

LA CELLULA MUSCOLARE SCHELETRICA: proteine strutturali del sarcomero

Molti dei fenomeni adattativi sono legati a delle strutture che sentono uno stress meccanico di contrazione e che rispondono a questa contrazione → proteine strutturali (ruolo di scheletro ma anche come fattore che convertono un segnale meccanico in chimico e permettono un adattamento in senso generale, una risposta. Attività fisica: piccoli adattamenti o mantenimenti della funzionalità muscolare)

Muscolo scheletrico: fibre muscolari scheletrici o miofibre, striate e con più nuclei, al suo interno sono presenti dei fasci di miofibrille. Nel muscolo scheletrico la fibra è occupata dall'84 al 90% da miofibrille, responsabile della contrazione. Le miofibrille presentano una regolare disposizione di filamenti spessi e sottili e l'unità fondamentale è il sarcomero, che si ripetono in serie. Da un disco Z all'altro. Striatura che si osserva al microscopio, e si crea l'unità funzionale scheletrica, è l'unità di base della contrazione e quella più piccola muscolare

SARCOMERO A RIPOSO: Tra 2 linee Z (zig zag), linea M divide a metà, miofilamenti sottili e spessi, al microscopio si può vedere la striatura.

Zona chiara: filamenti sottili;

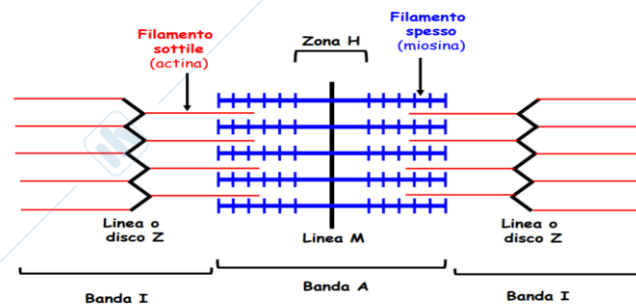
Banda I (isotropo, contiene strutture omogenee) → filamenti sottili, banda chiara, ogni sarcomero ha 2 semibande I;

Banda A (anisotropo: zona meno omogenea, più scura) → sovrapposizione filamenti spessi e sottili:

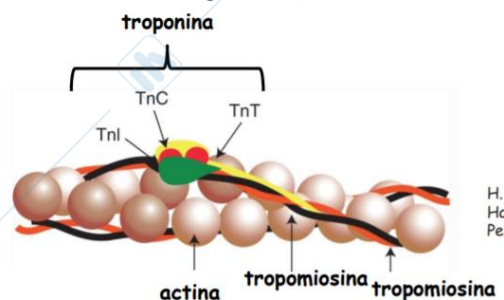
Zona H: solo filamenti spessi, solo catene di miosina, più omogenea e appare più chiara.

All'interno della zona A, c'è la zona H

CONTRAZIONE: i miofilamenti vanno verso al centro, la banda A rimane invariata ma varia lo spazio delle bande I a causa dello scivolamento, dove ho solo filamenti sottili, questo spazio diventerà più piccolo.

**PROTEINE DEL SARCOMERO**

- contrattili: actina e miosina, rappresentano circa il 70% di tutte le proteine miofibrillari.
- regolatrici: tropomiosina e troponina, regolano la contrazione in relazione al meccanismo degli ioni calcio, sbloccano il meccanismo di contrazione actina-miosina.
- strutturali: titina, nebulina, alfa-actinina, miomesina, ecc. Rappresentano circa il 10% delle proteine miofibrillari.

MIOFILAMENTO SOTTILE (1 proteina contrattile e 2 regolatrici)

ACTINA: 2 catene elicoidali di actina F (avvolte ad alfa elica) formate dalla polimerizzazione di molecole di actina G, la polimerizzazione è possibile grazie agli ioni magnesio e all'energia. Può modificare la sua lunghezza

TROPOMIOSINA: due catene, alfa e beta, avvolte tra loro ad alfa elica, copre i siti attivi dell'actina che interagiscono con la miosina. Scorre lungo il solco tra le 2 catene.

