

Cristiano Crisafulli, Antonino Di Guardo, Gaetano Profeta

Area Cardio-Metabolica, SIMG Catania

Le modificazioni metaboliche del muscolo nel soggetto diabetico: il loro ruolo nella patogenesi della patologia

I muscoli, sono il tessuto più abbondante del corpo umano e anche uno dei più adattabili. Allenamenti intensivi possono raddoppiare o triplicare la massa di un muscolo mentre la totale mancanza d'uso può ridurla del 20% in due settimane. Un muscolo è un fascio di cellule o fibre, tenute insieme da tessuto connettivo (Fig. 1). Una singola fibra è formata dalla membrana e da migliaia di filamenti interni, le miofibrille (Fig. 2). Le più grandi fibre muscolari raggiungono 30 cen-

timetri di lunghezza e 0,05-0,15 mm di diametro e contengono diverse migliaia di nuclei. Le miofibrille hanno la stessa lunghezza della fibra e sono la parte che permette alle cellule di contrarsi in risposta a impulsi nervosi. Le cellule nervose motorie o motoneuroni, si estendono dal midollo spinale a un gruppo di fibre muscolari, formando un'unità motoria. La contrazione della miofibrilla è compiuta dai sarcomeri che sono collegati all'estremità a formare la miofibril-

la stessa. All'interno di ogni sarcomero vi sono due proteine, la miosina e l'actina, la cui interazione provoca la contrazione. Durante la contrazione un sarcomero si accorcia come un cannocchiale telescopico perché i filamenti di actina posti alle estremità del filamento centrale di miosina scivolano verso il centro della miosina stessa. Un componente della miosina, la cosiddetta catena pesante, determina le caratteristiche funzionali della fibra muscolare. Questa catena esiste in tre varietà o isoforme, indicate come: I, IIa e IIx e le fibre che la contengono hanno lo stesso nome. Le fibre di tipo I sono dette fibre lente, i tipi IIa e IIx fibre veloci: la massima velocità di contrazione di una singola fibra di tipo I è infatti un decimo della velocità di una fibra di tipo IIx. Quella delle fibre di tipo IIa è intermedia fra le due (Fig. 3). Le differenti velocità di contrazione delle fibre muscolari derivano dalle diverse modalità attraverso le quali viene decomposto l'ATP nella catena pesante della miosina per estrarne energia. Le fibre lente utilizzano il meccanismo aerobico, mentre le veloci quello anaerobico. Infatti l'attività degli enzimi glicolitici è maggiore nelle fibre di tipo IIA, IIB e IIC rispetto alle fibre di tipo I considerando che l'attività degli enzimi ossidativi è più alta nelle fibre di tipo IA, IIA e IIC rispetto alle fibre IIB, quindi la presenza di differenti fibre muscolari correla con le differenti proprietà metaboliche di ciascun muscolo. Così le fibre lente sono importanti per le attività che richiedono resistenza mentre quelle veloci quando occorre potenza. I muscoli hanno la capaci-

FIGURA 1.
Struttura del muscolo.

