

Fisiologia Specifica

-----IL TESSUTO MUSCOLARE-----

Il tessuto muscolare è il più rappresentato nell'organismo ed è diversificato dal punto di vista della struttura, dal punto di vista della contrazione e del suo controllo ed è coinvolto nel mantenimento della postura, nella eiezione del sangue nei vasi. Per svolgere queste funzioni il tessuto muscolare è suddiviso in tre diversi tipi: **scheletrico**, **cardiaco** e **liscio o viscerale**. Questi tipi di muscoli sono localizzati in parti diverse del nostro corpo, hanno strutture diverse, sono controllati da parti diverse del sistema nervoso e svolgono funzioni diverse. Tutti i tipi di muscolo, scheletrico, cardiaco e liscio, sono costituiti da cellule muscolari, che sono *cellule contrattili* e *contrazione significa sviluppo di forza e accorciamento* e sono poi in grado di rilassarsi. Stato di riposo di un muscolo: muscolo si rilassa. Fase attiva della contrazione in cui si sviluppa forza e accorciamento e una fase di rilassamento in cui muscolo torna alla lunghezza iniziale. Tutte le cellule contrattili sono *cellule eccitabili*, in grado di rispondere a uno stimolo generando un potenziale di azione, il segnale di membrana indurrà la contrazione. Dal punto di vista della localizzazione: scheletro, cuore e all'interno degli organi. Il *meccanismo molecolare della contrazione*: interazione fra la teste della miosina e i monomeri dell'actina che costituiscono i motori molecolari per la generazione di forza che si chiamano ponti trasversali o cross bridges. Questo meccanismo è comune a tutti e tre i muscoli, tuttavia oltre alle differenze morfologiche, i muscoli si classificano in: **striati**, che sono lo scheletrico e il cardiaco, **lisci**, all'interno dei visceri. Presentano differenze elettrofisiologiche: valori di potenziali di membrana di riposo diversi, rispondono alla variazione del potenziale di membrana in modo diverso; differiscono per caratteristiche meccaniche perché alcuni tipi di muscoli rispondono a uno stimolo sviluppando una risposta meccanica di tipo scossa singola oppure tetano come nel caso del muscolo scheletrico o una risposta meccanica soltanto di tipo scossa come nel muscolo cardiaco. Differiscono per il controllo nervoso di tipo diverso e differiscono per diversi meccanismi di controllo cellulare della contrazione. Struttura: in base alla presenza o assenza di sarcomeri, i muscoli si classificano in striati o lisci, che non presentano striature e non sono organizzate le cellule in sarcomeri. Localizzazione: scheletro, cuore e organi interni. Controllo nervoso: muscoli volontari e involontari. Il **muscolo scheletrico è volontario**, si contrae in seguito a stimoli che provengono dai motoneuroni i cui corpi cellulari sono localizzati nelle corna ventrali della sostanza grigia del midollo spinale e da parte dei nuclei motori dei nervi cranici. I nostri muscoli scheletrici si contraggono in seguito ad uno stimolo volontario discendente, dipendente dalla nostra volontà oppure si contrae in maniera riflessa, indipendente alla volontà. Il sistema nervoso che controlla la contrazione del muscolo scheletrico è il **sistema nervoso somatico, deputato al controllo di tipo volontario**. Alcune contrazioni del muscolo scheletrico avvengono in maniera automatica: il diaframma che è controllato dal nervo frenico. I muscoli vengono classificati in involontari: cardiaco e liscio che sono sotto il controllo del **sistema nervoso autonomo**. Il muscolo cardiaco oltre a essere sotto il controllo del sistema nervoso autonomo, è in grado di generare spontaneamente il segnale elettrico che porta alla contrazione, ovvero è un muscolo autoritmico dotato di una regione deputata alla generazione spontanea del pdA, le cellule pacemaker localizzate nel nodo seno atriale, che è il pacemaker fisiologico del cuore. Il muscolo liscio nei vasi sanguigni e nel tratto gastrointestinale è dotato di regioni pacemaker, un gruppetto di cellule in grado di generare spontaneamente il pdA senza che il segnale d'azione sia indotto dalla stimolazione del sistema nervoso.

Qual è la differenza tra una cellula che per generare un pdA ha bisogno di uno stimolo da parte del sistema nervoso e una cellula che è in grado di generare un pdA senza che ci sia un segnale esterno? Se non c'è un segnale le fibre muscolari scheletriche non si contraggono, al contrario le cellule del cuore generano spontaneamente il segnale elettrico che poi porterà a un segnale meccanico, la contrazione. Le cellule del

cuore si autoeccitano. Come una cellula può andare incontro a un pdA, quando insorge? Deve essere superata la soglia, quel valore del potenziale di membrana di una cellula eccitabile raggiunto e superato il quale, quello che è un potenziale graduato sottosoglia diventa una risposta attiva che è il potenziale d'azione. Alla fibra muscolare scheletrica il segnale le arriva dal motoneurone che la stimola: giunzione neuromuscolare, mentre alcune cellule non hanno bisogno di un segnale che arrivi dal sistema nervoso, sia esso somatico o autonomo, lo generano da sole il pdA. Il potenziale di membrana di riposo di una fibra muscolare scheletrica: -90mV, quando si raggiunge la soglia insorge il pdA. Nelle cellule eccitabili che non hanno bisogno di un segnale esterno, esiste un **costante disequilibrio elettrico**, non esiste un potenziale di membrana di riposo stabile. Quando una cellula ha un potenziale di membrana di riposo stabile occorre un segnale elettrico o chimico che porti la cellula a raggiungere la soglia per l'insorgenza del pdA. Quando una cellula, come quelle del nodo seno atriale, ha un disequilibrio elettrico, ovvero non ha un potenziale di membrana di riposo stabile non è necessario un segnale esterno per raggiungere la soglia, essa viene raggiunta spontaneamente. Le cellule del seno atriale raggiungono la soglia in un minuto circa 65/70 volte.

Autoritmicità significa che una cellula muscolare è in disequilibrio elettrico, non presenta potenziale di membrana di riposo stabile e raggiunge la soglia spontaneamente senza l'aiuto di segnali esterni, questa capacità è propria del muscolo cardiaco e di alcuni muscoli lisci che sono controllati nella loro autoritmicità dal sistema nervoso autonomo.

