo lo sviluppo prenatale è suddiviso in due periodi:

- periodo embrionale (formazione di tessuti e organi) → Embrione dalla fecondazione alla VIII settimana compresa.
- periodo fetale (accrescimento e modellamento degli organi) → Feto dalla IX settimana alla nascita.

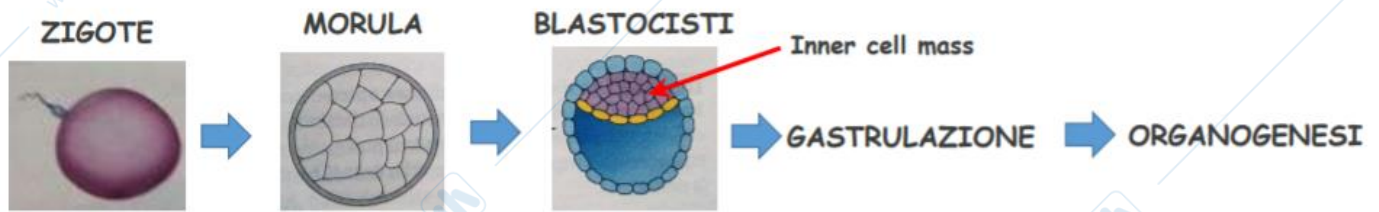
Il differenziamento muscolare avviene nell'embrione.

Il differenziamento muscolare scheletrico avviene prima della nascita, alla nascita sono già differenziate, possono aumentare di grandezza e questo avviene anche durante le diverse fasi della crescita. La fase prenatale per l'uomo è divisa in due periodi : **EMBRIONALE** che è il periodo iniziale che va dalla fecondazione all'ottava settimana compresa, è una fase in cui si ha la formazione di **TESSUTI** e **ORGANI**, si hanno le prime fasi in cui si vanno a specializzare delle cellule. La fase **FETALE** va dalla nona settimana alla nascita. È caratterizzata da delle modificazioni, per cui si ha un accrescimento di tessuti e organi e rimodellamento che porterà gli organi ad assumere la forma definitiva. Il differenziamento muscolare, la fase in cui si ottengono le cellule muscolari, avviene nel periodo embrionale.

**SVILUPPO EMBRIONALE** Nel periodo embrionale si hanno diversi stadi che iniziano con la formazione dello **ZIGOTE**, la cellula uovo fecondata che poi passa attraverso degli stadi, dove inizialmente si ha una moltiplicazione, quindi una divisione cellulare così si avrà un aumento del numero di cellule e poi si avrà uno stadio chiamato **MORULA**, una struttura tondeggianti compatta formata da tante palline, successivamente alcune di queste cellule daranno origine all'**EMBRIONE VERO E PROPRIO**, quelle più esterne a degli **ANNESSI EMBRIONALI**, che non fanno parte dell'embrione.

Dallo stadio di morula, si passa allo stadio di **BLASTOCISTI**, troveremo una cavità chiamata **BLASTOCELE**, essa si perché pian piano si attivano delle **POMPE DI TRASPORTO IONICO**, che pompano **SODIO** insieme ad esso, viene trascinato l'**ACQUA**, e quindi si forma questa cavità, quindi ci sono delle cellule che circondano la struttura, una cavità, e le altre cellule che si sono tutte radunate da una parte, e daranno origine all'embrione. Man mano che si va avanti, si perde la staminalità, si perde la capacità di generare qualsiasi cosa. A livello della morula, in teoria ogni cellula può generare un embrione completo, quando si passa a blastocisti, la massa cellulare interna è pluripotente, ovvero in grado di generare tutti i tessuti, quindi ci sono già cellule destinate ad una cosa, e cellule a farne un'altra, più si specializzano le cellule più e si perde la staminalità.

## Fasi dello sviluppo embrionale



Nello stadio **BLASTOCISTI** abbiamo l'annidamento dell'embrione nell'utero. Dopo questo stadio si passa alla **GASTRULAZIONE**, una fase in cui la massa di cellule inizia a cambiare, si spostano alcune cellule e vanno ad occupare delle posizioni in modo tale da andare a formare dei **FOGLIETTI EMBRIONALI (GERMINATIVI)**, dai quali deriveranno i tessuti, proprio perché ci sono dei movimenti, delle cellule assumono una posizione più interna, altre più esterna, altre rimangono al centro e ciascun foglietto darà origine a strutture dell'organismo diverse, inizia ad esserci una specializzazione.

L'ultimo stadio è invece l'**ORGANOGENESI**, che consiste nella formazione di organi e tessuti. Nella gastrulazione abbiamo spostamenti di cellule che inizialmente tendono a sovrapporsi, si ha una struttura schiacciata, foglietti che evolveranno nella struttura dell'embrione.

Inizia all'inizio della III settimana, e va avanti anche successivamente, è un processo che richiede tempo, pian piano evolve nella formazione delle varie strutture. Si formano tre foglietti embrionali che si trovano dal lato dell'embrione, germinativi perché daranno origine a determinati tessuti, sono dei foglietti che si originano vari tessuti, organi, etc.

I foglietti sono tre:

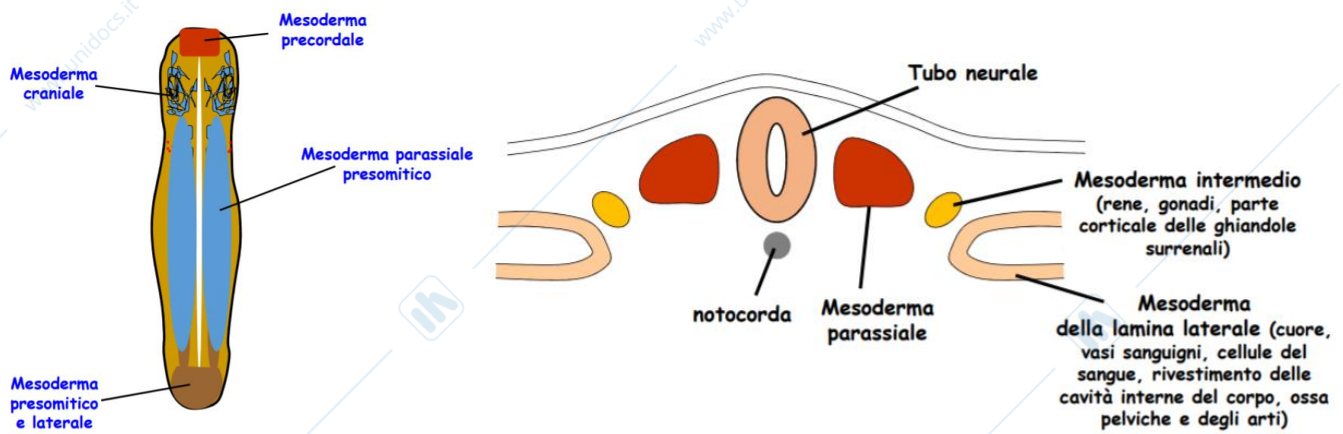
1. **ECTODERMA** che è lo strato più esterno, forma l'**EPIDERMIDE NON IL DERMA**, i suoi derivati, **CAPELLI, UNGHIE, ghiandole, PELI** e da questo stesso tessuto deriva il **SISTEMA NERVOSO, CRISTALLINO e la RETINA**, il sistema nervoso ha una genesi abbastanza complessa.
2. **ESODERMA** il più interno, dà invece origine all'epitelio che tappezza l'**APPARATO GASTROINTESTINALE, ghiandole annesse (FEGATO, PANCREAS, CISTIFELLEA), MUSCOSA DELL'APPARATO RESPIRATORIO, POLMONI, ghiandole endocrine (TIMO, TIROIDE)** derivano da questo foglietto più interno. Il **MESODERMA** formerà il **TESSUTO MUSCOLARE, APPARATO CIRCOLATORIO, CELLULE DEL SANGUE, VASI, CUORE, RENI E VIE URINARIE, GONADI, TESSUTO OSSEO, CONNETTIVO, CARTILAGINEO, TENDINI**, etc.
3. **MESODERMA** intermedio, è il foglietto germinativo da cui deriva il **TESSUTO MUSCOLARE SCHELETRICO**, deriva anche un tessuto muscolare cardiaco.

