

Accoppiamento eccitazione-contrazione nel muscolo striato

- E. D'Angelo, A. Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule e sistemi*. Tomo 1. Edi-Ermes.
- D. J. Aidley. *The physiology of excitable cells*. Cambridge University Press.
- D. Randall, W. Burggren, K. French. *Fisiologia animale. Meccanismi e adattamenti*. Zanichelli.

Muscolo scheletrico

Accoppiamento eccitazione-contrazione

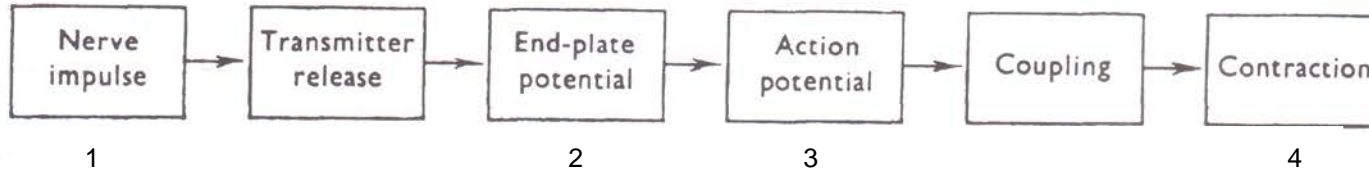
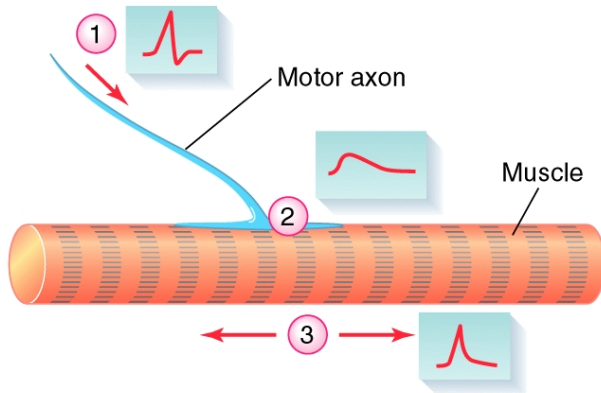


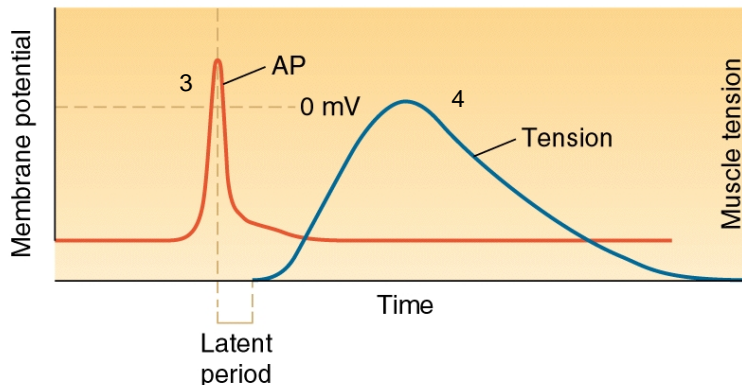
Figure 18.1. The control sequence leading to contraction in a vertebrate 'twitch' muscle fibre.

(a)



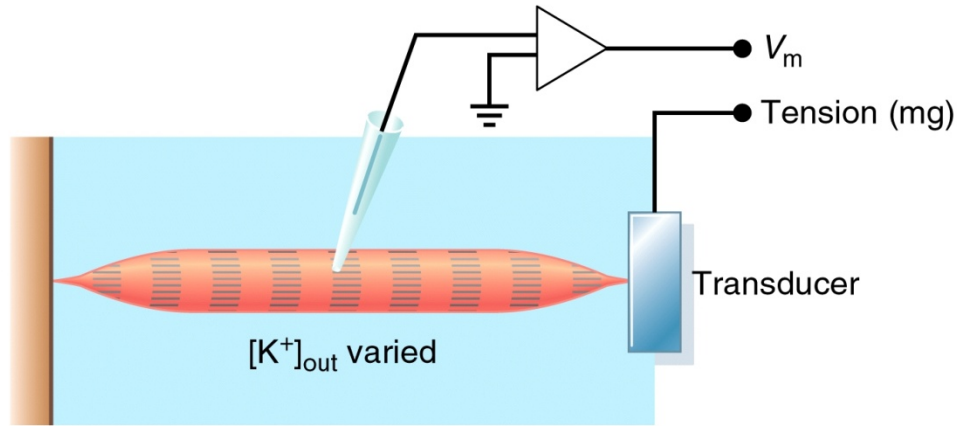
L'**accoppiamento eccitazione-contrazione (E-C)** è l'insieme dei processi che legano l'eccitazione della membrana delle fibre muscolari (3) alla contrazione delle miofibrille all'interno delle fibre (4).

(b)

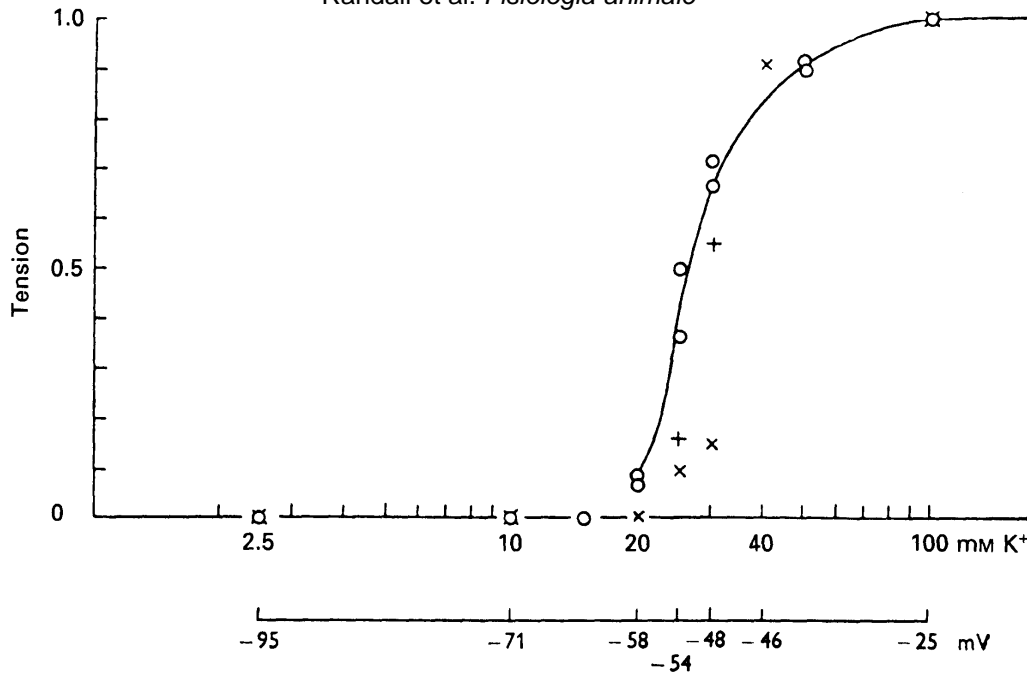


Il potenziale d'azione (AP) è seguito, dopo un periodo latente, da una contrazione, la scossa semplice.

Ruolo della depolarizzazione del sarcolemma



Randall et al. *Fisiologia animale*

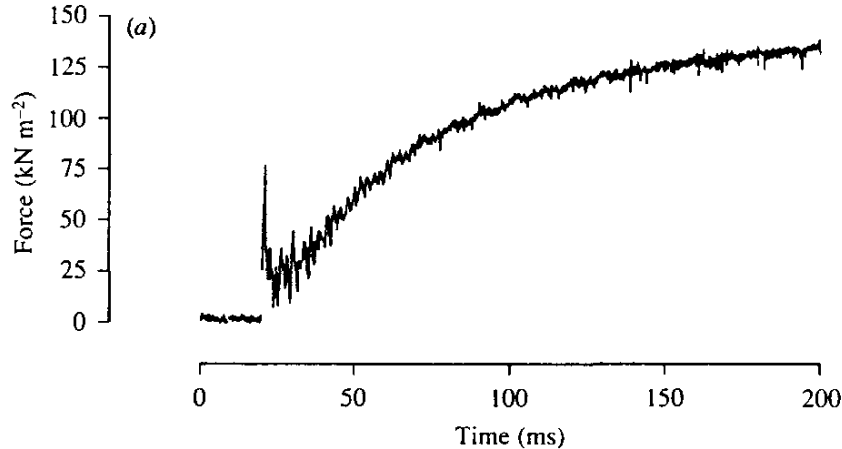


La depolarizzazione indotta dall'aumento della $[K^+]_o$ provoca una contrazione del muscolo nota come **contrattura**.

La forza sviluppata durante la contrattura dipende da V_m : è zero al di sotto di -60 mV e massima per $V_m > -30$ mV.

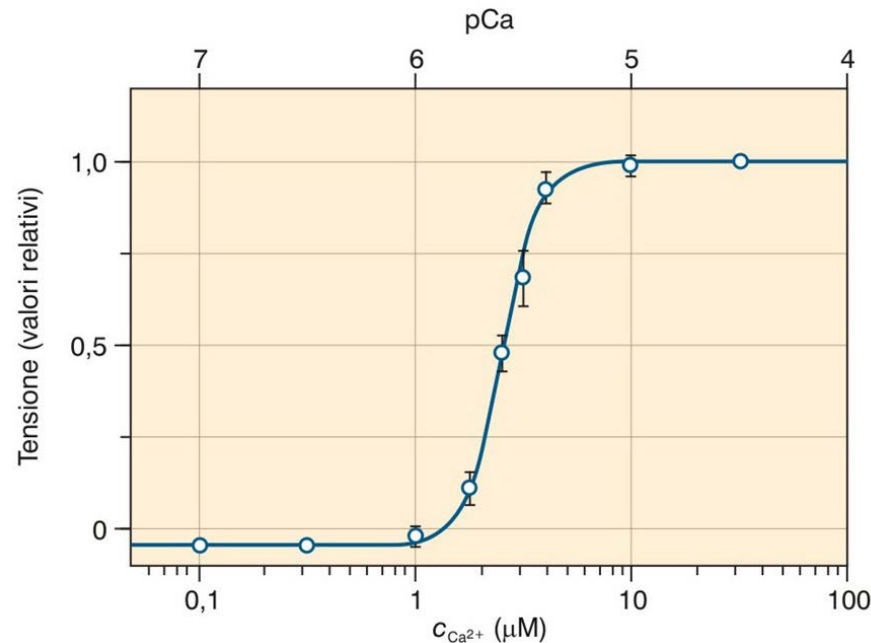
Ruolo degli ioni Ca^{2+}

La contrazione è associata all'aumento della $[\text{Ca}^{2+}]_i$.