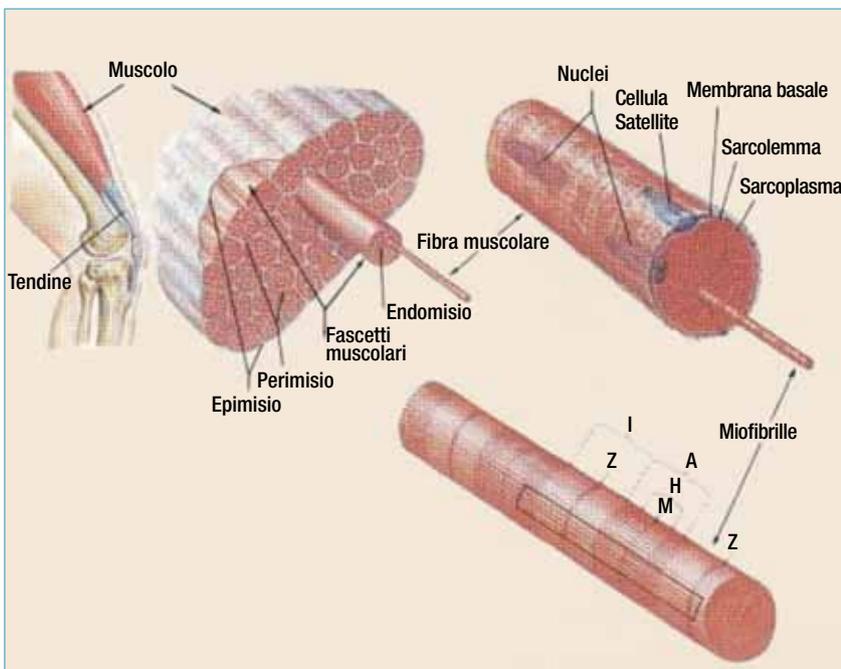
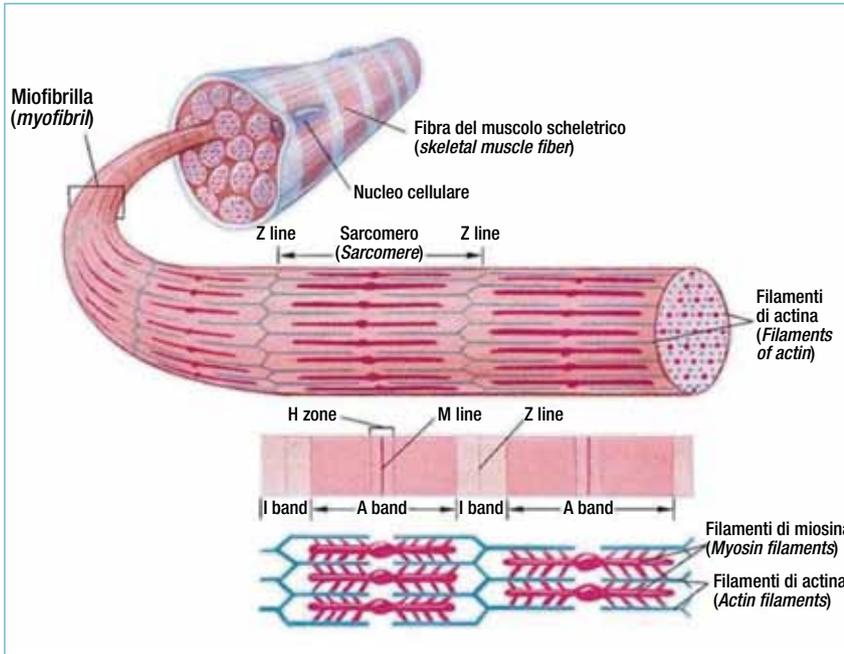
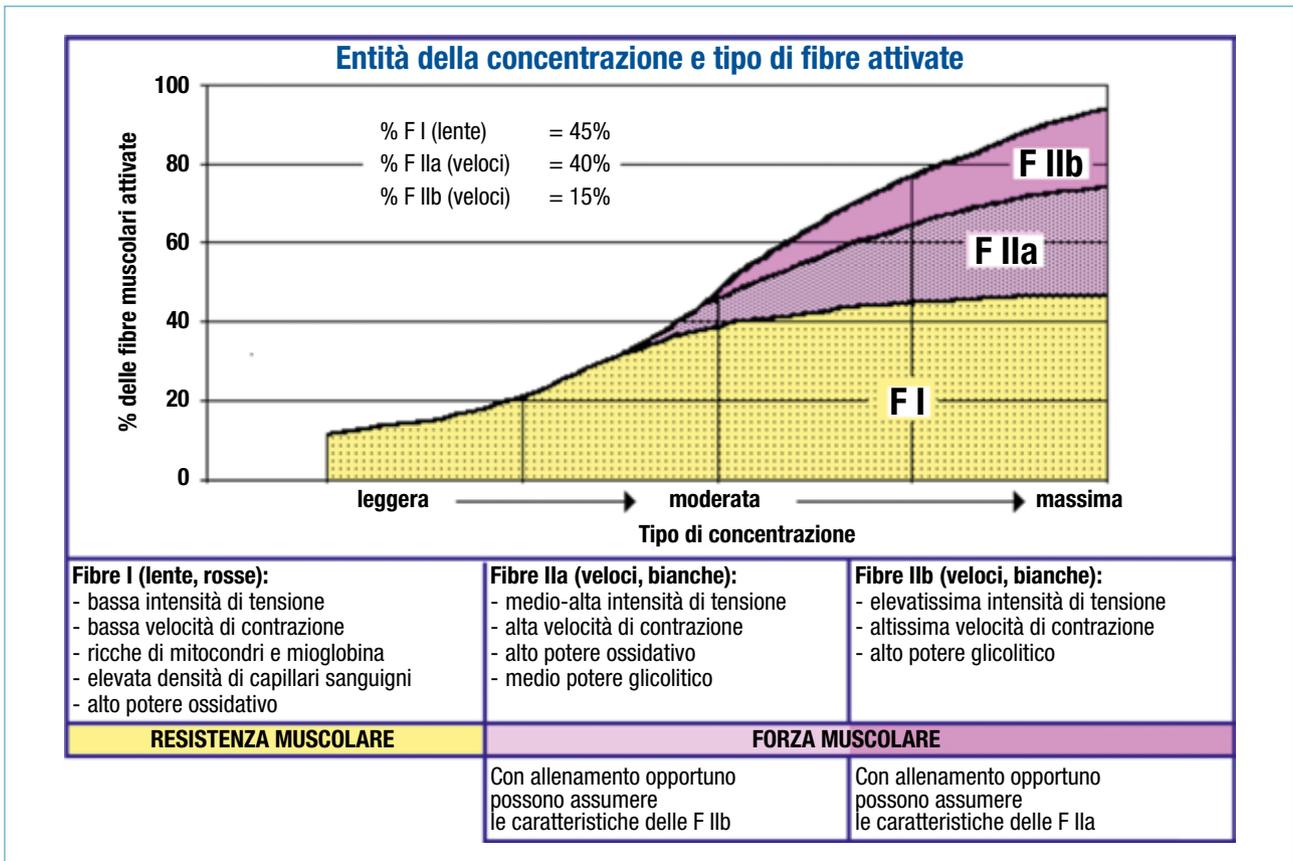


