

A background image showing a microscopic view of plant cells, likely from a leaf, with clear cell walls and some internal structures. The image is in shades of blue and cyan. A solid teal rectangle is overlaid on the left side of the image, containing the title and author information.

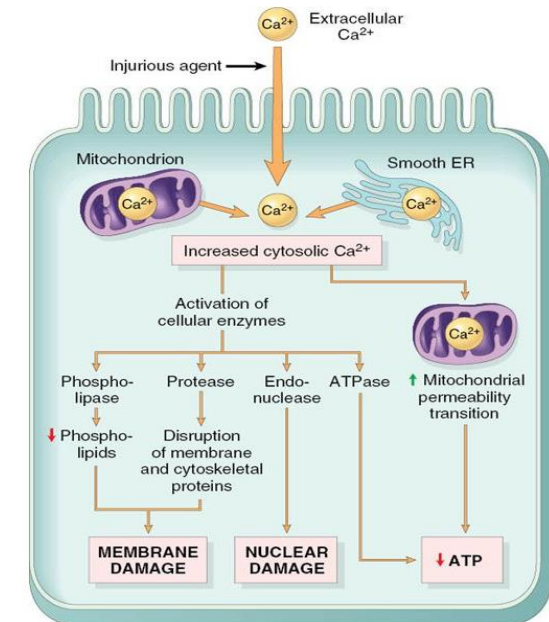
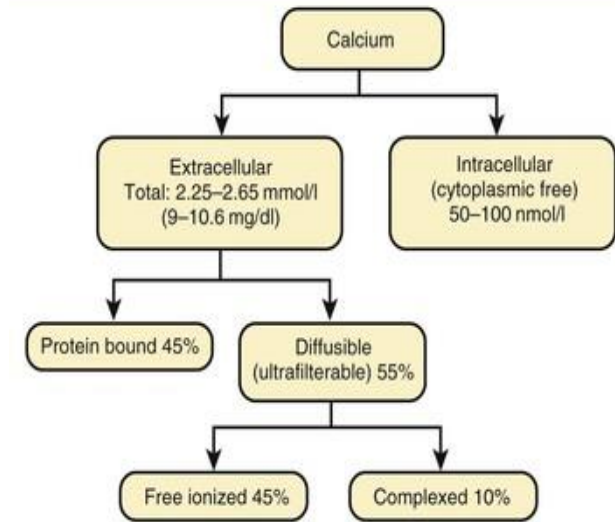
# Fisio-farmacologia del calcio

Dott. Carmine Merola, DVM, PhD student

# Distribuzione del calcio

- 99% del calcio sequestrato nelle ossa sottoforma di idrossiapatite
- 1% diviso tra fluido extracellulare (ECF) e calcio intracellulare
- Nel fluido extracellulare tre forme: calcio ionizzato libero (55%); calcio complessato o chelato (10%) (a fosfati, bicarbonati e solfati) e calcio legato alle proteine (35%)
- Calcio intracellulare: livelli estremamente bassi (10.000 volte meno dell'ECF dove viene rapidamente tamponato dalle proteine del citosol calbindina, calmodulina, troponina C) oppure successivamente sequestrato negli organuli cellulari (mitocondri e reticolo endoplasmatico ruvido)

## Distribution of Calcium in Extracellular and Intracellular Spaces



# Regolazione del calcio extracellulare

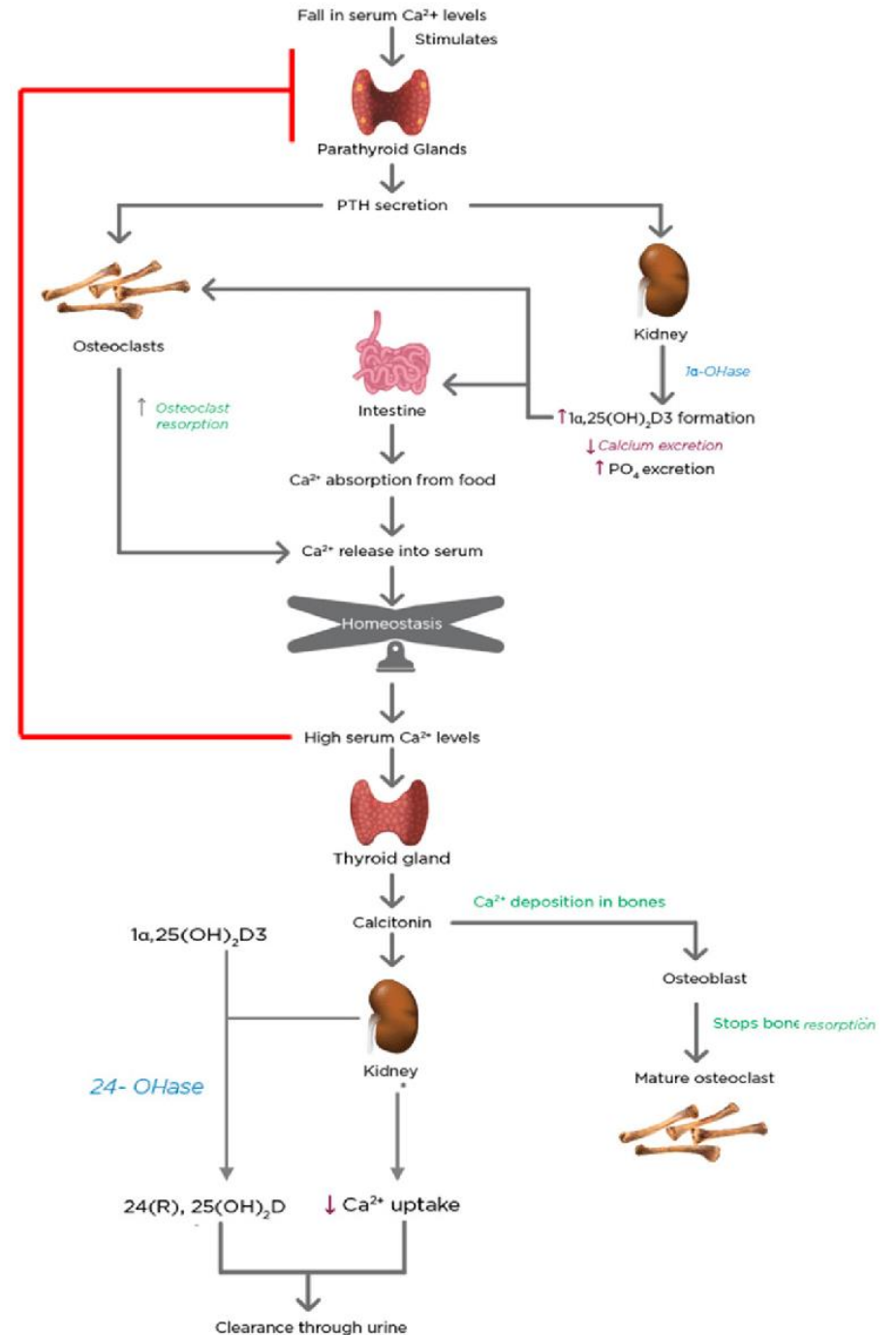
I principali regolatori dell'omeostasi del  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare sono:

1. l'ormone paratiroideo (PTH) [controllo minuto per minuto],
2. il calcitriolo ( $1,25$ -diidrossivitamina  $\text{D}_3$ ) [controllo giorno per giorno]
3. la calcitonina.

I principali organi bersaglio sono:

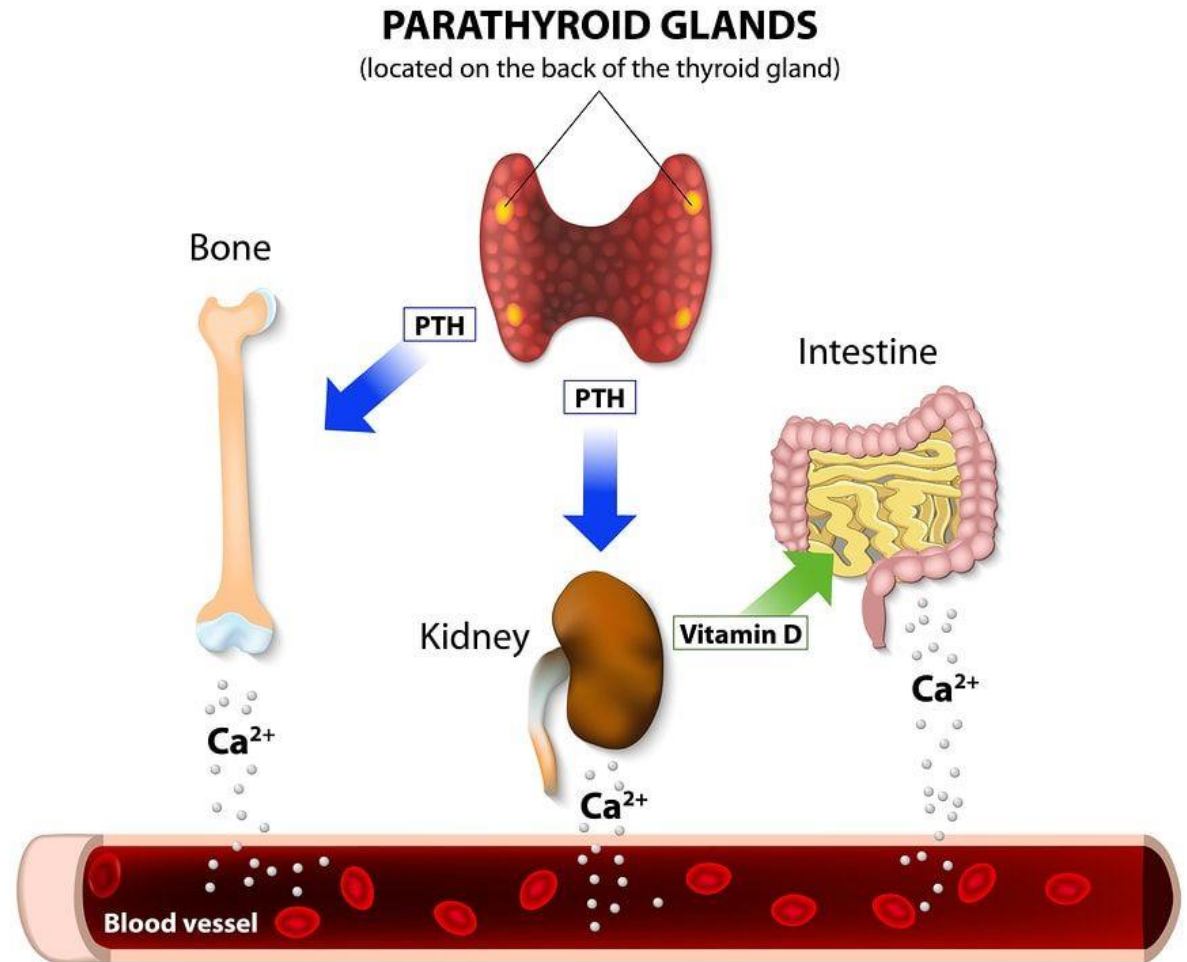
l'intestino, i reni e l'osso, con una captazione uguale all'escrezione (attraverso le urine e le feci). Negli animali sani, i reni riassorbono più del 98% del  $\text{Ca}^{2+}$  filtrato non legato alle proteine.

Per la regolazione a livello osseo sono importanti gli osteoblasti (per la regolazione rapida) e gli osteoclasti (per il rilascio prolungato di  $\text{Ca}^{2+}$ ).



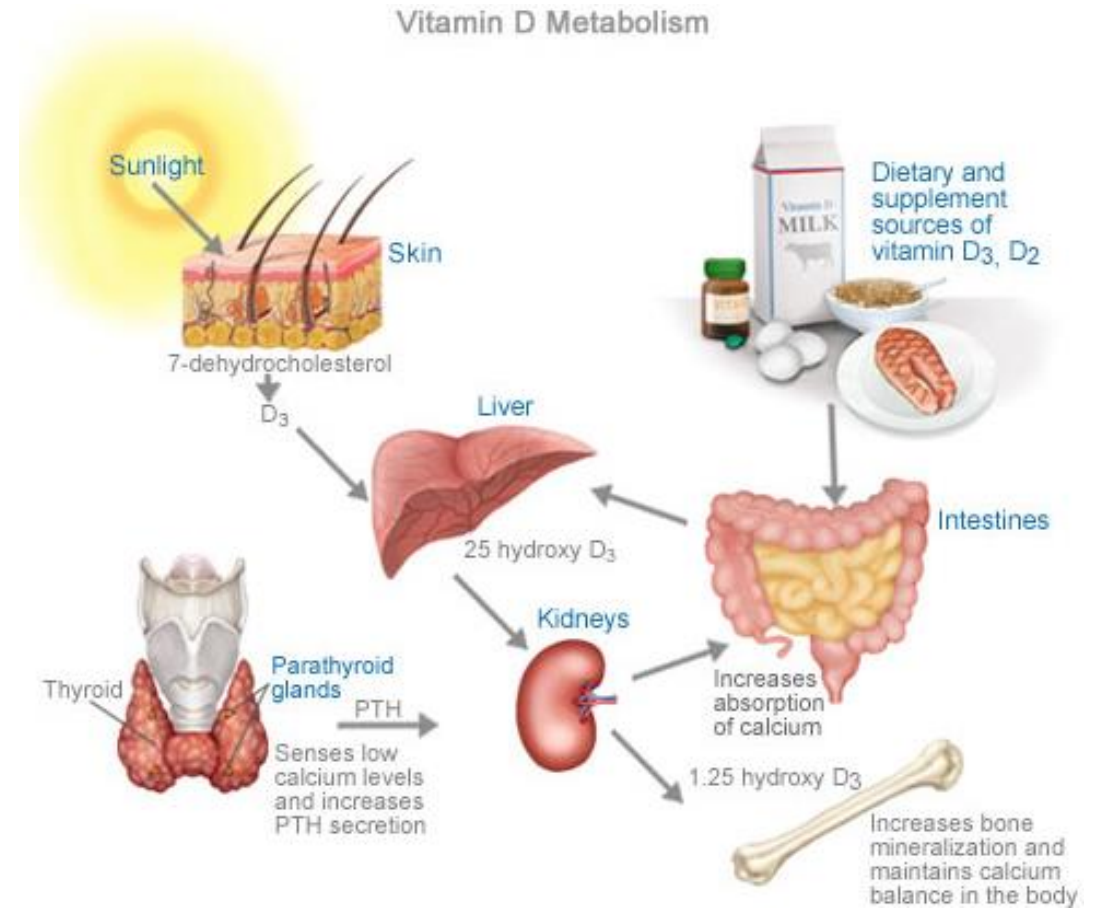
## Paratormone (PTH):

- Sintetizzato e secreto dalle ghiandole paratiroidi, ha una breve emivita nel siero (3-5 minuti) ed è strettamente regolato dal calcitriolo (effetto negativo) e dal  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulare
- Il principale effetto del paratormone è quello di **aumentare la concentrazione ematica di  $\text{Ca}^{2+}$  attraverso:**
  - a) l'incremento del riassorbimento tubulare del  $\text{Ca}^{2+}$ ,
  - b) l'incremento del riassorbimento di  $\text{Ca}^{2+}$  dall'osso e l'aumento del numero degli osteoclasti e
  - c) indirettamente, l'accelerazione della formazione di metaboliti attivi della vitamina D da parte del rene attraverso l'effetto trofico sulla  $1\alpha$ -idrossilasi dei mitocondri delle cellule epiteliali renali nei tubuli convoluti prossimali



## Vitamina D<sub>3</sub>

- La 25-idrossilazione (nel fegato) e l'1 $\alpha$ -idrossilazione (nel rene) sono i due pi $\grave{u}$  importanti sistemi enzimatici di attivazione della vitamina D. Mentre l'uomo  $\grave{e}$  in grado di sintetizzare la vitamina D (coleciferolo) a livello della cute a partire dal 7-deidrocolesterolo, negli animali da compagnia questo tipo di fotosintesi (mediata dalla luce UV)  $\grave{e}$  inefficiente ed  $\grave{e}$  necessario un apporto di vitamina D attraverso la dieta.
- La regolazione della sintesi del calcitriolo renale avviene attraverso i livelli sierici di PTH (meccanismo di feed-back reciproco), il calcitriolo stesso, la calcitonina e le concentrazioni di fosforo e calcio. Il maggiore effetto del calcitriolo (principale metabolita biologicamente attivo della vitamina D)  $\grave{e}$  quello di aumentare le concentrazioni sieriche di Ca<sup>2+</sup> e fosforo, soprattutto attraverso la regolazione intestinale dell'assorbimento del Ca<sup>2+</sup>, ma anche attraverso quella del riassorbimento del Ca<sup>2+</sup> dall'osso e dal rene.