TROPONINA: costituita da 3 subunità:

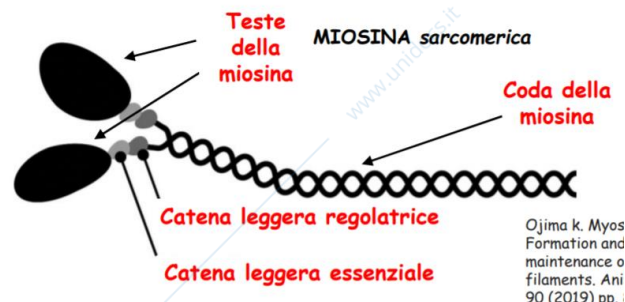
1. troponina C (TnC) lega gli ioni calcio 4 siti di legame: 2 ad alta e 2 a bassa affinità, differenza tra le fibre I e II in quanto in quelle di tipo I e in quelle cardiache: 3 siti di legami 2 ad alta (piccole variazioni di concentrazione di ioni Ca) e 1 a bassa (grandi variazioni di concentrazioni di ioni Ca), il tipo di contrazione è diverso in quanto a livello cardiaco abbiamo una contrazione continua
2. troponina I (TnI): effetto inibitorio sull'atpasi miosinica e sul legame actina miosina, questa subunità viene allontanata dai siti attivi della miosina
3. troponina T (TnT): struttura di collegamento, collega le varie subunità della troponina con la tropomiosina. Se la troponina C cambia conformazione cambia anche la T e sposta la tropomiosina e vado a sbloccare il meccanismo

MIOFILAMENTO SPESSO (6 catene totali)

Struttura della miosina sarcomerica, tipica dei muscoli striati:

2 catene pesanti: porzione della testa, collo, coda, avvolgimento ad alfa elica di 2 catene pesanti, costituite da tanti amminoacidi, ogni molecole di sarcomerica ha 2 teste

Catene leggere: Lungo il collo, struttura tondeggiate, 4 catene o 2 coppie uguali a 2 a 2: catena leggera regolatrice (più vicina alla coda) e essenziale (più vicina alla testa)



Massa totale circa 500 kDa. È costituita da:

2 catene pesanti (MHC) → costituiscono le teste, dove ho il sito che interagisce con l'actina + un altro sito dove è presente l'ATP-asi miosinica per il metabolismo e definire la tipologia di contrazione.

2 catene leggere regolatrici (RLC) → funzione regolatrice e può essere fosforilata e va a modulare la sensibilità della miosina per quanto riguarda la contrazione e la risposta agli ioni calcio, fondamentale nel muscolo liscio, a livello del muscolo scheletrico è più un discorso di modulazione dell'intensità che serve per far avvenire la contrazione.

La forza esercitata durante la contrazione è differente tra muscolo scheletrico e liscio, scheletrica in un'unica direzione, liscia in più direzioni.

2 catene leggere essenziali (ELC) → strutturali

A seconda della tipologia delle catene pesanti ho la classificazione delle fibre muscolari scheletriche nell'uomo è basata sull'isoforma della catena pesante della miosina (MHC) che viene espressa.

A seconda della ATP-asi miosinica ho una risposta più o meno rapida per generare un cambiamento della conformazione per far avvenire una contrazione maggiore o minore, conversione dell'energia chimica

Si considerano 4 tipi di fibre:

- **fibre tipo I** (lente, resistenti alla fatica, ossidative) → ATP-asi miosinica più lenta, ma che posso mantenere per molto tempo

Fibre II: ATP-asi miosinica più veloce, veloce, tutte rapide ma diversa affaticabilità, legato al n° di mitocondri presenti, più ne ha meno è affaticabile, genera energia per più tempo, è in grado di generarne di più, non è un discorso di velocità ma di quantità, anche legata a caratteristiche strutturali del sarcomero, dischi Z più grandi maggior resistenza alla fatica, invece la distribuzione del reticolo sarco-plasmatico maggiore nelle fibre rapide, scambio di calcio più veloce perché l'estensione è maggiore nelle fibre II che nelle I; differenze dell'unità motoria e nei trasportatori, ci sono tipologie differenti a seconda delle fibre :

- **fibre tipo IIA** (rapide, poco affaticabili, ossidative/glicolitiche aerobiche/anaerobiche) → quelle più diffuse nell'uomo
- **fibre tipo IIX** (rapide, affaticabili, glicolitiche, anaerobiche) → nell'uomo sono quelle più rapide, velocità un po' minore rispetto alle IIB
- **fibre tipo IIB** (rapide, affaticabili, glicolitiche, anaerobiche) → poco espresse nell'uomo ma sono negli animali

Vi sono poi fibre atipiche nei muscoli della testa, del collo e nei fusi muscolari.

