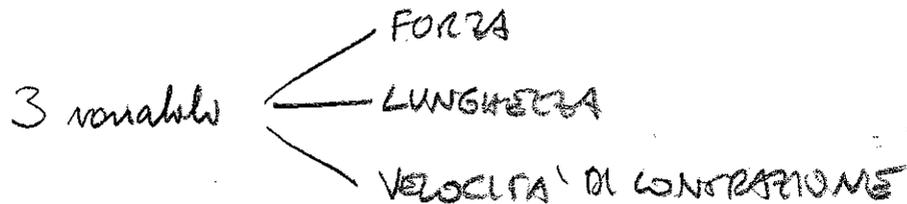


Capitolo ~~1~~**Il muscolo****MECCANICA DEL SISTEMA CONTRATTILE**

Le valutazioni quantitative sull'output meccanico di un muscolo possono fornire importanti informazioni circa il meccanismo di trasduzione chemiomeccanica ed il suo sistema di controllo. La misura della contrazione muscolare rappresenta anche un metodo per stabilire gli effetti dei ritardi legati alle giunzioni neuromuscolari, dei farmaci e degli ormoni, ma anche per quantificare le variazioni patologiche.

Nel campo della meccanica muscolare, le più importanti variabili numeriche sono la forza (spesso si considera la tensione o stress, cioè il rapporto tra forza e superficie), la lunghezza (spesso si considera la deformazione o strain, cioè la variazione relativa di lunghezza) e la velocità di contrazione o di allungamento. Lo studio della meccanica muscolare consiste nel controllare due di questi fattori e di misurare il terzo.

Questi studi vengono compiuti su preparati muscolari nei quali le cellule siano allineate secondo l'asse in cui si determina la forza e la lunghezza. Le apparecchiature di misura sono costituite da contenitori nei quali viene immessa una soluzione salina capace di tenere in vita il muscolo per il tempo dell'esperimento; in essa sono posizionati due elementi di fissaggio del preparato muscolare, in uno è posizionato il trasduttore che effettua le misure e nell'altro è posizionato un micrometro per effettuare le regolazioni di lunghezza; inoltre è presente un sistema di stimolazione costituito da appositi elettrodi che vengono disposti sulla superficie muscolare e, all'atto dello stimolo, inviano uno shock di tipo elettrico che fa le veci della stimolazione elettrotonica nervosa. Spesso si effettuano misure di forza a lunghezza costante, per questo motivo nell'apparecchiatura è presente un sistema che possa bloccare la lunghezza muscolare; in tal caso la misura si dice effettuata in *condizioni isometriche* e la forza generata è pertanto detta *isometrica*. In altri esperimenti si sottopone la fibra muscolare a forze esterne che tendono ad allungarla, per cui uno dei due terminali è dotato di una struttura capace di generare forza. Negli esperimenti in cui si debba mantenere costante la velocità di contrazione è richiesto un sistema di controllo capace di sottoporre il preparato muscolare ad una tensione che mantenga la velocità costante al valore prefissato. Infine si effettuano misure di lunghezza con carichi costanti, in tal caso si parla di *condizioni isotoniche* e di *contrazione o allungamento isotonici*.

## Eventi meccanici: Twitch e Tetano

Se effettuiamo una misura di forza (o di tensione) in condizioni isometriche sottoponendo un preparato muscolare ad un singolo shock, si osserva che soltanto dopo circa 15 ms dallo shock esso genera un impulso di tensione meccanica (*twitch*). In questo periodo di latenza la fibra muscolare sembra non reagire alla stimolazione, tuttavia se viene applicata una tensione meccanica esterna immediatamente dopo lo shock, si osserva che, trascorsi 3-5 ms, la fibra si irrigidisce ed offre una maggiore resistenza all'allungamento di quanto non avvenisse prima dell'applicazione dello stimolo.

L'intensità dello shock di stimolazione deve essere sufficientemente forte per depolarizzare la membrana del muscolo, altrimenti non accade nulla. In un certo range

oltre l'ampiezza di soglia, la forza massima sviluppata nel twitch cresce con l'intensità dello stimolo: tante più fibre sono interessate, maggiore è la forza generata. Oltre questo range di shock si ipotizza che tutte le fibre del muscolo diventino attive, per cui ulteriori incrementi nell'intensità dello shock non sono accompagnati da incrementi nella forza del twitch.

Due twitches separati da un opportuno intervallo di tempo sono identici. Quando il secondo twitch inizia prima che il twitch precedente sia terminato, si sviluppa un picco di tensione più alto (figura V.1). È come se la tensione del secondo si sommasse a quella del primo che non è ancora andata a zero. L'effetto diventa più pronunciato quanto più i twitch sono vicini.

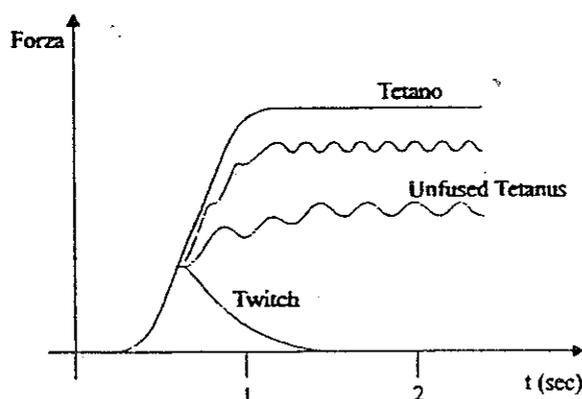


FIGURA V.2 Schematizzazione dello sviluppo di forza per il singolo twitch e per i processi di integrazione temporale che portano allo sviluppo dell'Unfused Tetanus e del tetano.

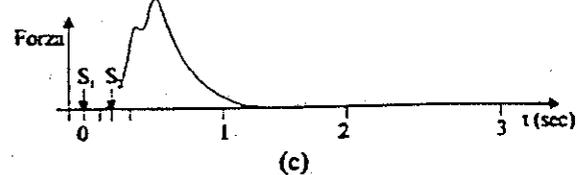
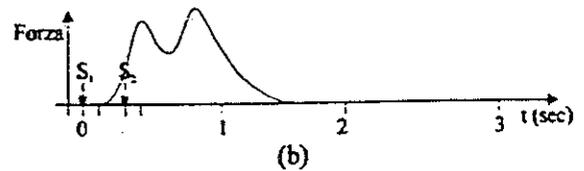
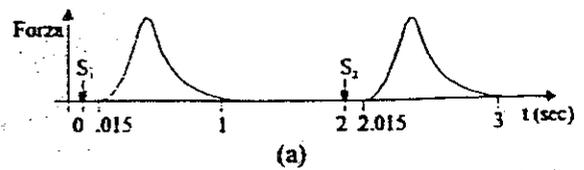


FIGURA V.1. Generazione di twitches in condizioni isometriche. (a) Due twitches di forza generati da due stimoli identici  $S_1$  ed  $S_2$  separati da un intervallo di tempo di circa 2 secondi. (b) Fusione parziale dei due twitches di forza generati da due stimoli ravvicinati ad un intervallo di circa 30 millisecondi. (c) Fusione ulteriore dei due twitches per un intervallo inferiore al precedente.

Quando viene dato un treno di impulsi, la forza raggiunge un valore medio costante a cui si sovrappone un piccolo ripple alla frequenza di stimolazione. Questo è un regime tetanico non costante (*unfused tetanus*) come si vede in figura V.2. Se si aumenta la frequenza, il valor medio della forza cresce, il ripple tende a zero e si ha la *fusione tetanica* (nei mammiferi è di circa 60 shock/s). Ulteriori aumenti della frequenza non producono incrementi della forza media.

## Caratteristiche elastiche ed inerziali

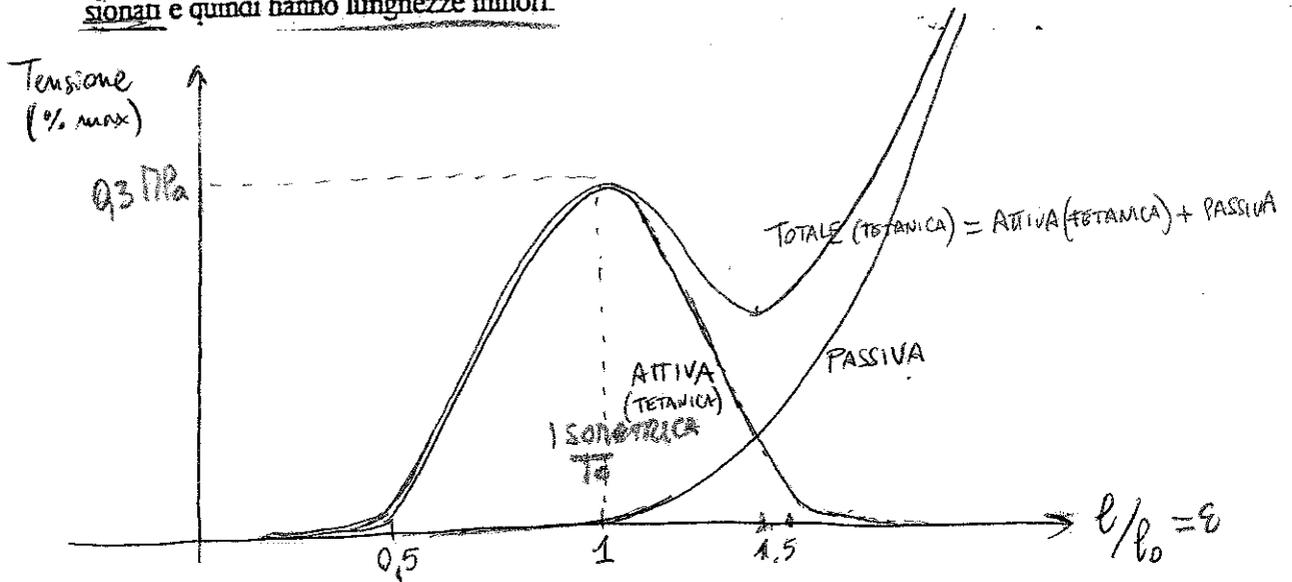
I primi esperimenti sulla meccanica muscolare risalgono alla fine del secolo XIX ad opera di Marey, ma quelli fondamentali furono condotti da Fung nel 1967 con metodi molto più rigorosi. Tali esperimenti cercavano di mettere in luce le caratteristiche del comportamento elastico del muscolo. Infatti era noto che tale comportamento era attribuibile a due elementi, uno attivo ed uno passivo, legati alle omologhe proprietà muscolari. Tali elementi sono responsabili di due tensioni muscolari differenti: la tensione muscolare attiva che è direttamente responsabile della contrazione e la tensione muscolare passiva che è legata alle componenti elastiche della struttura muscolare e si oppone alla contrazione.

### CURVE STRESS-STRAIN (TENSIONE-LUNGHEZZA)

Per lo studio delle caratteristiche elastiche ed inerziali e quindi delle componenti di tensione attiva e passiva è stata di fondamentale importanza l'analisi delle curve stress-strain (tensione-lunghezza) di figura V.3. Nel grafico lo stress  $\sigma$  è la forza per unità di superficie e lo strain  $\epsilon$  è il rapporto tra l'allungamento e la lunghezza a riposo. Dobbiamo dire però che l'area della sezione trasversale del muscolo non è costante, quindi si ricorre ad una sezione media ottenuta dividendo il peso del muscolo espresso in grammi per la lunghezza del muscolo stesso espressa in centimetri e considerando unitario il peso specifico ( $1 \text{ g/cm}^3$ ). La lunghezza a riposo del muscolo è la lunghezza che ha il muscolo "in vivo" e non quella del muscolo estratto dal corpo, perché i muscoli all'interno del corpo sono pre-tensionati e quindi hanno lunghezze minori.

$$\frac{P_{SO}}{S \cdot L} = \frac{F \cdot v}{P \cdot L} = [A]$$

$$\epsilon \equiv \frac{\Delta L}{L_0} \quad (\text{STRAIN})$$



In figura V.3 si può osservare che la curva della tensione passiva diventa più ripida all'aumentare dell'allungamento, una spiegazione di ciò viene dal fatto che, per basse estensioni, il numero degli elementi fibrosi è ridondante, mentre al crescere dell'allungamento essi si tendono aggiungendo la loro rigidità al

Curva ATTIVA: Forza isometrica Tetanica si fissa nella lunghezza =  $T_d$  a CAMPANA con MAX per  $l = l_0$ .  
Stress muscolo FISICO: comportamento dei filamenti di ACTINA e MIOSINA è ottimale per  $l = l_0$  (vedi appunti pag 94-95)

muscolo. Si è visto sperimentalmente (su cuore di coniglio) che la derivata dello stress rispetto allo strain ha un andamento lineare:

$$\frac{d\sigma}{d\varepsilon} = \alpha(\sigma + \beta)$$

dove  $\sigma$  è lo stress,  $\varepsilon$  è lo strain, mentre  $\alpha$  e  $\beta$  sono due costanti. Integrando si ricava dunque l'espressione dello stress in funzione dello strain:

$$\sigma = \mu e^{-\alpha\varepsilon} - \beta \quad \sigma = \mu e^{+\alpha\varepsilon} - \beta \quad (V.1)$$

dove  $\mu$  è una costante di integrazione. La (V.1) è una relazione sperimentalmente e non è stata derivata analiticamente dai principi primi della meccanica muscolare, tuttavia la sua validità si estende a moltissimi tessuti collaginei tra i quali: tendine, pelle, mesentero, muscoli scheletrici a riposo, parete sclerica dell'occhio.

Se consideriamo il muscolo tetanizzato, in generale la tensione sviluppata aumenta all'aumentare dell'allungamento, tuttavia, alcuni muscoli presentano un grafico con massimo locale pronunciato (curva continua di figura V.4), mentre altri lo hanno meno marcato o non lo hanno per niente (curva tratteggiata di figura V.4). Possiamo comprendere meglio queste asserzioni se ragioniamo in termini di differenza tra curve attive (tetanizzate) e curve passive. Questa differenza viene indicata col termine *tensione sviluppata* o *tensione netta*. Essa è maggiore della tensione passiva se

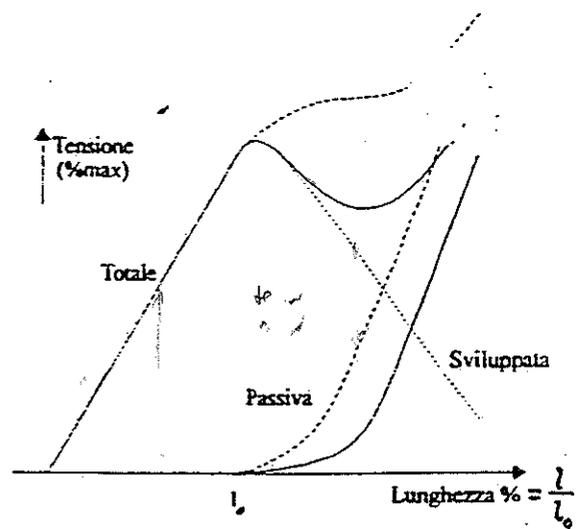


FIGURA V.4 Curve tensione-lunghezza per muscoli diversi

il muscolo è mantenuto ad una lunghezza vicina a quella di riposo (figura V.4). Il massimo valore di stress sviluppato è circa 3 Kg/cm<sup>2</sup> ed è una costante per i muscoli di molti mammiferi in un ampio range di dimensioni corporee. Questo è rilevante se si pensa che altri parametri della funzione muscolare, inclusi la velocità intrinseca di accorciamento e l'attività enzimatica del tono metabolico, sono molto diversi tra muscoli omologhi in animali diversi, ma anche tra muscoli dello stesso animale.

Poiché la curva della tensione <sup>TOTALE</sup> attiva è la somma di quella passiva e di quella <sup>ATTIVA</sup> sviluppata, possiamo pensare che la presenza o meno del massimo sia legata alla diversità della risposta passiva; infatti, è possibile vedere in figura V.4 che tra la curva passiva tratteggiata (muscolo bipennato) e la curva passiva continua (muscolo a fibre parallele) pur avendo lo stesso andamento complessivo assumono valori differenti a parità d'allungamento. È possibile dimostrare sperimentalmente che tra le due curve c'è un fattore di proporzionalità legato alla struttura del muscolo stesso. In particolare è possibile vedere che i muscoli con una maggiore quantità di tessuto connettivo (pennati) hanno una tensione passiva più elevata e di conseguenza in genere non presentano massimo.

La Tensione ATTIVA è  
MAX. SE

$3 \cdot 10^3 \text{ MPa}$

## L'ESPERIMENTO DEL QUICK-RELEASE

L'esperimento del Quick-Release (Rilascio-Rapido) è un esperimento condotto da Hill nel 1968 con l'intenzione specifica di capire se il muscolo possedeva o meno alcune componenti inerziali.