Iniezioni intracellulari di Ca^{2+} o liberazione dello ione chelato in fibre demembranate provocano sviluppo di forza, causato dalla formazione dei legami acto-miosinici o cross-bridges.

Aidley. *The physiology of excitable cells*

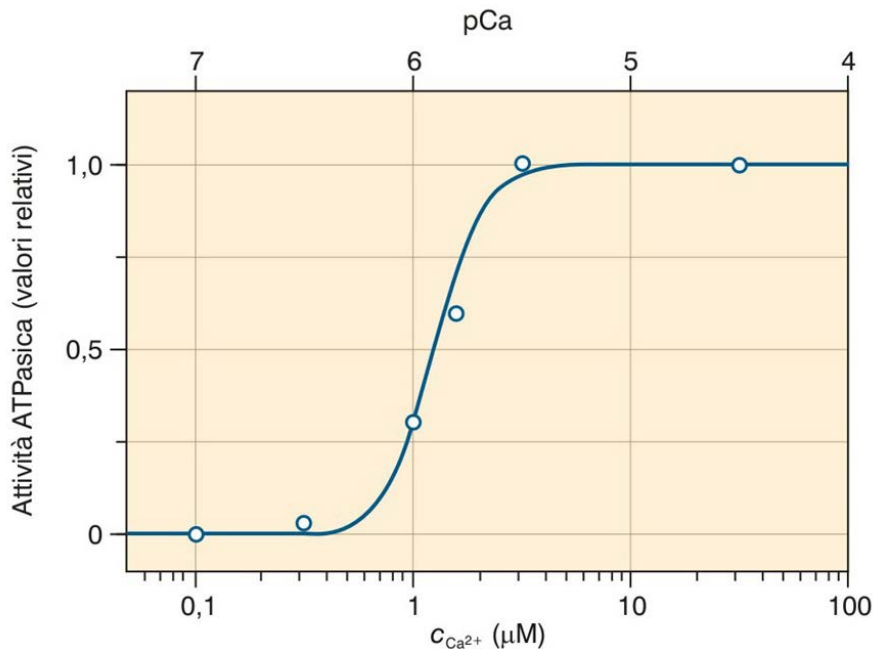


La forza misurata in fibre muscolari demembranate o in miofibrille isolate aumenta con l'aumentare della $[\text{Ca}^{2+}]_i$ tra 10^{-6} M e 10^{-5} M secondo la relazione sigmoidale $y = 1/(1+10^{n(p\text{Ca}-pK)})$, dove n è correlato alla pendenza della relazione e pK è il valore di pCa ($-\log [\text{Ca}^{2+}]$) al quale la forza è il 50% del valore massimo.

La concentrazione di calcio ($c_{\text{Ca}^{2+}}$) è espressa in micromoli/l su scala logaritmica (asse ascisse inferiore) o come pCa su scala lineare (asse ascisse superiore).

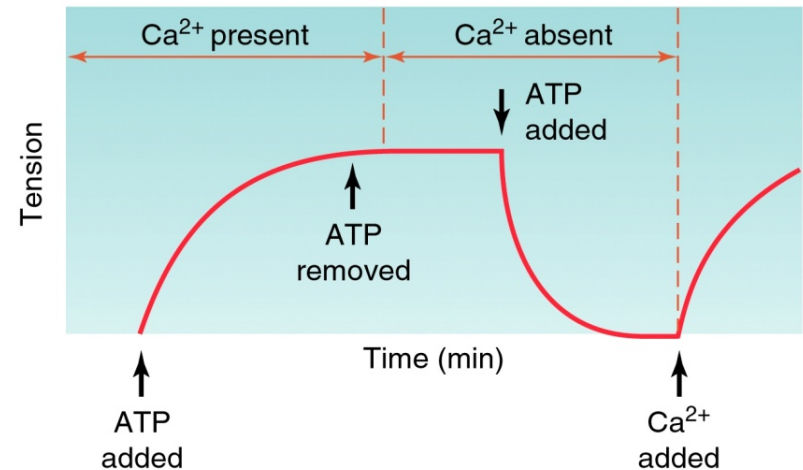
Ruolo degli ioni Ca^{2+}

Il Ca^{2+} promuove la formazione dei cross-bridges come documentato dall'aumento dell'attività ATPasica actomiosinica con l'aumento della $[\text{Ca}^{2+}]$ secondo una relazione sigmoidale ($y = 1/(1+10^{n(p\text{Ca}-pK)})$, in questo caso pK è il valore di $p\text{Ca}$ al quale l'attività ATPasica è il 50% del valore massimo) sovrapponibile alla relazione forza- $p\text{Ca}$



D'Angelo, Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi.*

(b)

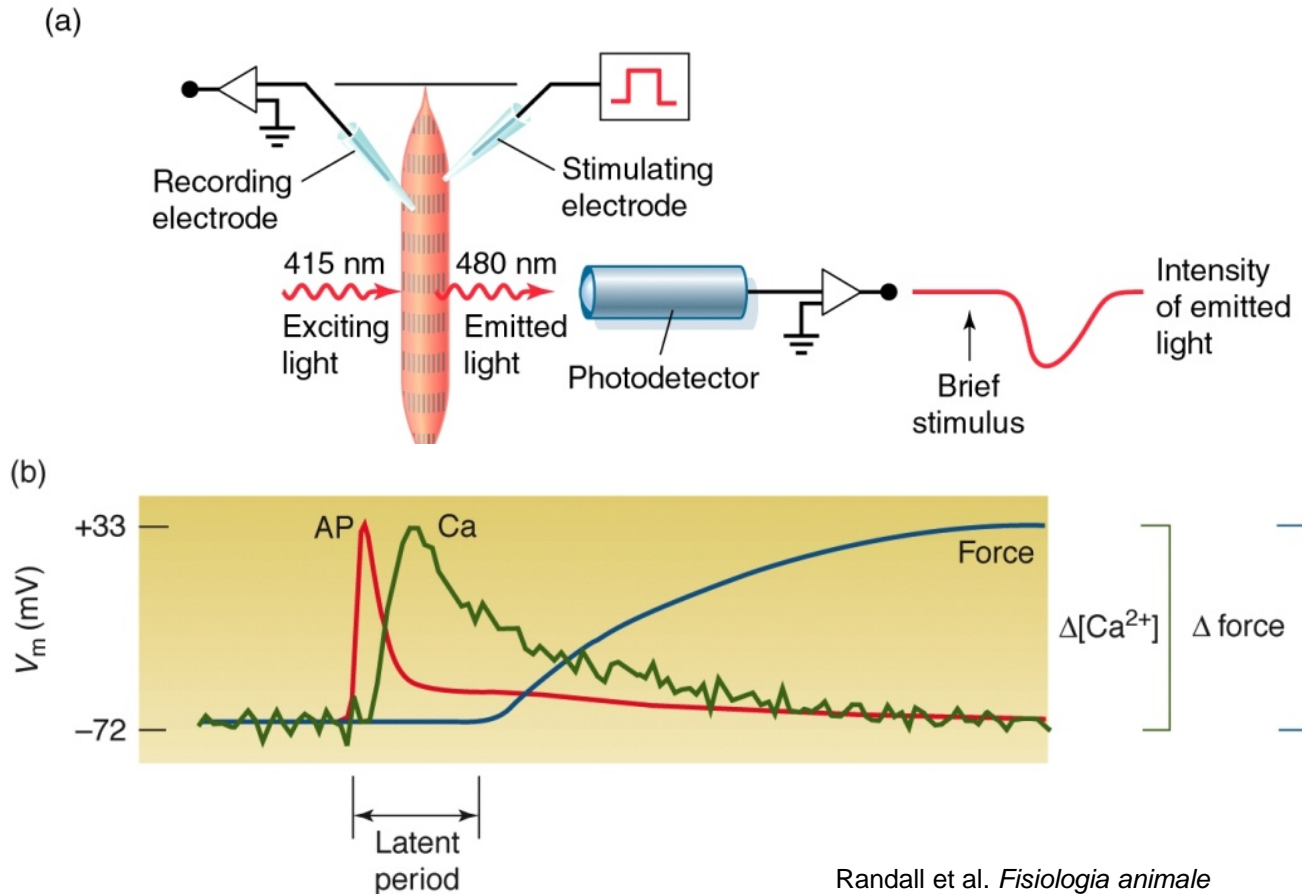


Randall et al. *Fisiologia animale*

Ca^{2+} e ATP sono entrambi essenziali perché avvenga la contrazione: il Ca^{2+} promuove la formazione dei legami actomiosinici, mentre l'ATP promuove la loro scissione, causando il rilasciamento del muscolo. In assenza di ATP, actina e miosina rimangono permanentemente legate, anche in assenza di Ca^{2+} , in uno stato detto **rigor** (dalla condizione di rigidità (*rigor mortis*) tipica dei muscoli dopo la morte).

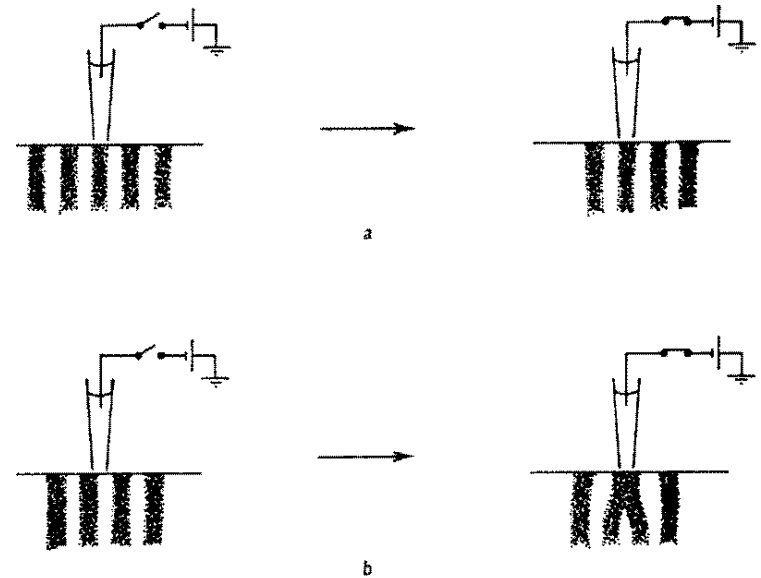
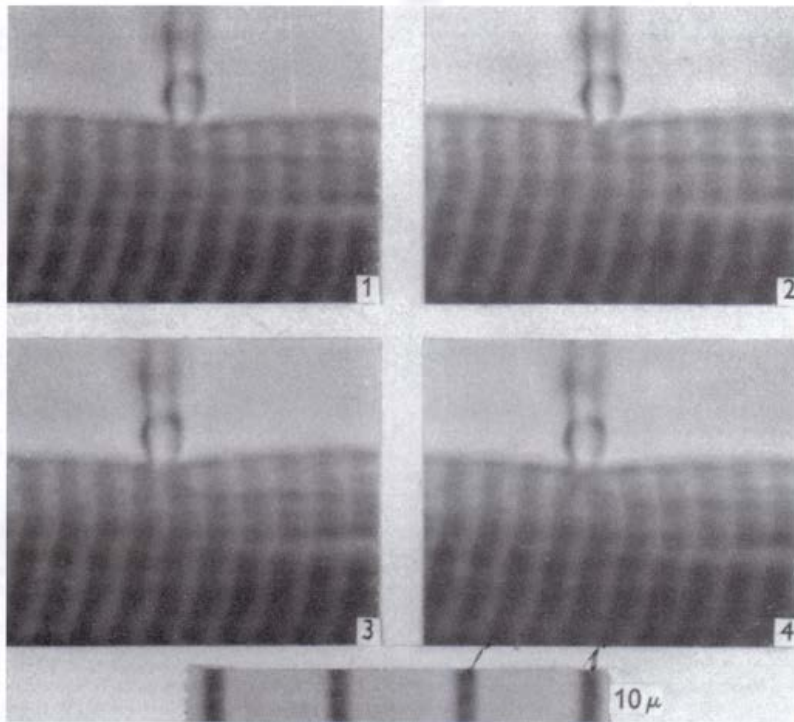
Ruolo degli ioni Ca^{2+}

