



DESARROLLO DE UN SIMULADOR DE LA REGULACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO POR RIANODINA e IP_3

Frida Jessica Hernández Ruiz^a, Marleni Reyes Monreal^b, María Eugenia Pérez Bonilla^a, Arturo Reyes Lazalde^a.

^aBiología Interactiva, Escuela de Biología, BUAP, Puebla, Pue, jess.dfm@hotmail.com, bonillaeugenia@gmail.com, arturoreyeslazalde@gmail.com

^bDirección General de Innovación Educativa, BUAP, Puebla, Pue. marleni.reyes@yahoo.com.mx

RESUMEN

El Ca^{2+} citoplasmático es un ión muy importante para el funcionamiento celular; sin embargo, la permanencia de altas concentraciones de este ión en el citoplasma causa la muerte de la célula. Por esta razón existen mecanismos que atrapan al Ca^{2+} lo más rápido posible. La difusión del Ca^{2+} es limitada, por un lado, por moléculas quelantes que lo atrapan y, por otro lado, es almacenado lo más rápido posible en el retículo endoplásmico. Esta regulación de la concentración del calcio provoca la presencia de oscilaciones en su concentración. Los mecanismos bioquímicos de este sistema dinámico están mediados por receptores de rianodina e IP_3 . Las oscilaciones de la concentración de calcio citosólico han resultado ser un fenómeno celular importante y recientemente se han investigado intensamente. Juegan un papel determinante en el procesamiento de información intracelular. En el presente proyecto se diseñó y desarrolló un simulador computacional interactivo para la enseñanza-aprendizaje de la dinámica de la concentración de Ca^{2+} . Para este propósito se implementó la solución numérica de un modelo matemático semejante al desarrollado por FitzHugh-Nagumo (FHN). El programa interactivo fue desarrollado en el lenguaje de cómputo Visual Basic Ver. 6.0 para ambiente Windows. El simulador está formado por dos secciones principales: (1) Módulos de lecciones, que permiten al usuario introducirse al tema y (2) Módulo de simulación, que permite al usuario realizar una serie de simulaciones variando las concentraciones iniciales de Ca^{2+} extracelulares e intracelulares.

1. INTRODUCCIÓN

Curiosamente, la señalización por calcio no ocurre de un modo similar en todas las células, pudiendo distinguirse claramente cómo se produce esta señal en células excitables y en células no excitables [1]. Mientras que en las primeras el estímulo que provoca la señalización por calcio lleva a la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje que permiten entrada de calcio extracelular, en las segundas el estímulo lleva a la producción intracelular de IP_3 que dispara la salida de Ca^{2+} desde depósitos intracelulares.

Se han observado oscilaciones de los niveles de Ca^{2+} intracelular en células excitables como neuronas, células cardíacas y células beta pancreáticas, oscilaciones que son acompañadas por fluctuaciones del potencial de membrana. Inicialmente se pensó que las oscilaciones eran exclusivas de células excitables, sin embargo en 1986 Woods et al., describieron oscilaciones de Ca^{2+} intracelular en hepatocitos (células no excitables) estimulados hormonalmente [2], y ese mismo año, Yada et al., describieron lo mismo en células epiteliales en cultivo. A medida que se extendió el uso de las sondas para calcio intracelular y se desarrollaron técnicas de monitorización de calcio a nivel de célula individual, fue incrementándose el número de tipos celulares en los que se detectaban oscilaciones de calcio en respuesta a los estímulos que movilizan calcio [3]. Actualmente hay descritas oscilaciones de calcio intracelular en multitud de células, desde el huevo



fertilizado, hasta células endoteliales, pasando por células de la hipófisis, cromafines, mastocitos, musculares, hepáticas, precursores neuronales, neuroblastos, astrocitos.

En células excitables, las oscilaciones del Ca^{2+} intracelular están reguladas por la frecuencia de los potenciales de acción que se disparan en la membrana, mientras que en células no excitables lo es por la unión de una molécula a su receptor que provoca la generación de IP_3 , el cual se une a receptores en la membrana del retículo endoplásmico. El receptor de IP_3 , que está acoplado a un canal que libera calcio del retículo, posee características moleculares que le permiten ser modulable por calcio, de este modo, el receptor activado en presencia de bajos niveles de calcio, incrementa la permeabilidad del canal a calcio, mientras que altos niveles de calcio disminuyen la permeabilidad del canal [4]. Pero además, este comportamiento rítmico es regulable, de modo que la frecuencia de las oscilaciones puede modificarse al cambiar la frecuencia de los potenciales de acción o la concentración de las moléculas con receptores acoplados a la generación de IP_3 . Así, una codificación por frecuencia de la señal de calcio intracelular permite un mayor rango de respuesta de la célula ante la intensidad del estímulo [4].