MUSCOLO

SCHLETRICO

Muscolo striato organizzato in sarcomeri, responsabile di movimenti sia riflessi che volontari, è il tessuto più abbondante, varia in percentuale in base al genere, allo stato di salute, all'età, rappresenta il 40-50% del peso corporeo totale e costituisce la massa magra. Il muscolo scheletrico ha alle estremità i tendini che lo collegano allo scheletro. *Eccezione:* muscoli che non presentano tendini e non sono collegati allo scheletro: sfintere anale e vescicale, muscoli mimici e lingua. I muscoli scheletrici sono i responsabili della postura, dei movimenti delle varie parti dello scheletro e **il muscolo scheletrico è un motore biologico**: è in grado di convertire l'energia chimica ATP in energia meccanica. Non è un motore ideale, nella conversione di energia abbiamo una dispersione di calore che coinvolge il muscolo nella termoregolazione dell'organismo. Questo calore è funzionale al mantenimento della temperatura corporea. Prova volontaria quando abbiamo freddo: ci muoviamo; prova involontaria che avviene per aiutare la termoregolazione: il brivido. Il brivido è una contrazione involontaria generalizzata del muscolo scheletrico, questa contrazione è funzionale alla dispersione del calore per ripristinare la temperatura. I muscoli hanno un punto di origine e uno di inserzione, abbiamo muscoli antagonisti e sinergisti quando agiscono insieme. I muscoli scheletrici si formano nell'embrione attraverso la **miogenesi** dalla fusione di cellule precursori, **mioblasti**, cellule embrionali che originano dal mesoderma che in fasi iniziali dello sviluppo vanno incontro a differenziazione. Succede che queste cellule nel formare la fibra muscolare scheletrica si fondono: **le fibre muscolari scheletriche sono cellule multi nucleate.** All'interno delle fibre muscolari troviamo anche **cellule satelliti**, che sono le cellule staminali, funzione di garantire la ricrescita post natale del muscolo scheletrico, si può avere rigenerazione e riparazione cellulare parziale. *Ipertrofia muscolare*: situazione in cui il muscolo nel suo insieme aumenta di volume, va incontro ad aumento di volume attraverso due sistemi: aumenta il numero di fibre muscolari o aumenta la sezione delle fibre muscolari che costituiscono il muscolo. L'ipertrofia fisiologica è quella di quando ci alleniamo, che aumenta la massa muscolare: il muscolo aumenta di dimensioni perché aumenta la sezione delle singole fibre muscolari. Quando una fibra muscolare scheletrica va incontro a un danno si ha l'attivazione cellule satelliti, che possono produrre nuove fibre e si parla di **IPERPLASIA** oppure proliferano e si fondono con la fibra muscolare danneggiata aumentandone la sezione e riparandone il danno. Come è organizzato il muscolo scheletrico? Il muscolo scheletrico è avvolto da guaina connettivale esterna: *epimisio, perimisio, endomisio* (sottile guaina

connettivale circonda ogni singola cellula). Membrana plasmatica: **sarcolemma + lamina basale**. All'interno del muscolo troviamo le unità cellulari: fibre muscolari. Cellule disposte in parallelo, organizzate in sarcomeri e presentano per la loro lunghezza delle striature trasversali e all'interno di ogni fibra muscolare si trovano delle unità più piccole: le **miofibrille**. Sono delle strutture cilindriche, si estendono per tutta la lunghezza della fibra, in parallelo tra loro e disposte secondo la lunghezza del muscolo e le striature stanno per orizzontale, sarcomeri disposti in serie (orizzontali). Tra le diverse miofibrille troviamo mitocondri, strutture in cui avvengono processi biochimici per arrivare alla produzione di ATP e glicogeno, depositi di energia. All'interno della miofibrilla i sarcomeri sono in serie, tra le diverse miofibrille essi sono in parallelo (nella sezione trasversale). La disposizione in serie o in parallelo ha un effetto diverso nello sviluppo della forza. I sarcomeri rappresentano le unità anatomiche funzionali del muscolo: sarcomero è la più piccola struttura all'interno della cellula muscolare in grado di svolgere la funzione d'organo, ovvero sviluppare forza e accorciarsi. Sarcomero delimitato dalle linee o dischi Z, presenta al suo interno delle bande chiare e le bande scure. Le bande chiare sono le bande I e si trovano a cavallo di ogni linea Z e le bande scure sono le bande A nel centro del sarcomero. Nel sarcomero abbiamo due semibande I e una centrale A. All'interno della banda A vi è una zona più chiara, la zona H e al centro del sarcomero la linea M. È questa precisa struttura del sarcomero che rende conto della tipica striatura che hanno i muscoli striati. Il sarcomero è costituito dai miofilamenti spessi e sottili. All'interno del sarcomero troviamo due semibande I accanto alle linee Z e una banda I sta a cavallo di due sarcomeri e una banda A. **Banda I isotropa; anisotropa banda A**. Banda I presenza solamente di filamenti sottili (actina e due proteine regolatrici: troponina e tropomiosina), nella banda A (miosina) abbiamo la sovrapposizione tra miofilamenti spessi e sottili, e all'interno della banda A abbiamo una zona chiara in cui non si hanno le teste della miosina, nella banda H. Al centro solo filamenti spessi.