FIGURA 2.
Struttura della fibra muscolare.



tà di mutare il tipo di fibra muscolare sotto diversi stimoli come la crescita nei bambini, l'età, l'aumento o la diminuzione dell'attività neuromuscolare, l'ipossia ipobarica, l'ossigenazione iperbarica e l'esposizione alla microgravità ¹². Lo sforzo meccanico che l'allenamento esercita sui tendini e sulle altre strutture connesse ai muscoli, provoca la sintesi di proteine messaggere le quali attivano i geni che inducono le fibre muscolari a produrre più proteine contrattili. Anche i motoneuroni esercitano uno stimolo sul muscolo ipertrofizzandolo e modificando la tipologia delle fibre attraverso l'espressione di geni che regolano la sintesi proteica. Il muscolo è il principale sito del metabolismo glucidico e degli acidi grassi. Questa attività metabolica è regolata da vari fattori come i *Peroxisome Proliferator Activated Receptors* (PPAR α , PPAR δ/β e PPAR γ) e dal PPAR γ coattivatore-1 α (PCG-1 α) ³. L'aumento dei livelli di mRNA di questi recettori e specialmente del coattivatore PCG-1 α , inducono un

FIGURA 3.
Velocità di contrazione dei diversi tipi di fibra muscolare.



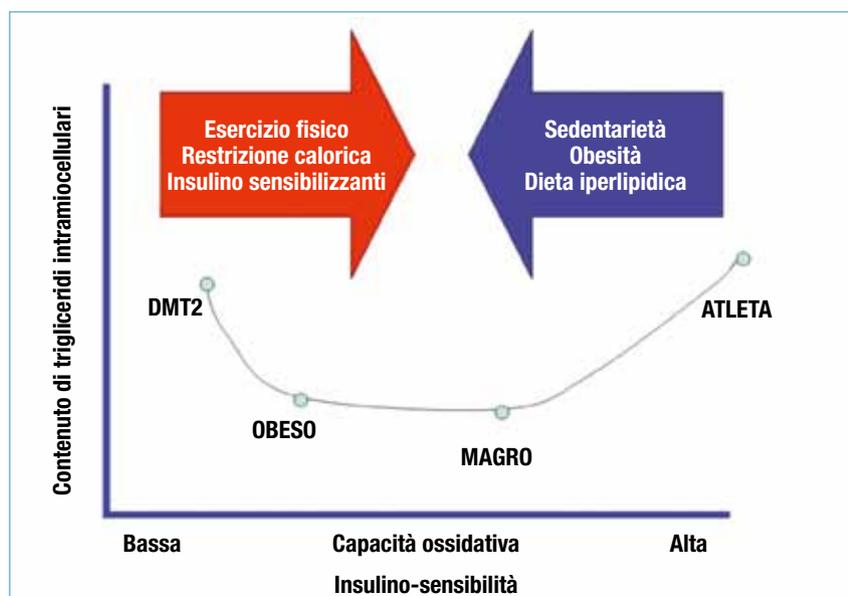
incremento del numero di fibre di tipo I e tipo IIA ad alta attività ossidativa. L'espressione di livelli elevati di mRNA di PPARs e PGC-1 α sono associate con i profili di fibre dei muscoli⁴⁻⁶. I PPARs trasducono segnali metabolici e nutrizionali in risposta a segnali trascrizionali^{7,8}. Il PPAR α è presente nel fegato, rene, muscolo, tessuto adiposo e parete vasale e ha un importante ruolo nella regolazione dell'insulino-sensibilità e insulino-resistenza, del metabolismo glucidico e/o la regolazione della pressione sanguigna. In questi siti, l'attivazione dei PPAR α incrementa la β ossidazione degli acidi grassi. I PPAR δ/β sono fattori di trascrizione della ossidazione degli acidi grassi nel muscolo e nel tessuto adiposo attraverso l'attivazione degli enzimi associati alla β ossidazione degli acidi grassi a catena lunga⁹. Il diabete mellito di tipo 2 è un disordine metabolico caratterizzato da iperglicemia cronica secondaria all'associazione di insulino-resistenza, deficit relativo e/o assoluto di produzione di insulina e inappropriata secrezione di glucagone¹⁰. Implica principalmente due processi patogenetici: progressivo declino della funzionalità delle isole pancreatiche e ridotta sensibilità all'insulina¹¹. L'insulino-resistenza è l'incapacità delle cellule dell'organismo a rispon-