Ci sono diverse masse di mesoderma che si localizzano in zone diverse, in particolare distinguiamo la:

**ZONA CRANIALE (testa) ZONA CAUDALE (coda).**

Nella zona craniale le masse di mesoderma daranno origine ai **MUSCOLI E OSSA DEL CRANIO**, in quanto hanno derivazione diversa rispetto ai muscoli di **TRONCO e ARTI**, sempre da queste zone derivano anche i **MUSCOLI OCULARI** legati agli occhi.

Distinguiamo un **MESODERMA PRESOMITICO LATERALE, MESODERMA PARASSIALE PRESOMITICO**, perché si devono dividere in tanti pezzettini e non lo hanno ancora fatto, parassiale perché sono due salsicciotti che stanno simmetricamente ai due lati dell'asse corporeo che è la struttura portante dell'embrione, ovvero la **NOTOCORDA** (noi abbiamo le vertebre), che sostituisce la colonna vertebrale e ci permette di avere questa struttura bilaterale, ai due lati della struttura bianca abbiamo due strati di mesoderma. Man mano che si va avanti il cordone si rompe in tanti pezzettini che sono i **SOMITI**.

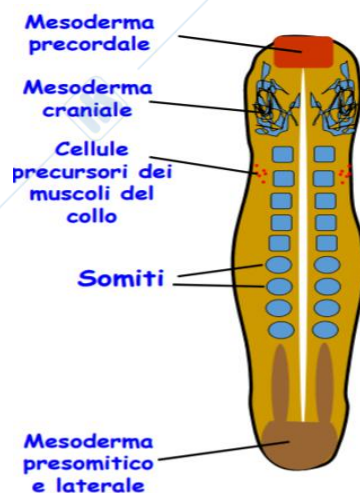


L'embrione trasversalmente, presenta sempre uno strato esterno, ovvero l'**ECTODERMA DI SUPERFICIE**, dal **TUBO NEURALE** avrà origine il **SISTEMA NERVOSO**, è presente la **NOTOCORDA**, man mano che si formano le vertebre, la notocorda, degenera e scompare, ne rimangono solo delle tracce a livello dei **NUCLEI POLPESI DEI DISCHI INTERVERTEBRALI**, tutto il resto sparisce, c'è un processo di morte cellulare programmata. Vediamo il **MESODERMA PARASSIALE**, oltre queste due strutture abbiamo altre zone di mesoderma, iniziamo dalla più esterna:

- **MESODERMA DELLA LAMINA LATERALE**, dà origine al **CUORE, VASI SANGUIGNI, CELLULE DEL SANGUE, RIVESTIMENTI CAVITÀ INTERNE DEL CORPO, OSSA ZONA PELVICA, BACINO, OSSA DEGLI ARTI, non i muscoli degli arti.**
- **MESODERMA INTERMEDIO** che dà origine ai **RENI, VIE URINARIE, GONADI, PARTE CORTICALE DELLE ghiandole surrenali**, cioè la parte esterna, non quella interna, in quanto l'interna rilascia adrenalina e noradrenalina ed è di natura nervosa, è una porzione di origine nervosa che deriva dalla **CRESTA NEURALE**, la parte più esterna è di origine endocrina, ma rilascia ormoni, non neurotrasmettitori, rilascia ormoni con funzione endocrina che sono di natura lipidica.
- A noi interessa il **MESODERMA PARASSIALE**, poiché dallo stesso otterremo muscolatura di **TRONCO e ARTI e le OSSA a livello del tronco, ovvero VERTEBRE e COSTE, CARTILAGINE e TENDINE.**

Dopo la III settimana, le due masse ai lati della notocorda, si dividono e formano tanti pezzettini che si chiamano **SOMITI**, mediante un processo noto come **SOMITOGENESI**, inizia la IV settimana, le due lamine vengono tagliate in tanti pezzettini, mediante un processo noto come **METAMERIZZAZIONE** si creano ai due lati delle strutture corrispondenti. Se noi consideriamo il tronco, le vertebre, costole, abbiamo ai due lati delle strutture ripetute, nell'uomo è di un certo numero circa 38/45 somiti a seconda delle circostanze, nei serpenti se ne formano 500. Abbiamo solo spezzettato le strutture di mesoderma parassiale presomitico in tanti pezzi che sono i somiti, all'inizio ciascuno di questi blocchetti azzurri contengono all'interno cellule che sono tutte uguali e sono di tipo epiteliale con organizzazione a spirale.

