



DESARROLLO DE UN SIMULADOR DEL FLUJO DE CALCIO POR LAS BOMBAS PMCA Y SERCA

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

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

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

RESUMEN

El ion calcio (Ca^{2+}) es una herramienta universal usada para la transducción de señales extracelulares al interior de las células. Esta función de segundo mensajero se debe a la existencia de una diferencia de tres órdenes de magnitud entre las concentraciones extracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_e$) y citoplasmática ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) basal del ion. En oposición a una $[\text{Ca}^{2+}]_e$ en rangos milimolares, las células mantienen una $[\text{Ca}^{2+}]_c$ basal de aproximadamente 100 nM, por medio del almacenamiento del ion en las vesículas y organelos intracelulares y su expulsión hacia el espacio extracelular. Para esto, las células poseen varios tipos de proteínas integrales de las membranas plasmáticas y vesiculares que bombean el ion en contra del gradiente de concentración por medio de la hidrólisis del ATP: una de ellas es la bomba de calcio localizada en la membrana plasmática (PMCA) y otra, es la bomba de calcio del retículo endoplásmico y sarcoplásmico (SERCA). En ambos casos el calcio es movido en contra de concentración y en consecuencia requieren de ATP. En este trabajo se desarrolló un simulador de los flujos de calcio por estas bombas. El programa fue implementado usando el lenguaje Visual Basic® ver 6.0. El usuario puede variar las concentraciones de calcio de los diferentes compartimientos: dentro del retículo, el extracelular, el intracelular y determinar el flujo de calcio correspondiente para las bombas PMCA y SERCA.

1. INTRODUCCIÓN

La regulación de la señal del calcio no sería posible sin un sistema de bombas e intercambiadores que puedan regular su concentración intracelular. Una vez que el calcio ha aumentado, resulta necesario que se restablezca a los niveles normales, para que cese la señal, por lo que el calcio debe salir al medio extracelular en la misma concentración que entró. Pero esto no es fácil, ya que al contrario de su entrada por canales, la salida del calcio es en contra de un alto gradiente de concentración, esto obliga a un aporte energético para que pueda ser removido del citoplasma



[1,2]. Estos sistemas regularán la concentración de calcio citosólico y su señal como segundo mensajero, pero no son los únicos. También hay bombas e intercambiadores de calcio para la mitocondria y el retículo, donde hay que considerar que la concentración de calcio es mayor ($>10^{-3}M$ en el retículo sarcoplásmico frente a $10^{-7}M$ en citoplasma). El retículo sarcoplásmico es un depósito de calcio. Las bombas e intercambiadores de calcio deben de facilitar la entrada de calcio en mitocondria y retículo, mientras que la salida de este depósito se efectúa por canales de calcio, por donde fluye el calcio a favor de su gradiente de concentración [3, 4].

El calcio que entra por sus canales dependientes de voltaje al citosol [5, 6]; es expulsado de él mediante dos tipos de sistemas citosólicos: (1) una ATPasa dependiente de calcio (PMCA), que intercambia $1Ca^{2+}$ por $2H^{+}$ y que por ello es eléctricamente neutra, y (2) otra que intercambia $1Ca^{2+}$ por $3Na^{+}$ que produce un gradiente electroquímico intermembranal, al tener una carga positiva de más que libera energía, que se puede almacenar para utilizarse en otros procesos que son deficitarios energéticamente¹. Por tanto, la energía necesaria para este proceso contra gradiente se gasta del ATP o del gradiente electroquímico que produce energía libre. El intercambiador Ca^{2+}/Na^{+} , es de gran capacidad de transporte y baja afinidad para el calcio (lo contrario a la bomba ATPasa) y es especialmente importante en células excitables donde se necesita una salida rápida de calcio del citosol. La PCMA forma un complejo enzima fosfato y está codificada por dos familias de genes. Los genes PCMA1 y PCMA4 parecen ser más genéricos, mientras que los PCMA2 y PCMA3 se expresan de una manera más restringida [7].

La entrada de calcio al retículo, tiene lugar mediante una bomba ATPasa dependiente, denominada SERCA, que intercambia $1Ca^{2+}$ por $1-2H^{+}$ (probablemente solo uno), esto hace que en un momento dado, puede no ser eléctricamente neutra. Está codificada, en este caso por 3 genes, SERCA1 más abundante en tejido esquelético, mientras que SERCA2 y SERCA3 lo son en músculo liso y en tejidos no musculares [8, 9].