L'aumento della $[Ca^{2+}]_i$ è una conseguenza diretta della depolarizzazione della membrana



L'uso di coloranti luminescenti (equorina) e fluorescenti (fura-2, fura-2) ha permesso di determinare la relazione temporale tra depolarizzazione del sarcolemma, variazione della $[Ca^{2+}]_i$ e produzione di forza. L'aumento di $[Ca^{2+}]_i$ è causato dalla liberazione dai depositi intracellulari (reticolo sarcoplasmatico, SR) e non dalla diffusione degli ioni dal liquido extracellulare (il muscolo si contrae anche in assenza di Ca^{2+} nel liquido extracellulare; il processo di diffusione è troppo lento rispetto ai tempi della contrazione).

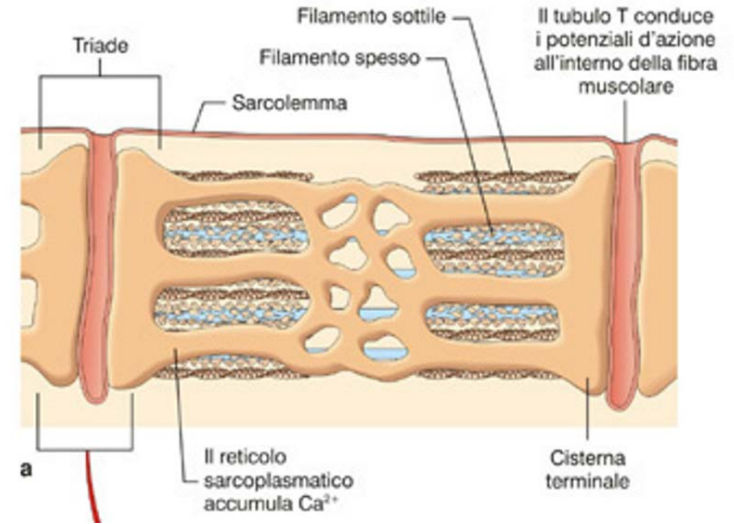
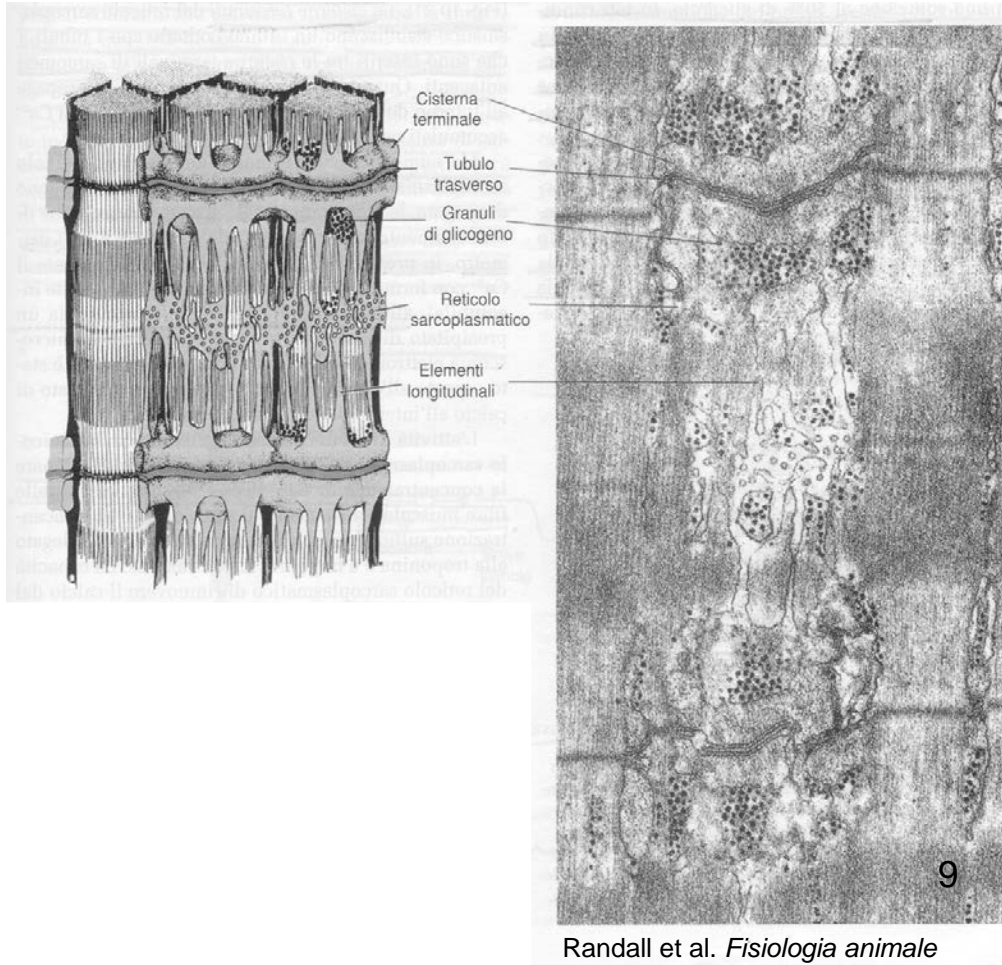
Il sistema dei tubuli T e le triadi



D'Angelo, Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi.*

Stimolazioni focali in corrispondenza della linea Z di una fibra muscolare di rana evocano contrazioni locali e graduate dei due emisarcomeri adiacenti alla linea Z; la stessa stimolazione in corrispondenza della banda A risulta invece inefficace.

Il sistema dei tubuli T e le triadi



D'Angelo, Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi.*

I tubuli trasversi (**tubuli T**) sono profonde invaginazioni del sarcolemma in corrispondenza della linea Z (o della giunzione banda A-banda I) e sono associati alle cisterne terminali del reticolo sarcoplasmatico (**SR**).

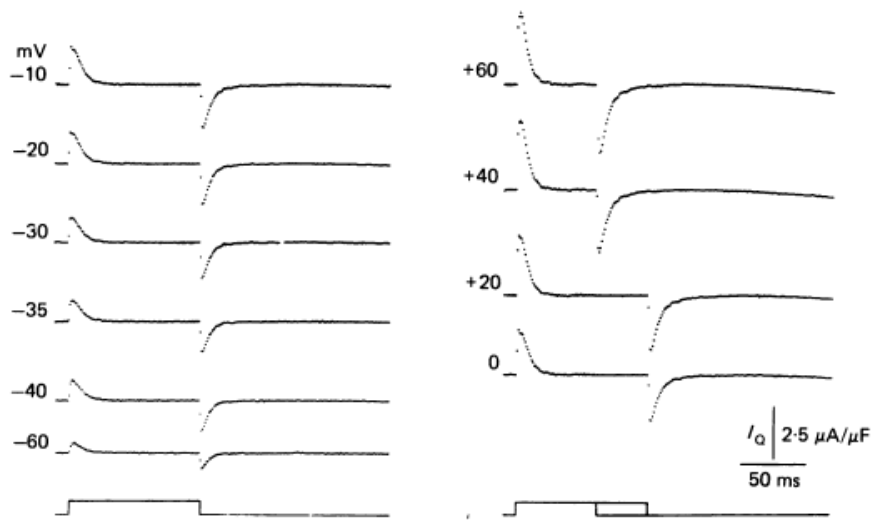
Il sistema dei **tubuli T** associato alle **cisterne terminali del SR (triade)** garantisce la rapida propagazione dell'eccitazione elettrica dalla superficie verso l'interno della fibra muscolare e riduce a circa $1\ \mu\text{m}$ la massima distanza per la diffusione del Ca^{2+} tra sito di liberazione e substrato contrattile.

Trasferimento dell'informazione dal tubulo T al reticolo sarcoplasmatico

La natura del legame tra depolarizzazione del tubulo T e rilascio del Ca^{2+} è stata in gran parte chiarita con

- **studi elettrofisiologici sui movimenti di carica** indotti dalla depolarizzazione del sarcolemma
- la determinazione della **struttura fine delle triadi**
- la caratterizzazione delle **molecole di membrana implicate nella trasmissione del segnale.**

Studi elettrofisiologici



Correnti di asimmetria causate da movimenti di carica nei tubuli T registrate in risposta a depolarizzazioni applicate a fibre muscolari scheletriche.

