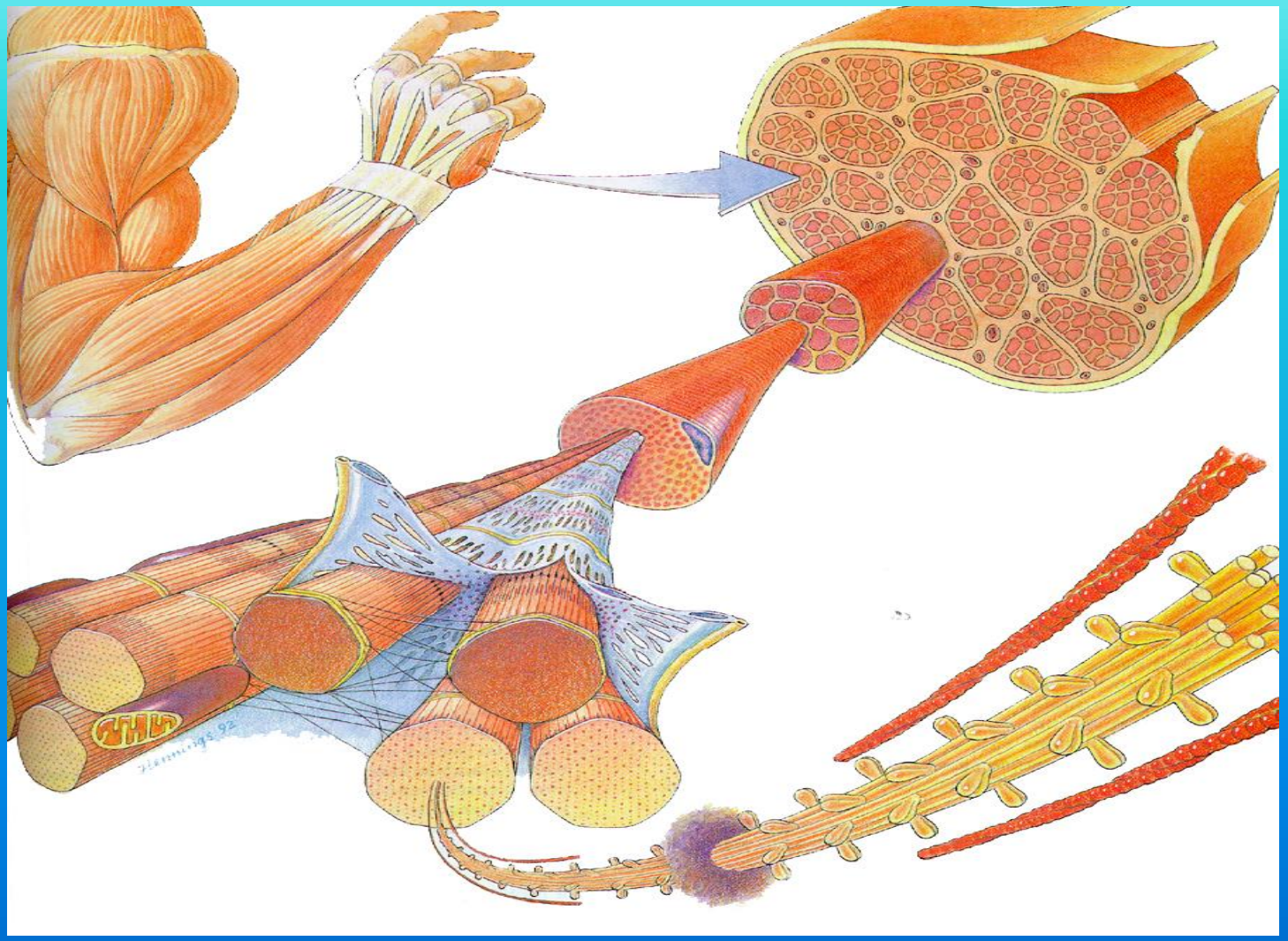
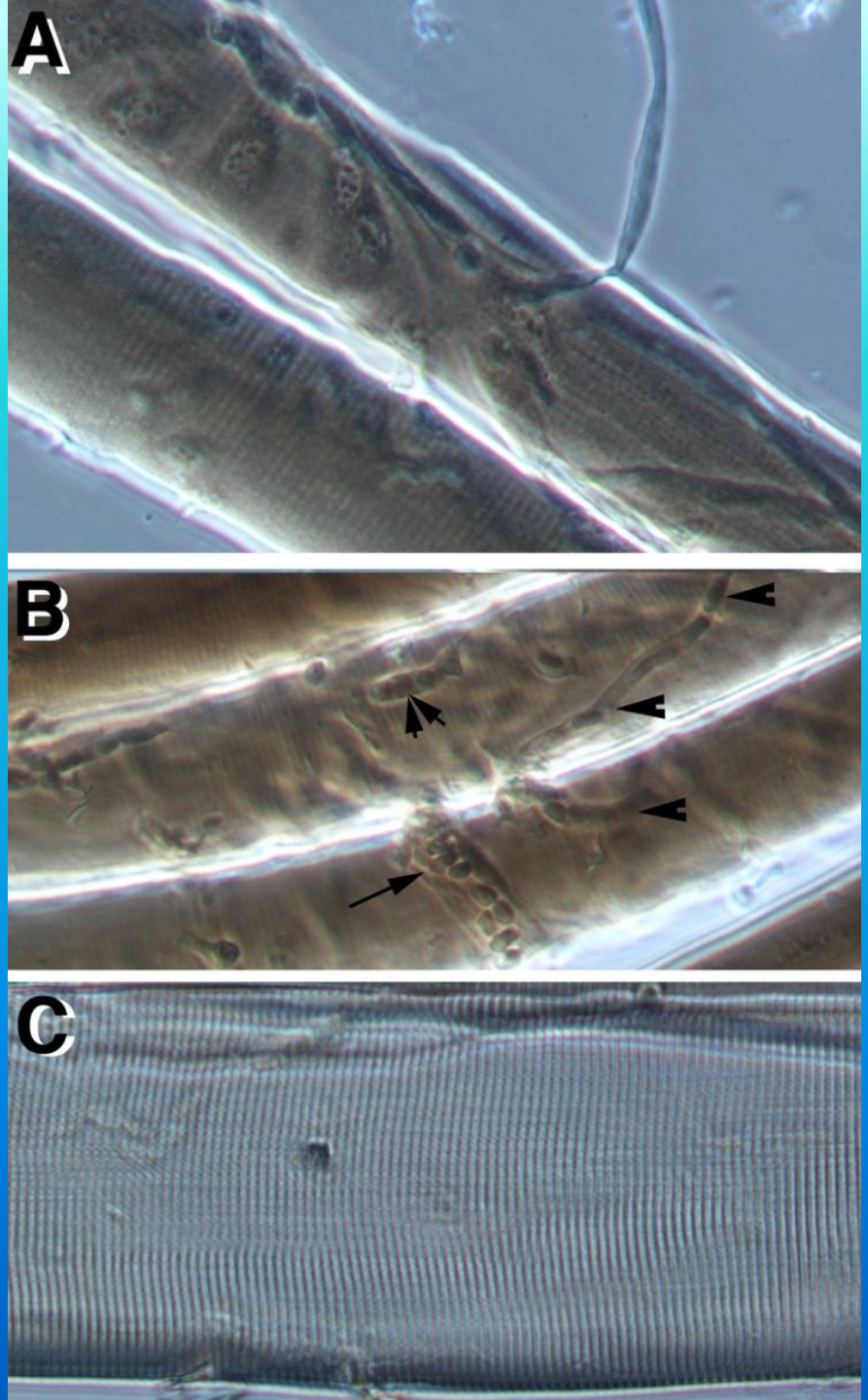
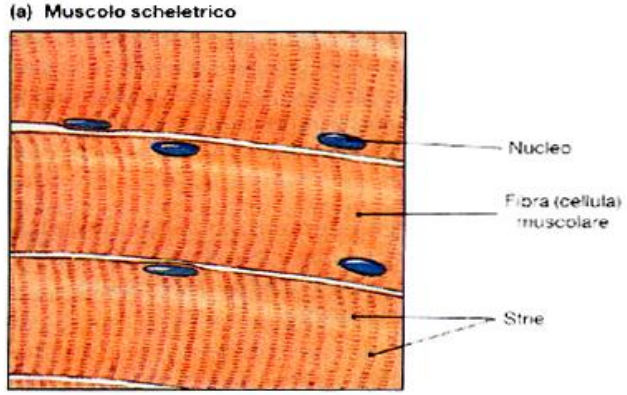
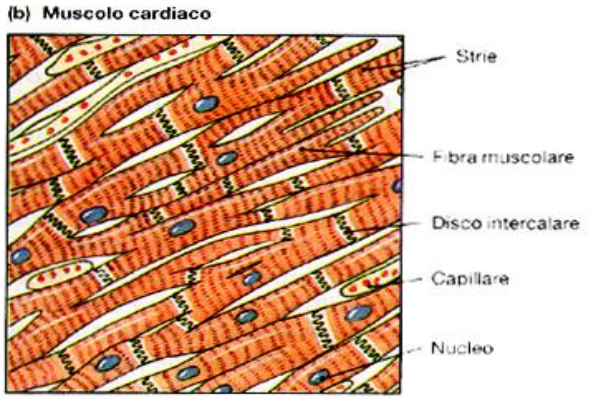
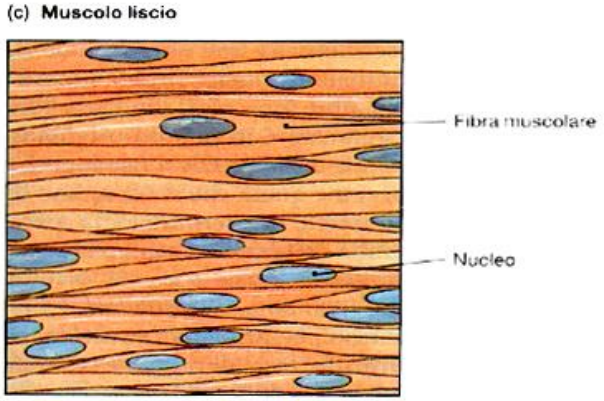
Muscolo, un sistema a cilindri




A
B
C







I tre tipi di muscolo

a - Muscolo scheletrico

E' costituito da cellule multinucleate striate (per la presenza regolare di actina e miosina) ed è inserito sulle ossa dello scheletro. Controlla i movimenti del corpo e risponde solo ad impulsi provenienti da motoneuroni (volontario); rappresenta il 40% della massa corporea.

b - Muscolo cardiaco

E' costituito da cellule mononucleate striate. Si trova solo nel cuore e si contrae spontaneamente (involontario); rappresenta il 5% della massa corporea.

c - Muscolo liscio

E' costituito da cellule mononucleate non striate. E' il muscolo principale degli organi interni e cavi ed è controllato dal sistema nervoso autonomo (involontario); rappresenta il 5% della massa corporea.

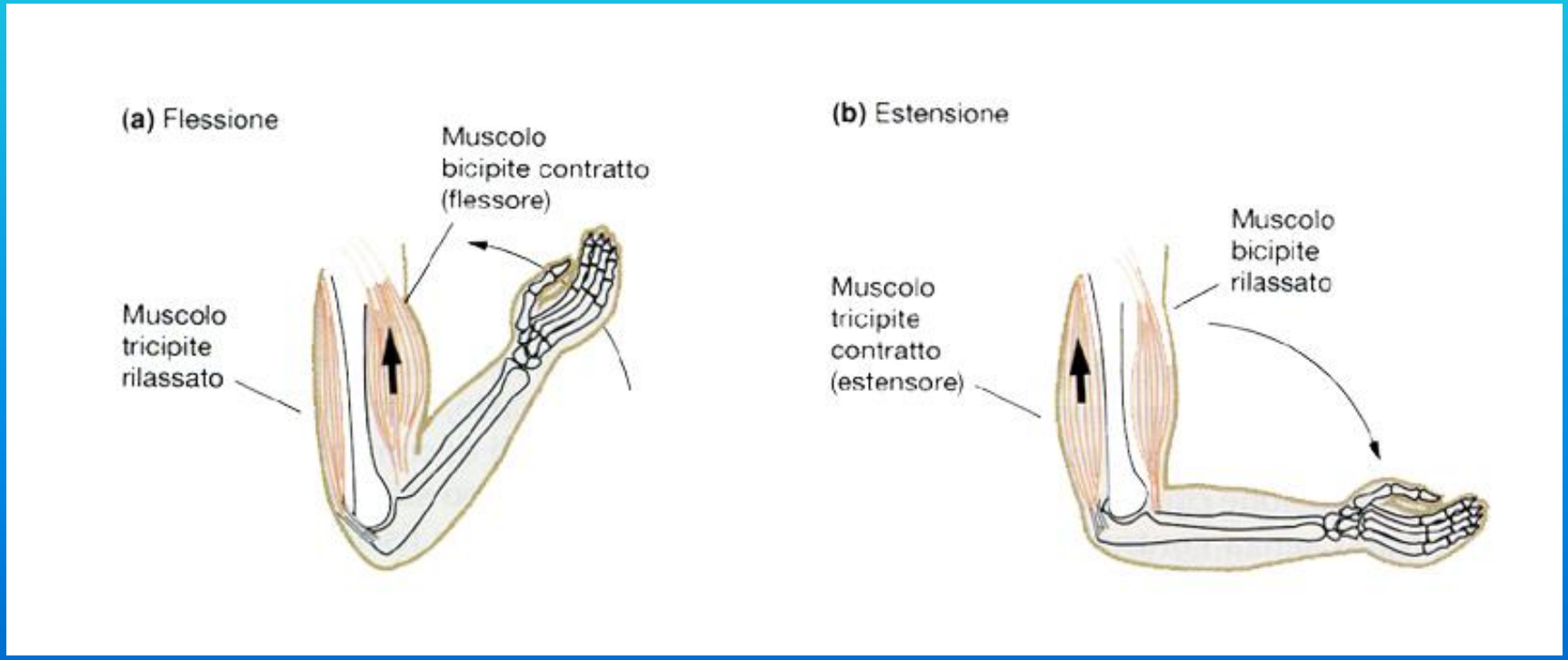
Proprietà del tessuto muscolare

- eccitabilità
- accorciamento, tensione
- estensibilità
- elasticità

Funzioni del muscolo

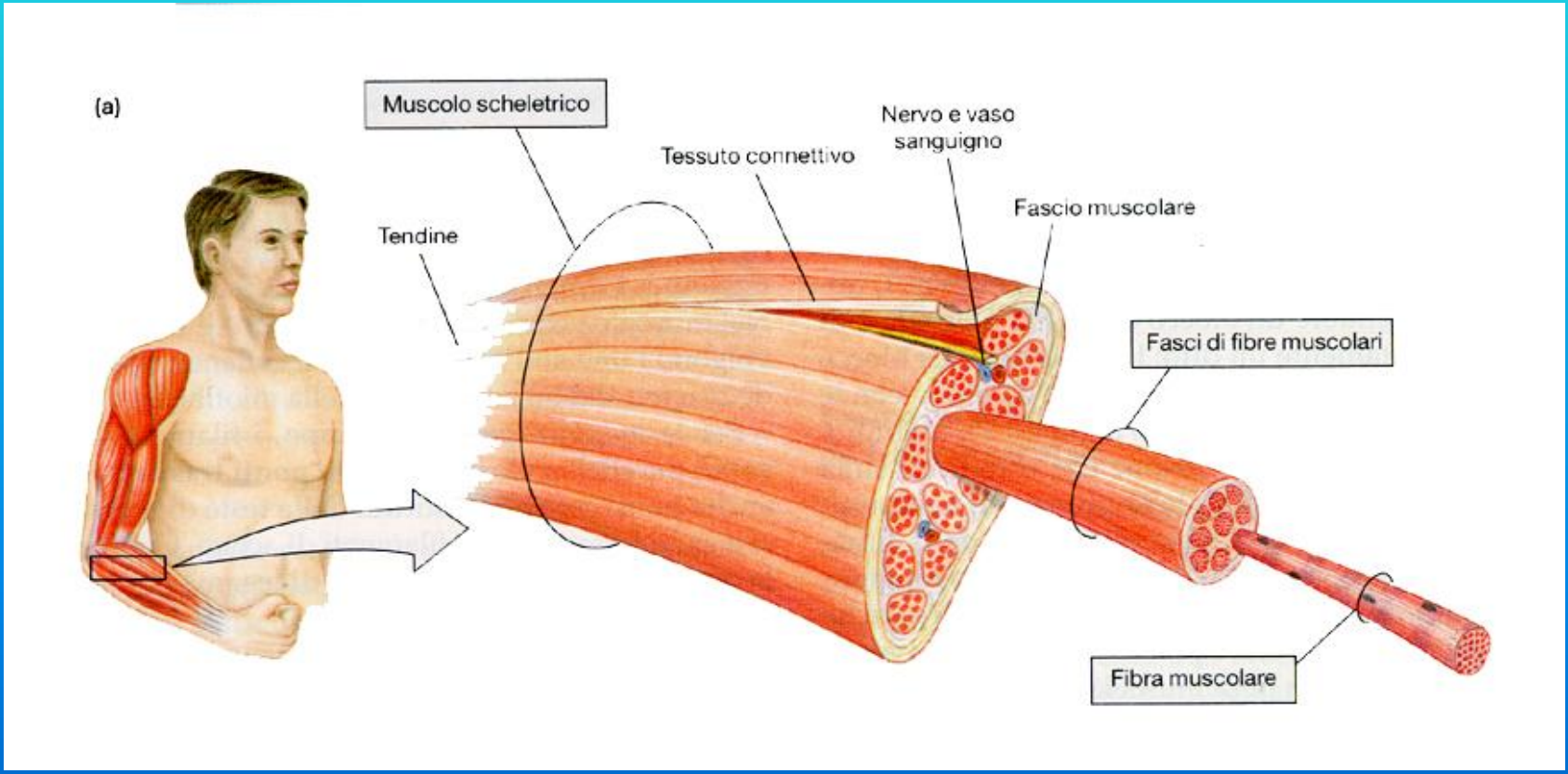
- movimento
- postura
- produzione di calore

Muscoli agonisti e antagonisti. I muscoli scheletrici possono contrarsi per avvicinare un segmento osseo, ma non per allontanarlo. Quindi solitamente i muscoli del corpo controllano i movimenti in coppie o gruppi come nel caso del bicipite e tricipite del braccio che funzionano come flessore ed estensore. In questo caso i due muscoli si definiscono *antagonisti*. Quando i muscoli agiscono consensualmente per produrre uno stesso movimento vengono definiti *sinergisti*.

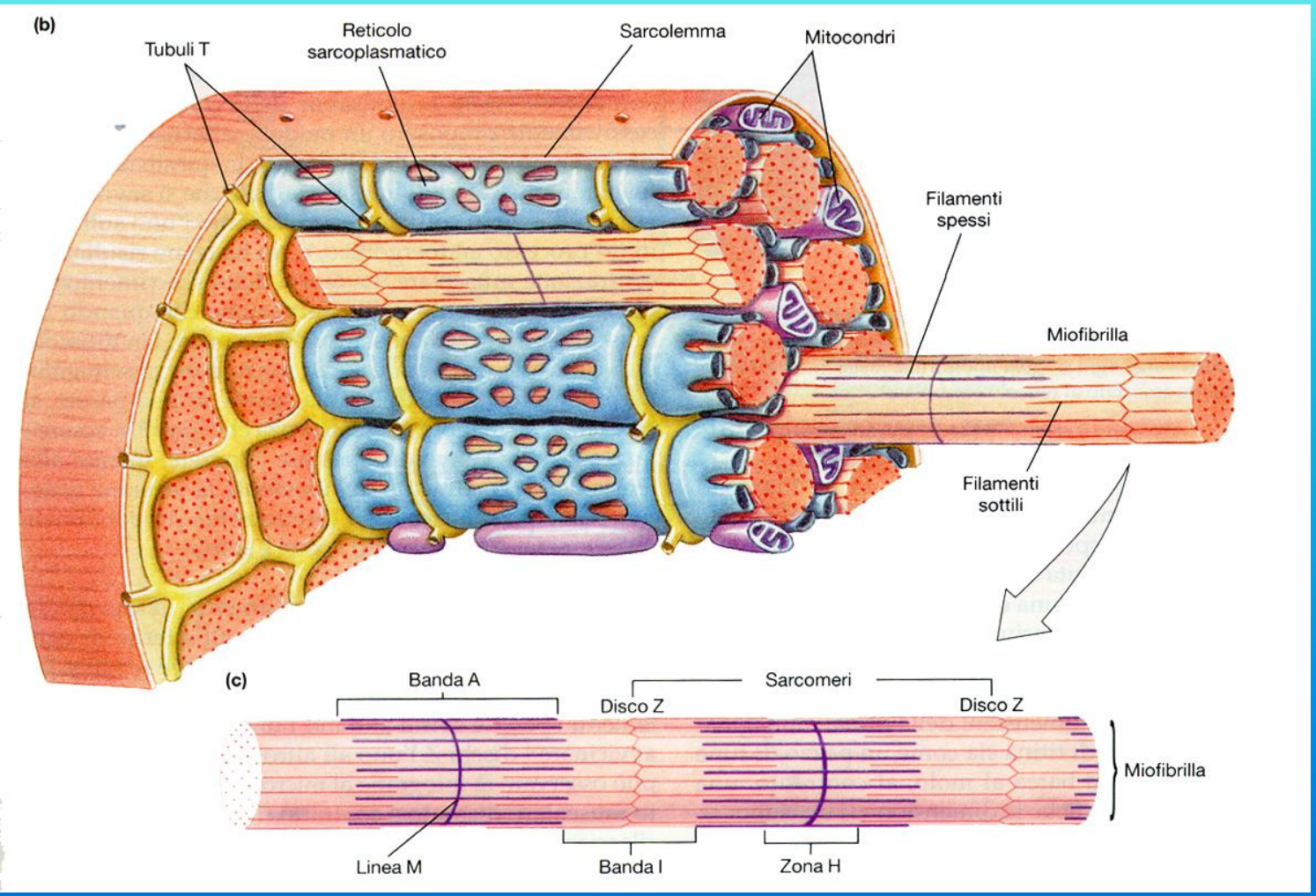


Muscolo, fasci e fibre.

I muscoli sono collegati alle ossa attraverso tendini costituiti di collagene e rivestiti da una guaina connettivale. Sono costituiti da fasci di fibre che sono separati da tessuto connettivo contenente vasi, nervi e fibre elastiche.