dere correttamente all'azione biologica dell'insulina che porta all'iperglicemia e all'aumento dei NEFA (*Non-Esterified Fatty Acids*) e successivamente al diabete mellito di tipo 2. I fattori di rischio più importanti per l'insulino-resistenza sono: la predisposizione genetica, l'incremento di peso e la sedentarietà. Una volta instaurata l'insulino-resistenza, le β -cellule pancreatiche tentano di vincere la resistenza insulinica aumentando la produzione di insulina fino a esaurirsi. Venendo meno il meccanismo compensatorio di superamento dell'insulino-resistenza, si instaura l'iperglicemia. La regolazione della glicemia nel lavoro muscolare e durante l'attività sportiva nel diabetico differisce da quella del soggetto normale. All'inizio dell'attività fisica, l'utilizzazione periferica del glucosio aumenta ma l'insulinemia non diminuisce come nel normale. L'aumento dell'utilizzazione periferica in assenza di un aumento della produzione epatica di glucosio comporta una diminuzione della glicemia verso valori normali ma non inferiori alla norma. Infatti nonostante la mancata soppressione della secrezione insulinica, nel diabetico non si osserva ipoglicemia dopo un'attività fisica leggera o moderata. Una singola seduta di attività fisica in soggetti

normali non allenati o diabetici di tipo 2 comportano un aumento della sensibilità insulinica per parecchie ore dopo l'esercizio con un meccanismo non ancora chiaro probabilmente per rimpiazzare le scorte di glicogeno muscolare consumato e a un aumento del trasporto del glucosio e del suo metabolismo muscolare. Nell'esercizio fisico intenso, la glicemia aumenta anche nei soggetti normali ma nei diabetici, l'aumento è più precoce e maggiore in termini assoluti in quanto la produzione di glucosio è maggiore mentre minore è la sua utilizzazione. Tuttavia 24 ore dopo esercizio fisico intenso, l'utilizzazione del glucosio è di un 30 % maggiore rispetto a quello rilevabile prima dello sforzo. L'insulina, avendo un'azione IGF-I (*Insulin Like Growth Factor*) simile è uno dei regolatori della massa muscolare. L'effetto dell'insulina sulla sintesi proteica nel muscolo viene influenzato dal tipo di fibra muscolare. Infatti, l'infusione di insulina stimola l'espressione della isoforma tipo 2x della miosina. Questo dato viene confermato anche dalla modificazione della composizione delle fibre muscolari nei diabetici di tipo 2. È possibile che l'effetto dell'insulina sulla sintesi proteica muscolare avvenga su particolari isoforme di miosina inibendone altre. I diabetici hanno anche un ridotto numero di fibre ad alta capacità di ossidazione nei loro muscoli^{12,13}. Accanto all'incremento della proteolisi, l'incapacità di riparare danni muscolari è una caratteristica del diabete. Infatti la glicosilazione non enzimatica è una modificazione post-traslazionale delle proteine che reagiscono con l'eccesso di glucosio. La glicosilazione a livello muscolare della miosina diminuisce l'attività della miosina ATPasi con attenuazione della velocità di motilità dell'actina sulla miosina (circa il 13%). Anche lo stress ossidativo ha un effetto di inibizione sulla produzione di fattori regolatori miogenetici come la miogenina e la proteina Jun D, mentre l'attività del MEF (*muscle enhancer factor*) viene alterata insieme alla sintesi della creatin-kinasi muscolare e delle catene leggere e pesanti della miosina. Inoltre l'insulina stimola la sintesi delle proteine mitocondriali muscolari¹⁴. Questo non stupisce in quanto l'insulina è il principale ormone postprandiale e il muscolo la sede maggiore del deposito di substrati mentre i mitocondri sono i responsabili della respirazione cellulare. Quindi maggiore quantità di substrati sono