L'apparecchiatura di figura V.5 è composta da una leva a cui è legato da un lato un peso e dall'altro un muscolo; il braccio del peso è più corto rispetto a quello del muscolo per ridurre al minimo gli effetti dell'attrito e dell'inerzia del fulcro. L'asta è tenuta bloccata da una chiave che può essere rimossa velocemente attraverso una elettrocalamita. Il muscolo può essere stimolato attraverso una apparecchiatura aggiuntiva schematizzata con la freccia ondulata.

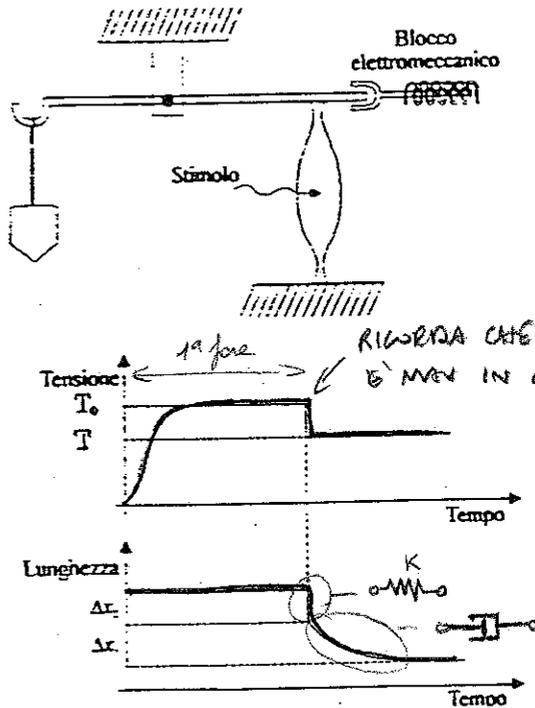


FIGURA V.5 Elementi fondamentali dell'esperimento del Quick-Release, condotto da Hill nel 1968. (Sopra) L'apparecchiatura per condurre l'esperimento. (Sotto) i risultati grafici dell'esperimento: curve tensione-tempo e lunghezza-tempo.

Tale sistema, finché è inserito il blocco, permette al muscolo di raggiungere la fase di tetano isometrico. In questa fase la tensione tetanica dopo il transitorio tipico raggiunge un valore costante  $T_0$  (appropriata con la sua lunghezza) come si vede dal grafico al centro di figura V.5. Analogamente nel grafico della lunghezza vediamo che questa rimane costante.

In questa situazione di regime viene tolto il blocco in modo quasi istantaneo e si lascia il muscolo libero di allungarsi o contrarsi sotto l'azione della forza prodotta dal peso. La tensione sviluppata dal peso vale  $T$  ed è inferiore a  $T_0$  per evitare che il gradino produca lesioni nel muscolo. Si vede dunque dal grafico che mentre la tensione raggiunge immediatamente il valore di regime, la lunghezza, dopo un primo gradino iniziale, raggiunge il valore di equilibrio con un andamento esponenziale tipico dei sistemi viscosi.

1a fase ISOMETRICA

2a fase

mantenendo l'azione di stimolo

LEGATORIA COPISTERIA ASD  
Via S. Lorenza, 77 - 55127 PISA  
Tel. 050/541369

## IL MODELLO MECCANICO DI HILL

Nel 1968, Hill iniziò a costruire il primo modello meccanico del muscolo partendo dalle curve tensione-lunghezza ricavate negli anni precedenti. In base a tali curve dovevano prendere posto nel modello due elementi: uno elastico e uno attivo antagonista cioè connessi in parallelo. Infatti le curve passive evidenziano la presenza di una resistenza alle variazioni di lunghezza. Accanto a questo, le curve mostrano che all'aumentare del tessuto collageneo la tensione passiva aumenta. Per far fronte a questa caratteristica Hill si basò sull'anatomia muscolare assumendo

in parallelo perché hanno lo stesso spostamento allungamento



elemento di risposta immediata

che la struttura collagenea del palco tendineo contribuisse in modo serie all'elasticità complessiva. La conferma di questa componente elastica serie Hill la ottenne proprio dall'esperimento del Quick-Release.

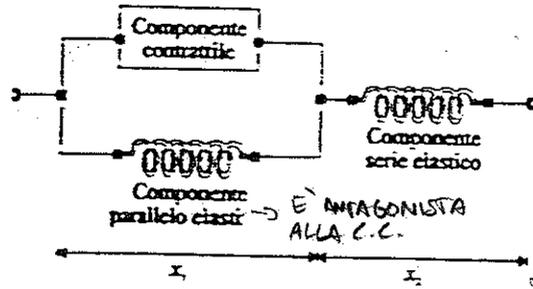


FIGURA V.6 Prima schematizzazione del modello meccanico del muscolo, costruito da Hill nel 1968.

La componente elastica parallela (componente elastica parallelo) tiene conto della tensione passiva, mentre la componente contrattile tiene conto della tensione attiva.

Il primo schema complessivo del modello di Hill, in cui la componente contrattile rappresenta un elemento attivo ancora non delineato, è schematizzato in figura V.6. In tale modello, come già detto, la componente elastica serie tiene conto del palco tendineo, mentre il muscolo vero e proprio è rappresentato dalle componenti parallele: la componente elastica (componente elastica parallelo) tiene conto della tensione passiva, mentre la componente contrattile tiene conto della tensione attiva.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

### La componente elastica serie

1 dine =  $10^{-5}$  N  
→  $\frac{d \text{ dine}}{d \text{ cm}}$

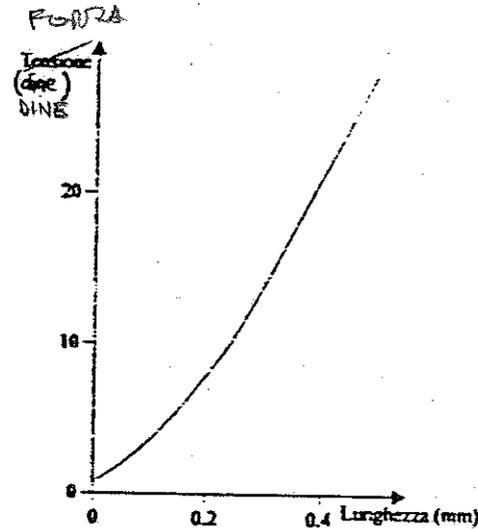


FIGURA V.7 Grafico della Tensione in funzione della Lunghezza per la componente elastica serie.

L'esperimento del Quick-Release dimostra con grande evidenza la presenza della componente elastica in serie. Infatti il rapido cambiamento di lunghezza che accompagna il gradino di tensione è coerente con la meccanica di una molla, la quale ha un unico valore di lunghezza per ogni valore di tensione, ma è indifferente nel complesso alla velocità di cambiamento della lunghezza stessa. La componente elastica serie di un muscolo di rana presenta la curva tensione-lunghezza graficata in figura V.7. Essa ricalca molto quella della tensione passiva di figura V.3.

$F = kA$

### La componente elastica parallelo

All'epoca di Hill, la componente elastica parallelo veniva erroneamente attribuita all'elasticità del sarcolemma, senza prendere in considerazione la possibilità che fosse diretta conseguenza della contrazione o dell'allungamento. Del resto in quegli anni non era ancora chiaro come funzionasse il meccanismo contrattile. Infatti quando è stato chiarito che esistono filamenti proteici (*sliding filaments*) che scorrono reciprocamente si è potuto constatare che gran parte di questa componente frenante ed elastica è legata direttamente ai filamenti e ai loro movimenti



reciproci. La curva tensione-lunghezza che esprime la componente elastica parallela ricalca la curva della tensione passiva di figura V.3 ed è esprimibile proprio con la relazione esponenziale (V.1).

LEGATORIA COPISTERIA ASD  
Via S. Lorenzo, 77 - 50127 PISA  
Tel. 050/541089

### La componente contrattile

Per cercare di esplicitare questa componente cerchiamo di ragionare sui legami tra forza generata e velocità di contrazione. È esperienza comune che i muscoli si contraggono molto più rapidamente con pesi leggeri di quanto non facciano con pesi elevati. Un uomo può afferrare un peso leggero dal pavimento e portarlo rapidamente sulla testa, se il peso diventa via via più pesante la velocità dell'operazione diminuisce fino ad annullarsi in corrispondenza del peso che non si riesce a sollevare. Questa asserzione è parzialmente spiegabile con l'inerzia del peso, ma la causa principale sta nel fatto che i muscoli contratti attivamente producono una forza minore di quelli contratti isometricamente. Questo significa che la componente contrattile non sia costituita dal solo elemento attivo che genera forza, ma anche da un elemento dissipativo legato all'allungamento e che possieda una certa inerzia.

$v \propto \frac{1}{T}$   
COMPONENTE  
PASSIVA SOLO  
QUANDO CONTRA.  
NON ISOMETRICHE  
⇒  $T_0$  = GENER.  
COST. DI  $T_0$

Abbiamo supposto che la variazione di lunghezza istantanea nell'esperimento del Quick-Release sia legata alla componente elastica serie. Ipotizzando che l'intera variazione sia attribuita a tale componente, possiamo concludere:

$\Delta X_1 = \dots$

- la componente elastica serie raggiunge una posizione di equilibrio e vi rimane senza contrarsi ulteriormente;
- la componente contrattile non è capace di variare la sua lunghezza istantaneamente ed è responsabile della successiva contrazione.

In base a questa considerazione, riveste una particolare importanza la velocità alla quale la componente contrattile inizia a contrarsi, questo valore di velocità si ottiene valutando la tangente alla curva lunghezza-tempo di figura V.5 nel punto in cui inizia l'andamento esponenziale. Se andiamo a graficare tale velocità in funzione della tensione isotonica  $T$ , si vede chiaramente il legame di proporzionalità inversa che le lega. Hill propose una relazione empirica che approssima ad un'iperbole la curva sperimentale:



$$(T+a)(v+b) = (T_0+a)b \quad (V.2)$$

dove  $a$  e  $b$  sono due costanti empiriche,  $v$  è la velocità di contrazione,  $T$  è la tensione sviluppata e  $T_0$  è quella isometrica. Possiamo vedere che questa è un'iperbole equilatera con asintoti sono  $T=-a$  e  $v=-b$ . La tensione isometrica  $T_0$  definisce la forza contro cui il muscolo non è né contratto, né allungato, e la velocità  $v_{max} = bT_0/a$  è la velocità contro un carico nullo. Questa relazione, conosciuta come equazione di Hill, descrive quasi tutti i muscoli fino ad oggi esaminati, inclusi il muscolo cardiaco e quello liscio. In genere tale equazione si preferisce normalizzarla considerando la velocità normalizzata rispetto a quella massima, e la tensione normalizzata rispetto alla tensione isometrica. Chiamando  $k = a/T_0 = b/v_{max}$  si ottiene:

$$v = \frac{1-T}{1+T/k} \quad (V.3)$$

dove  $v' = v/v_{Max}$  e  $T' = T/T_0$ .

La relazione è molto simile per un gran numero di muscoli ed il valore di  $k$  è limitato da un range tipico  $0.15 < k < 0.25$ . Siamo in grado a questo punto di valutare anche la potenza:

$$W = Tv = \frac{v(bT_0 - av)}{v + b}$$

Appare chiaro dalla formula che la velocità di contrazione controlla il tasso di energia liberata dal muscolo. Se vogliamo considerare l'analogia con i motori potremmo pensare che il muscolo ha una serie di marce con le quali adatta la velocità per sviluppare sempre la potenza massima. In figura V.8 sono graficate sia la relazione tensione-velocità (curva continua) che quella potenza-velocità (curva tratteggiata). La curva tensione-velocità mostra che la velocità di contrazione è condizionata dal carico applicato al muscolo: si sollevano lentamente carichi pesanti o si sollevano velocemente carichi leggeri. La relazione potenza-velocità di figura V.8 mostra anche che il muscolo opera più efficientemente per un carico ottimale e che la potenza massima viene sviluppata per un carico pari a circa il 30% della tensione massima. Contrazioni inefficaci sono spesso fisiologicamente importanti quando si richiedono alte velocità o forze massime, tuttavia in genere il rendimento ottimale del sistema contrattile nel convertire l'energia chimica in quella meccanica varia tra il 45 e il 50%.

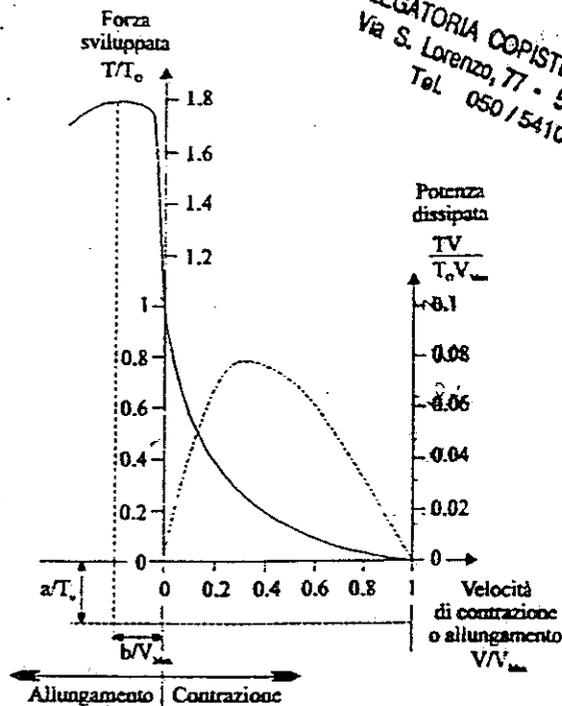


FIGURA V.8 Curva forza-velocità (continua) e curva potenza-velocità (tratteggiata) legate all'equazione di Hill.

Il fatto che il muscolo sviluppi la sua massima forza a velocità di contrazione nulla suggerì ad Hill che la stimolazione produceva comunque forza massima, ma che a seconda della velocità essa si dissipava contro una forza viscosa più o meno grande. In quest'ottica Hill schematizzò l'elemento contrattile come il parallelo di un generatore di forza e un pistone come visibile in figura V.9.

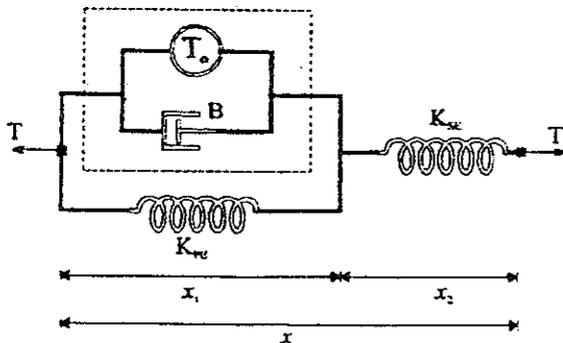


FIGURA V.9 Modello di Hill completo in cui sono esplicitate tutte le componenti.

Il generatore di forza o stato attivo produce una forza pari a  $T_0$  che si sviluppa e decade per ogni stimolo. Nel caso di tetano, invece, lo stato di forza si manterrebbe costante dal punto di vista numerico ed uguale alla tensione isometrica sviluppata. Risulta così che lo stato attivo è funzione della lunghezza dell'elemento contrattile e di conseguenza della tensione sviluppata.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

Il pistone è un elemento viscoso non lineare la cui forza resistiva è legata alla relazione  $T=Bv$ , dove  $B$  è una funzione della velocità. Ingegneristicamente possono essere costruiti inserendo il pistone in un bagno di liquido viscoso che si sposta da una camera all'altra durante la corsa del pistone.

La notevole presenza d'acqua all'interno del corpo, fece pensare che il liquido viscoso fosse l'acqua, ma questa è un fluido newtoniano e la sua viscosità non è funzione della velocità. Inoltre la viscosità dell'acqua cambia di poco in percentuale rispetto alle variazioni di temperatura, nell'intorno della temperatura corporea. Invece la viscosità del pistone dovrebbe subire forti variazioni per oscillazioni di temperatura anche minime. Il materiale viscoso che più si avvicina alle caratteristiche desiderate è l'olio di castoreo. Queste considerazioni fecero dubitare del modello, anche se descriveva adeguatamente molti muscoli.

### LO STATO ATTIVO

Nei comuni esercizi fisici il muscolo ha la funzione di fermare e mettere in movimento il corpo. Quando un peso più grande della tensione isometrica di tetano  $T_0$  è applicato al muscolo in uno stato tetanico attivo, il muscolo si allunga a velocità costante. La velocità, però, risulta molto più piccola di quella che ci si aspetterebbe da un'estrapolazione dell'equazione di Hill per velocità negative, infatti Katz trovò che c'è circa un fattore sei di differenza tra allungamenti e contrazioni. Un'altra anomalia è rappresentata dal fatto che il muscolo si allunga elasticamente fino a certi valori di estensione, poi il processo di allungamento diventa più veloce ed arriva alla rottura per una tensione di circa 1.8 volte  $T_0$  (figura V.8).