La fibra muscolare e le miofibrille



Zona H (*helles-* chiaro) filamenti di miosina

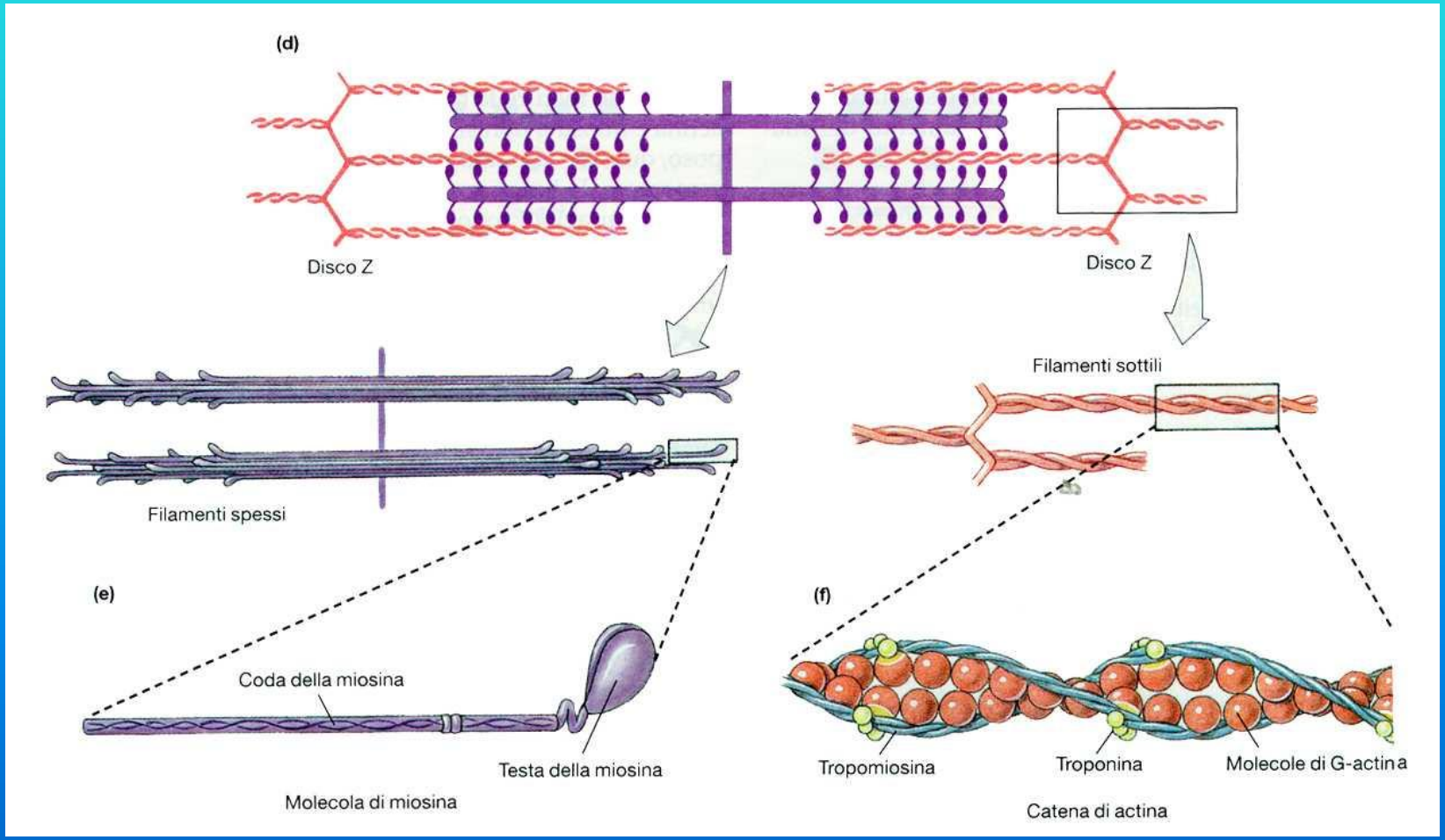
Banda I (*isotropo*) filamenti di actina

Banda A (*anisotr.*) sovrapposizione di filamenti di miosina e di actina

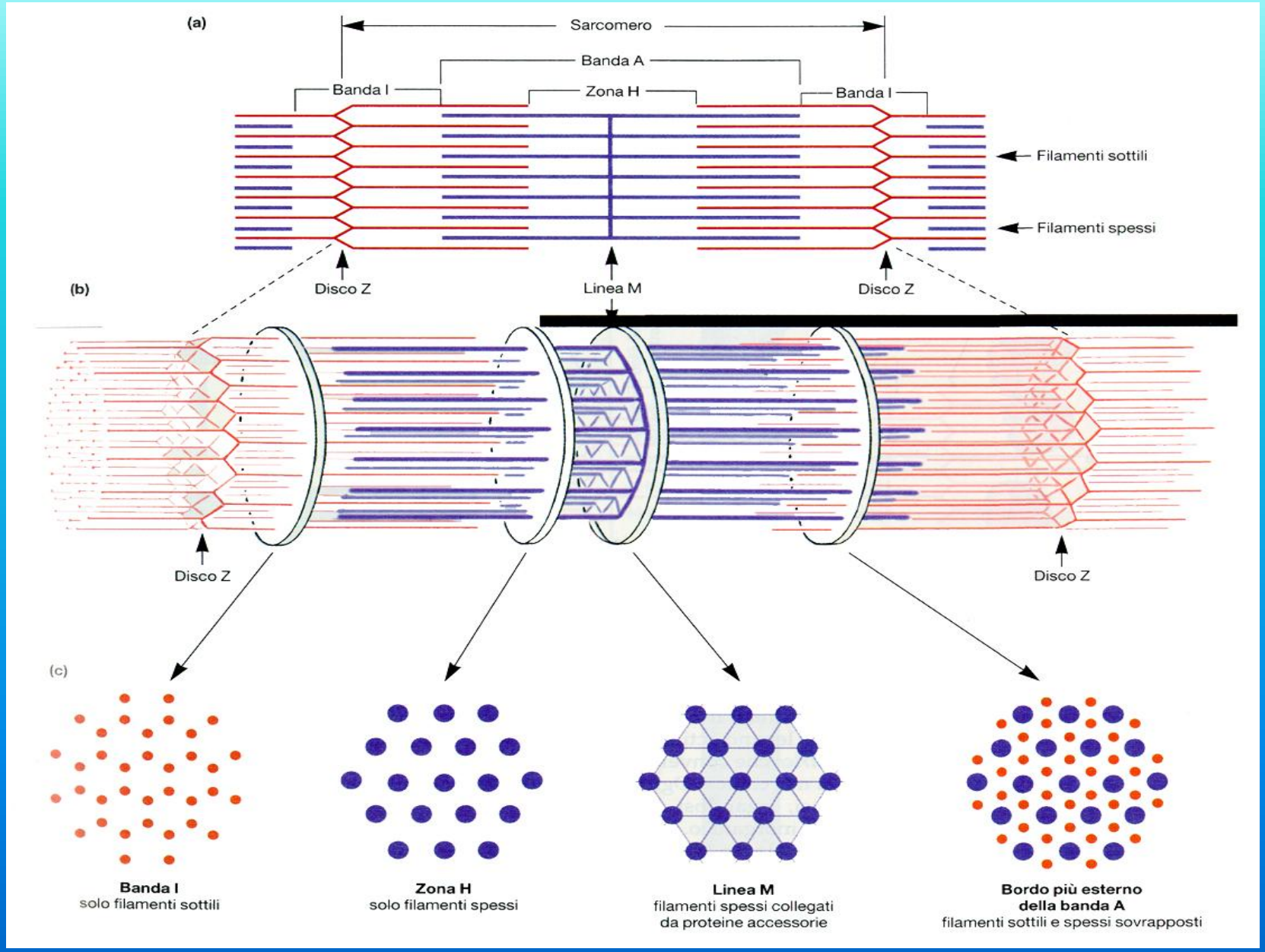
Linea M (*mittel*) connette filamenti di miosina adiacenti all'interno della zona H

Disco Z (*zwischen-* tra) taglia a zig zag attraverso ciascuna banda I

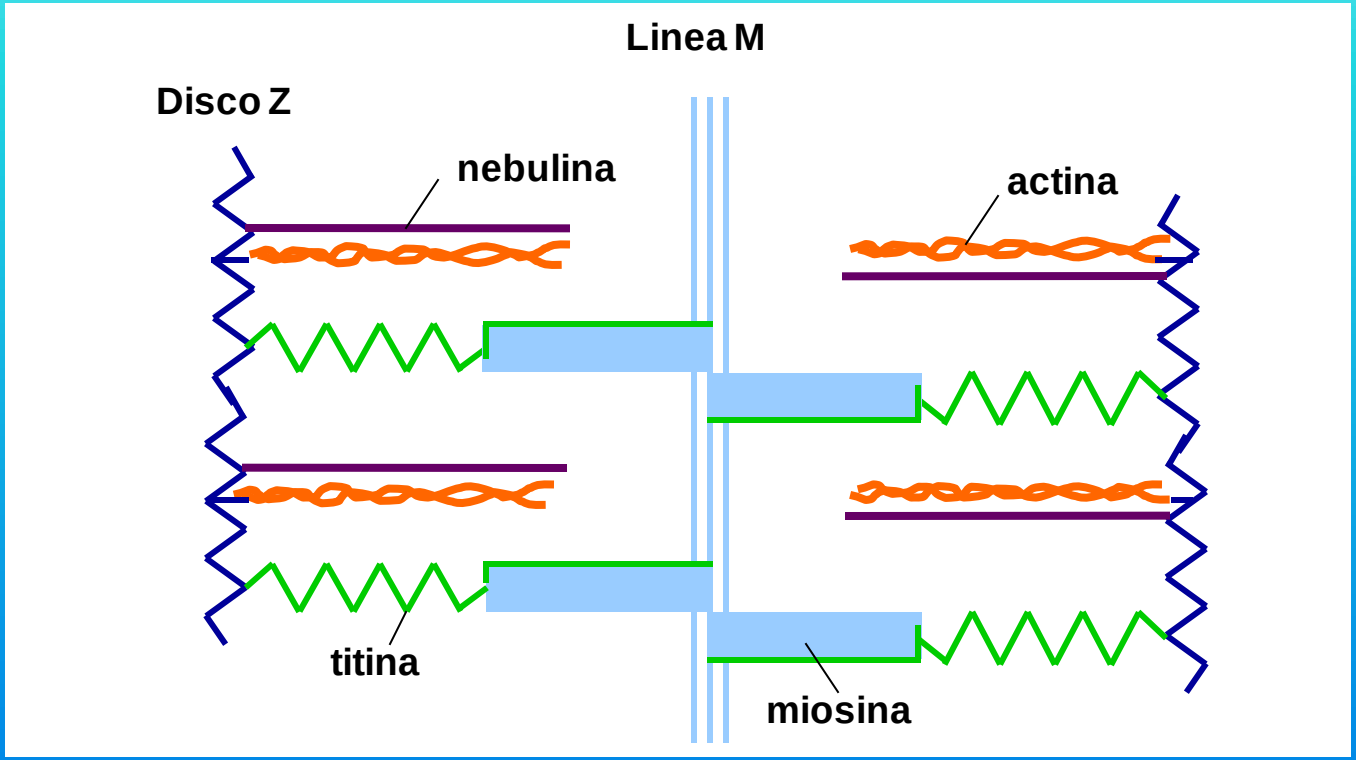
Il sarcomero: rappresenta l'unità funzionale contrattile del muscolo striato che si estende da una linea Z alla successiva. Contiene diverse proteine la cui interazione genera la contrazione (miosina e actina (contrattili), troponina e tropomiosina (regolatorie), titina e nebulina (giganti accessorie)).

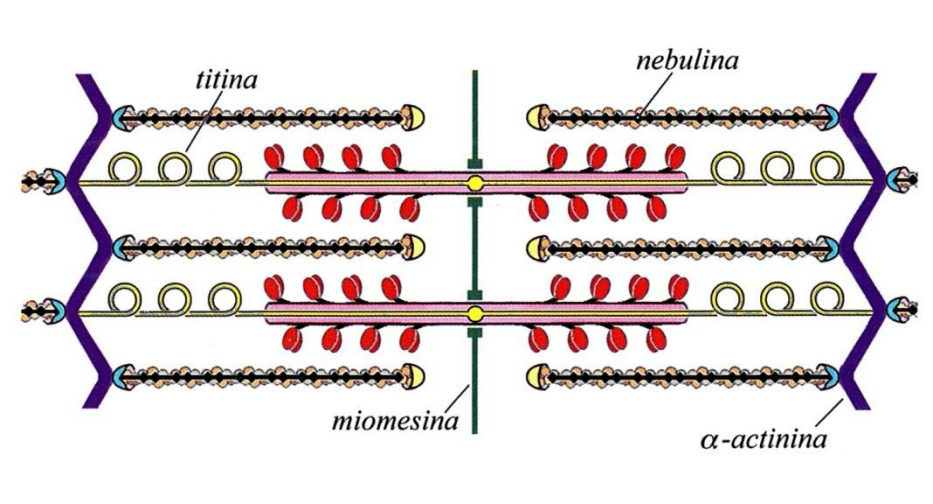


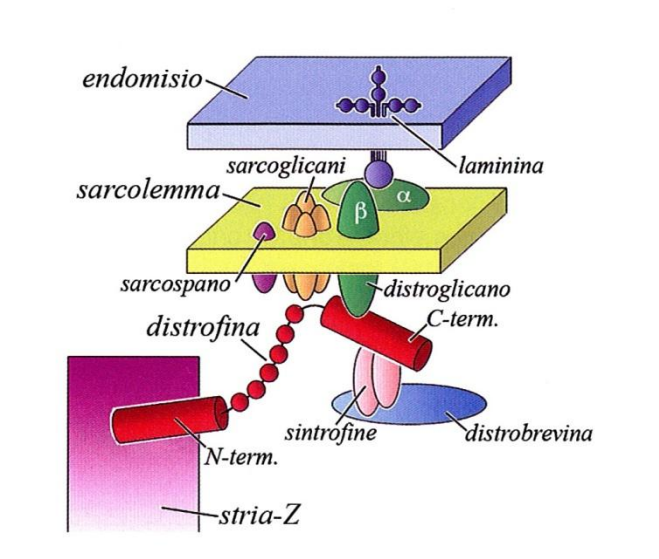
Miosina: esamero; MW 520,000; 2 catene pesanti MW: 220,000 ciascuna. C-terminale: un'elica, N-Terminale: testa Globulare

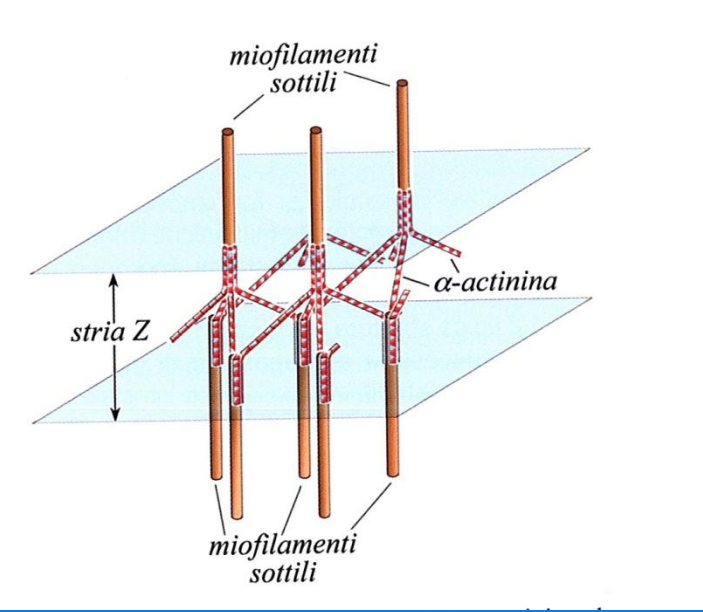

(a)
Sarcomero
Banda A
Banda I
Zona H
Banda I
Filamenti sottili
Filamenti spessi
Disco Z
Linea M
Disco Z
(b)
Disco Z
Disco Z
(c)
Banda I
solo filamenti sottili
Zona H
solo filamenti spessi
Linea M
filamenti spessi collegati
da proteine accessorie
Bordo più esterno
della banda A
filamenti sottili e spessi sovrapposti

Le proteine del sarcomero

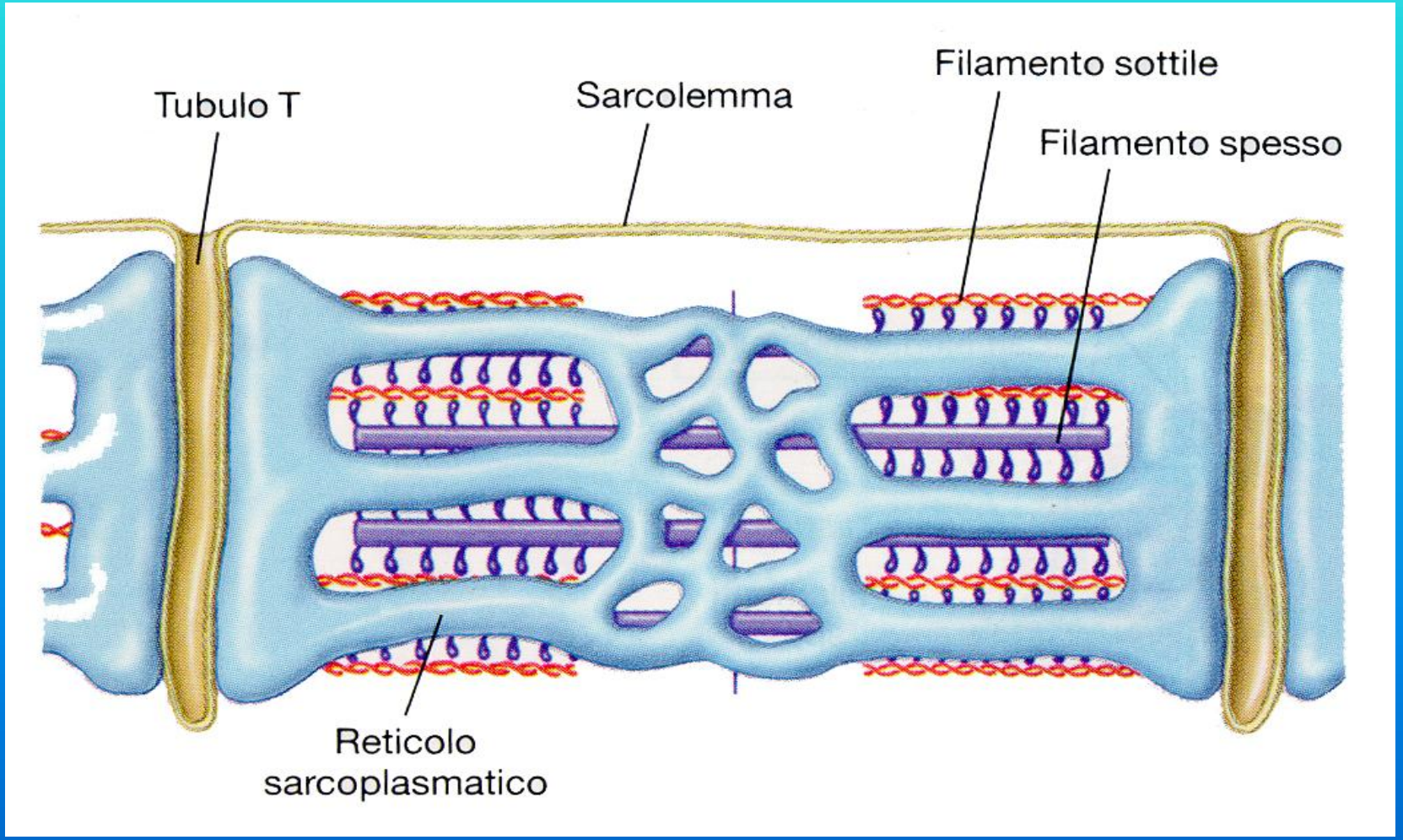


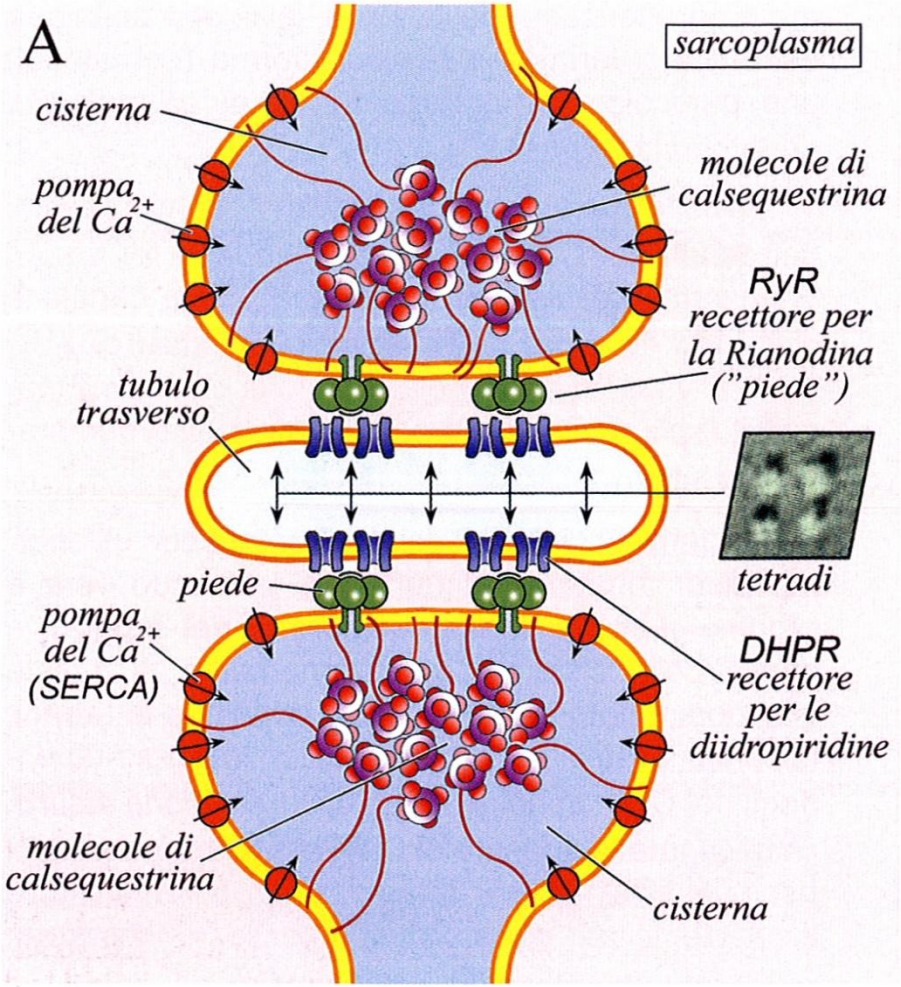

titina
nebulina
miomesina
α-actinina

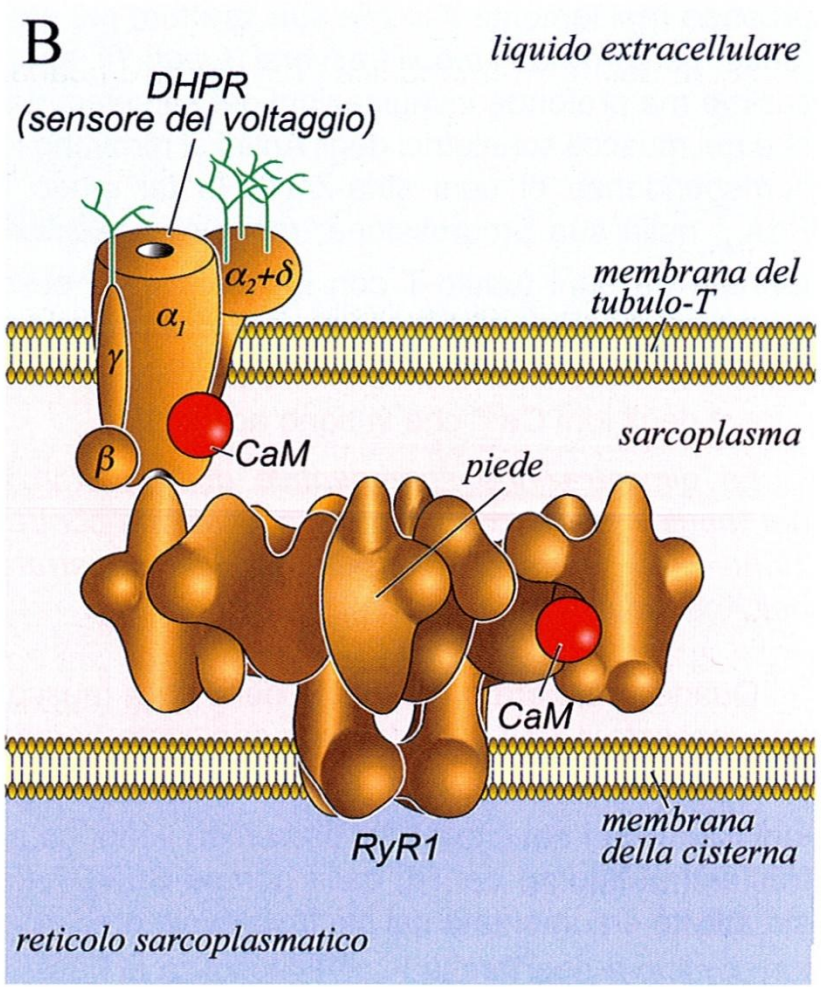

endomisio
laminina
sarcoglicani
sarcolemma
α
β
sarcospano
distroglicano
distrofina
C-term.
sintrofine
distrobrevina
N-term.
stria-Z


miofilamenti sottili
α-actinina
stria Z
miofilamenti sottili

Il Reticolo Sarcoplasmatico: avvolge ogni singola miofibrilla ed è il sistema di membrane che controlla la concentrazione di Ca^{2+} citoplasmatica.

