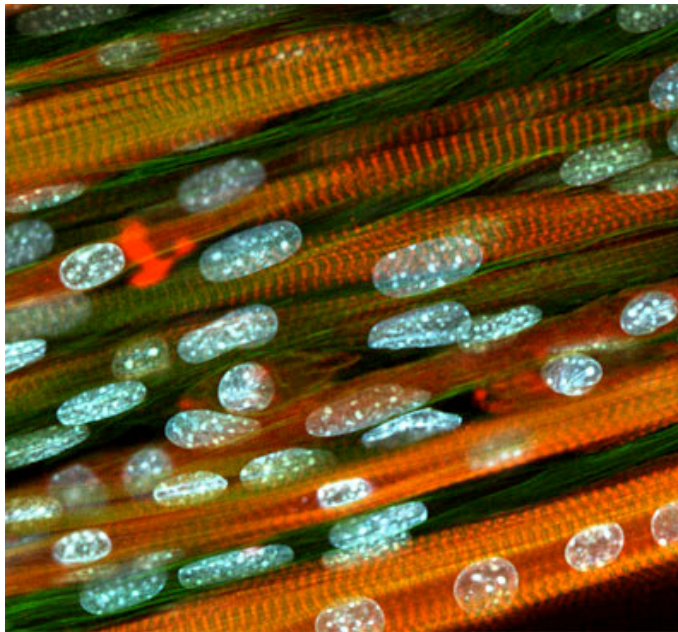


DIFFERENZIAMENTO DELLE CELLULE MUSCOLARI



Testi di riferimento:

Alberts B. et al. "Biologia molecolare della cellula"- Ed. Zanichelli

Gilbert S.F. "Biologia dello sviluppo"- Ed. Zanichelli

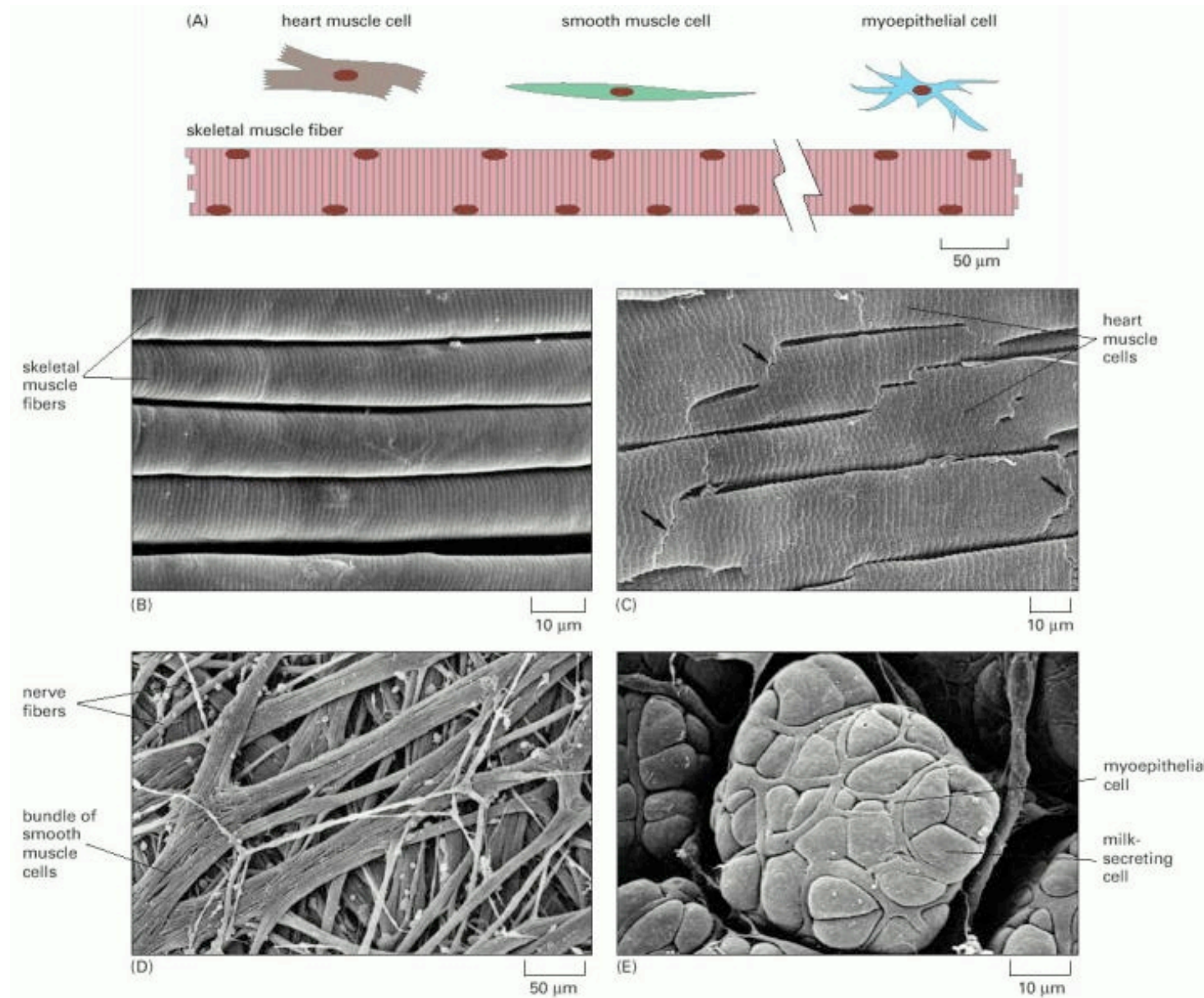
COS'E' UNA CELLULA MUSCOLARE?

Una cellula muscolare è una cellula specializzata per la contrazione, in cui, quindi, l'apparato contrattile risulta particolarmente sviluppato.

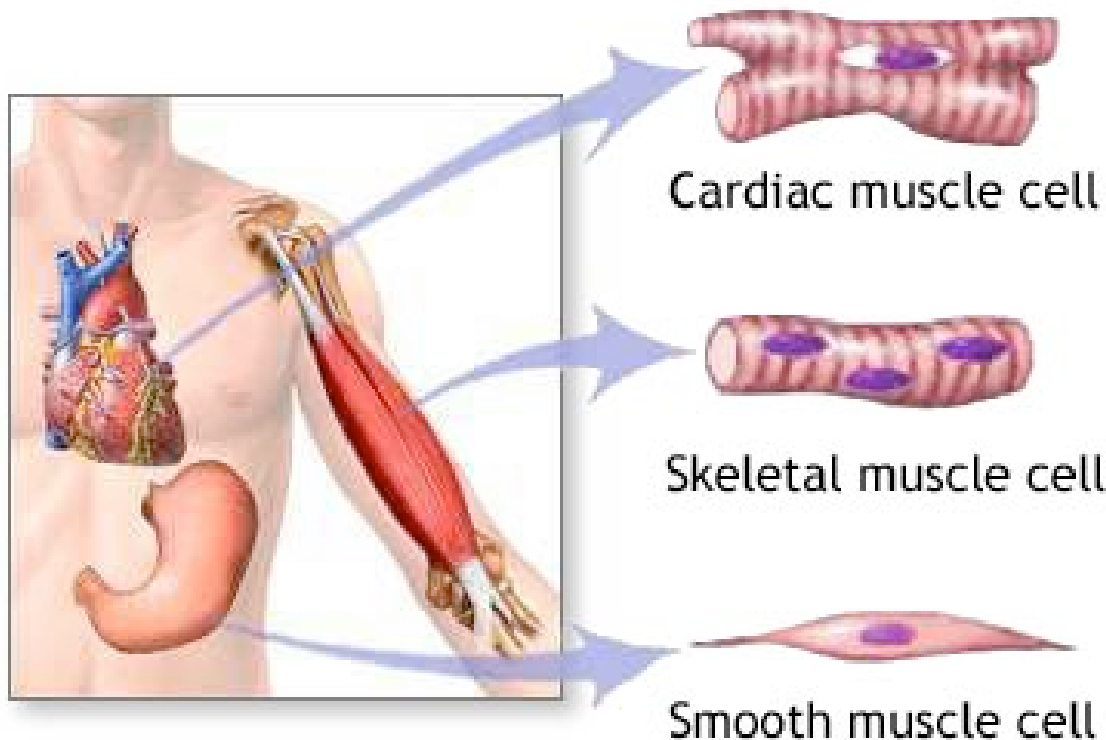
I mammiferi possiedono 4 tipi diversi di cellule muscolari:

- **muscolari scheletriche;**
 - **muscolari lisce;**
- **muscolari cardiache;**
 - **mioepiteliali.**