Diversos experimentos realizados sobre células secretoras han permitido establecer una relación entre las oscilaciones y los pulsos secretorios. De este modo, se ha sugerido que este comportamiento rítmico podría permitir optimizar el proceso secretorio a la vez que se evitarían los efectos tóxicos de un incremento sostenido de los niveles de Ca^{2+} intracelular [5].

Se han podido medir oscilaciones sincrónicas de calcio intracelular entre las diferentes células de muchos tejidos; por ejemplo, en el hígado se han visto estas oscilaciones sincrónicas entre las diferentes células que componen un lobulillo hepático, la unidad funcional del hígado. Del mismo modo, en una estructura secretora, la sincronización permite que todas las células liberen a la vez y en la misma cantidad la secreción, obteniéndose un funcionamiento perfectamente regulado de la glándula.

La sincronización implica la transferencia de la señal de calcio entre las diferentes células, la llegada simultánea de una señal externa a todas las células o la existencia de ambos fenómenos. Se sabe que existe una transferencia intercelular de la señal de calcio a través de uniones de tipo gap (gap junction), aunque no está claro si lo que pasa a través de estos poros es el propio calcio o algún otro mensajero, como por ejemplo el IP_3 (el calcio tiene una escasa capacidad de difusión en el interior celular debido principalmente al tamponamiento que ejercen las proteínas ligantes de calcio, mientras que el IP_3 sí es muy difusible). También se conoce la existencia de mensajeros extracelulares capaces de actuar en un modo autócrino/parácrino disparando la señal de calcio. Así, por ejemplo, en los mastocitos, que no están acoplados entre sí por uniones tipo gap, cuando se dispara la señal de calcio en uno de ellos, y se co-libera junto con los productos proinflamatorios (fundamentalmente histamina) un mediador extracelular soluble (ATP), que llega hasta células cercanas disparando la señal de calcio en ellas e induciendo la consiguiente liberación de estas moléculas proinflamatorias.

Pero la señal oscilatoria de calcio no solo participa en procesos como la secreción y la contracción, sino también en procesos como la expresión génica. Recientemente se demostró que la frecuencia de las oscilaciones de calcio era capaz de regular la eficiencia y especificidad de la expresión génica [6]. Esto pone de manifiesto la importancia de la señal de calcio en todos los procesos celulares, empezando por la regulación génica y terminando por el control de los productos de los genes, las proteínas. Por ejemplo, las células mamotropas de rata (células de la hipófisis productoras de prolactina) poseen en la región promotora del gen que codifica para la prolactina, secuencias de unión a calcio capaces de modular la expresión del gen, mientras que la liberación de secreción a la sangre está controlada por oscilaciones de calcio; de este modo toda la secuencia de eventos relacionados con la actividad de estas células está regulada por la señal de calcio [7].

El Ca^{2+} como mensajero intracelular es otro ejemplo de logro evolutivo que ha permanecido congelado en el tiempo, que probablemente se desarrolló muy pronto en la evolución de la vida y



sin el cual es inconcebible imaginar la vida tal y como la conocemos y por ende, es muy importante tanto en células excitables como no excitables [8].

2. MATERIAL Y MÉTODO

Se diseñó y desarrolló un programa interactivo para la enseñanza-aprendizaje de la regulación celular del calcio. El programa, que incluye al simulador mismo y las lecciones previas, fue desarrollado con el lenguaje de programación Visual Basic versión 6.0 para ambiente Windows® de 32 y 64bits sistemas operativos Microsoft Windows®. El simulador está basado en las ecuaciones del modelo matemático Two Pool de Goldbeter et. al, 1990.

3. RESULTADOS

El simulador está formado por dos módulos principales: (1) Módulo de lecciones y (2) Simulador. El módulo de lecciones contiene diez lecciones que introducen al usuario al tema de los componentes y procesos que en combinación logran mantener niveles bajos de calcio en el citosol (figura 1). Los temas que se tratan son: El calcio celular, el calcio en las células excitables, los canales de calcio, las bombas de calcio, el retículo endoplásmico y sarcoplásmico, las bombas en el retículo sarcoplásmico, receptores de rianodina, el acoplamiento excitación-contracción, el IP_3 , los receptores a IP_3 .

Un ejemplo de lección se muestra en la figura 2, en esta lección se explica brevemente la función de la bomba PMCA y el intercambiador sodio calcio.