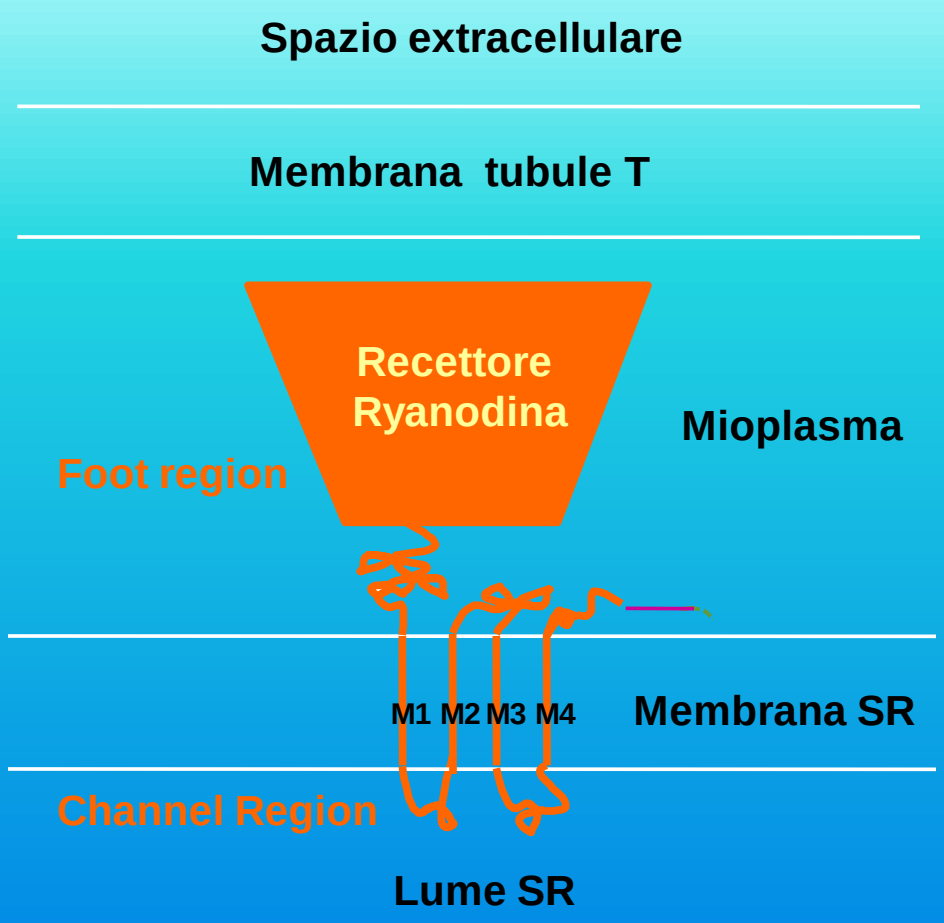



A
sarcoplasma
cisterna
pompa del Ca^{2+}
molecole di calsequestrina
RyR
recettore per la Rianodina ("piede")
tubulo trasverso
tetradi
piede
pompa del Ca^{2+} (SERCA)
DHPR
recettore per le diidropiridine
molecole di calsequestrina
cisterna


B
liquido extracellulare
DHPR
(sensore del voltaggio)
$\alpha_2+\delta$
membrana del tubulo-T
α_1
γ
β
CaM
sarcoplasma
piede
CaM
RyR1
membrana della cisterna
reticolo sarcoplasmatico

Il canale per il rilascio del Ca^{2+} del Reticolo Sarcoplasmatico (o Recettore della Ryanodina).

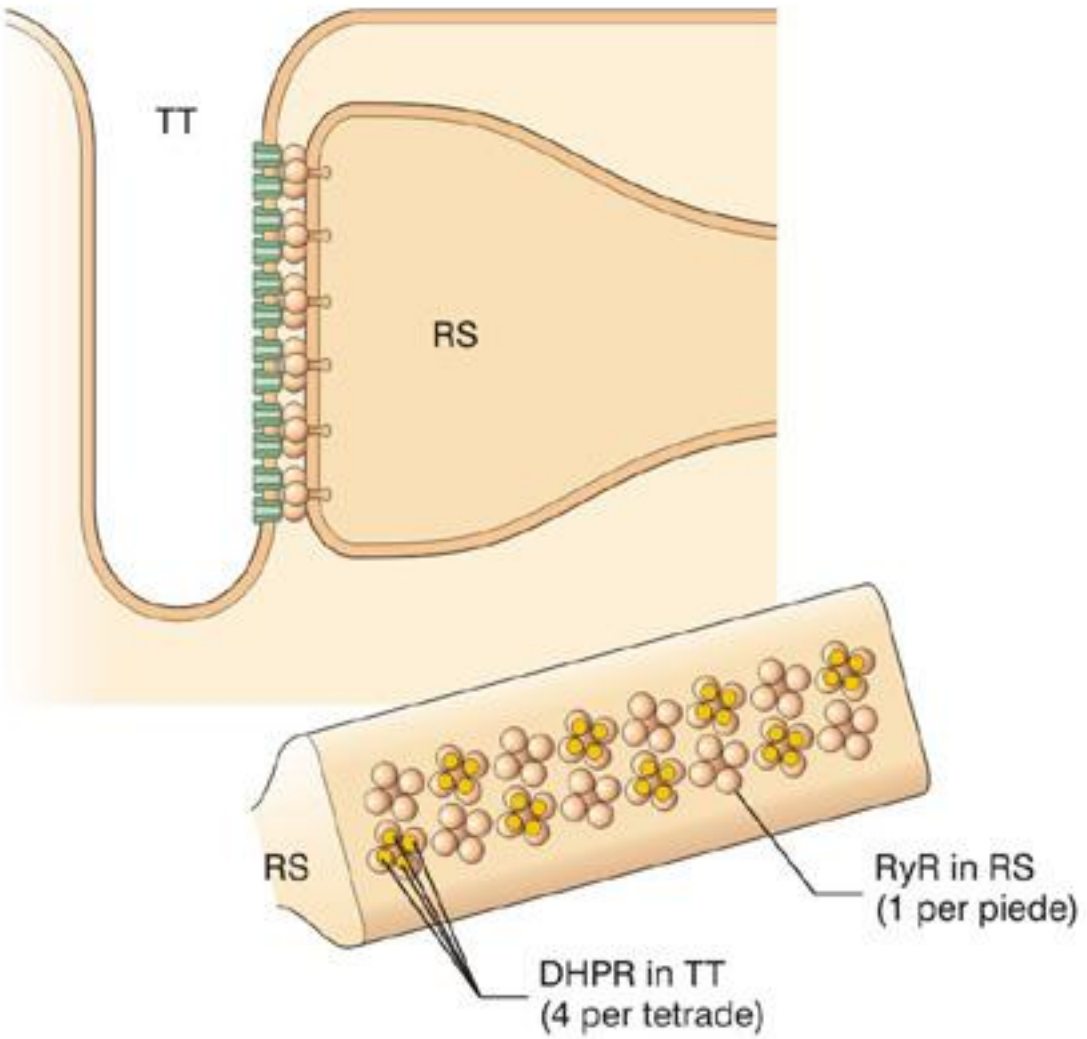
E' un omotetramero di eccezionali dimensioni (~2,200 kDa) formato da due regioni:



1 - una regione citoplasmatica (o piede) che rappresenta "il ponte" tra il reticolo sarcoplasmatico e i tubuli a T (foot region)

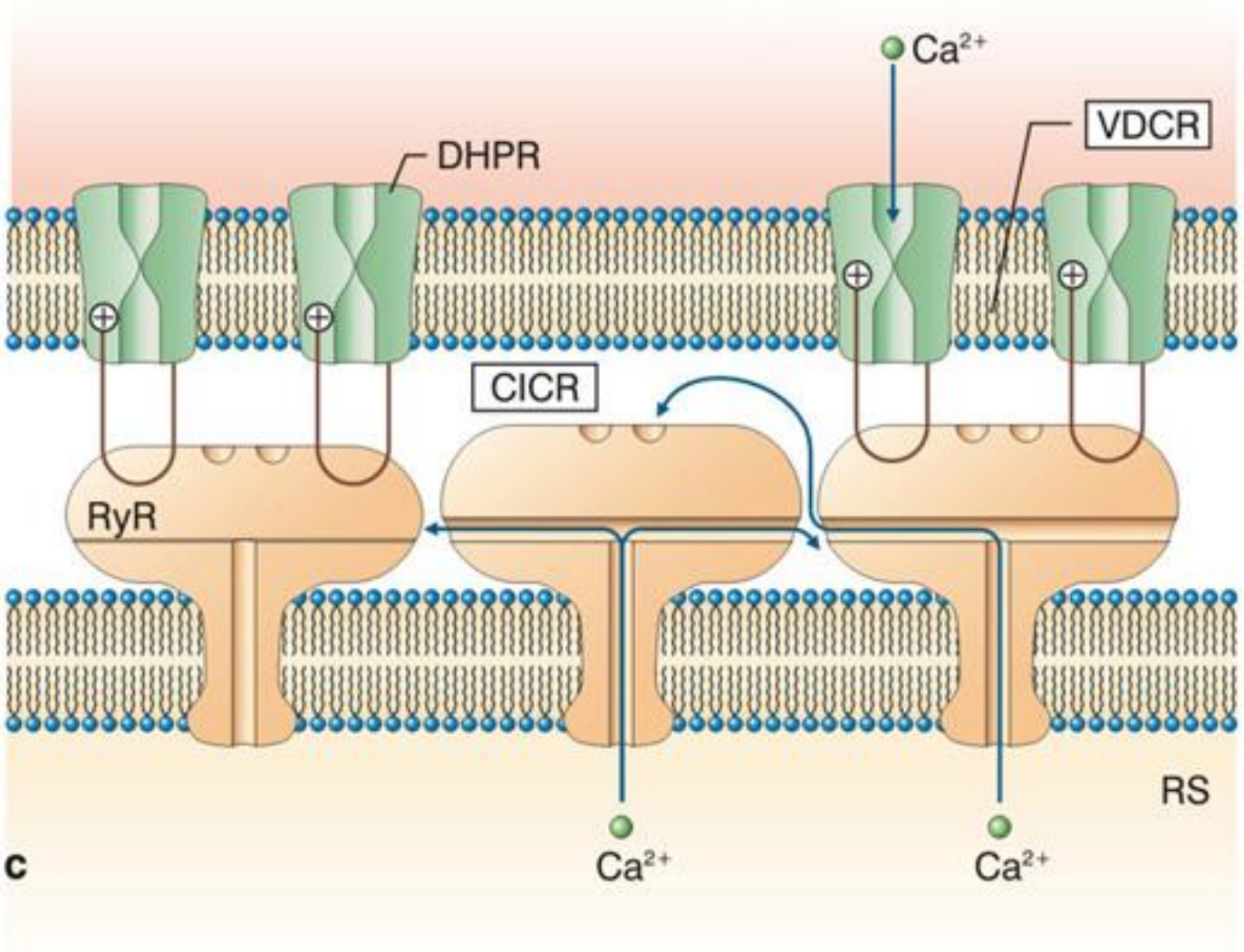
2 - una regione trans-membranaria che forma il canale per il rilascio del Ca^{2+}: l'apertura di questo canale in seguito alla depolarizzazione del tubulo a T causa l'innalzamento della $[Ca^{2+}]$ intracellulare.

Muscolo scheletrico



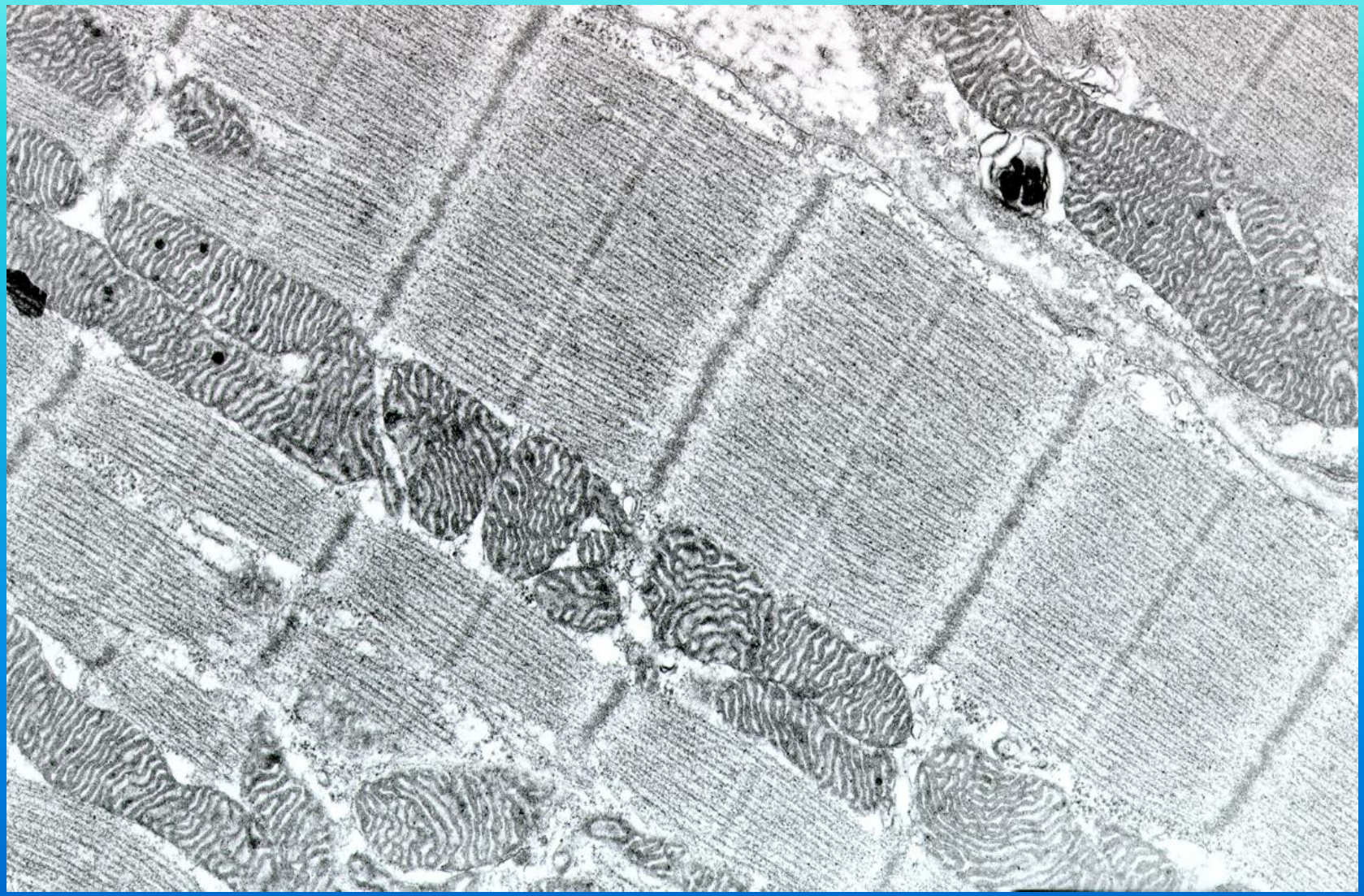
© 2006 edi.ermes milano

Muscolo scheletrico - VDCR+

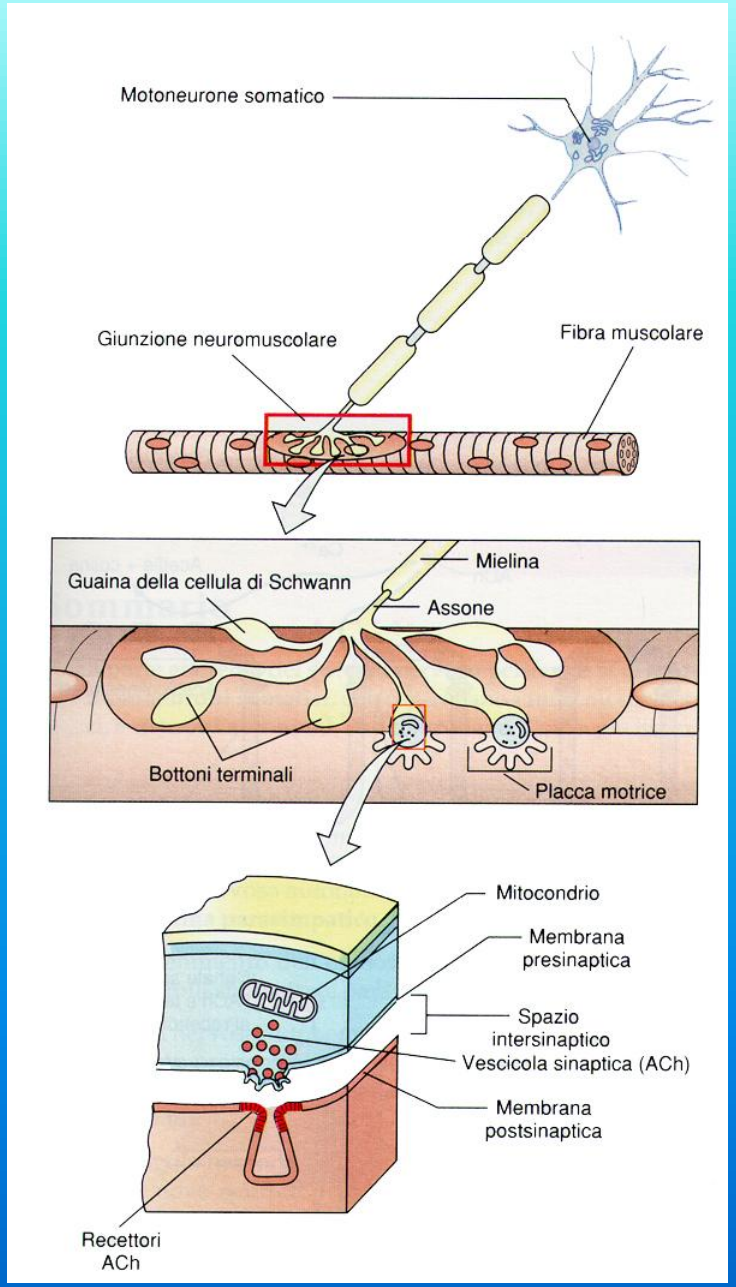


© 2006 edi.ermes milano

Il muscolo al microscopio elettronico



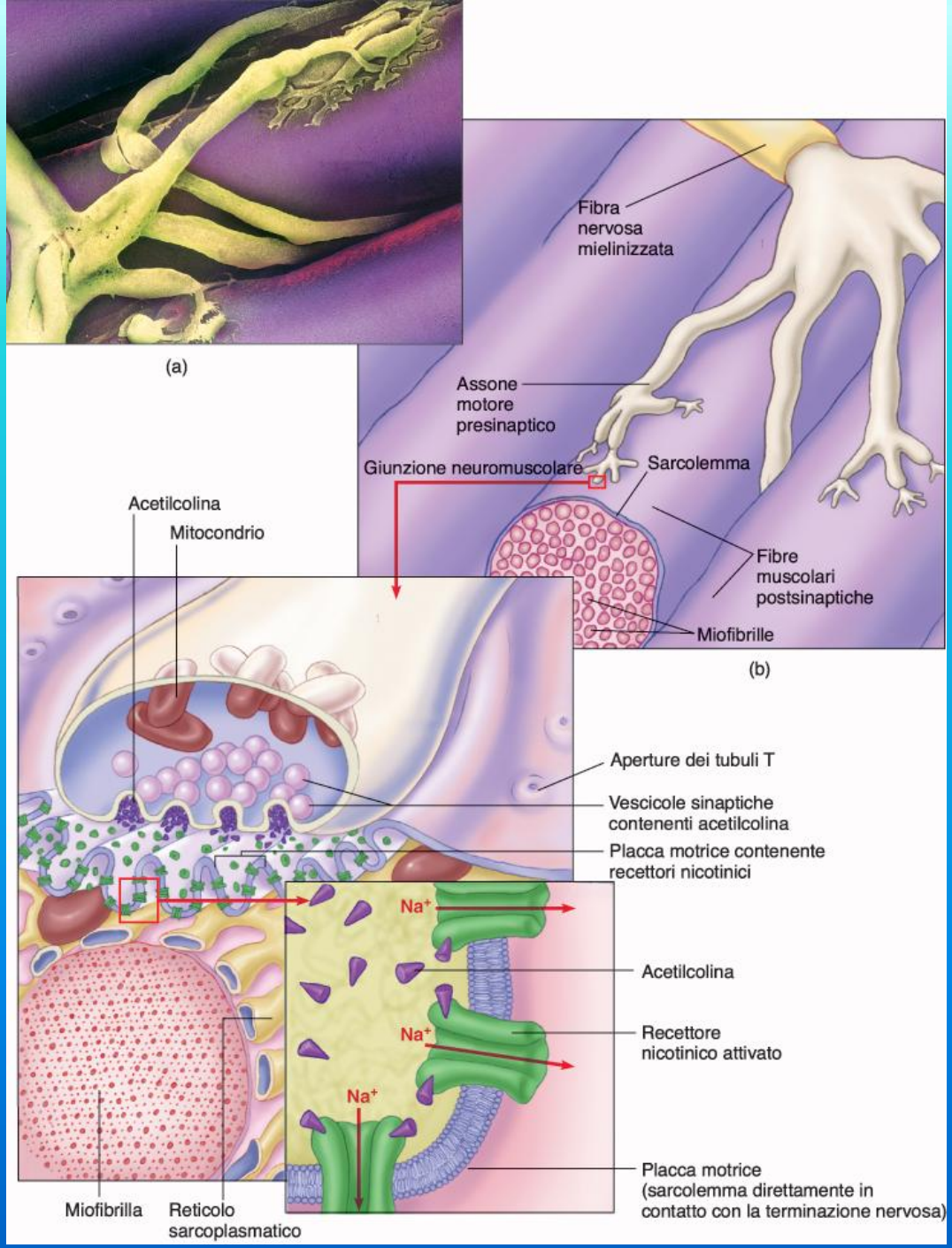
Un neurone innerva più fibre muscolari scheletriche

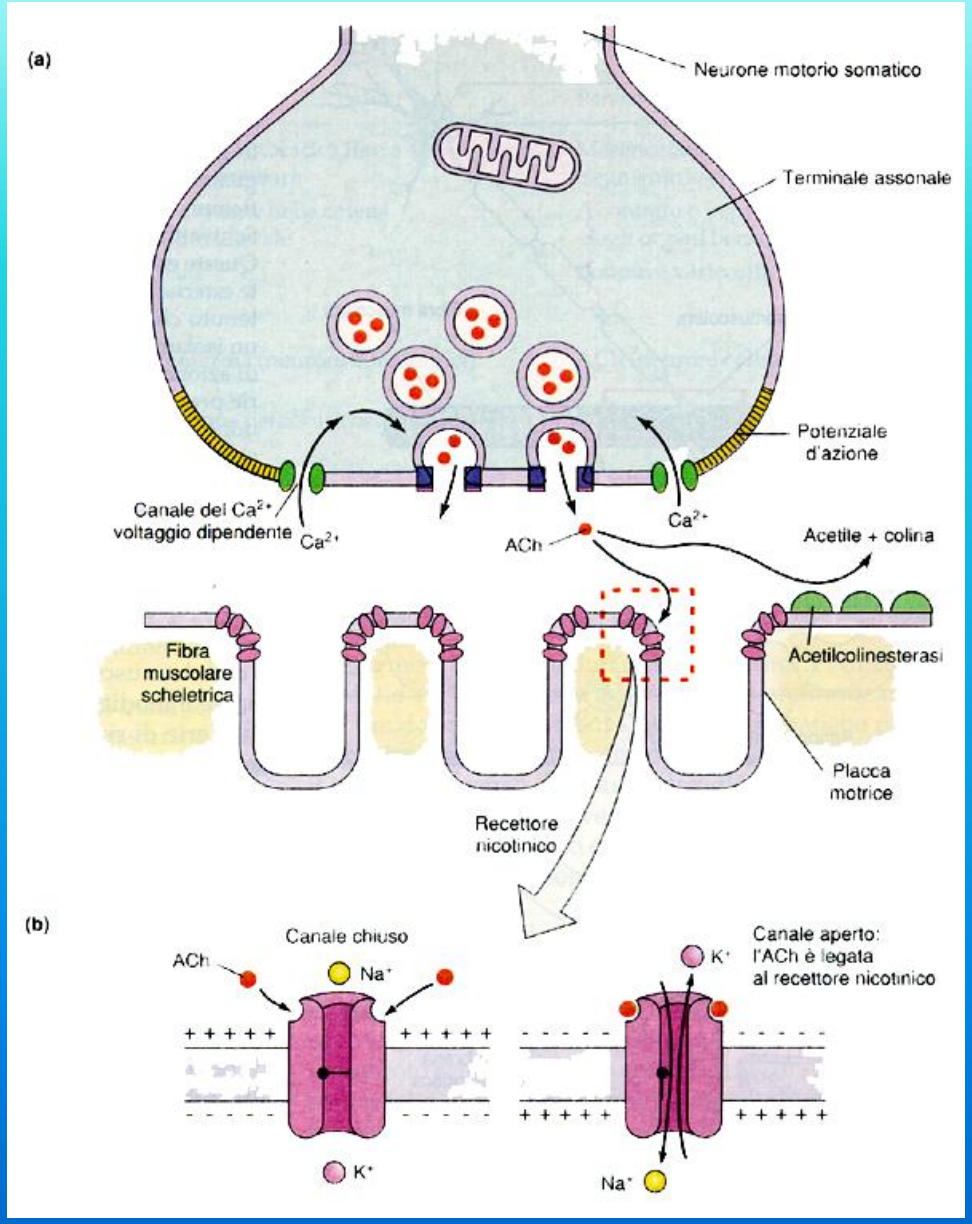


La giunzione neuromuscolare si ramifica a formare diverse placche motrici

I corpi cellulari dei neuroni somatici si trovano all'interno della sostanza grigia del midollo spinale o del cervello.
L'assone è singolo e raggiunge la cellula bersaglio che può anche essere molto lontana (fino ad un metro di distanza).
L'impulso trasmesso dal sistema nervoso al muscolo scheletrico è

sempre di tipo eccitatorio.