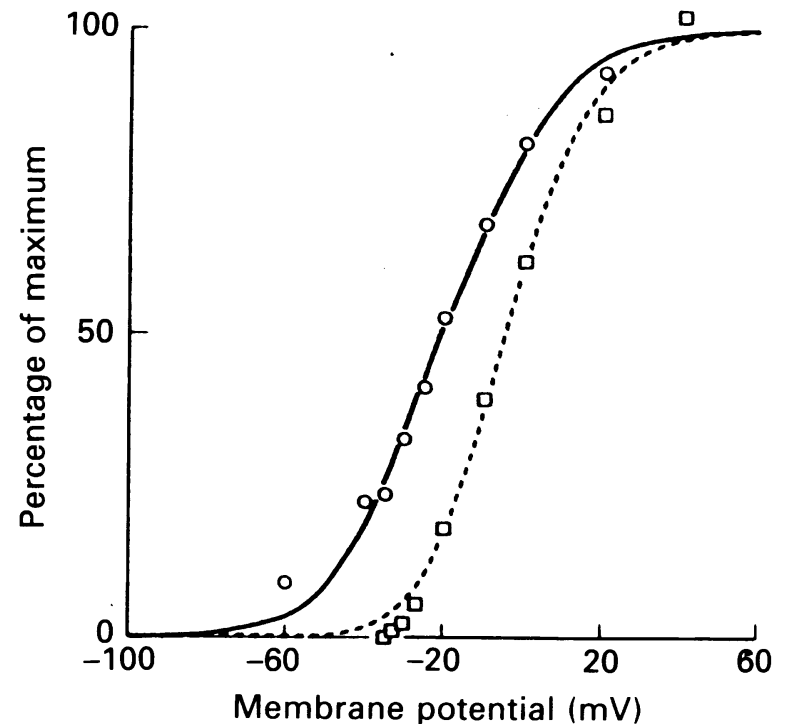
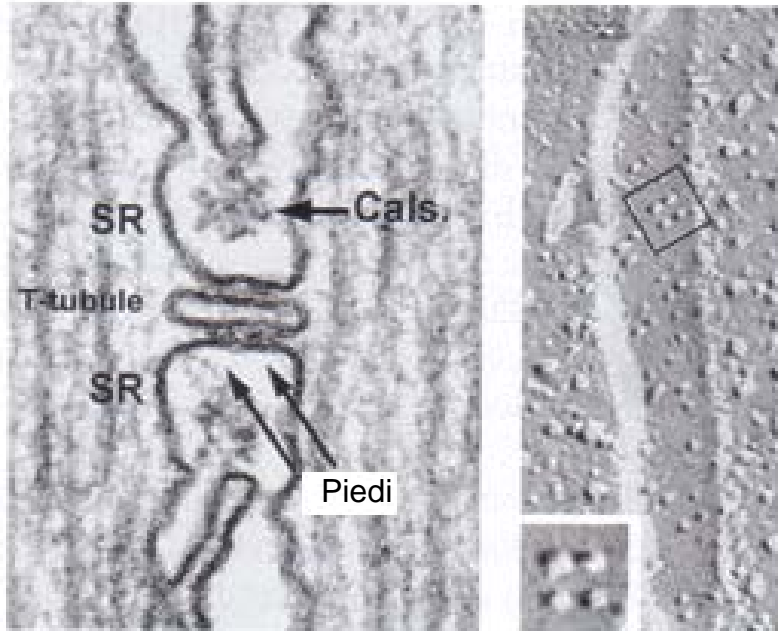


Figure 20.8. How membrane potential affects intramembrane charge movement (circles) and peak rate of calcium release (squares) in frog twitch muscle fibres. Measurements were made on voltage-clamped fibres using antipyrilazo III to measure calcium ion concentrations. (From Melzer *et al.*, 1986.)

Aidley. *The physiology of excitable cells*

La misura dei movimenti di carica e dei transienti di Ca^{2+} a diversi potenziali di membrana ha messo in evidenza la stretta correlazione tra i tre parametri suggerendo una relazione causale tra loro: **la depolarizzazione determina il movimento di carica che a sua volta induce la liberazione del Ca^{2+} .**

Microscopia elettronica delle triadi

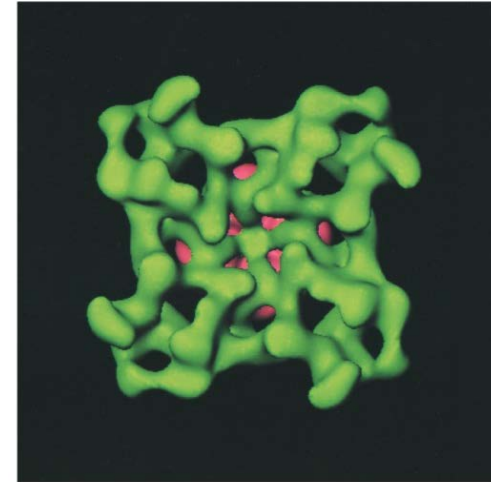


Aidley. *The physiology of excitable cells*

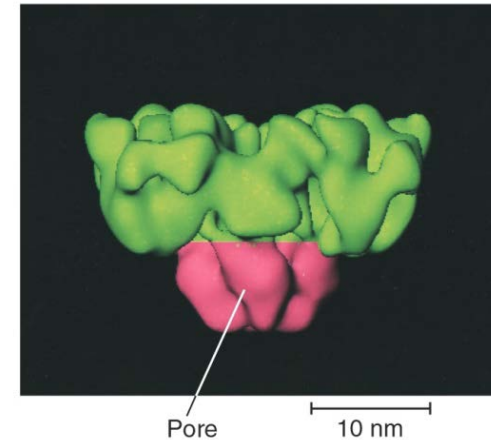
Tetrate

Piede

Viewed from outside SR

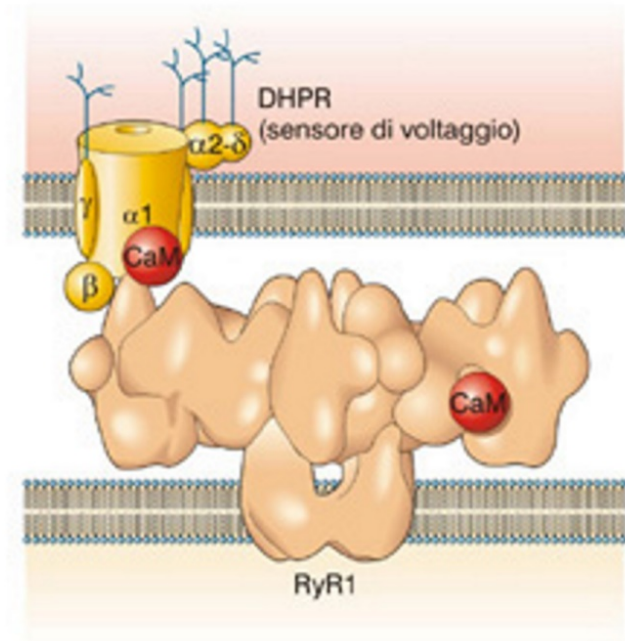
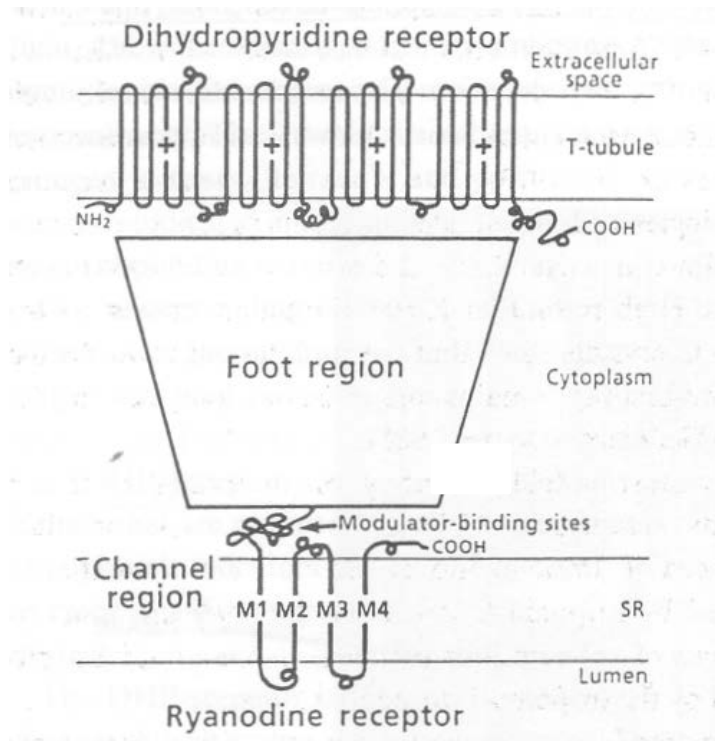


Viewed from side



La microscopia elettronica ha messo in evidenza, in corrispondenza delle triadi del SR, strutture globulari tetrameriche cui è stato dato il nome di **piedi** accoppiate a gruppi di quattro particelle (**tetradi**) sporgenti dalla membrana del tubulo T. Piedi e tetradi costituiscono le macromolecole implicate nel rilascio del Ca^{2+} .

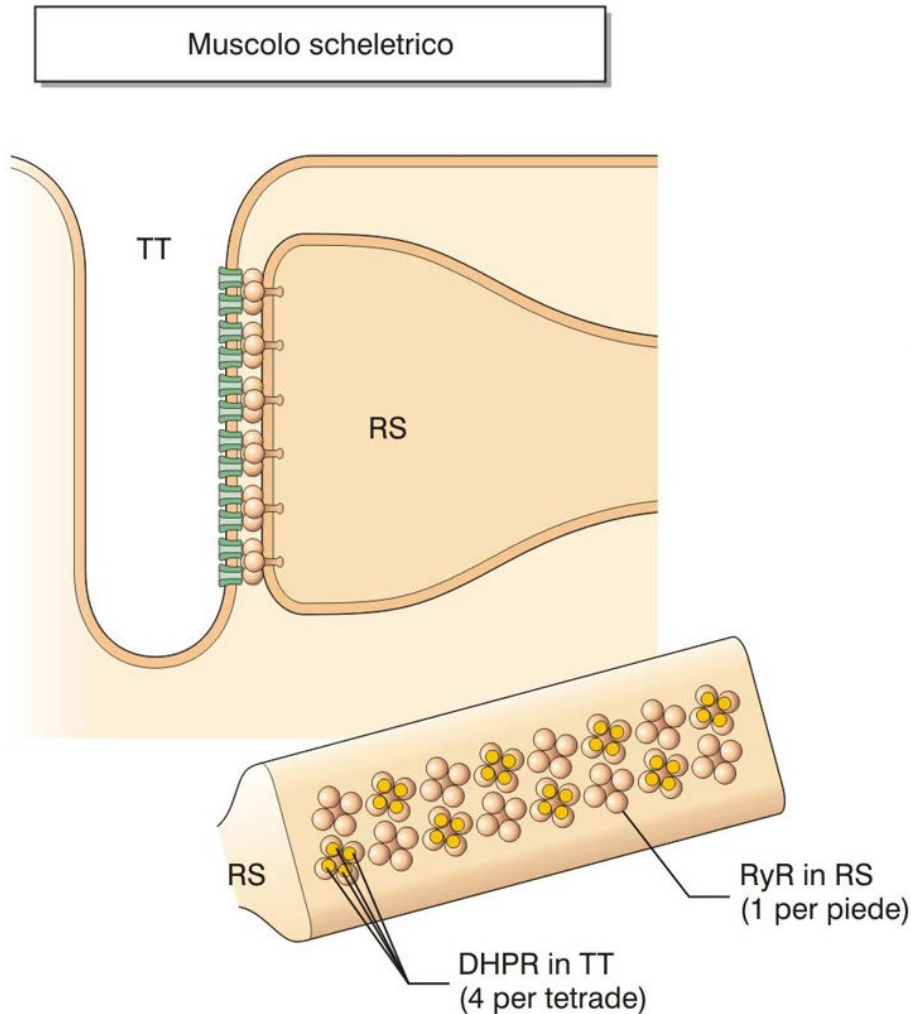
Macromolecole dei piedi e delle tetradi



Le tetradi sono formate dai **recettori delle diidropiridine (DHPR)**, canali VOC del Ca^{2+} , presenti in gran numero sulla membrana del tubulo T, responsabili dei movimenti di carica associati alla depolarizzazione del sarcolemma; i piedi sono i **recettori della rianodina (RyR)**, presenti nelle cisterne terminali del SR, responsabili del rilascio del Ca^{2+} .