FIGURA 4.

Relazione tra contenuto di trigliceridi intramiocellulari, capacità ossidativa e insulino-sensibilità nell'uomo (da Moro C, Bajpeyi S, Smith SR. Determinants of intramyocellular triglyceride turnover: implications for insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;294:E203-13, mod.).



disponibili, maggiore è la quantità di mitocondri. Molte anomalie sono state identificate nei muscoli con insulino-resistenza come l'alterata attivazione da parte dell'insulina della glicogeno sintetasi¹⁵, della cascata del segnale insulinico e incremento del contenuto intramuscolare di trigliceridi¹⁶⁻¹⁸ oltre la diminuita capacità dell'insulina di regolare l'utilizzazione dei substrati¹⁹. Nei soggetti insulino-resistenti questa diminuita capacità di passare dall'utilizzazione dei lipidi ai carboidrati in risposta all'insulina è stata descritta come "inflexibilità metabolica"²⁰. Molti studi correlano la disfunzione mitocondriale con la patogenesi dell'insulino-resistenza e del diabete di tipo 2. Questa consiste in una diminuita ossidazione lipidica e una correlazione negativa tra ossidazione lipidica e insulino-resistenza²¹ oltre a una downregulation dei geni coinvolti nella fosforilazione ossidativa mitocondriale e un diminuito contenuto della subunità β dell'ATP sintetasi²². È da chiarire quindi se la disfunzione mitocondriale è causata da un ridotto contenuto di mitocondri, da una ridotta funzionalità o da entrambe le cose. Altra caratteristica morfologica del muscolo dell'obeso e del diabetico è un incremento del quantitativo dei trigliceridi intramuscolari. È noto il fatto che i trigliceridi intramiocellulari (IMTG), costituiscono una fonte di energia che il corpo può utilizzare in condizioni basali o durante un esercizio fisico. Una chiara relazione tra IMTG e insulino-resistenza è stata evidenziata nei soggetti obesi e diabetici di tipo 2. Il contenuto di IMTG è aumentato anche nei soggetti allenati per gare di resistenza con alta sensibilità all'insulina, suggerendo il fatto che l'IMTG da solo non causa insulino-resistenza a livello muscolare. Questa differenza potrebbe essere direttamente collegata a un più alto turnover di IMTG che avviene negli atleti sottoposti ad allenamento intensivo (incremento dei cicli di replezione/deplezione del pool di IMTG, bilanciamento tra lipolisi e dell'ossidazione lipidica). Il turnover dei IMTG è dato dal bilancio dinamico tra lipolisi e lipidosintesi. Entrambi dipendono dall'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi ATP dipendente e dalla disponibilità di NEFA circolanti. I fattori che controllano la velocità del turnover degli IMTG sono: la capacità ossidativa del muscolo, la lipolisi, la disponibilità di NEFA e la riesterificazione dei prodotti intermedi come il diacilglicerolo (DAG). Molti meccanismi molecolari sono stati proposti per spiegare la relazione

tra insulino-resistenza e IMTG. Alti livelli di derivati degli IMTG o i loro metaboliti (DAG e Ceramidi) hanno un effetto inibitorio sull'attività dell'IRS-1 (*Insulin Receptor Substrate-1*) riducendo quindi il trasporto di glucosio e la glicogeno sintesi. Nella popolazione sedentaria, l'IMTG creano un maggior stress ossidativo in quanto, a causa dell'inattività fisica, si riducono i cicli di deplezione/replezione generando prodotti di perossidazione lipidica che inibiscono i segnali insulinici. Inoltre l'incremento della perossidazione degli IMTG aumenta i livelli di TNF α (*Tumor Necrosis Factor α*) che a sua volta incrementa la produzione del SOCS (*suppressor of cytokine signaling proteins*) che fosforilando l'IRS-1 e riducendone la sua attività, diminuisce la sensibilità insulinica. Infine la perossidazione alterando le membrane degli organuli intracellulari e le membrane cellulari danneggia il reticolo sarcoplasmatico, altera il meccanismo di trasporto del Calcio e provoca sarcopenia per aumento dell'apoptosi. Quindi in conclusione le modificazioni causate dal diabete alterano la struttura proteica del muscolo diventando causa-effetto di un processo che ha inizio con l'insulino-resistenza e che porta a un meccanismo disfunzionale metabolico causa patologica stessa del diabete mellito.

