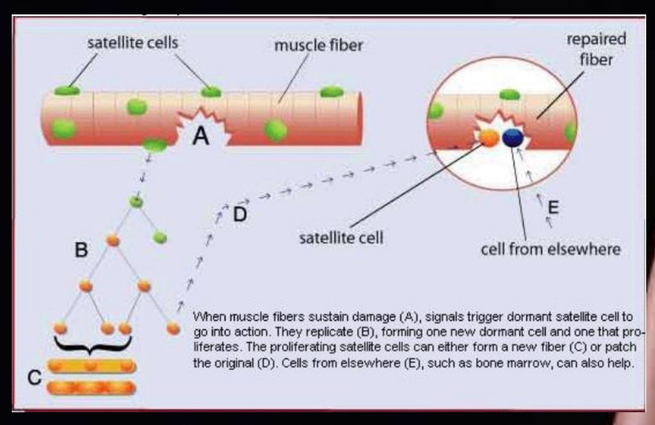
Saxion 2022

Het effect van Spierschade op spieropbouw

Introductie

Voor veel mensen is het hebben van spierpijn een teken dat ze voldoende hebben gesport om spiermassa op te bouwen. Maar klopt dit eigenlijk wel?
Tijdens het sporten ontstaat er micro schade aan de spier, omdat de spier samen trekt, ontstaan er kleine scheurtjes op de spiervezel. Om deze schade te herstellen repareert je lichaam dit door proliferatie(celdeling)van myoblasten onder invloed van BCAA`s (branched chain amino acids) naar de schade te sturen. Het lichaam bouwt zo indirect spier op. De myoblasten plaatsen zich op de schade en verdikken zo direct de myotube[1]. Door te kijken naar het effect van proliferatie van myoblasten en in beeld brengen van het opbouwen van beschadigde myotube, kunnen de effecten van spierschade op spieropbouw in beeld worden gebracht.

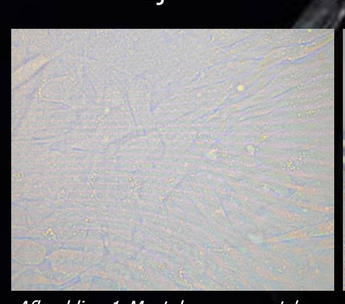
Onderzoeksvraag:
Wat is het effect van microschade op de (in)directe spiergroei?



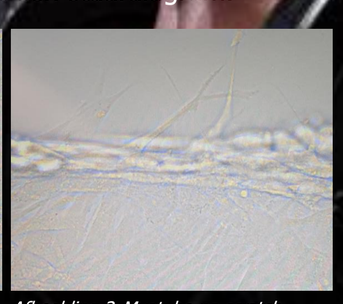
Figuur 1 Satellietcellen die helpen bij spierschade

Methode

De myoblasten (C2C12) worden gesplitst, een deel blijven myoblasten en worden gebruikt om de cel proliferatie op te testen. Aan de andere helft word differentiatie medium met horse serum toegevoegd. De myoblasten differentiëren naar myotube[2].
Aan alle cellen wordt BCAA`s toegevoegd om optimale groeiomstandigheden te creëren[3].
Beide testen hebben een controle groep zonder microschade en een test groep met microschade, de microschade is aangebracht volgens een scratch assay. Alle testen zijn in duplo uitgevoerd.
De diameter van de myotube is op drie plekken gemeten met de EVOS microscoop en het aantal cellen per ml is verkregen met de TECAN spark. De tijdlijn geeft een beeld van de methode. De op de resultaten is een t-test uitgevoerd en de resultaten zijn verwerkt tot een staafdiagram.