Il ruolo cruciale dei due recettori è stato messo in evidenza in topi disgenici (carenti dei DHPR per una malattia genetica) e dispedici (privi di piedi in seguito a modificazione genetica): il processo di accoppiamento E-C veniva ripristinato facendo esprimere la proteina assente nei miotubi dei topi malati o geneticamente modificati.

Organizzazione di piedi e tetradi nella triade



Ciascuna tetrate formata da 4 DHPR è associata ad un piede (RyR), ma poiché il numero di tetradi è la metà di quello dei piedi, RyR accoppiati a DHPR si alternano a RyR non accoppiati a tetradi secondo una organizzazione estremamente ordinata

Liberazione e recupero del Ca^{2+}

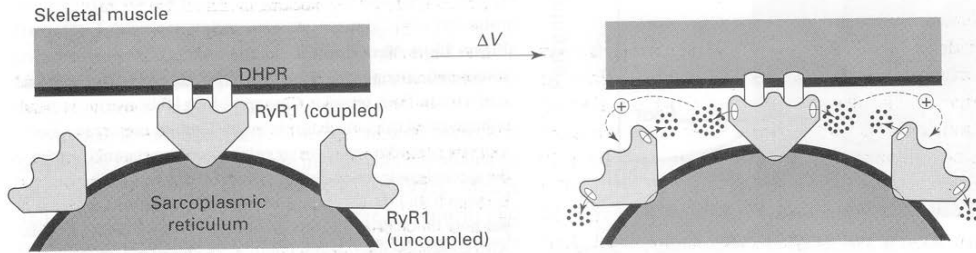
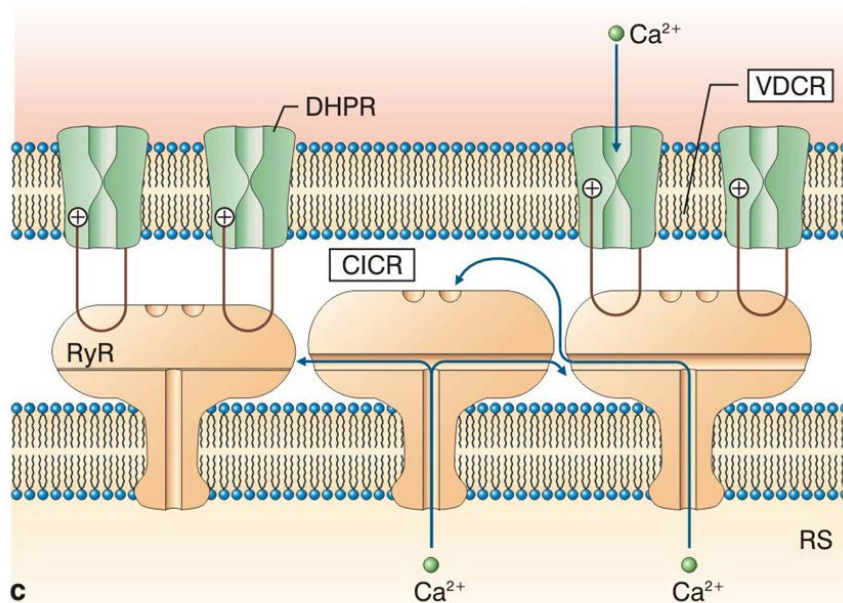


Figure 20.12. How an elementary unit of calcium signalling (a 'spark') may be produced in skeletal muscle. Depolarization (ΔV) produces a conformational change in a tetrad of dihydropyridine receptors (DHPR), opening the calcium-release channel

(ryanodine receptor, RyR1) coupled to it and so releasing calcium ions (shown as dots) from the sarcoplasmic reticulum. These calcium ions may then activate adjacent uncoupled calcium-release channels. (From Berridge, 1997.)

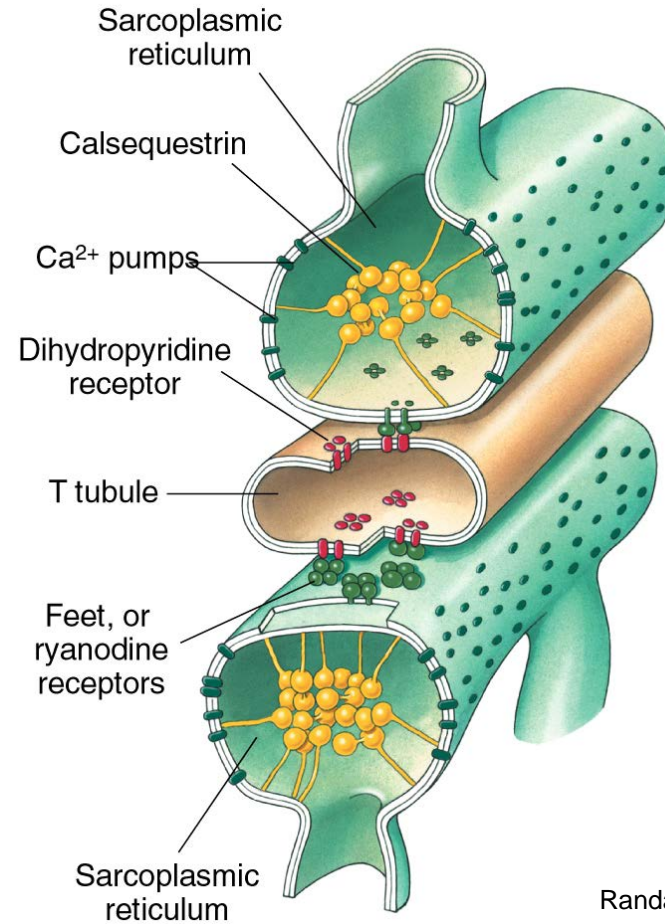
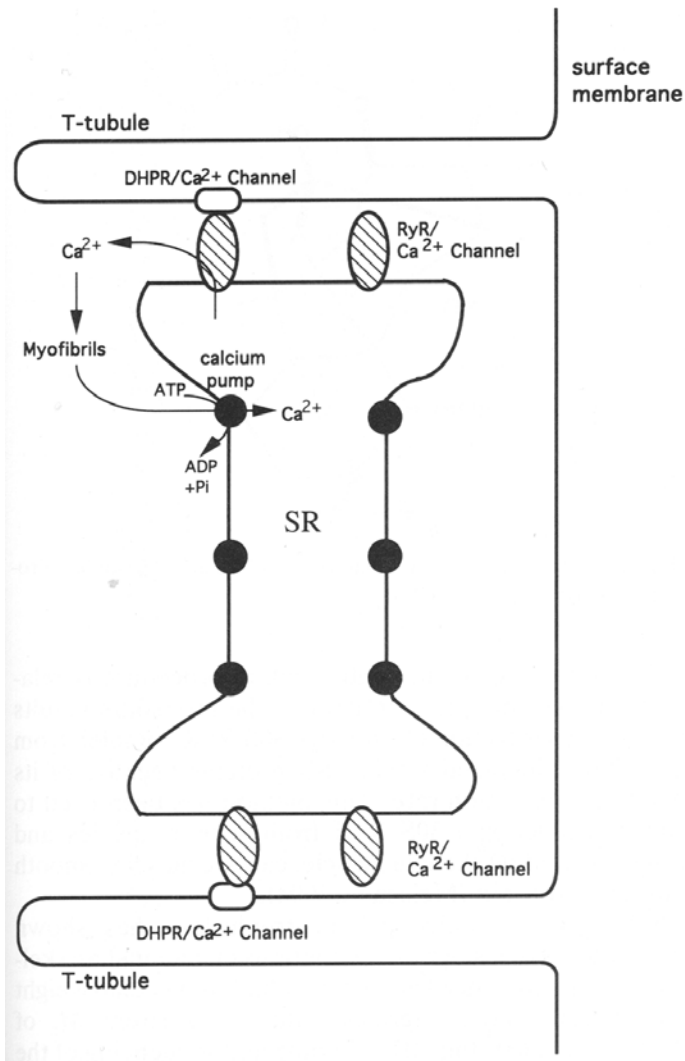
Aidley. *The physiology of excitable cells*

Muscolo scheletrico - VDCR⁺



Il modello generalmente accettato per l'interazione tra DHPR e RyR prevede che la modifica strutturale indotta dalla depolarizzazione nei DHPR determini, attraverso un'azione meccanica, l'apertura dei RyR con conseguente rilascio del Ca^{2+} (**Voltage Dependent Calcium Release, VDCR**). I RyR che non sono accoppiati con le tetradi andrebbero incontro ad un processo di **Calcium Induced Calcium Release (CICR)**. Il meccanismo di liberazione del Ca^{2+} nel muscolo scheletrico è eccezionalmente rapido ed efficace, ma relativamente stereotipato e poco modulabile, pertanto la regolazione della forza muscolare è affidata al sistema nervoso centrale attraverso il reclutamento delle unità motorie e il codice di frequenza dei motoneuroni.