- **Banda A:** scura, data dalla sovrapposizione tra i filamenti spessi e sottili
- **Banda I:** chiara, isotropa, solo filamenti sottili
- **Banda H:** banda più chiara al centro della banda A, ci sono solo filamenti spessi senza teste
- **Linea M:** scura al centro dove ci sono altre proteine strutturali
- **Dischi Z o Linee Z:** delimitano il sarcomero, linee scure al centro della banda I a cui sono ancorati i filamenti sottili

I motori molecolari, i legami tra le teste della miosina e l'actina si possono formare solo dove c'è la sovrapposizione dei miofilamenti. Interazione tra miosina e actina significa che i legami si hanno quando le teste di miosina si legano all'actina. Dentro al sarcomero ci sono le **proteine sarcomeriche**: - proteine contrattili deputate alla contrazione: miosina e actina, - proteine regolatrici: troponina e tropomiosina si trovano colocalizzate con l'actina nei filamenti sottili, - proteine strutturali: titina. Secondo la sezione trasversale, il filamento spesso è al centro di un esagono e a ogni vertice ci sono 6 filamenti sottili, sporgono le teste e si formano i legami: **legami acto miosionici o ponti trasversali o cross bridges**. Filamento sottile costituito dalla proteina contrattile actina e da due proteine regolatrici. Actina: doppio filo di perle, filamento a doppia elica. Troponina e tropomiosina regolano la contrazione, regolano l'interazione tra actina e miosina. La tropomiosina è una proteina filamentosa ogni 7 sfere di actina e troponina che è costituita da tre subunità, C,I,T. Miosina: coda, collo e testa, 2 teste. Attività enzimatica: la miosina è un ATPasi presenta 2 siti a livello della testa, uno per legarsi all'actina e uno a cui si lega e in cui viene idrolizzato l'ATP. Nella zona nuda dove non ci sono teste non si formano legami con l'actina. La velocità di idrolisi dell'ATP dipende dalla possibilità o meno di legame con l'actina, le due teste sono identiche, su ogni testa ci sono i due siti. La parte delle teste è detta **Dominio motore** perché è quella che fa la contrazione. **Miosina 3 isoforme**: che idrolizzano ATP a velocità diverse sono espresse diversamente nelle fibre e la presenza di un isoforma determina le caratteristiche e la classificazione delle diverse fibre muscolari.

Nell'uomo esistono: fibre di tipo 1 fibre rosse lente resistenti alla fatica (maratoneta) , fibre di tipo 2A e fibre di tipo 2X bianche, rapide (centometrista). Questa diversa tipologia di fibre muscolari dipende dall'espressione delle diverse isoforme della miosina.

Titina: più grande proteina in natura. Distrofina: collega i sarcomeri con la membrana plasmatica. In casi di deficit di distrofina si incontro a una serie di patologie, classificate come distrofie muscolari: di **Duchenne**. Malattia genetica neuromuscolare, caratterizzate da assenza o carenza strutturale e funzionale della distrofina che portano a una generazione del sistema muscolare, porta a una riduzione delle abilità motorie, ipotonia: il muscolo viene infiltrato da grasso e in una fase iniziale non sembra che ci sia carenza muscolare ma abbiamo ipotonia: perdita della forza.

-----RELAZIONE STRUTTURA-FUNZIONE-----

Contrazione significa sviluppo di forza e accorciamento, dopo il PDA c'è un meccanismo: accoppiamento eccitazione-contrazione. Il muscolo va incontro a accorciamento. Sviluppo di forza e accorciamento, accorciamento non sempre del muscolo ma del sarcomero. Il sarcomero diventa più corto quando va incontro a contrazione, si avvicinano i dischi Z, ridotte bande I ma non è cambiata la lunghezza della banda A ma la struttura, i miofilamenti scorrono l'uno sull'altro. Con l'avvio della contrazione le teste di miosina si legano ai monomeri di actina e il filamento sottile scorre verso il centro del sarcomero. Durante la contrazione: linee z si avvicinano, banda I si riduce, banda A rimane inalterata ma cambia di colore perché i filamenti sottili sono andati al centro del sarcomero, banda H si riduce . *Teoria dello scorrimento dei filamenti*: è lo scorrimento dei filamenti sottili verso il centro del sarcomero il meccanismo molecolare della contrazione. **La lunghezza dei mio filamenti non cambia o cambia molto poco con la variazione di lunghezza del sarcomero** . L'accorciamento avviene grazie allo scorrimento dei miofilamenti, questo scorrimento è possibile grazie alla formazione dei legami acto miosinici, ponti trasversali o cross bridges che sono i motori molecolari per la generazione della forza. **La quantità di forza maggiore o minore dipende dal numero di cross bridges che si possono formare. La forza massima che una fibra muscolare scheletrica sviluppa si avrà tutte le volte che ci sono le condizioni affinché si formino il massimo numero di cross bridges. Nelle condizioni in cui il numero di cross bridges si riduce rispetto al massimo, la forza diminuisce. Una volta raggiunta la forza massima non si può andare oltre quel valore.** Durante la contrazione abbiamo un ciclico attacco e distacco delle testa di miosina dall'actina, per ogni ciclo si consuma 1 ATP.

Crossbridges sono i motori molecolari per la generazione di forza e accorciamento, nelle teste di miosina che si legano all'actina avviene un cambiamento conformazionale che dà origine al *power o working stroke*, sancito dalla teoria dei crossbridges, la forza che una fibra muscolare genera è dovuta all'azione ciclica dei crossbridges, sono i domini motori che si legano all'actina che generano forza facendo scorrere i filamenti gli uni sugli altri e poi si staccano e inizia un nuovo ciclo. L'attività ATPasica della miosina è regolata dall'actina, la testa di miosina quando si lega all'actina avviene il rilascio dei prodotti. Idrolizzare l'ATP significa che viene trasformato in ADP e fosfato inorganico. Avremo prima il distacco del fosfato inorganico, e poi l'ADP. Una volta rilasciati la miosina cambia conformazione fa sì che la testa della miosina ruoti e questo fa scorrere i filamenti e fa avvicinare i dischi Z e ogni testa di miosina può andare avanti e compiere diversi cicli di interazione con l'actina. Quindi le teste di miosina si attaccano all'actina in siti specifici che si trovano sui monomeri dell'actina, ogni testa di miosina si lega con un monomero di actina, si staccano. I CB agiscono come generatori di forza indipendenti, che sono disposti in parallelo gli uni con altri. Le forze in serie non si sommano, le forze in parallelo si sommano, si sviluppano forze maggiori all'aumentare del numero dei cross bridges disposti in parallelo.