Proteine strutturali del sarcomero

- proteine giganti (titina, nebulina, obscurina): > ai 500 KDa di peso, molto grandi
- proteine del disco Z (es. alfa-actinina)
- proteine della linea M (es. miomesina)

Funzioni delle proteine:

- strutturale: fanno da scheletro, creano dischi Z, linea M, mantengono i filamenti allineati
- meccanica: mi servono per la contrazione nel senso di limitare la sovradistensione del sarcomero, la titina è responsabile della metà della tensione passiva del sarcomero, caratteristica elastica, proteine che servono per un bilancio tra una metà del sarcomero e l'altro
- signalling: trasduzione del segnale

SIGNALLING

Stimoli meccanici ripetuti → Proteine strutturali → Segnale chimico → ADATTAMENTO

Lo stimolo meccanico viene attivato dalle proteine strutturali e contrattili, le prime avendo una risposta meccanica alle diverse condizioni fanno da punto per l'adattamento, devo attivare delle vie basate sull'attivazione di enzimi ma segnali chimici non meccanici, queste proteine riescono a far avvenire questi cambiamenti

Da un'attività di potenza a una sintesi proteica → meccanico a metabolico-chimico → le proteine strutturali svolgono questo procedimento per arrivare infine all'adattamento

SPLICING: La capacità di elasticità della proteina a livello del muscolo scheletrico stesso, è differente se considero fibre I o II ho caratteristiche diverse della titina. Il gene è uno solo ma esiste un meccanismo per cui da un solo gene posso ottenere la stessa proteina ma con caratteristiche diverse.

DNA: Trascrizione e produco un mRNA messaggero e mi porta informazioni, esso esce dal nucleo a livello del citoplasma dove sintetizzo la proteina in base a questo messaggio, le subunità → ribosomi, si basano sul messaggio e fanno la traduzione da un linguaggio delle triplette passo al linguaggio degli amminoacidi e formo le proteine
Ogni tripletta corrisponde a 1 amminoacido

Esoni: informazioni di come devo costruire la proteina ma ci sono degli introni: funzione regolatoria ma non di come devo costruirla

Copio tutti i messaggi all'inizio e ottengo un pre-mRNA con tutto copiato esiste poi un processo di maturazione che toglie questi introni inutili per comporre la proteina che spezzerebbero l'informazione e quindi tramite degli enzimi si possono togliere questi pezzetti e ottengo l'mRNA finale → **SPLICING** = montaggio dell'mRNA definitivo

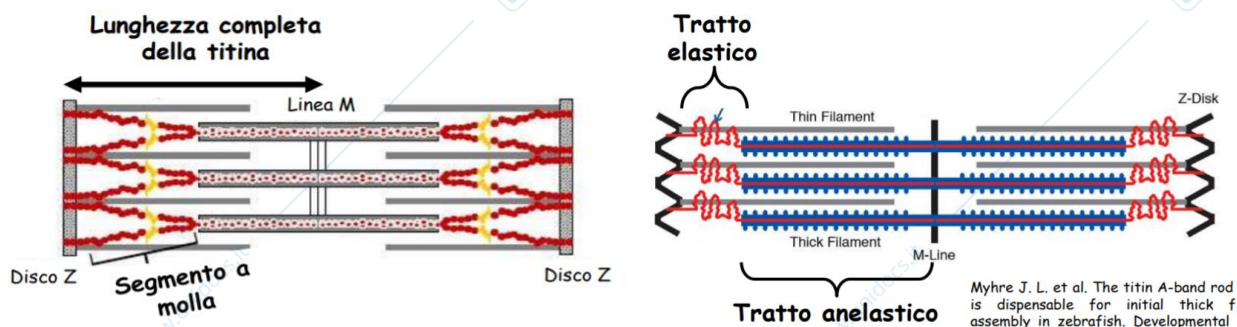
SPLICING ALTERNATIVO: meccanismo attraverso il quale è possibile produrre da un singolo gene forme diverse di una proteina, dette isoforme. Queste isoforme possono essere espresse in tipi diversi di cellule.