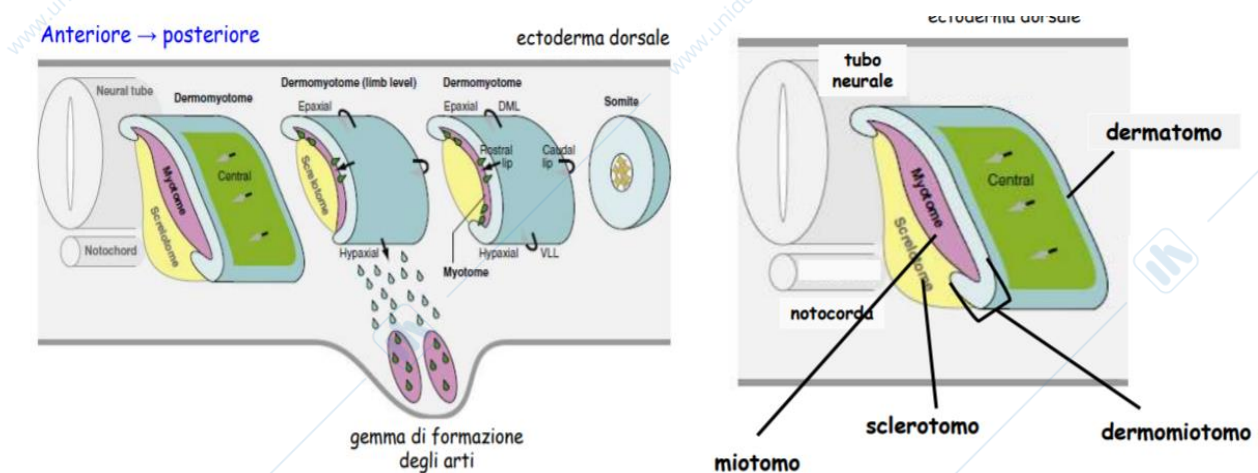
**SOMITOGENESI:**



**COME AVVIENE QUESTA SUDDIVISIONE?** Non avviene improvvisamente, ma avviene dalla direzione **CRANIALE a quella CAUDALE** con una certa tempistica, tutto ciò è regolato da geni con attivazione ciclica, c'è una fase di attivazione e poi di inattivazione e si inizia a tagliare e si formano i primi somiti, si crea una specie di suddivisione che permette di staccare i primi cubetti, avviene in contemporanea ai due lati, però non tutti, ma con una sequenza temporale, e poi man mano si va avanti a staccarli, e man mano che si staccano cambia la struttura di questi cubetti all'interno, all'inizio sono tutti indifferenziati, le cellule che ci sono dentro sono uguali, poi si avrà una specializzazione, per cui dentro ogni cubetto si formano delle strutture diverse. Si parte dalla zona craniale e si va verso quella caudale, man mano che si è staccato si modifica, e si formano delle strutture diverse all'interno, il blocchetto omogeneo si suddivide in parti che daranno origine a strutture diverse.

**STRUTTURA DEI SOMITI:** La parte ventrale dei somiti è più vicina al tubo neurale e notocorda, e prende il nome di **SLEROTOMO** e dà origine alla **CARTILAGINE DELLE VERTEBRE E DELLE COSTOLE, OSSA, TENDINI**, c'è una parte che è il **SINETOMO** che darà origine ai tendini.

In posizione dorsale si forma una struttura che si chiama **DERMOMIOTOMO** e darà origine al **DERMA** e **TESSUTO MUSCOALRE SCHELETRICO** di DORSO e ARTI. Successivamente abbiamo una parte intermedia che è il **MIOTOMO** dà origine alla **MUSCOLATURA DEL TRONCO e ARTI**, non a livello della testa e **DERMATOMO** che dà origine al **DERMA** e **TESSUTO CONNETTIVO**.



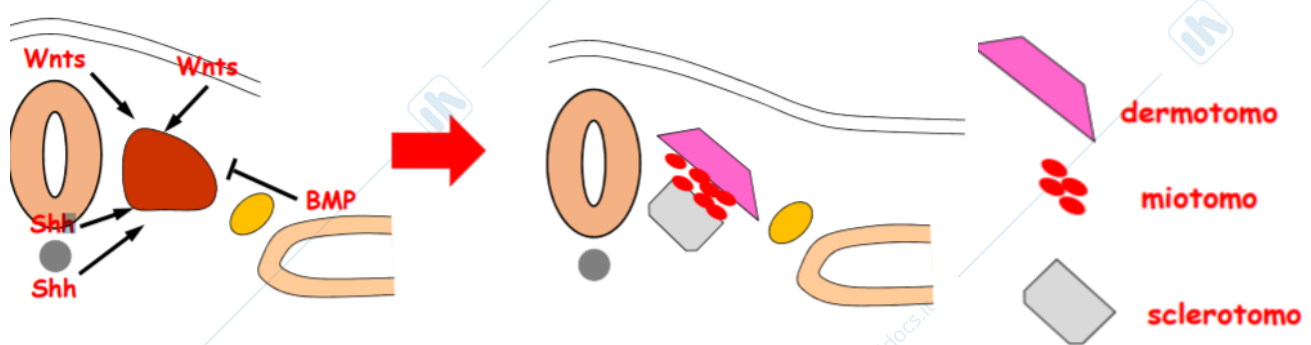
Così si sono formati i somiti che cambiano all'interno e formano delle porzioni che danno origine a cose diverse, si ha una distinzione, come facciamo a fare questa specializzazione?

All'inizio il somite è fatto da cellule tutte uguali, poi si formano i tre strati e le cellule in ciascuno strato hanno una connotazione precisa. Per quanto riguarda l'embrione possiamo distinguere delle strutture che si sono formate, ognuna di queste è in grado di liberare delle molecole che influenzano lo sviluppo di strutture vicine, le strutture sono in grado di modularsi a vicenda, dalle strutture più vicine vengono rilasciate delle proteine che possono andare a modificare la risposta di una porzione di mesoderma, queste sostanze visto che aiutano a dare una connotazione precisa ad una porzione di mesoderma, si chiamano **MORFOGENI**, perché danno la forma, fanno acquisire una certa caratteristica, quindi l'organizzazione interna dei somiti si forma perché dalle strutture vicine io libero queste proteine, sono proteine secrete dalle cellule vicine, le rilasciano, diffondono, e sono capaci di legarsi a dei recettori a livello dello sclerotomo.

Una cosa importante è il **VALORE POSIZIONALE**, il **TEMPO**, se la rilascio subito avrà un effetto, se la rilascio dopo avrà risposte diverse, in quanto sono già avvenuti dei cambiamenti, è importante la posizione delle strutture tra di loro, un riconoscimento in base al rilascio di queste sostanze, in base alla posizione, se io sposto qualcosa, perde le sue caratteristiche iniziali, è importante la **CONCENTRAZIONE** che riceve da queste sostanze, tutto questo fa sì che le cellule abbiano una posizione diversa, e quindi io riesco ad ottenere lo sclerotomo, il miotomo e il dermatomo e quindi all'interno di queste strutture in cui si divide il somite ho cellule che daranno origine a cose diverse, avviene sempre più la specializzazione.