-----CICLO MECCANICO-CHIMICO DEI CROSSBRIDGES-----

1- **STATO DI RILASCIAMENTO:** Miosina legata all'ATP, che va incontro a idrolisi, porta alla formazione di ADP e fosfato inorganico. Quando la miosina ha idrolizzato l'ATP, si trova in stato energizzato si lega all'actina, si forma il complesso actina-miosina senza che ci sia sviluppo di forza, rilascio del fosfato inorganico con generazione di forza e una volta rilasciato il fosfato inorganico la testa di miosina ruota e ha ancora legato l'ADP: *stato di rigor*. Rigor mortis le teste non si staccano dall'actina. Prima rilasciamo il fosfato inorganico, colpo di forza, a quel punto la testa di miosina è legata all'actina e la presenza di una nuova molecola di ATP permette il distacco e garantisce nuovo ciclo.

Se mettiamo in vitro delle molecole di actina e miosina, sul vetrino portaoggetti facciamo una sorta di tappetino di teste di miosina e in questa camera ci mettiamo una soluzione in cui ci sono dei filamenti di actina, che vengono resi fluorescenti, vengono marcati. Se nella camera sperimentale aggiungiamo l'ATP si comincia a vedere che i filamenti di actina cominciano a muoversi, filamenti di actina che scorrono sul tappeto di teste di miosina. Se faccio lo stesso esperimento ma invece di mettere il filamento di actina ci metto il filamento sottile, costituito da actina, troponina e tropo miosina non ho nessuno scorrimento anche se aggiungo l'ATP, solo in presenza di una adeguata concentrazione di calcio intracellulare è possibile l'interazione tra l'actina e la miosina. Cosa cambia rispetto alla situazione in cui ho il solo filamento di actina? E perché ci sono dei momenti in cui actina e miosina interagiscono e altri in cui non interagiscono? La differenza sta nel *meccanismo di regolazione della contrazione*: solo in presenza di una adeguata concentrazione di calcio è possibile interazione tra actina e miosina. Il legame del calcio alla subunità C della troponina che determina un cambiamento conformazionale che fa spostare la tropo miosina e consente alle teste di miosina di legarsi ai monomeri di actina. Nei muscoli striati, scheletrico e cardiaco, la regolazione opera sui filamenti sottili; nel muscolo liscio è necessario un aumento transitorio di Ca per avviare la contrazione ma dal momento in cui nel muscolo liscio non è presente la troponina, la regolazione avviene sui filamenti spessi di miosina e non su quelli sottili. Perché in vivo cambia la concentrazione citoplasmatica di calcio? Il meccanismo attraverso il quale si arriva all'aumento transitorio della concentrazione di calcio, ovvero si passa dalla risposta elettrica che è il pdA alla risposta di forza, si chiama meccanismo di **accoppiamento-eccitazione/contrazione**. Contrazione è la risposta meccanica che consegue al pdA è sempre preceduta da un segnale chimico, che è l'aumento transitorio della concentrazione del Ca citoplasmatico.

Situazione filamento sottile: palline rosse = monomeri di actina; grigio = proteina filamentosa regolatoria tropo miosina, una ogni 7 palline di actina e troponina, costituita da sub unità C che lega il calcio, la T che è legata alla tropomiosina e I che è inibitoria ed è legata all'actina; pallini neri = siti di legami dell'actina in cui si legano le teste di miosina. Situazione filamento spesso: corpo, code che sporgono dal collo e dai domini motori, entrambe le teste hanno il sito per l'actina e il sito per l'ATP. In condizioni di riposo, bicipite rilasciato, la concentrazione citoplasmatica di calcio è estremamente bassa, 10 alla -7 molar. Questo significa che non c'è calcio dentro la cellula? No, il Ca è immagazzinato nel reticolo sarcoplasmatico: l'aumento transitorio della concentrazione di Ca è un segnale che attiva i processi cellulari, determina la contrazione, la liberazione del neurotrasmettitore, serve alle cellule endocrine per liberare un ormone. Nel citoplasma il Ca è assente e in seguito a processi il Ca o entra da fuori o viene liberato dall'interno della cellula dove è immagazzinato nel reticolo.

Se siamo in condizioni di riposo, riposo significa che la miosina copre i siti attivi sull'actina, che la concentrazione citoplasmatica del Ca è bassa. A un certo punto abbiamo un aumento del calcio intracellulare, concentrazione arriva a 10 alla -6 molar. Una volta che la concentrazione di Ca è aumentata di 100 volte, il Ca si lega alla subunità C della troponina che termina un cambiamento conformazionale che

fa spostare la tropomiosina, questo spostamento della tropomiosina libera i siti attivi sui monomeri dell'actina e può legare la miosina. Finché sono legati i prodotti di idrolisi non si ha lo sviluppo di sforzo. Si libera prima il fosfato inorganico (power stroke) e poi l'ADP, la testa si distacca in vivo uscendo dallo stato di rigor quando arriva un'altra molecola di ATP che si lega al sito attivo. Fino a quando le teste di miosina possono andare incontro ai cicli di attacco-distacco? Fino a che c'è un segnale che tiene elevata la concentrazione di calcio intracellulare, quando la concentrazione del calcio diminuisce si distacca dalla subunità C e si crea cambiamento conformazionale e si torna a stato di riposo in cui tropomiosina ricopre i siti attivi sui monomeri dell'actina per le teste di miosina. Quando la concentrazione del Ca aumenta si lega alla troponina C, si sposta la tropomiosina, le teste di miosina si legano ai monomeri dell'actina, libera fosfato e ADP, e il filamento sottile scorre verso il centro del sarcomero. **Concetto di lunghezza ottimale del sarcomero: la lunghezza alla quale c'è la massima sovrapposizione tra i miofilamenti.**