I 4 TIPI DI CELLULE MUSCOLARI DEI MAMMIFERI



I 4 TIPI DI CELLULE MUSCOLARI DEI MAMMIFERI

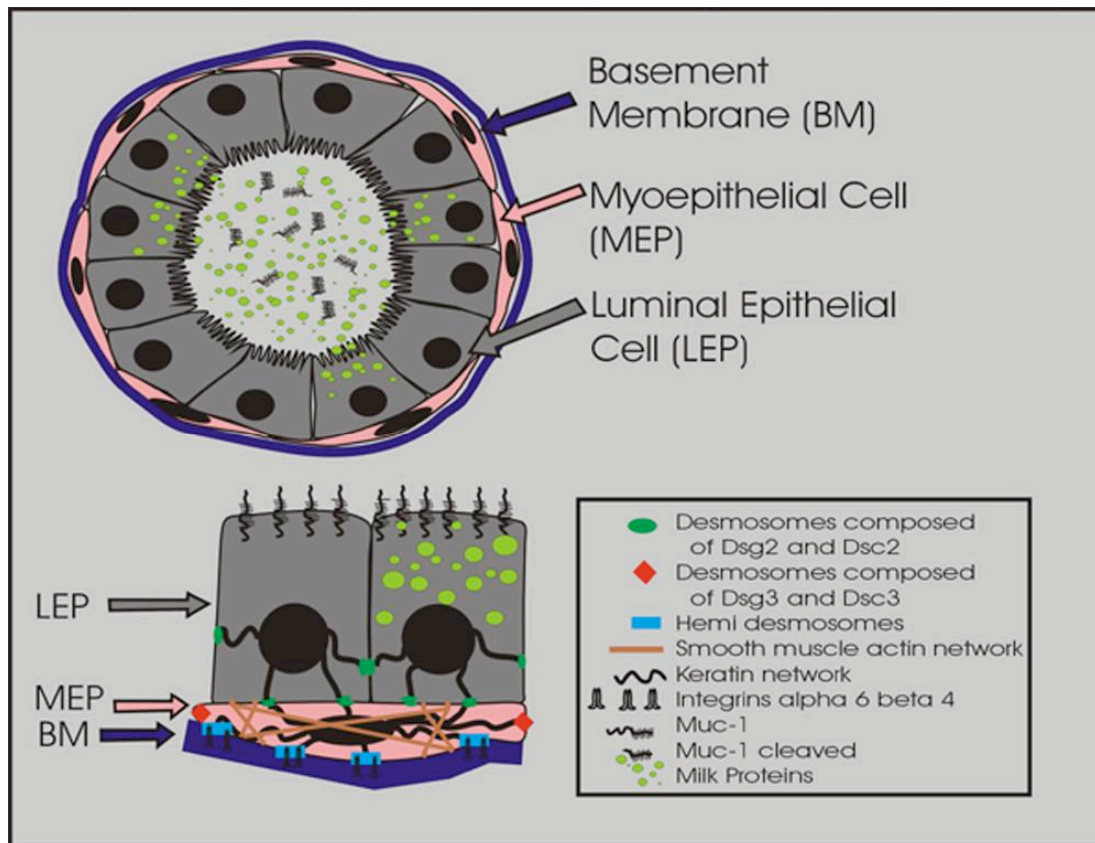


Le c.m. cardiache caratterizzano il tessuto cardiaco e presentano un'organizzazione strutturata di actina e miosina.

Le c. m. scheletriche sono responsabili dei movimenti volontari. Possono essere molto grandi e lunghe (cm) e sono sincizi.

Le c.m. lisce determinano la contrazione involontaria di molti organi e non appaiono striate.

CELLULE MIOEPITELIALI

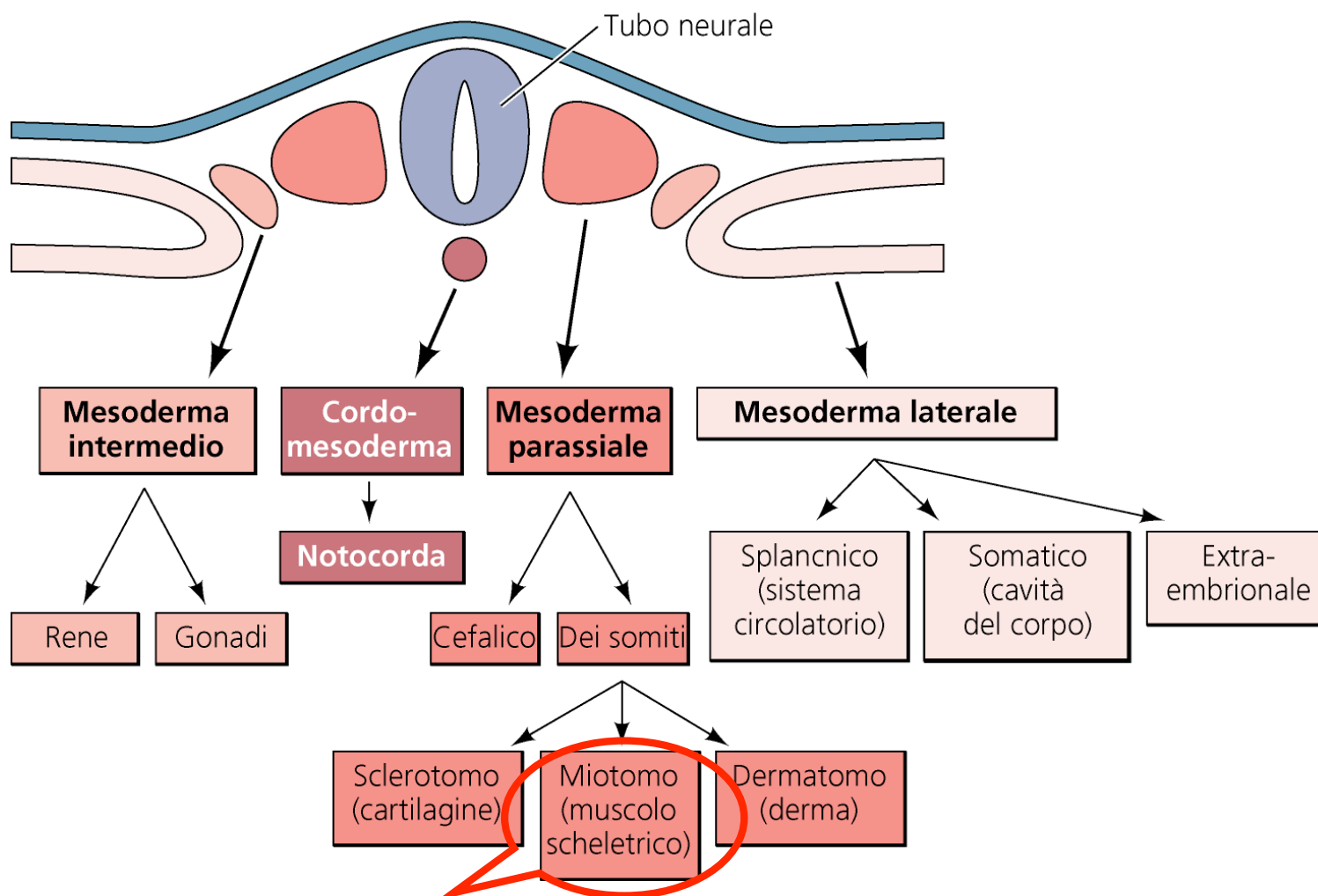


Breast Cancer Research

Le cellule mioepiteliali si trovano negli epiteli dove permettono la secrezione delle ghiandole e la dilatazione dell'iride.

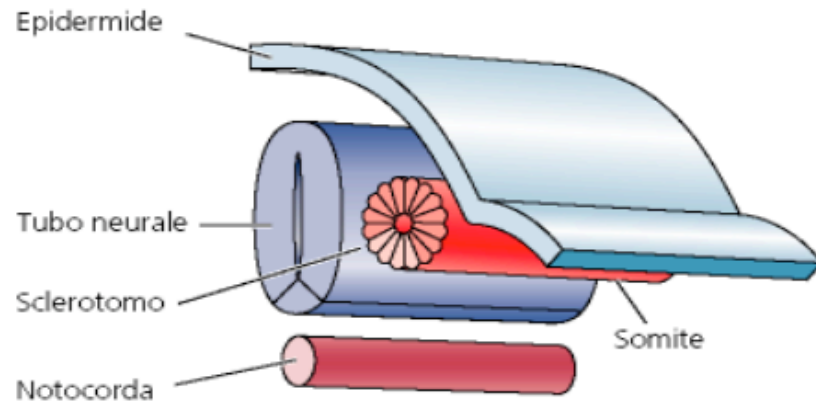
Differentemente dagli altri tipi di cellule muscolari, le mioepiteliali derivano dall'ECTODERMA.