Hill e Gasser eseguirono alcuni esperimenti applicando un allungamento istantaneo ad un muscolo nella fase di regime dopo la stimolazione. Questo veloce cambiamento di lunghezza produce un allungamento sull'elemento elastico serie permettendo alla forza di opporsi a quella nella componente contrattile ed accelerando il tempo con cui si arriva al plateau della tensione tetanica.

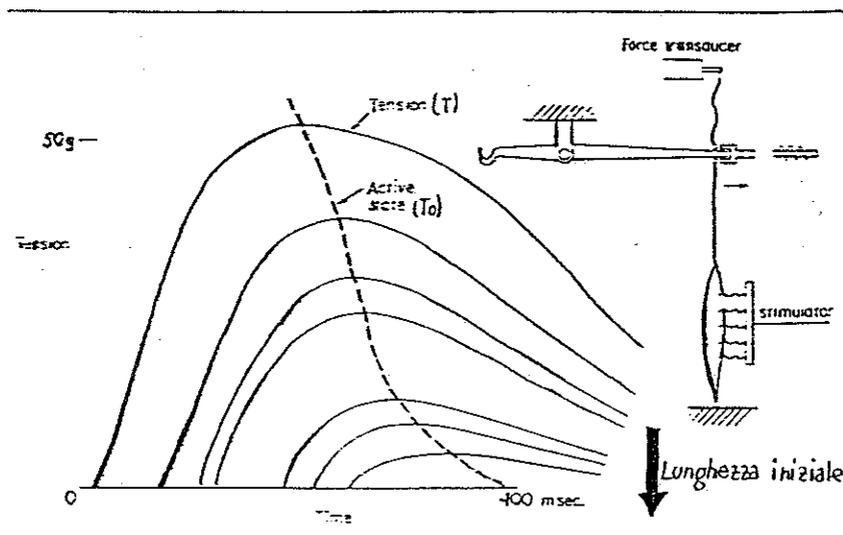


Fig. V.10 Ritchie's experiment for determining the falling phase of the active state tension during a twitch. A frog sartorius muscle at  $9^{\circ}\text{C}$  is given a single stimulation. The top curve shows the isometric tension as a function of time, when the catch was withdrawn before stimulation. In each of the lower curves, the muscle was released from a particular length an increasing time after stimulation and allowed to shorten against no load until the redundant link to the force transducer became taut. Thereafter, the muscle developed tension isometrically. The maxima of the tension curves define the active state tension,  $T_a$ , as a function of time. Adapted from Ritchie (1954).

INIZIO  
SOEGNO

Una modifica a questa interpretazione venne apportata da Ritchie nel 1954: egli lasciò un muscolo ad una lunghezza di volta in volta più piccola, dopo uno stimolo iniziale. I risultati di tale esperimento condussero fuori dalla regione del plateau della curva lunghezza-tensione. Le curve in fig. V10 si riferiscono ciascuna ad una data lunghezza iniziale: esse mostrano lo sviluppo di tensione dopo che il muscolo ha raggiunto la sua nuova lunghezza isometrica che, alla fine, è comune a tutte le curve. Tutte le curve hanno un massimo in cui la derivata della tensione si annulla; se  $T=0$ , allora  $\dot{x}_2 = -\dot{x}_1 = 0$ , ma quando  $x = 0$ , il pistone non dà alcun contributo di forza per cui  $T = T_0$ . Congiungendo, come fece Ritchie, tutti i massimi delle curve delle tensioni, si costruisce il luogo dei punti (curva tratteggiata in fig. V10) rappresentante la fase di caduta nel tempo dello stato attivo, successiva allo stimolo. La durata dello stato attivo dipende dunque dalla lunghezza iniziale del muscolo, per cui ad una lunghezza iniziale minore, corrisponde un decadimento più rapido. Già era noto che l'inizio dell'attività muscolare comincia molto presto subito dopo lo stimolo; Hill aveva già osservato che, a  $0^\circ \text{C}$ , il muscolo di una rana comincia a contrarsi isotonicamente in meno di 20 msec. Fino a quando si continuò a ritenere che la contrazione isotonica cominciasse alla massima velocità, si concluse che, in quel momento, lo stato attivo avesse già raggiunto la sua massima intensità. Edman, nel '70, analizzò più attentamente l'inizio dello stato attivo e così, presa una singola fibra muscolare, la sottopose ad un treno di stimoli determinando nella fibra un regime tetanico non costante (unfused tetanus). Dopo uno stimolo particolare, in più tempi la fibra fu rilasciata ad una lunghezza isometrica di volta in volta inferiore, come nell'esperimento di Ritchie; diversamente però dal precedente esperimento, la fibra venne nuovamente stimolata con il successivo impulso del treno. La forza così misurata mostrò nel tempo una serie di picchi e di avvallamenti (fig. VII). La tensione registrata in corrispondenza del picco più alto, così come quella in corrispondenza del valore più basso, deve essere interpretata come la tensione prodotta dallo stato attivo in quell'istante. Edman dimostrò in questo modo che lo stato attivo, dopo un periodo di latenza di circa 12 msec. dall'istante in cui avviene la stimolazione, cresce molto rapidamente, richiedendo solo 3-4 msec. per passare dal 25 al 65% del suo valore massimo. Nel modello di fig. V.9, se sono noti i parametri KSE, KPE e B, allora è possibile calcolare l'andamento temporale dello stato attivo in fig. V12, assumendo KSE, KPE e B costanti: la forma della curva non cambia sostanzialmente con la sostituzione dei parametri non lineari a quelli lineari.

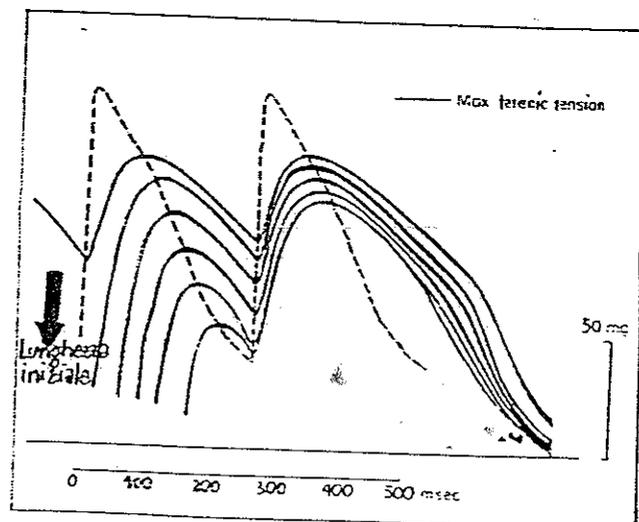


Fig. VII Edman's experiment for determining both the rising and falling portions of the active-state curve. The top curve shows the tension in a series of twitches at constant length for a single fiber of frog semitendinosus muscle at  $1^\circ \text{C}$ . Lower curves show the tension when the muscle was released to the same length at various times during the next-to-last contraction cycle. The curve-state curves (broken lines) are extrapolated from lines connecting the maxima and minima of the tension curves. These extrapolations intersect near the level of maximum tetanic tension for this pool. From Edman (1970)

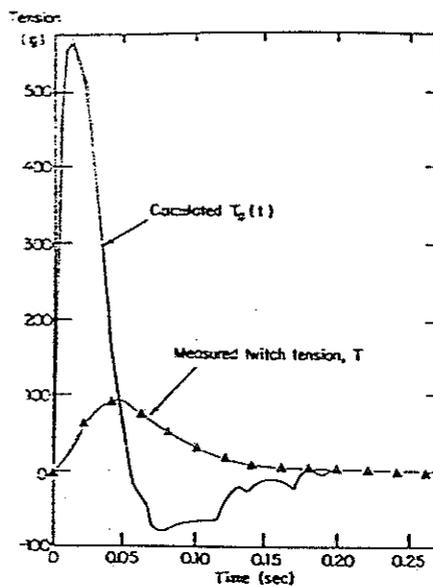


Fig. V.12 Measured twitch tension and calculated active state  $T_0(t)$  for frog gastrocnemius muscle at 24°C. The calculations assumed the model of fig. 1.11 with linear elements determined from measurements of the muscle's response to a change in its length while tetanized. A significant feature of the calculations is the negative  $T_0$  at the end of the falling phase of twitch tension. From Inbar and Adam (1976).

or they are indis-  
c, exposing rela-  
blish a scale of  
an another; they  
n, to predict the  
ggest which new  
ies are dangerous  
etacles. Misplaced  
eing facts as they

active state theory  
(1951) had extended  
shorten, measured  
and Wilkie (1960)  
twitch, using two

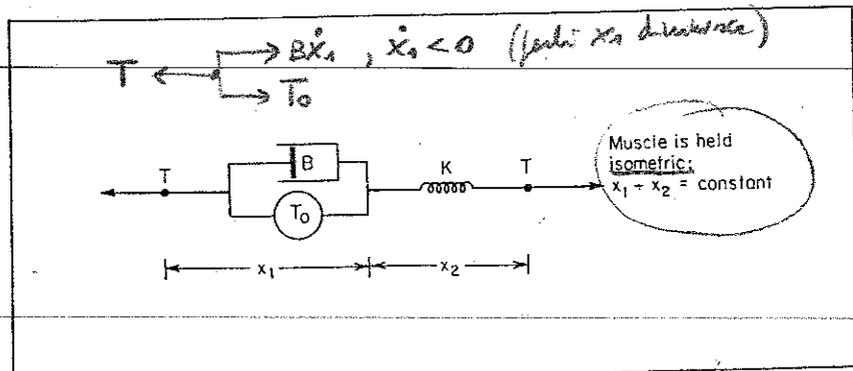
to obtain a measure  
stimulus. Then they  
ad at various times  
the active state, the  
been proportional to  
at this was found not  
etermining the time  
e speed of unloaded

pt arose from Jewell  
h of a muscle, even if  
for an increase in the  
ad defined the active  
urse might be length  
n another paper that  
development of tension  
ne events based on the  
ed that the active state  
er of muscle activity.  
hypothesis is shown in fig.  
e active state must go  
returning to zero. This  
the model parameters  
generator would mean

**Solved Problems**

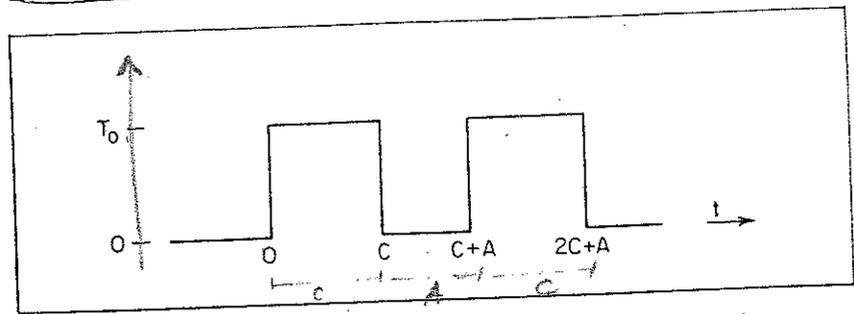
**Problem 1**

In real muscle, the peak tension developed by two twitches sufficiently far apart is practically the same, but when the second twitch is given immediately after the first, the peak tension of the second twitch is higher. Take the linear three-element model below and answer the following questions:



- (a) Assume the initial tension is zero. Then the pure force generator develops tension according to the schedule shown below. Derive the differential equation describing the system and solve it to obtain the force  $T$  as a function of time for  $0 \leq t \leq 2C + A$ .

~~2. Fundamentals of Mechanics~~



Plot the answer to part (a) schematically.

- (b) Assume  $C$  is fixed (this says the time that the contractile machinery stays on after a single stimulus is fixed, independent of the pattern of stimulation). Plot  $T_{max}$ , the amplitude of the second tension peak, as a function of  $A$ . Does this behavior agree qualitatively with experiments?

**Solution**

- (a) 1. Spring:  $K\Delta x_2 = T$   
 2. Force generator plus dashpot:  $B\dot{x}_1 + T_0 = T$   
 3. The muscle is isometric:  $x_1 + x_2 = \text{constant}$ .
- 1) Differentiating the last equation above and substituting it into the first.

*Eq 3*      *Eq 1*

$$\dot{x}_1 = -\dot{x}_2 = -\frac{\dot{T}}{K}$$

- 2) Substituting into the equation describing the force generator plus dashpot.

*Soln. Part 2*  
 $T = \text{const} = T_0$

*Eq 2*      *Derivative*  $1 + \frac{B}{K} \dot{T} = 0 \Rightarrow \dot{T} = -\frac{K}{B} T$

$$T + \frac{B}{K} \dot{T} = T_0$$

$$T(t) = \frac{T_0}{2} + \beta \cdot e^{-\frac{K}{B} t}$$

If  $T_0$  is turned on as a step, the initial conditions are  $T(0) = 0$ . The solution is:

$0 = \frac{T_0}{2} + \beta \Rightarrow \beta = -\frac{T_0}{2}$

$$T(t) = T_0 (1 - e^{-Kt/B}) \quad (0 \leq t \leq C)$$

Since the step stays on for  $C$  seconds, the force level when the step goes off is:

$$T(C) = T_0 (1 - e^{-KC/B})$$

After the  $T_0$  goes off, the force decays according to:

$$T(t) = T(C) e^{-K(t-C)/B} \quad (C \leq t \leq C+A)$$

*plu l'eyes diff n'importe la fonction,*  
*no transire Poisson  $\bar{t} = 0 \Rightarrow T(t) = \beta \cdot e^{-\frac{K}{B}(t-c)}$*   
*Cond. init:  $T(c) = T_0(1 - e^{-Kc/B}) \Rightarrow \beta = T(c)$*

Therefore the force  $A$  seconds after  $C$  is:

$$T(C + A) = T(C)e^{-KA/B}$$

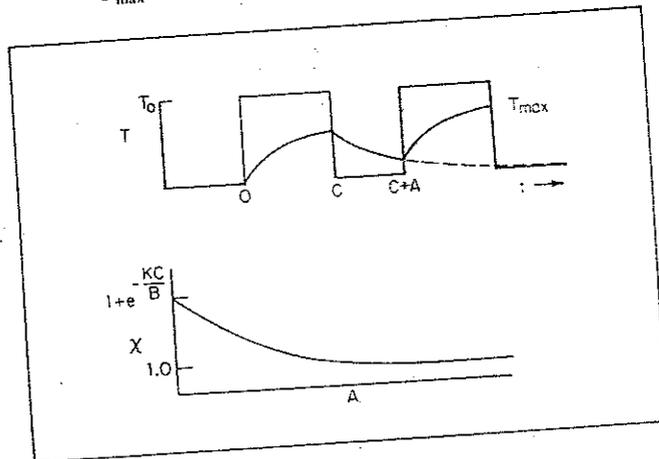
This is a linear problem in which superposition of two inputs produces a response which is the sum of the separate responses, as if each input had acted separately. Hence between  $C + A$  and  $2C + A$ , the force is:

$$T(t) = T(C)e^{-K(t-C)/B} + T_0(1 - e^{-K(t-C-A)/B}).$$

(b) The maximum force occurs at  $2C + A$ . It is:

$$T_{\max} = T(C)e^{-K(C+A)/B} + T_0(1 - e^{-KC/B})$$

$$T_{\max} = T_0(1 - e^{-KC/B})(1 + e^{-K(A+C)/B}).$$



Here,

$$\begin{aligned} X &= T_{\max} / [T_0(1 - e^{-KC/B})] \\ &= \frac{\text{height of second peak}}{\text{height of first peak}} \end{aligned}$$

## IL MODELLO DEGLI SLIDING-FILAMENTS

Nel periodo in cui Huxley studiava la macchina contrattile, erano in voga teorie fondate su vaghe credenze o su analogie piuttosto bizzarre e discutibili. Tra queste è da citare quella di Marey: egli ipotizzava che la macchina contrattile lavorasse sul principio della gomma indiana, la quale si contrae per ricezione di calore (avvicinando un dito ad un punto della gomma, essa si contrae e rigonfia il punto toccato). Altre teorie erano più meccaniciste, come quella di Borelli: egli ipotizzava che il muscolo fosse costituito da oggetti elastici, i quali assumevano forma circolare in contrazione e forma ellittica in rilassamento.

Nel 1954, H. E. Huxley e J. Hanson proposero un modello per la configurazione della proteina muscolare, schematicamente equivalente a quello visto nel capitolo IV. Nello stesso anno un manoscritto preparato da A. F. Huxley (non parente del primo) e R. Niedergerke<sup>51</sup> propose un modello identico anche se in forma meno dettagliata. I due lavori furono pubblicati sullo stesso numero di Nature (volume 173, pp. 973-976 e pp. 971-973 rispettivamente). Il modello, elaborato in dettaglio nel 1957 da A. F. Huxley, viene chiamato il modello degli *sliding-filaments* (filamenti scivolanti), in quanto si basa sulla concezione che la contrazione è legata al mutuo scivolamento dei filamenti spessi sui filamenti sottili per mezzo della formazione di ponti trasversali tra i filamenti stessi.