Com'è che il Ca nel citoplasma aumenta? Parte un segnale veicolato dal sistema somatico portato dai motoneuroni somatici che stimolano la fibra muscolare scheletrica, che risponde alla stimolazione del motoneurone somatico sviluppando un pdA, in seguito al pdA avviene un meccanismo di accoppiamento eccitazione – contrazione che fa aumentare la concentrazione di Ca citoplasmatico: pdA – aumento calcio intracellulare – regolazione della contrazione - possibilità di interazione tra actina e miosina – formazione dei cross bridges : output meccanico, risposta di forza e accorciamento. Nella fibra muscolare scheletrica il Ca necessario alla contrazione fuoriesce dal reticolo sarcoplasmatico, nel cuore il calcio necessario per la contrazione proviene in parte dall'esterno e in parte dal reticolo sarcoplasmatico. Chi è che dice alla fibra muscolare scheletrica di sviluppare il pdA? Il segnale elettrico lo porta il motoneurone somatico. E come mai da un segnale che parte dal motoneurone somatico si arriva al pdA alla fibra muscolare? Il Ca entra nel motoneurone, le vescicole contenenti il neurotrasmettitore (acetilcolina) si fondono con la membrana del neurone, fuoriesce l'acetilcolina, siamo collocati a livello della giunzione neuromuscolare (esempio di sinapsi chimica sempre eccitatoria, neuro effettrice perché c'è il neurone di una cellula effettrice). Qual è la funzione della giunzione neuromuscolare? A livello del motoneurone sono immagazzinate le vescicole del neurotrasmettitore, il pdA del motoneurone fa aprire i canali del Ca voltaggio-dipendenti, il Ca entra e in seguito all'aumento del Ca nel motoneurone il neurotrasmettitore acetilcolina viene liberato e si lega ai recettori canale che si trovano sulla fibra muscolare scheletrica. E una volta che l'acetilcolina si lega ai suoi recettori che succede? Cambia il potenziale di membrana, c'è una risposta post sinaptica che si chiama **potenziale di placca sempre sovra soglia**. Tutte le volte che il nostro sistema nervoso somatico va a stimolare una fibra muscolare scheletrica, la stimolazione è sempre eccitatoria, non esistono motoneuroni inibitori nella fibra muscolare scheletrica e sovrasoglia. La stimolazione tale da far sì che la fibra superi la soglia per l'insorgenza del pdA. Nel caso delle sinapsi interneuroniche, tra neuroni, ci sono segnali eccitatori e segnali inibitori. Quando il muscolo bicipite ad esempio è rilasciato come faccio a tenerlo rilasciato se non esiste un controllo diretto inibitorio del motoneurone? Esempio vescica: Lo sfintere interno della vescica liscio sotto il controllo del sistema nervoso autonomo, lo sfintere esterno striato sotto il controllo del sistema nervoso somatico. Quando uriniamo la vescica si contrae e gli sfinteri si rilasciano. Quando gli sfinteri sono contratti, quello interno quando deve essere contratto viene contratto e quando deve essere rilasciato viene inibito, lo sfintere esterno sotto il nostro controllo volontario, solitamente è contratto ma quando lo dobbiamo rilasciare come facciamo se non c'è un controllo inibitorio diretto? Ci sono alcune cellule effettrici, che sia una cellula muscolare o una cellula endocrina, che sono sottoposte a un controllo antagonista eccitatorio o inibitorio da parte del motoneurone che le controlla, che o inibisce o eccita. Il sistema nervoso autonomo ha un controllo generalmente antagonista con il simpatico che fa una cosa e il parasimpatico che ne fa un'altra. Nel muscolo scheletrico ci sarà un neurone che controlla con una sinapsi interneuronica l'interneurone, quando quest'ultimo stimola il motoneurone farà una sinapsi sempre eccitatoria sulla fibra muscolare scheletrica, quando l'interneurone inibisce il motoneurone questo smette

di scaricare e la fibra muscolare scheletrica si rilascia. La giunzione neuromuscolare: si libera l'acetilcolina da parte del motoneurone, interazione acetilcolina con recettore poligenico nicotinico, potenziale di placca sempre sopra soglia, pdA e nella cellula muscolare insorge perché il recettore è un canale, entrano correnti ioniche come il Na capienti che garantiscono il raggiungimento della soglia.

-----PDA IN UNA FIBRA MUSCOLARE-----

Come aumenta il Ca? Tra il pdA, risposta elettrica della fibra muscolare scheletrica e la risposta di forza, risposta meccanica c'è un segnale chimico (azzurro) che è l'aumento transitorio della concentrazione di Ca. , senza questo non si può avere lo sviluppo di forza. Il segnale parte dal motoneurone ma com'è che avviene l'accoppiamento eccitazione-contrazione nella fibra muscolare scheletrica? Nella fibra muscolare scheletrica ci sono delle invaginazione della membrana, detti **tubuli T**, collocate a livello della linea Z o a confine tra banda I e A. Nel punto in cui la membrana si invagina con i tubuli t sono a contatto con le cisterne del reticolo sarcoplasmatico: triadi (costituite da 3 elementi: 1 tubulo T e 2 cisterne terminali del reticolo). Nelle cisterne viene immagazzinato il calcio. Lungo la membrana dei tubuli T ci sono proteine **DHPR**, recettori per le diidropiridine, si trovano a contatto con dei recettori che sono dei canali del calcio che si trovano sulla membrana del reticolo sarcoplasmatico, **RYR**, recettori per la rianodina. Nel muscolo scheletrico il calcio necessario per la contrazione proviene esclusivamente dal reticolo sarcoplasmatico in seguito al pdA, l'accoppiamento eccitazione-contrazione della fibra muscolare scheletrica *di tipo dipendente da voltaggio*, perché è il pdA stesso che determina la disponibilità totale del Ca che fuoriesce tutto dal reticolo. Nel muscolo cardiaco il meccanismo di accoppiamento *eccitazione-contrazione di rilascio di calcio indotto*, inizialmente con il pdA una parte del Ca arriva da fuori, dal liquido extracellulare, corrente di Ca che arriva da fuori determina la disponibilità del restante calcio necessario per la contrazione, che fuoriesce dal reticolo sarcoplasmatico. Per questo si chiama accoppiamento eccitazione-contrazione del tipo di rilascio di calcio indotto dal calcio, perché il calcio che entra da fuori consente la fuoriuscita di altro dal calcio dal reticolo sarcoplasmatico. DHPR e RYR funzionano diversamente nel muscolo scheletrico e nel muscolo cardiaco nonostante le cellule siano organizzate nello stesso modo, con il sarcomero orientato nello stesso modo, con le stesse proteine regolatorie, ma il meccanismo che rende disponibile la quantità di calcio è diverso ed è comunque collegato al pdA. **Affinché ci sia forza deve esserci l'aumento del calcio, affinché ci sia l'aumento del calcio ci deve essere il pdA, il pdA è un segnale indispensabile ma indiretto per lo sviluppo di forza**, perché il pdA porta all'aumento del calcio e la disponibilità del calcio che agisce poi sulle proteine regolatorie etc. Com'è che nella fibra muscolare scheletrica dal pdA si libera il Ca? Nella fibra muscolare scheletrica dopo la stimolazione da parte del motoneurone che libera l'acetilcolina, insorge il pdA: tutto o nulla, si passa da valori negativi a positivi, procede senza attenuazione. Una volta che è insorto viaggia lungo la membrana sarcoplasmatica e si invagina all'interno attraverso i tubuli T. Sulla membrana dei tubuli T ci sono le proteine DHPR, potrebbero avere due funzioni: sono canali voltaggio dipendenti, come succede nel cuore oppure nel muscolo scheletrico funzionano da sensori di voltaggio. Nella fibra muscolare scheletrica le proteine DHPR e RYR sono fisicamente attaccate le une alle altre, in condizioni di riposo questa struttura DHPR e RYR tiene i canali del calcio chiusi e quindi questo rimane nel reticolo sarcoplasmatico, quando c'è il pdA, che è un'inversione del potenziale di membrana, la DHPR che nella fibra muscolare scheletrica funziona da sensore di voltaggio con il cambio del potenziale cambia di conformazione, fa aprire i canali RYR e una volta aperto il Ca fuoriesce dal reticolo sarcoplasmatico, la concentrazione aumenta. Nel muscolo cardiaco c'è di simile che c'è più Ca nel LEC e poco nel LIC, sta dentro al reticolo sarcoplasmatico, le proteine coinvolte sono DHPR e RYR ma hanno isoforme diverse. Nel muscolo scheletrico DHPR funzionano a sensori di voltaggio e stanno attaccate con RYR, nel cardiomiocita DHPR è un canale voltaggio dipendente e non sta fisicamente attaccato con RYR, quando arriva il pdA nel cardiomiocita DHPR si apre, il Ca entra e si lega a RYR e lo fa aprire e il calcio fuoriesce. Il calcio quando la