(a)
Fibra nervosa mielinizzata
Assone motore presinaptico
Giunzione neuromuscolare
Sarcolemma
Fibre muscolari postsinaptiche
Miofibrille
(b)
Acetilcolina
Mitocondrio
Aperture dei tubuli T
Vescicole sinaptiche contenenti acetilcolina
Placca motrice contenente recettori nicotinici
Na+
Acetilcolina
Recettore nicotinico attivato
Placca motrice (sarcolemma direttamente in contatto con la terminazione nervosa)
Miofibrilla
Reticolo sarcoplasmatico

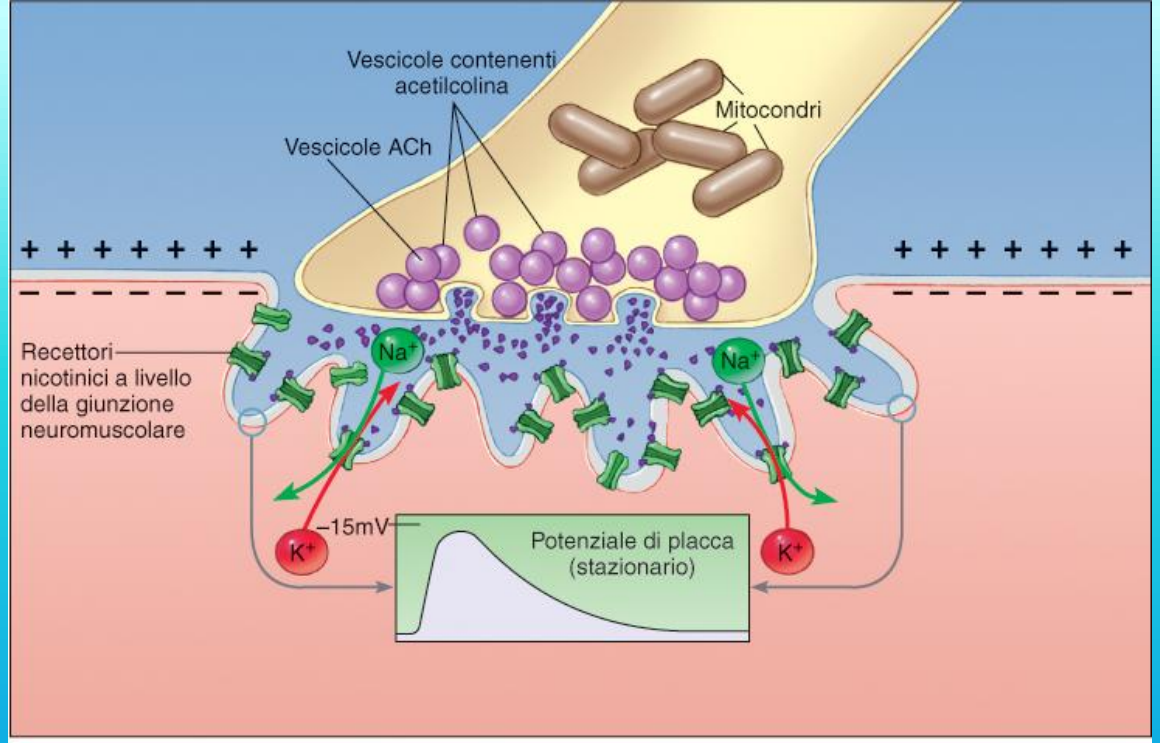


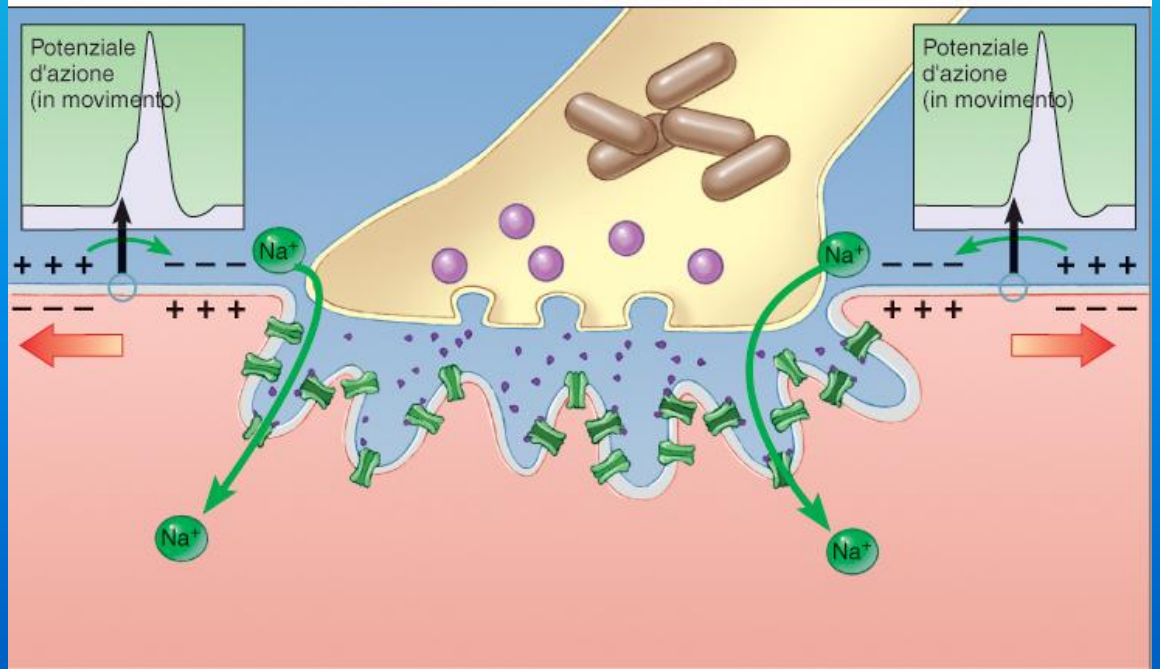
Acetilcolina e depolarizzazione del sarcolemma

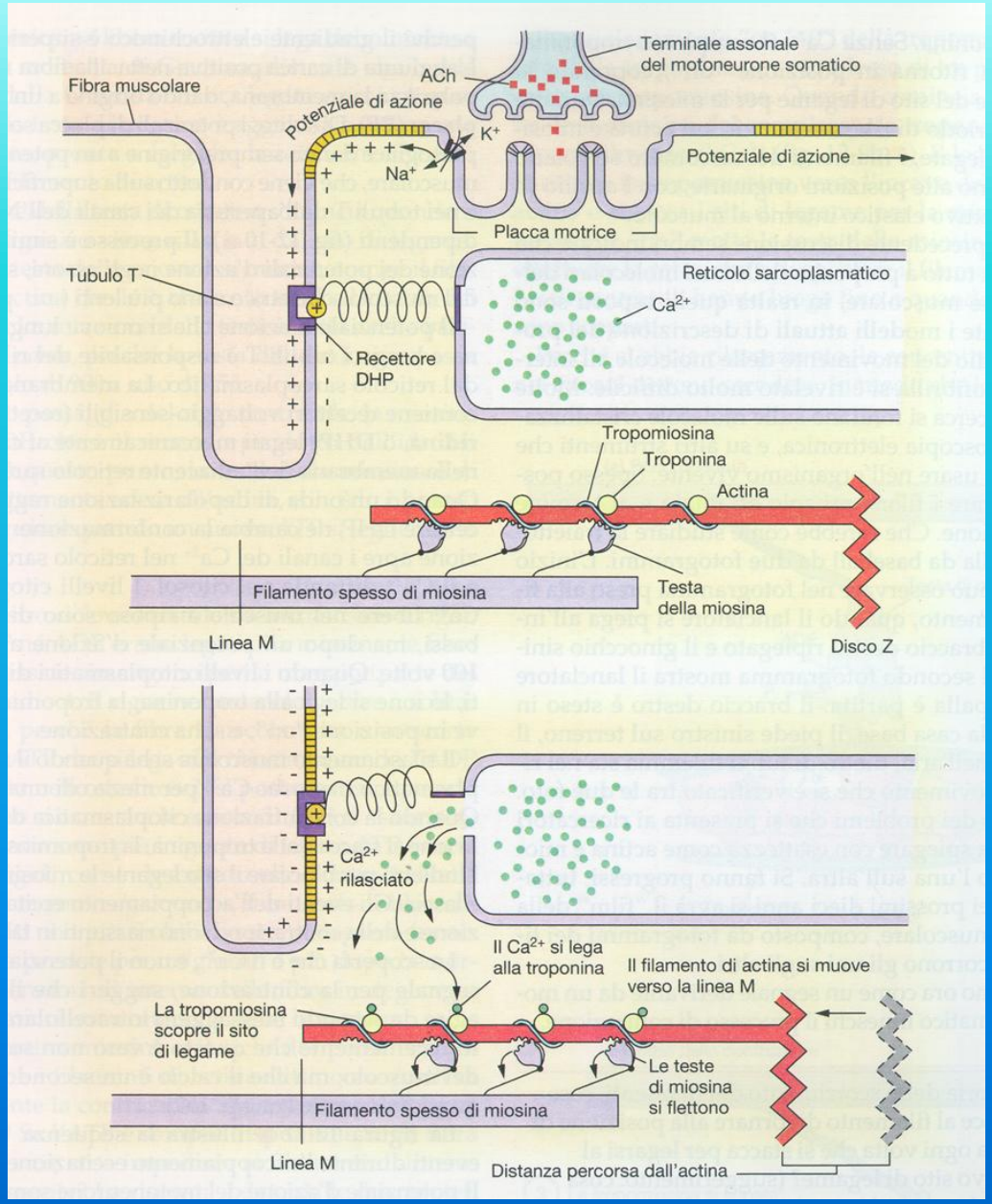
L'acetilcolina viene rilasciata nello spazio intercellulare della placca motrice in seguito alla depolarizzazione del terminale assonale.

L'acetilcolina si lega ai recettori nicotinici della membrana postsinaptica che formano canali per cationi monovalenti (Na^+ e K^+).

L'apertura di questi canali permette l'ingresso di Na^+ e quindi depolarizzazione della membrana plasmatica della fibra muscolare.


Vescicole contenenti
acetilcolina
Mitocondri
Vescicole ACh
Recettori
nicotinici a livello
della giunzione
neuromuscolare
Na+
Na+
K+
K+
–15mV
Potenziale di placca
(stazionario)


Potenziale
d'azione
(in movimento)
Potenziale
d'azione
(in movimento)
Na+
Na+
Na+
Na+



Accoppiamento eccitazione-contrazione.

È il processo che trasduce il segnale elettrico proveniente dai motoneuroni in contrazione muscolare. L'acetilcolina genera un potenziale di placca che determina l'origine del potenziale d'azione muscolare (PDA). Questo potenziale d'azione scatena il rilascio di Ca^{2+} dagli stores intracellulari.

La teoria dello scorrimento dei filamenti

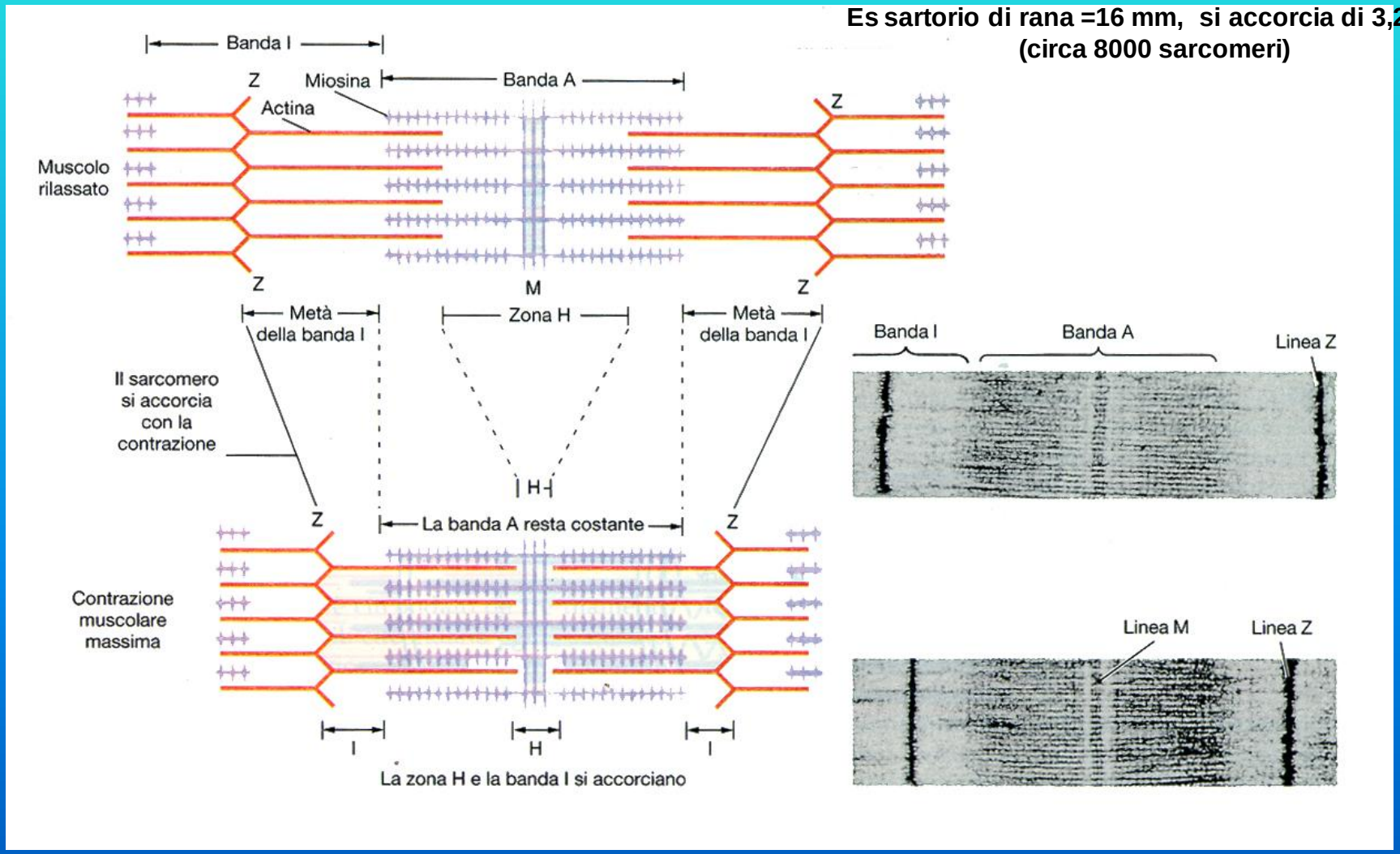
Formulata da Hugh Huxley nel 1969 e basata sull'evidenza sperimentale derivante da

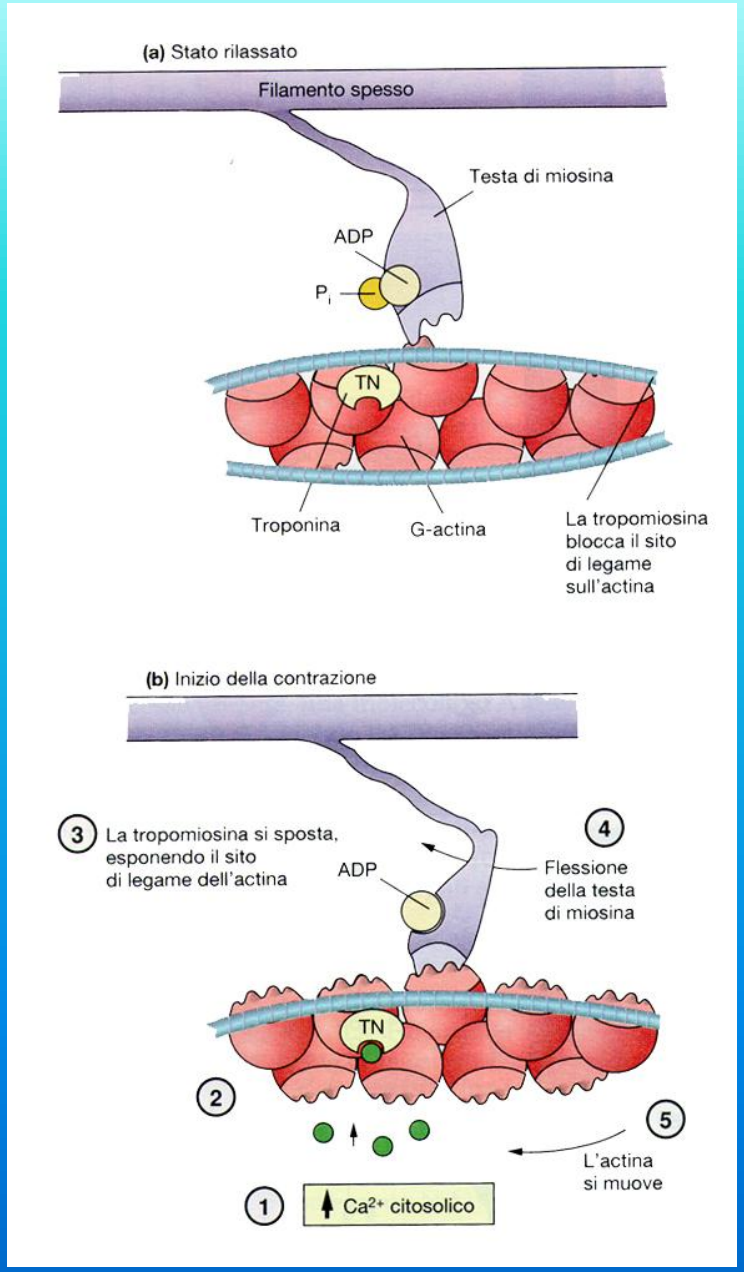
– microscopia elettronica

– diffrazione a raggi X sul muscolo vivente

– analisi biochimica delle proteine muscolari

Accorciamento sarcomero 400 nm circa
Accorciamento ai tendini:
400nm x numero sarcomeri
Es sartorio di rana =16 mm, si accorcia di 3,2 mm
(circa 8000 sarcomeri)





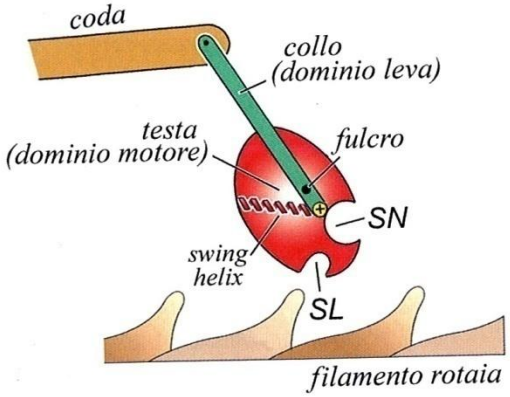
Il ruolo regolatorio di tropomiosina e troponina nella contrazione.

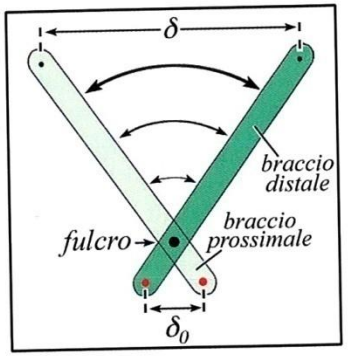
Queste due proteine hanno il ruolo di regolare la contrazione.

La tropomiosina blocca il sito di legame della miosina all'actina (posizione off).

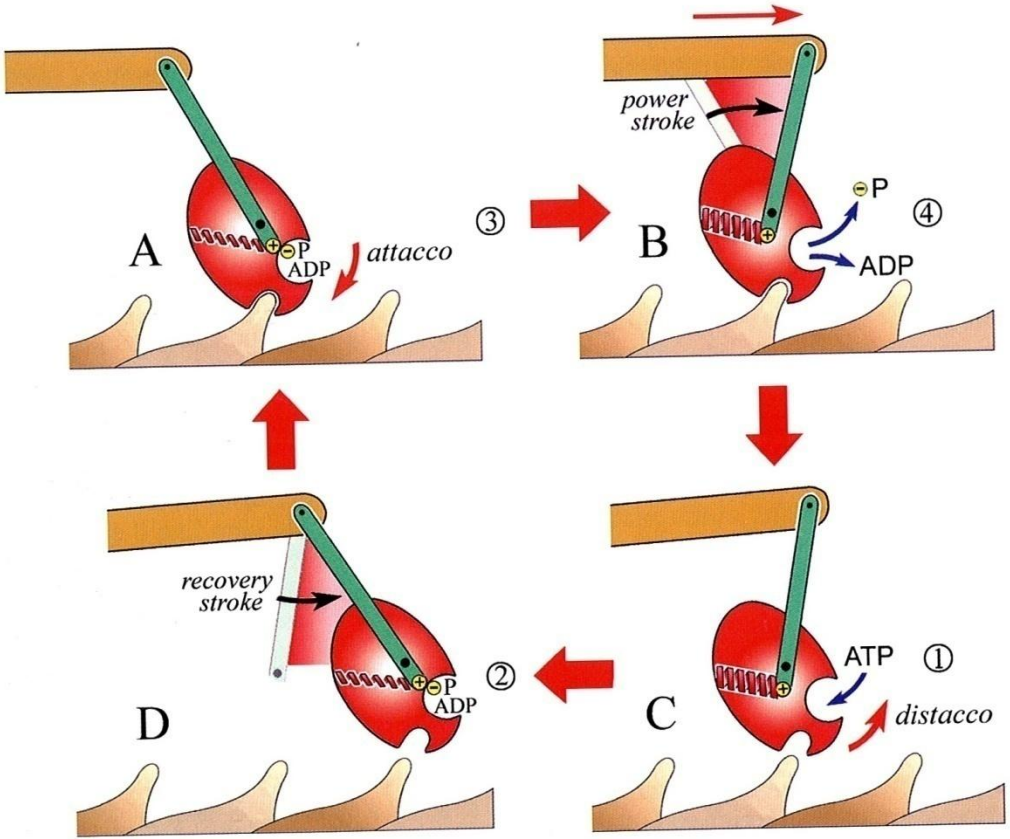
La troponina C è in grado - legando il Ca^{2+} - di muovere la tropomiosina dalla posizione off alla posizione on liberando così il sito di legame miosina-actina e attivando così la contrazione. Il muscolo si rilasserà solo quando la concentrazione mioplasmatica del Ca^{2+} diminuirà.