## Calcitonina

- E' sintetizzata dalle cellule C della ghiandola tiroide.
- Il suo effetto principale è quello **di limitare l'ipercalcemia** postprandiale. Il principale bersaglio è l'osso (inibizione del riassorbimento osteoclastico).



Translational Research in Anatomy

Volume 6, March 2017, Pages 4-15



## Calcitonin: Survey of new anatomy data to pathology and therapeutic aspects

Omar Faour<sup>a</sup>, Jacques Gilloteaux<sup>a, b</sup> ✉

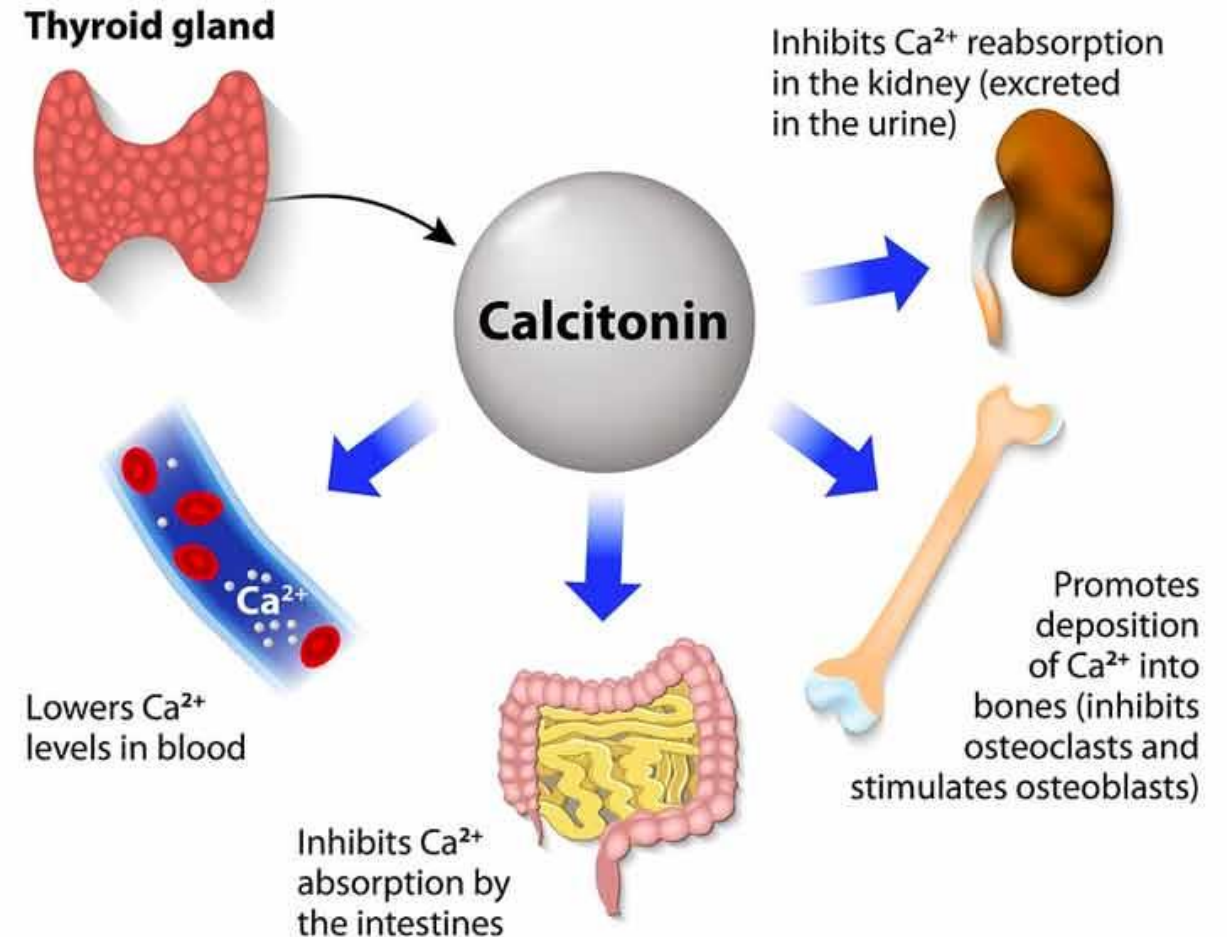
Show more

<https://doi.org/10.1016/j.tria.2017.01.001>

Under a Creative Commons license

Get rights and content

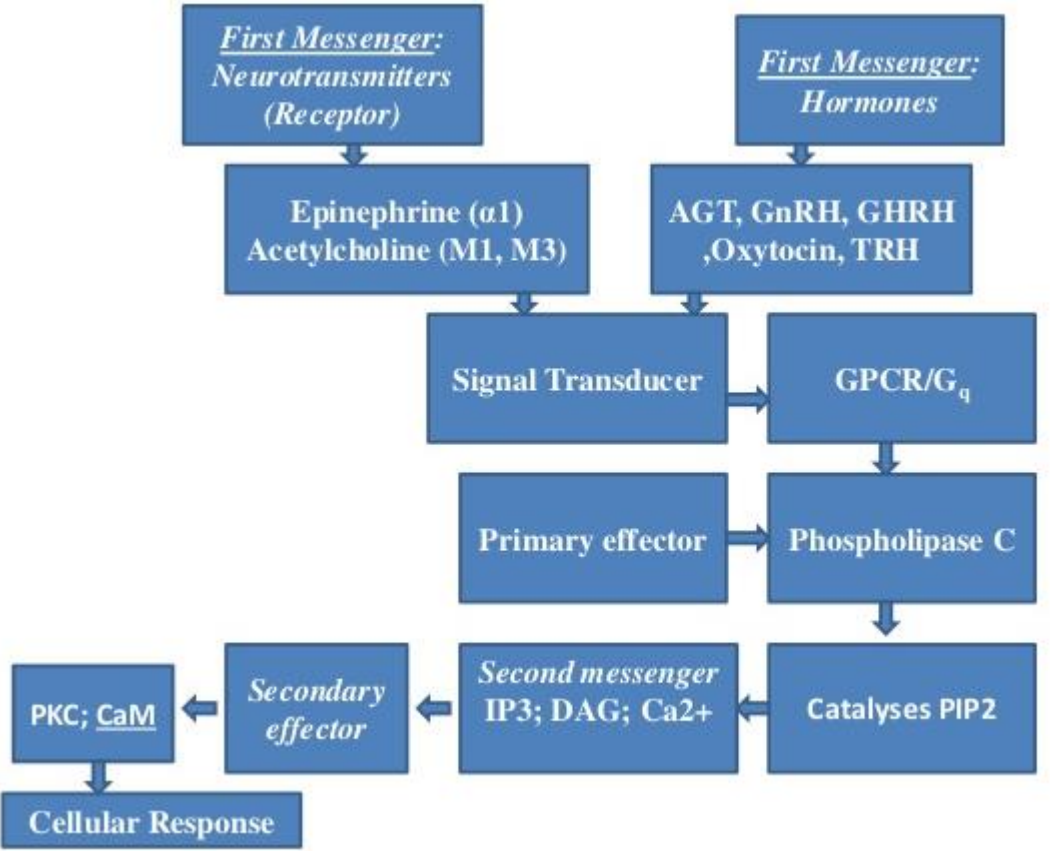
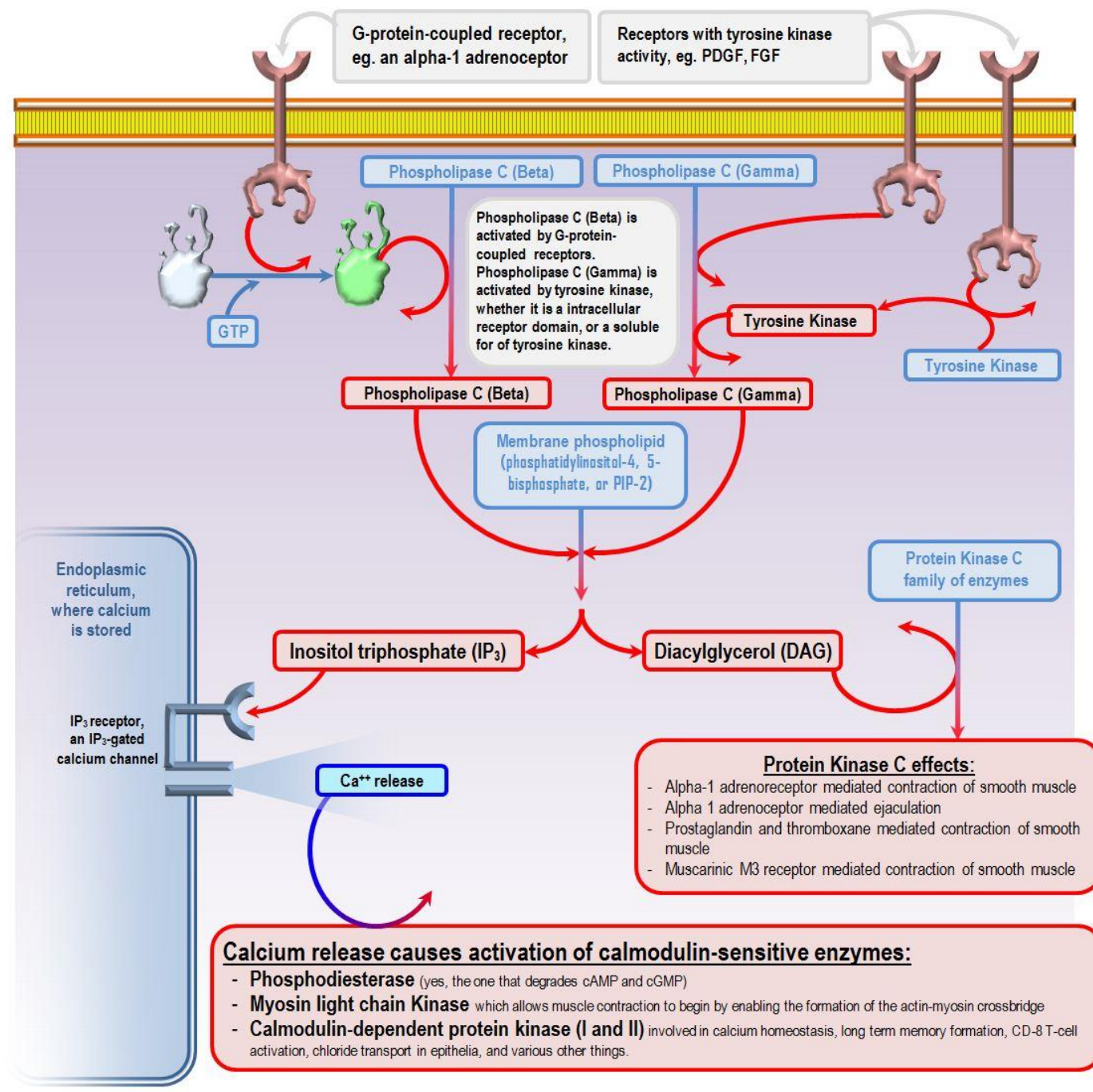
open access



# Un «versatile» secondo messaggero cellulare

La **biosegnalazione** comprende numerosi meccanismi molecolari utilizzati dalle cellule per ricevere e rispondere a segnali extracellulari e convertire tali informazioni in una modificazione chimica.

Il processo di risposta della cellula coinvolge specifici recettori. Una proprietà universale di tutte le cellule viventi è la **trasduzione** del segnale cioè una sua traduzione affinché si generi una risposta intracellulare.



## Meccanismi che regolano la Calcemia INTRACELLULARE:

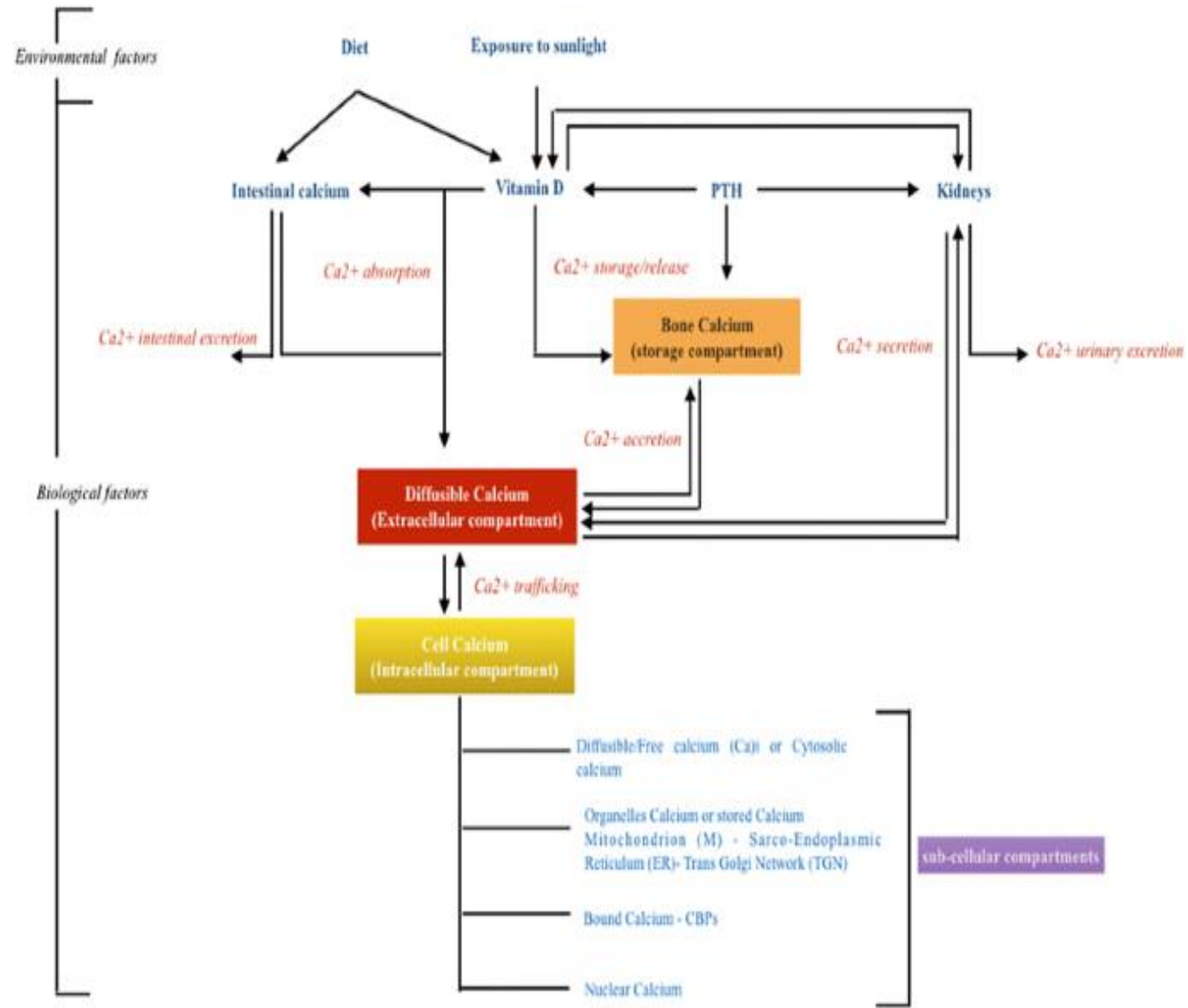
Rilascio di calcio dagli organelli nei quali è sequestrato oppure ingresso di calcio dall'ambiente extracellulare

- Membrana Plasmatica (canali, pompe, trasportatori)
- Organuli intracellulari (pools di calcio)
- Citosol

## Membrana plasmatica:

Tipologia di canali per il calcio:

- operati dal voltaggio** (voltage-operated calcium channels, VOCC): più rapido presente nelle «cellule eccitabili»
- recettori-canale** (receptor-operated calcium channels, ROCC) (recettori NMDA del glutammato)
- operati da secondi messaggeri** (second messenger-operated calcium channels, SMOCC)
- dipendenti dai depositi intracellulari** (store-dependent calcium channels, SDCC): importante nelle cellule dove è necessario  $Ca^{2+}$  per un periodo protratto).