Il modello degli *sliding-filaments* rimase nell'ombra per altri anni. Infatti solo nel 1963, Elliot (grazie a misure effettuate per diffrazione dei raggi X) trovò che il volume delle fibre muscolari rimaneva costante sia a riposo che in contrazione; ciò era la dimostrazione che i miofilamenti, per avere modificazioni strutturali isovolumiche, dovevano incastrarsi gli uni con gli altri durante la contrazione.

Per rimuovere l'incognita sul come potevano incastrarsi ci sono voluti altri anni, mentre i dubbi sul meccanismo di forza che permette all'actina e alla miosina di scivolare reciprocamente si sono perpetuati quasi fino ad oggi.

Una teoria sul meccanismo di scivolamento (proposta da Podosky) sosteneva che i filamenti fossero legati per le estremità e che la contrazione avvenisse con il ripiegarsi del filamento sottile. L'altra teoria ipotizzava che i filamenti si muovessero per interazione elettrostatica. Si ipotizzava che qualche proteina modificasse la propria struttura esponendo tronchi carichi e producendo tali forze elettrostatiche. A. F. Huxley nel periodo tra il 1974 e il 1979 dimostrò l'inefficienza di tale modello dimostrando che l'accorciamento era più ampio della zona di sovrapposizione (tra actina e miosina), e facendo vedere che il tasso di energia liberata diminuisce proporzionalmente con la velocità di contrazione. Del resto l'ipotesi dell'esistenza di un meccanismo elettrostatico è inaccettabile se si considera che le interazioni di tale specie sono trascurabili per distanze superiori alla distanza di Debye e che questi fenomeni hanno raggi d'azione più ampi. Inoltre gli influssi ionici presenti nel muscolo renderebbero trascurabili qualsiasi interazione elettrostatica tra proteine.

## FISIOLOGIA DEL SISTEMA CONTRATTILE

### Interazioni tra filamenti spessi e sottili

Alla base del processo di trasduzione chemiomeccanica effettuato dal sistema contrattile vi sono i legami tra actina e miosina dovuti ai ponti trasversali e alla relativa defosforilazione dell'ATP. In questi processi la trasduzione avviene grazie alle associazioni tra le alte e basse affinità tra actina e miosina generate dalla scissione dell'ATP e ai cambiamenti conformazionali dei ponti trasversali nella fase di legame e di rilascio tra i due filamenti.

cross  
bridges

### Il ciclo di FORMAZIONE E SCISSIONE dell'ACTOMIOSINA

Abbiamo già accennato che i filamenti di miosina proiettano trasversalmente rispetto al filamento spesso le macromiosine, con la proprietà di formare ponti trasversali. Ciascuna delle due teste della miosina contribuisce alla formazione del ponte trasversale in modo indipendente dall'altra, tuttavia ognuna di esse può essere influenzata dall'attività dell'altra e ciò fa ipotizzare una *cooperazione* tra le teste stesse. Actina e miosina si legano formando il composto actomiosina, il quale è una ATPasi molto attiva. Il ciclo con il quale l'actomiosina si forma e il processo di defosforilazione della ATP è rappresentato in figura V.13. In un muscolo rilassato il sistema regolatore impedisce l'interazione tra actina e miosina, tale inibizione viene rimossa ad opera degli ioni calcio, rilasciati dal reticolo sarcoplasmatico in seguito alla stimolazione nervosa. In presenza di ATP, la miosina si comporta (per mezzo della catena A) come ATPasi, dissocia l'ATP in ADP e gruppo fosfato ( $P_i$ ) tenendo legati una coppia di entrambi ad ogni testa; in questa fase la miosina esibisce un'alta affinità per l'actina. Avviene dunque il legame actina-miosina con la formazione dell'actomiosina e la liberazione di ADP e  $P_i$ . L'actomiosina lega una ATP riducendo notevolmente l'affinità della miosina per l'actina; si verifica dunque la scissione dell'actomiosina che permette nuovamente alla miosina di comportarsi come ATPasi e di riprendere il ciclo. La fase più lenta di tutto il ciclo è rappresentata proprio dalla scissione dell'actomiosina

IMPORTANZA  
DBZ  $Ca^{2+}$

### Il ciclo dei ponti TRASVERSALI

Nella figura V.13 sono riportati, unitamente alle fasi di formazione e scissione dell'actomiosina, anche i relativi passi di variazione conformazionale dei ponti trasversali. Nel muscolo a riposo il ponte non unisce i due filamenti ed è orientato in modo che le teste della miosina siano disposte perpendicolarmente al filamento spesso. La stimolazione ed il successivo rilascio degli ioni calcio modifica la struttura del filamento nel punto di separazione tra la micromiosina e la macromiosina che, funzionando da cerniera, consente alla macromiosina di ruotare così le teste si legano al filamento sottile. Dopo l'aggancio, la macromiosina cambia nuovamente conformazione inclinandosi (*colpo di forza*) ed utilizzando l'energia immagazzinata nel composto altamente energetico miosina-ADP- $P_i$ . Questa variazione di conformazione del ponte trasversale genera una forza che fa scivolare il filamento sottile su quello spesso di circa 10 nm; probabilmente l'azione brusca provoca il rilascio delle molecole di ADP e di fosfato  $P_i$ , provocando il distacco dei

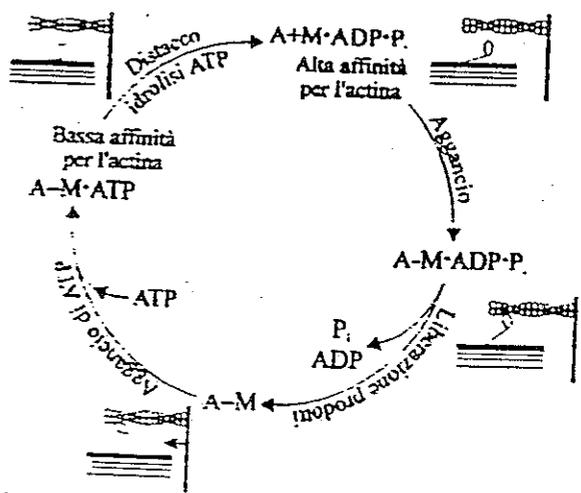
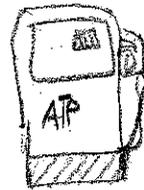


FIGURA V.13. Schema del meccanismo di scissione e ricomposizione dell'ATP e dell'actomiosina. Nello schema la miosina è indicata con M, l'actina con A ed l'actomiosina con A-M. Nella fase superiore si ha l'interruzione normale del ciclo, mentre nella fase inferiore si ha l'interruzione per mancanza di ATP (rigor mortis)

ponti trasversali. Il ciclo descritto si ripete finché non intervenga il meccanismo di controllo legato al calcio o per l'esaurimento dell'ATP (se non è prodotto artificialmente in laboratorio per studi specifici, tale situazione è dovuta alla morte dello organismo e determina la rigidità cadaverica detta *rigor mortis*), e termina sempre lasciando i ponti staccati.



## Il meccanismo di controllo

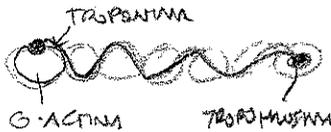
Il principale fattore di controllo del ciclo contrazione-rilassamento è legato ai meccanismi attraverso cui lo ione calcio, esercita i suoi effetti sul dispositivo contrattile; tali effetti sono esercitati grazie alla presenza di siti di legame per lo ione calcio su entrambi i filamenti (sulla miosina e sulla troponina). Accanto allo ione calcio vi sono fattori secondari legati principalmente a *messaggeri secondari*, i quali diffondono l'attivazione a tutte le singole fibrille.

La scoperta che lo ione calcio è un fattore di controllo fu di Szent-Gyorgji. Egli utilizzò un preparato muscolare trattato con glicerina (*muscolo glicerinato*), la quale distrugge il sarcolemma ed il reticolo sarcoplasmatico, lasciando intatti i filamenti di actomiosina e la loro capacità di formare ponti trasversali. Il muscolo glicerinato, senza sistema di controllo autonomo era inestensibile (*stato di rigore*), tuttavia si contraeva se immerso in una soluzione contenente ioni calcio e, una volta contratto, si rilassava se immerso in una soluzione contenente ioni magnesio ( $Mg^{2+}$ ) o in una soluzione non contenente calcio.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

## LA TROPONINA E LA REGOLAZIONE DEI FILAMENTI SOTTILI

Su un'estremità dei bastoncini di tropomiosina dei filamenti sottili è legata una molecola di troponina, la quale possiede quattro siti di legame per lo ione calcio disposti in modo che l'effetto risultante dell'inserimento dei quattro ioni calcio risulti cooperativo. In presenza di concentrazioni micromolari di ione calcio, i quattro siti vengono occupati e ciò provoca una variazione conformazionale nella disposizione della tropomiosina rispetto alle G-actine (figura V.14). Questa variazione conformazionale è uno spostamento rotativo che scopre il sito attivo di aggancio dei ponti trasversali permettendo alla miosina di agganciarsi all'actina.



FORMAZIONE  
DEL COMPLESSO

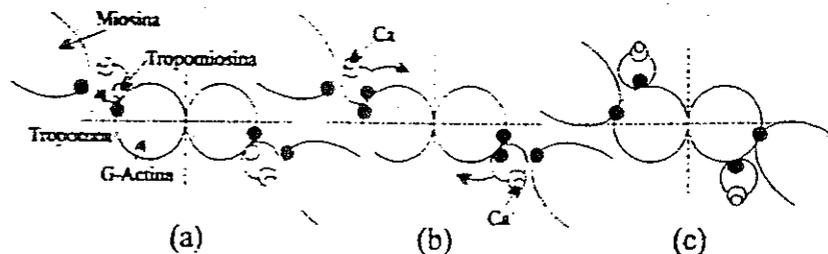


FIGURA V.14 Meccanismo di funzionamento dell'interruttore troponina-tropomiosina per l'aggancio dei ponti trasversali sulle G-actine. (a) I siti di legame per il calcio sono vuoti e la testa della miosina è ostacolata nella formazione del legame con l'actina. (b) L'inserimento degli ioni calcio provoca la rotazione della troponina che trascina la tropomiosina scoprendo il sito di legame. (c) Formazione del ponte trasversale.

Alla luce di questo meccanismo, il ciclo di contrazione-rilassamento può schematizzarsi nelle cinque fasi:

- la stimolazione della membrana provoca un incremento della concentrazione di ioni calcio (sopra la soglia di  $0.1 \mu\text{M}$ );
- il legame degli ioni con la troponina espone i siti dell'actina per i ponti trasversali;
- i ponti trasversali si legano nei siti esposti;
- la fine della contrazione avviene con la rimozione degli ioni calcio dal sito di legame sulla troponina;
- i filamenti sottili riprendono la conformazione originaria bloccando i siti per i ponti trasversali.

Il legame dello ione calcio con la troponina ha una curva di risposta molto ripida, tanto che variazioni relativamente piccole della concentrazione di ione calcio provocano ampie variazioni sia del numero di ponti trasversali attivi che dello sviluppo di forza. Il grafico di figura V.15 rappresenta la curva interpolata rispetto a misure reali; il grafico ha il classico andamento sigmoidale che tiene conto sia della soglia che della saturazione. Inoltre, per comodità di rappresentazione la scala delle concentrazioni è logaritmica, cioè viene riportato il PCa (analogo del PH per lo ione  $\text{Ca}^{2+}$  anziché per lo ione  $\text{H}^+$ ).

### LA MIOSINA E LA REGOLAZIONE DEI FILAMENTI SPESSI

Anche le teste della miosina contengono un sito per lo ione calcio, nella catena leggera DTNB, tuttavia, esso interviene nella regolazione del ciclo contrazione-rilassamento al livello del legame actina-miosina. Si è trovato che nel ciclo di formazione e scissione dell'actomiosina, la defosforilazione e la fosforilazione della ATP è strettamente legata alla presenza o meno dello ione calcio all'interno del sito della catena DTNB.

L'andamento grafico delle curve di dipendenza dal calcio dei sistemi regolatori legati alla miosina sono simili a quelle di figura V.15.

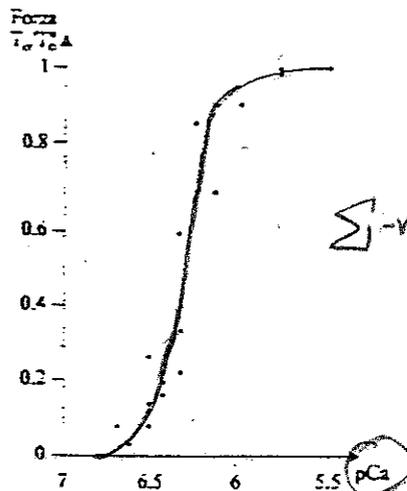


FIGURA V.15 Grafico della tensione per una singola fibra in relazione alla funzione PCa.

### LA REGOLAZIONE E LA DISTRIBUZIONE DELLO IONE CALCIO

Le concentrazioni degli ioni calcio nell'endoplasma viene mantenuta a spese di meccanismi di trasporto attivo contro gradienti di concentrazione molto elevati. Tale meccanismo di trasporto lavora sia durante la contrazione nella quale deve fornire il calcio a tutti i miofilamenti, sia durante il rilassamento nel quale deve eliminare il calcio fornito. Per migliorare l'efficienza di questo meccanismo sia dal punto di vista della velocità che da quello del consumo energetico vengono sfruttati due sistemi di distribuzione: il sarcolemma ed il reticolo sarcoplasmatico.

LA P. 94 E' DOPO LA P. 102 ...

PRESENZA DI  
Ca<sup>2+</sup> ATPase NELLA  
MEMBRANA  
SARCOPLASMATICA

Le membrane del reticolo sarcoplasmatico racchiudono un compartimento intracellulare che contiene elevate quantità di calcio. In condizioni di riposo, efficienti pompe attive (Ca<sup>2+</sup>-ATPasi) mantengono bassa la concentrazione dello ione calcio nell'endoplasma dei miofilamenti. La depolarizzazione della membrana sarcoplasmatica si trasmette al reticolo sarcoplasmatico (*accoppiamento eccitazione-contrazione*) e questo, non appena il potenziale supera i -50 mV (*soglia meccanica*), rilascia il calcio il quale, spinto da un elevato gradiente, si diffonde rapidamente. La liberazione di una quantità maggiore di ioni calcio potenzia la contrazione in risposta al singolo potenziale d'azione, mentre un abbassamento della soglia prolunga la contrazione (una sostanza che provoca entrambi gli effetti è la caffeina). Terminato il potenziale d'azione, il calcio viene ripompato nelle sacche intracellulari molto rapidamente, grazie anche alla presenza della *calsequestrina*, una proteina che si attiva in seguito alla ripolarizzazione e che è capace di legare fino a 43 ioni calcio.

Nel sarcoplasma la produzione del potenziale d'azione è legata all'apertura dei canali del sodio e del potassio in seguito all'arrivo dell'acetilcolina dalla giunzione neuromuscolare. Il potenziale d'azione o direttamente l'apporto di neurotrasmettitori attiva i canali del calcio dipendenti dal voltaggio o da recettori chimici e provoca l'ingresso del calcio all'interno dell'endoplasma; al tempo stesso l'aumento della concentrazione di ioni calcio prolunga la depolarizzazione della membrana.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

## Il meccanismo degli sliding-filaments

Gli studi condotti sulla meccanica muscolare ci dicono che un muscolo rilassato è elastico e che richiede una certa forza per essere stirato e portato a lunghezza maggiore; ciò è legato essenzialmente alle proprietà del tessuto connettivo. Inoltre gli studi ci confermano che la tensione sviluppata dal muscolo durante la contrazione è invece legata ad un processo attivo di generazione di forza. Studi comparati sulla meccanica e sulla struttura muscolare hanno portato a scoprire che i diretti responsabili del meccanismo di generazione della forza sono i ponti trasversali, i quali, legando actina e miosina, provocano un mutuo scivolamento dei filamenti generando la contrazione e quindi effettuando un lavoro meccanico.