Bibliografia

- Edgerton VR, Bodine-Fowler S, Roy R.R., et al. *Neuromuscular adaptation*. In: Rowell LB, Shepherd JT, editors. *Handbook of physiology. Section 12: Exercise: regulation and integration of multiple systems*. New York: Oxford University Press 1996, pp. 55-88.
- Ishihara A. *Plasticity in the neuromuscular system*. In: Nose H, Gisolfi CV, Imaizumi K, editors. *Exercise, nutrition and environmental stress*. Vol. 1. Traverse City: Cooper Publishing Group 1999, pp. 117-135.
- Wende AR, Huss JM, Schaeffer PJ, et al. *PGC1 α coactivates PDK4 gene expression via the orphan Nuclear receptor ERR α a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism*. *Mol Cell Biol* 2005;25:10684-94.
- Lin J, Wu H, Tarr PT, et al. *Transcriptional co-activator PGC1 α drives the formation of slow-twitch muscle fibres*. *Nature* 2002;418:797-801.
- Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, et al. *Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK*. *Science* 2002;296:349-52.
- Schuler M, Ali F, Chambon C, et al. *PGC1 α expression is controlled in skeletal muscles by PPAR β , whose ablation results in fiber-type switching obesity and type 2 diabetes*. *Cell Metab* 2006;4:407-14.
- Kersten S, Desvergne B, Wahli W. *Roles of PPARs in health and disease*. *Nature* 2000;405:421-4.
- Berger J, Moller DE. *The mechanisms of action of PPARs*. *Annu Rev Med* 2002;53:409-35.
- Palmer CN, Hsu MH, Griffin KJ, et al. *Peroxisome proliferator activated receptor- α expression in human liver*. *Mol Pharmacol* 1998;53:14-22.
- American Diabetes Association. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. *Diabetes Care* 2004;27(Suppl 1):S5-10.
- Weyer C, Bogardus C, Mott DM, et al. *The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus*. *J Clin Invest* 1999;104:787-94.
- Hickey MS, Carey JO, Azevedo JL, et al. *Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans*. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1995;268:E453-7.
- Nyholm B, Qu Z, Kaal A, et al. *Evidence of an increased number of type IIb muscle fibers in insulin-resistant first-degree relatives of patients with NIDDM*. *Diabetes* 1997;46:1822-8.
- Aragno M, Mastrocola R, Catalano MG, et al. *Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats*. *Diabetes* 2004;53:1082-8.
- Højlund K, Staehr P, Hansen BF, et al. *Increased phosphorylation of skeletal muscle glycogen synthase at NH2-terminal sites during physiological hyperinsulinemia in type 2 diabetes*. *Diabetes* 2003;52:1393-402.
- Kelley DE, Goodpaster BH, Storlien L. *Muscle triglyceride and insulin resistance*. *Annu Rev Nutr* 2002;22:325-46.
- Levin K, Daa Schroeder H, Alford FP, et al. *Morphometric documentation of abnormal intramyocellular fat storage and reduced glycogen in obese patients with type II diabetes*. *Diabetologia* 2001;44:824-33.
- Brehm A, Krssak M, Schmid AI, et al. *Increased lipid availability impairs insulin-stimulated ATP synthesis in human skeletal muscle*. *Diabetes* 2006;55:136-40.
- Stump CS, Short KR, Bigelow ML, et al. *Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis, and mRNA transcripts*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7996-8001.
- Kelley DE, Mandarino LJ. *Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination*. *Diabetes* 2000;49:677-83.
- Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, et al. *PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes*. *Nat Genet* 2003;34:267-73.
- Højlund K, Wrzesinski K, Larsen PM, et al. *Proteome analysis reveals phosphorylation of ATP synthase beta-subunit in human skeletal muscle and proteins with potential roles in type 2 diabetes*. *J Biol Chem* 2003;278:10436-42.