fibra muscolare scheletrica si deve rilasciare, bisogna che la sua concentrazione si riabbassi, Ca torna nel reticolo sarcoplasmatico, mentre nel cardiomiocita quello che era venuto da fuori tornerà nel LEC e quello che era uscito dal reticolo tornerà nel reticolo. Chi lo porta dentro il reticolo e viene portato gratis? Se il reticolo sarcoplasmatico è un magazzino di Ca, se io apro una porta il Ca diffonde passivamente nel citoplasma senza consumare energia, ma quando la cellula muscolare si deve rilasciare e il Ca deve tornare o nel LEC o nel reticolo devo pagare per questo, devo consumare energia per spostarlo contro gradiente. Sulla membrana ci sono delle pompe ATP asiche e sul reticolo c'è la pompa SERCA, calcio ATPasi, una proteina che consuma ATP per portare il CA nel reticolo. Per far lavorare meno la pompa SERCA (perché la concentrazione di Ca è elevata nel reticolo ma inesistente nel citoplasma), il calcio dentro al reticolo è legato a una proteina che ne abbassa la concentrazione: calsequestrina.

Riassumendo: Nelle fasi di accoppiamento eccitazione-contrazione: motoneurone del sistema nervoso somatico che contiene le sue vescicole contenenti l'acetilcolina, quando nel motoneurone c'è un pdA entra il Ca nel motoneurone, l'aumento della concentrazione del Ca del motoneurone determina una fusione delle vescicole con la membrana del motoneurone, si libera l'acetilcolina che si lega ai suoi recettori polinergici nicotinici che sono recettori canali, si lega l'acetilcolina si aprono e entra tanto Na da generare un potenziale di placca che è sempre sopra soglia con insorgenza del pdA, in seguito al pdA cambia la distribuzione delle cariche positive e negative, questa variazione viene avvertita dal DHPR che funziona da sensore di voltaggio che è attaccato con il RYR, che è il canale del Ca sul reticolo sarcoplasmatico dove è immagazzinato il Ca tenuto legato alla calsequestrina. L'apparato contrattile all'interno della miofibrilla, ho il filamento sottile: actina e proteine regolatorie e il filamento spesse, teste di miosine che sporgono con legato l'ATP. Succede che quando viene liberato il Ca, si lega alla troponina, contrazione, accorciamento, poi la cellula si deve rilasciare e sparisce il pdA, il motoneurone non stimola più perché l'interneurone lo inibisce. Quindi il DHPR non fa più aprire i RYR, SERCA abbassa la concentrazione del Ca, diminuisce quantità Ca, troponina C perde affinità per Ca e via via si stacca e viene portato dentro da SERCA.

Fisiologia

21/03/2024

La risposta meccanica della fibra muscolare:

La fibra muscolare scheletrica, è una singola cellula, molto grande, anche di decine di centimetri. Queste fibre in vivo vengono eccitate dalla stimolazione da parte del motoneurone, ma le singole fibre possono essere studiate in vitro, in laboratorio. Le fibre muscolari, essendo grandi, se vengono isolate in un modello animale, mantenendo la membrana intatta sono in grado di rispondere a uno stimolo. Sia il muscolo nel suo insieme che le singole fibre possono essere isolate per studiarne le risposte meccaniche. La generazione di forza è dovuta alla presenza di motori molecolari, i legami acto-miosinici, generatore indipendente di forza. I crossbridges costituiscono la componente contrattile della fibra muscolare e del sarcomero. Se prediamo un modello meccanico, vediamo la componente contrattile che è in parallelo con la componente elastica, costituita dall'elasticità di una proteina strutturale, la titina, che si estende per tutto il sarcomero. Queste stanno in serie con un'altra componente elastica che è il tendine. La forza viene trasmessa allo scheletro, che si muove. Il sistema in cui ci sono elasticità in parallelo: la forza totale è data dalla somma delle forze che sono in parallelo. La forza totale è data dagli n elementi che costituiscono il sistema. La variazione della lunghezza corrisponde a quella di un singolo elemento. Il sistema in cui ci sono elasticità in serie: la forza totale in uscita è data dalla forza di un singolo elemento, la variazione di lunghezza totale è data dalla sommatoria della variazione di lunghezza di ogni singolo elemento. Le forze elastiche sono quelle forze di richiamo che hanno un'intensità direttamente proporzionale di uno spostamento, uguale alla costante K che rappresenta la rigidità moltiplicata per lo spostamento. $F = k \times \Delta L$ riguarda una molla ideale, priva di massa. La K è la costante elastica della molle e ci dà l'idea di quanto sia difficile distendere o comprimere la molla, la sua rigidità. Il nostro muscolo e la fibra muscolare