El flujo de calcio por las bombas PMCA y SERCA disminuye la concentración de calcio del citosol debido a que saca calcio de la célula y/o lo guarda en el retículo. Se han estudiado modelos matemáticos que reproduzcan esta actividad. Una primera aproximación es el uso del modelo de Michaelis-Menten. La ecuación correspondiente está relacionada con una reacción enzimática de primer orden. Basado en esta aproximación Hill propone una ecuación de primer orden para la bomba PMCA. En tanto que, para la bomba SERCA propone una ecuación de segundo orden. Ambas ecuaciones son llamadas función de Hill. Cada una de ellas depende de la concentración de calcio en el citosol.



2. MATERIAL Y MÉTODO

Se desarrolló el simulador mediante el lenguaje Visual Basic® ver. 6.0 para ambiente Windows® los simuladores están basados en el modelo de Hill. Para la bomba PMCA el coeficiente de Hill es uno y para la bomba SERCA es dos. El cambio de la concentración de calcio citoplasmático está basado en el modelo de Goldbeter y colaboradores de 1990.

3. RESULTADOS

Se diseñó y desarrolló un simulador para el estudio del flujo de calcio por las bombas PMCA de la membrana plasmática y para las bombas SERCA en el retículo sarcoplásmico o endoplásmico. El simulador está formado por tres módulos: (1) Paso de calcio por la bomba PMCA, (2) flujo de calcio por la bomba PMCA y (3) flujo de calcio por la bomba SERCA.

En la figura 1, se muestra la ventana para simular el paso del calcio por la bomba PMCA. Este paso de calcio por la bomba depende de la concentración citoplasmática de calcio en la célula, de la afinidad de la bomba por el ión calcio y del potencial de membrana. El usuario puede modificar la concentración interna del calcio y el potencial de membrana para cada nueva simulación.

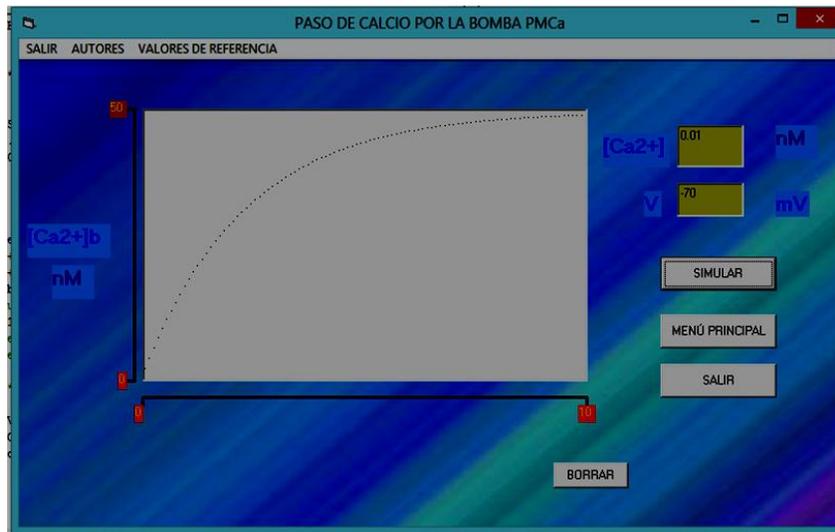


Figura 1. Ventana de interfaz de usuario para simular el paso del calcio por la bomba PMCA. Se observa que rápido y con el tiempo va disminuyendo su velocidad hasta llegar a un máximo.

La figura 2, muestra la ventana de interfaz para simular el flujo del calcio por la bomba PMCA. Este flujo depende de las oscilaciones de calcio citoplasmático. El usuario puede ingresar las concentraciones de calcio que existen en el citoplasmático y en el retículo. En este simulador la frecuencia de oscilación es fija. Cada vez que se produce un incremento en la concentración de calcio citoplasmático, la bomba PMCA saca calcio de la célula al exterior. La velocidad de flujo por la bomba es del orden de $2 \times 10^{-6} \mu\text{M}/\text{cm}^2$, y la constante K de $1 \mu\text{M}$. El usuario puede modificar estas variables dentro del orden de magnitud propuesto.