# Tipologia di canali del calcio

L'azione biologica del calcio è legata alla presenza di diverse tipologie di canali per il calcio

## Ligand-gated Calcium Channel

| Type                              | Ligand           | Location                                     | Function  |
|-----------------------------------|------------------|--|---|
| IP <sub>3</sub> Receptor          | IP <sub>3</sub>  | Endoplasmic Reticulum/Sarcoplasmic Reticulum | Release calcium from ER/SR in response to IP <sub>3</sub>                                   |
| Ryandodine Receptor               | DHP              | Endoplasmic Reticulum/Sarcoplasmic Reticulum | Calcium-induced calcium release in myocytes   |
| Two-pore Channel                  | NAADP            | Endosomal/Lysosomal Membrane                 | NAADP-activated calcium transport across endosomal/lysosomal membrane                       |
| Cation Channel of sperm (CatSper) | Calcium          | Sperm  | Non-selective calcium-activated cation channel directing sperm in female reproductive tract |
| Store-operated Channel            | indirect pathway | Plasma Membrane                              | Provide calcium signaling to the cytoplasm  |

Striggow et al (1996)

## Voltage-gated Calcium Channel

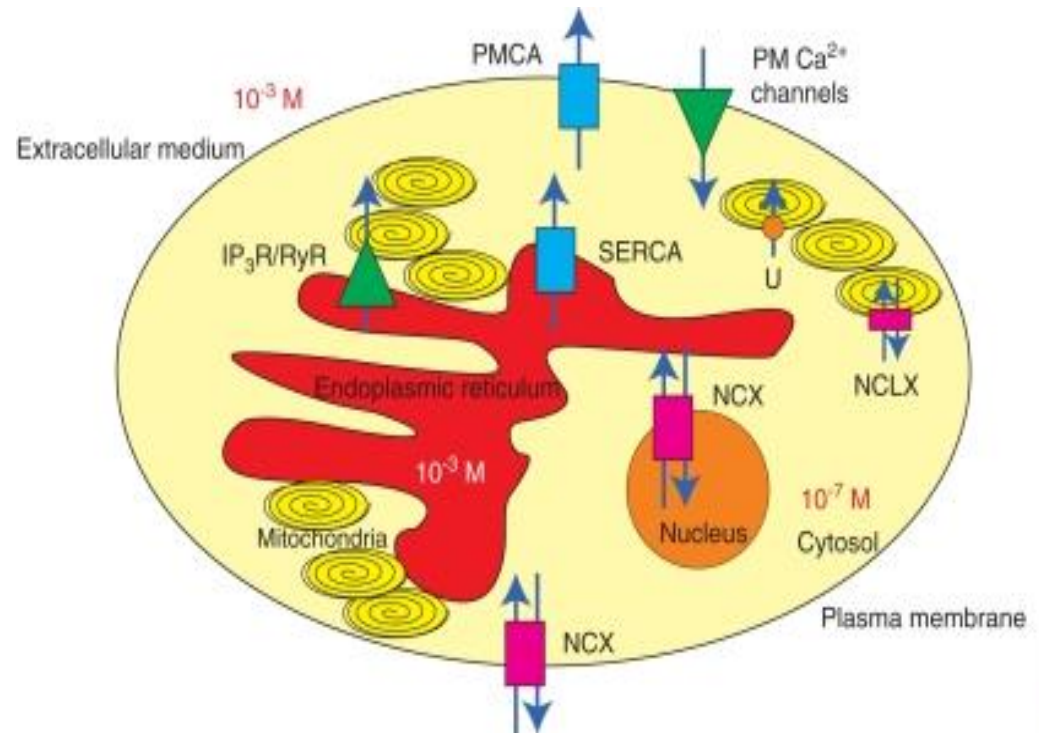
| Type                   | Voltage                        | Associated Subunit                                     | Location  |
|------------------------|--------------------------------|--|---|
| L-type Calcium Channel | High-Voltage-Activated         | $\alpha_2\delta$ , $\beta$ , $\gamma$                  | Skeletal Muscle, Smooth Muscle, Osteoblasts, Ventricular Myocytes and Dendrites of Cortical Neurons |
| P-type Calcium Channel | High-Voltage-Activated         | $\alpha_2\delta$ , $\beta$ , possibly $\gamma$         | Purkinje Neurons  |
| N-type Calcium Channel | High-Voltage-Activated         | $\alpha_2\delta$ , $\beta_{1,3,4}$ , possibly $\gamma$ | Throughout Brain and Peripheral Nervous System  |
| R-Type Calcium Channel | Intermediate-Voltage-Activated | $\alpha_2\delta$ , $\beta$ , possibly $\gamma$         | Cerebellar Granule Cells  |
| T-Type Calcium Channel | Low-Voltage-Activated          | Single $\alpha$  | Neurons Cells, i.e. pacemaker, bone, thalamus   |

Gerald (2017)

## MEMBRANA PLASMATICA: sistemi di estrusione del calcio

Oltre alla diverse tipologie di canali per il calcio le membrane plasmatiche contengono anche sistemi di estrusione del calcio dall'ambiente intracellulare a quello extracellulare. In particolare:

- **Lo scambiatore  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (NCX)** (bassa affinità ma elevata capacità di estrusione, presente a livello cardiaco e neuronale soprattutto): utilizza il gradiente elettrochimico del  $\text{Na}^+$ , per ogni ciclo tre ioni  $\text{Na}^+$  entrano nella cellula ed uno ione  $\text{Ca}^{2+}$  esce. Il processo è totalmente reversibile in quanto dipende dal gradiente elettrochimico dei due ioni.
- **$\text{Ca}^{2+}$ ATPase (PMCA)** (alta affinità ma bassa capacità di estrusione): ci sono 4 isoforme, PMCA1 e PMCA4 sono presenti nella gran parte dei tessuti. PMCA2 è altamente presente nelle cellule di Purkinje del cervelletto e nelle cellule della coclea ma anche a livello di utero, ghiandola mammaria, rene e fegato. PMCA3 è presente a livello di plessi corioidei.



**PMCA: plasma membrane calcium pump,  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase)**  
**NCX:  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger**

## ORGANULI INTRACELLULARI

Zone specializzate del reticolo endoplasmatico:

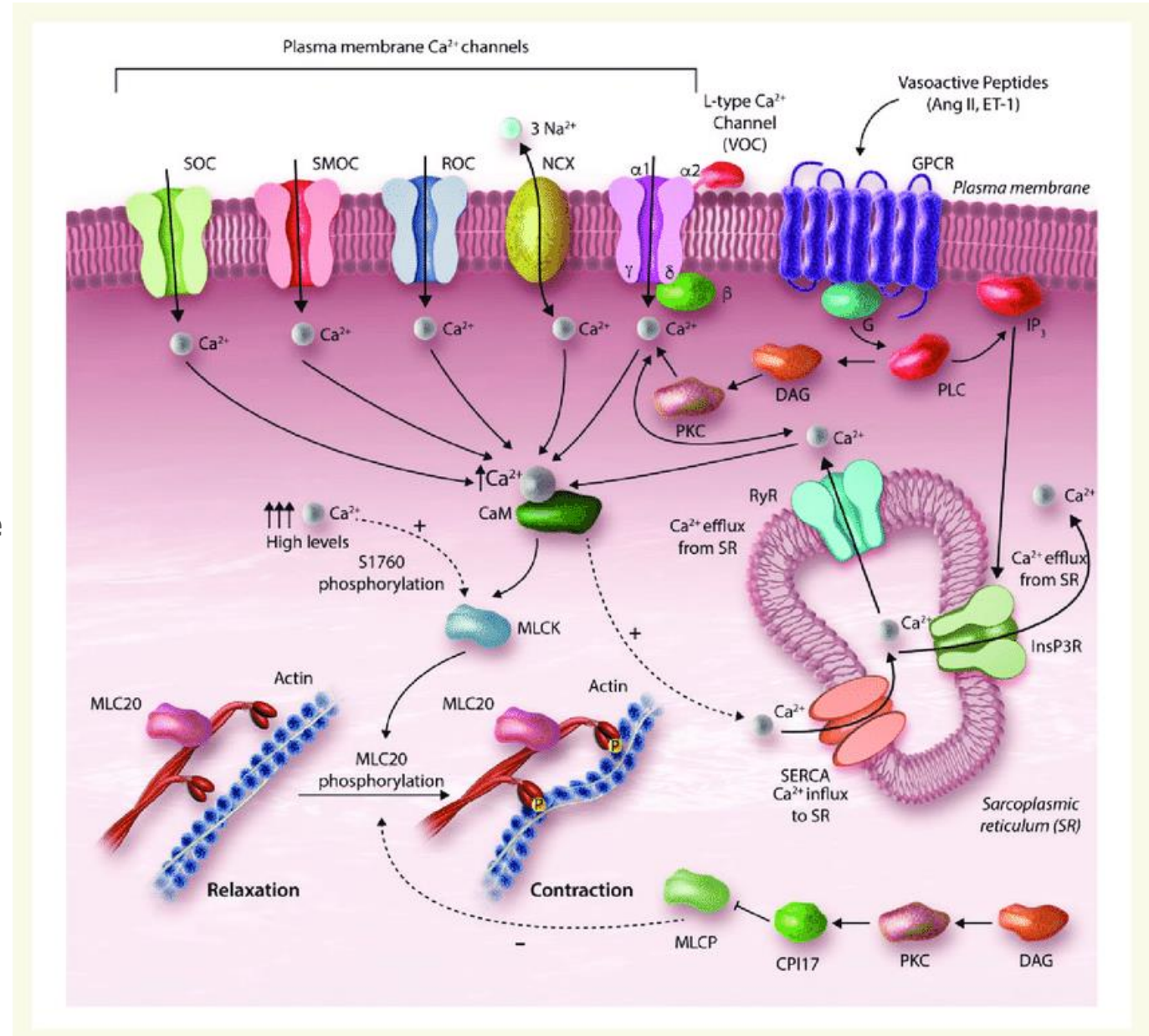
- pompe al  $\text{Ca}^{2+}$  di tipo SERCA (sarcoplasmic-endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase)
- proteine luminali leganti il  $\text{Ca}^{2+}$  (es. calsequestrine)
- canali ionici intracellulari: a) sensibili alla rianodina; b) sensibili all' $\text{IP}_3$

La  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  è il risultato dell'equilibrio tra meccanismi che controllano il passaggio dello ione attraverso le membrane plasmatiche e di organuli intracellulari

## CITOSOL

-proteine leganti il calcio

## CICR: Calcium-Induced-Calcium-Release



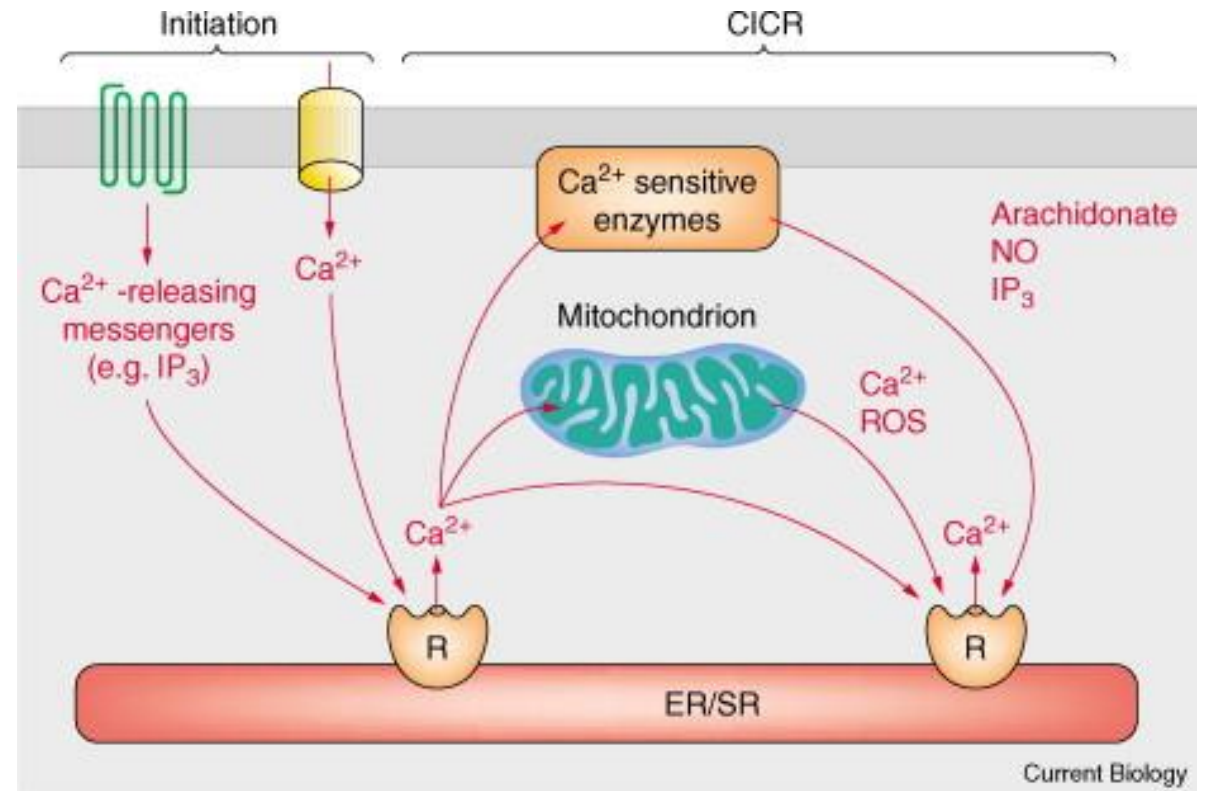
«**Calcium-induced Calcium-release**»: il principale drivers è la concentrazione citoplasmatica di  $\text{Ca}^{2+}$ .