I principali **MORFOGENI**, ovvero proteine che fanno questo sono:

- **WNTS**: è una famiglia di morfogeni, prodotte dalla parte dorsale del tubo neurale e dell'ectoderma di superficie. Favoriscono la formazione del miotomo e del processo di miogenesi, quindi la formazione del muscolo, quindi ha un effetto positivo di stimolo per la formazione del miotomo e il processo di miogenesi, quindi differenziamento muscolare;
- **SONIC HEDGEHOG (SHH)**: è membro di una famiglia di proteine, hanno il gene, trascrivono il gene, producono la proteina, che viene secreta, esce dalla cellula e va a colpire le strutture vicine, su queste strutture ci saranno dei recettori, avremo il legame della proteina con il recettore attiva una serie di vie all'interno della cellula, abbastanza complesse. L'effetto finale sarà di andare a regolare la trascrizione genica nelle cellule che si trovano nella zona colpita, ciò significa che la cellula verrà colpita, risponde a queste proteine cambiando l'espressione dei geni. Viene prodotto dalla **parte neurale del tubo ventrale, e dalla notocorda**, va a colpire il **miosomite**, ed è coinvolto nella formazione dello sclerotomo, anche del miotomo perché forma il precursore dei **miociti**;
- **BMP**: è la proteina morfogenetica dell'osso, fa parte di una famiglia di proteine che sono **TGF- $\beta$** , ed è prodotta dalla zona di mesoderma della lamina laterale, è importante per l'attivazione di geni coinvolti nel differenziamento osseo, dal punto di vista della miogenesi inibisce l'espressione, non in senso assoluto. Ciò che conta in questo processo è il bilanciamento tra le quantità dei vari componenti, la BMP deve essere molto vasta per avere l'evoluzione del miotomo. Un bilanciamento tra questi segnali è generato dal fatto che venendo da strutture diverse, colpiscono prima certe zone del somite e meno altre quindi arriveranno in concentrazioni diverse, anche la concentrazione temporale fa sì che io abbia la suddivisione di quei tre strati che abbiamo visto all'interno del somite. L'effetto finale è agire sulla trascrizione genica delle cellule che vengono colpite, quindi andare a modificare la trascrizione dei geni.



Il miotomo sembra essere specificato attraverso l'azione combinata di Wnt e modeste concentrazioni di Shh, mentre la BMP ha un'azione inibitoria.

I **morfogeni** attivano delle vie di segnale e vanno a modulare l'espressione genica, possono attivare dei geni coinvolti nel processo differenziativo di un certo tipo, a seconda della struttura che prende in considerazione, a noi interessa SOLO il differenziamento muscolare.

**Quindi WNTS e SHH, cosa faranno?** Attivano geni, che a loro volta ne attivano altri, a cascata, si arriva a quelli che direttamente sono collegati al differenziamento muscolare. Quindi alla fine vanno a produrre i fattori di regolazione miogenica, **MRF (Myogenic regulatory factor)** e qui siamo nell'ambito muscolo. Le mio-cellule che stanno nel miotomo, hanno una serie di attivazioni a cascata, alla fine producono questi fattori che saranno quelli che regoleranno la trasformazione delle cellule precursori in **FIBRE MUSCOLARI SCHELETRICHE**.

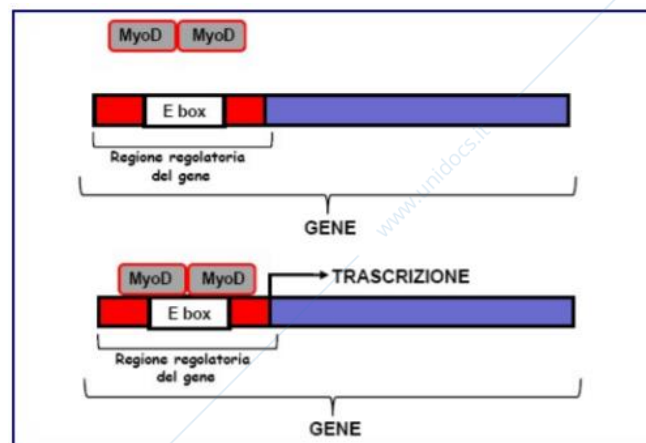
Gli **MRF** sono delle proteine e sono i principali fattori che regolano il **DIFFERENZIAMENTO MUSCOLARE** sono in numero di quattro :

- MyoD
- Myf5
- Miogenina
- MRF4

sono delle proteine con una struttura caratteristica, sono definite **BHLH (BASIC HELIX LOOP HELIX)**, hanno una zona basica, una elica, ansa, elica, la struttura **elica-ansa-elica** serve per permettere a due di questi fattori, di unirsi, collegarsi fra di loro e formare un dimero, la struttura basica serve perché queste proteine agiscono come fattori di trascrizione quindi devono essere capaci di legarsi al DNA in certe zone e regolare la trascrizione di certi geni, la zona basica permette l'interazione.

[DNA 1 gene → info per 1 proteina → trascrizione (lingua delle basi azotate) → RNA messaggero → esce dal nucleo va nel citoplasma, ribosomi, leggo cosa c'è scritto → sintesi proteica o traduzione (amminoacidi- linguaggio diversi da basi azotate a aa)]

Gli MRF agiscono come fattori di trascrizione e quindi regolano la trascrizione genica. In genere per svolgere quest'azione formano dei dimeri legandosi ad altri membri della stessa o di altre famiglie di fattori di trascrizione.



La zona dove si ha l'interazione è l'**EBOX**, la struttura nel gene è complessa, abbiamo tanti pezzi che servono per regolare la trascrizione, farla partire, bloccarla, gli **EBOX** sono localizzati a livello della regione regolatoria di molti geni muscolari, quindi il fatto che questo fattore interagisca a questo livello, fa partire la trascrizione di questo gene. Abbiamo un gene, c'è l'informazione per una proteina, e avviene un processo chiamato **TRASCRIZIONE**, e otteniamo un **mRNA** che mi dà l'informazione solo di quella proteina, l'**mRNA** esce dal nucleo, va nel citoplasma, leggo ciò che c'è scritto nell'**mRNA** e faccio un processo di **SINTESI PROTEICA (TRADUZIONE)**, traduzione perché traduco. A livello di **RNA e DNA** ho la lingua delle basi azotate, nelle proteine ho gli **AMINOACIDI**, ogni aminoacido codifica una tripletta, quindi traduciamo il linguaggio di basi azotate in linguaggio di proteine.

Il **DOGMA CENTRALE DELLA BIOLOGIA** dice che nel **DNA** ho l'informazione per una proteina a livello del gene, io la trascrivo in mRNA, nel citoplasma a livello dei ribosomi, l'**mRNA**, verrà utilizzato come messaggio per sapere come costruire quella proteina. Questi sono fattori di trascrizione, sono proteine che si legano a livello del DNA, in particolare a livello del punto di regolazione di un gene e favoriscono la trascrizione dello stesso, nel citoplasma avrò la sintesi di quella proteina, quindi di proteine che sono associate con il muscolo, all'inizio non direttamente la miosina, però alcuni di questi servono anche per descrivere la **MIOSINA SARCOMERICA**. Qui siamo già ad un livello che ci permette di avere tutto il corredo della cellula muscolare scheletrica. Queste sequenze regolatorie per quanto riguarda i fattori di trascrizione miogenica sono **EBOX**, hanno una sequenza caratteristica come basi, la sequenza che deve contenere questi **EBOX**, deve avere una **CITOSINA, ADENINA, NN (QUALSIASI BASE VA BENE)**, le due centrali possono essere di qualsiasi tipo, **TIMINA E GUANINA**, questo è l'ebox, quindi la sequenza che viene riconosciuta, il fattore di regolazione si lega in genere non da solo ma insieme ad un altro e attiva la trascrizione di quel gene. Agiscono come fattori di trascrizione, ciò significa che legano nella regione di regolazione e fanno sì che il gene viene trascritto.