Inizio dove copio tutto, dopo al posto di togliere gli introni e di unire gli esoni, posso eliminare gli esoni che portano informazioni che non sono essenziali, posso togliere degli esoni nelle proteine molto grandi, alcuni infatti portano informazioni per piccole caratteristiche della proteina non fondamentali, e quindi la proteina diventerà diversa

TITINA: con parte elastica più o meno grande, unendo le porzioni in modo diverso ottengo proteine differenti, SOLO se ci sono porzioni non fondamentali.

TITINA (o connettina) è la più grande proteina costituita da un singolo polipeptide (PM 3000-4200 kDa).

È una proteina elastica che si estende dal disco Z fino alla linea M, occupa un emi-sarcomero.



Quando si ancora sulla linea M è a livello dei filamenti spessi.

Ha un segmento elastico a molla a livello della banda I

Diventa asse dei filamenti spessi e in questo tratto la struttura è rigida (tratto anelastico), banda A

Struttura e organizzazione della titina nel sarcomero:

Contiene un tratto elastico e un tratto non elastico ed è composta da diversi domini, cioè porzioni della molecola dotate di una particolare struttura secondaria e di una funzione specifica, spesso ripetuti che possono avere una funzione specifica ma ripetute e mi permette di avere una struttura così ampia.

Il tratto elastico ha lunghezza e caratteristiche diverse in base alla tipologia del muscolo.

In questo tratto vi sono regioni con caratteristiche particolari:

- regione N2-A (muscolo scheletrico)
- regione N2-B (muscolo cardiaco), esiste anche N2-BA: entrambe le regioni, a livello fetale o embrionale nel cuore con un tratto elastico molto più lungo, prima della nascita, ricompare in alcune patologie cardiache come la cardiomiopatia ischemica o cardiomiopatia dilatativa dove un tratto elastico maggiore bilancia la rigidità che si è creata a causa della patologia → effetto compensativo
- regione PEVK: presente in entrambi i muscoli, è una regione che contiene prevalentemente 4 amminoacidi Prolina, E= acido glutammico, Valina, K: lisina → può essere più o meno grande, maggiore è minore è la rigidità della struttura

Nella parte non elastica, vicino all'inserzione sulla linea M, è presente una regione dotata di attività chinasi (attività enzimatica), una chinasi, Ca^{++} /calmodulina-dipendente → attivata dal calcio.

Regione con attività enzimatica protein chinasi: può attivare una zona che porta a modificazioni cellulari fino ad arrivare all'adattamento. Attacca fosfati dall'ATP a un'altra proteina attivandola o inattivandola.

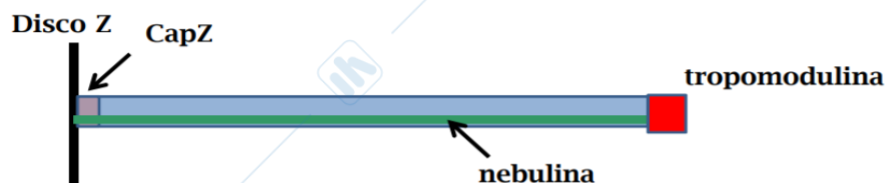
FUNZIONI TITINA:

- agevolare il ritorno del sarcomero allungato alla sua lunghezza di riposo, quindi impedire una sovradistensione del sarcomero durante il processo di rilasciamento.
- contribuire alla tensione passiva generata dal muscolo (molla molecolare): è responsabile di circa la metà della tensione passiva generata dal muscolo a riposo (azione meccanica).
- stabilizzare la posizione dei filamenti nelle miofibrille, ruolo strutturale.
- guidare l'organizzazione dei filamenti nella miofibrillogenesi
- regolare vie di signalling grazie sia all'interazione con molti regolatori trascrizionali sia attraverso il suo dominio della chinasi, converte il segnale elettrico in chimico, segnale nella cellula

NEBULINA: è una grande proteina non elastica (PM 500- 900 kDa) presente nei muscoli scheletrici. È ancorata al disco Z e segue il filamento sottile, di cui ha la stessa lunghezza.