Liberazione e recupero del Ca^{2+}

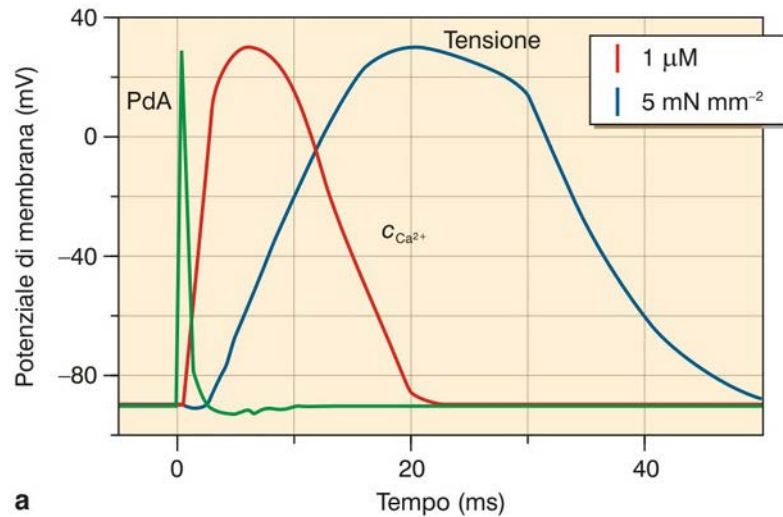


Randall et al. *Fisiologia animale*

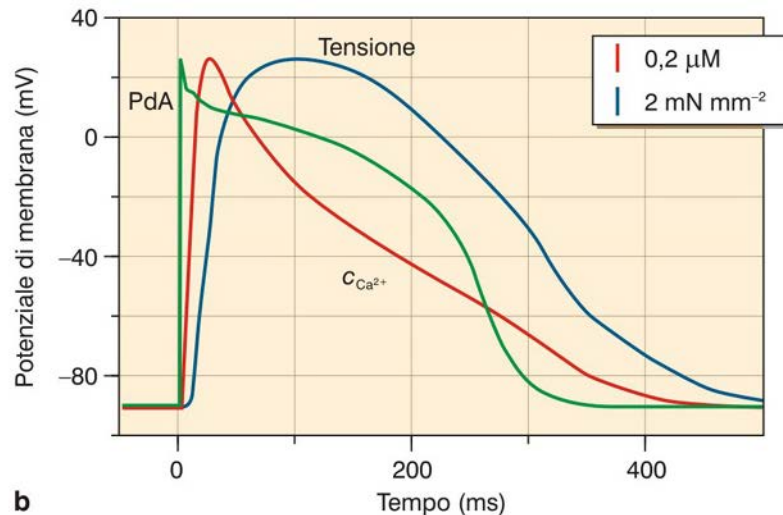
La rimozione del Ca^{2+} dal sarcoplasma avviene grazie all'azione di una pompa del Ca^{2+} presente sul SR (**SERCA**), la cui attività dipende dalla $[\text{Ca}^{2+}]$ nel sarcoplasma: è bassa alle concentrazioni del muscolo a riposo, mentre si esalta a livelli massimali durante la contrazione. L'azione di SERCA è coadiuvata dalla presenza nel lume del SR della **calsequestrina**, una proteina con elevata affinità per il Ca^{2+} .

Muscolo cardiaco

Confronto muscolo scheletrico e cardiaco



a

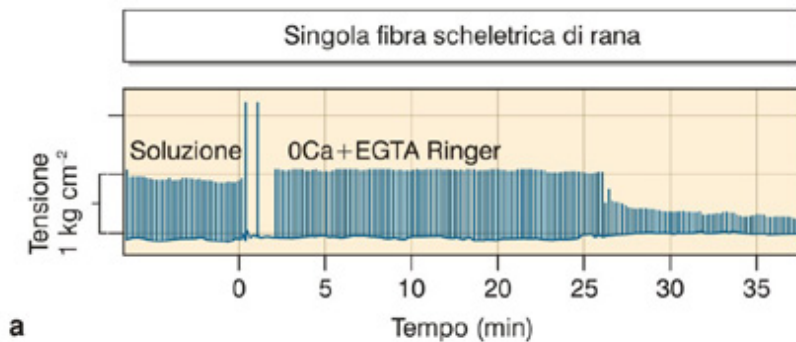


b

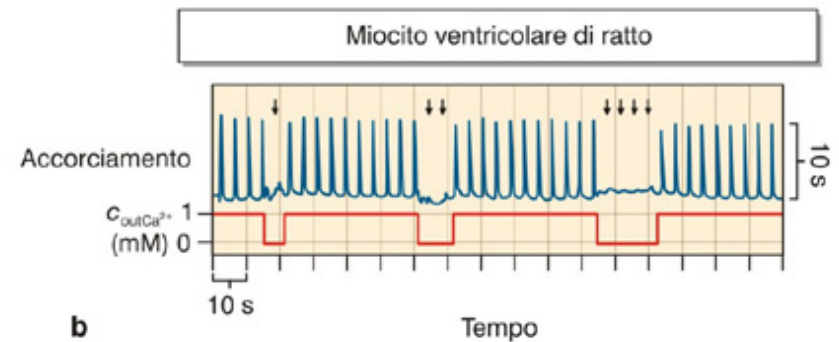
La sequenza degli eventi implicati nell'accoppiamento E-C nel muscolo cardiaco è la stessa del muscolo scheletrico, ma gli andamenti temporali di potenziale d'azione, transiente di calcio e produzione di forza sono molto diversi nei due tipi di muscolo.

Origine del Ca^{2+} che attiva la contrazione cardiaca

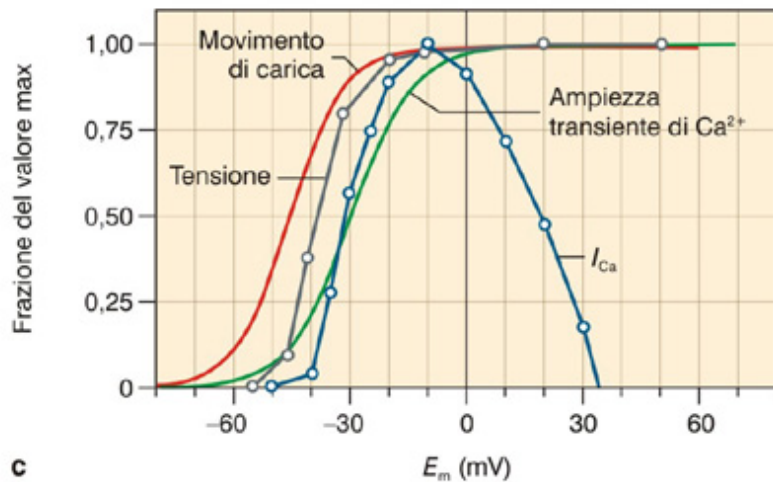
- **Liquido extracellulare:** a differenza del muscolo scheletrico la presenza di Ca^{2+} nel liquido extracellulare è **indispensabile** per la contrazione dei miociti cardiaci (arresto della contrazione in assenza di Ca^{2+} esterno; le relazioni forza: V_m e i_{Ca} : V_m hanno la stessa forma)