Ciclo operativo delle proteine motrici

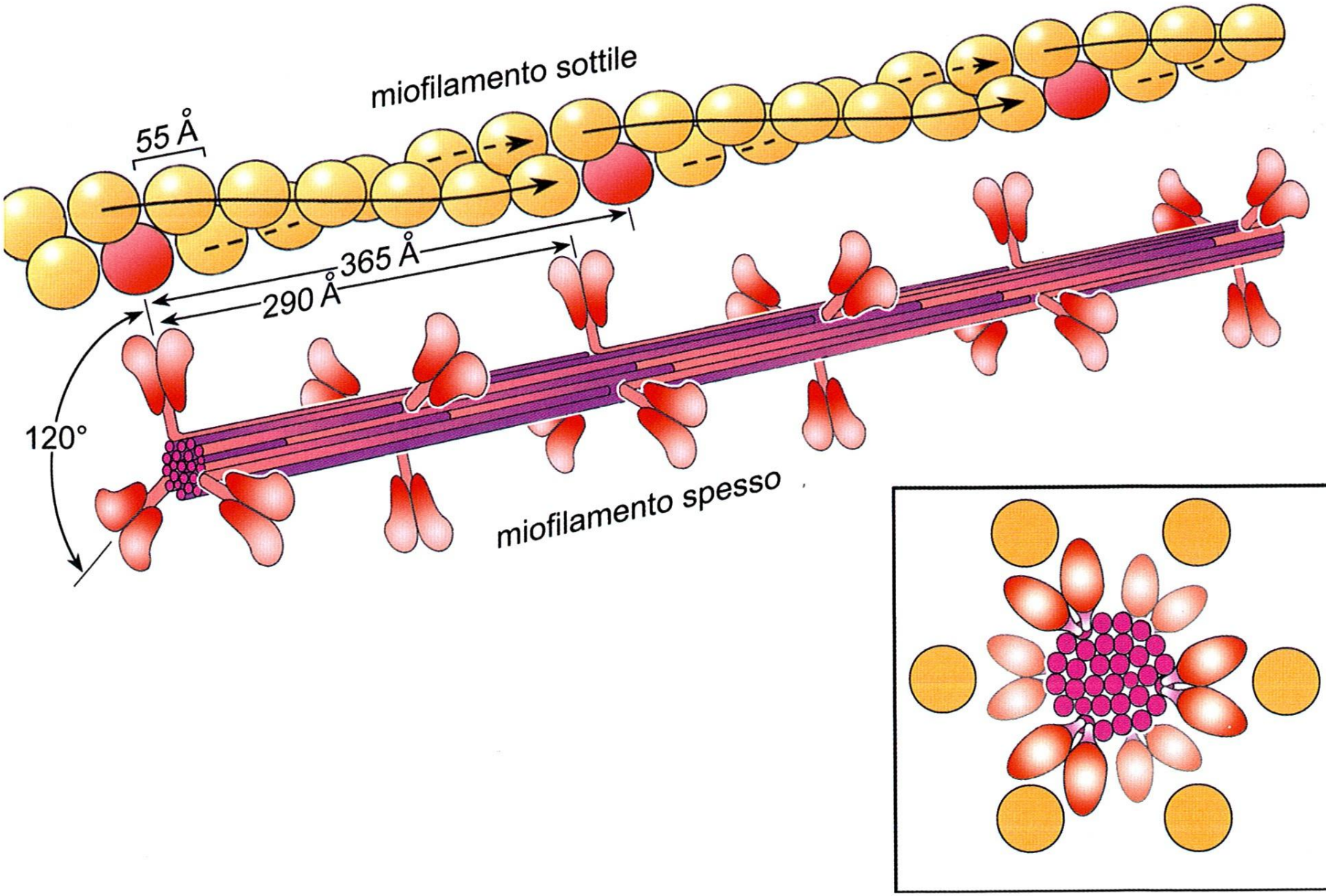


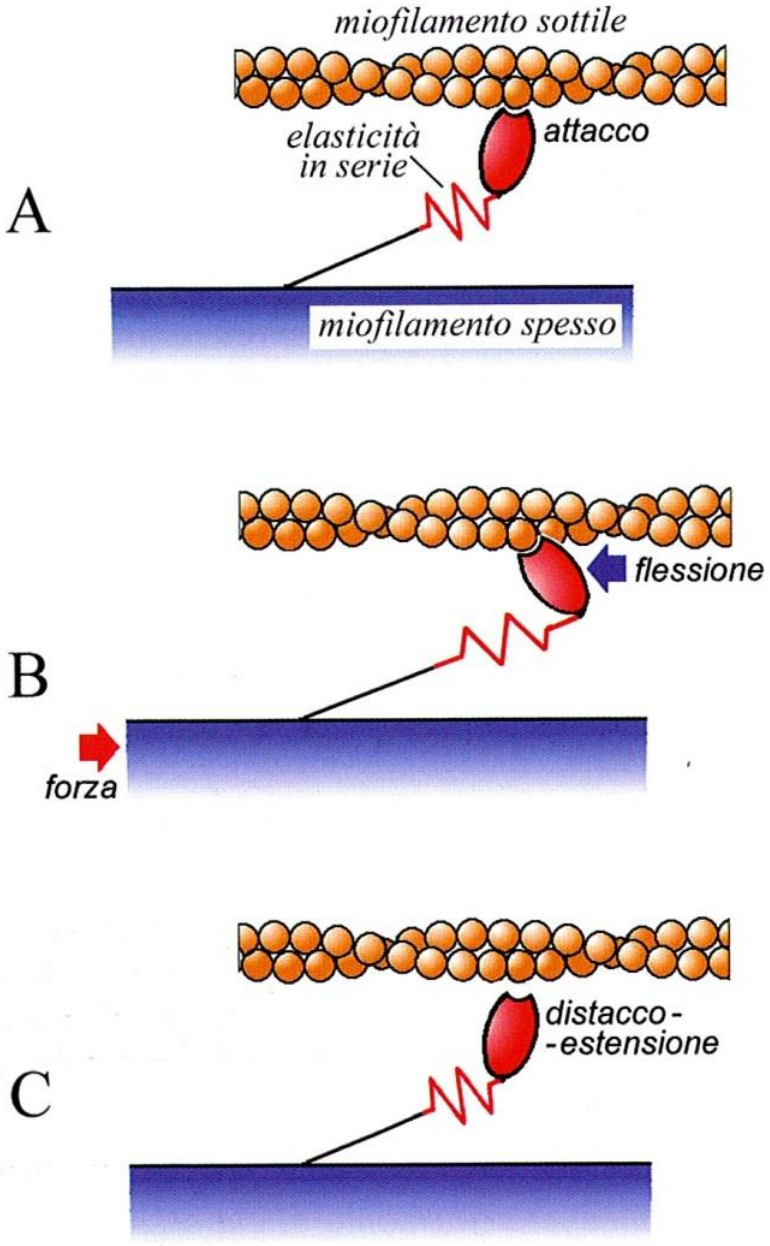


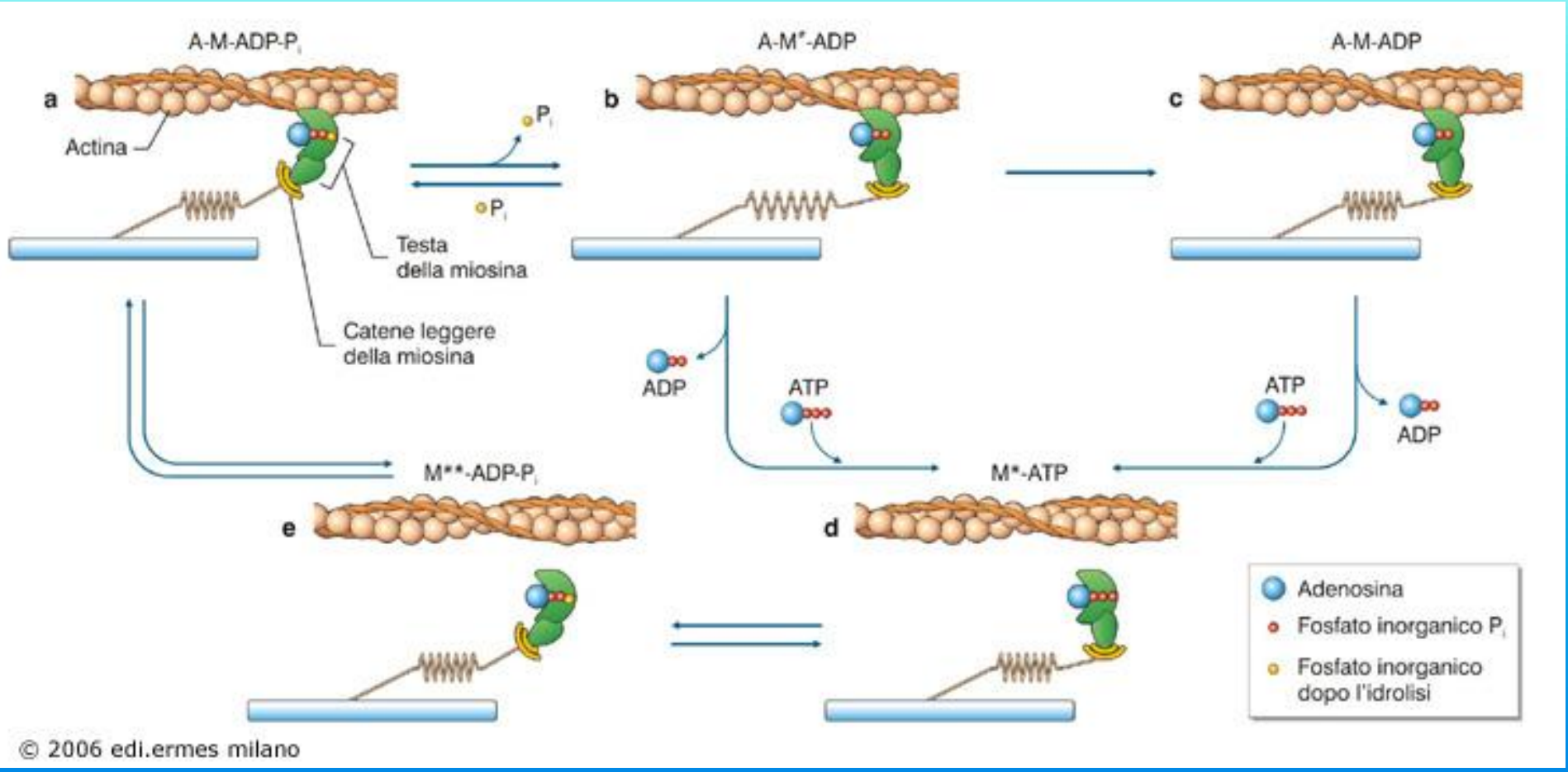
Passo δ=7nm



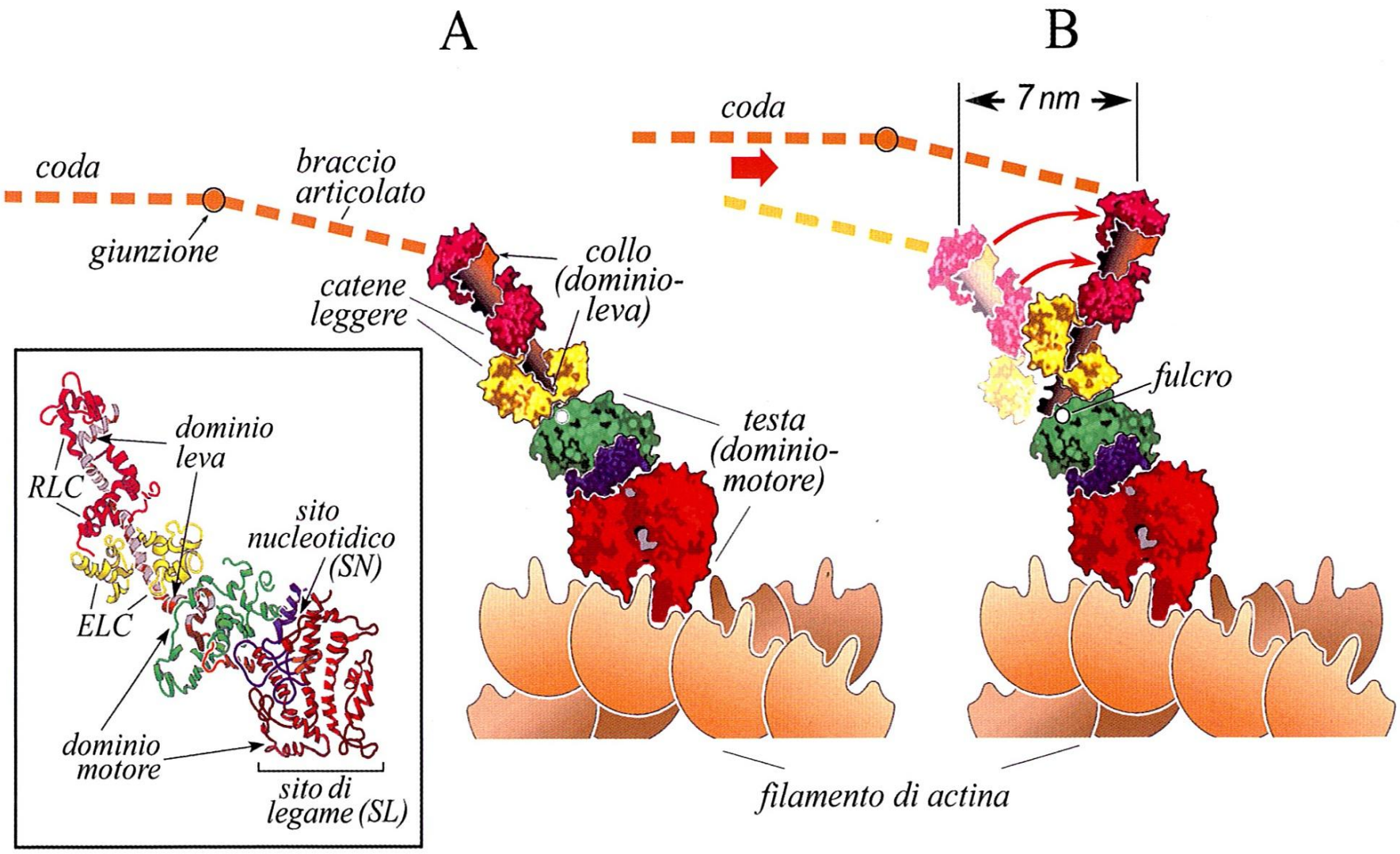
Velocità di accorciamento del sarcomero 10 μm s^{-1}

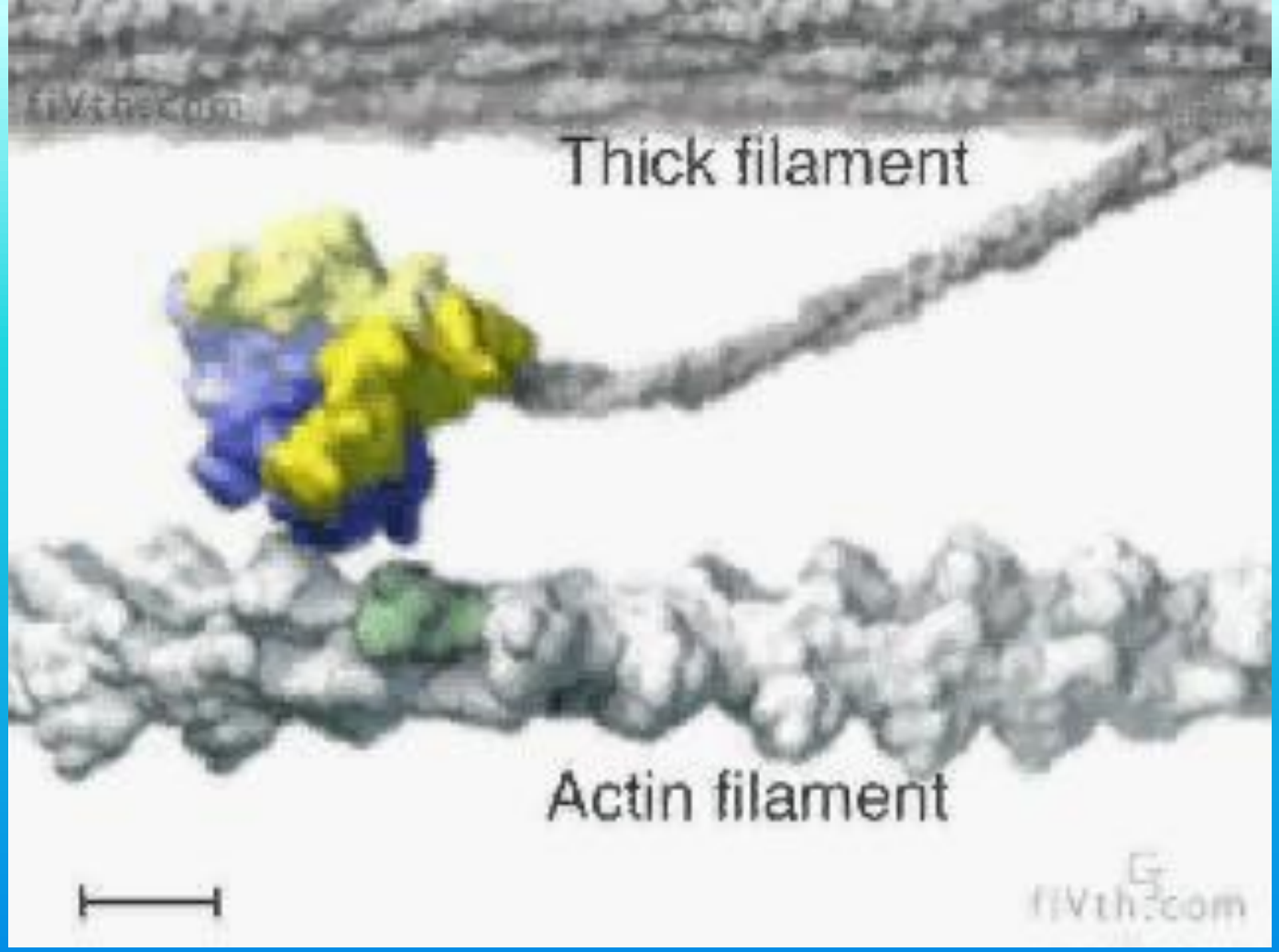

miofilamento sottile
55 Å
365 Å
290 Å
120°
miofilamento spesso

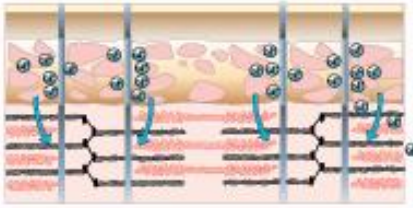

miofilamento sottile
elasticità in serie
attacco
A
miofilamento spesso
flessione
B
forza
distacco-estensione
C



© 2006 edi.ermes milano

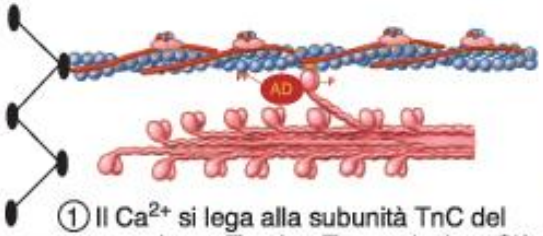

A
B
coda
braccio articolato
giunzione
collo (dominio-leva)
catene leggere
testa (dominio-motore)
coda
7 nm
fulcro
filamento di actina
dominio leva
RLC
ELC
sito nucleotidico (SN)
dominio motore
sito di legame (SL)


Thick filament
Actin filament



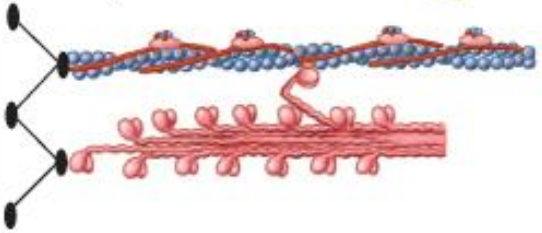
Nella fibra muscolare, la contrazione ha inizio con la liberazione di Ca^{2+}.

La depolarizzazione di membrana ad opera del potenziale d'azione causa la liberazione di ioni Ca^{2+} dal reticolo sarcoplasmatico.



① Il Ca^{2+} si lega alla subunità TnC del complesso Tropina-Tropomiosina. Ciò da origine a modificazioni conformazionali che alla fine spostano la posizione della tropomiosina esponendo i siti di legame per la miosina situati sull'actina. A quel punto viene liberato P_i.

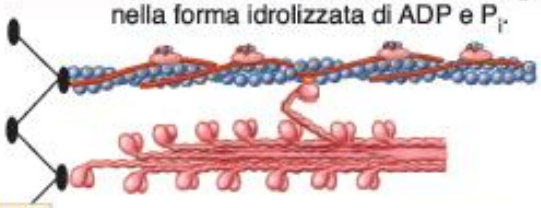
P_i



② Il rilascio di P_i scatena il "colpo di potenza" della contrazione. L'energia necessaria è fornita dall'idrolisi di ATP → ADP + P_i + E. Nel corso del "colpo di potenza" la testa della miosina ruota di 45° portando la linea Z più vicina al filamento spesso. A quel punto è liberato l'ADP.

③ La miosina rimane nella posizione legata fino a quando l'ATP si lega alla testa della miosina o è rimosso il Ca^{2+}.

Fino a quando Ca^{2+} e ATP sono presenti il ciclo continua. La linea Z è tirata sempre più vicina alle estremità dei filamenti spessi.



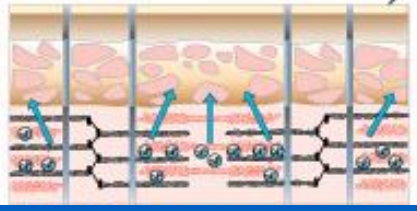
④ L'ATP si lega alle teste di miosina liberando il ponte trasversale. Esso rimane legato nella forma idrolizzata di ADP e P_i.

Se il Ca^{2+} è presente, i cicli dei ponti trasversali continuano

Se il Ca^{2+} è rimosso il ciclo si interrompe e il muscolo si rilassa.

Se l'ATP è rimosso, i ponti trasversali rimangono attaccati e insorge il rigor mortis. Il ciclo si interrompe qua.

La ripolarizzazione della membrana consente la ricaptazione di ioni Ca^{2+} da parte del reticolo sarcoplasmatico.