Nella cellula del miotomo, si producono questi fattori che attiveranno la trascrizione, oltre a questi fattori di regolazione miogenica, il processo è molto complesso, quindi entrano in gioco una serie di altri fattori, prenderemo in considerazione solo quelli di regolazione miogenica.

Oltre a questi agiscono i **FATTORI DI CRESCITA**, come per esempio **TGF-BETA (TRASFORMIN GROWTH FACTOR)** è un fattore di crescita che ha effetto INIBITORIO sul differenziamento muscolare, mentre **l'IGF-1 (INSULIN GROWTH FACTOR)**, può essere un ormone ma anche un fattore di crescita. La differenza sta nel fatto che gli ormoni vengono prodotti dalle ghiandole, e rilasciati nel sangue, vanno in un organo bersaglio e stimolano una certa risposta, i fattori di crescita, non finiscono nel sangue, vengono liberati a livello locale, una volta che colpiscono una cellula stimolano una certa risposta però **NON VIAGGIANO NEL SANGUE!** L'IGF-1 è un ormone prodotto dal fegato, però può essere rilasciato a livello locale, per esempio è un fattore molto importante per la **RISPOSTA MUSCOLARE**, non solo quello sistemico ma anche quello che è rilasciato a livello locale, perché se ho determinati stimoli a livello muscolare avrò il rilascio di una forma locale che dura poco rispetto a quella sistemica, ma che è direttamente connessa con lo stimolo prodotto e agisce nel punto esatto, non è un effetto sistemico, però è un effetto connesso con l'attività muscolare.

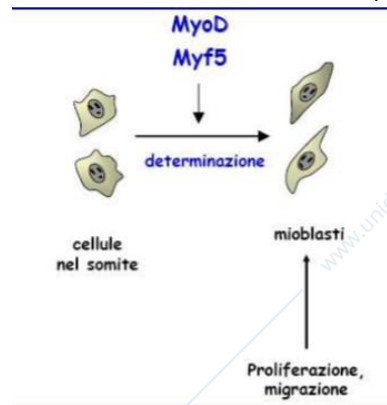
L'IGF-1 stimola il differenziamento muscolare, un processo che richiede diverse molecole che vanno bilanciate tra di loro, quindi bisogna avere anche delle sostanze che inibiscono, è giusto bilanciare, c'è un bilanciamento con queste sostanze che vengono liberate e che mi permette di favorire il differenziamento muscolare, ci sono cose che favoriscono, ma in realtà ci vogliono anche cose che inibiscono anche in vari processi, per evitare che il processo vada avanti senza controllo.

## 2° lezione - 26.10.2021

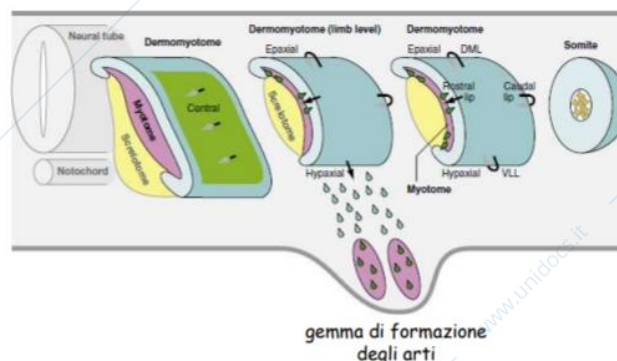
Cosa succede a **livello cellulare**? Le **cellule precursori** presenti nel **miotomo** vanno incontro ad una successione di eventi estremamente regolati che hanno come risultato finale la formazione delle fibre muscolari.

Fasi del processo di differenziamento muscolare: 1) Determinazione 2) Proliferazione (e migrazione → spostamento delle cellule) 3) Differenziamento → la cellula comincia ad esprimere le caratteristiche-proteine tipiche del muscolo 4) Fusione cellulare → sono mononucleate poi diventa polinucleata solo nel risultato finale (sincizio cellulare).

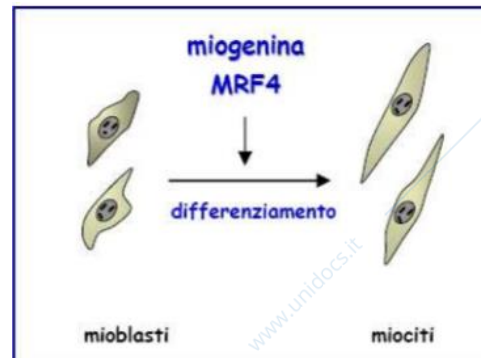
- 1. DETERMINAZIONE** È il processo attraverso il quale le cellule precursori vengono indirizzate nella linea miogenica, cioè a cellule muscolari. Le cellule divengono mioblasti capaci ancora di proliferare ma destinati a differenziare solo cellule muscolari. Questo processo è legato all'espressione di 2 fattori di regolazione miogenica precoci: MyoD e Myf5. **CELLULA SOMITE → MIOBLASTO** (Cellule ancora proliferativo → blasto).



- 2. PROLIFERAZIONE (E MIGRAZIONE):** I mioblasti proliferano in modo da umentare il loro numero. Per formare la muscolatura degli arti alcune cellule presenti nel dermomiotomo migrano nel punto in cui si svilupperà l'arto (gemma di formazione degli arti → **muscolatura degli arti**).



3. **DIFFERENZIAMENTO:** Questa fase è legata all'espressione degli altri 2 MRF (fattori di regolazione miogenica): **miogenina e MRF4**. In risposta a questi fattori le cellule smettono di proliferare, esprimono i geni muscolo specifici e producono le proteine muscolo-specifiche. Le cellule vanno così ad assumere le caratteristiche morfologico-biochimiche tipiche delle cellule muscolari scheletriche. In questa fase si ha l'arresto della proliferazione: i mioblasti smettono di dividersi e si bloccano nella fase G0-G1 del ciclo cellulare. Tale processo è legato all'espressione di fattori che bloccano il ciclo cellulare. Il blocco del ciclo cellulare è fondamentale per il differenziamento: **si blocca la proliferazione** → più una cellula è specializzata più si riduce la sua capacità di proliferarsi. Si passa ad una cellula muscolare scheletrica ben definita, con tutte le sue caratteristiche, NON sono ancora una fibra muscolare perché sono ancora mononucleate.  
**Mioblasti → miociti**



**CICLO CELLULARE:** Il ciclo cellulare comprende l'interfase e la mitosi. L'interfase, che occupa il 90% del ciclo cellulare, è suddivisa in 3 diverse fasi:

- fase G1, è la fase che segue la mitosi e precede la replicazione del DNA, la cellula è in accrescimento e sintetizza proteine → da 1 cellula ottengo 2 cellule con stesso patrimonio genetico;
- fase S, fase di sintesi in cui viene duplicato il DNA cellulare, per dividere il nuovo;
- fase G2, preparazione alla divisione, la cellula si prepara alla mitosi (la cellula qui si divide).