ORIGINE EMBRIONALE DELLE CELLULE MUSCOLARI

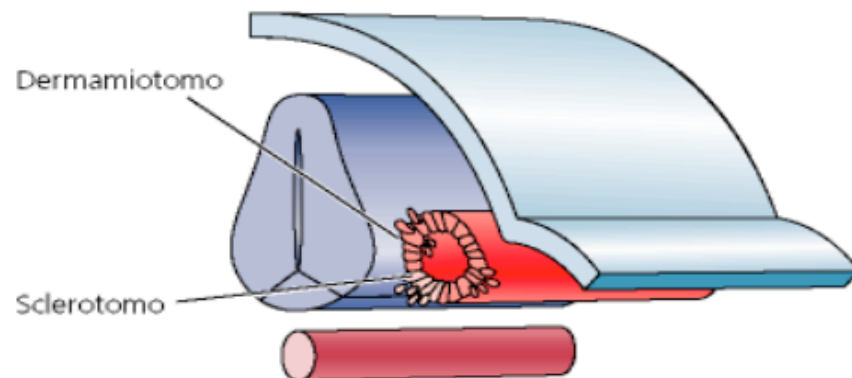


I DERIVATI DEL SOMITE

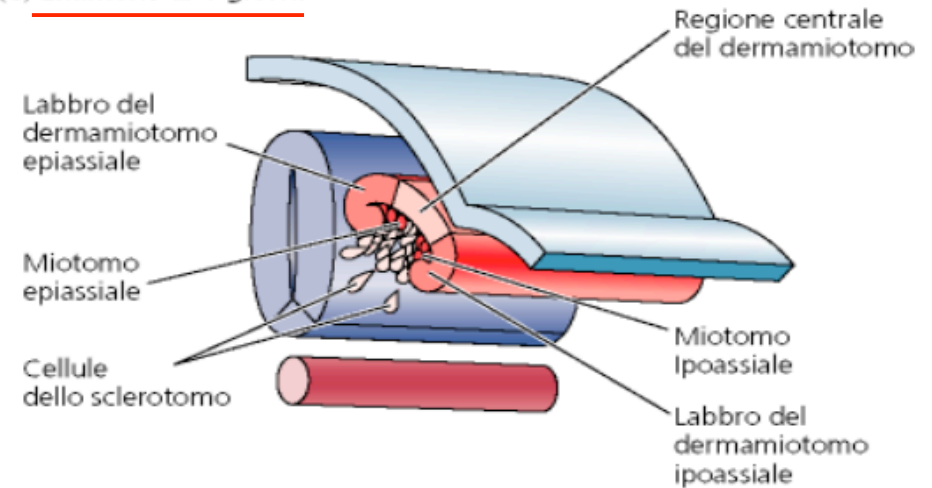
(A) Embrione di 2 giorni



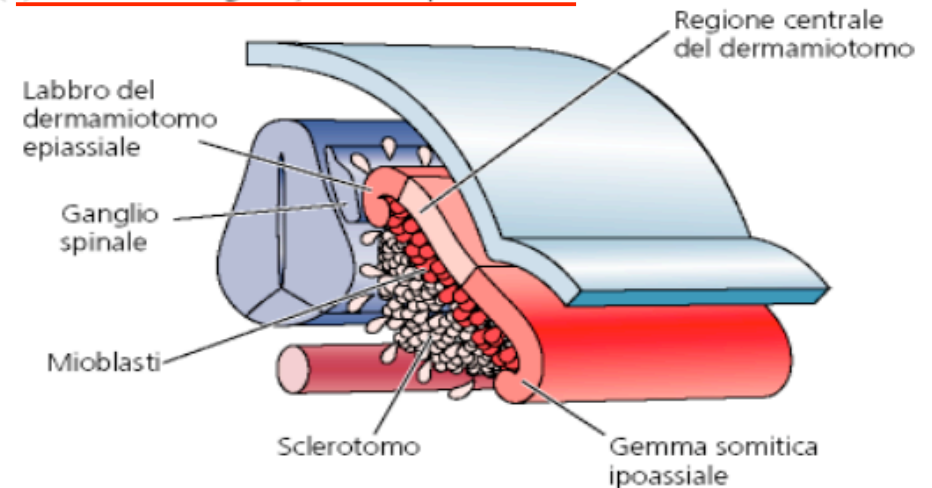
(B) Embrione di 3 giorni



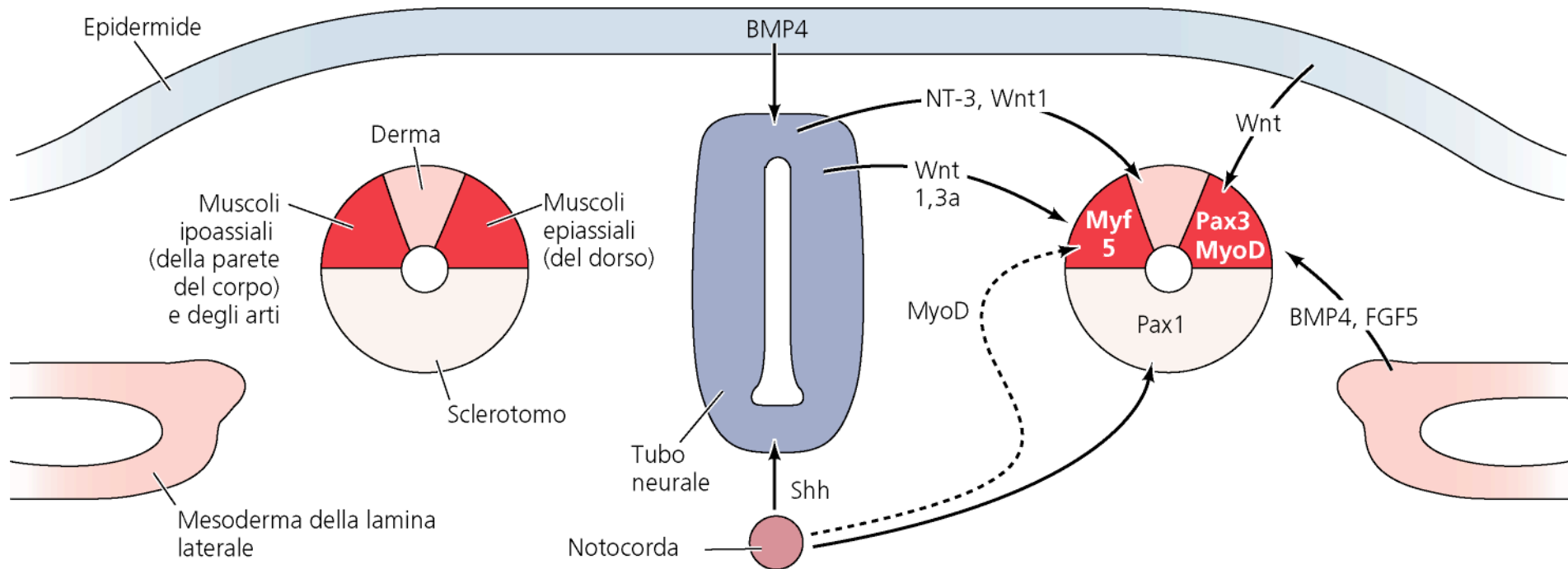
(C) Embrione di 4 giorni



(D) Embrione di 4 giorni, in stadio più avanzato



DETERMINAZIONE DEL MIOTOMO



Fattori paracrini di migrazione:

dal tubo neurale: Wnt1, Wnt3a, NT-3

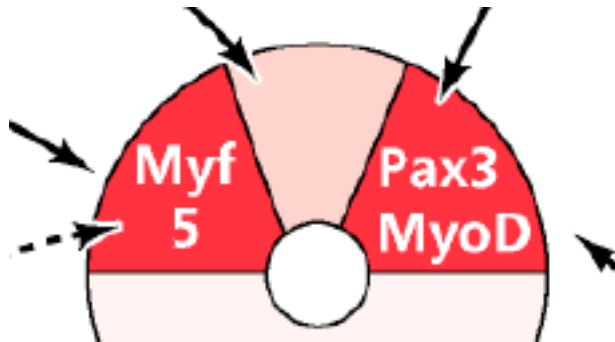
dalla notocorda: Shh

dall'epidermide: Bmp4, Wnt

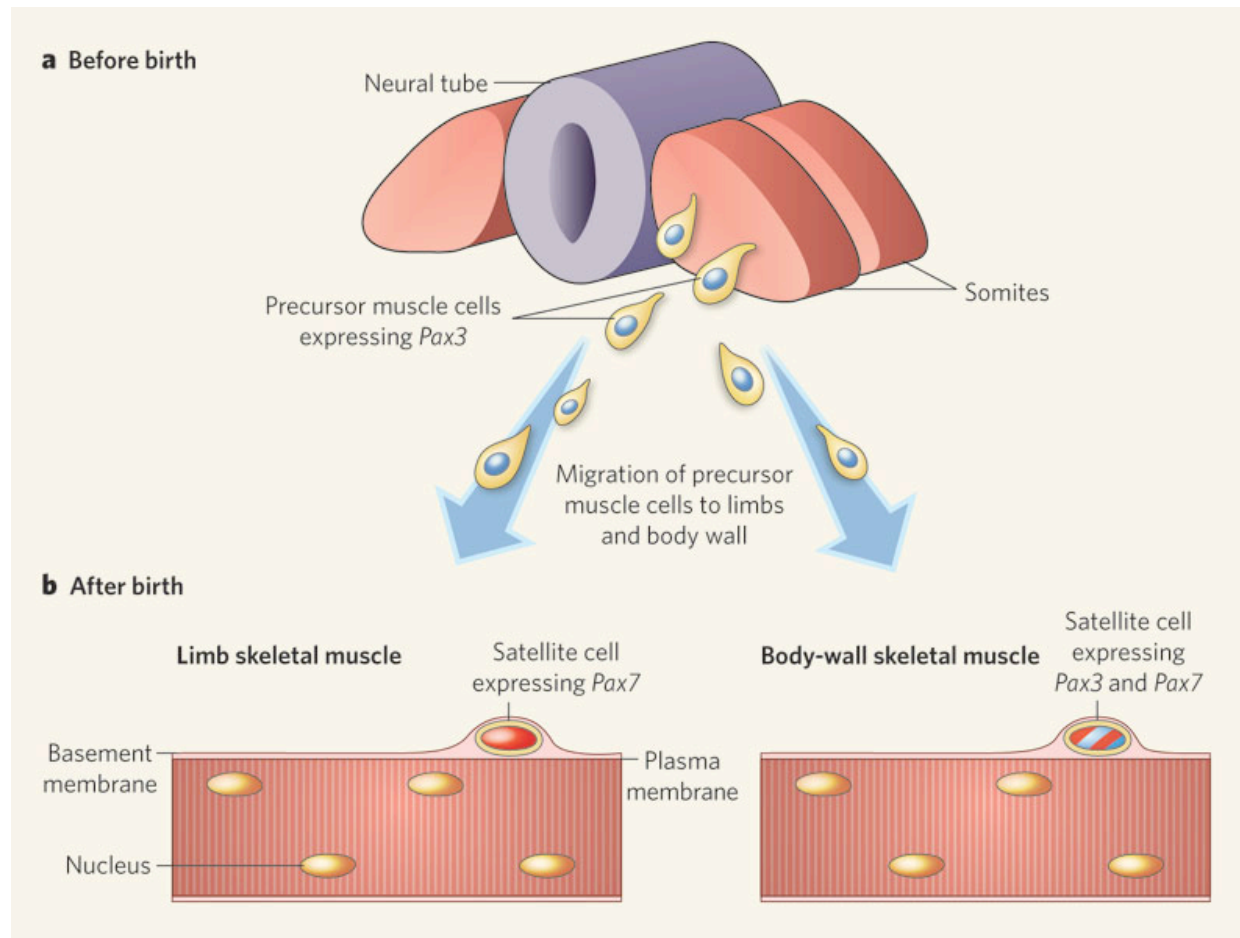
dalla lamina laterale: BMP4, FGF5

DETERMINAZIONE DEL MIOTOMO

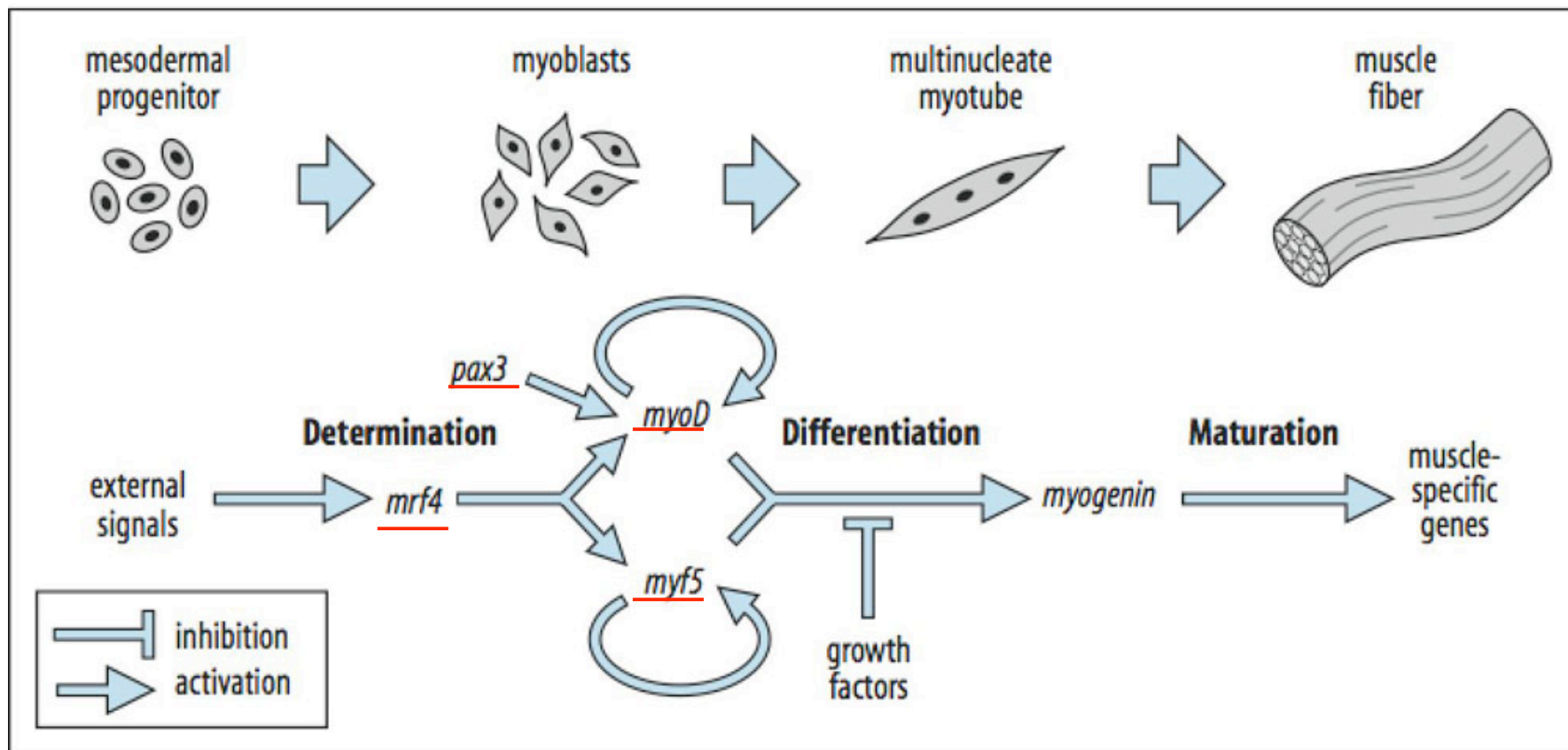
I fattori paracrini inducono i mioblasti ad esprimere la proteina **MyoD**, mediante attivazione dei fattori di trascrizione **Pax3** (nel miotomo ipoassiale) e **Myf5** (nel miotomo epiassiale) ed a migrare lontano dalla regione dorsale.



MIGRAZIONE DI MIOBLASTI



DIFFERENZIAMENTO DEL MUSCOLO SCHELETRICO



“COMMITMENT” A DIVENIRE MIOBLASTI

Almeno 2 famiglie di proteine regolatrici sono responsabili della determinazione della cellula come mioblasto:

- 1. Proteine miogeniche bHLH o MRF o “MyoD family”**
- 2. Proteine MEF2 o MADS box**

Queste 2 famiglie proteiche agiscono in concerto sia per regolare l'espressione di geni specifici del muscolo, sia per mantenere la memoria del loro “commitment”

PROTEINE MIOGENICHE bHLH o MRF

**Famiglia di fattori di trascrizione
con struttura elica-ansa-elica basica,
che si legano al DNA attivando geni specifici del muscolo:
MyoD e Myf5 ne sono un esempio**

Esempi:

MyoD attiva il gene della creatinfosfochinasi muscolo-specifica ed il gene che codifica per una subunità del recettore per l'acetilcolina.

MyoD lega anche il DNA a monte del suo stesso gene, mantenendo così elevata la propria espressione.

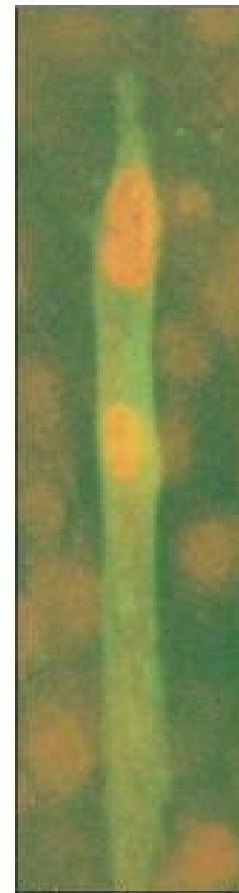
Le proteine miogeniche bHLH sono specifiche delle cellule muscolari e, se trasfettate in altri tipi cellulari in coltura, ne determinano un destino muscolare!