Basi molecolari della contrazione

1 - La testa della miosina è legata ad una molecola di G-actina
2 - Il legame dell'ATP alla testa della miosina induce il rilascio
3 - L'idrolisi dell'ATP induce il movimento della miosina
4 - La testa della miosina si lega ad una nuova G-Actina
5 - ADP e fosfato vengono rilasciati
6 - La testa ruota generando quindi lo scorrimento

Nature 299, 467-469, 30 September 1982

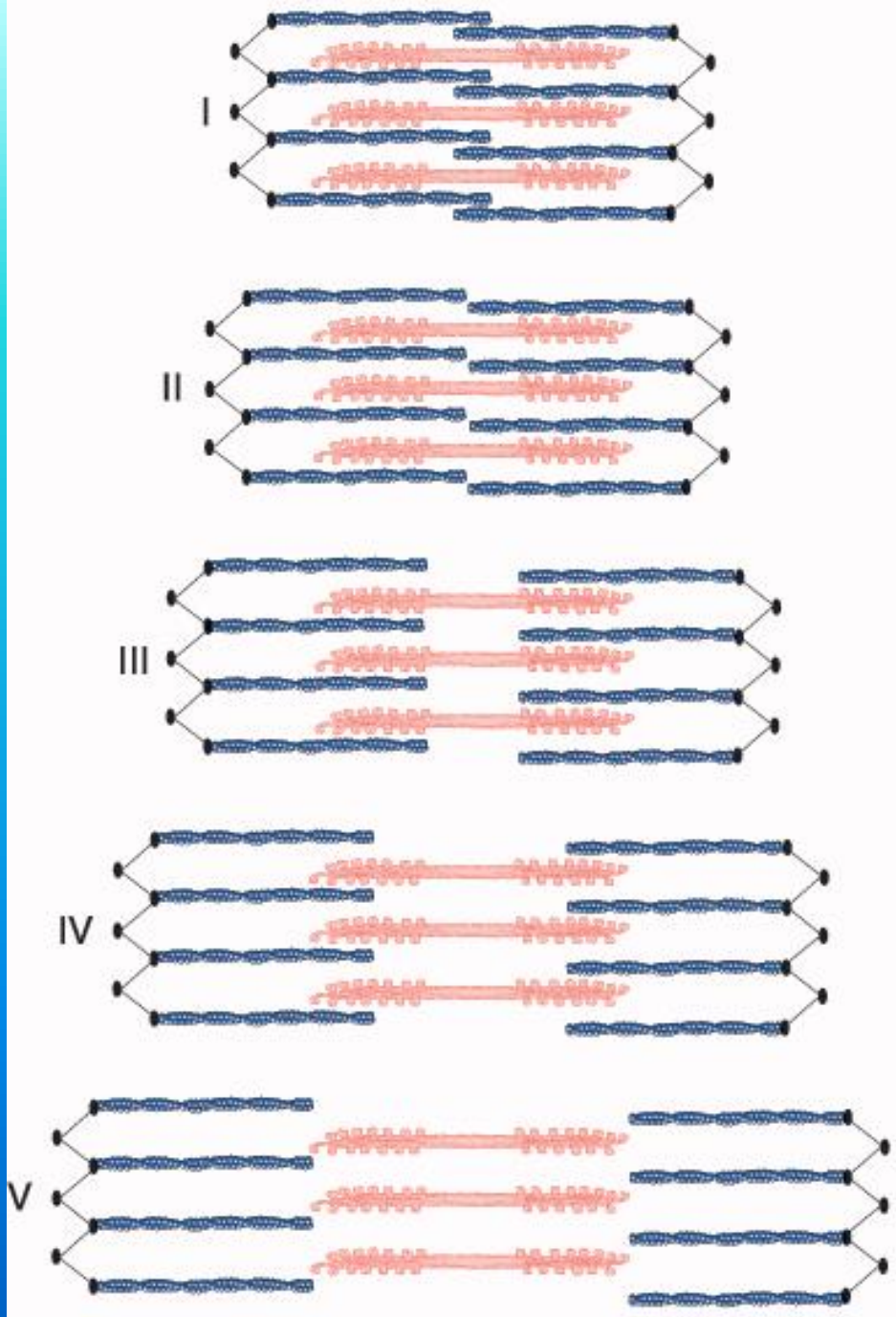
Structural evidence that myosin heads may interact with two sites on F-actin

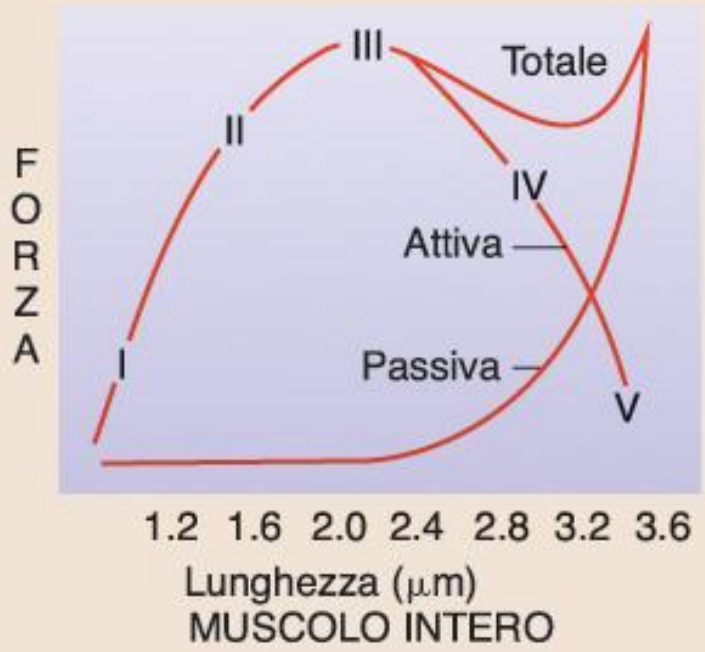
L. A. Amos*, H. E. Huxley*, K. C. Holmes†, R. S. Goody† & K. A. Taylor‡

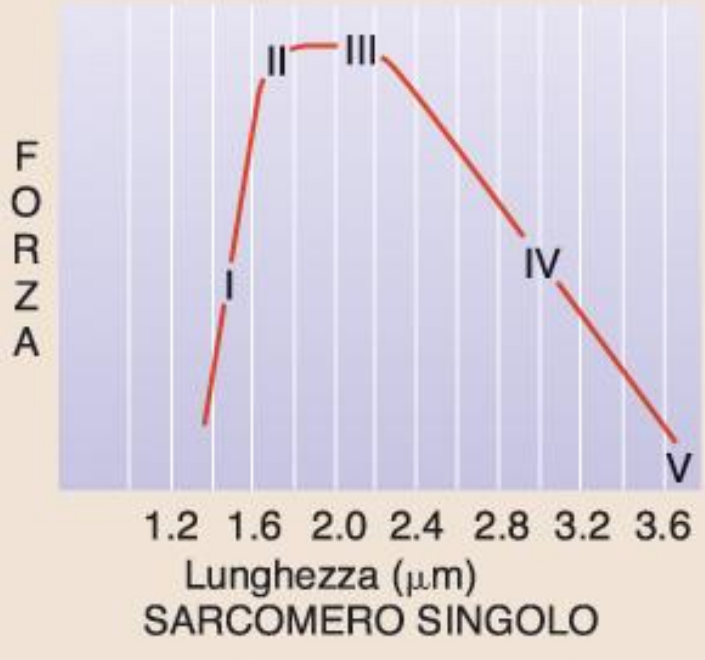
*MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge CB2 2QH, UK
†Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, 6900 Heidelberg, FRG 1
‡Department of Anatomy, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina 27710, USA

Abstract

Analysis of the rigor complex of muscle thin filaments decorated with myosin subfragment-1 (S-1) by three-dimensional image reconstruction from electron micrographs[1] shows S-1 (myosin head) to be a comma-shaped molecule, the broad head of which interacts with F-actin near the groove between the two strands of actin monomers. Increased resolution near the filament axis has allowed us to distinguish separate components more reliably than in an earlier analysis[2]. Using X-ray diffraction data from striated muscle decorated with S-1 molecules[3] as a reference, we have now refined the electron microscope data to show the interaction in more detail. We show here that individual S-1 molecules (myosin head) apparently interact with both strands of a filament, straddling the regulatory protein tropomyosin in the long-pitch groove. This double-sited interaction agrees with chemical cross-linking data[4] and suggests some interesting possibilities for cross-bridge cycling in muscle.

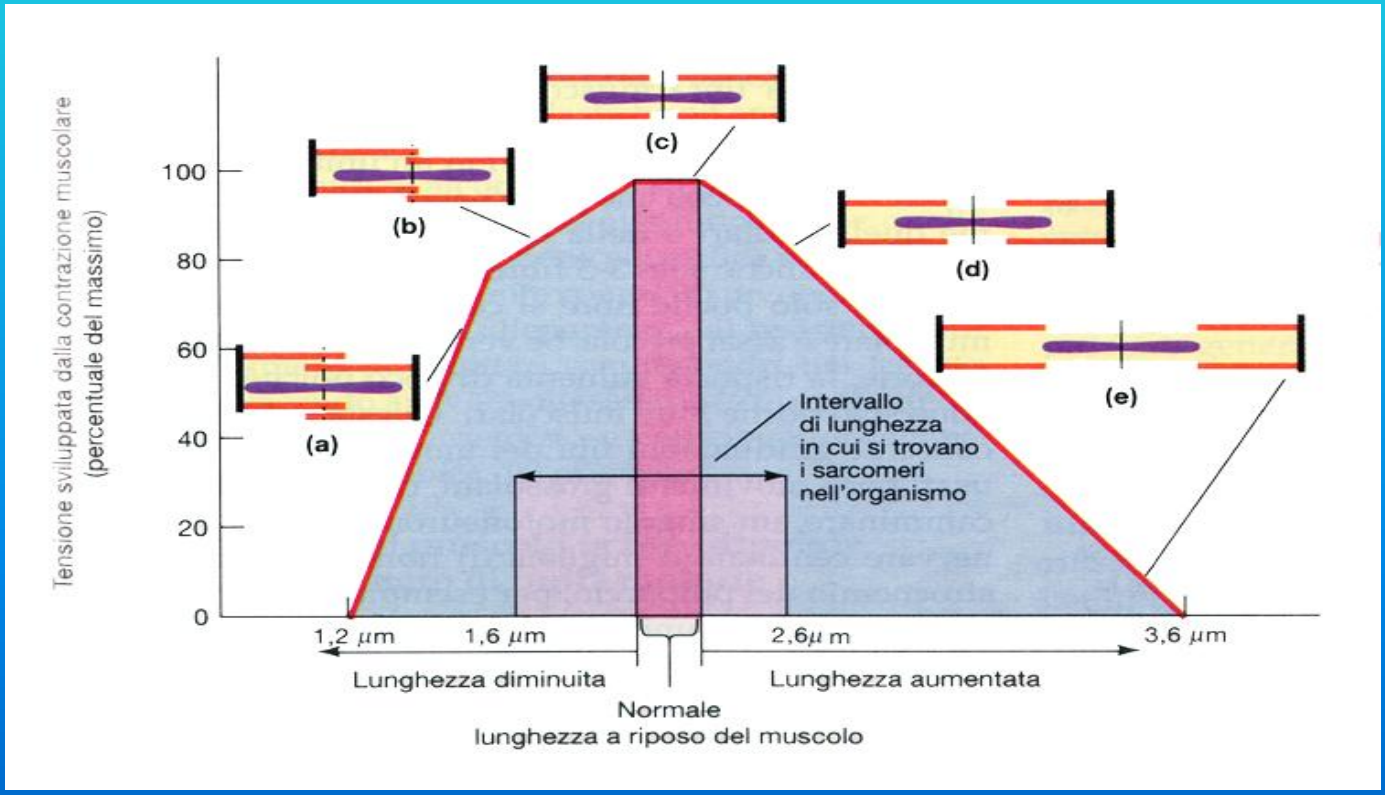

I
II
III
IV
V

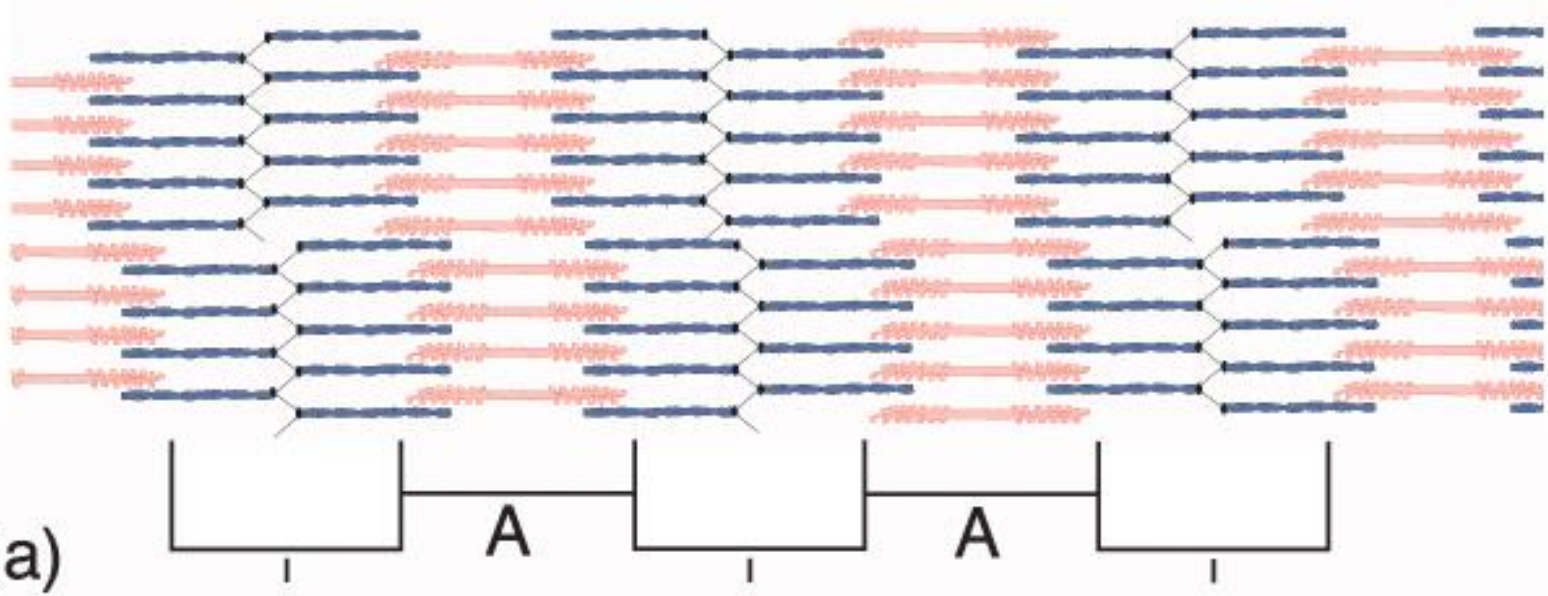

FORZA
I
II
III
IV
V
Totale
Attiva
Passiva
1.2 1.6 2.0 2.4 2.8 3.2 3.6
Lunghezza (μm)
MUSCOLO INTERO

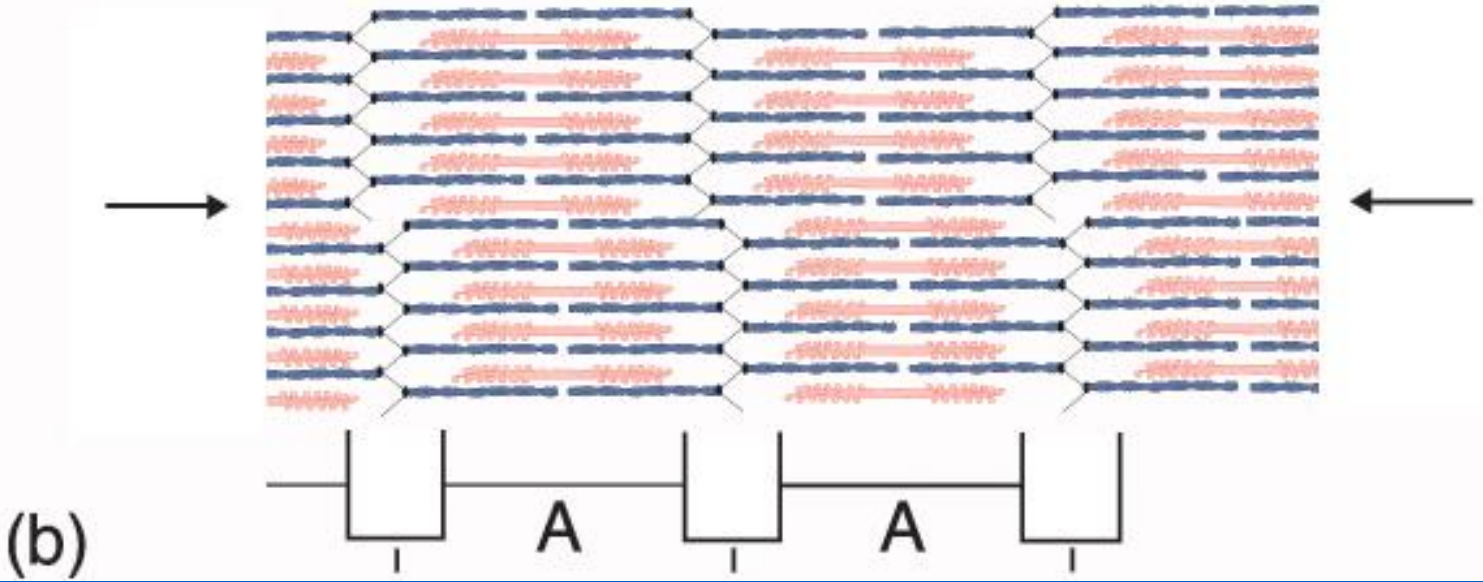

FORZA
I
II
III
IV
V
1.2 1.6 2.0 2.4 2.8 3.2 3.6
Lunghezza (μm)
SARCOMERO SINGOLO

Regolazione lunghezza-tensione

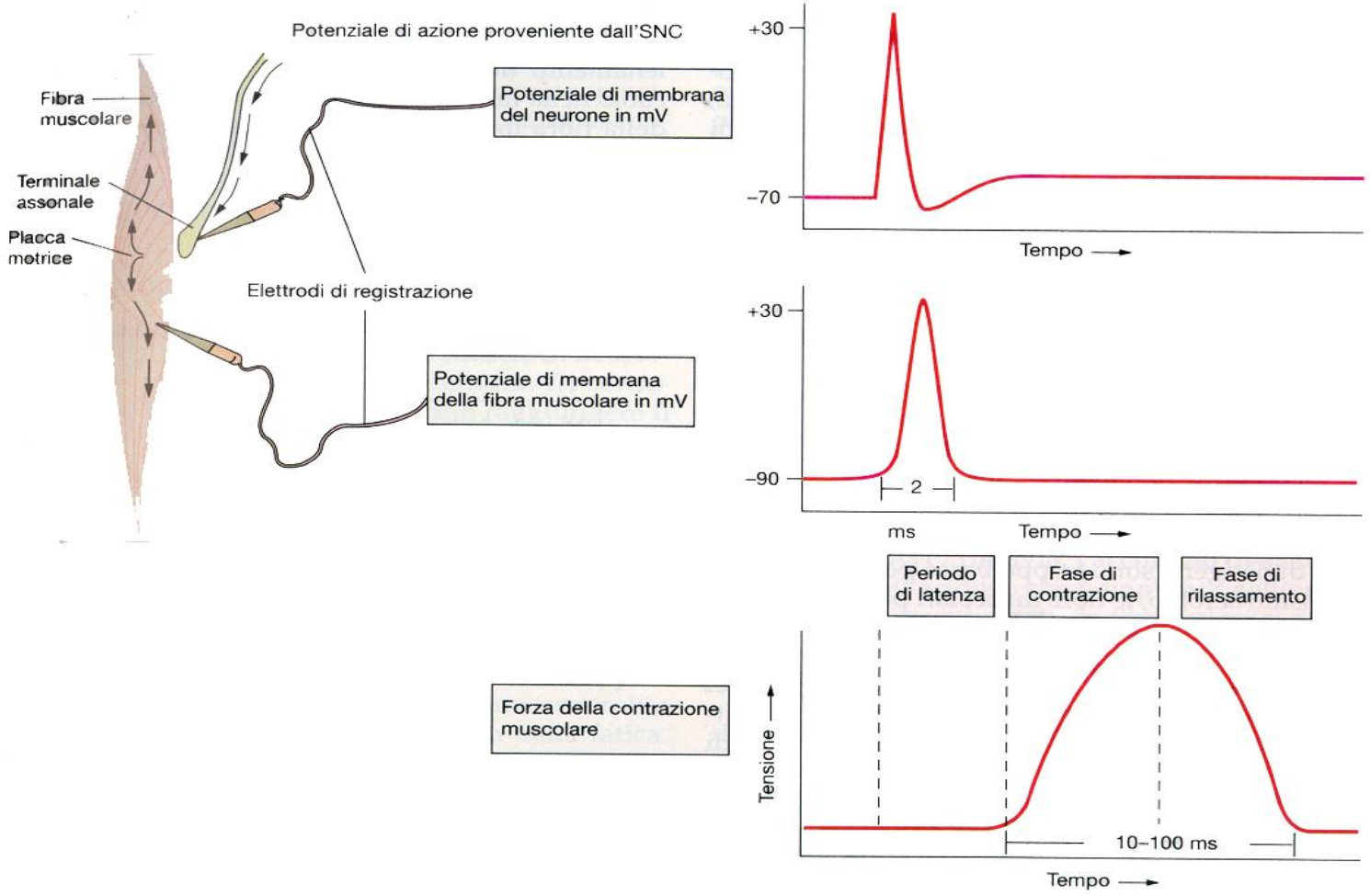
La tensione e quindi la forza sviluppata dal muscolo è funzione della lunghezza del sarcomero. In condizioni normali la lunghezza a riposo dei muscoli scheletrici garantisce che essi si trovino alla lunghezza ottimale all'inizio della contrazione.




A
A
(a)


A
A
(b)

Eventi elettrici ed eventi meccanici



La scossa semplice

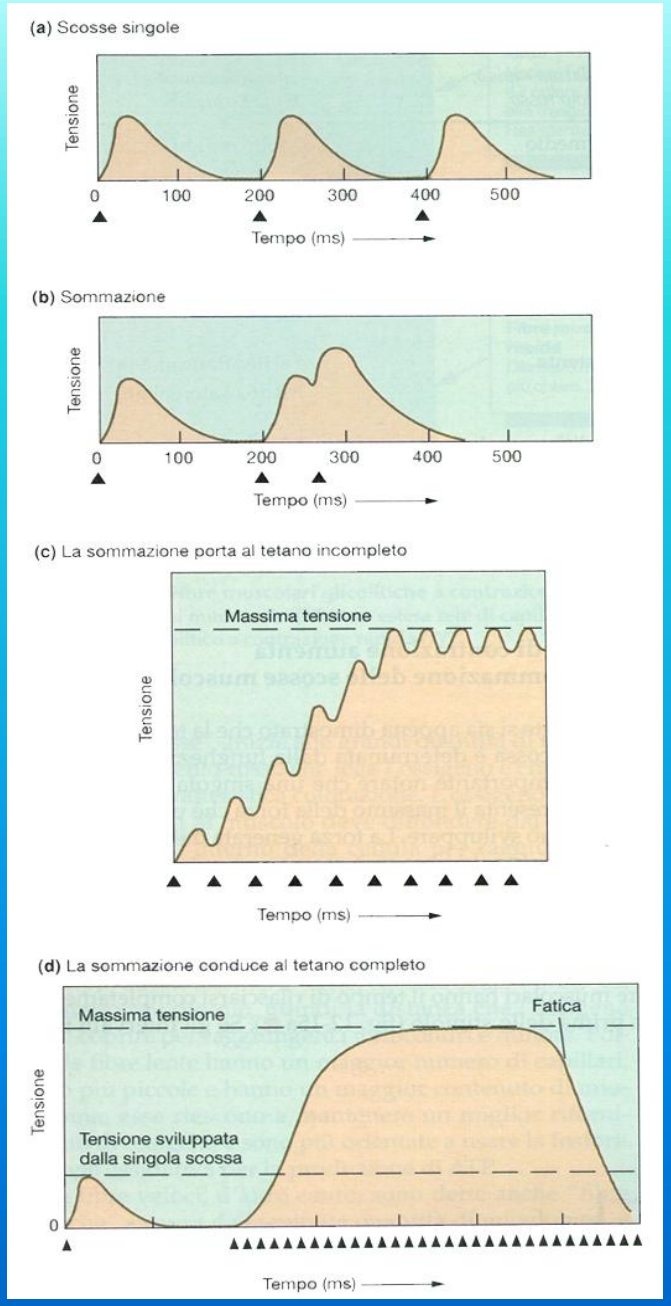
Un singolo ciclo eccitazione-contrazione è definito scossa muscolare

- **Periodo latente: breve periodo tra lo stimolo elettrico e l'inizio della contrazione. Tempo durante il quale il Ca^{2+} è rilasciato dal SR, tanto da iniziare l'accorciamento (ca. 2 msec)**

- **Periodo di contrazione: parte in salita del tracciato (da 10 ad 100 msec)**

- **Periodo di rilasciamento: parte del tracciato in discesa (10-80 msec). Uptake attivo di Ca^{2+} da parte del SR**

- **Periodo refrattario: 5 msec. Assoluto e relativo.**



Sommazione di contrazioni

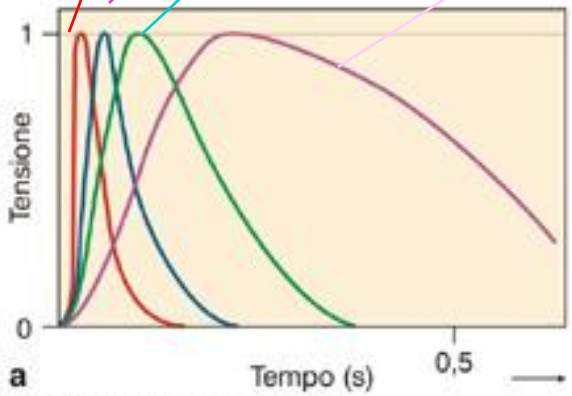
La forza generata dalla contrazione aumenta quando aumenta la frequenza dei potenziali d'azione.
Quando gli intervalli fra le singole contrazioni sono lunghi la fibra ha la possibilita' di rilassarsi.
Quando invece la fibra muscolare non si sara' completamente rilassata avremo sommazione.
La sommazione portera' al tetano incompleto o completo.