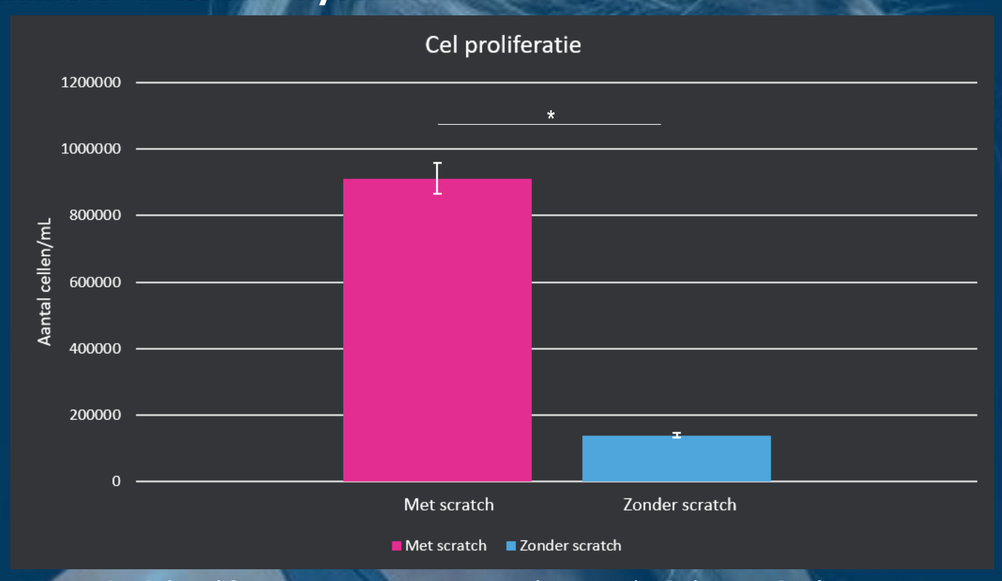
Afbeelding 1 Myotube voor scratch



Afbeelding 2 Myotube na scratch

Resultaten

Om te bepalen of de spiergroei sneller verloopt bij microschade is gekeken naar de cel proliferatie van myoblasten en naar de diameter dikte van myotube.



Figuur 2 Cel proliferatie gemeten met en zonder scratch. Ook zijn BCAA's toegevoegd. n=3 en p=0,01 en er is een paired sample t-test uitgevoerd.

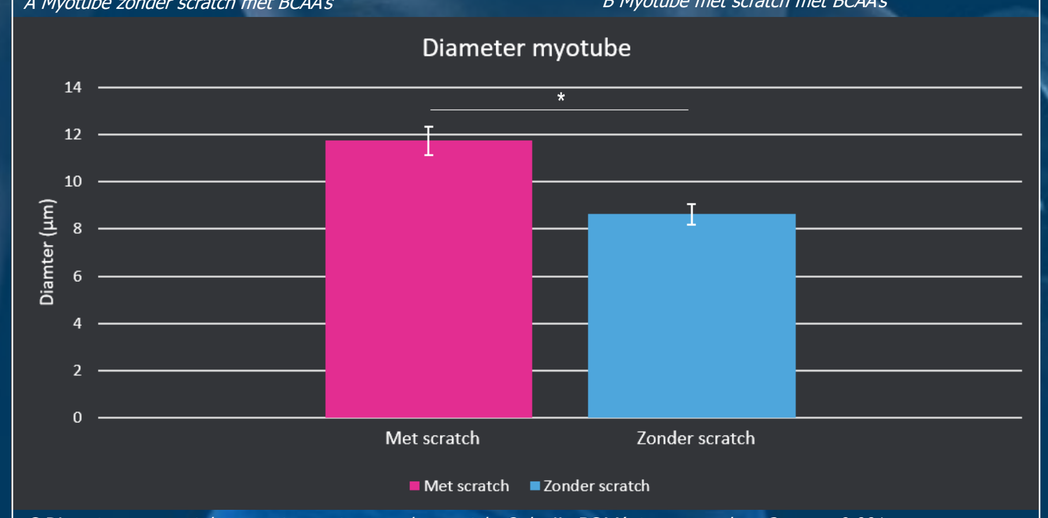
Er is een duidelijk verschil te zien tussen de controlegroep en de scratch groep. De groep met scratch heeft 60.3% meer myoblasten dan de controlegroep. Dit betekent dat de myoblasten met microschade zich sneller gedeeld hebben dan de myoblasten zonder microschade.(P-waarde= 0.01)