RUOLO DELLE PROTEINE MIOGENICHE REGOLATORIE NELLO SVILUPPO DEL MUSCOLO SCHELETRICO

Espressione indotta di
MyoD in Fibroblasti
embrionali di pollo

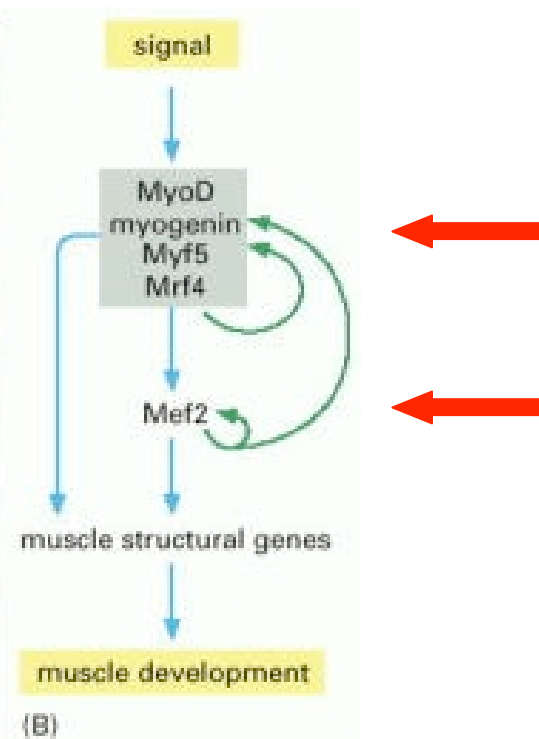
Verde: proteina muscolo-
specifica

Rosso: nuclei



(A)

20 μm

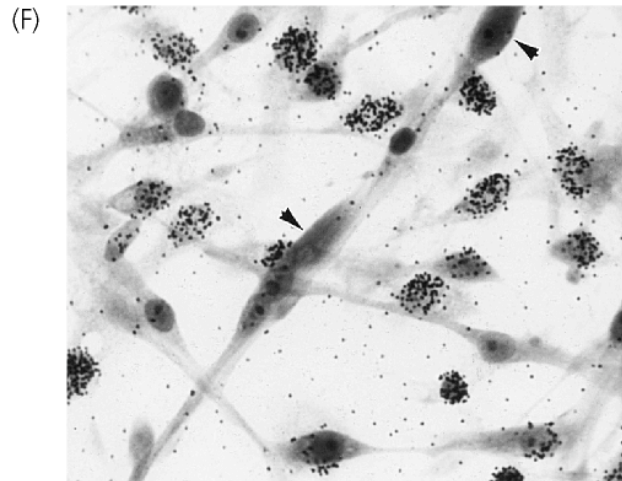
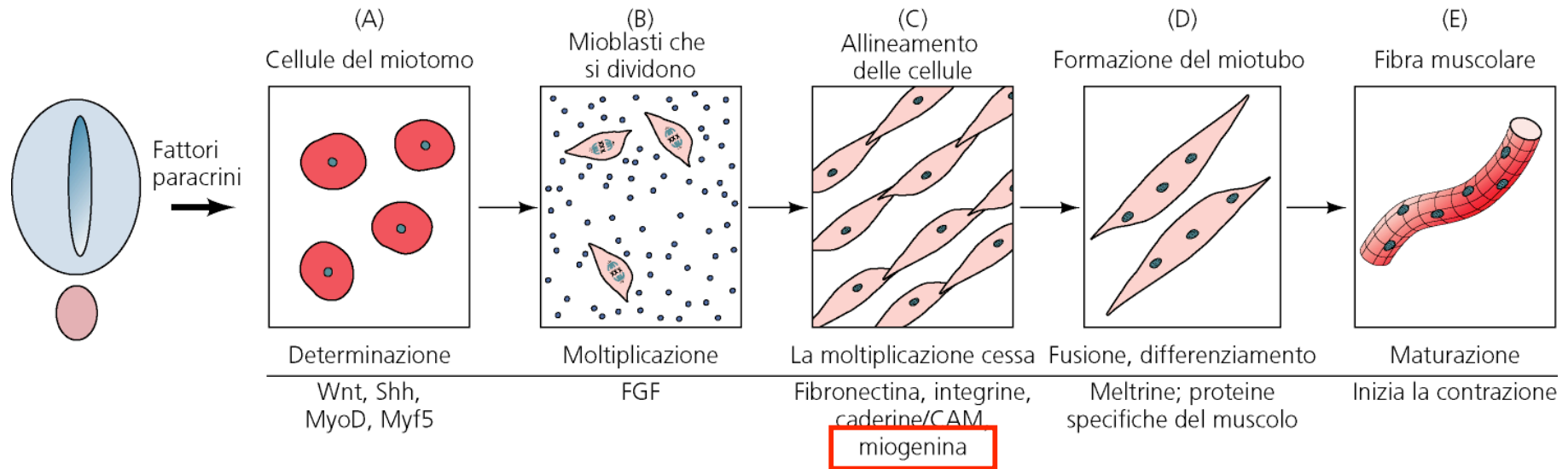


FUSIONE DEI MIOBLASTI

Dopo un periodo di proliferazione, i mioblasti si fondono formando nuove fibre muscolari

- Il cambiamento dei fattori paracrini determina l'attivazione coordinata di una batteria di geni specifici del muscolo;
- Si attua la secrezione di Fibronectina e metalloproteasi ed il riconoscimento tra molecole di adesione;
- L'impalcatura connettivale guida l'organizzazione e l'orientamento delle fibre;
- Una volta avvenuta la fusione, il DNA dei miotubi smette di replicare.

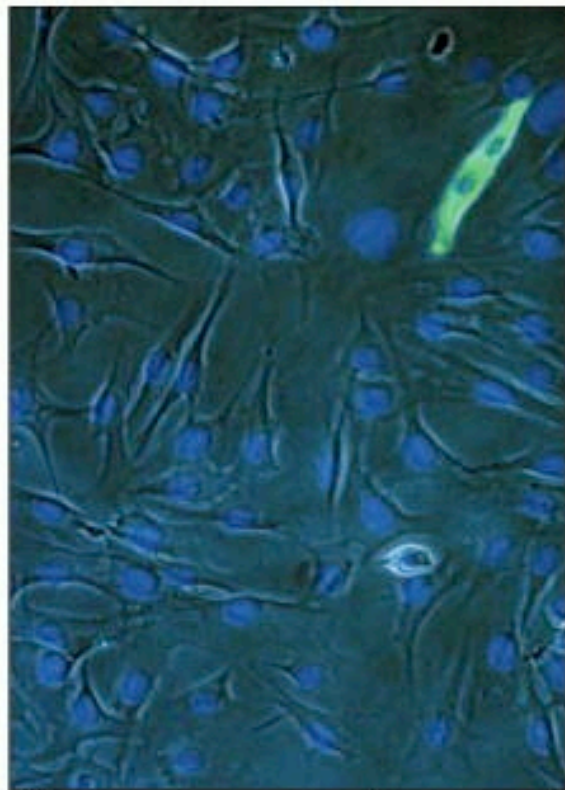
MIOGENESI DEL MUSCOLO SCHELETRICO



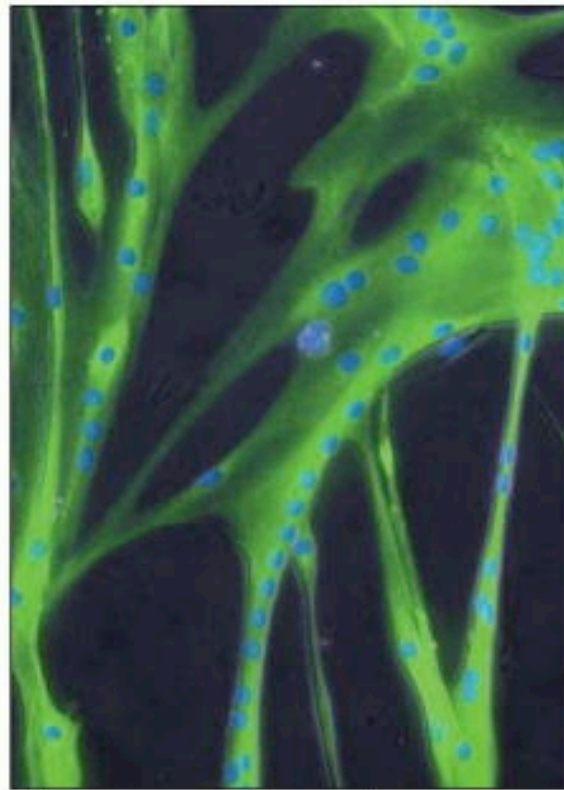
Le cellule allineate non replicano più il loro DNA