CICR (Calcium-induced  $\text{Ca}^{2+}$  release) è un processo attraverso il quale il  $\text{Ca}^{2+}$  stesso promuove l'ulteriore liberazione di  $\text{Ca}^{2+}$  dalle riserve del reticolo endoplasmatico, agendo sui recettori per  $\text{IP}_3$  e sui recettori rianodinici.

Questo meccanismo avviene attraverso il legame diretto del  $\text{Ca}^{2+}$  ai suddetti canali o anche attraverso  $\text{IP}_3$  che funge da modulatore allosterico dei canali  $\text{IP}_3$  sensibili al  $\text{Ca}^{2+}$ .

Meccanismo di controllo:  $\text{IP}_3$  non aumenta l'attivazione dei canali  $\text{IP}_3$  sensibili al  $\text{Ca}^{2+}$  ma riduce semplicemente il loro stato di inibizione (curva a campana, equazione bifasica di Hill).

Il  $\text{Ca}^{2+}$  è rilasciato sempre in microdomini confinanti l'area di azione.

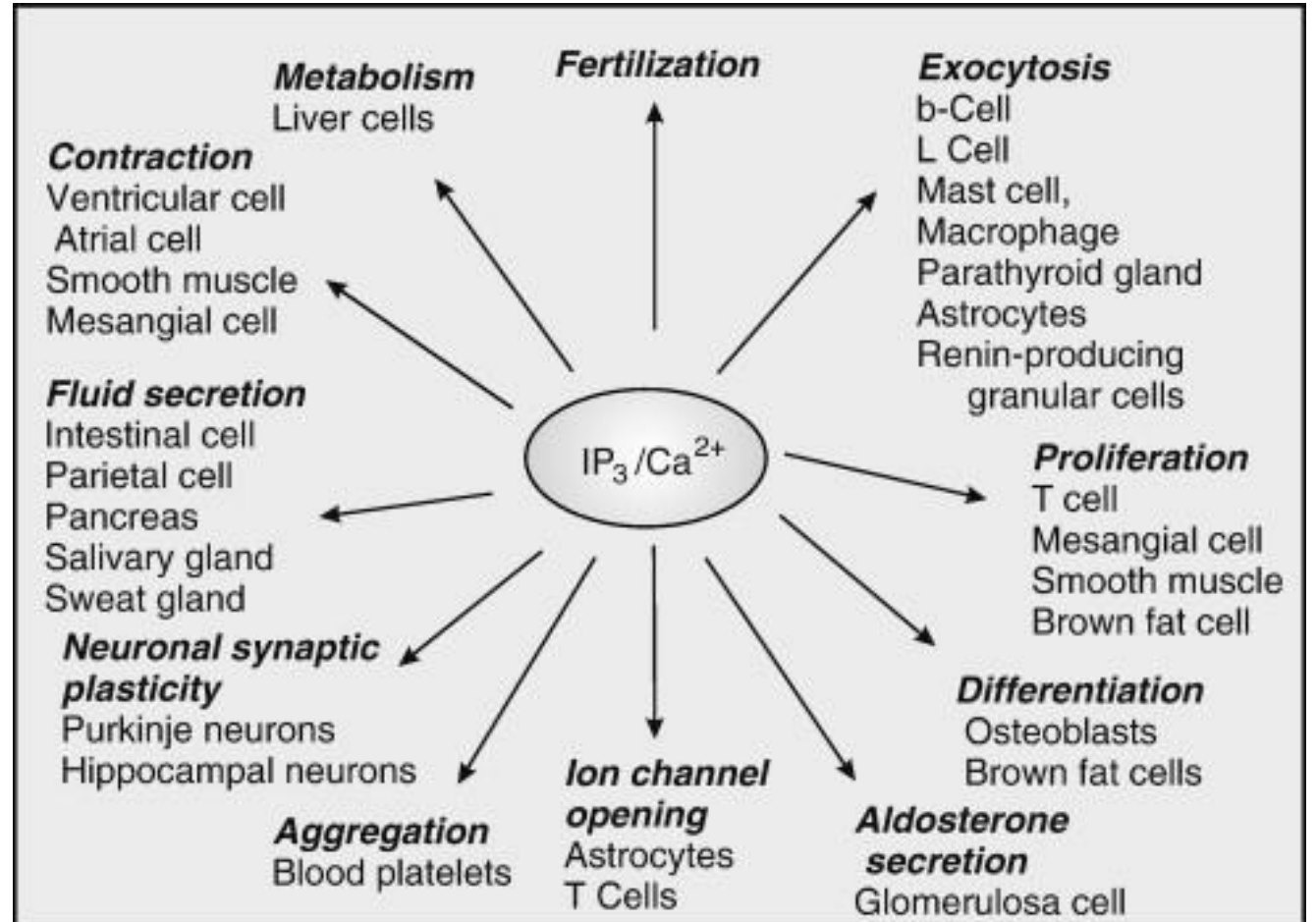


Il pathway  $Ca^{2+}/IP_3$  regola e controlla un ampio numero di processi cellulari.

In particolare sono da ricordare:

- Maturazione dell'oocita
- Attivazione dei linfociti T
- Plasticità neuronale nell'apprendimento e nella memoria

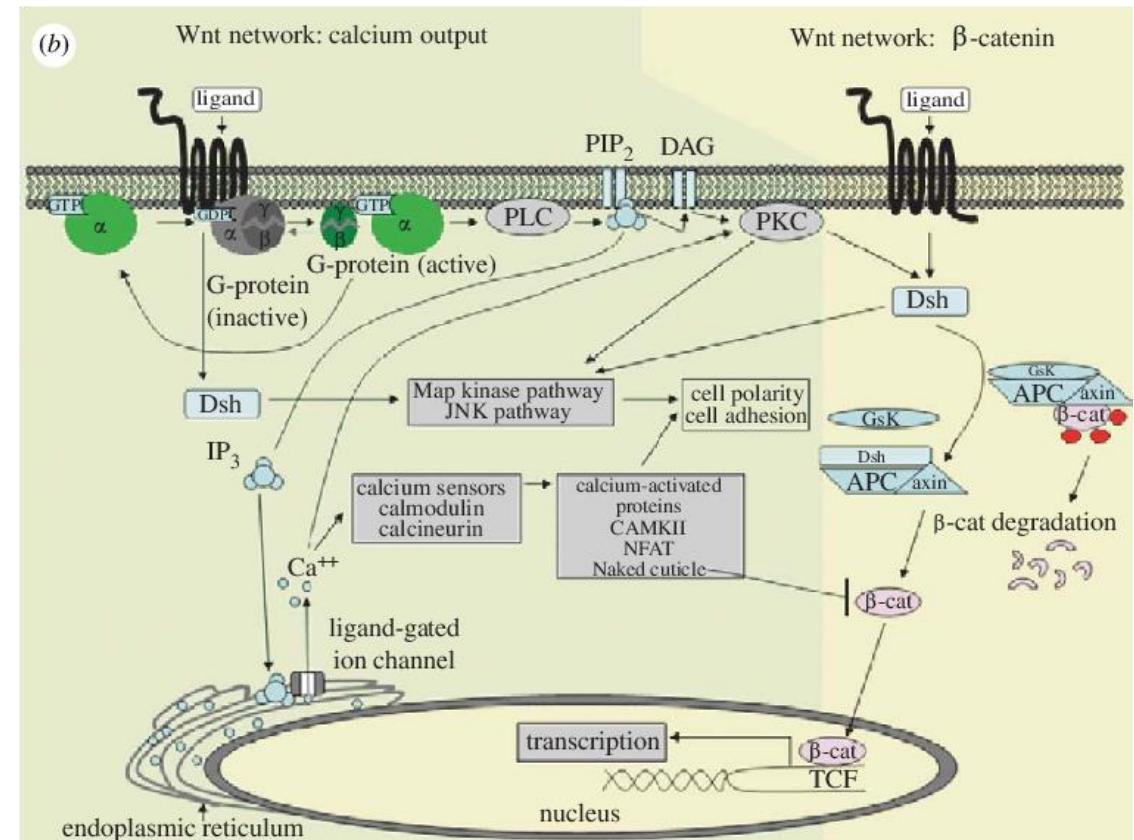
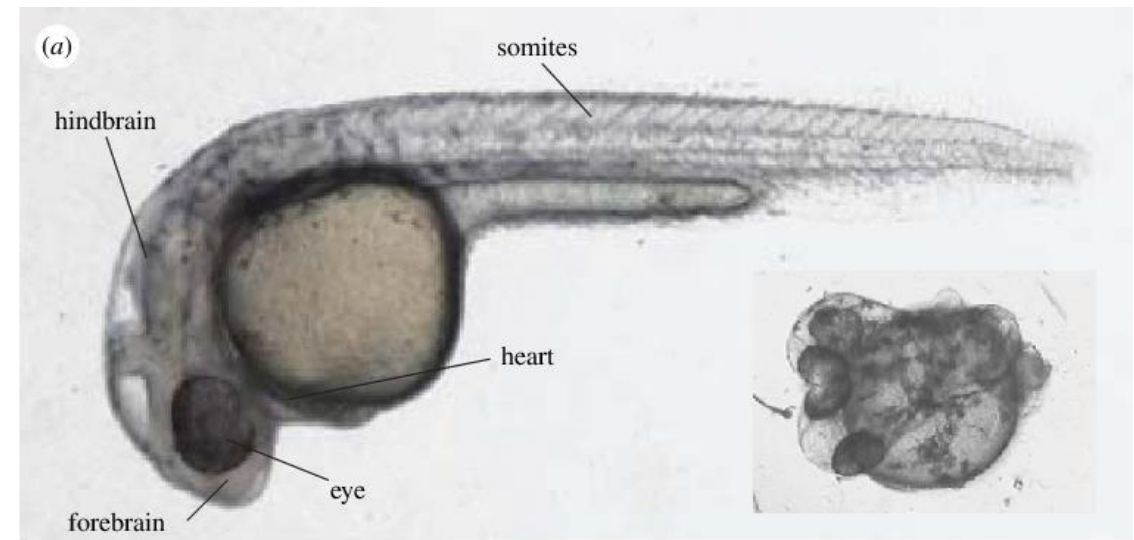
Oltre a  $IP_3$  ci sono altre molecole che possono mobilitare la liberazione di calcio dalle riserve intracellulari: NAADP (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate); cADPR (cyclic ADP-ribose); molecole lipidiche



## Proteine effettrici del calcio

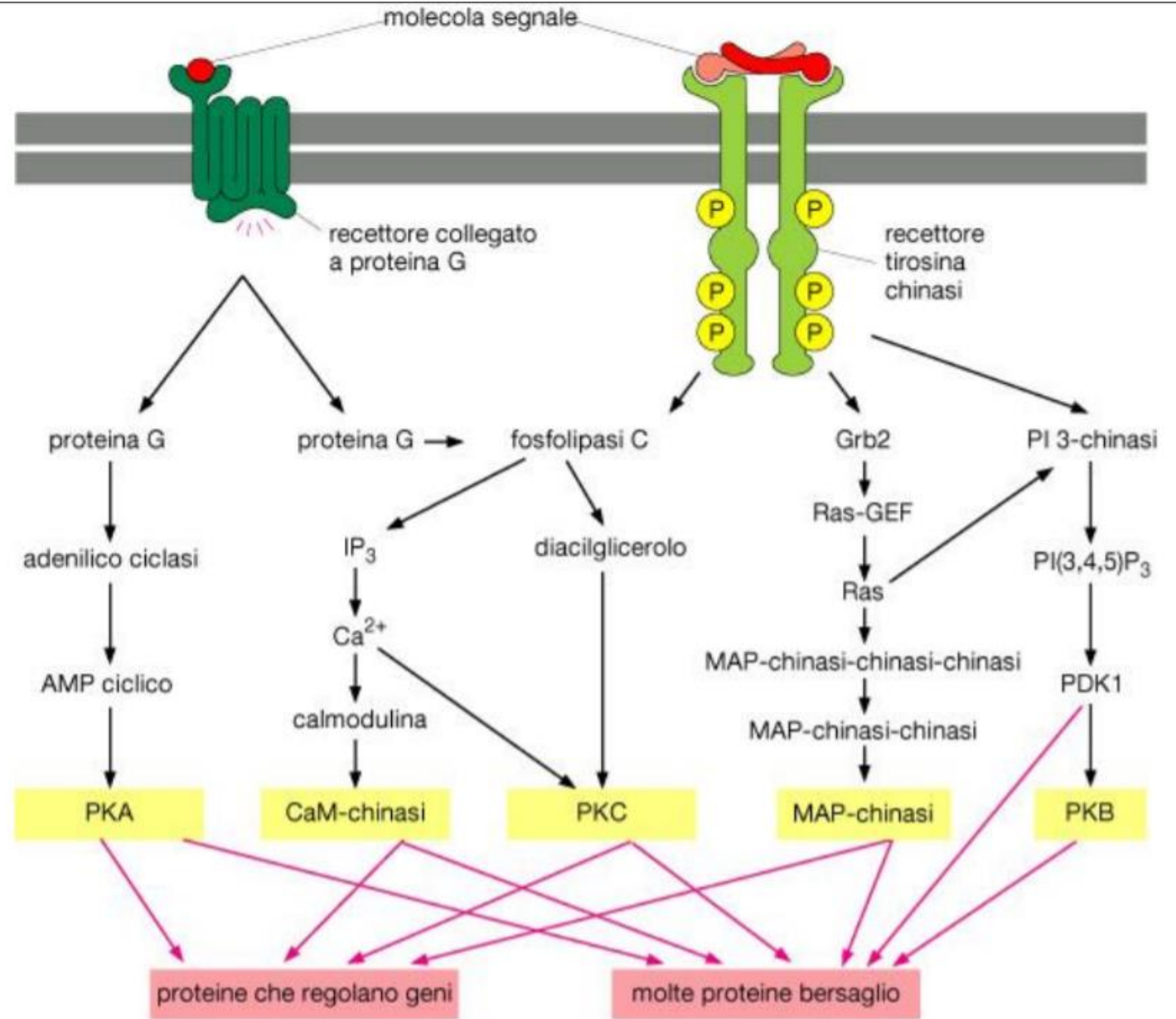
Le variazioni intracellulari della concentrazione di  $Ca^{2+}$  si traducono in cambiamenti della funzionalità cellulare grazie alla presenza di proteine effettrici del calcio:

- Calmodulina e troponina C: la calmodulina controlla a sua volta una serie di chinasi (MLCK, CaM kinase, PMCA, Ras guanine nucleotide exchange factor, calcineurina, adenilato ciclasti e fosfodiesterasi, ossido-nitrico sintasi)
- Calpaina
- Sinaptotagmina
- DAG kinase
- Ras GEFs and GAPs
- Proteine del citoscheletro



Gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  rilasciati dai depositi intracellulari attivano la Proteina chinasi C (PKC)  $\text{Ca}^{2+}$  dipendente.