Figura 1. Interfaz donde se muestra el menú principal del programa. El recuadro superior integra un total de diez botones y cada botón conduce a las lecciones especificadas. En la parte inferior, se muestra el botón que lleva al simulador basado en el modelo matemático de Goldbeter *et al.*, 1990.

El ingreso de calcio desde el líquido extracelular está determinado por los canales de calcio voltaje dependientes. La salida de calcio de retículo está determinada por canales de calcio, sensibles a rianodina y los sensibles a IP_3 . Resultado de esta interacción de procesos se produce una oscilación del calcio citosólico (figura 3).

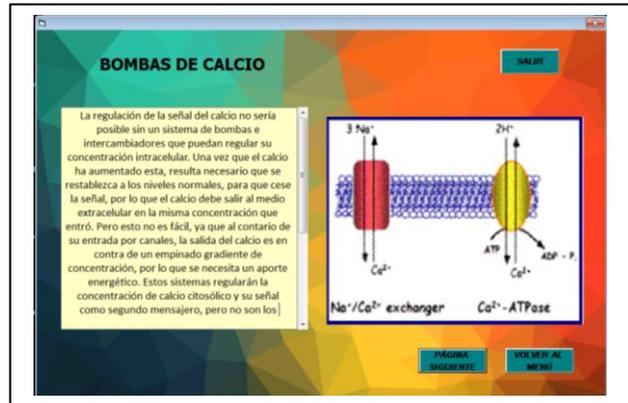


Figura 2. Ejemplo de lección, se muestra la ventana de usuario para la lección correspondiente a las bombas de calcio. En el recuadro de la derecha se muestra el intercambiador calcio/sodio y la ATPasa de calcio. El cuadro de texto introduce al usuario al tema.

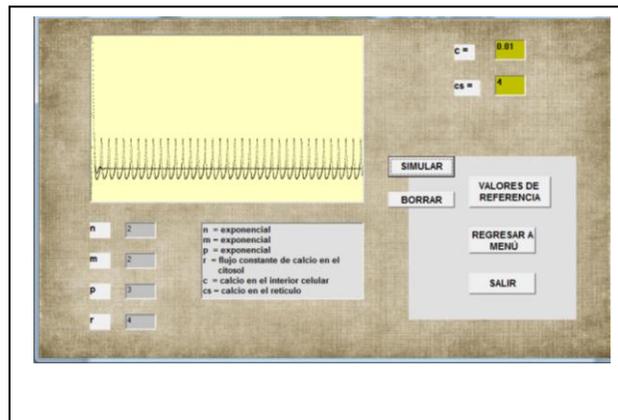


Figura 3. simulaciones para valores de p de 3.5 y 3. se puede observar, primero, una disminución de la frecuencia y amplitud y después el cese de la oscilación de calcio.

4. CONCLUSIONES

Se desarrolló un simulador que permite realizar experimentos virtuales de calcio citosólico. Al modificar los parámetros del modelo matemático, indirectamente se afecta aumentando o disminuyendo la entrada de calcio al citoplasma y la salida de calcio al líquido extracelular y la recaptura del calcio al retículo. Estos cambios modifican las oscilaciones de calcio, aumentando o disminuyendo su frecuencia y su amplitud.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Fewtrell, "Biochemical oscillations and cellular rhythms" *Ann Rev Physiol*, 55, 1993, pp.427-454.



2. N. M. Woods, K. S. Cuthbertson, P. H. Cobbold, "Repetitive transient rises in cytoplasmic free calcium in hormone-stimulated hepatocytes", *Nature*, 319, 1986, pp. 600-602.
3. T. Yada, S. Oiki, S. Ueda, Y. Okada, "Synchronous oscillation of the cytoplasmic Ca^{2+} concentration and membrane potential in cultured epithelial cells (Intestine 407)". *Biochem. Biophys. Acta* 887, 1986, pp. 105-112.
4. E. Carafoli, "Calcium signaling: a tale for all seasons". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(3), 2002, pp. 1115-1122.
5. A. Tse, F.W. Tse, W. Almers, B. Hille, "Rhythmic exocytosis stimulated by GnRH-induced calcium oscillations in rat gonadotropes". *Science*, 260, 1993 pp. 82–84.
6. R. E. Dolmetsch, K. Xu, R.S. Lewis, "Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression". *Nature*; 392(6679), 1998, pp. 933-936.
7. C. Villalobos, W. J. Faught, L. S. Frawley. Dynamic changes in spontaneous intracellular free calcium oscillations and their relationship to prolactin gene expression in single, primary mammotropes. *Molecular Endocrinology*, 12(1), 1998, pp. 87-95.
8. F. J. Bermúdez, "Calcium Rhythm", *J Physiol*, 2, 2002, pp. 251-272.