FUSIONE DEI MIOBLASTI IN CULTURA

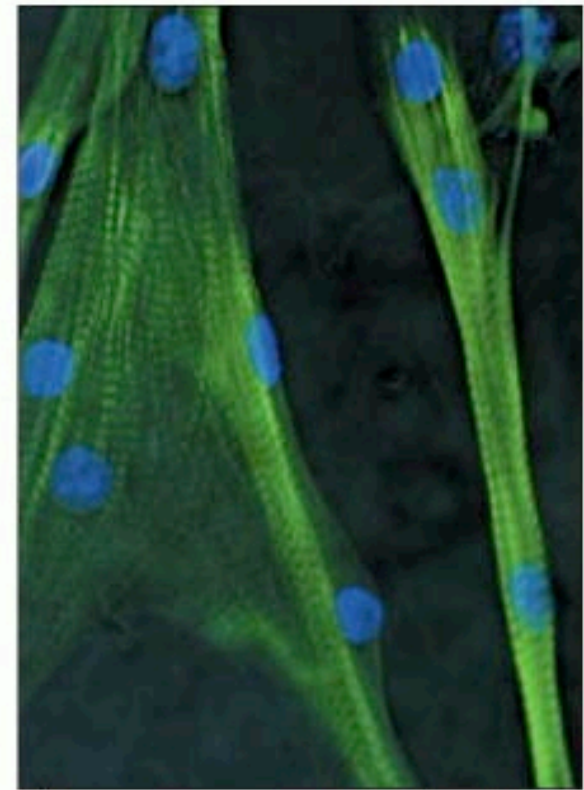
Tempo crescente in presenza dello stimolo