La proteina chinasi C è costituita da una subunità catalitica ed una subunità regolatrice, che è una calmodulina, cioè una proteina regolata dagli ioni  $\text{Ca}^{2+}$ . Inoltre la proteina chinasi C si associa al DAG sulla membrana. Quindi sia gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  che il DAG contribuiscono all'attivazione della PKC. La PKC può attivare molte vie intracellulari.



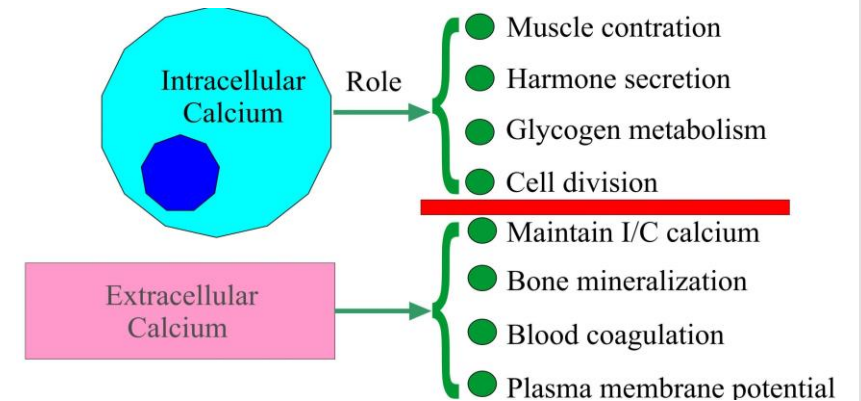
# Ruolo del calcio nell'organismo

## 1. Integrità strutturale dello scheletro

## 2. «Messaggero o regolatore ionico»:

Molte sue azioni sono legate alla sua funzione di **secondo messaggero cellulare**.

- Reazioni enzimatiche
- Coagulazione del sangue
- Rilascio di neurotrasmettitori e conduzione nervosa
- Secrezione ormonale
- Fertilizzazione oocita
- Risposta immunitaria
- Cancerogenesi
- Contrazione muscolare
- Tono della muscolatura liscia vasale
- Memoria, apprendimento e vista
- Controllo del metabolismo del glicogeno epatico
- Crescita, adesione e divisione cellulare
- Trasporto e stabilità di membrana





## Reazioni enzimatiche: Cofattore enzimatico

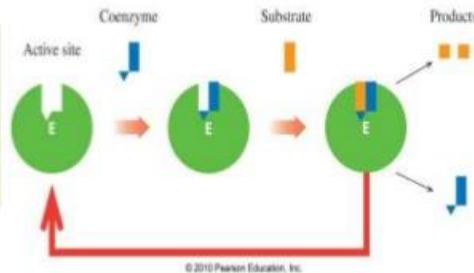
### Calcium As A Cofactor For Many Enzymes

Protein kinases (PKs) are the effectors of phosphorylation

is a phosphotransferase enzyme that catalyzes the interconversion of adenine nucleotides, and plays an important role in cellular energy homeostasis.

Calcium as a co-factor needed for the full activity of many enzymes, such as nitric oxide synthase, protein phosphatases, and adenylate kinase, but calcium activates these enzymes in allosteric regulation in a complex with calmodulin

catalyzing the production of nitric oxide (NO) from L-arginine. NO is an important cellular signaling molecule. It helps modulate vascular tone, insulin secretion, airway tone, and peristalsis



### Enzimi regolati dal calcio

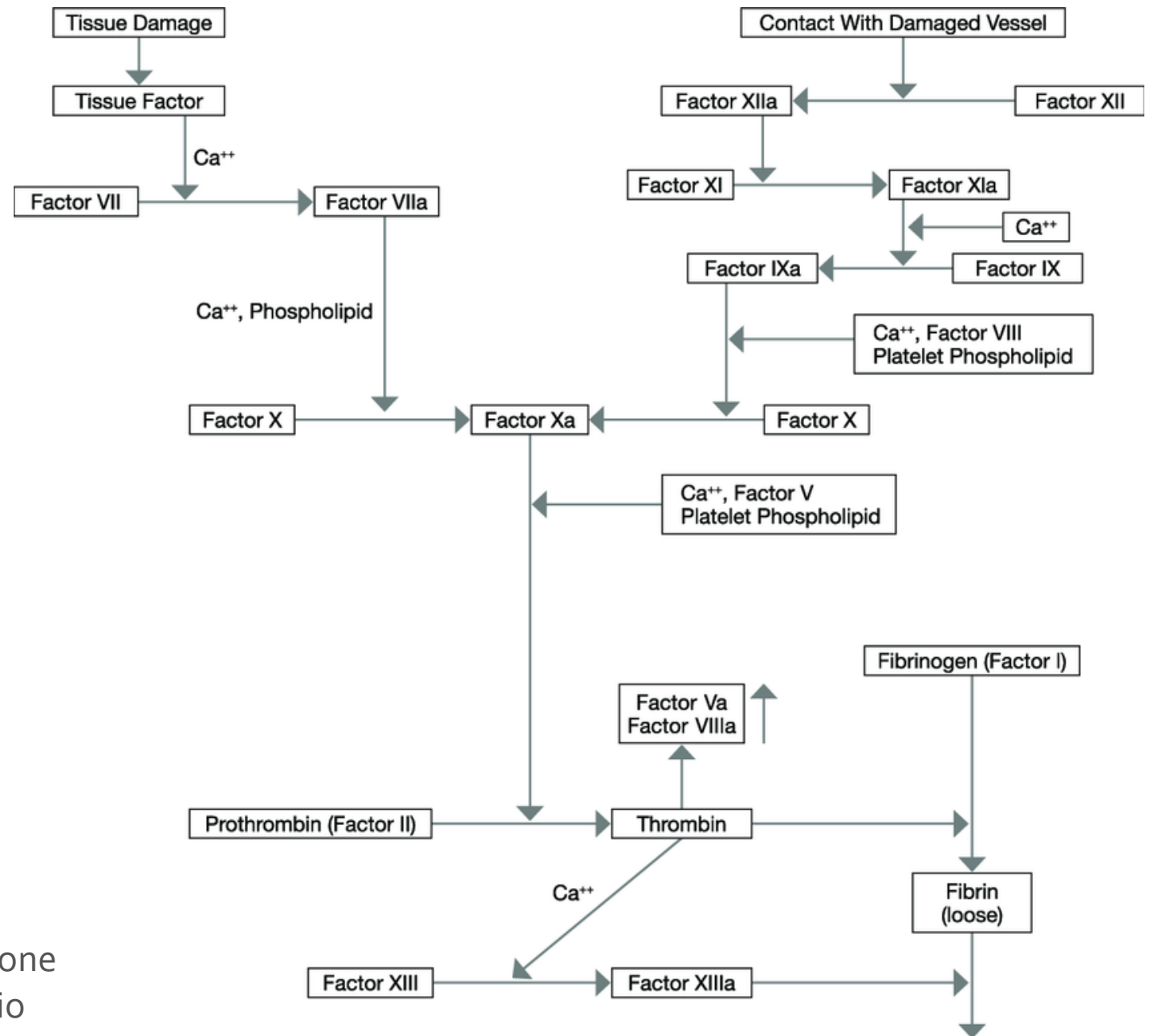
- Adenyl cyclase , guanylyl cyclase ,
- Cyclic nucleotide phosphodiesterase ,
- Calcium dependent protein kinase , phospho protein phosphatase 2 B,
- Glycerol 3 phosphate dehydrogenase , Phosphorylase kinase , glycogen synthase ,
- Pyruvate carboxylase , pyruvate kinase ,
- $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$  ATPase ,
- Phospholipase A<sub>2</sub> ,  $\text{Ca}^{2+}$  phospholipid dependent protein kinase

## Coagulazione del sangue:

- Salvo che nei primi due stadi del meccanismo intrinseco, gli ioni calcio sono necessari per lo svolgimento di tutte le reazioni.
- I fattori della coagulazione II, VII, IX e X contengono un residuo di glutammato modificato chiamato carbossiglutammato
- La carbossilazione di questo residuo di Glu è garantita dalla presenza della vitamina K.
- Questa modificazione permette alle proteine di legare il calcio (cofattore enzimatico)

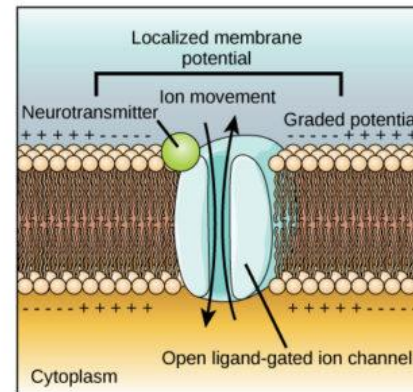
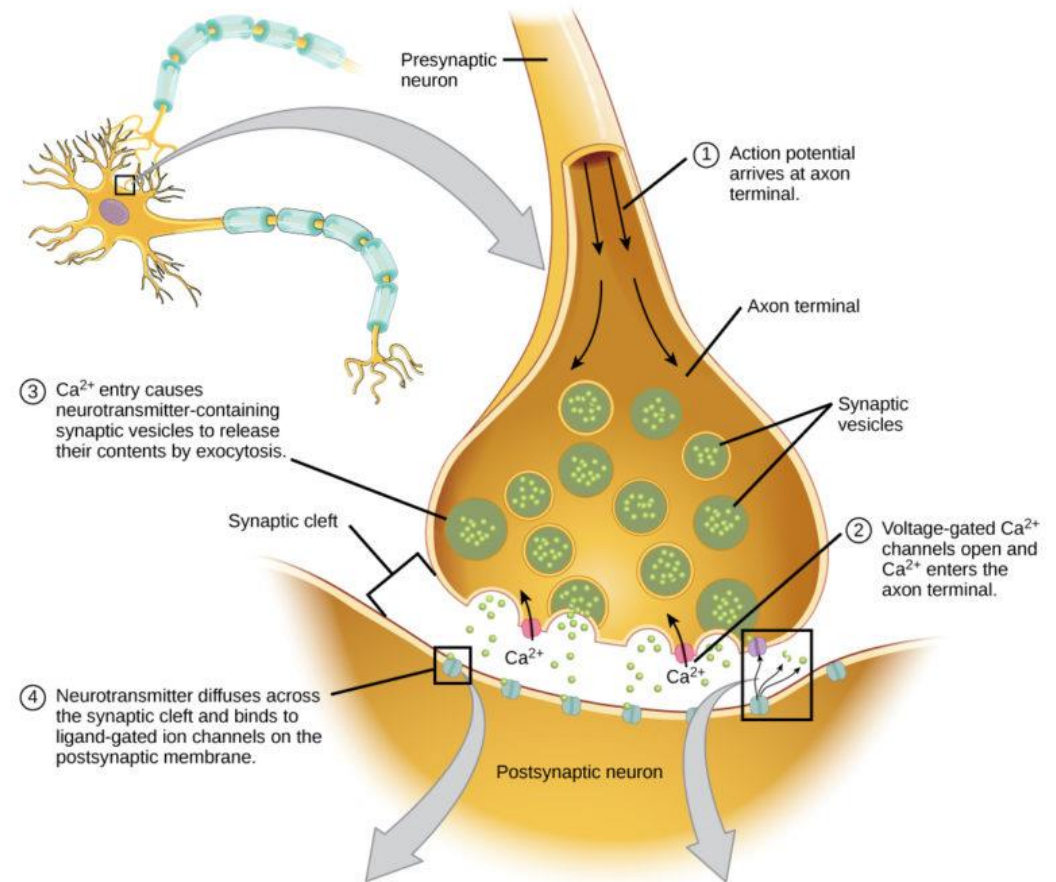
## Anticoagulanti per esami di laboratorio:

- Edetato sodico (EDTA): chelante del calcio
- Ossalato di calcio: determina la sua precipitazione
- Citrato di sodio: deionizzazione dello ione calcio

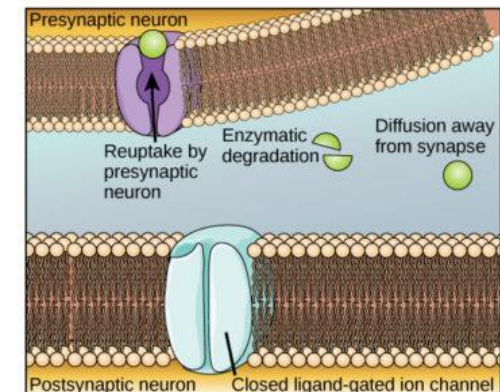


## Rilascio di neurotrasmettitori

1. Il potenziale d'azione arriva a livello dell'assone terminale del neurone presinaptico
2. Si aprono i canali del calcio voltaggio dipendenti
3. Il calcio extracellulare entra causando la fusione della membrana delle vescicole sinaptiche con la membrana plasmatica con conseguente esocitosi delle molecole di neurotrasmettitore nello spazio sinaptico (sinaptotagmina I)
4. Il calcio, inoltre, determina il disancoraggio del citoscheletro delle vescicole sinaptiche arretrate e permette il loro avvicinamento nelle zone attive
5. I neurotrasmettitori si legano ai recettori presenti sul neurone post-sinaptico causando l'apertura dei canali ionici e conseguente risposta cellulare del neurone post-sinaptico
6. Il neurotrasmettitore nello spazio sinaptico viene rimosso e recuperato attraverso: inattivazione enzimatica, diffusione o ricaptazione da parte del neurone presinaptico