## LE RELAZIONI MECCANICHE E LA FORMAZIONE DI PONTI TRASVERSALI

Correlando i dati strutturali e il comportamento meccanico si può osservare che la tensione attiva è proporzionale all'area di sovrapposizione dei filamenti spessi e sottili che scorrono (figura V.16.). Se il muscolo viene stirato oltre la lunghezza alla quale si sviluppa la massima forza (2.25  $\mu$ m), la tensione attiva decresce linearmente con la riduzione dell'area di sovrapposizione (*overlap*) tra filamenti sottili e spessi. Questo risultato suggerisce che la tensione sia proporzionale al numero di ponti attivi che possono interagire con i filamenti sottili e giustifica l'affermazione che i ponti trasversali siano generatori di forza indipendenti. Anche il fatto che la tensione massima sviluppata sia costante per i muscoli scheletrici dei vertebrati (circa 3 Kg/cm<sup>2</sup>) è un dato che conferma questa ipotesi, infatti, essa dipende dalla lunghezza del muscolo, dal numero di ponti trasversali attivati (*grado di attivazione*) e dal tipo di muscolo, tutti fattori legati alla lunghezza dei filamenti

DIPENDENZA DAL  
NUMERO DI PONTI  
ATTIVATI

0,3 MPa

sottili e spessi e la loro densità che sono simili in tutti i muscoli scheletrici dei vertebrati.

Nel tratto CB di figura V.16, la tensione non si modifica con l'allungamento, ciò è dovuto al fatto che, per queste lunghezze, i filamenti sottili capaci di legarsi con ponti trasversali cadono nella zona H, nella quale non vi sono ponti trasversali. Nel tratto BA, la forza declina in quanto si supera l'allungamento massimo e ciò è causato essenzialmente da una modificazione della geometria del fascio di filamenti. Per lunghezze inferiori a  $2\ \mu\text{m}$  (tratto CD) i filamenti sottili interferiscono uno con l'altro riducendo nuovamente la possibilità per i ponti trasversali di generare forza. Quando il sarcomero è lungo meno di  $1.67\ \mu\text{m}$  (tratto DE) i filamenti grossi sbattono contro i dischi Z e fino ad una lunghezza di  $1.27\ \mu\text{m}$  la forza declina rapidamente, mentre i filamenti grossi si piegano di più nella parte finale. Il microscopio a contrasto di fase ha dimostrato che quando il sarcomero è lungo  $1.67\ \mu\text{m}$  la banda I sparisce e la banda A si accorcia al di sotto di questo valore.

Lo studio della relazione tensione-velocità graficato in figura V.8 è importante per capire la formazione dei ponti trasversali in relazione alla velocità di contrazione e al carico a cui è sottoposto il muscolo.

Se un sarcomero deve accorciarsi per più di  $10\ \text{nm}$  ciascun ponte trasversale deve staccarsi e quindi riattaccarsi ad un nuovo sito del filamento sottile situato più vicino al disco Z; in questo processo, i cicli di formazione dei ponti trasversali devono essere tra loro asincroni per garantire tensione costante e contrazione continua. Nonostante che il fenomeno sia aiutato dalla diversità delle distanze tra i siti di legame sui due filamenti, ciò deve essere controllato da un processo legato alla contrazione stessa. Inoltre, un muscolo parzialmente attivato, che sviluppa una

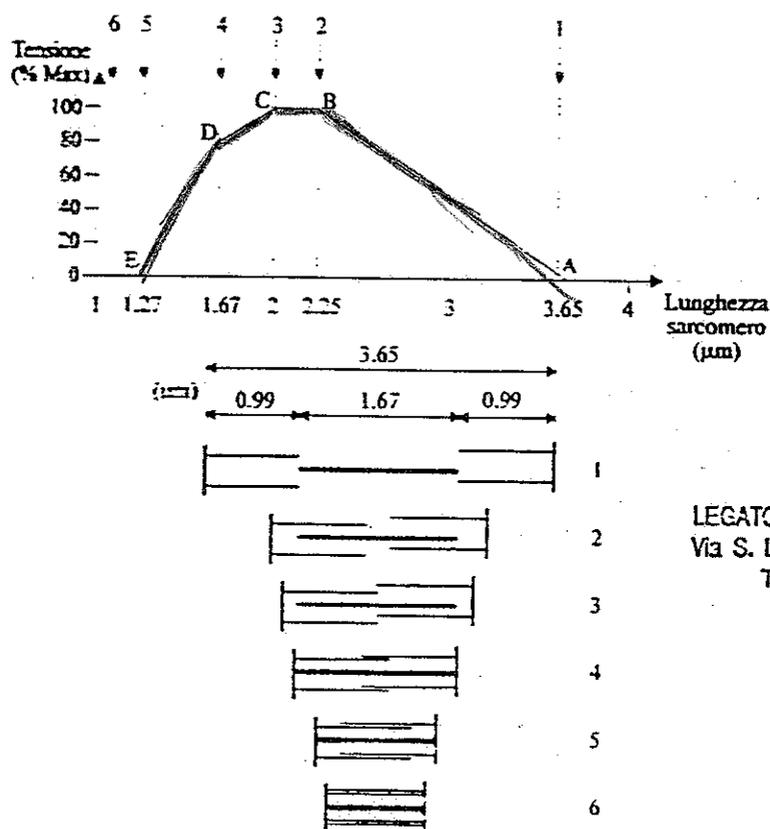


FIGURA V.16. Grafico che riporta l'andamento della tensione in funzione della lunghezza del sarcomero. Per i nodi della curva sono riportate le figure corrispondenti del grado di overlap.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. LORENZO, 77 - 50127 PISA  
Tel. 050/541089

forza massima di entità moderata, ha la stessa velocità massima di un muscolo completamente attivato. I due fenomeni confermano che sia il numero di ponti trasversali attivi, sia la velocità di formazione è funzione del carico.

Le relazioni tensione-velocità mostrano che la velocità di formazione dei ponti trasversali diminuisce con l'aumentare del carico distribuito sui ponti trasversali stessi. Ciò è comprensibile facendo riferimento al fatto che le variazioni di conformazione dei ponti trasversali nei cicli di aggancio e distacco sono contrastate dal carico, ne segue che carichi pesanti incrementano progressivamente il tempo medio necessario per lo svolgimento di questo processo e per l'inizio di un nuovo ciclo.

### Riassunto

1. Il primo evento è la propagazione dello stimolo nervoso sulla superficie della fibra muscolare.
2. Si propaga lo stimolo all'interno, attraversando il sistema tubolare trasverso e poi quello longitudinale; lo stimolo è responsabile del rilascio degli ioni  $Ca^{++}$  dal reticolo endoplasmatico.
3. Il  $Ca^{++}$  diffonde attraverso il sarcoplasma al filamento sottile dove è legato dalla troponina.
4. La troponina è responsabile con una variazione conformazionale dello spostamento della catena di tropomiosina lontano dai siti attivi del filamento sottile (soprattutto su actina), rendendo possibile l'attacco di una testa di miosina che porta su di sé i prodotti dell'idrolisi dell'ATP.
5. Dopo che si è attaccata, la testa cambia la sua struttura in modo che l'angolo di attacco al filamento sottile è alterato, causando una forza di scorrimento tra filamento spesso e filamento sottile.
6. Il filamento sottile può quindi scorrere sul filamento spesso per ca.  $50/100 \text{ \AA}$  e non oltre perché questo è il limite del raggio d'azione del cross-bridge.
7. Alla fine dell'evento il cross-bridge si libera dei prodotti di idrolisi dell'ATP rilasciandoli nel sarcoplasma, lega una molecola intera di ATP e così si stacca dal sito attivo dell'actina.
8. Staccatosi l'ATP è nuovamente idrolizzato e la testa è di nuovo pronta a ricompiere il ciclo.

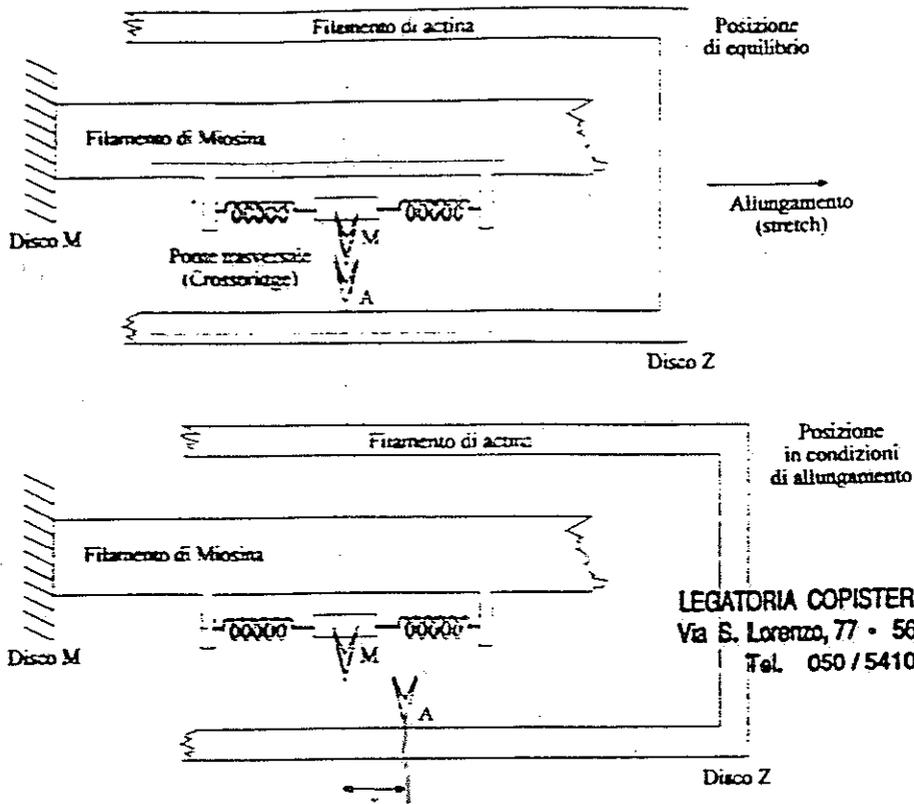


FIGURA V.24. Schema della disposizione dei filamenti secondo il modello di Huxley.

Tenendo presente questa lista di affermazioni, Huxley teorizzò il suo modello; volendo privilegiare la semplicità introdusse anche una serie di limiti che poteva non considerare. Essi sono:

- La forza esaminata è generata dalla sola macchina contrattile.
- Il numero dei ponti trasversali attivi che prende parte alla generazione di forza è costante (si descrive solo il tratto piatto della curva lunghezza-tensione, figura V.25).
- Si assume che il muscolo sia interamente attivato e che il grado di attivazione (regolato dalla concentrazione sarcoplasmatica di ioni calcio) sia costante nel tempo.
- Si assume che la velocità di contrazione sia costante e conseguentemente che anche lo sforzo <sup>sviluppati</sup> sia costante; non si esclude la possibilità che la velocità si annulli.
- Si assume che ogni ponte trasversale che inizia un ciclo (aggancio, sviluppo di forza, distacco, idrolisi ATP) lo concluda.

Con tali considerazioni, una rappresentazione schematica del modello può essere la sezione riportata in figura V.24. Il filamento spesso (miosina) è rappresentato fissato rispetto allo spazio; sul lato inferiore è riportato un ponte trasversale il cui sito M è pensato oscillare avanti ed indietro quando non c'è aggancio col sito di legame A dell'actina. Se il filamento sottile (actina) scorre verso destra la fibra muscolare viene stirata. La distanza  $x$  misura la posizione istantanea del sito A rispetto alla posizione di equilibrio del sito M (linea tratto-punto). Superata la distanza  $h$ , il ponte trasversale non può più agganciarsi al sito A, può solo staccarsi. Inoltre un ponte trasversale si può combinare con un solo sito A per volta.

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

Formalizzazione

Consideriamo ora i ponti trasversali spostati rispetto alla posizione di equilibrio del sito M e compresi nello spazio tra  $x$  e  $x+\Delta x$ . Essi possono essere agganciati o staccarsi, quindi chiamiamo  $n(x)$  il numero dei ponti trasversali agganciati alla posizione  $x$ . Tale funzione è importante al fine di determinare il contributo di forza dei suoi ponti trasversali legati, mentre  $x$  è importante al fine di sapere quali ponti trasversali contribuiscono. La funzione  $n(x)$  può essere vista come la probabilità che un arbitrario ponte, alla posizione  $x$ , sia legato; ne segue che  $0 < n(x) < 1$ .

Huxley ipotizzò che la dinamica con cui si ripetono i cicli di lavoro fosse descritta dalla seguente equazione differenziale del primo ordine:

$$\frac{dn(x)}{dt} = [1 - n(x)]f(x) - n(x)g(x) \tag{V.5}$$

L'equazione (V.5) mette in relazione l'incremento  $dn(x)$  della frazione di ponti legati per unità di tempo a due fattori:

- Il primo  $[1 - n(x)]f(x)$  che rappresenta la probabilità che alla posizione  $x$  venga formato un legame; esso è dato dal prodotto della frazione di ponti trasversali non legati (e potenzialmente in grado di farlo) per la capacità  $f(x)$  di formare un legame (assunta essere funzione di  $x$ ).
- Il secondo  $n(x)g(x)$  che rappresenta la probabilità che alla posizione  $x$  venga rotto un legame (esso è ovviamente a sottrarre in quanto l'incremento  $dn(x)$  viene diminuito del numero di legami che si staccano); esso è dato dal prodotto della frazione di ponti trasversali legati (e potenzialmente in grado di staccarsi) per la capacità  $g(x)$  di rompere un legame (assunta essere funzione di  $x$ ).

Dobbiamo ora dare una descrizione analitica delle funzioni  $f(x)$  e  $g(x)$ . Iniziamo con fare una serie di osservazioni:

- Si genera forza contrattile solo per  $0 < x < h$  (in quanto i ponti trasversali si possono legare solo nell'intervallo  $[0, h]$ ), quindi  $f(x)$  è non nulla solo nel tratto  $0 < x < h$ .
- Nell'intervallo  $0 < x < h$  la capacità di staccarsi deve essere minore della capacità di legarsi, nell'intervallo  $x > h$  deve accadere l'inverso.
- Solo la contrazione abilita i ponti trasversali al movimento, trasferendo l'energia meccanica che loro accumulano al carico; avendo imposto che la capacità di contrazione sia limitata all'intervallo  $0 < x < h$ , per  $x$  negative (non essendoci nessuna abilitazione) il tasso di rottura deve essere molto elevato ed indipendente dalla posizione  $x$ .

Huxley ipotizzò tre tipi di andamenti per  $f(x)$  e  $g(x)$ : esponenziale, lineare e costante, trovò, però, risultati analitici simili, ma non efficienti sperimentalmente. La scelta si riversò sull'andamento lineare in quanto permetteva forme differenziali esatte e facilmente integrabili (oggi sappiamo che non è lineare).

Dalle considerazioni fatte otteniamo le seguenti espressioni analitiche di  $f(x)$  e  $g(x)$ , rappresentate anche graficamente in figura V.25:

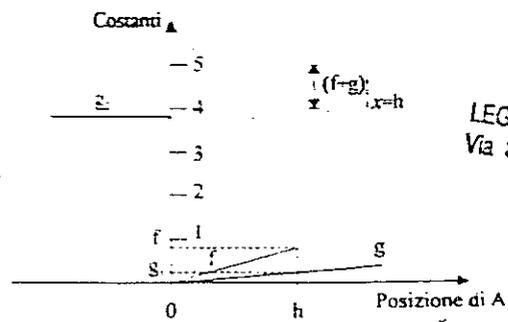


FIGURA V.25 Grafico delle funzioni  $f(x)$  e  $g(x)$

LEGATORIA COPISTER  
Via S. Lorenza, 77 - 50  
Tel. 050/54100

$$f(x) = \begin{cases} 0 & x < 0 \\ \frac{f_1}{h}x & 0 \leq x \leq h \\ 0 & x > h \end{cases} \quad g(x) = \begin{cases} g_1 & x < 0 \\ \frac{g_1}{h}x & 0 \leq x \leq h \end{cases} \quad (V.6)$$

## Risoluzione

### CONTRAZIONE E STIRAMENTO ISOTONICI

Sotto l'ipotesi di contrazione isotonica, ovvero velocità di contrazione costante, l'equazione (V.5) può essere scritta nella forma:

$$\frac{dn(x)}{dt} = \frac{dn(x)}{dx} \cdot \frac{dx}{dt} = -v \cdot \left[ -v \frac{dn(x)}{dx} = f(x) - [f(x) + g(x)]n(x) \right] \quad (V.7)$$

dove  $v$  è la velocità del filamento sottile rispetto a quello spesso (considerato fisso). Sostituendo le (V.6) nella (V.7) otteniamo tre equazioni, ognuna valida in un certo intervallo delle  $x$ .

• Per  $x < 0$  l'equazione risulta:

$$-v \frac{dn(x)}{dx} = -g_1 n(x)$$

la cui soluzione è:

$$n(x) = C \cdot \exp\left[\frac{g_1 x}{v}\right] \quad (V.8)$$

dove  $C$  è una costante da determinare.