ha una meccanica che tiene conto dello sviluppo di forza, della variazione della lunghezza e della rigidità. $F/\Delta L$ è detta rigidità. Le fibre che sviluppano più forza saranno quelle che hanno una sezione più grande. L'estensione se applico la stessa forza rimane la stessa, per ottenere lo stesso allungamento devo applicare la stessa forza. Miofibrilla con sarcomeri e consideriamola come sistema di riferimento: com'è che posso sviluppare una forza pari ad esempio a 2g? Prendo una fibra con sezione trasversa più grande (ipertrofia) oppure metto due fibre di un grammo in parallelo (iperplasia). La forza aumenta perché aumenta le singole sezioni delle fibre. Se questo raddoppio lo ho perché la fibra diventa lunga il doppio, la forza rimane invariata. Questo perché ci sono i crossbridges che rimangono dal punto di vista della sommatoria delle forze gli stessi. Dal punto di vista funzionale della meccanica, l'unità del muscolo non è il sarcomero ma mezzo sarcomero, che è in serie con l'altra metà. La forza che un muscolo sviluppa per unità di sezione trasversale è più o meno costante. Tensione: no fenomeno elettrico, in meccanica muscolare è il sinonimo di forza: è la forza divisa per l'area. Non fa nessuna differenza la lunghezza della fibra muscolare? Questa differenza riguarda la velocità di accorciamento, fibre di sezione maggiore sviluppano più forza di una con sezione minore, ma fibre più lunghe riescono ad accorciarsi più velocemente. Più veloci le fibre che sono più lunghe.

Noi siamo in grado di isolare una singola fibra muscolare dal muscolo, senza danneggiare la membrana perché non insorgerebbe più il pdA. Se la stimoliamo con elettrodi esterni, si cambia conformazione dei DHDR. Ai capi della fibra applico un trasduttore di forza e un sistema per le variazioni di lunghezza. Come la fibra genera il pdA? In vivo con lo stimolo del motoneurone, oppure con stimolo elettrico. Dopo che la fibra ha sviluppato il pdA sottostimolo del motoneurone e dell'elettrodo, si registra una risposta meccanica: scossa singola o scossa semplice. **La scossa è la risposta meccanica contrattile della fibra ad un solo pdA che insorge nella fibra muscolare stessa.** Tra la risposta elettrica e quella meccanica c'è un ritardo: periodo di latenza, latenza tra pdA del motoneurone e il pdA della fibra, in mezzo c'è la giunzione neuromuscolare, acetilcolina. Dentro la fibra muscolare tra pdA e scossa singola, c'è il rilascio del Ca. Scossa singola o twitch risposta di forza a un singolo pdA. Nella fase di salita: la fibra sviluppa poca forza, poi aumenta perché fuoriesce più Ca, fino ad arrivare al picco, che è la massima risposta di forza che si può sviluppare, poi fase di discesa in cui la fibra si lascia e sviluppa 0 forza. Avviene prima la risposta elettrica poi quella meccanica. Una fibra muscolare scheletrica sviluppa in seguito a un pdA che si genera nella stessa fibra si sviluppa la stessa forza. In seguito a un pdA o sviluppa 0 forza o ne sviluppa sempre il massimo ed è sempre uguale. Perché questa risposta di forza è sempre uguale? Massima forza quando si forma il massimo numero di legami acto-miosinici. Atrofia: perdita sezione del muscolo, sviluppo meno forza. Perché la forza è sempre uguale e massima? Fuoriuscita di calcio perché il pdA è un fenomeno stereotipo tutto o nulla, la risposta di forza è di tipo tutto o nulla. Le uniche risposte di forza che avvengono nella forma scossa singola si hanno quando sbattiamo le palpebre, la risposta di forza in vivo delle singole fibre non è del tipo scossa singola, ma si chiama tetano o contrazione tetanica: la stimolazione del sistema nervoso porta a una serie di pdA. Nel periodo refrattario, che è assoluto o relativo, nell'assoluto nessuno stimolo è in grado di far insorgere un altro pdA, in quello relativo degli stimoli possono portare a un pdA. I pdA non si sommano. Quando aumenta l'intensità di stimolazione, non si sommano i pdA, ma diventano più vicini. Perché in vivo una fibra muscolare può rispondere a una serie di stimolazione? Perché **si sommano le risposte meccaniche, mai quelle elettriche.** Si avvicinano all'aumentare della frequenza di stimolazione, quando si raggiunge la massima frequenza di stimolazione abbiamo la massima sommazione meccanica che porta alla massima forza che la fibra muscolare può sviluppare. Cos'è la massima frequenza di stimolazione e oltre la quale non si può andare? All'aumentare della frequenza vado incontro al periodo refrattario della fibra muscolare, in vivo le fibre muscolari vengono stimulate alla massima frequenza di stimolazione che portano alla massima sommazione meccanica mediata dal Ca. Alla massima frequenza di stimolazione, oltre non posso andare, e si arriva al

tetano. Non cambia l'ampiezza del transiente di Ca, ma il tempo in cui il Ca rimane disponibile nel citoplasma per indurre la massima forza. Lo sviluppo di tensione, sia per la scossa singola che per il tetano, è tutto o nulla, non dipende dall'intensità dello stimolo. La contrazione tetanica è la risposta meccanica della fibra muscolare del muscolo ad una stimolazione ripetuta, può essere tetano non fuso o fuso. L'ampiezza del tetano fuso rispetto alla singola scossa varia a seconda della fibre, della temperatura rispetto all'ampiezza della scossa singola. Perché e come varia la forza sviluppata da un muscolo scheletrico in vivo se la fibra muscolare è sempre la stessa? Perché i muscoli sviluppano forze variabili? Il numero di unità motorie che vengono reclutate dalla stimolazione nervosa. Lo schema motorio sa già le tot di fibre che devo reclutare. Le contrazioni a cui vanno incontro i nostri muscoli scheletrici? Contrazioni isometriche quando il muscolo sviluppa forza senza variare la propria lunghezza, ma la variazione di lunghezza avviene comunque all'interno dei sarcomeri. La forza sviluppata dal muscolo non vince la resistenza offerta dal carico, e non si ha variazione di lunghezza. La contrazione isotonica un muscolo si contrae sviluppando una forza costante. Le contrazioni isocinetiche sviluppano forza a velocità costante.