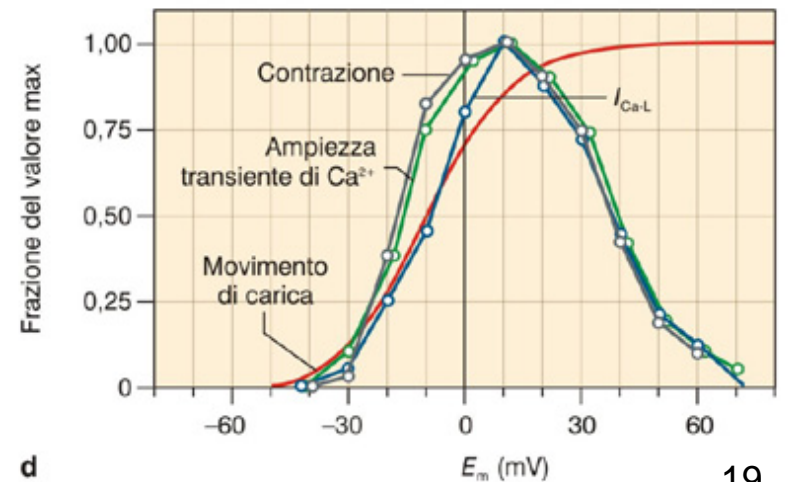
a



b



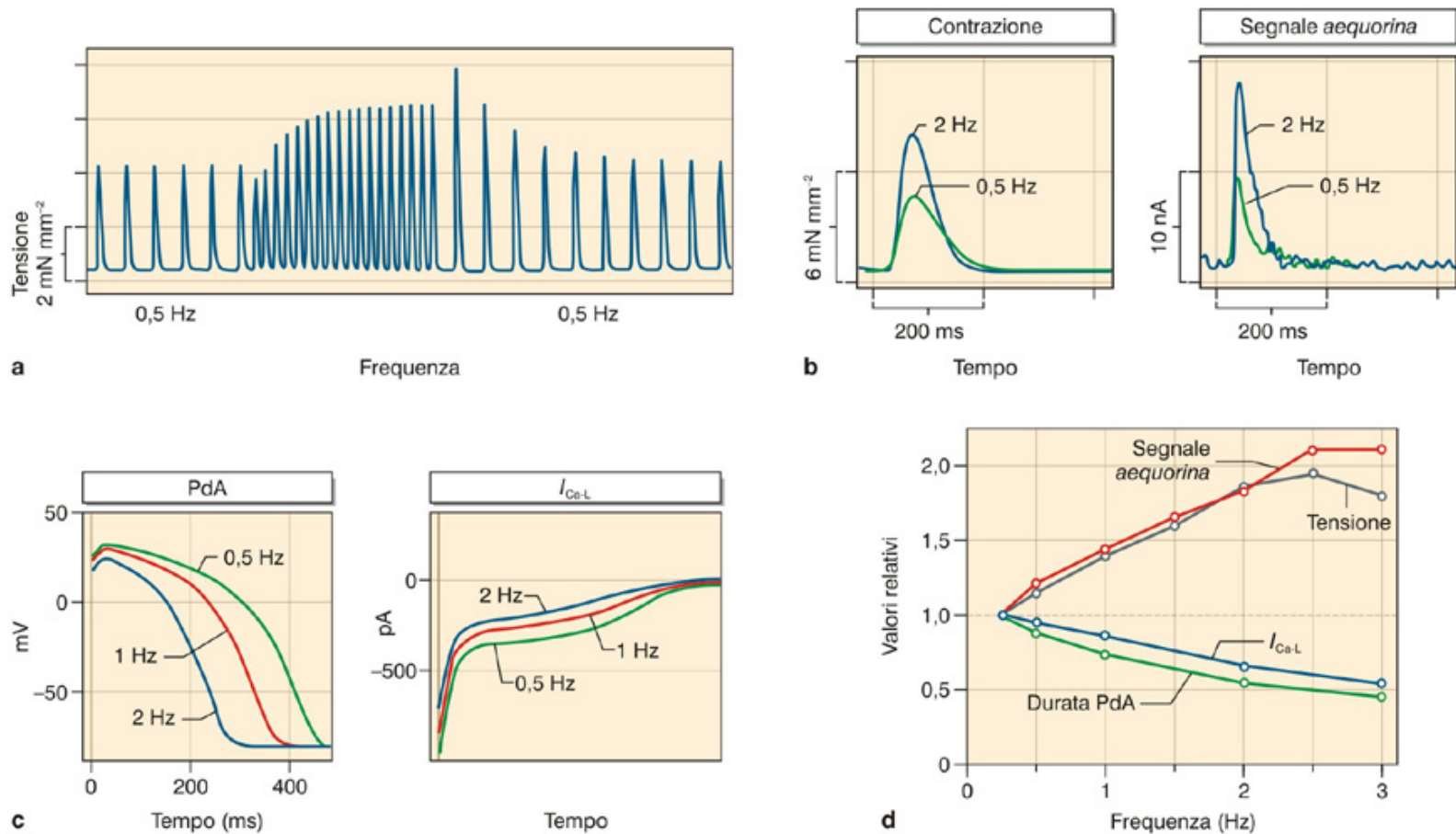
c



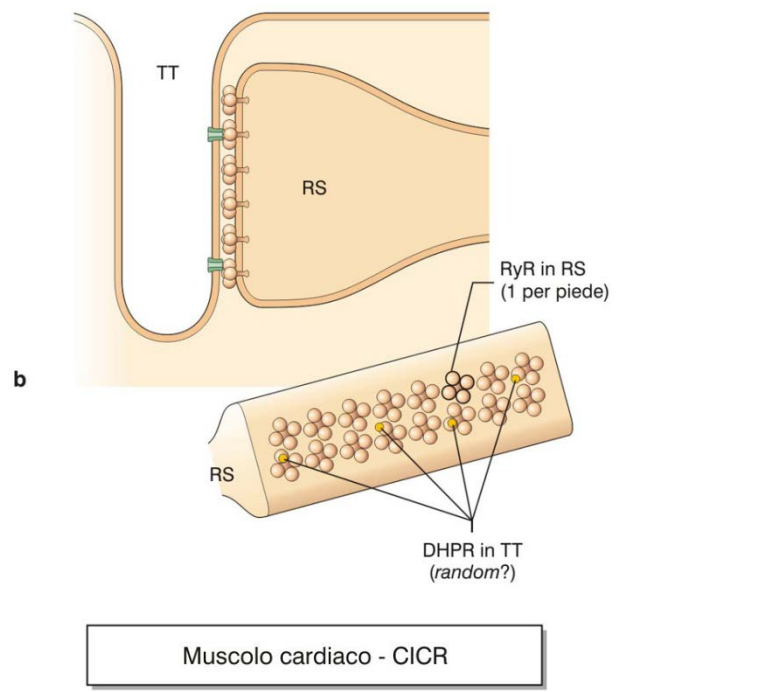
d

Origine del Ca^{2+} che attiva la contrazione cardiaca

- **Depositi intracellulari:** come nel muscolo scheletrico è **essenziale** il ruolo svolto dagli ioni Ca^{2+} rilasciati dal SR (lo svuotamento del SR provocato dal blocco di SERCA con tapsigargina o l'inibizione dei RyR con rianodina riducono drammaticamente l'ampiezza dei transienti di Ca^{2+} e della contrazione; l'aumento della frequenza cardiaca che promuove l'incremento dell'accumulo di Ca^{2+} nel SR determina l'aumento della forza di contrazione)



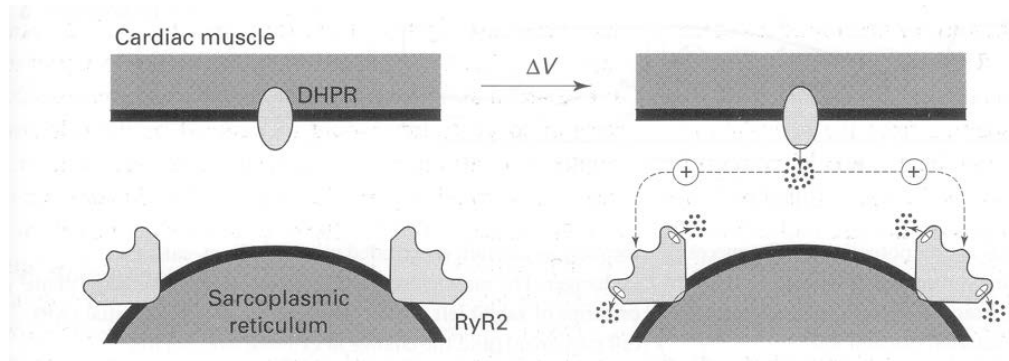
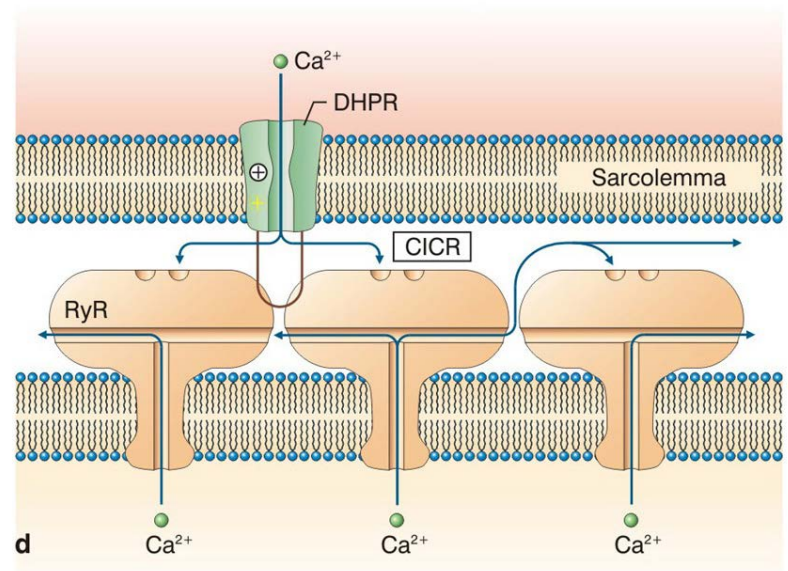
Meccanismo di liberazione del Ca^{2+}



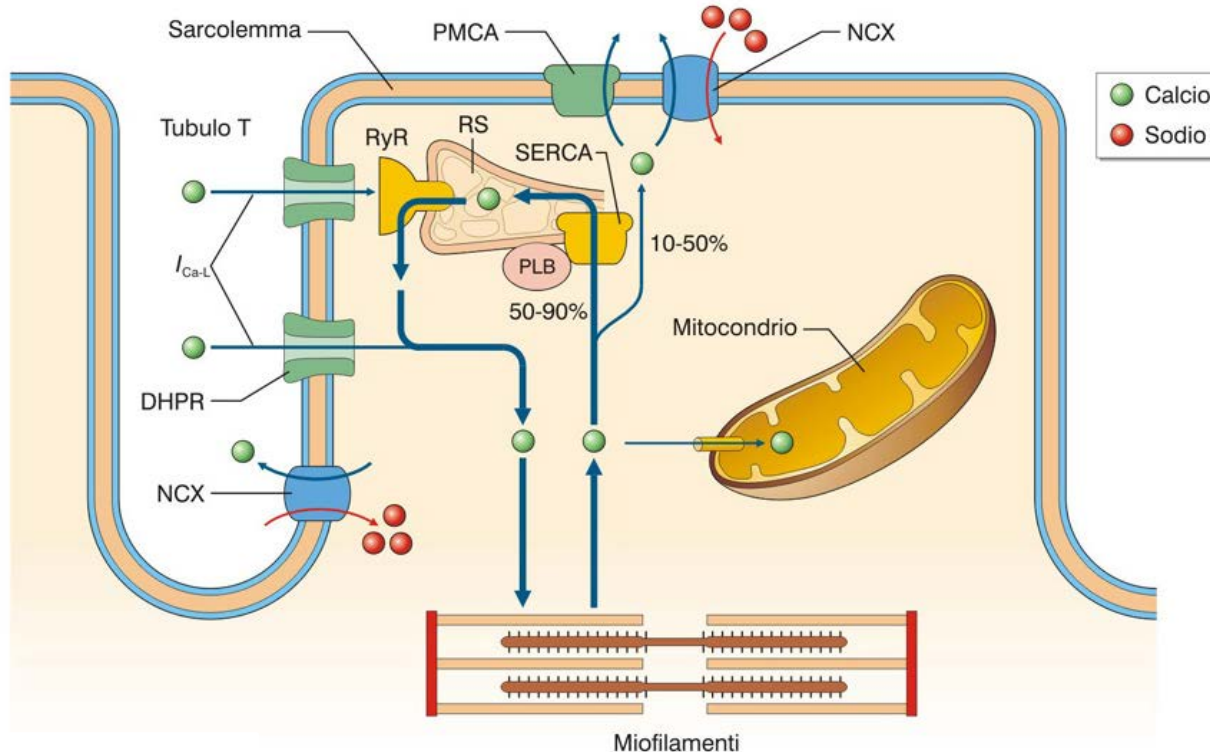
Nel miocardio il numero di DHPR è dalle quattro alle dieci volte inferiore al numero dei RyR, inoltre DHPR e RyR non formano il complesso piede-tetrate tipico del muscolo scheletrico, anche se i due recettori sono contigui.

Il meccanismo di apertura dei RyR cardiaci non dipende perciò dalle modifiche strutturali voltaggio-dipendenti dei DHPR, ma dal **CICR promosso dalla i_{Ca}** che attraversa i DHPR.

L'entità del CICR dipende dall'entità e dalla velocità del segnale di Ca^{2+} che lo genera e dalla quantità di Ca^{2+} presente nel SR e disponibile per il rilascio.



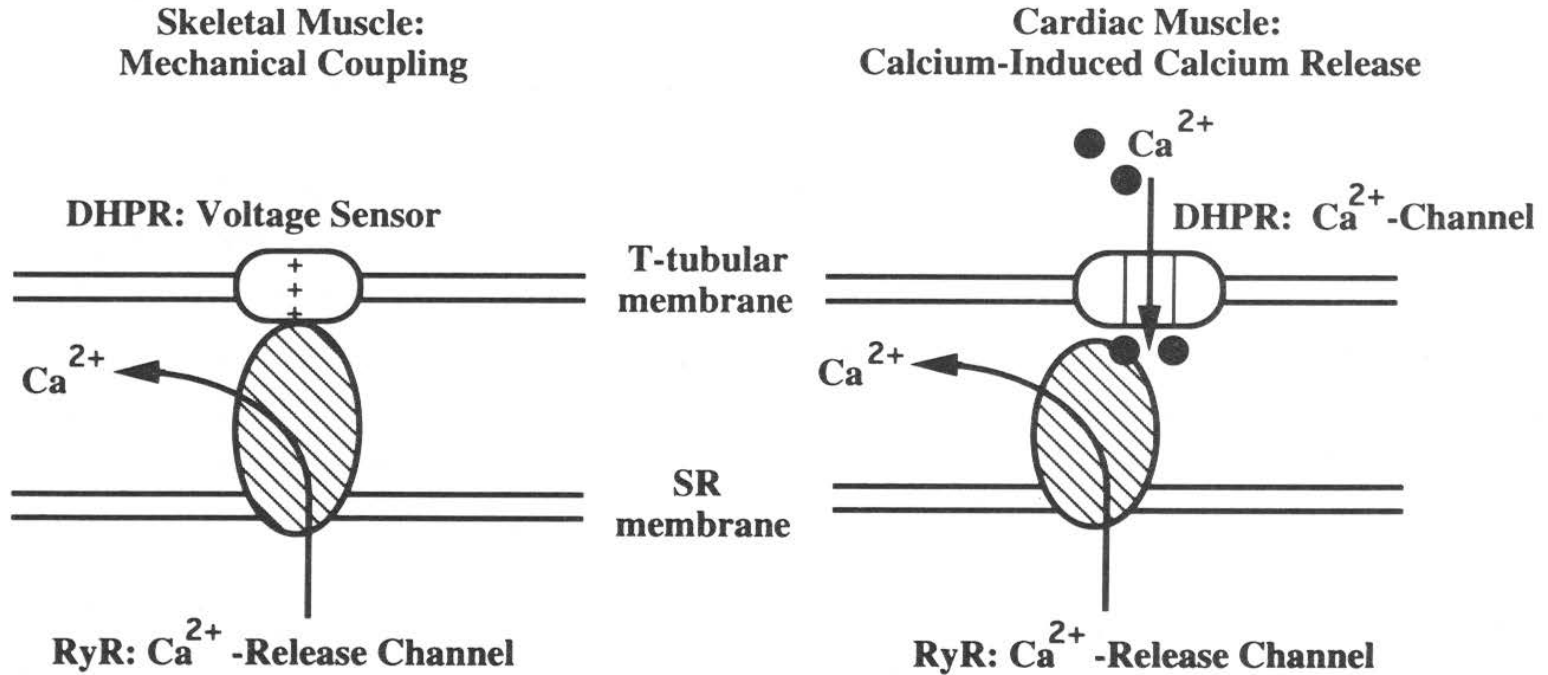
Meccanismi di rimozione del Ca^{2+} dal sarcoplasma