(A) 100 μm



(B) 100 μm

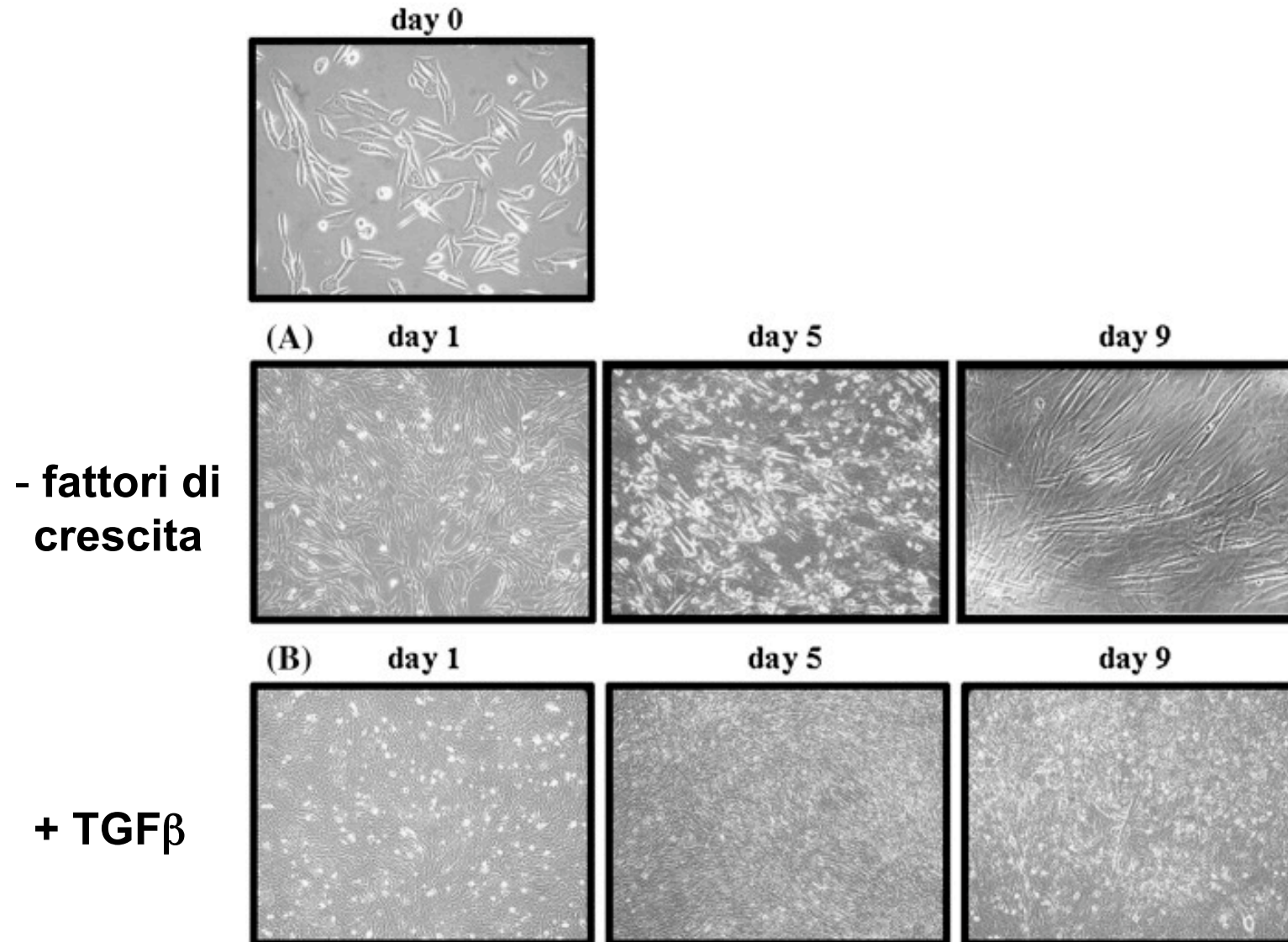


(C) 25 μm

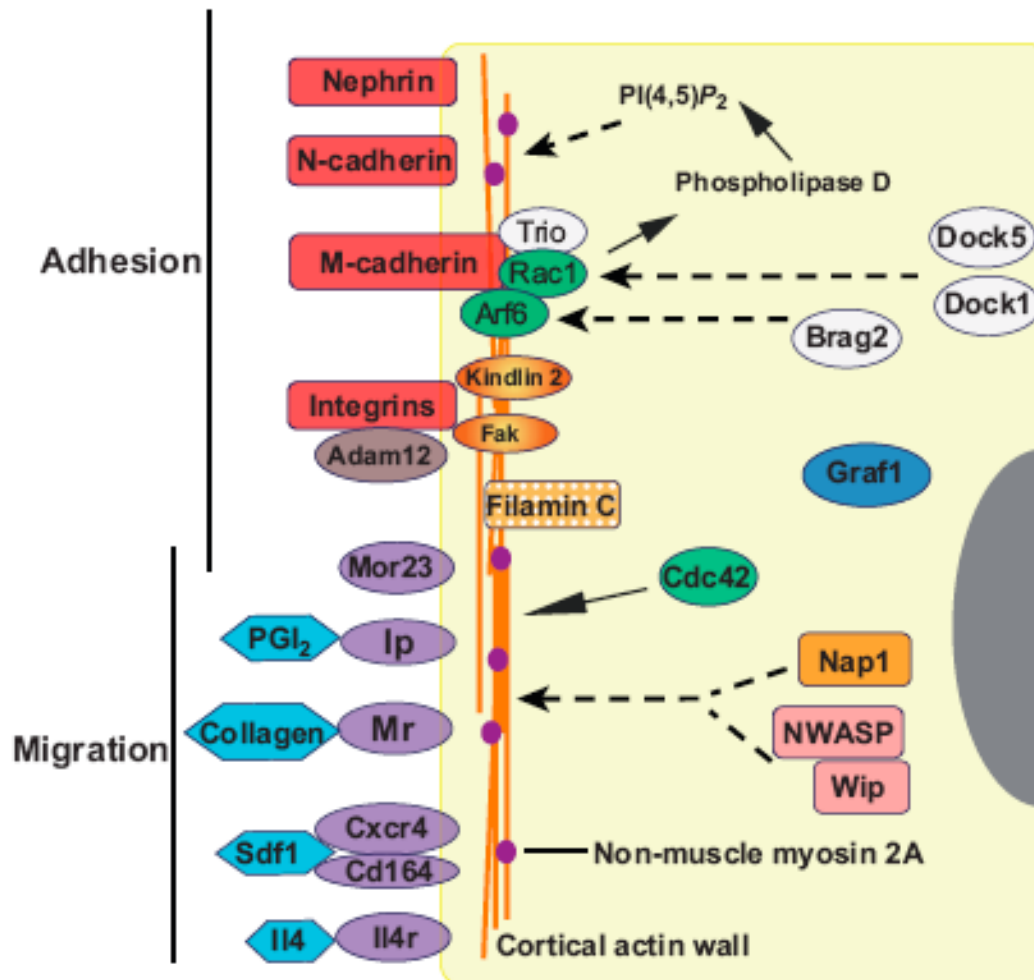
Verde: miosina

Blu: nuclei

“DIFFERENZIAMENTO” IN COLTURA



GENI E SEGNALI ASSOCIATI ALLA FUSIONE DEI MIOBLASTI NEL TOPO



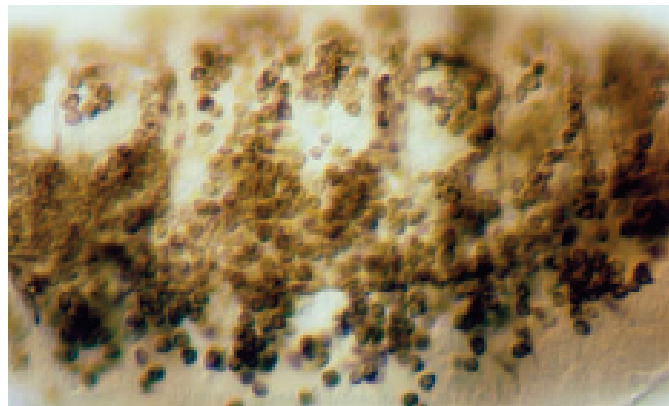
I MECCANISMI DI FUSIONE DEI MIOBLASTI SONO CONSERVATI TRA GLI EUCARIOTI

DROSOPHILA COME ORGANISMO MODELLO

B Wild-type muscle pattern



C Defective myoblast fusion



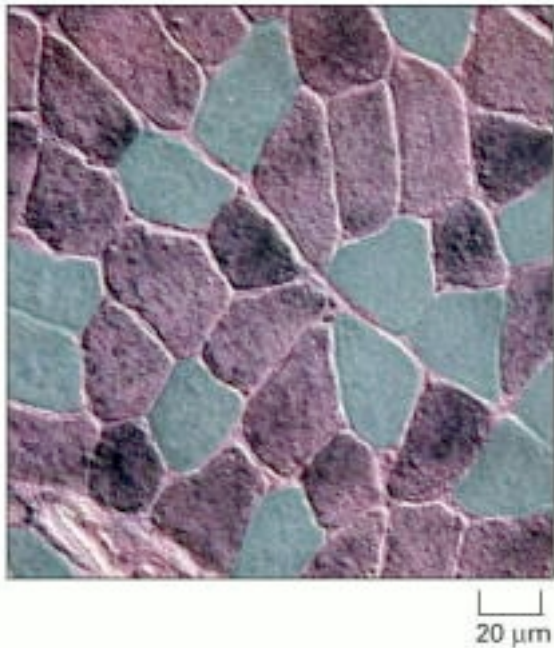
MODULAZIONE DEL MUSCOLO SCHELETRICO

Le cellule muscolari possono modificare le loro proprietà cambiando le isoforme proteiche in esse contenute

- **Una volta formatasi, la cellula muscolare può persistere per tutta la vita di un individuo, accrescendosi e modulando le proprie caratteristiche in base alle necessità funzionali.**
- **Esistono copie multiple dei geni codificanti per le proteine muscolari e molti RNA di tali geni subiscono splicing alternativo, per cui, durante la maturazione cellulare, possono essere prodotte numerose varianti proteiche.**

MODULAZIONE DEL MUSCOLO SCHELETRICO

Stimoli diversi, come ad esempio una diversa innervazione, determinano l'espressione di diverse isoforme proteiche; le cellule si adattano così alle diverse necessità di velocità, resistenza, stadio di sviluppo.



Nella stessa sezione di muscolo di zampa murina, si possono osservare cellule con caratteristiche diverse.

Grigio-verde: miosina “veloce” (fibre veloci)

Rosa: miosina “lenta” (fibre lente)

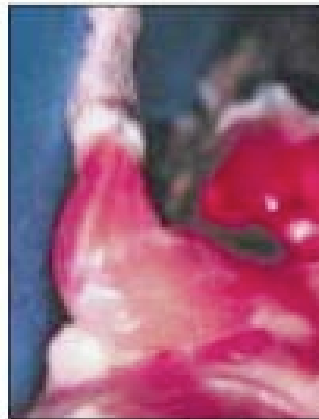
ACCRESIMENTO DEL MUSCOLO SCHELETRICO

- **Il numero di cellule muscolari di un adulto viene raggiunto nell'uomo prima della nascita**
- **le cell. muscolari scheletriche sono incapaci di dividersi per cui un muscolo si accresce aumentando il volume della cellula. L'aumento di lunghezza è ottenuto mediante fusioni alle estremità, mentre l'aumento di circonferenza si ottiene per aumento del numero e delle dimensione delle miofibrille contrattili.**
- **le cellule muscolari secernono la proteina extracellulare **Miostatina** che ne limita la crescita**

REGOLAZIONE DELLA MASSA MUSCOLARE DA PARTE DELLA MIOSTATINA



(A)



(B)



(C)

REGOLAZIONE DELLA MASSA MUSCOLARE DA PARTE DELLA MIOSTATINA



**Toro “Belgian Blue”, ottenuto da incroci di allevatori.
E’ recentemente risultato mutante nel gene per la miostatina**

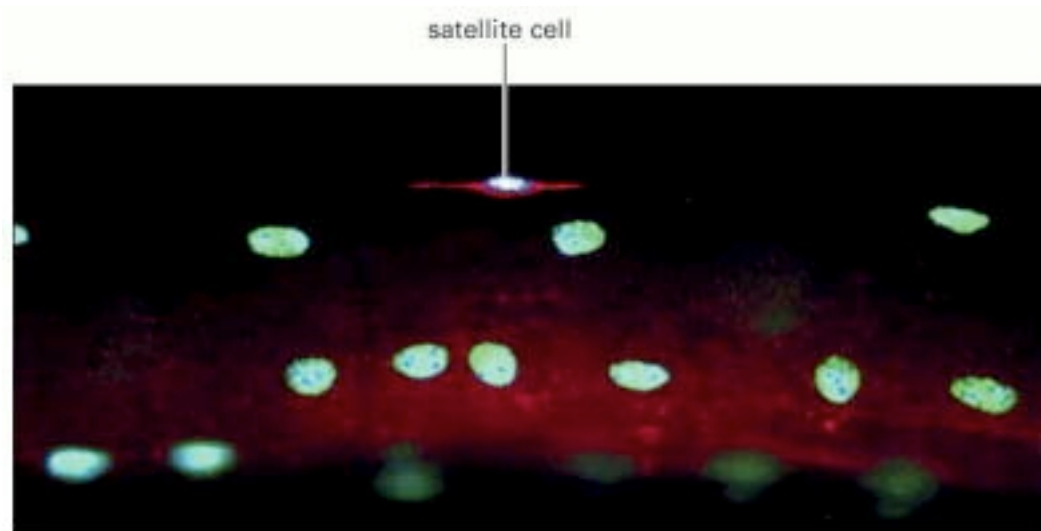
RIGENERAZIONE DEL MUSCOLO SCHELETRICO

Alcuni mioblasti persistono nell'adulto come cellule staminali quiescenti

- sono cellule appiattite in stretto contatto con la cellula muscolare, mantenute in uno stato di quiescenza, ma disponibili per l'autorinnovamento;
- Si attivano, iniziando a proliferare e poi a fondersi, in risposta a fattori di crescita (es. FGF) o in seguito ad un danno muscolare.

RIGENERAZIONE DEL MUSCOLO SCHELETRICO

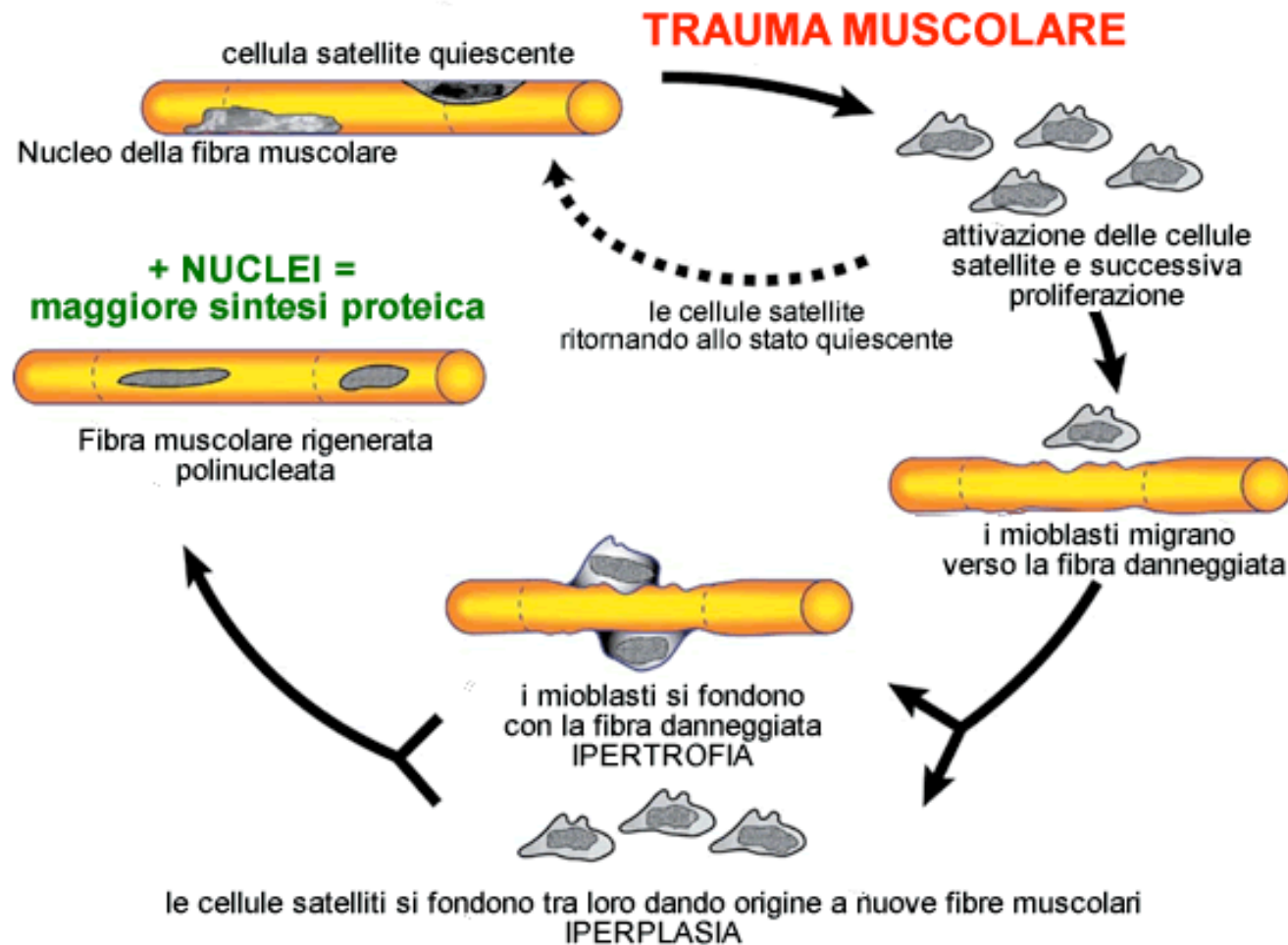
Alcuni mioblasti persistono nell'adulto come cellule staminali quiescenti