• Per  $0 \leq x \leq h$  l'equazione risulta:

$$-v \frac{dn(x)}{dx} = \frac{f_1}{h}x - \left(\frac{f_1 + g_1}{h}\right)x \cdot n(x) \quad (V.9)$$

L'equazione omogenea della (V.9) può essere integrata a variabili separate:

$$n(x) = A \cdot \exp\left[\frac{(f_1 + g_1)x^2}{2hv}\right]$$

dove  $A$  è una costante da determinare. Considerando poi la (V.9) è possibile dimostrare che una sua soluzione particolare è:

$$n_p(x) = \frac{f_1}{f_1 + g_1}$$

allora otteniamo:

$$n(x) = A \cdot \exp\left[\frac{(f_1 + g_1)x^2}{2hv}\right] + \frac{f_1}{f_1 + g_1} \quad (V.10)$$

• Per  $x > h$  si ha invece:

$$n(x) = 0$$

Ricaviamo adesso le costanti  $A$  e  $C$ , imponendo la continuità della soluzione nei punti di separazione dei tre intervalli. Dal fatto che  $n(h) = 0$  dalla (V.10) si ricava:

$$A = \frac{f_1}{f_1 + g_1} \exp\left[-\frac{(f_1 + g_1)h}{2v}\right]$$

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 55127 PISA  
Tel. 050/541069

Sostituito il valore di  $A$  nella (V.10), si ha:

$$n(x) = \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{(f_1 - g_1)(h^2 - x^2)}{2hv}\right] \right\} \quad (V.11)$$

Adesso si impone  $n(0^-) = n(0^+)$  e si ricava il valore di  $C$ :

$$C = \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{(f_1 + g_1)h}{2v}\right] \right\} \exp\left[\frac{g_2 x}{h}\right]$$

Sostituendo  $C$  nella (V.8) si ha:

$$n(x) = \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{(f_1 - g_1)h}{2v}\right] \right\} \exp\left(\frac{g_2 x}{h}\right) \quad (V.12)$$

Siano  $S$  la lunghezza del sarcomero e  $V$  la velocità di mezzo sarcomero (in contrazione), allora possiamo scrivere:  $v = S/2$ ; battezzando  $\phi = (f_1 + g_1)h/S$  possiamo riscrivere la (V.11) e la (V.12) nella forma conclusiva:

$$n(x) = \begin{cases} \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left[ 1 - e^{-\phi} \right] e^{(2g_2 x/S)} & \text{se } x < 0 \\ \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left[ 1 - e^{-(x^2 - h^2)\phi/h^2} \right] & \text{se } 0 \leq x \leq h \\ 0 & \text{se } x > h \end{cases} \quad (V.13)$$

Resta solo da ricavare i valori di  $f_1$ ,  $g_1$  e  $g_2$ . Huxley, uso le relazioni empiriche tensione-velocità e tensione-calore trovate da Hill.

### RELAZIONE TENSIONE-VELOCITÀ DI CONTRAZIONE

Riferiamoci alla tensione di un singolo ponte trasversale e poi generalizziamo. Dal meccanismo degli sliding-filaments è noto che la forza si genera grazie al moto prodotto dalle teste S-1 della miosina (figura V.26). Senza supporto sperimentale, Huxley ipotizzò allora che la relazione forza-allungamento fosse di tipo elastico:  $F = kx$ , ne deriva che se un ponte è legato ad  $x = -b$  e rimane legato fino a  $x = a$  libera un'energia pari a:

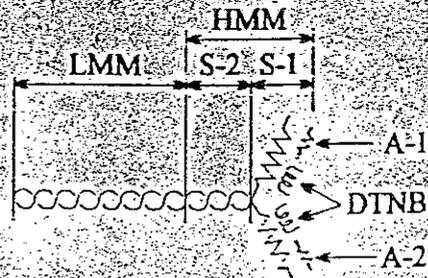


FIGURA V.26. Schema della struttura della miosina.

$$\int_0^h kx dx$$

(V.14)

Sia  $m$  il numero di ponti trasversali per unità di volume, allora in un volume di fibra muscolare di sezione  $A$  e lunghezza  $s/2$  (mezzo sarcomero) il numero di ponti trasversali risulta  $mAs/2$ . Supponiamo che i ponti siano spazati lungo la miosina di  $l$  con  $h/h$ , allora ogni ponte trasversale (spostandosi di  $l$ ) esegue un solo legame. Sia poi  $T$  la tensione per unità di superficie, il lavoro fatto dal carico in una contrazione lunga  $l$  è quindi  $TlA$ . Il lavoro compiuto dalla totalità dei ponti trasversali attivi è quello espresso dalla (V.14) moltiplicato per il numero dei ponti attivi  $n(x)mAs/2$ , ne segue:

$$TlA = \int_0^h \frac{1}{2} n(x) m A s k x dx$$

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

L'estremo superiore può essere esteso all'infinito in quanto oltre  $h$   $n(x)$  è nulla, mentre l'estremo inferiore deve essere esteso all'infinito in quanto  $n(x)$  siamo certi che sia nulla (nessun ponte trasversale legato) solo all'infinito. Integrando e ponendo  $w = kh^2/2$  si ricava:

$$T = \frac{msw}{2l} \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left\{ 1 - \frac{V}{\phi} (1 - e^{-\phi w}) \left[ 1 + \frac{1}{2} \left( \frac{f_1 + g_1}{g_2} \right)^2 \frac{V}{\phi} \right] \right\} \quad (V.15)$$

Nel caso particolare di contrazione isometrica ( $V=0$ ), la (V.15) si semplifica notevolmente, infatti, tutto il termine tra parentesi graffe si riduce all'unità.

### RELAZIONE ENERGIA-VELOCITÀ DI CONTRAZIONE

Per l'energia invece consideriamo il numero di volte al secondo che un sito scivola all'interno dello spazio di aggancio, esso è dato da  $v/l$ . Per quanto esprimono  $n(x)$  ed  $f(x)$ , la probabilità che un ponte, all'interno della zona d'aggancio, sia legato al tempo  $dt$  è  $[1-n(x)]f(x)dt$  e la probabilità che esso entri nell'intervallo di aggancio e si legni risulta  $(v/l)[1-n(x)]f(x)dt = (1/l)[1-n(x)]f(x)dx$  ( $v = dx/dt$ ). Avendo supposto che i legami avvengano nell'intervallo  $[0, h]$  (dal punto di vista temporale  $[0, h/v]$ ), il numero medio di volte al secondo che un ponte trasversale sia legato è:

$$\frac{v}{l} \int_0^h [1-n(x)]f(x) dx \quad (V.16)$$

Sotto l'ipotesi che ogni ponte trasversale legato porti a termine il suo ciclo (ogni aggancio comporta l'idrolisi di ATP), l'energia liberata per unità di volume vale:

$$E = \frac{mJ}{l} \int_0^h f(x)[1-n(x)] dx$$

*J: energia sviluppata nell'idrolisi dell'ATP*

dove  $m$  è il numero di ponti trasversali per unità di volume e  $J$  è la quantità di energia (Joule) sviluppata in un ciclo per durante la contrazione. L'estensione all'infinito degli estremi d'integrazione è giustificata dal fatto che  $f(x)$  è limitata all'intervallo  $[0, h]$ . Risolvendo si ottiene:

$$E = \frac{mJh}{2l} \frac{f_1}{f_1 + g_1} \left\{ g_1 + f_1 \frac{V}{\phi} (1 - e^{-\phi w}) \right\} \quad (V.17)$$

Nel caso di contrazione isometrica ( $V=0$ ), l'espressione si semplifica notevolmente, infatti, il termine in parentesi graffe si riduce a  $g_1$

$$E_o = \frac{mJh}{2l} \frac{f_1 g_1}{f_1 + g_1} \quad (V.18)$$

**Valori numerici delle costanti**

Per ottenere il valore delle costanti  $f_1, g_1, g_2, k, h, J$  dobbiamo ricondurci al modello di Hill e tenere presenti l'equazione della tensione (V.15) e quelle dell'energia (V.17), (V.18). Dobbiamo precisare che non è possibile ricavare tutte le costanti, troveremo i seguenti rapporti:  $g_2/(f_1+g_1), g_1/(f_1+g_1)$  e  $kh^2/2l$ ; quindi imponendone tre, si ricava le altre. Prendiamo come riferimento l'equazione (V.2):

$$\frac{a}{T_o} = \frac{b}{V_{max}} = \frac{1}{4} \quad (V.19)$$

Dalla (V.15), per  $T=0$ , si ricava  $V_{max}$ . Dal termine tra parentesi quadre della (V.15)

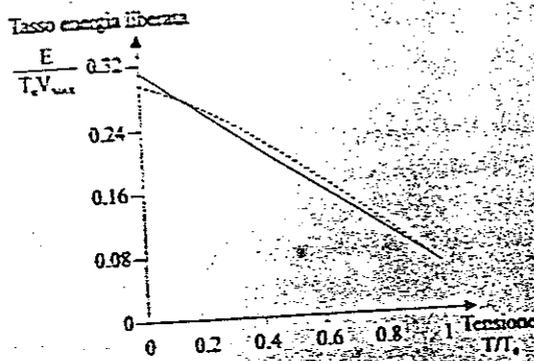


FIGURA V.28 Grafico del tasso di energia liberata in funzione della tensione.

$w/J = kh^2/2l = 3/4$  e  $g_1/(f_1+g_1) = 3/16$ . È possibile vedere l'errore del modello di Huxley rispetto a quello di Hill nella figura V.28.

Con i valori ora trovati abbiamo tracciato l'andamento di  $n(x)$  per diversi valori di  $V$ , inclusi quelli per  $V=0$  e  $V=V_{max}$  (figura V.29). Nel caso  $V=0$  vediamo che la probabilità che un ponte trasversale sia agganciato nell'intervallo  $[0, h]$  è uniforme (segue direttamente dalla (V.9) ponendo  $v=0$ ). Se  $V$  aumenta, il numero di ponti trasversali legati (area sotto la curva) diminuisce (lo sviluppo di forza diminuisce più velocemente) in quanto i ponti sono trasportati dalla regione positiva, verso quella negativa prima del distacco.

Se il termine  $dx/dt$  nella (V.7) è negativo, anziché positivo, il muscolo si allunga (si stirava). Da calcoli basati su questo modello, si ricava che la pendenza della relazione forza-velocità per piccoli valori di stiramento vale  $|f_1/g_1| = 4.33$ , il valore sperimentale trovato da Katz è circa 6; perciò possiamo concludere che il modello

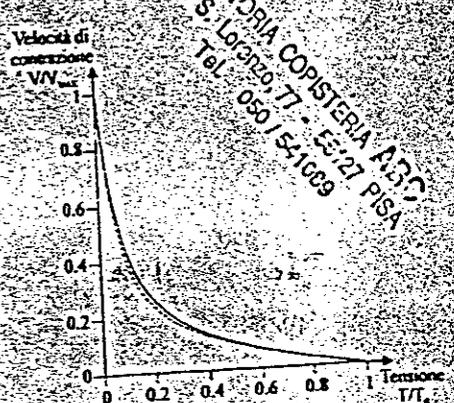


FIGURA V.27 Grafico della velocità di contrazione in funzione della tensione, tracciato in accordo con l'equazione di Hill e sotto le ipotesi dell'equazione (V.19)

costruiamo un metodo iterativo tra  $V/\phi$  e  $g_2/(f_1+g_1)$ ; si ricava che  $T=0$  se  $V/\phi = 4.0$  e  $g_2/(f_1+g_1) = 3.919$ . È possibile vedere l'errore del modello di Huxley rispetto a quello di Hill nella figura V.27. Dal modello di Hill, sappiamo che la costante proporzionale al calore di contrazione  $\alpha$  è molto vicina al valore di  $a$ ; quindi dalla (V.19) si ricava  $E_o/T_o V_{max} = 1/16$ . Inserendo nella (V.18) il

valore di  $V/\phi = 4.0$  si ricava  $E_o$ , quindi dalla definizione di  $\phi$  si ha

LEGATORIA COPISTERIA A337  
Via S. Lorenza, 77 - 53127 PISA  
Tel. 050/541069

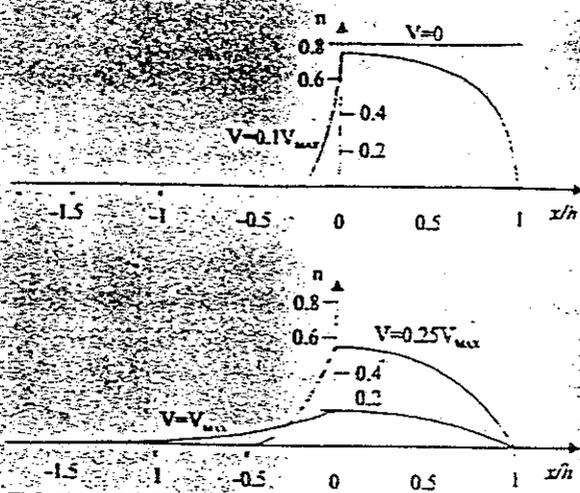


FIGURA V.29 Distribuzione dei ponti trasversali a varie velocità di contrazione.

trasversali legati scende, perché hanno meno tempo per stare nella regione d'aggancio; dall'altro lato la forza per ogni ponte trasversale aumenta, perché sono ancora legati all'estremità superiore ( $x=h$ ) della regione d'aggancio.

ricavato ha un buon comportamento per  $x=0$ . Se si considera il valore di forza per cui si ha lo sfibramento irreversibile del muscolo, si trova un valore asintotico:  $(1+f_1/g_1)T_0 = 5.33T_0$ . È molto più alto del valore  $1.8T_0$  trovato sperimentalmente sempre da Katz; questo risultato può essere qualitativamente valido se consideriamo che, nel modello, lo sfibramento è legato alla competizione di due fattori: da un lato, all'aumentare della velocità, il numero di ponti

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

## ENERGETICA DEL SISTEMA CONTRATTILE

### La produzione di calore nel muscolo

*IMPORTANZA DEL CALORE PRODOTTO NEL MUSCOLO*

*MODERATISSIME VARIAZIONI (0,002°C)*

Nello sviluppo dei modelli riguardanti la macchina contrattile un ruolo importante è stato svolto dal calore prodotto nel muscolo. Infatti grazie a questo calore è stato possibile avere un riscontro diretto sulla validità di teorie e modelli. Dobbiamo però precisare che non è stato facile avere misure accurate sulle variazioni di temperatura prodotte dalle singole contrazioni a causa delle loro modestissime entità 3 millesimi di grado. Solo nel 1949, Hill, svolgendo misure con termocoppie di precisione, riuscì a descrivere le varie fasi dello sviluppo di calore.

### CALORE A RIPOSO (RESTING HEAT).

È una conseguenza della vita, ed è comune a tutti gli organi. Se la fibra muscolare viene allungata senza che essa venga stimolata la produzione di calore e il consumo d'ossigeno aumentano notevolmente.

### CALORE INIZIALE (INITIAL HEAT).

È il calore che si produce all'inizio della contrazione ed è registrato solo durante il periodo in cui la macchina contrattile è attiva. Esso è legato al meccanismo di funzionamento della macchina stessa.

*FENOMENOLOGIA DEL CALORE INIZIALE*

Hill considerò che, dopo un periodo latente, lo stato attivo si sviluppa rapidamente (figura V.1); per giustificare questo affermava che il muscolo ha una rapida capacità di produrre forza uguale a quella tetanica dopo lo stiramento; che il muscolo ha uno sviluppo quasi istantaneo di velocità contrattiva (molto vicina a  $V_{max}$ ) se contratto con carico leggero; che la produzione di calore iniziale avviene 10-15 ms dopo lo stimolo, raggiunge il massimo prima che si sviluppi la tensione isometrica e scende con andamento irregolare simile alla tensione attiva  $T_0$ .

1 erg =  $10^{-7}$  J  
 1 dine =  $10^{-5}$  N

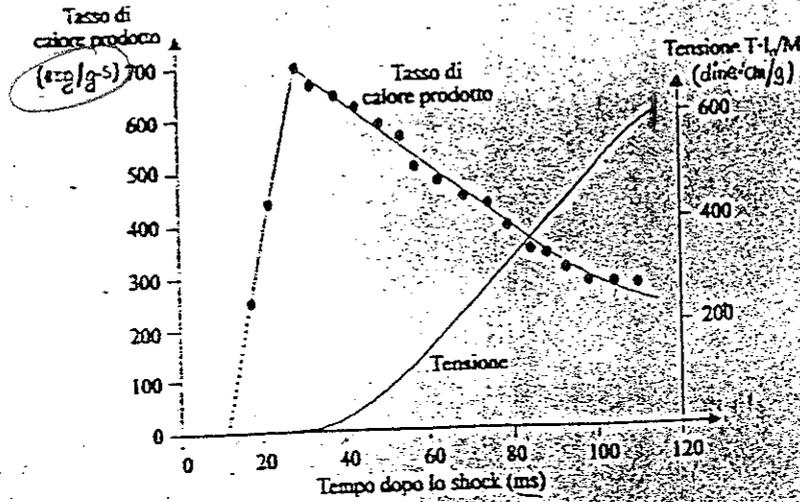


FIGURA V.17 Produzione di calore in una contrazione isometrica.