D'Angelo, Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi.*

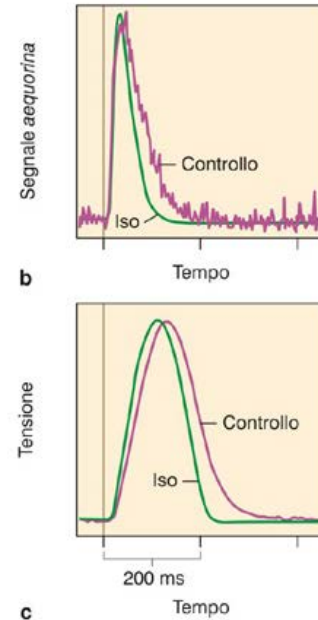
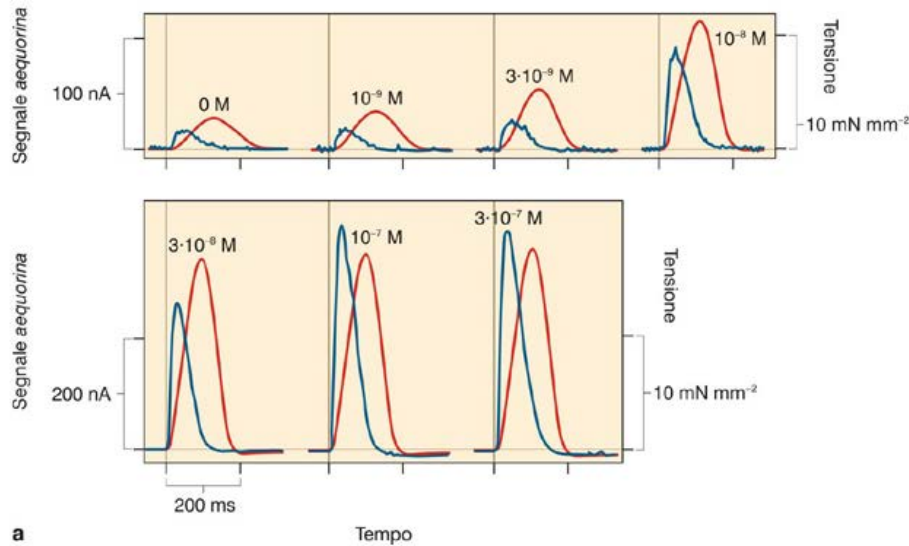
- **Accumulo nel SR ad opera di SERCA:** l'attività della pompa del Ca nel cuore è controllata dalla proteina **fosfolambano (PLB)**, che, se defosforilata, riduce l'affinità della pompa per lo ione.
- **Estrusione ad opera dello scambiatore Na/Ca (NCX) e, in minor misura, di una pompa del Ca sarcolemmatica (PMCA):** l'attività di NCX dipende da $[\text{Na}^+]_i$, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e da V_m .

Confronto muscolo scheletrico (VDCR) - muscolo cardiaco (CICR)

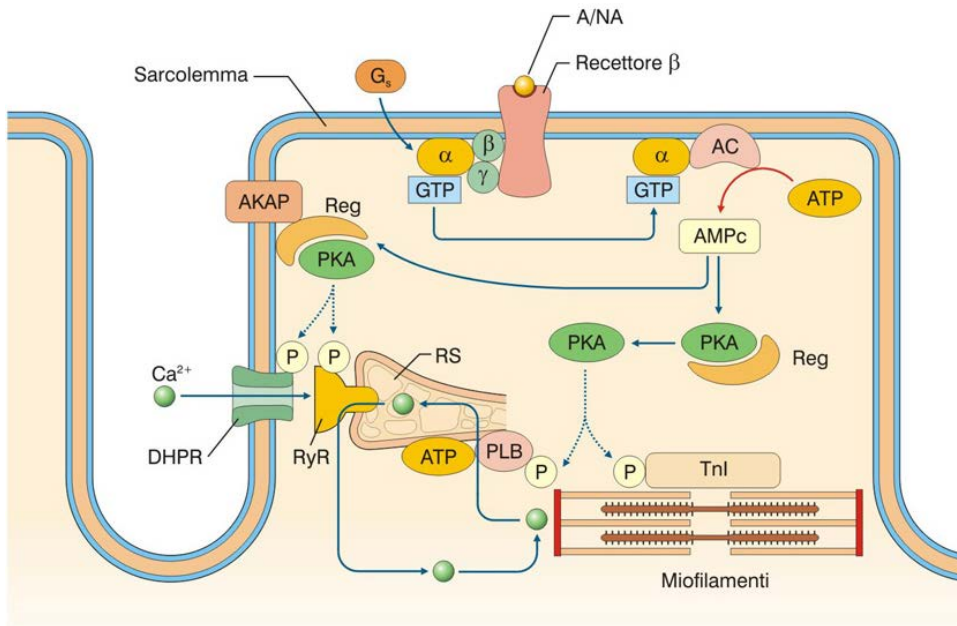


Il VDCR del muscolo scheletrico è un processo più rapido ed efficiente rispetto al CICR cardiaco, quest'ultimo però presenta numerose possibilità di **modulazione** che sono assenti nel VDCR. In particolare fattori fisiologici, farmacologici e patologici, modificando le proprietà dei DHPR e dei RyR e l'accumulo di Ca²⁺ nel SR, controllano la quantità di Ca²⁺ disponibile per la contrazione.

Modulazione fisiologica dell'accoppiamento E-C cardiaco

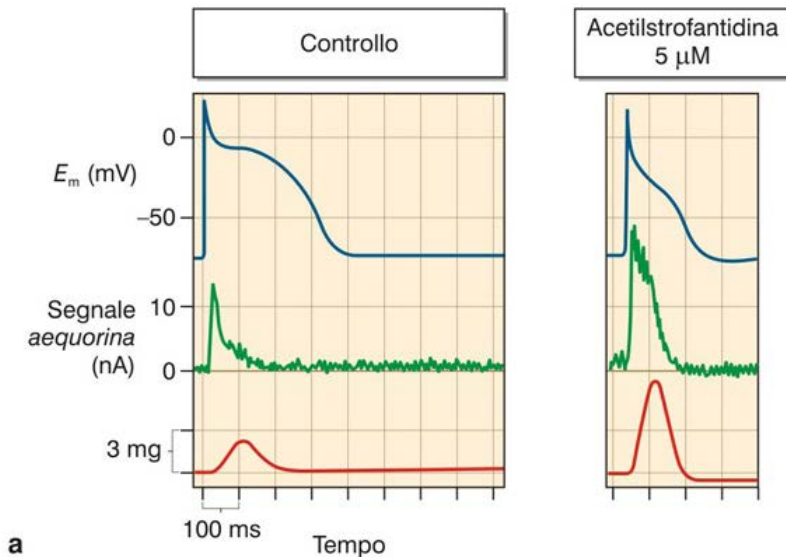


D'Angelo, Peres. *Fisiologia. Molecole, cellule, sistemi.*

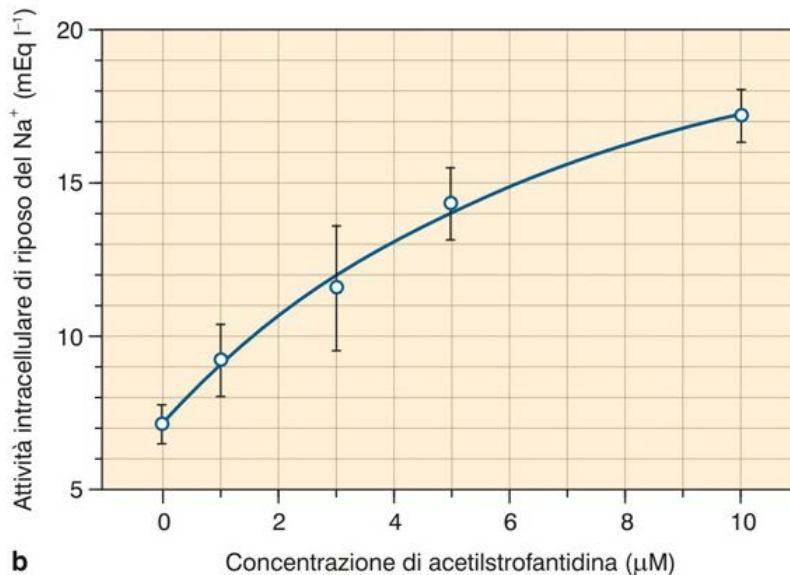


La **stimolazione β -adrenergica** dei miociti cardiaci determina l'aumento dose-dipendente del transiente di Ca^{2+} e della forza, una maggiore velocità di sviluppo della forza e un più rapido rilasciamento. Questi effetti sono mediati **dall'attivazione della via del cAMP** da parte della proteina G. L'attivazione della PKA causa fosforilazione del fosfolambano, dei DHPR, dei RyR e della TnI.

Modulazione farmacologica dell'accoppiamento E-C cardiaco



a



b

La somministrazione di digitale aumenta la forza di contrazione indirettamente attraverso l'**inibizione della pompa Na/K**. L'aumento della $[\text{Na}^+]_i$ causa una riduzione del gradiente elettrochimico del Na^+ che guida l'espulsione del Ca^{2+} mediante lo scambiatore NCX. Il risultato finale è l'aumento dell'accumulo di Ca^{2+} nel SR e il progressivo aumento della quantità dello ione liberata ad ogni potenziale d'azione.