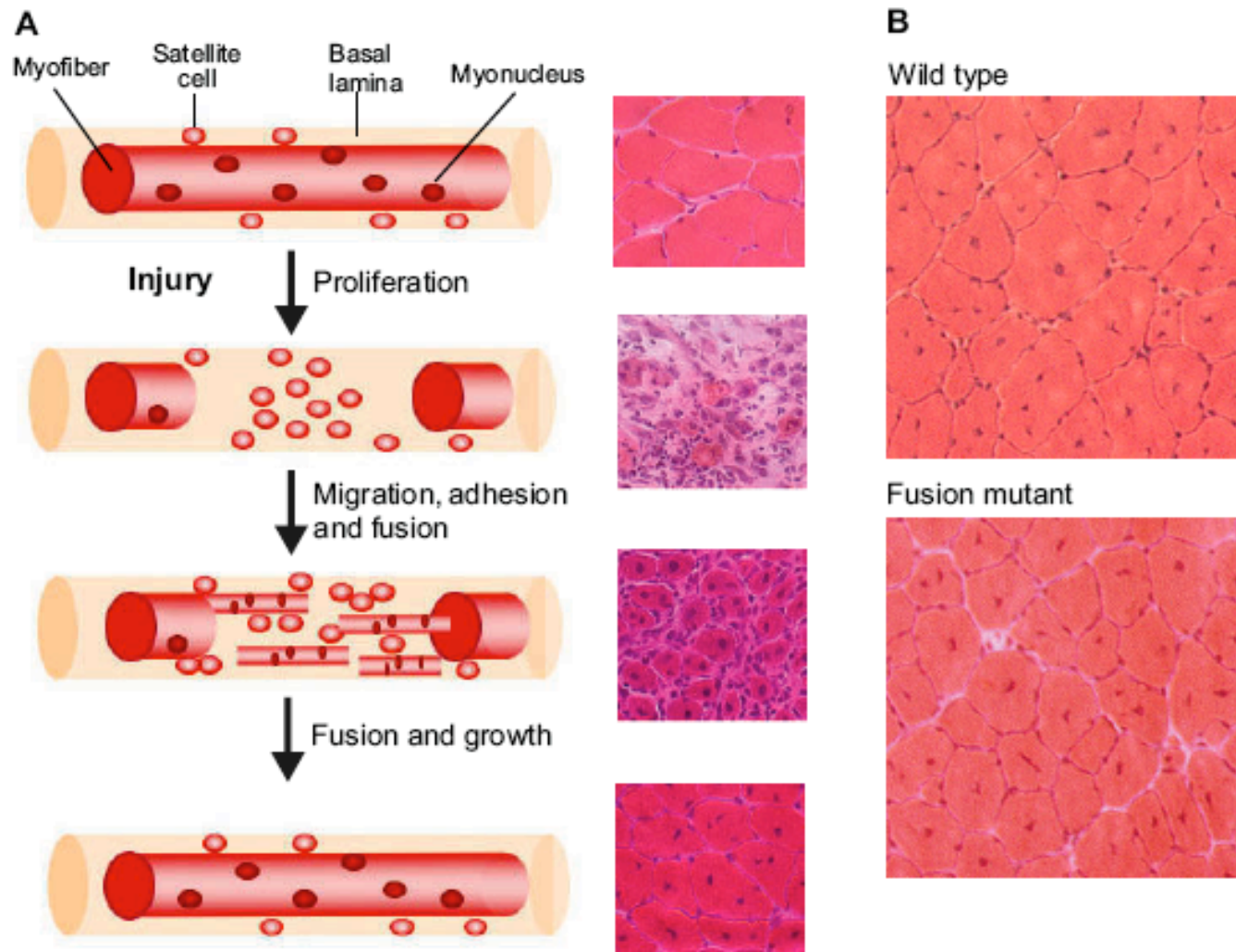
Rosso: M-caderina

Blu-verde: nuclei

RIGENERAZIONE IN SEGUITO A DANNO

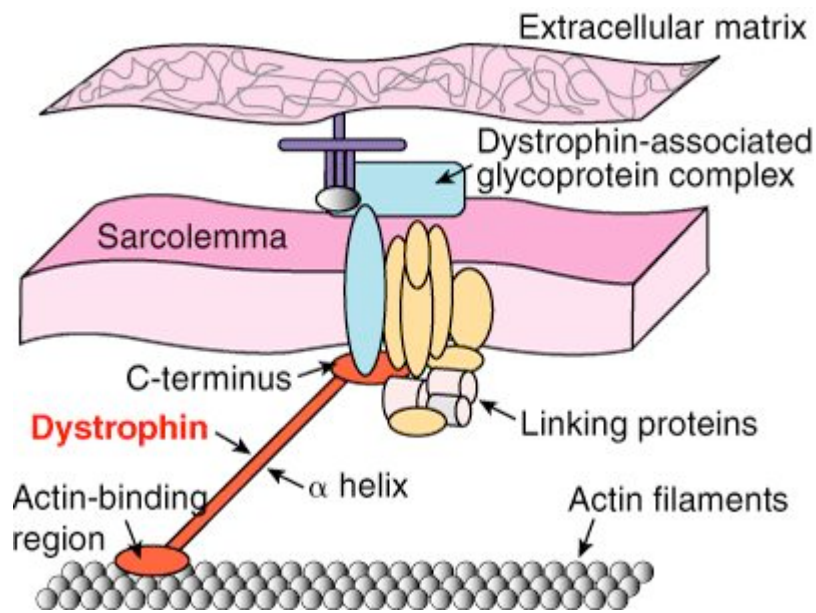


RIGENERAZIONE MUSCOLARE IN UN TOPO ADULTO IN SEGUITO A LESIONE

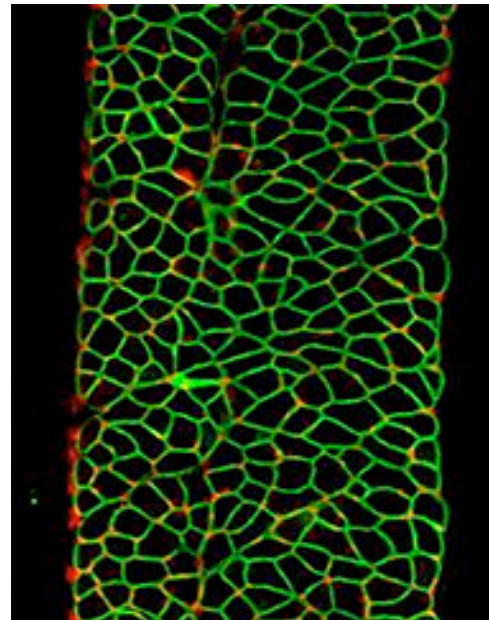


DANNO DISTROFICO

La riparazione muscolare funziona bene per alcuni animali, ma meno bene per l'uomo, come ad esempio nelle distrofie muscolari. Le cellule satelliti proliferano costantemente, ma il tessuto muscolare viene rimpiazzato da tessuto connettivo.



Muscolo wt



muscolo distrofico