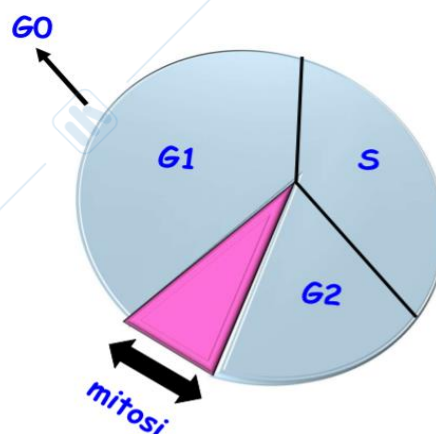
In G0 le cellule sono metabolicamente attive, ma non proliferano → la cellula qui è fuori dal ciclo cellulare, non si duplica più, con il passare del tempo delle cellule che si bloccano in G1, dopo un po' di tempo passano a G0 → cellule post-mitotiche non hanno più la capacità di dividersi.

Cellule si bloccano in G1, non passano il controllo tra G1 e S e dopo escono e vanno in G0 senza duplicarsi.

La progressione attraverso il ciclo è regolata da diversi fattori a livello di punti di controllo (checkpoint) localizzati (si replica il patrimonio genetico solo se ci sono le condizioni ideali): - a livello del passaggio tra fase G1 e S; - a livello del passaggio tra fase S e G2 (subito prima della mitosi, vedere se non ci sono delle alterazioni); - alla fine della mitosi (evitare discendenza alterata).

Le principali proteine di controllo sono le cicline e le protein chinasi ciclina-dipendenti (CDK).

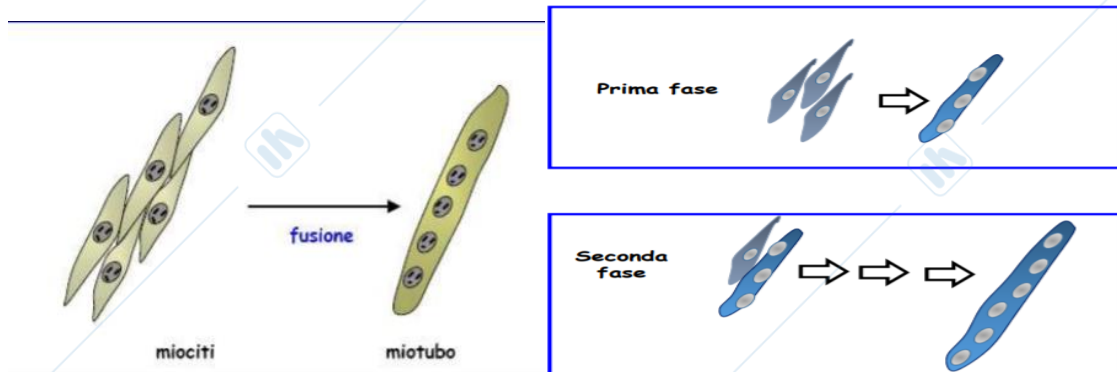
Vi sono inibitori in grado di bloccare il complesso ciclina-CDK, ad esempio proteina p21 e p27.



**4. FUSIONE CELLULARE:** I miociti mononucleati si fondono tra loro dando origine a cellule plurinucleate (sincizi) chiamati miotubi. Dalla loro maturazione prendono origine le fibre muscolari.

**MIOCITI → MIOTUBO → FIBRE MUSCOLARI**

Step del processo di fusione: contatto, riconoscimento tra cellule, adesione, allineamento, fusione membrana.



1° fase → tanti miociti che si fondono e fondano i miotubi;

2° fase → miotubi piccolini + altri miociti che non si sono fusi tutti insieme → fusione tra miotubi e miociti → miotubo si ingrandisce sempre di più, processo graduale che avviene pian piano, arrivano cellule specializzate con calma per far sì che i miotubi si ingrandiscono, devo avere un meccanismo che faccia sì che il citoplasma diventi comune: le cellule devono prendere contatto tra di loro, tramite le proteine di adesione e le cellule si devono riconoscere: che siano 2 miociti e che si riconoscano per svolgere la fusione, dopo di che avviene una adesione maggiore tra le 2 cellule, poi ho l'allineamento tra 2 membrane e infine la fusione della membrana.

Se non c'è riconoscimento NON fondono. Le cellule più sono vicine e più si riconoscono meglio è.

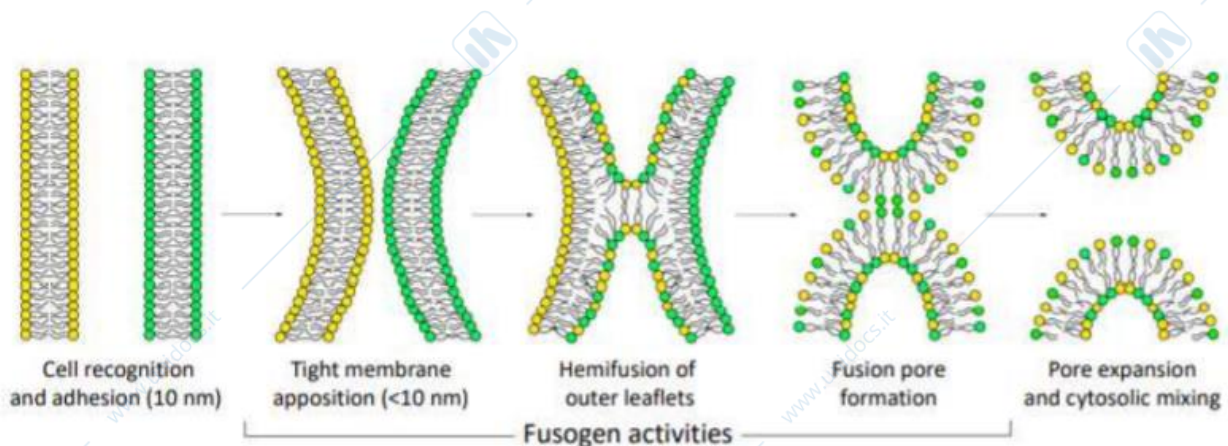
Il processo di fusione prevede che le cellule siano molto vicine tra loro, i monostrati esterni del sarcolemma delle due cellule fondono, i lipidi si mescolano e si forma un intermedio instabile, successivamente si forma un polo di fusione che si espande all'interno delle porzioni fuse completando il processo.