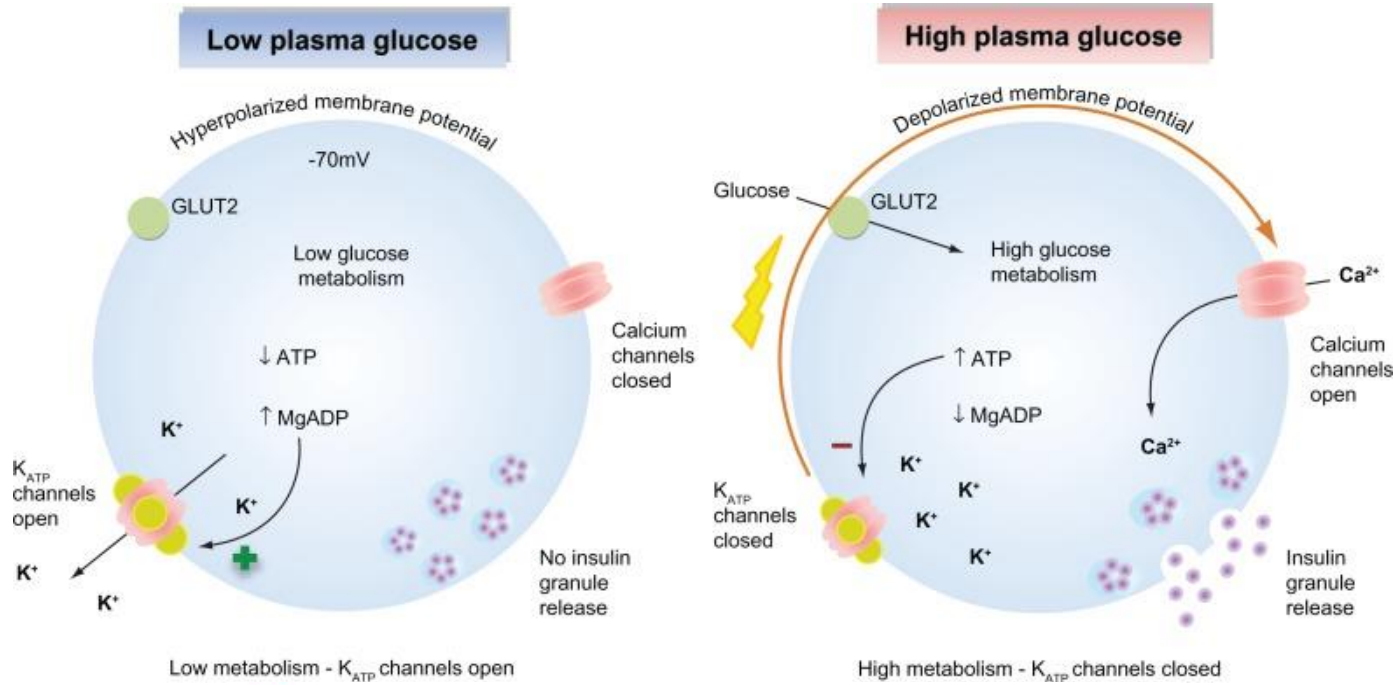


5. Binding of neurotransmitter opens ligand-gated ion channels, resulting in graded potentials.

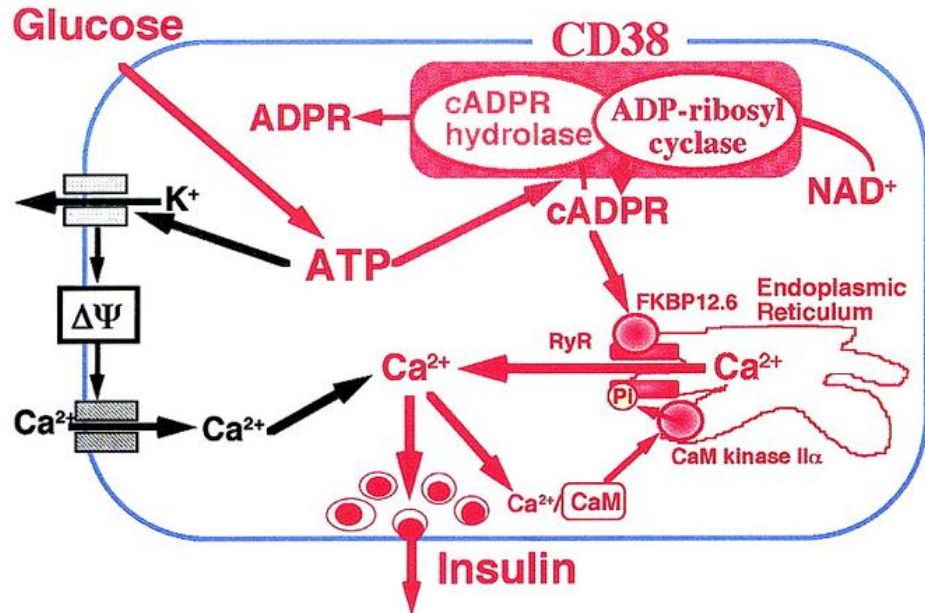


6. Reuptake by the presynaptic neuron, enzymatic degradation, and diffusion reduce neurotransmitter levels, terminating the signal.

## Secrezione ormonale



1. Il glucosio si lega ai recettori GLUT2 posti sulla superficie delle cellule beta del pancreas endocrino
2. L'ingresso di glucosio porta alla formazione di ATP da parte delle cellule con conseguente aumento del rapporto ATP/ADP
3. La diminuzione di ADP porta alla chiusura dei canali del potassio ATP dipendenti con conseguente depolarizzazione della membrana plasmatica della cellula.
4. La depolarizzazione porta all'apertura dei canali del calcio voltaggio dipendenti
5. Il calcio entra, determinando la secrezione dei granuli di insulina.



1. ATP competerebbe con l'idrolisi del cADPR con suo conseguente accumulo
2. cADPR è un ligando endogeno a pari di  $\text{IP}_3$
3. La produzione di cADPR determinerebbe la liberazione di  $\text{Ca}^{2+}$  dalle riserve endogene in seguito al legame con i recettori RyR

## Fertilizzazione

### Oocita e sviluppo embrionale

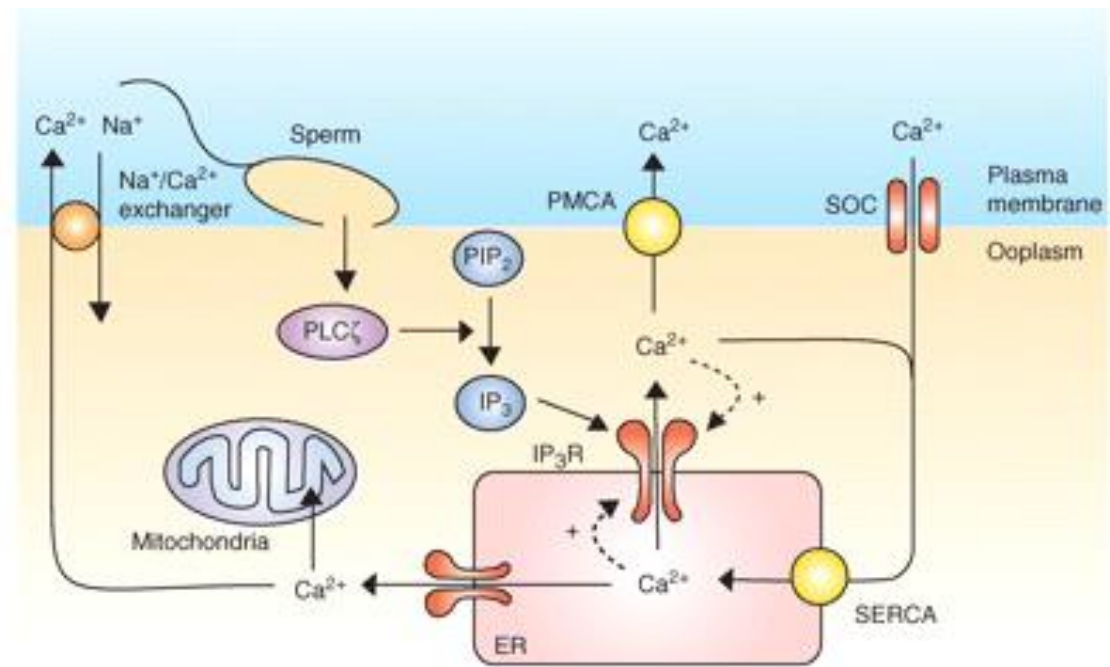
Durante l'ovulazione la cellula uovo dei mammiferi è ferma nello stadio di metafase della seconda divisione meiotica



Al momento della fertilizzazione lo spermatozoo determina l'attivazione di una fosfolipasi C nella cellula uova attivando una cascata che porta alla liberazione di calcio nella cellula stessa



Il calcio consente la progressione del ciclo cellulare e la maturazione dell'oocita e permette l'estrusione dei granuli corticali che bloccano l'ingresso di ulteriori spermatozoi



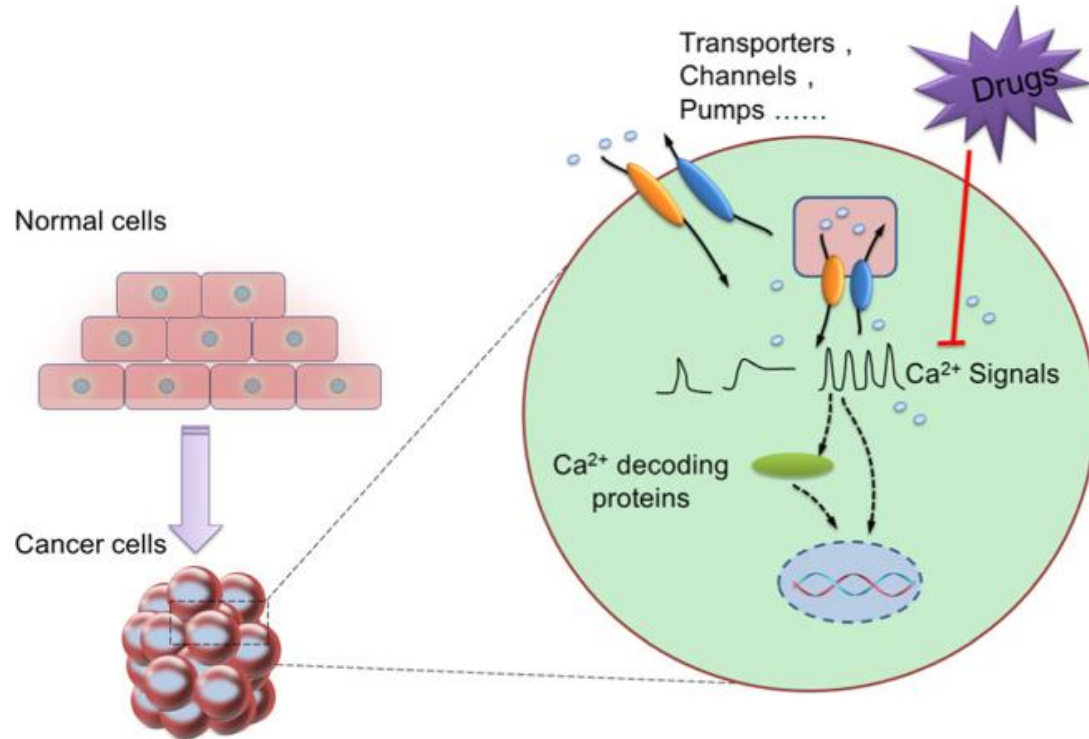
**Spermatozoo:** ruolo importante del calcio nella motilità, capacitazione e nella reazione acrosomiale

Canali CatSper: attivati da aumento di pH intracellulare

IP<sub>3</sub>, cAMP (e attivazione PKA), calmoduline kinase II.

Una serie di eventi cellulari che convergono sulla F-actina.

# Cancerogenesi



L'omeostasi intracellulare di calcio risulta alterata nelle cellule neoplastiche con alterazioni che portano all'avvio della cancerogenesi, angiogenesi e metastatizzazione della massa tumorale. Pertanto nuove frontiere terapeutiche sono rivolte allo sviluppo di farmaci che bloccano i canali del calcio e della pompa Ca<sup>2+</sup>-ATPase posta sulle membrane cellulari.

REVIEW

## Targeting calcium signaling in cancer therapy

Chaochu Cui <sup>a, b</sup>, Robert Merritt <sup>b, c</sup>, Liwu Fu <sup>a</sup>, Zui Pan <sup>b, c, d</sup> ✉