Apparato isometrico: muscolo in cui non gli è consentito l'accorciamento, a un capo ho un trasduttore di forza, dall'altra parte lo tendo bloccato legandolo o ci applico un peso che non fa a sollevarlo.

Apparato isotonico: tengo libero l'altro capo, ci applico un carico con peso P.

Contrazione isometrica: stimolazione elettrica, registro con il trasduttore la risposta e vedo che il muscolo sviluppa forza fino ad arrivare a un massimo, nessuna variazione di lunghezza. Si raggiunge il massimo di forza quando la stimolazione ha reclutato tutte le fibre. Quando smetto di stimolare, la forza torna pari a 0.

Contrazione isotonica: applico un carico a un capo, stimolo e abbiamo l'aumento di forza in una certa fase non ho variazione di lunghezza ma dopo continuo a stimolare e a un certo punto comincia la variazione di lunghezza. Comincia l'accorciamento quando il muscolo comincia a sviluppare la forza, quando la forza raggiunge il peso da isometrica diventa isotonica. Se il peso fosse stato superiore alla forza sarebbe stata una contrazione isometrica. Al finire della stimolazione, la forza diminuisce e non ce la fa più a tener sollevato il carico, c'è la forza ma non sufficiente a tener su il carico e non c'è variazione di lunghezza.

Relazione tensione-lunghezza descrive la contrazione isometrica e relazione forza-velocità descrive la contrazione isotonica. Nelle contrazioni in vivo la contrazione non è mai isotonica. Attacciamo al muscolo carico di 20kg e lo stimoliamo, si sviluppa forza che aumenta fino a raggiungere il carico, la contrazione viene mantenuta costante e la forza sviluppata è pari a 20kg. Se applico poi un carico di 30kg, forza aumenta fino al massimo, ma non si accorcia. La stimolazione consente al muscolo di accorciarsi esercitando una forza pari a 20kg, che è la sua forza massima perché non solleva i 30kg. Perché se i sarcomeri si accorciano e il muscolo no? Elasticità in serie del muscolo rappresentata dai tendini. Nella contrazione isometrica il muscolo non si accorcia, in quella isotonica si, questo perché nella prima i sarcomeri si accorciano ma gli elementi elastici si allungano e questo permette di essere alla stessa lunghezza i muscoli, ma nella seconda situazione gli elementi elastici essendo già allungati si va incontro ad accorciamento.

La relazione tensione-lunghezza è una relazione che correla la forza che un muscolo può sviluppare con la sua variazione di lunghezza. I nostri muscoli scheletrici in condizioni di riposo si trovano inseriti nelle ossa ad una lunghezza ottimale per generare la massima forza, posso formare il massimo numero di legami acto-miosinici. C'è un valore di lunghezza dove si posso formare il massimo numero di crossbridges. Lunghezza ottimale: lunghezza a cui ho la massima sovrapposizione dei mio filamenti in modo da generare il maggior numero di legami acto-miosinici. Forza totale che è data dalla somma della forza passiva e quella attiva. Quando i muscoli si allungano sviluppano forza passiva. Esiste un massimo della forza ad una certa lunghezza che è quella ottimale, che è quella a riposo. La forza attiva ha un massimo. Cos'è questa relazione

nella singola fibra? Tensione – lunghezza del sarcomero: esiste una lunghezza ottimale del sarcomero, in cui c'è la massima sovrapposizione dei mio filamenti. Fase di plateau di lunghezza: range in cui la forza risultante non cambia. C'è una regione di plateau che nasce dal fatto che c'è la banda H, parte nel sarcomero in cui non ci sono le teste di miosina. La forza che la fibra muscolare sviluppa deriva dal grado di sovrapposizione delle miofibre. Ha fornito la prova concreta della teoria degli scorrimenti: solo i crossbridges in parallelo sono dipendenti dello scorrimento. Relazione forza-velocità (da saper disegnare): quando il carico applicato al muscolo 0, la velocità è massima, se applico un carico la velocità diminuisce. Quando applico un carico massimo rispetto alla sua forza massima, il muscolo arriva a 0, da isotonica si va a isometrica. All'aumentare del carico diminuisce la velocità di accorciamento, aumenta la durata della fase isometrica e diminuisce l'entità totale dell'accorciamento.

Potenza di un muscolo: data dal rapporto tra lavoro e tempo, quanto velocemente si produce una certa quantità di lavoro in base al tempo. Il lavoro è dato dalla forza per lo spostamento ed è una grandezza scalare, si misura in Joule. La potenza è una misura di quanto rapidamente i muscoli compiono un lavoro, si misura in Watt. La potenza massima è la combinazione adeguata tra carico e velocità di accorciamento. La potenza massima si ha per carichi che sono intorno a $1/3$ della forza massima.

Tutte le nostre fibre hanno le stesse caratteristiche e la stessa velocità di accorciamento? Di varie tipologia, isoforme di miosina diverse, le fibre si suddividono in: di tipo I, 2A e 2X (velocità di accorciamento più alta con sviluppo di più forza). Anche la potenza varia, in termini di forze 2A e 2X circa la stessa forza. Cosa comporta queste diverse caratteristiche? Le caratteristiche dipendono dalla velocità con cui ... Se le fibre che sviluppano una forza più velocemente sono le 2X saranno quelle con attività ATP asica più rapida. Fibre di tipo I: fibre rosse ossidative lente di piccolo diametro e resistenti alla fatica. Fibre di tipo II: bianche (basso contenuto di mioglobina) glicolitiche rapide sezione maggiore, soggette a fatica, fibre esplosive.