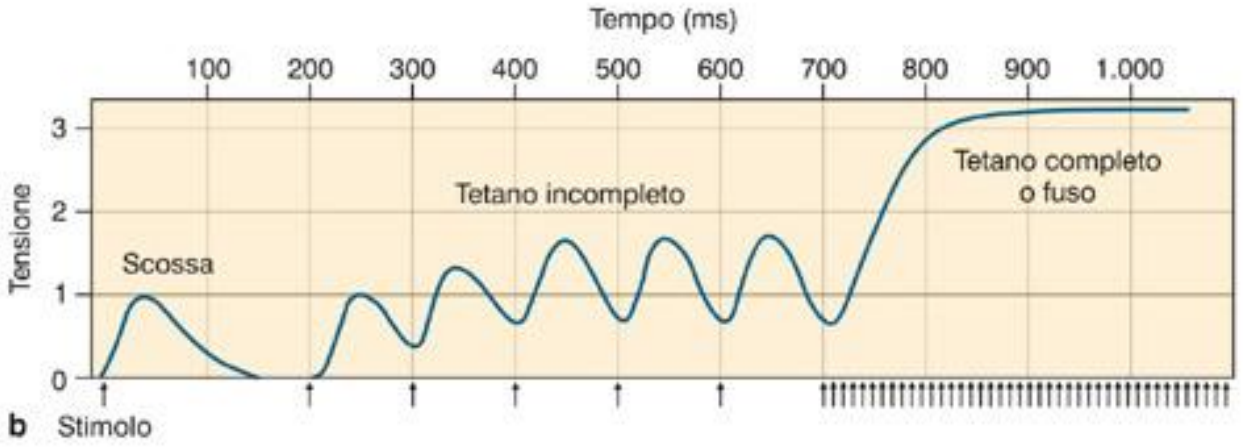
Sartorio di rana a 0°C

Gastrocnemio di mammifero

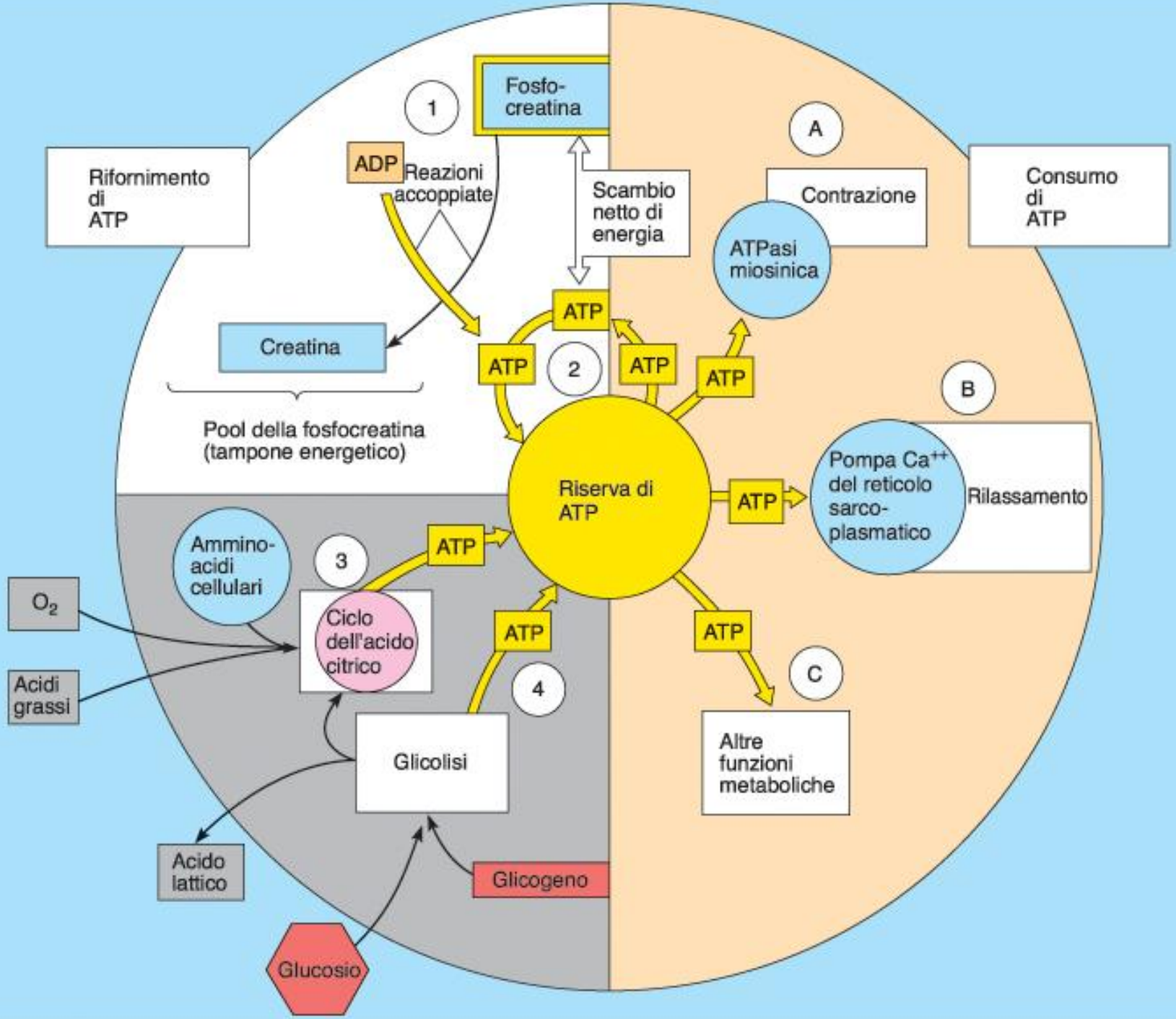
Soleo di mammifero

Sartorio di rana a temperatura ambiente





© 2006 edi.ermes milano


Rifornimento di ATP
1
Fosfo-creatina
ADP
Reazioni accoppiate
Scambio netto di energia
A
Contrazione
Consumo di ATP
ATPasi miosinica
ATP
Creatina
ATP
2
ATP
ATP
B
Pool della fosfocreatina (tampone energetico)
Riserva di ATP
ATP
Pompa Ca++ del reticolo sarco-plasmatico
Rilassamento
Ammino-acidi cellulari
3
ATP
O2
Ciclo dell'acido citrico
ATP
ATP
C
Acidi grassi
4
Glicolisi
Altre funzioni metaboliche
Acido lattico
Glicogeno
Glucosio

La contrazione del muscolo scheletrico dipende dal rifornimento continuo di ATP

Fonti di ATP

- L'ATP presente in un muscolo a riposo è sufficiente per pochi secondi
- La fonte principale di ATP extra è quella che deriva dal trasferimento di fosfato dalla fosfocreatina all'ADP durante una contrazione muscolare, anche se è sufficiente per altri pochi secondi.
- Per le contrazioni sostenute, l'ATP deriva dalla scissione di glicogeno immagazzinato nel muscolo in glucosio e successivo suo metabolismo. In parte può derivare anche dal metabolismo di grassi e aminoacidi.

Ritorno allo stato di riposo

- Il muscolo scheletrico a riposo produce più ATP di quanto ne necessiti. L'ATP trasferisce energia alla fosfocreatina

ATP + creatina ⇒ ADP + fosfocreatina

- La scissione di glucosio per formare ATP continua fino a che è ristabilito il livello di riposo di fosfocreatina

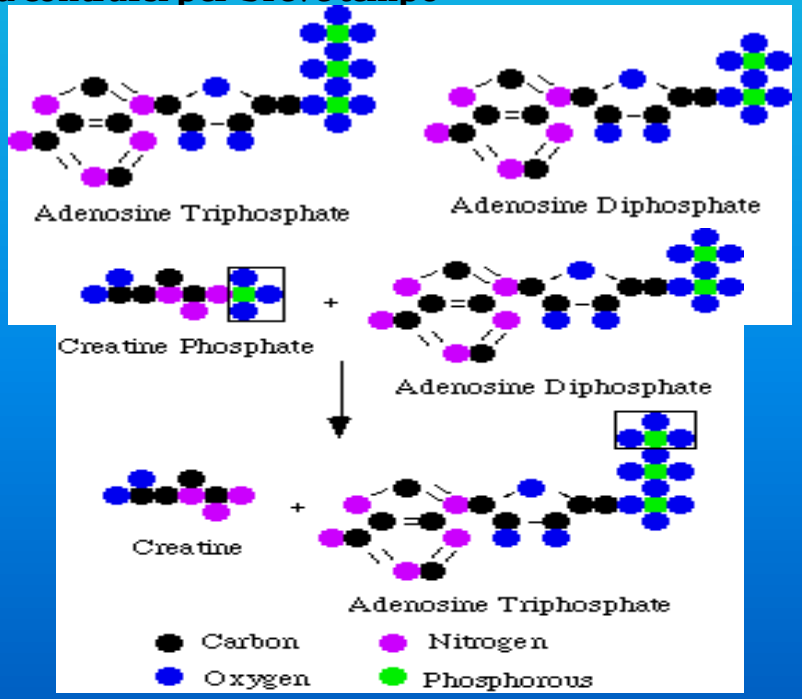
Dove avviene questo?

La glicolisi nel citoplasma (2 ATP)

La fosforilazione ossidativa nei mitocondri (34 ATP)

Strenuo lavoro

- Glicolisi - il glucosio è tagliato in due molecole di ac. piruvico (2 molecole ATP)
  - Respirazione aerobica - l'ac. piruvico entra nei mitocondri nel ciclo dell'ac. citrico (34 molecole ATP)
  - Ac. Piruvico + O_2 ⇒ CO_2 + H_2O + energia
- L'O_2 fornito ai muscoli può non essere adeguato a scindere l'ac. piruvico in CO_2 e H_2O tanto che l'ac. piruvico è ridotto ad ac. lattico, respirazione anaerobica (non richiede O_2). I muscoli continuano a contrarsi per breve tempo



Fatica muscolare

Fatica e' un termine che viene usato per descrivere una condizione in cui il muscolo non e' piu' in grado di generare o mantenere la potenza attesa.

Diversi fattori giocano un ruolo nella fatica:
1 - alterazioni nella composizione ionica della fibra dovuta alle numerose contrazioni
2 - mancanza di nutrienti muscolari (es. mancanza di glicogeno)
3 - diminuita produzione di neurotrasmettitore
3 - mancanza di accoppiamento eccitazione-contrazione
4 - abbassamento del livello di K^+
5 - abbassamento del pH

- **<u>Debito di O_2</u> - un quantitativo di O_2 extra è necessario per metabolizzare l'ac. lattico accumulato e riportare l'ATP ai livelli normali**
- **Non modifica negli impulsi nervosi, giunzioni neuromuscolari o stimolazione di fibre muscolari.**
- **Le contrazioni diventano sempre più deboli fino a che i muscoli cessano di contrarsi a causa di**
  - **insufficiente ATP**
  - **accumulo di prodotti tossici (CO_2 e ac. lattico)**
  - **disturbi del sistema circolatorio che alterano il rifornimento di nutrienti e la rimozione di scorie**
  - **Il muscolo non si contrae, ma neppure si rilascia. La fatica completa può essere confusa con un crampo muscolare. Se si continua ad usarlo, convetirà le proteine presenti nelle fibre in energia.**

La fatica centrale

La fatica centrale comprende sintomi di stanchezza e desiderio di interrompere l'attivita' fisica.
Questo tipo di fatica precede la fatica fisiologica del muscolo stesso ed e' probabilmente un meccanismo di difesa dell'organismo indotto forse dall'acido lattico.

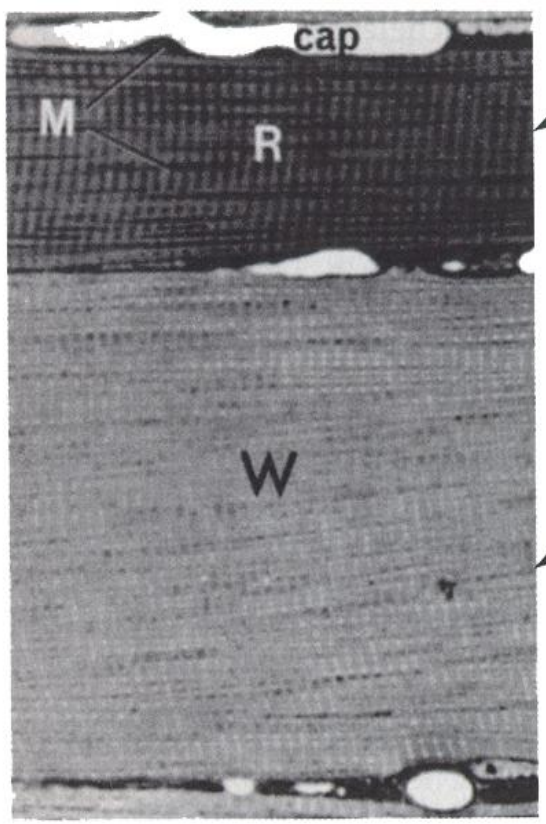
Classificazione delle fibre

In base alla velocità di contrazione e alla resistenza alla fatica le fibre muscolari scheletriche possono essere classificate in:

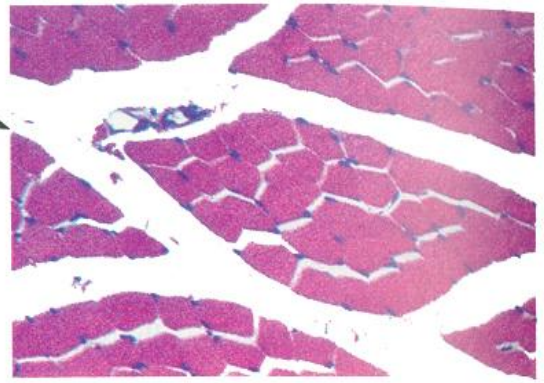
1 - fibre glicolitiche a contrazione rapida (IIx)
2 - fibre ossidative a contrazione rapida (IIa)
3 - fibre ossidative a contrazione lenta (I)

Le fibre muscolari a contrazione rapida sviluppano tensione due o tre volte più velocemente delle fibre a contrazione lenta e presentano dei cicli e-c (ca. 30 msec). La differenza in velocità è dovuta a diverse isoforme della miosina che possiedono diverse velocità ATPasiche.
La durata della contrazione dipende dalla velocità con cui le fibre rimuovono il Ca^{2+} dal citosol.
Le fibre rapide utilizzano principalmente la glicolisi anaerobica, mentre le fibre lente utilizzano il ciclo dell'acido citrico.
Le fibre lente sono più vascolarizzate.
Le fibre lente sono anche definite fibre rosse, mentre le veloci vengono chiamate fibre bianche.

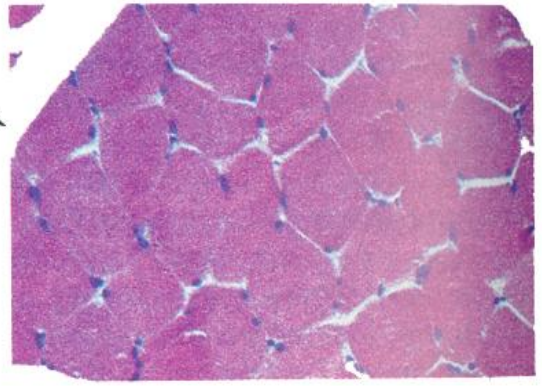
Fibre rosse e fibre bianche: questa classificazione è dovuta alla presenza o meno di mioglobina, una proteina che lega con alta affinità l'ossigeno aumentando quindi la velocità di trasporto all'interno della fibra. Le fibre rosse hanno generalmente anche un diametro più piccolo.



Fibre muscolari ossidative lente
Notare il diametro inferiore e il colore più scuro dovuto alla mioglobina.
Resistente alla fatica.



Fibre muscolari glicolitiche rapide
Diametro maggiore, colore più chiaro. Si affatica facilmente.

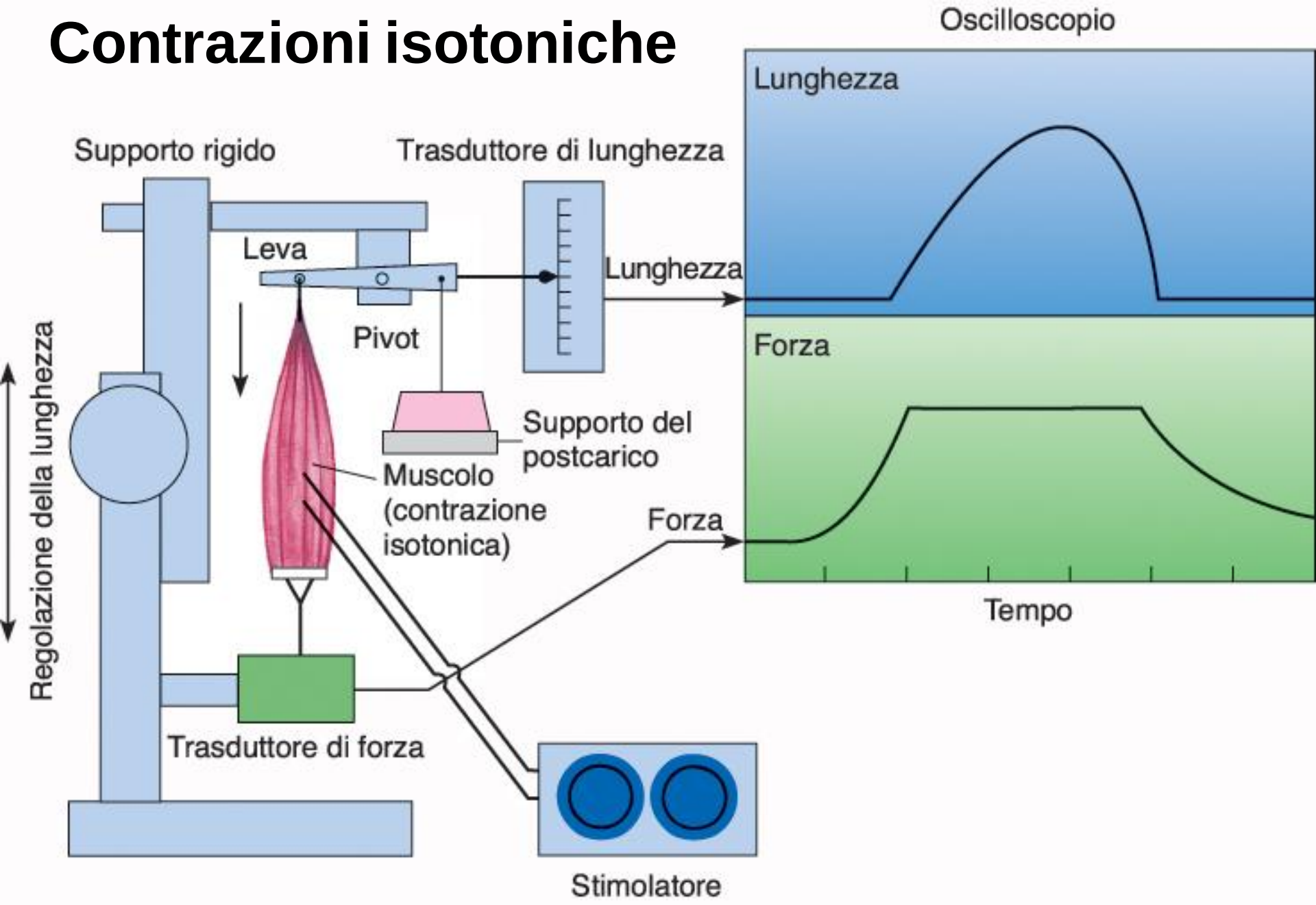


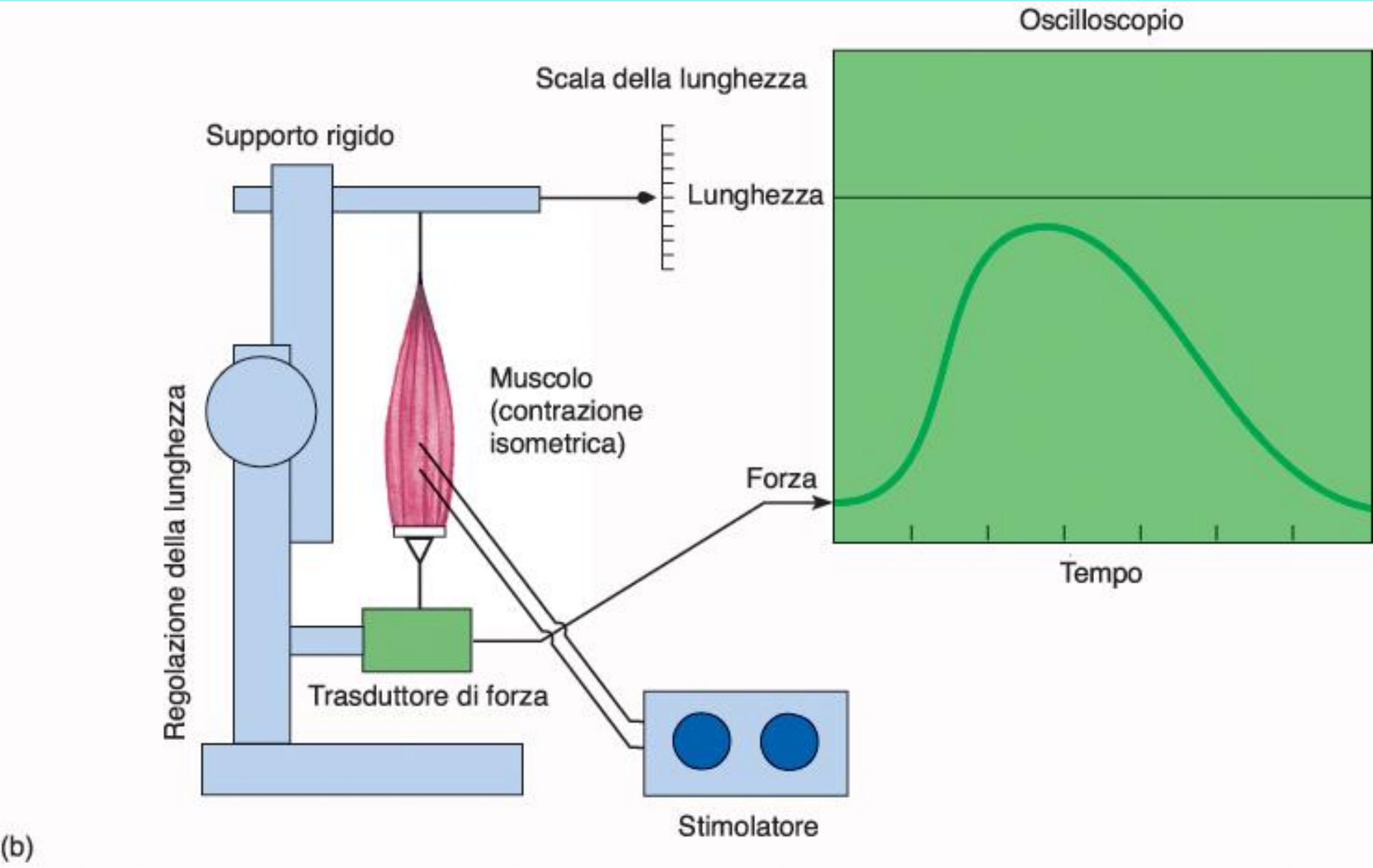
Classificazione delle fibre

	Ossidativo lento; muscolo rosso	*Ossidativo rapido; muscolo rosso*	*Glicolitico rapido; muscolo bianco*
Tempo di sviluppo della tensione massima	Molto lento	Intermedio	Molto rapido
Attività ATPasica della miosina	Lenta	Rapida	Rapida
Diametro	Piccolo	Medio	Grande
Durata contrazione	Molto lunga	Breve	Breve
Attività della Ca^{2+}-ATPasi nel SR	Moderata	Elevata	Elevata
Resistenza alla fatica	Resistente	Resistente	Facile affaticamento
Uso	Molto usato: posizione eretta, camminare		Meno usato: saltare
Metabolismo	Ossidativo; aerobio; numerosi grandi mitocondri	Glicolitico, ma diventa ossidativo con l'allenamento di resistenza	Glicolitico: più anerobio rispetto al tipo ossidativo rapido
Colore	Rosso scuro a causa della mioglobina	Rosso	Pallido