Tra le 2 membrane c'è lo spazio di 10nm → dopo il riconoscimento avviene fusione vera e propria, lo spazio poi si riduce e arrivo a circa 2nm qui le membrane quasi si toccano.

Emifusione dei monostrati ossia dei foglietti esterni, i foglietti interni sono ancora uguali → polo di fusione, attraverso delle proteine che formano questo polo che fanno sì che anche gli emifoglietti interni si fondano l'uno con l'altro → dopo di che i 2 poli sono formati, si allargano e si allontanano e interviene il citoplasma → membrana comune per tutte e 2 le cellule.

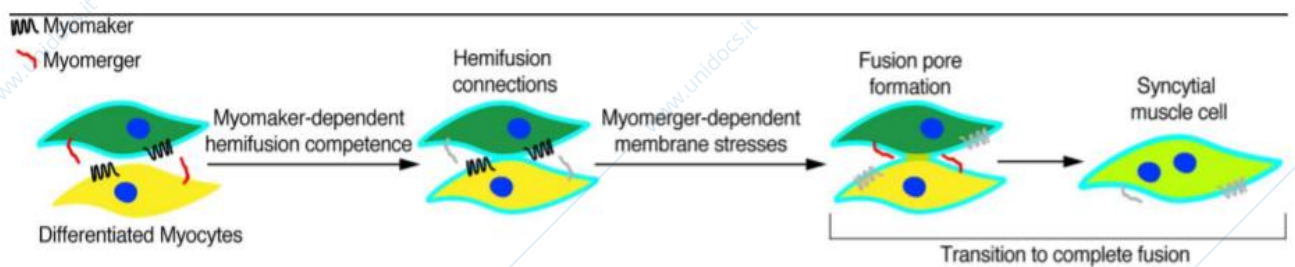
Il processo coinvolge diverse molecole: ioni calcio, lipidi, proteine che regolano il contatto tra cellule (caderine, integrine ecc.) si trovano sulla membrana plasmatica e permettono l'adesione con la matrice, proteine fusogeniche, proteine citoscheletriche e proteine coinvolte nel rimodellamento del citoscheletro.

Tra i lipidi è molto importante la fosfatidilserina (PS), presente normalmente nel monostrato interno del sarcolemma, che, in questa situazione, si sposta nel monostrato esterno e viene riconosciuta da recettori presenti sull'altra cellula → è uno dei fattori che innesca il processo di fusione.

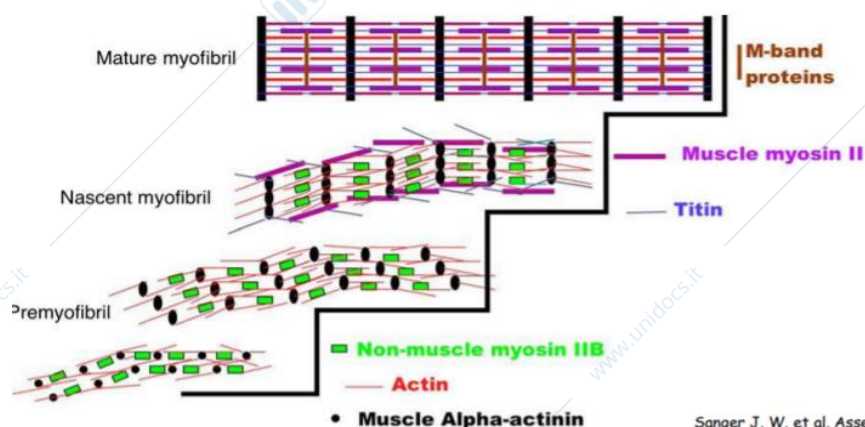


Le principali proteine fusogeniche (fanno sì che l'emifusione e la formazione del polo avvenga) coinvolte sono:

- Myomaker = proteina di membrana, coinvolta nell'attivazione della competenza per la fusione e nel mescolamento dei lipidi di membrana, proteina che media le 1° fasi, le cellule diventano capaci di fondere lo spazio più esterno della membrana, far fondere gli strati esterni della membrana plasmatica;
- Myomerger = proteina di membrana, con attraversamento singolo della membrana plasmatica, coinvolta nella formazione del polo di fusione e nella sua espansione, avviene successivamente dopo che i 2 strati sono già stati fusi, ma interviene nella formazione del polo di fusione per far sì che avvenga devi stressare le 2 strutture per permettere di far fondere anche i foglietti esterni, poi questo polo si allarga sempre di più fino ad ottenere un sincizio di cellule muscolare → permette la transizione fino alla fusione completa tra le 2 cellule.
- Altre proteine importanti sono le ferline, in particolare disferlina che interagisce con myomerger ed è coinvolta nei processi di riparazione della membrana, azione di "cucitura" della membrana, controlla e va a "riparare" dei danni alla membrana.

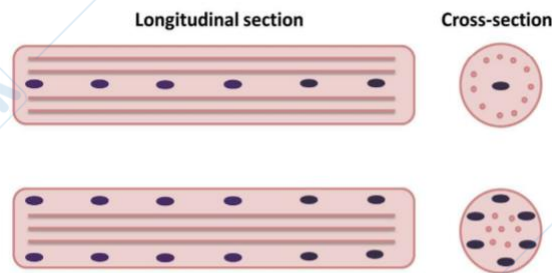


- Successivamente avviene un processo di maturazione che prevede, ad esempio, un riarrangiamento del citoscheletro per organizzare la struttura delle miofibrille nella nuova cellula. Mettendo insieme più cellule dovrà riorganizzare la struttura del sarcomero. Per la formazione delle miofibrille interne → **Miofibrillogenesi**: prevede la formazione della fibra matura; su ogni miofibrilla ho tanti sarcomeri in serie: 1° dello stadio di miofibrilla matura → **pre-miofibrilla** dove è presente l'actina del sarcomero, ho una miosina, non muscolare, di tipo IIB e al posto dei dischi Z ho i corpi Z, è presente l'alfa actinina; questa miofibrilla pian piano diventa più grande, ho un allineamento della struttura dove poi si passa alla **miofibrilla nascente**, i corpi z cominciano ad allinearsi, ho sempre l'actina ed entra in gioco la **titina**: proteina strutturale, ruolo: di organizzatore della struttura per creare il sarcomero, funzione strutturale, miosina muscolare II, nella struttura della miofibrilla comincia ad inserirsi la miosina muscolare facendo scomparire la miosina di tipo IIB tutto questo porta alla creazione dei dischi z che conterranno l'alfa actinina, che si uniscono in una struttura unica, si creano i **sarcomeri** con le proteine della **banda-M**, punti di divisione a metà del sarcomero con questa banda, composta da proteine caratteristiche, filamenti spessi ancorati alla linea centrale e allineati ai filamenti sottili di actina, la titina da quando è comparsa ha aiutato a creare la miofibrilla con tutti i sarcomeri adiacenti, questo inizia già nella fase di differenziamento ma ho bisogno di avere una struttura fusa da disordinata ad una struttura matura;