Show more

<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.11.001>

Under a Creative Commons license

Get rights and content

open access

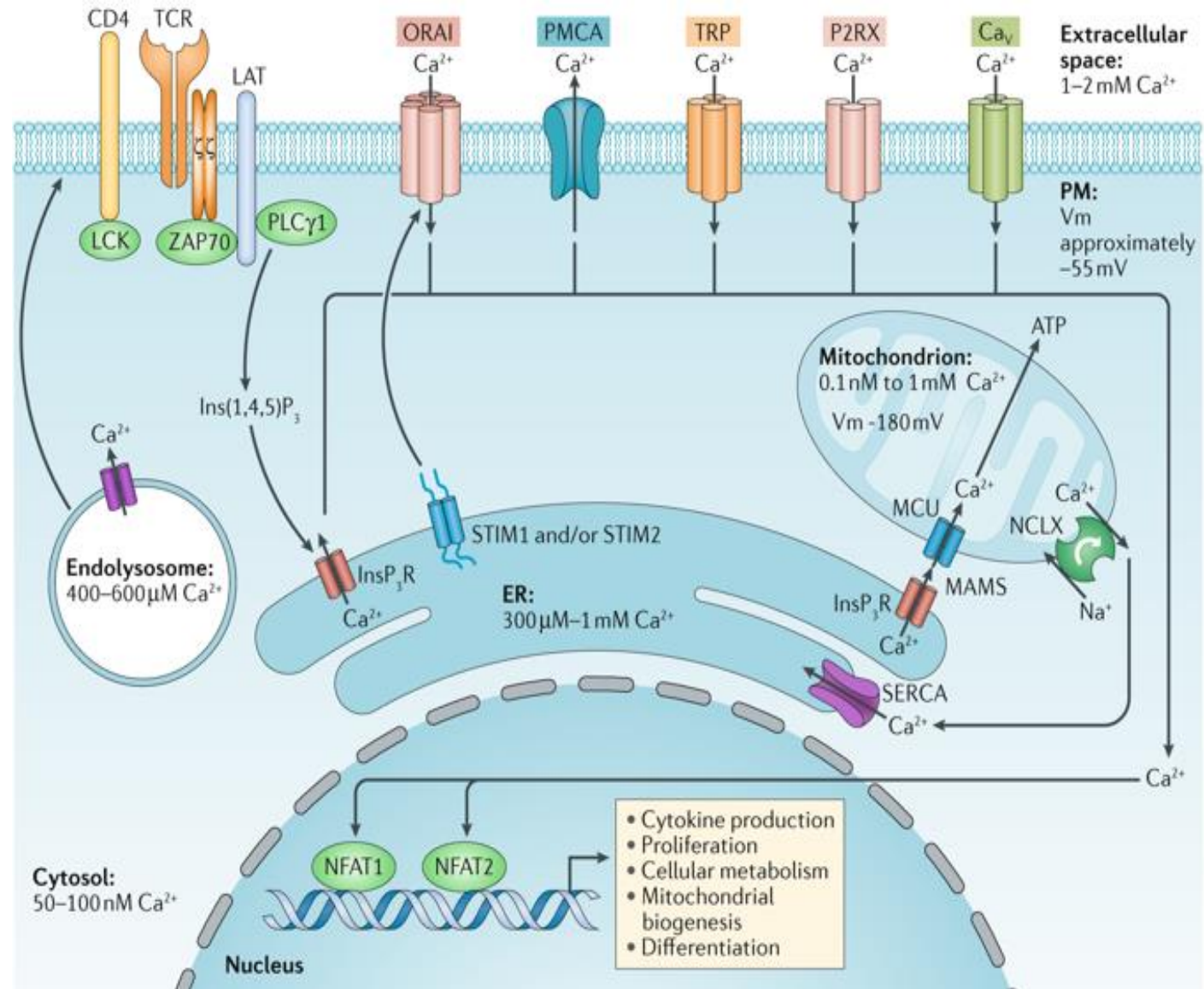
### Abstract

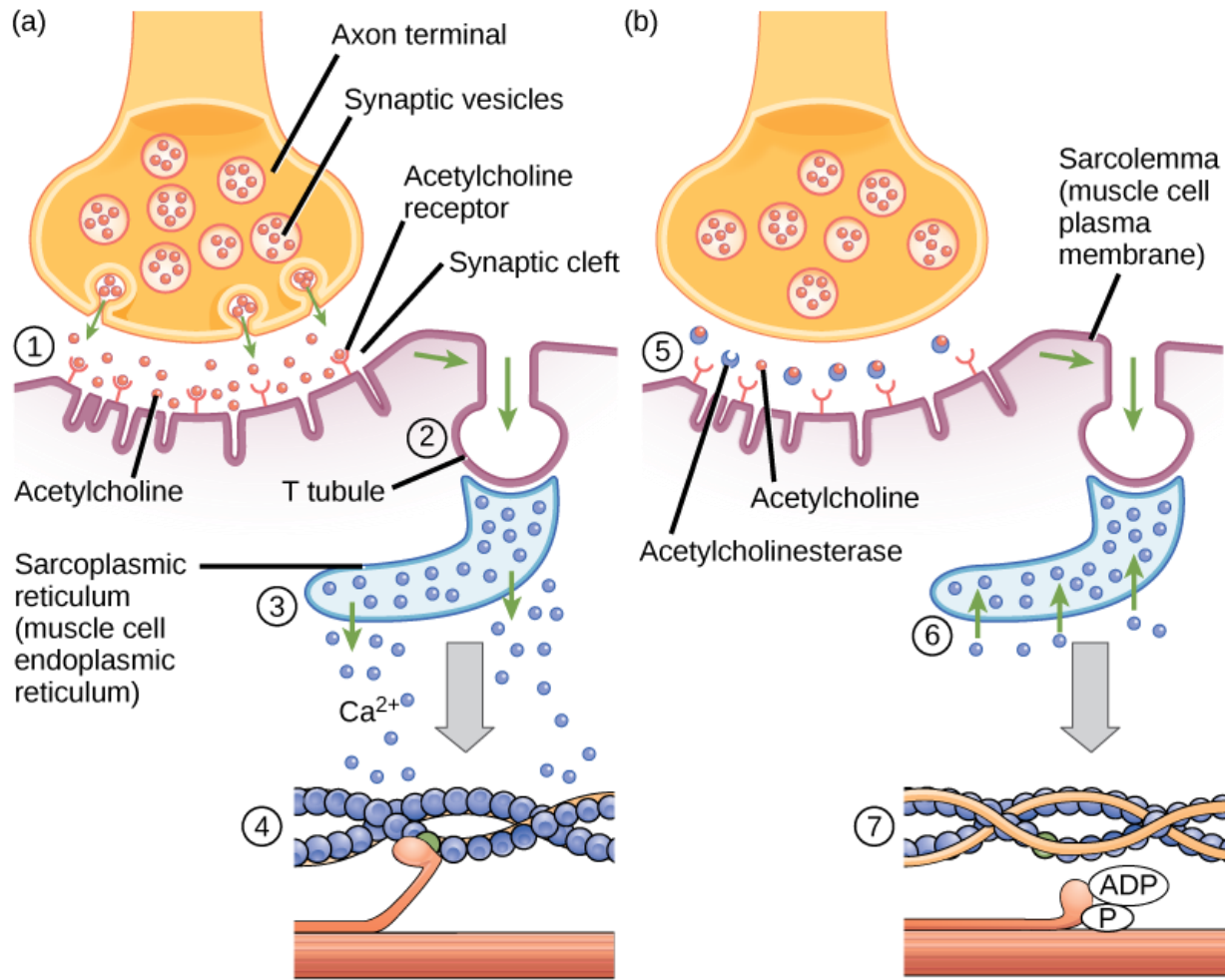
The intracellular calcium ions (Ca<sup>2+</sup>) act as second messenger to regulate gene transcription, cell proliferation, migration and death. Accumulating evidences have demonstrated that intracellular Ca<sup>2+</sup> homeostasis is altered in cancer cells and the alteration is involved in tumor initiation, angiogenesis, progression and metastasis. Targeting derailed Ca<sup>2+</sup> signaling for cancer therapy has become an emerging research area. This review summarizes some important Ca<sup>2+</sup> channels, transporters and Ca<sup>2+</sup>-ATPases, which have been reported to be altered in human cancer patients. It discusses the current research effort toward evaluation of the blockers, inhibitors or regulators for Ca<sup>2+</sup> channels/transporters or Ca<sup>2+</sup>-ATPase pumps as anti-cancer drugs. This review is also aimed to stimulate interest in, and support for research into the understanding of cellular mechanisms underlying the regulation of Ca<sup>2+</sup> signaling in different cancer cells, and to search for novel therapies to cure these malignancies by targeting Ca<sup>2+</sup> channels or transporters.

## Risposta immunitaria

### SOCE, STIM e ORAI

1. La stimolazione del recettore dei linfociti T da parte di un antigene porta all'attivazione della fosfolipasi C (PLC $\gamma$ 1), e alla conseguente produzione di IP $_3$  e liberazione di calcio dal reticolo endoplasmatico. La riduzione dei livelli di calcio nel RE attiva le proteine «stromal interaction molecule 1» (STIM1) e STIM2.
2. Le proteine STIM determinano una modificazione conformazionale delle proteine ORAI1 presenti sulla membrana plasmatica che a sua volta attivano i canali del calcio ligando dipendenti di tipo «store operated Ca» con conseguente ingresso di calcio dallo spazio extracellulare a quello intracellulare.
3. Il calcio attiva enzimi target e fattori di trascrizione a livello nucleare NFAT1 e NFAT2 con conseguente produzione di citochine, proliferazione e differenziazione cellulare.
4. Il calcio inoltre, stimola i mitocondri a produrre ATP.





1. Acetylcholine released from the axon terminal binds to receptors on the sarcolemma.
2. An action potential is generated and travels down the T tubule.
3.  $\text{Ca}^{2+}$  is released from the sarcoplasmic reticulum in response to the change in voltage.
4.  $\text{Ca}^{2+}$  binds troponin; Cross-bridges form between actin and myosin.

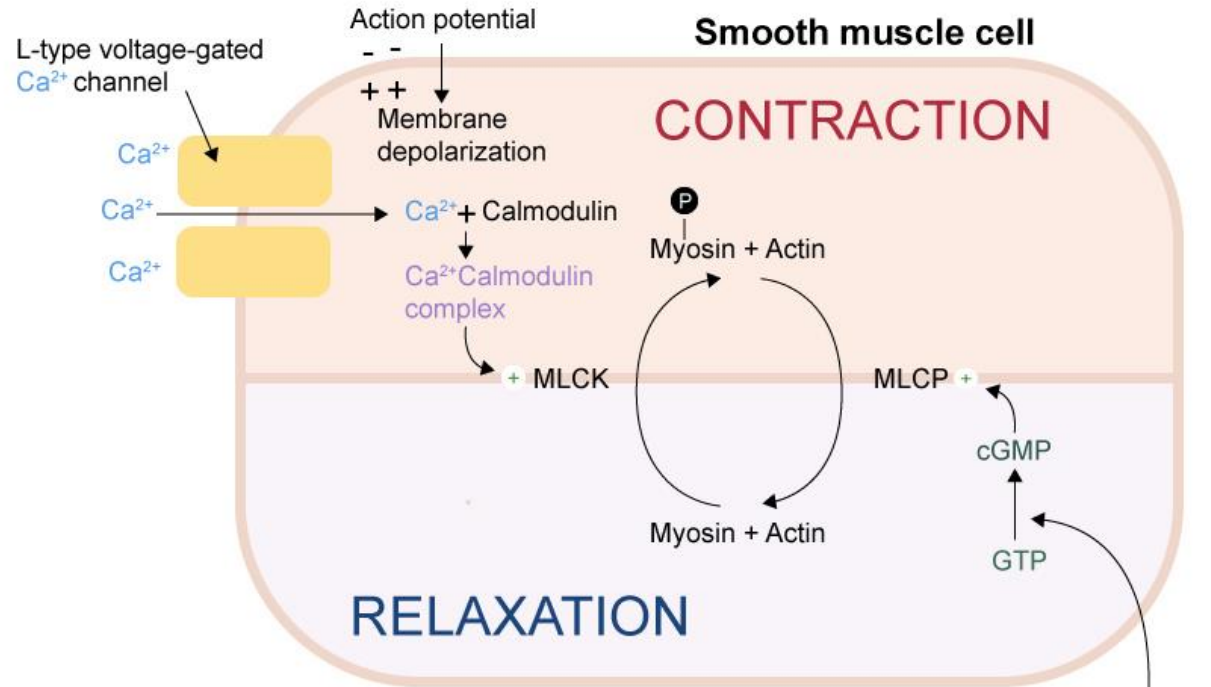
5. Acetylcholinesterase removes acetylcholine from the synaptic cleft.
6.  $\text{Ca}^{2+}$  is transported back into the sarcoplasmic reticulum.
7. Tropomyosin binds active sites on actin causing the cross-bridge to detach.

## Contrazione del muscolo striato scheletrico

1. L'onda di depolarizzazione provocata dalla liberazione di acetilcolina si propaga lungo il sarcolemma ai tubuli T ove attiva i recettori diidropiridinici (VOCC di tipo L) sensibilizzati dalla variazione di voltaggio.
2. Questi attivano a loro volta i recettori rianodinici posti sulla superficie delle cisterne del reticolo sarcoplasmatico determinandone la loro apertura ed il rilascio di calcio che rapidamente diffonde nel sarcoplasma.
3. Gli ioni calcio diffondono all'interno delle mie miofibrille e si legano alla troponina C (costituente proteico del filamento di actina). Questo legame induce dei cambiamenti conformazionali (prevede il coinvolgimento di un'altra proteina costituente l'actina che è la tropomiosina) che metterebbero allo scoperto i siti attivi di legame dell'actina per le teste della miosina determinando lo scorrimento del filamento di actina sulla miosina (teoria dell'avanzamento o della cremagliera) tutto in presenza di ATP.
4. L'acetilcolinesterasi rimuove l'acetilcolina dallo spazio sinaptico e gli ioni calcio vengono immagazzinati dalla pompa  $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$  nel reticolo sarcoplasmatico.



## Contrazione della muscolatura liscia



MLCK = Myosin light chain kinase  
MLCP = Myosin light chain phosphatase  
GTP = Guanosine triphosphate  
cGMP = Cyclic guanosine monophosphate

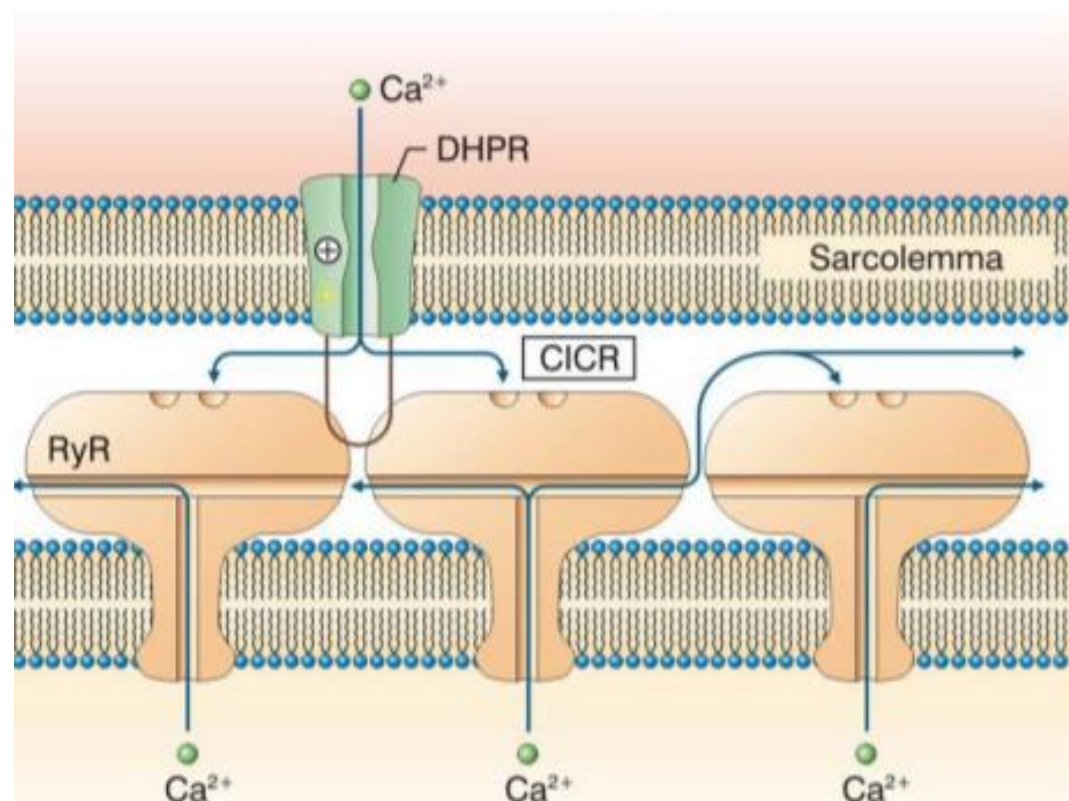
1. Stimolazione ormonale, segnale nervoso e variazione ambiente chimico determinano l'ingresso di calcio
2. Gli ioni calcio si legano alla calmodulina
3. La combinazione calcio-calmodulina si lega alla miosina chinasi
4. La miosina chinasi fosforila una delle catene leggere della miosina (catena regolatrice), quando questa catena è fosforilata la testa di miosina acquisisce la capacità di legarsi al filamento di actina
5. Quando la concentrazione di calcio si abbassa si attiva la miosina fosfatasi che defosforila la catena regolatrice della miosina