A Myotube zonder scratch met BCAA's



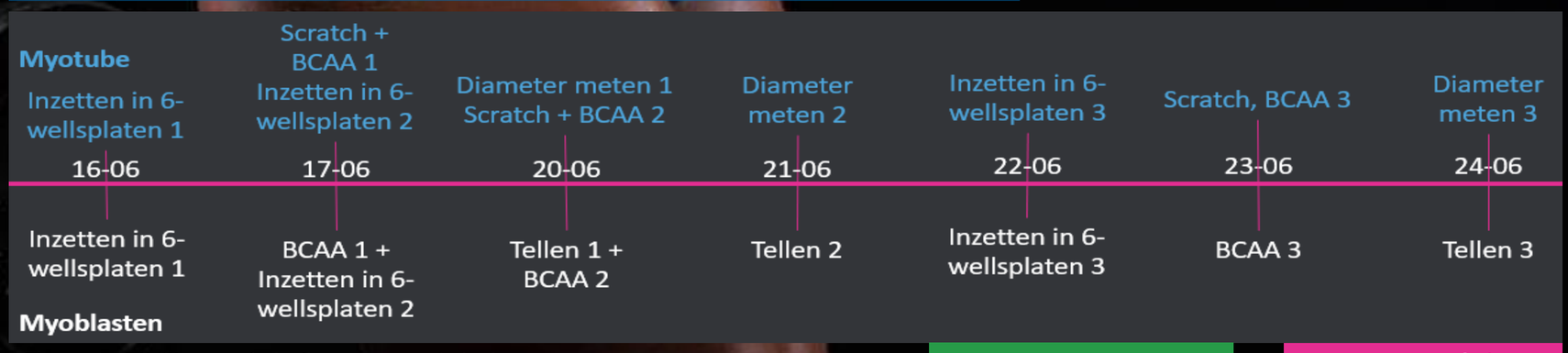
B Myotube met scratch met BCAA's



C Diameter van myotube gemeten met en zonder scratch. Ook zijn BCAA's toegevoegd. n=3 en p<0,001 en er is een paired sample t-test uitgevoerd.

Figuur 3 Diameter myotube met en zonder scratch

De myotube met schade zijn 70.05% dikker dan de myotube zonder schade. Dit betekent dat de diameter bij de myotube met microschade breder is in vergelijking tot de myotube zonder microschade. (p=0,001)



Figuur 4 Tijdlijn voor het uitvoeren van de testen

Discussie en Aanbevelingen

Discussie

Aan de myoblasten is te weinig voedingsmedium toegevoegd, dit heeft celdood veroorzaakt. Dit kan in het vervolg voorkomen worden door theoretisch onderzoek te doen naar de hoeveelheid medium die de myoblasten nodig hebben om te groeien.

De diameter van de myotube is opgemeten via foto's die met de mobiele telefoon gemaakt zijn van de EVOS, deze zijn onnauwkeurig. Image J is gebruikt om zo nauwkeurig mogelijk te meten. Dit had voorkomen kunnen worden door beter op te letten tijdens instructie.

Het aantal getelde myoblasten, zijn het aantal cellen dat los in het medium aanwezig waren. Dit omdat de wellen verzadigd waren met myoblasten en ze niet meer konden hechten. Hierdoor is niet het volledige aantal cellen geteld die in de wellen zaten. Dit kan voorkomen worden door de myoblasten eerst te isoleren.

Aanbevelingen

Het wordt aangeraden om voldoende cellen te in kweek te houden.
Vervolgens moet er 2 ml kweekmedium worden toegevoed aan de wellen nadat de cellen hierin zijn geplaatst om ze in leven te houden.
Ook moet ervoor gezorgd worden dat de cellen niet te snel differentiëren, dit door te variëren met de concentratie differentiatiemedium.

Conclusie

Er kan geconcludeerd worden dat microschade een positieve invloed heeft op zowel de directe als indirecte spiergroei. Er is een significant verschil tussen microschade en geen microschade. Concluderend, microschade heeft een positieve invloed op de indirecte en directe spieropbouw.

SAXION HOGESCHOOL

3 GOOD HEALTH AND WELL-BEING

Auteurs:

Lisa Carpagnano
Louw Veenstra
Nienke Hampsink

Begeleid door:
Petra Juffer

07-07-2022

EBM1V.B
EBM1V.D
EBM1V.F

Key refrences

[1]Goetsch KP, Myburgh KH, Niesler CU. In vitro myoblast motility models: investigating migration dynamics for the study of skeletal muscle repair. J Muscle Res Cell Motil. 2013 Dec;34(5-6):333-47. doi: 10.1007/s10974-013-9364-7. Epub 2013 Oct 23. PMID: 24150600.
[2]L. Hindi, J. D. McMillan, D. Afroze, S. M. Hindi, and A. Kumar, "Isolation, Culturing, and Differentiation of Primary Myoblasts from Skeletal Muscle of Adult Mice," *Bio Protoc*, vol. 7, no. 9, May 2017, doi: 10.21769/BIOPROTOC.2248.
[3] J. Stoppani, T. Scheett, J. Pena, C. Rudolph, and D. Charlebois, "Consuming a supplement containing branched-chain amino acids during a resistance-training program increases lean mass, muscle strength and fat loss," *J Int Soc Sports Nutr*, vol. 6, no. S1, Jul. 2009, doi: 10.1186/1550-2783-6-S1-P1.