**Calore di ATTIVAZIONE (ACTIVATION HEAT).**

È il picco di calore che separa il calore iniziale da quello di recupero. Nella contrazione tetanica è prolungato, in quanto lo stato attivo è prolungato. Esso è legato proporzionalmente alla lunghezza e alla tensione  $T_0$  (figura V.17).

**Calore di RECUPERO (RECOVERY HEAT)**

Il calore di recupero è il calore prodotto durante la fase di recupero, dopo il massimo di tensione generata (figura V.17). Questo calore è legato strettamente al lavoro come il calore prodotto durante la contrazione. È possibile vedere in figura V.18 che il consumo di ossigeno è concorde con lo sviluppo di calore. Vedremo che uno dei combustibili principali del muscolo e la fosfocreatina (PCr), la quale segue l'andamento del calore di recupero

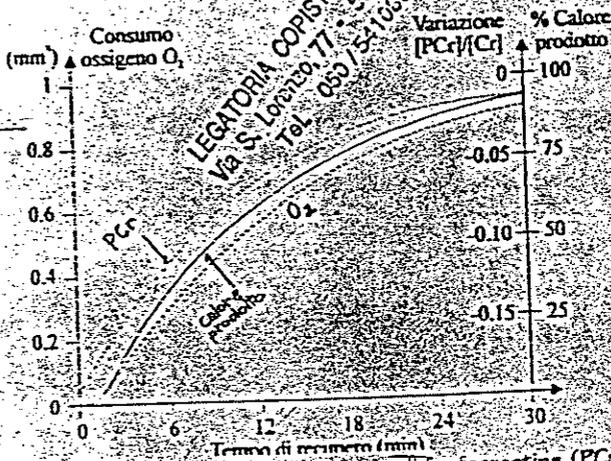


FIGURA V.18 Consumo di ossigeno e di fosfocreatina (PCr) e produzione di calore totale in funzione del tempo di recupero.

**Calore di CONTRAZIONE (SHORTENING HEAT)**

Nel 1924, Fenn dimostrò che un muscolo che compie lavoro (contrazione non isometrica) sviluppa più calore di quando si contrae isometricamente. Questo surplus di calore è detto calore di contrazione, mentre il fenomeno prende il nome

3 SERBATOI DI ENERGIA:  
 • ATP  
 • PCr  
 • GLUCOSIO

IL MUSCOLO CONSUMA PCr E O<sub>2</sub>

EFFETTO FENN: SURPLUS DI CALORE

LEGATORIA COPISTERIA A.D.C.  
 Via S. Lorenzo 71 - 00177 PISA  
 Tel. 050/541089

di effetto Fenn (figura V.19). Fenn stimolava tetanicamente un preparato muscolare mantenuto in condizioni isometriche e misurava la produzione di calore; il preparato muscolare veniva poi lasciato libero di contrarsi contro un carico leggero fino all'equilibrio, mentre Fenn misurava nuovamente la produzione di calore. Sulla base di tali misure Fenn definiva calore di contrazione come la differenza le due produzioni di calore.

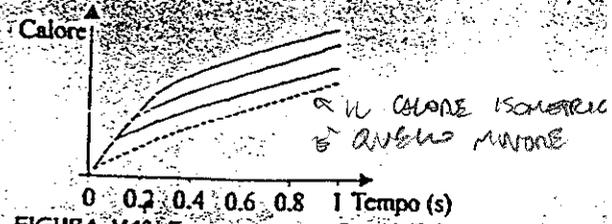


FIGURA V.19: Espressione grafica dell'effetto Fenn. La curva tratteggiata è il calore per una contrazione isometrica, le altre sono quelle per contrazioni isotoniche.

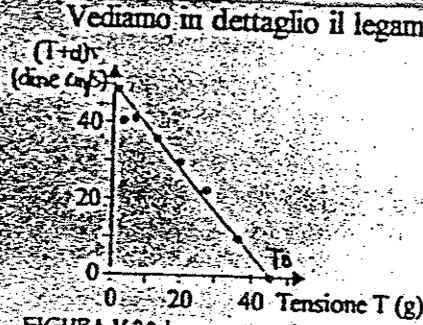


FIGURA V.20 Legame tra la tensione T e il termine  $(T+\alpha)v$  dell'equazione (V.4). Tale legame è anche il legame che intercorre tra tensione e tasso di calore liberato.

Vediamo in dettaglio il legame tra tensione e tasso di calore sviluppato, considerando le relazioni di Hill (figura V.20). Sia  $\alpha$  la costante empirica dovuta alla costante termica del calore di contrazione, allora l'energia liberata per una contrazione di ampiezza  $-\Delta x$  vale  $-E=(T+\alpha)\Delta x$  e la velocità con la quale l'energia è liberata  $dE/dt=(T+\alpha)v$  (dove  $-dx/dt=v$ ). Il tasso di energia allora risulta linearmente decrescente con T e intercetta l'asse di forza alla tensione isometrica, di conseguenza si ottiene:

$$(T+\alpha) \cdot v = (T_0 - T) \cdot b$$

Aggiungendo ad ambo i membri  $\alpha b$  si ricava un'equazione analoga a quella del modello di Hill (V.2).

$$(T+\alpha) \cdot (v+b) = (T_0 + \alpha) \cdot b \tag{V.4}$$

Sperimentalmente si ricava che il valore di  $\alpha$  dell'equazione (V.2) e quello di  $\alpha$  sono molto vicini. Questa equazione ci sarà utile direttamente nel calcolo di alcuni valori numerici del modello di Huxley.

GUARDA APPUNT

LEGATORIA COPISTERIA ABC  
Via S. Lorenzo, 77 - 56127 PISA  
Tel. 050/541089

**Calore d'allungamento (LENGTHENING HEAT)**

È il calore che si produce durante l'allungamento del muscolo (contrazione a velocità negativa) rispetto alla contrazione isometrica (figura V.21). In altre parole si ha l'estensione dell'effetto Fenn in contrazione negativa. In questo caso la quantità di calore liberata in allungamento è minore del calore prodotto in contrazione isometrica, ed il deficit è proporzionale allo stiramento. Numericamente si trova che  $\alpha$  di allungamento è sei volte più grande della  $\alpha$  di contrazione (qualcuno l'ha definito meccanismo refrigeratore).

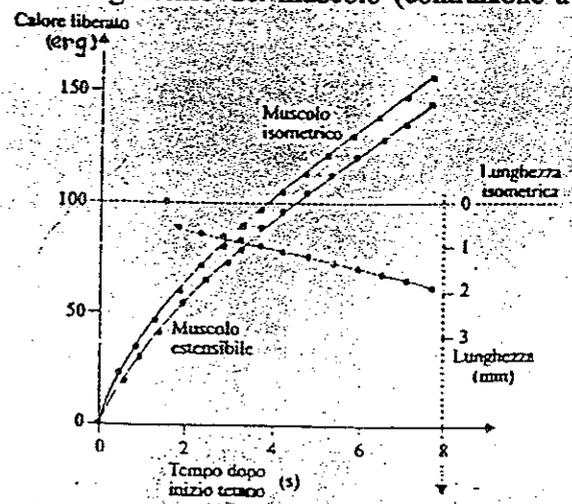


FIGURA V.21 Grafico del calore prodotto durante l'allungamento e della variazione di lunghezza. Nella figura si confronta l'allungamento isometrico e libero.

## Utilizzazione ed apporto di energia

La contrazione muscolare richiede un apporto costante di ATP ad un ritmo commisurato al consumo, tuttavia, mentre la produzione di calore può essere misurata in modo accurato, risulta piuttosto difficile misurare i consumi energetici da parte del sistema contrattile. Il calore liberato rispecchia l'utilizzazione della ATP in base alle assunzioni che concernono l'energia totale liberata durante l'idrolisi dell'ATP e l'efficienza della sua conversione in energia meccanica.

Il muscolo ha un consumo di ATP, o metabolismo, legato alle attività cellulari di base quali il mantenimento dei gradienti ionici e la sintesi e la demolizione dei costituenti cellulari. I muscoli sono tuttavia atipici, in quanto questo metabolismo di riposo rappresenta solo una piccola frazione della massima capacità di utilizzare ATP che si osserva nel corso della contrazione. Le richieste energetiche per la produzione dei potenziali di azione e la liberazione di ioni calcio nell'endoplasma sono anch'esse comparativamente piccole. Gran parte del consumo energetico è dovuto ai meccanismi di contrazione e rilassamento. Infatti, durante la contrazione, ciascun ponte trasversale richiede una molecola di ATP per effettuare un ciclo completo, mentre durante il rilassamento, le pompe attive del reticolo sarcoplasmatico sfruttano una cospicua quantità di ATP per riportare il calcio nelle sacche intracellulari del reticolo stesso.

## Produzione di ATP e attività muscolare

La fonte di energia direttamente utilizzabile dal muscolo è l'ATP, essa tuttavia è contenuta nel muscolo in quantità veramente esigue, poiché, in condizioni di vita normale, tale quantità permette solo 8 twitches. Ciò fa capire che in un muscolo devono essere presenti fonti alternative di energia che permettono di riprodurre l'ATP consumata. Infatti, non appena il livello di ATP tende ad abbassarsi si attiva l'enzima fosfochinasi, il quale trasforma la fosfocreatina (PCr) in ATP e creatina (Cr).

Questo processo è chiamato *fosforilazione diretta* poiché la fosfochinasi usa direttamente l'ADP e i gruppi fosfati della fosfocreatina per riprodurre ATP (figura V.22a). La fosforilazione diretta è una reazione estremamente rapida con una costante superiore a 20 che consente l'attivazione anche per minime variazioni nella concentrazione di ATP. Conferma di questo meccanismo è il grafico che esprime il consumo di fosfocreatina in relazione al calore prodotto e

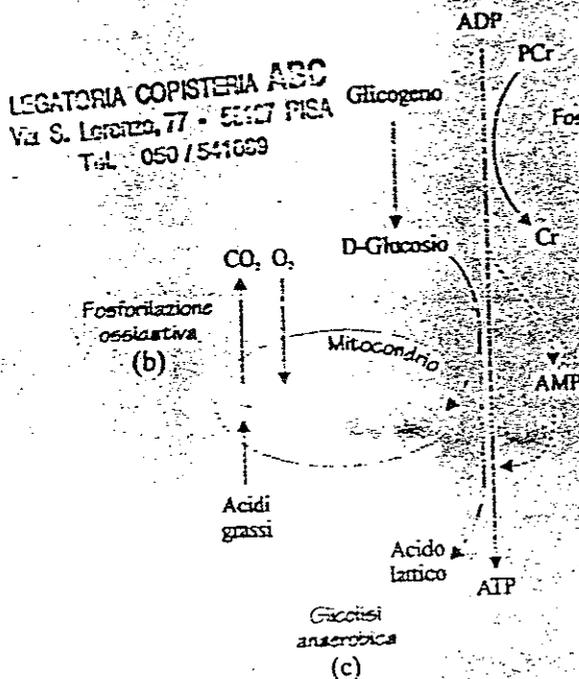


FIGURA V.22 Schema complessivo dei tre meccanismi di produzione di ATP. (a) Fosforilazione diretta. (b) Glicolisi anaerobica. (c) Fosforilazione ossidativa o glicolisi aerobica.

al lavoro svolto (figura V.18); inoltre misure della entalpia hanno dimostrato che questa cambia proporzionalmente con la separazione della fosfocreatina e quindi possiamo concludere che il calore iniziale è legato al calore prodotto dalla reazione vista.

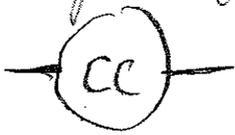
La fosforilazione diretta è comunque un sistema tampone per mantenere i normali livelli di ATP, poiché la quantità di fosfocreatina presente nel muscolo (circa 20 mM) è necessaria per circa cento twitches. Infatti la principale fonte di energia per i muscoli molto attivi è la *fosforilazione ossidativa* degli acidi grassi o *glicolisi aerobica* (figura V.22c). Questa fosforilazione non solo è efficace (36 moli di ATP per ogni mole di glucosio), ma può essere continuamente in atto purché vi sia un'adeguata circolazione sanguigna capace di fornire l'ossigeno sufficiente ai mitocondri, diretti responsabili dello svolgimento della reazione di ossidazione. Conferma di questo meccanismo è lo andamento crescente del grafico di figura V.18 nel quale è espresso il consumo di ossigeno in relazione al calore prodotto e al lavoro svolto. A questi processi di fosforilazione ossidativa si associano anche i processi di ripristino della fosfocreatina e la produzione del calore di recupero.

Nonostante la grande efficienza chimica, il processo di fosforilazione ossidativa è molto lento e risulta efficace se l'attività muscolare è moderata, invece quando l'attività diventa intensa, le capacità di consumo di ATP superano di gran lunga quelle fornite da questa fosforilazione. Si attiva dunque un ulteriore processo di produzione di ATP chiamato *glicolisi anaerobica* (figura V.22b). Questa reazione è attivata dalla concentrazione di ADP, ma in particolare di AMP (Adesin Mono Fosfato) prodotta da una reazione associata alla fosforilazione diretta, per mezzo dell'enzima *adenilatochinasi* che trasferisce un gruppo fosfato da una molecola di ADP ad un'altra di ADP producendo la AMP. La glicolisi anaerobica soddisfa con facilità le richieste di ATP in quanto è una reazione rapida, tuttavia, se paragonato alla fosforilazione ossidativa è un meccanismo inefficiente, poiché vengono prodotte 2-3 moli di ATP per ogni mole di glucosio; resta comunque un importante fonte di ATP nei muscoli molto veloci o in tutte quelle situazioni di attività muscolare intensa o in scarsa presenza di ossigeno. La glicolisi anaerobica trasforma il glucosio in acido lattico invece che in biossido di carbonio come nella fosforilazione ossidativa e ciò attiva una serie di meccanismi di "protezione da superaffaticamento", i quali fanno decrescere la tensione tetanica e rallentano il processo di recupero del muscolo. Questi effetti vengono normalmente descritti con il termine *fatica muscolare* e sono generalmente accompagnati da dolore nelle contrazioni successive. Il ripristino della fosfocreatina avviene secondo le normali reazioni associate alla fosforilazione ossidativa, mentre lo smaltimento dell'acido lattico avviene attraverso un processo molto lento (spesso servono ore o anche giorni) svolto dai mitocondri con reazioni ossidative.

#### Termoelasticità del muscolo

Il raffreddamento dei muscoli distesi può essere parzialmente spiegato come un effetto termoelastico. Molti solidi tra cui anche i metalli si espandono quando sono riscaldati per poi raffreddarsi leggermente quando si sono distesi: in essi gli atomi sono legati in strutture cristalline e l'energia interna del solido dipende perciò soprattutto dalle energie d'interazione tra atomi adiacenti. Essi vibrano intorno alle loro posizioni di equilibrio e, ad alte temperature, raggiungono più grandi distanze interatomiche: questo comportamento è stato definito di "normale termoelasticità". Al contrario una striscia di gomma allungata si riscalda dimostrando che il moto degli atomi nelle lunghe molecole raggomitolate è divenuto più limitato quando la gomma viene stirata; l'aumento di temperatura ne è una diretta conseguenza. In questo caso si parla di "termoelasticità gommosa". Il muscolo a riposo mostra proprietà termoelastiche di tipo gommoso per piccoli stretch, ed una termoelasticità "normale" se molto disteso. Il muscolo attivo invece ha una termoelasticità "normale" qualunque sia la sua contrazione per cui si raffredda un po' al crescere della tensione.

investiga nella



↑

Tratta solo il generatore  
di forza (CC). Può essere usato in Hill  
dopo l'ammisione del (cristall  
meccanismo degli  
sliding filaments

## IL MODELLO DI HUXLEY

A. F. Huxley condusse numerosi esperimenti, quelli che però riuscirono a concretizzare il tipo di attività tra i filamenti sono stati quelli compiuti con Gordon e Julian (1966). Essi ricavarono un grafico analogo a quello di figura V.23. Da tale grafico risulta che la tensione isometrica sviluppata è direttamente proporzionale all'estensione della sovrapposizione tra i filamenti (zona di overlap) e al numero di ponti trasversali attivi (assumendo la loro distribuzione uniforme). Questo risultato è in accordo con i valori numerici conosciuti per le lunghezze (1.98  $\mu\text{m}$  per i filamenti sottili complessivamente; 1.67  $\mu\text{m}$  per il filamento spesso; 3.65  $\mu\text{m}$  per il sarcomero, in assenza di contrazione). Dagli stessi esperimenti emerse inoltre che la contrazione a vuoto (senza carico) era indipendente dal grado di sovrapposizione (confermato da Edman nel 1978).