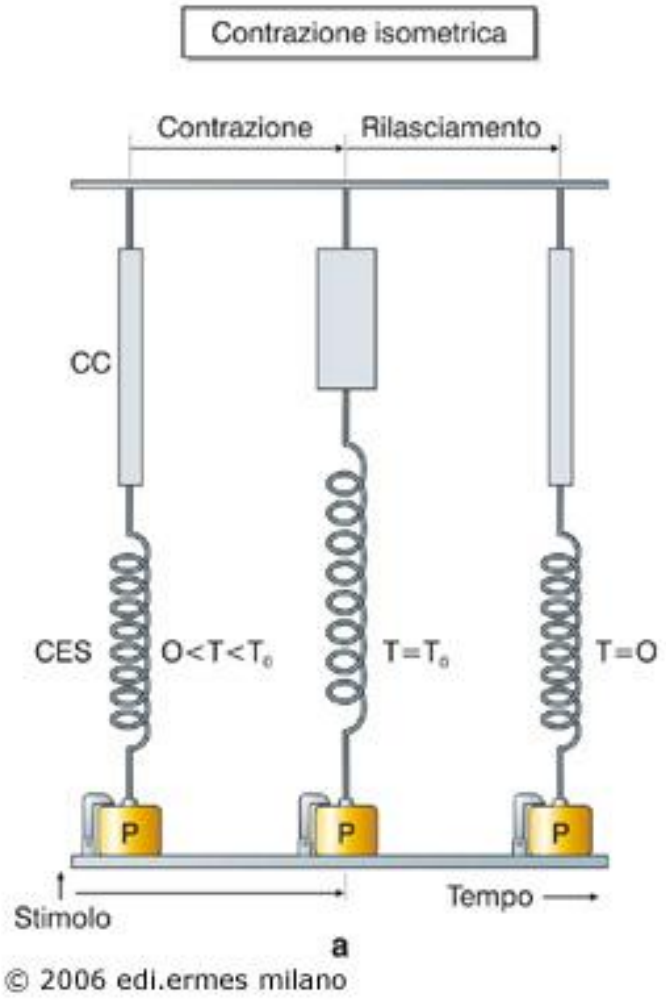
Meccanica muscolare
Contrazioni isotoniche ed isometriche

Contrazioni isotoniche

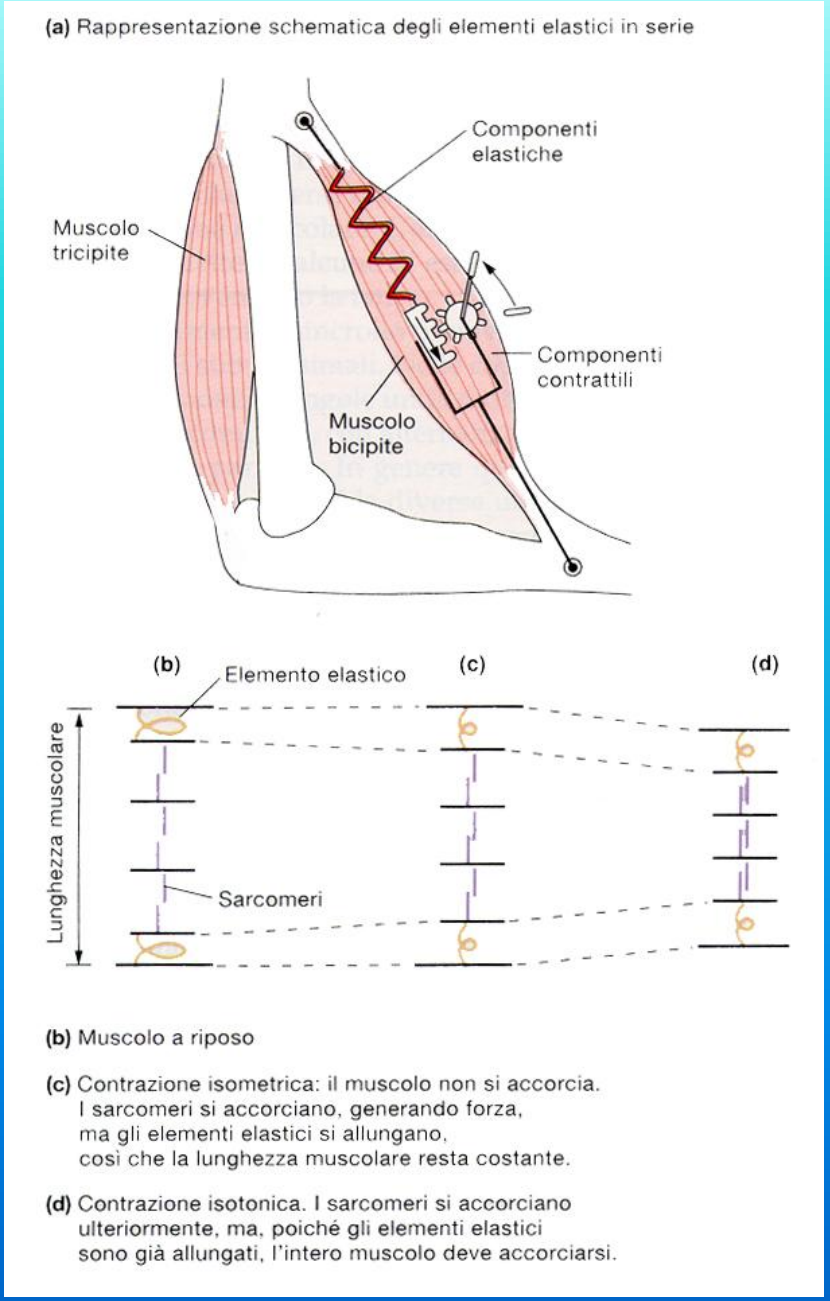



Oscilloscopio
Scala della lunghezza
Supporto rigido
Lunghezza
Muscolo
(contrazione
isometrica)
Forza
Tempo
Regolazione della lunghezza
Trasduttore di forza
Stimolatore

(b)



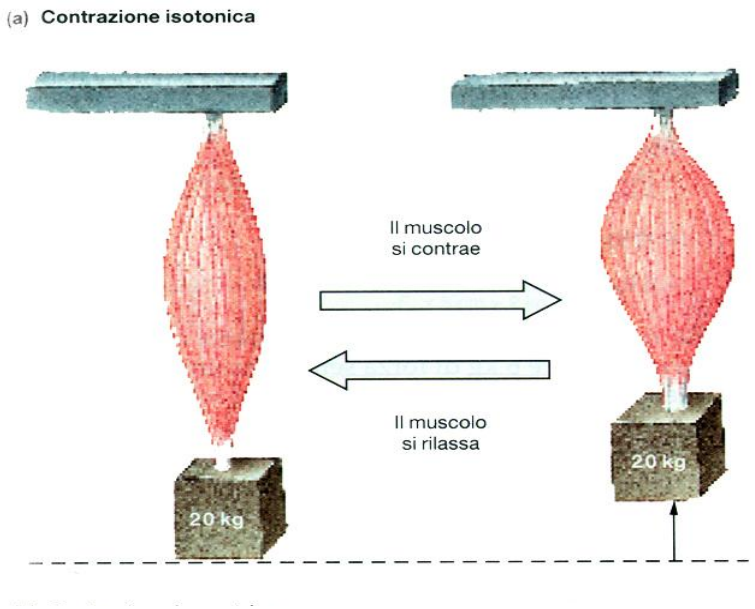
© 2006 edi.ermes milano

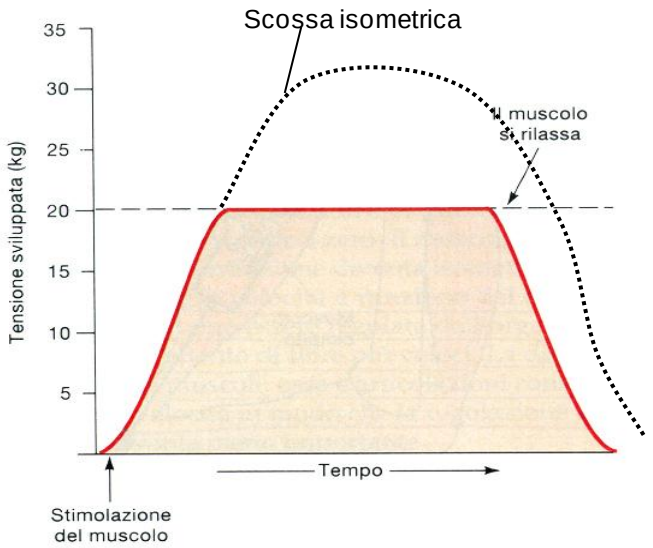


Elementi in serie: elastici e contrattili

Quando il muscolo inizia a contrarsi i sarcomeri si accorciano generando tensione. Inizialmente non ci sarà movimento perché la contrazione dei sarcomeri sarà compensata da un allungamento delle componenti elastiche (contrazione isometrica). Quando gli elementi elastici sono completamente allungati una ulteriore contrazione genererà accorciamento del muscolo (contrazione isotonica).

Contrazione isotonica (dinamica)





- **Il muscolo sviluppa tensione che diventa costante nel momento in cui inizia il movimento**

- **Il muscolo si contrae diventando più corto e più spesso**

- **Negli esperimenti, la lunghezza è mantenuta costante e viene misurata la tensione**

- Si può usare una sbarra di metallo con misuratori di tensione posti sopra e sotto, di cui uno va in tensione e l'altro in compressione.

Formano parti del circuito definito ponte di Wheatstone.

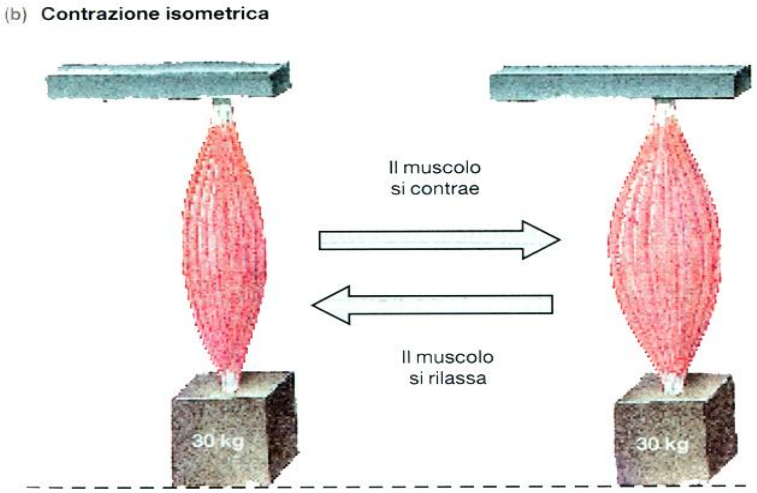
Contrazione isometrica (statica)

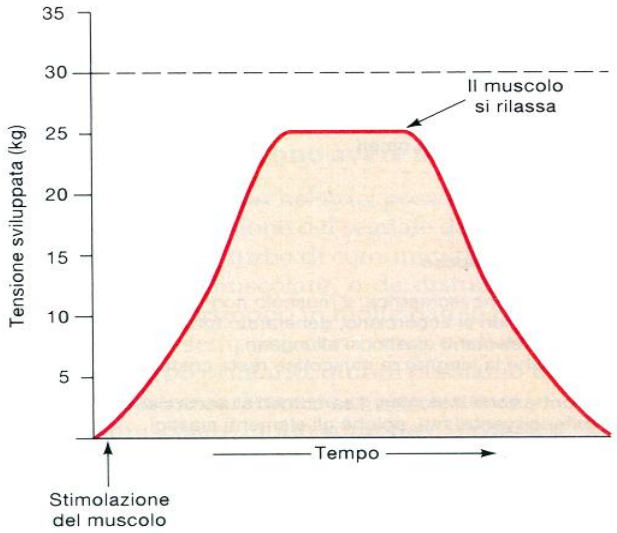
- **Il muscolo non si accorcia**

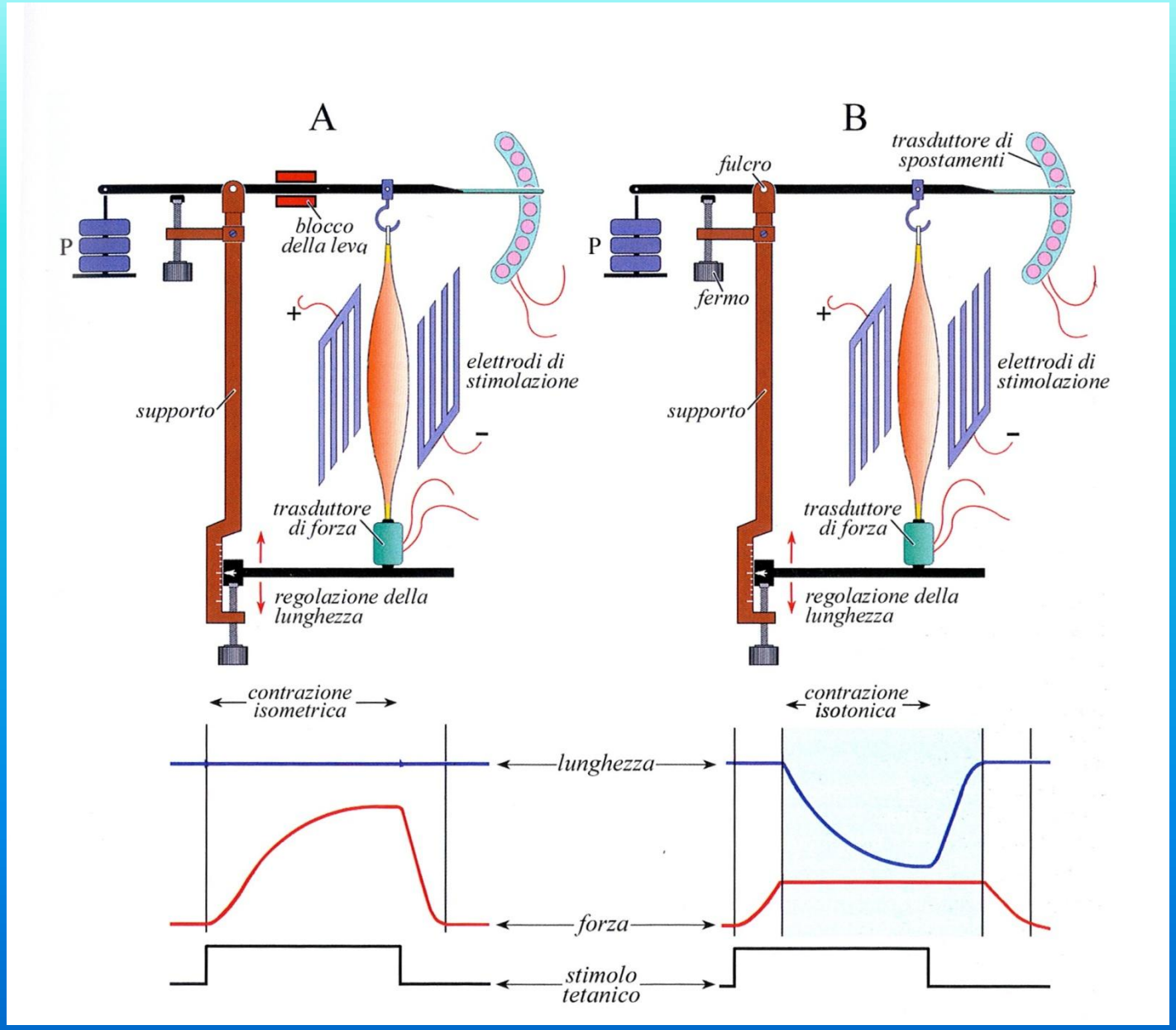
- **Un es. è quello di un muscolo che sta lavorando attivamente, ma la maggior parte dei movimenti corporei coinvolgono contrazioni sia isotoniche che isometriche**

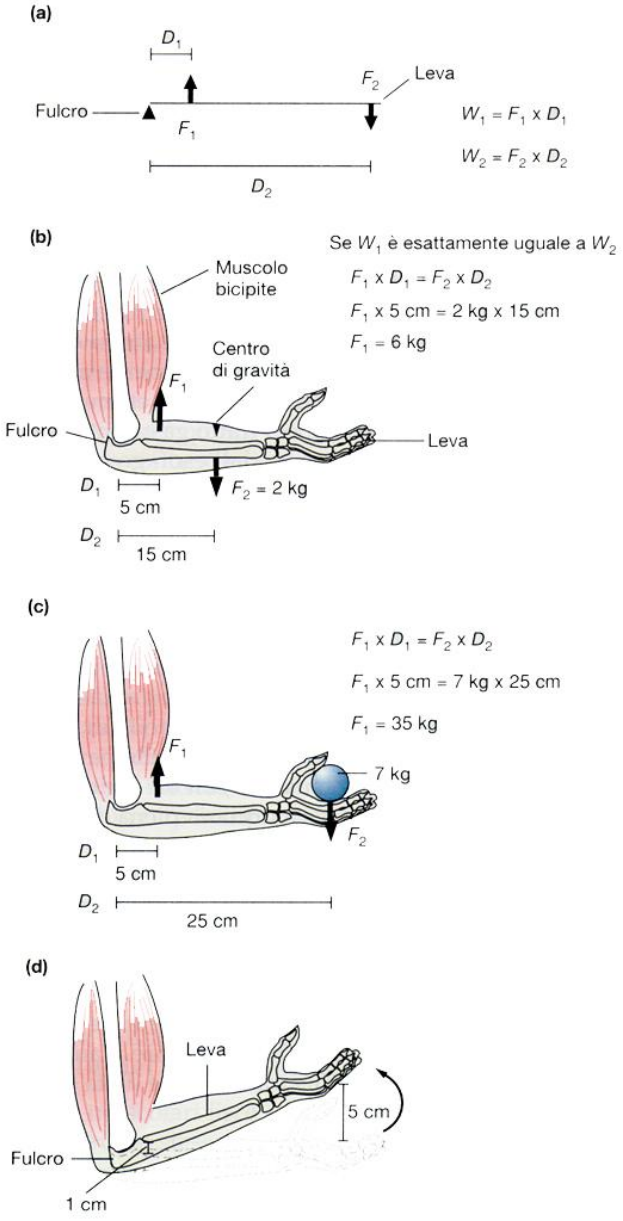
- **Il muscolo sviluppa tensione**

- **Negli esperimenti, il carico è costante e viene misurata la tensione**






A
B
P
blocco della leva
fulcro
trasduttore di spostamenti
fermo
+
–
elettrodi di stimolazione
supporto
trasduttore di forza
regolazione della lunghezza
contrazione isometrica
contrazione isotonica
lunghezza
forza
stimolo tetanico



Lavoro = forza x spostamento

W = F x D

Il nostro organismo utilizza ossa e articolazioni come leve e fulcri.
I muscoli esercitano una forza su questo sistema.

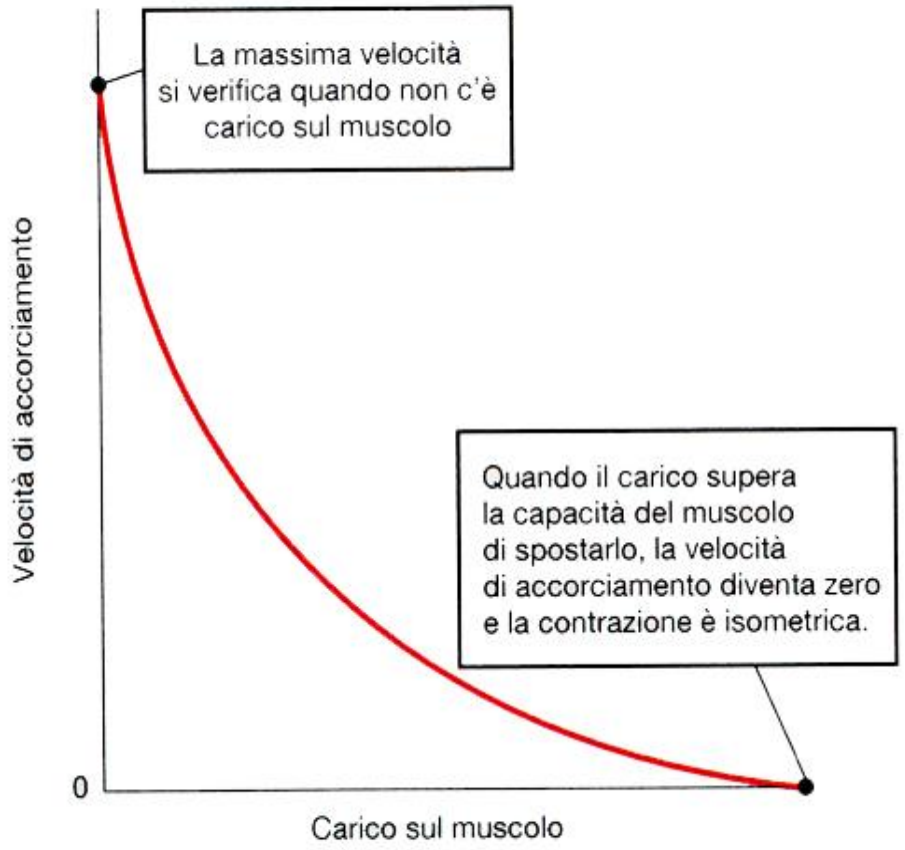
Nel caso dell'avambraccio tenuto a 90º il lavoro che il muscolo deve fare per mantenere quella posizione

$W_1 = F_1 \times D_1$

deve controbilanciare il lavoro generato dalla spinta verso il basso dovuta al peso del braccio stesso

$W_2 = F_2 \times D_2$

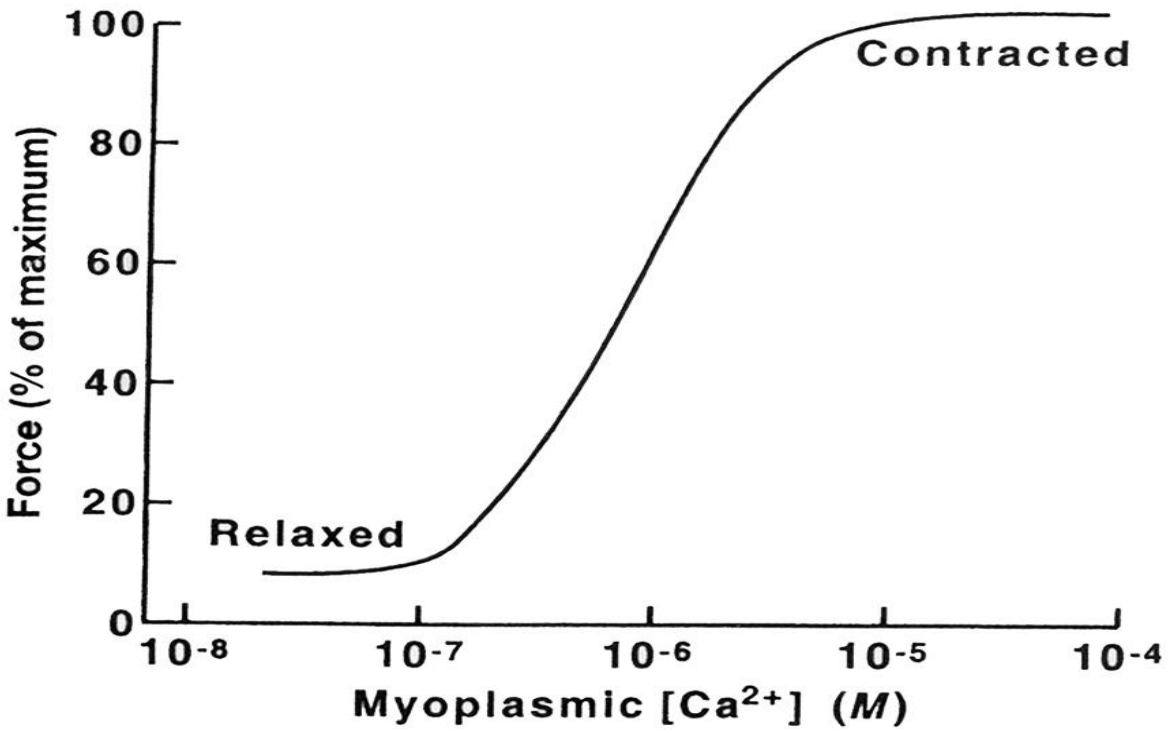
Relazione tra carico e velocità



■ Figura 12-21 Relazione carico-velocità nel muscolo scheletrico

La velocità di contrazione del muscolo dipende da:
1 - tipo di fibra
2 - carico che deve essere spostato.
La velocità di contrazione sarà massima quando il muscolo si contrarrà senza carico (produzione di calore). La velocità diminuirà progressivamente con l'aumento del carico stesso, fino alla massima forza (piccola quantità di calore prodotto).

Relazione fra aumento di $[Ca^{2+}]_i$ e forza generata dal muscolo



Esistono più fattori che influenzano la concentrazione di Ca^{2+}_i: funzionalità dei RyR, della Ca^{2+}-ATPasi e quantità contenuta nel RS.