## Contrazione del muscolo cardiaco

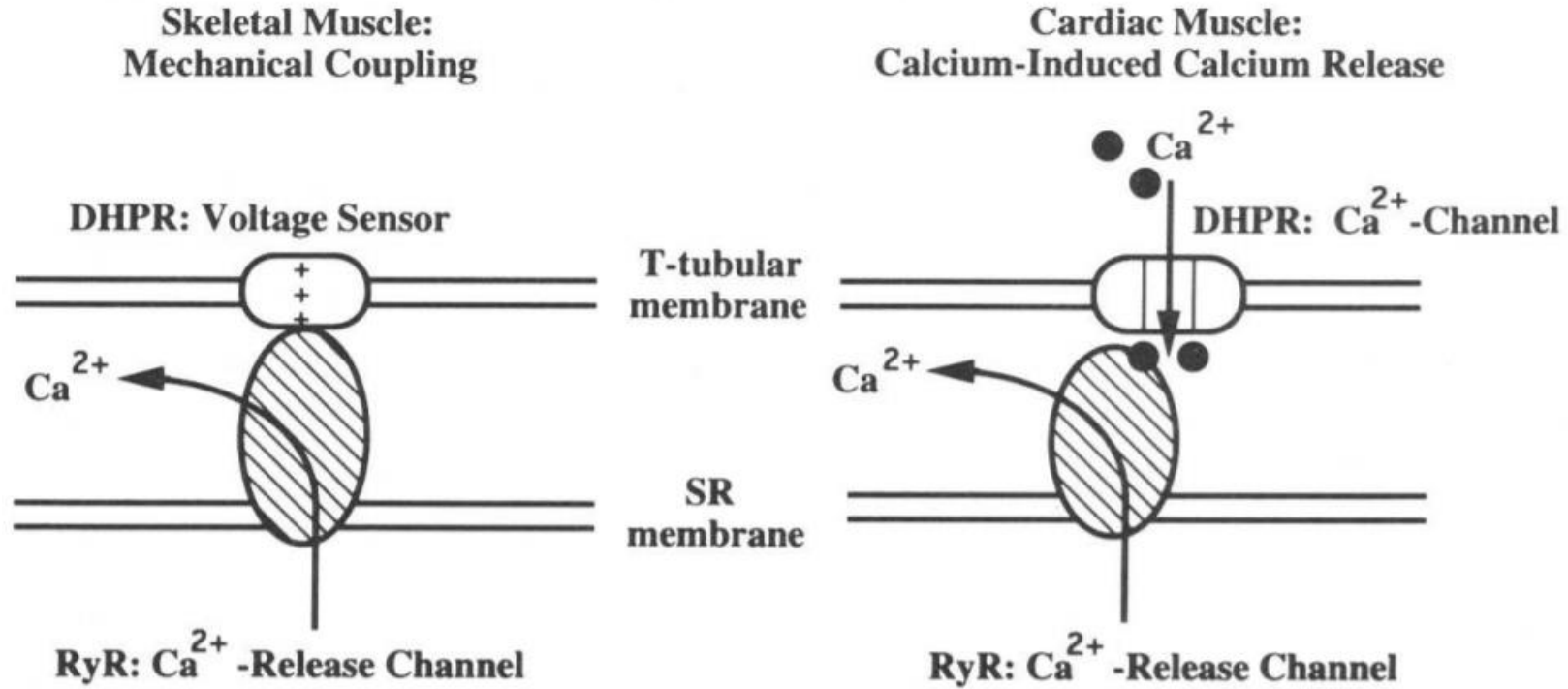
1. È un muscolo striato
2. I meccanismi di contrazione sono simili al muscolo striato scheletrico
3. Il muscolo cardiaco grazie alla presenza dei dischi intercalari e delle gap junctions rappresenta un «sincizio funzionale»
4. Il reticolo sarcoplasmatico è molto meno sviluppato che nel muscolo striato scheletrico, pertanto per la contrazione miocardica il calcio nel liquido extracellulare è di fondamentale importanza

Nel miocardio il numero di DHPR è dalle quattro alle dieci volte inferiore al numero dei RyR, inoltre DHPR e RyR non formano il complesso piede-tetrate tipico del muscolo scheletrico, anche se i due recettori sono contigui. Il meccanismo di apertura dei RyR cardiaci non dipende perciò dalle modifiche strutturali voltaggio-dipendenti dei DHPR, ma dal CICR promosso dalla  $iCa$  che attraversa i DHPR.

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



## Muscolo striato scheletrico vs Muscolo cardiaco



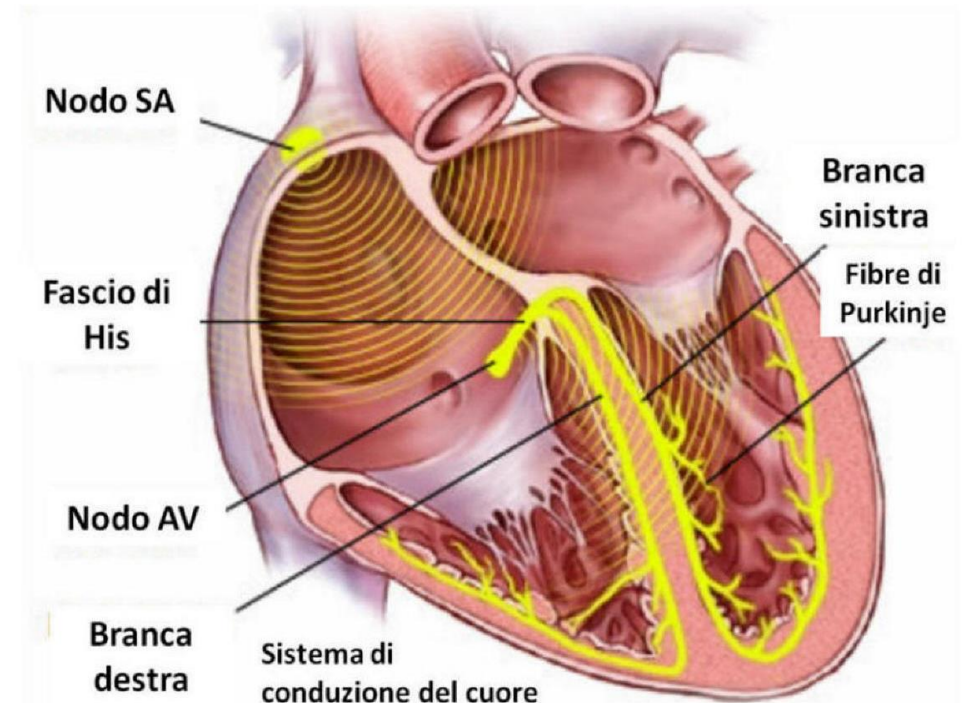
Il VDCR del muscolo scheletrico è un processo più rapido ed efficiente rispetto al CICR cardiaco, quest'ultimo però presenta numerose possibilità di modulazione che sono assenti nel VDCR.

**Ruolo del  $\text{Ca}^{2+}$  nella genesi del potenziale d'azione:** il fondamentale ruolo del  $\text{Ca}^{2+}$  come “messaggero” intracellulare non deve far dimenticare che si tratta di un *catione*, e che il suo ingresso in cellula per apertura di canali voltaggio-dipendenti avrà degli effetti elettrici sul potenziale di membrana. In prima approssimazione, è prevedibile che questo ingresso determinerà una *depolarizzazione*.

- **Canali lenti del calcio voltaggio dipendenti (tipo L):** si attivano molto lentamente richiedono un tempo 10-20 volte più lungo richiesto per l'attivazione dei canali del  $\text{Na}^+$  (canali rapidi) ed essendo anche permeabili al  $\text{Na}^+$  vengono chiamati anche Canali  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ .

#### Caratteristiche del nodo seno-atriale (nodo S-A)

- Auto-ritmicità (potenziale di riposo di soli -55, -60 mV, grazie a canali aperti per gli ioni sodio, più permeabile agli ioni sodio che entrano all'interno neutralizzando la negatività sino ad un valore soglia di -40 mV dove si aprono i canali lenti del calcio e del sodio)
- Esistenza di canali rapidi per il sodio, canali lenti del calcio e del sodio e canali per il potassio
- Fase di plateau (legata all'apertura dei canali lenti del calcio e del sodio).



# Farmaci calcio antagonisti

## Caratteristiche

I calcio antagonisti bloccano quasi esclusivamente i canali voltaggio dipendenti del calcio di tipo L (long-lasting) presenti nella muscolatura liscia e cardiaca

## Effetti

- Nelle cellule muscolari cardiache riducono l'ingresso di calcio con conseguente riduzione della forza di contrazione miocardica (effetto inotropo negativo), riduzione della richiesta di ossigeno e diminuzione della conduzione atrio-ventricolare (effetto utile per trattare le aritmie)
- Nelle cellule muscolari lisce arteriose riducono l'ingresso di calcio con riduzione del tono arteriolare e delle resistenze vascolari sistemiche (riduzione della pressione arteriosa)
- Nelle cellule muscolari striate scheletriche non hanno nessuna azione (utilizzano pool intracellulari di calcio)

# Tipologie di calcio antagonisti

I calcio antagonisti differiscono tra loro per la maggiore o minore affinità con i canali del calcio nei diversi tessuti con conseguenti effetti prevalenti a livello vascolare o a livello cardiaco

**Derivati diidropiridinici** (es. amlodipina): potenti vasodilatatori periferici e coronarici pertanto utilizzati come antiipertensivi o antiantaginosi ma non come antiaritmici

**Derivati fenilalchilaminici** (es. verapamil) e **derivati benzotiazepinici** (es. diltiazem): effetto prevalentemente a livello cardiaco, usati più come antiaritmici

# Normo- calcemia nel cane e nel gatto

## Livelli sierici di calcio in animali adulti

|       | <i>Ca<sup>+</sup> totale (mmol/l)</i> | <i>Ca<sup>+</sup> ionizzato (mmol/l)</i> | <i>PTH integro (pmol/l)</i> | <i>PTHrP (pmol/l)</i> | <i>25-OH-Vit D (nmol/l)</i> | <i>1,25-DiOH (pg/ml)</i> |
|-------|---------------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Cane  | 2,2-2,8                               | 1,2-2,5                                  | 2-13                        | <2                    | 82-285                      | 20-50                    |
| Gatto | 2,2-2,6                               | 1,1-1,4                                  | 0-4                         |                       |                             | 20-40                    |

- Utilizzare plasma con eparina (non altri anticoagulanti)
- In caso di campione lipemico o con iperbilirubinemia ci possono essere dei valori falsamente elevati
- Gli animali in crescita sono solitamente lievemente ipercalcemici
- Dal momento che il calcio è legato alle proteine plasmatiche una diminuzione di queste ultime potrebbe sottostimare il valore del calcio totale pertanto esiste una formula per la correzione di tale valore nel cane:

$$\text{Ca}^+ \text{ corretto (mmol/l)} = \text{Ca}^+ \text{ (mmol/l)} - [\text{albumina (g/l)} \times 0,025] + 0,875$$

# Ipercalcemia nel cane e nel gatto

## Sintomatologia

- Poliuria/polidipsia
- Letargia
- Anoressia
- Vomito

### Meno comuni:

- Costipazione
- Urolitiasi
- Crisi convulsive
- Insufficienza renale
- Aritmie

- È da considerarsi uno stato patologico di per sé ma anche un marcatore di altre patologie

- Più comune nel cane che nel gatto

- Ipercalcemia: patologica e non patologica (negli animali in accrescimento)

- Ipercalcemia transitoria (emoconcentrazione, iperproteinemia, ipoadrenocorticismo, ipotermia ambientale) e persistente patologica

## Cause di ipercalcemia persistente patologica

- Ipercalcemia da neoplasia maligna (linfoma, adenocarcinoma dei sacchi anali, carcinoma polmonare, tiroideo e pancreatico, timoma, osteolisi midollare, mieloma multiplo, leucemia)
- Insufficienza renale cronica
- Iperparatiroidismo
- Ipervitaminosi D (vegetali, rodenticidi, da cause iatrogene)
- Lesioni scheletriche non maligne (osteomielite, osteodistrofia ipertrofica, osteoporosi)
- Patologie infiammatorie granulomatose (micosi profonde, FIP nel gatto)
- Leganti dei fosfati contenenti calcio
- Ipervitaminosi A
- Idiopatica (nel gatto)



## Trattamento della IPERCALCEMIA

| FARMACO                   | CANE              | GATTO         | VIA DI SOMMINISTRAZIONE | MECCANISMO D'AZIONE  |
|---------------------------|-------------------|---------------|-------------------------|--|
| Calcitonina               | 4-8 U/kg/bid      | 4 U/kg/bid    | S.C.                    | Inibizione attività demolitiva osteoclasti                     |
| Furosemide                | 2-4 mg/Kg/bid     | 2-4 mg/Kg/    | e.v., i.m., p.o.        | Favorisce eliminazione renale di Ca <sup>2+</sup>              |
| Prednisone                | 1-2 mg/kg/bid     | 1-2 mg/kg     | p.o.                    | Ridotto assorbimento renale ed intestinale, osso (?)           |
| Desametasone              | 0,1-0,2 mg/kg/bid | 0,1-0,2 mg/kg | e.v.                    | Ridotto assorbimento renale ed intestinale, osso (?)           |
| Bifosfonati (Pamidronato) | 1-2 mg/kg         | -             | e.v.                    | Osso: inibiscono attività osteoblasti e inducono loro apoptosi |
| Bifosfonati (Etidronato)  | 10-40 mg/kg/die   | 10-40 mg/kg   | p.o.                    | Osso: inibiscono attività osteoblasti e inducono loro apoptosi |

# Ipocalcemia



Ci sono due situazioni differenti:

**Bovino:** collasso puerperale o «milk fever»

**Cane e gatto:** eclampsia o tetania puerperale



## Bovina da latte

- Patologia che compare a breve distanza dal parto (solitamente entro le 24 h dal parto)
- Legata ad diminuzione acuta e transitoria dei livelli ematici di calcio
- Infatti dai 20 ai 30 g di calcio vengono destinati alla produzione di colostro
- Ciò comporta una riduzione del calcio sierico al di sotto di 7.5 mg/dl
- Sintomatologia: caratterizzata da 3 fasi in dipendenza ai valori di calcio ematico, caratterizzata da paralisi flaccida e decubito dell'animale

## Cane e gatto

- Cani di piccola taglia entro 3-4 settimane dal parto
- Sintomatologia: 3 fasi, caratterizzata da tetania, spasmi muscolari tonico-clonici e fascicolazioni muscolari

# Perché la stessa condizione patologica determina segni clinici differenti nelle diverse specie?

Nella **cagna** il potenziale soglia è molto più vicino al potenziale di riposo di membrana.

Gli ioni calcio hanno una forte influenza sul valore soglia di attivazione per l'apertura dei canali del sodio. Quando esiste un deficit di ioni calcio basta un lievissimo aumento del potenziale di membrana per attivare i canali del sodio in queste condizioni la fibra nervosa diventa altamente eccitabile. Dunque nella cagna, dove il potenziale di soglia è molto basso questa attivazione è ancora più facilitata. Gli ioni calcio influenzano i canali del sodio legandosi alla superficie esterna della molecola della proteina canale del sodio: le cariche positive degli ioni calcio altererebbero lo stato elettrico della proteina canale facendo così aumentare il livello di voltaggio richiesto per l'apertura del canale del sodio. Inoltre venendo meno la stabilità di membrana le cellule diventerebbero più permeabili agli ioni sodio e più facilmente depolarizzabili.

Nella **bovina** l'ipocalcemia determina un mancato rilascio di Ach a livello della placca motrice **(AZIONE A LIVELLO PRESINAPTICO)**

## Trattamento Ipocalcemia

| Farmaco           | Cane                    | Gatto                  | Via di somministrazione |
|-------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| Calcio gluconato  | 60-90 mg/kg/die tid     | 60-90 mg/kg/die tid    | e.v.                    |
| Cloruro di calcio | 5-15 mg/kg/hr           | -                      | e.v.                    |
| Lattato di calcio | 25-50 mg/kg/die         | -                      | p.o.                    |
| Vitamina D2       | 4000-6000 U*/kg/die bid | 4000-6000 U/kg/die bid | p.o.                    |
| Calcitriolo       | 20-30 ng**/kg/die/bid   |                        | p.o.                    |

\*in seguito 1000-2000 U/kg ogni 24 h

\*\*in seguito 5-15 ng/kg ogni 24 h

## Trattamento Ipocalcemia nella BOVINA

- Calcio Gluconato per via IV **lenta**, dose: 1 g di calcio ogni 45 kg p.v., ci sono formulazioni da 500 ml che contengono 8-11 g di calcio
- **Calcio gluconato-naloxone**: il naloxone è un antagonista dei recettori per gli oppioidi. L'incremento di oppioidi endogeni durante la gestazione determinerebbe uno squilibrio nell'omeostasi del calcio intracellulare ed extracellulare attraverso il blocco dei canali per il calcio di tipo L.
- **Prevenzione curando la dieta nel periodo di asciutta**

**GRAZIE PER  
L'ATTENZIONE!**

Milk



Cow  
Juice



Calcium  
Juice



Boneless  
Bones