Actina, miosina sono la linea azzurra e nebulina è quella verde, l'estremità è libera.

C'è un cappuccio CapZ e dove termina: tropomodulina (proteina), quindi si può dire che è incappucciato che impediscono che vari la lunghezza del filamento sottile.



In condizione di assenza di nebulina ho un disallineamento dei sarcomeri, che diventano sfalsati, ho una situazione alterata. Anche la lunghezza dei miofilamenti sottili → è un problema.

Conseguenze:

- minore stabilità del filamento sottile;
- formazione di dischi Z più larghi perché le varie strutture non riescono ad interagire bene tra loro
- ridotto assemblaggio di CapZ all'actina e della tropomodulina;
- alterato allineamento dei filamenti di actina → contrazione meno efficace.

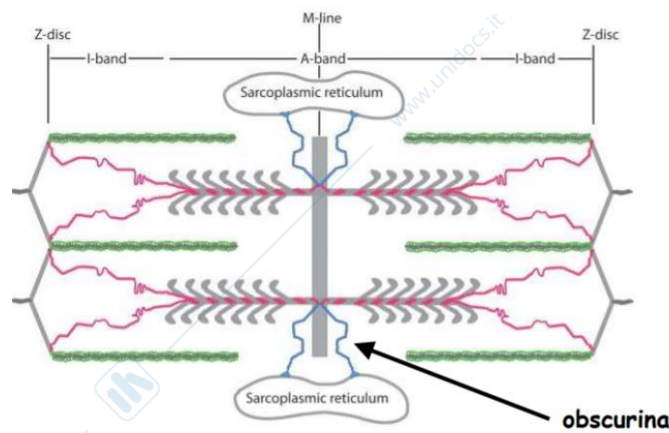
FUNZIONI NEBULINA:

- Fa da guida per il filamento sottile (mantiene allineamento actina) e sembra sia il modello su cui si organizza questo filamento (determina lunghezza filamento sottile);
- Mantiene il regolare allineamento laterale tra i sarcomeri adiacenti collegando le miofibrille e la rete dei filamenti intermedi extrasarcomerici;
- Funziona da trasduttore del segnale in risposta allo stress meccanico (inserita nei dischi Z);
- Sembra avere un ruolo come regolatore della contrazione.

OBSCURINA è una grande proteina non elastica (PM~ 720- 900 kDa) presente nei muscoli scheletrici e nel miocardio. Durante le prime fasi dello sviluppo muscolare è localizzata alla periferia dei dischi Z, mentre nel muscolo maturo si trova soprattutto a livello della linea M.

Sembra avere un ruolo nell'assemblaggio/allineamento e nell'organizzazione del reticolo sarcoplasmatico e della miofibrilla, sia nel muscolo maturo che durante le fasi di sviluppo.

Verde nebulina e filamento sottile, rossa titina e obscurina azzurra:



DISCO Z Sono presenti molte proteine deputate al fissaggio dei filamenti sottili e alla connessione delle strutture proteiche con polarità opposta dei due sarcomeri adiacenti, in modo da permettere la trasmissione della tensione meccanica sviluppata durante la contrazione.

La principale proteina è: alfa-actinina forma il principale legame tra filamenti di actina di polarità opposta appartenenti a sarcomeri adiacenti

Lo spessore dei dischi Z varia in base al tipo di fibra (lenta, veloce) e al tipo di muscolo (scheletrico, cardiaco). La struttura è abbastanza rigida, mantiene comunque una certa flessibilità, infatti i dischi Z in sezione trasversale cambiano aspetto se il sarcomero è a riposo o in contrazione:

- small
- square form, a riposo
- basketweave form, durante la contrazione.