Sanger J. W. et al. Asser

Inoltre inizialmente i nuclei sono allineati al centro, successivamente si spostano vicino alla membrana plasmatica in posizione periferica. Quando la struttura è matura i nuclei si trovano al centro della struttura nella sezione trasversale vedrò le miofibrille e il nucleo come se fosse uno solo, ma man mano che vado incontro ad un processo di maturazione, i nuclei si spostano verso la periferia



Questo primo evento di **miogenesi** (miogenesi **primaria**) produce lo schema base dei muscoli del corpo. Si verifica poi un altro evento di miogenesi (**miogenesi secondaria**) responsabile della crescita della massa muscolare sia in termini di numero di fibre che di dimensioni.

Le cellule satelliti mi permettono di svolgere un processo analogo e di rendere le fibre muscolari più grandi e di avere quindi un processo di accrescimento muscolare.

**CELLULE SATELLITI MUSCOLARI:** Sono cellule staminali adulte tessuto-specifiche localizzate tra la lamina basale e il sarcolemma delle fibre muscolari. Possibile distinguere 2 membrane plasmatiche quelle della cellula satellite e dell'altra cellula, citoplasma e nucleo. Staminali → cellule non specializzate, capaci di proliferare, autorinnovarsi e di dare origine a cellule specializzate. Ma hanno capacità minori di dare origine a dei tessuti, come singoli tessuti o alcune multipotenti che possono dare più tessuti → cellule mesenchimali del sangue ma molto più rispetto a quelle embrionali, sono cellule tessuto-specifiche. Di solito generano cellule muscolari e poi fibre muscolari. Cellule satellite derivano dalla sua posizione → tra la lamina basale e il sarcolemma, sono **indipendenti** dalla cellula muscolare scheletrica, ma sono a stretto contatto.

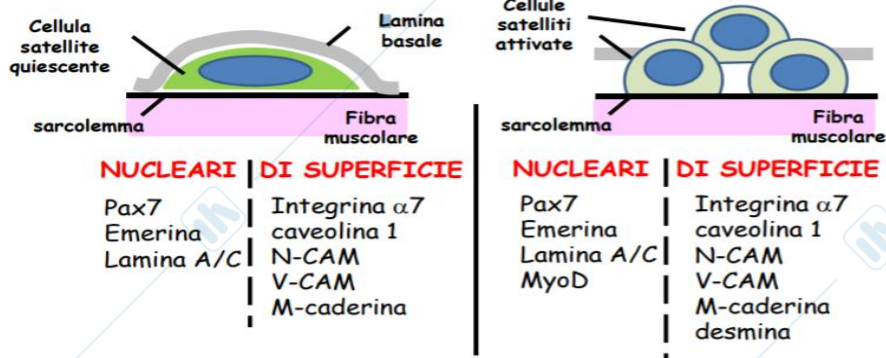
Normalmente sono quiescenti, e si presentano come piccole cellule mononucleate, fusiformi con un alto rapporto nucleo/citoplasma e pochi organelli. Sono presenti in tutti i muscoli scheletrici, sembra che le fibre di tipo I ne contengano un numero maggiore. Nel periodo neonatale sono molto proliferative.

Il loro numero diminuisce nel corso della vita.

In certi momenti è importante che vengano attivate, incominciano ad avere un metabolismo più attivo e si dividono, le 2 cellule che ottengo ritornano quiescenti, così mantengono il loro numero.

Possono anche attivarsi, aumentare di numero e differenziarsi: formare una nuova fibra muscolare → rigenerazione o riparare una fibra danneggiata, o aumentare la grandezza della fibra → adattamento all'attività di potenza e quindi accrescimento muscolare, esso coinvolge le cellule satelliti → unico modo per aumentare il numero di nuclei è così

## Markers delle cellule satelliti



**Pax 7** = fattore di trascrizione, marker più importante per le cellule satelliti, è espresso in entrambe le forme: quiescenti e attivate.

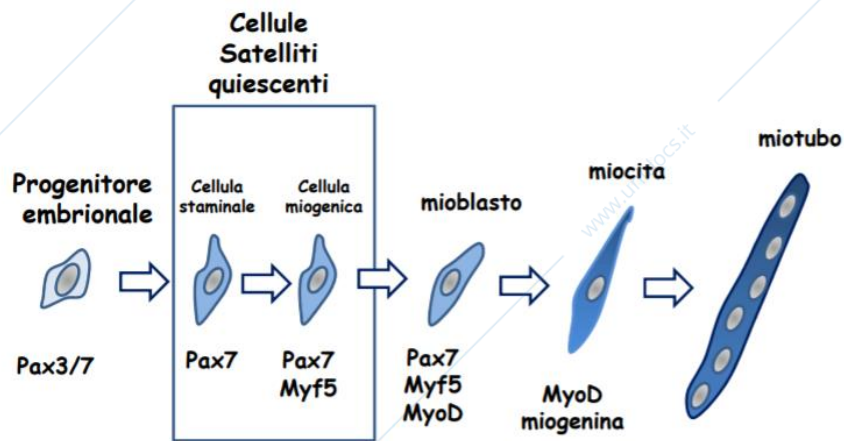
**MyoD** = uno dei fattori di regolazione miogenica, di trascrizione, è legato all'inizio delle fasi di differenziamento, può salire l'espressione di MyoD e far avvenire la replicazione ma poi crolla senza differenziazione, se invece rimane alto le cellule si differenziano – solo nelle cellule attivate.

Sapere solo che ho delle proteine di adesione tra le cellule di superficie, compare però la **desmina** in quelle attivate = proteina muscolo specifica → citoscheletrica, molto importante per collegare diverse strutture all'interno della cellula muscolare

Le cellule satelliti derivano da una popolazione di cellule progenitrici, presenti nel dermomiotomo dei somiti, che esprime i geni PAX3 (più precoce del 7) e PAX7, ma non esprime i fattori di regolazione miogenica.

Pax3 viene perso.

Nel feto queste cellule acquistano le caratteristiche delle cellule satelliti e la localizzazione sublaminare: sotto la lamina basale.



Possono o rimanere quiescenti oppure quando interviene MyoD possono moltiplicarsi e poi bloccarsi o andare a differenziarsi diventando un miocita e poi miotubo e dare origine a cellule muscolari scheletriche.