Questi risultati permettono di concludere che:

- I ponti trasversali sono generatori indipendenti di forza che lavorano in parallelo, quindi un maggior numero contemporaneo di ponti trasversali attivi non aumenta la velocità di contrazione, ma lo sviluppo di tensione.
- Per lavorare in parallelo, ognuno di essi deve possedere un meccanismo di funzionamento individuale.
- Per la contrazione sono necessari più passi. Infatti il movimento libero di un ponte trasversale può essere ampio al massimo una frazione di 0.2  $\mu\text{m}$  (ogni mezzo sarcomero può eccedere di 0.5  $\mu\text{m}$  e la miosina è lunga solo 0.2  $\mu\text{m}$ ).
- Ogni ponte trasversale lavora con un ciclo che ripete ad ogni passo: aggancio, sviluppo di forza, distacco.

Per formulare il modello, Huxley parte dalle conoscenze acquisite fino ad allora:

- In regime di contrazione la relazione tra forza e velocità deve essere data dall'equazione empirica di Hill.
- Per velocità nulla deve esistere una discontinuità della pendenza nella relazione forza-velocità.
- Il muscolo si stirava irreversibilmente se il carico supera  $1.8T_0$ .
- L'osservazione di Hill dell'effetto Fenn dà una relazione lineare tra il tasso di energia liberata e la forza sviluppata.
- La contrazione muscolare è basata sul meccanismo degli sliding-filaments, perché:
  - \* La larghezza della banda A non cambia, né in contrazione, né in rilassamento.
  - \* La banda A scompare se la miosina viene eliminata.
  - \* I filamenti di actina rimangono intatti quando la miosina viene eliminata: essi iniziano al disco Z, corrono nella banda I, entrano nella banda A e si fermano prima di raggiungere la zona H; la banda I è occupata interamente da actina e la zona H solo da miosina.
  - \* La liberazione di energia deve essere basata sul meccanismo di idrolisi dell'ATP.

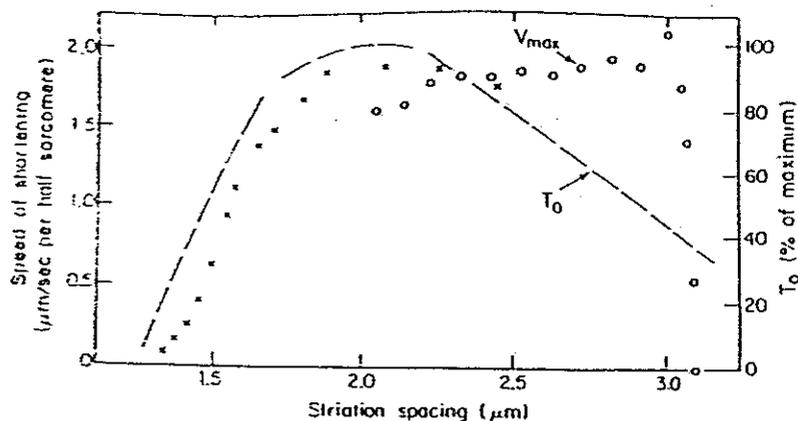


Fig.V.23 Speed of shortening against a light load is found to be approximately independent of length in frog twitch muscle (circles). This stands in sharp contrast to the isometric tetanic force  $T_0$  (broken line), which declines linearly as the sarcomere is stretched to lengths above 2.2  $\mu\text{m}$ . The speed was measured from the slope of the length record as the muscle contracted freely. In another experiment, at lengths below the maximum of the  $T_0$  curve, shortening speed diminished in parallel with  $T_0$  (crosses). From A. F. Huxley and Julian (1964).

NOTA CHE STAMO PASSATI DA UN GRAFICO TENSIONE / ALLUNG. MUSCOLO INTERO AD UNO TENSIONE ALLUNG. SARCOMERO

Questi risultati permettono di concludere che:

- I ponti trasversali sono generatori indipendenti di forza che lavorano in parallelo, quindi un maggior numero contemporaneo di ponti trasversali attivi non aumenta la velocità di contrazione, ma lo sviluppo di tensione.
- Per lavorare in parallelo, ognuno di essi deve possedere un meccanismo di funzionamento individuale.
- Per la contrazione sono necessari più passi. Infatti il movimento libero di un ponte trasversale può essere ampio al massimo una frazione di 0.2  $\mu\text{m}$  (ogni mezzo sarcomero può eccedere di 0.5  $\mu\text{m}$  e la miosina è lunga solo 0.2  $\mu\text{m}$ ).
- Ogni ponte trasversale lavora con un ciclo che ripete ad ogni passo: aggancio, sviluppo di forza, distacco.

Per formulare il modello, Huxley parte dalle conoscenze acquisite fino ad allora:

- In regime di contrazione la relazione tra forza e velocità deve essere data dall'equazione empirica di Hill.
- Per velocità nulla deve esistere una discontinuità della pendenza nella relazione forza-velocità.
- Il muscolo si stirava irreversibilmente se il carico supera  $1.8T_0$ .
- L'osservazione di Hill dell'effetto Fenn dà una relazione lineare tra il tasso di energia liberata e la forza sviluppata.
- La contrazione muscolare è basata sul meccanismo degli sliding-filaments, perché:
  - \* La larghezza della banda A non cambia, né in contrazione, né in rilassamento.
  - \* La banda A scompare se la miosina viene eliminata.
  - \* I filamenti di actina rimangono intatti quando la miosina viene eliminata: essi iniziano al disco Z, corrono nella banda I, entrano nella banda A e si fermano prima di raggiungere la zona H; la banda I è occupata interamente da actina e la zona H solo da miosina.
  - \* La liberazione di energia deve essere basata sul meccanismo di idrolisi dell'ATP.

### Revisione della Teoria di produzione del calore: Hill 1964

Un importante risultato presentato da Hill nel 1983 mostrava la conclusione che la costante termica legata al calore di contrazione,  $\alpha$ , era indipendente dal carico dalla velocità di contrazione e dal lavoro fatto in una contrazione. Nel 1964, Hill riesaminò il tutto in base ai risultati sperimentali contrastanti ottenuti in quegli anni, e concluse che  $\alpha$  era in realtà dipendente dalla velocità di contrazione o equivalentemente dalla tensione muscolare, egli ricavò, dal fitting dei dati, il seguente risultato empirico:

$$(4.41) \quad \frac{\alpha}{T_0} = 0.16 + 0.18 \frac{T}{T_0}$$

Una importante conseguenza di tale risultato è mostrato in figura 4.7 ove si osserva che vi è un massimo nella energia liberata per  $0,4 V_{max} \leq V \leq 0,6 V_{max}$ . Una cinetica del primo ordine, quale quella ipotizzata da Fluxley non poteva in nessun modo descrivere un risultato di tal tipo.

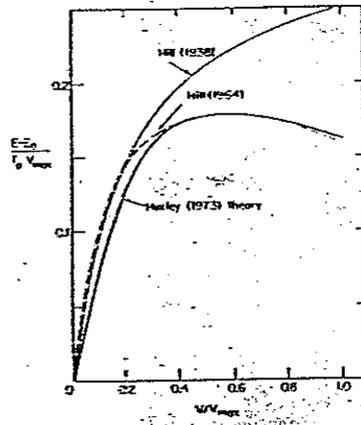


Fig. 4.7. Total rate of energy release,  $\dot{E} = E_0(1 - x)/T_0$ , as a function of velocity. Upper solid line shows Hill's 1957 model  $\dot{E} = E_0 - (E_0 + \alpha V^2)/(V + B)$  with  $\alpha/T_0 = 1/4$ . Broken line shows  $\dot{E} = E_0$  with Hill's 1964 model for the damping heat coefficient (4.41). Prediction from the Huxley 1973 theory, eq. (4.52), shown for the lower line, and also compared with Hill's 1964 measurements. From A. F. Huxley (1975).

Teoria dell' aggancio reversibile {Huxley 1973}. Secondo il modello di Huxley del 1957 la velocità di produzione del calore doveva aumentare con la velocità di allungamento, anziché diminuire, poichè la velocità dei cicli del crossbridge aumentava con la velocità di allungamento.

Per risolvere tale incongruenza con i dati sperimentali Huxley fece un' ipotesi supplementare, ovvero che per grandi valori di  $x$  i crossbridges completino il ciclo senza rilascio di ATP. Nel 1973 egli presentò le conseguenze di tale ipotesi sulla quantità di energia rilasciata in regime di accorciamento. Il modello di Fluxley del 1973 si basa, quindi, solo su considerazioni energetiche e non si preoccupa di ricalcolare le tensioni, in esso viene modificata la struttura del processo di aggancio, che può avvenire in due modi e viene introdotta una nuova variabile spaziale  $d$ .

STAN

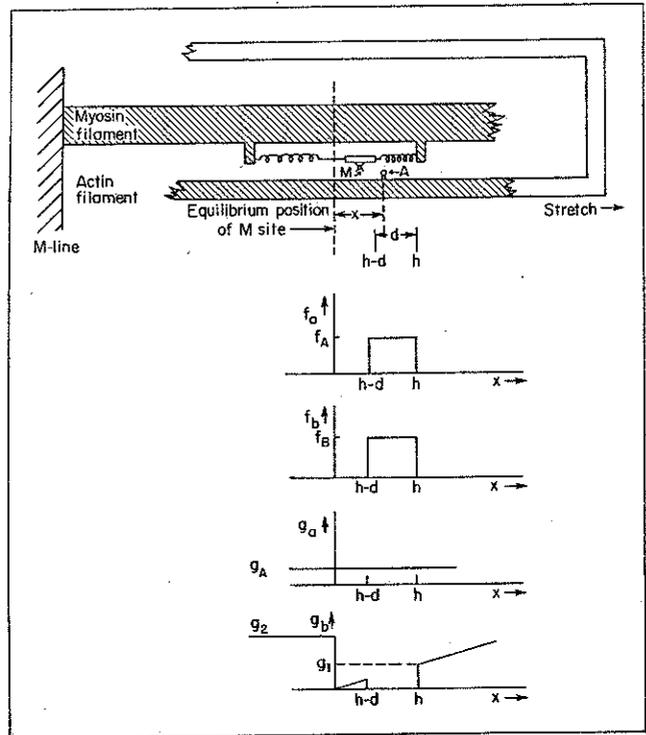


Fig. 4.8. Modification of the 1957 model to allow two-stage attachment. Bridges may attach only within the limited range  $d$ . Once attached in the first stage, they make a transition to a second stage. Detachment may occur from the first stage with no ATP splitting, under kinetics determined by the uniform rate constant  $g_A$ . Detachment from the second stage follows the same rules as the 1957 model, with the exception of the range  $d$ , where detachment is neglected.

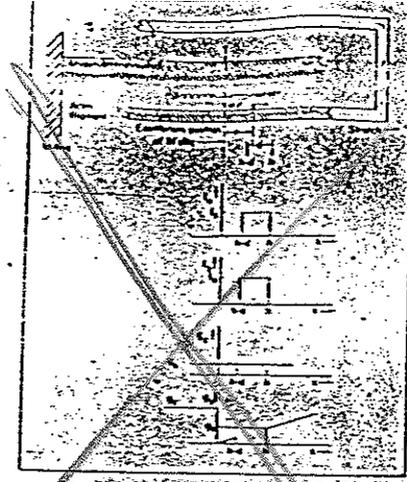


Fig. 4.1. Modification of the 1957 model to allow two-stage attachment. Bridges may attach only within the limited range  $d$ . Once attached in the first stage, they make a transition to a second stage. Detachment may occur from the first stage with an ATP splitting, under kinetic control, by the uniform rate constant  $g_a$ . Detachment from the second stage follows the same rules as the 1957 model, with the exception of the range  $d$ , where detachment is neglected.

L' attacco di tipo **A** può avvenire solo nell' intervallo  $h-d \leq x \leq h$ , ma il distacco, che avviene senza rilascio di ATP, può avvenire con elevata probabilità  $g_a$  uniformemente per ogni  $x$ . In uno stato attaccato di tipo **A** un crossbridge può subire una transizione verso un legame di tipo **B**, prima che si abbia sviluppo di forza. La transizione all' attacco di tipo **B** è anch' essa limitata all' intervallo  $h-d \leq x \leq h$ . La possibilità di distacco da un attacco di tipo **B** all' interno di tale range è considerata trascurabile; i restanti dettagli sullo sviluppo di forza, lo splitting dell' ATP ed il distacco da un attacco **B** vengono ripresi dal modello di Huxley del 1957.

Dalle assunzioni precedenti l' attacco di tipo **A** sarà descritto (nel range  $d$  attacco) da:

$$(4.42) \quad \frac{dn_a}{dt} = (1 - n_a - n_b) f_a - n_a (f_b + g_a)$$

dove  $n_a$  e  $n_b$  sono le frazioni di ponti presenti nella distanza  $x$  che sono nello stadio d' attacco **A** e **B**, rispettivamente.

La transizione ad un attacco di tipo **B** sarà descritta da:

$$(4.43) \quad \frac{dn_b}{dt} = n_a f_b - n_b g_b$$

Poichè Huxley vuole solo fare delle considerazioni energetiche, egli risolve tali relazioni nella zona d' attacco in cui  $g_b = \phi$ ; con tale posizione, ricavando  $n_a$  e  $\frac{dn_b}{dt}$  da (4.43) e sostituendo in (4.42) si giunge ad un' equazione del secondo ordine in  $n_b$ .

$$(4.44) \quad \frac{d^2 n_b}{dt^2} + (f_a + f_b + g_a) \frac{dn_b}{dt} + f_a f_b n_b = f_a f_b$$

Osservare che il tempo è equivalente alla distanza in questo problema. Il processo di aggancio inizia a  $t = 0$  ( $x = h$ ) e termina quando  $x = h - d$  ( $t = d/v$ ). Con le condizioni iniziali  $n_a = \phi = n_b$  per  $t = \phi$  la (4.44) da come soluzione.

$$(4.45) \quad n_b = 1 - \frac{\mu_1 e^{-\mu_2 t} - \mu_2 e^{-\mu_1 t}}{\mu_1 - \mu_2}$$

dove

$$2\mu_1 = f_a + f_b + g_a + [(f_a + f_b + g_a)^2 - 4f_a f_b]^{1/2}$$

$$2\mu_2 = f_a + f_b + g_a - [(f_a + f_b + g_a)^2 - 4f_a f_b]^{1/2}$$

Ponendo nella (4.45) il valore di fine-corsa  $t = \frac{d}{v}$  si ottiene la frazione massima di crossbridges agganciata in modo B per unità di volume

(4.47)

$$M_b\left(\frac{d}{v}\right) = N_b = 1 - \frac{\mu_2 e^{-\frac{\mu_2 d}{v}} - \mu_1 e^{-\frac{\mu_1 d}{v}}}{\mu_1 - \mu_2}$$

La frequenza con la quale il sito di actina entra nel range ( $x \leq h$ ) dei crossbridge di miosina è  $\frac{v}{\ell}$ . Poiché  $N_b$  è la frazione massima agganciata in modo B, la produzione di energia legata allo splitting dell' ATP per unità di volume risulta:

(4.48)

$$R = AN_b \frac{v}{\ell} = \frac{Av}{\ell} \left[ 1 - \frac{\mu_2 e^{-\frac{\mu_2 d}{v}} - \mu_1 e^{-\frac{\mu_1 d}{v}}}{\mu_1 - \mu_2} \right]$$

dove A è una costante di proporzionalità legata al volume del muscolo, al numero di crossbridges per unità di volume, all' energia liberata per ciclo dal crossbridge.

Huxley fece le seguenti scelte per le funzioni di attivazione e deattivazione nel range d' attacco:

(4.49a)  $f_a = f_b = \frac{v_{max}}{d}$

(4.49b)  $g_a = \frac{v_{max}}{2d}$

da cui  $\mu_1 = 2 \frac{v_{max}}{d}$

$\mu_2 = \frac{v_{max}}{2d}$

ed infine

(4.51)  $R = B \frac{v}{v_{max}} \left[ \frac{3}{2} - 2e^{-\frac{v_{max}}{2v}} + \frac{1}{2} e^{-\frac{2v_{max}}{v}} \right]$

con

$B = \frac{2A}{3v_{max}\ell}$

Per avere un andamento concorde con i dati di Hill nelle vicinanze del massimo di figura 4.7 Huxley pose  $B = 0.46$ .