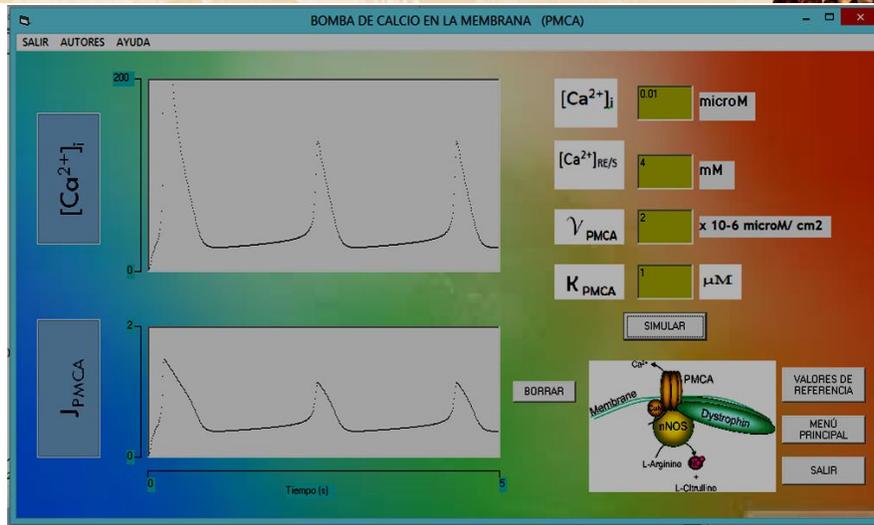


Figura 2. Interfaz para simular el flujo de calcio por la bomba PMCA. Los trazos del recuadro de arriba corresponden a la oscilación de calcio citoplasmático. Los trazos del recuadro de abajo, corresponden al flujo del calcio por la bomba PMCA. Del lado derecho, están cuatro recuadros donde se pueden modificar los valores de las concentraciones de calcio, la velocidad de flujo de la bomba y la constante K.

La figura 3, muestra la ventana para simular el flujo del calcio por la bomba SERCA. Como puede observarse, en este caso, la velocidad de flujo de la bomba es mucho menor que en la bomba PMCA, esto ocasiona que el flujo sea menor. La constante K propuesta para esta bomba es de 2 y la velocidad de flujo es del orden de 2×10^{-4} nM/cm² ms.

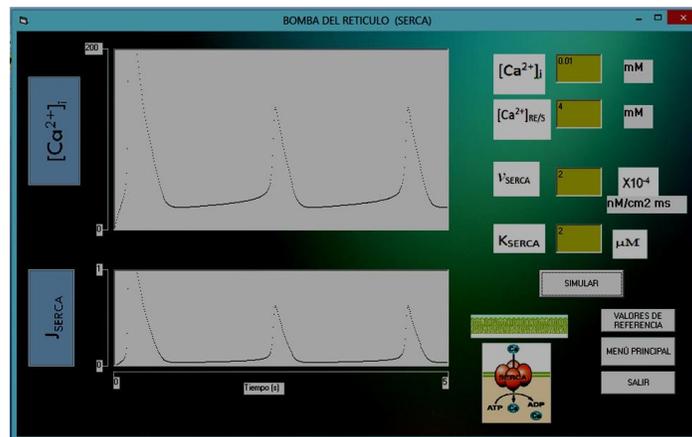


Figura 3. Interfaz para simular el flujo de calcio por la bomba SERCA. El flujo de calcio por la bomba (recuadro inferior), sigue la dinámica de las oscilaciones de calcio citoplasmático.



4. CONCLUSIONES

Este simulador permite a los alumnos comprender de manera interactiva aquellos parámetros que influyen sobre el flujo de calcio por las bombas PMCA y SERCA. Por otro lado se introducen a temas tan importantes como es el control de la concentración de calcio citoplasmático. Este simulador se recomienda usar dentro de la exposición en clase del tema y debe verse como un material didáctico de apoyo para la educación.

BIBLIOGRAFÍA

1. M.J. Berridge, "Neuronal calcium signalling". *Neuron*; 21, 1998, pp. 13-26.
2. E. Carafoli, "Calcium-mediated celular signals: a story of failures". *Trends Biochem. Sci.* 29, 2004, pp. 371-379.
3. G. Benaim, "La Ca^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática como enzima clave en la homeostasis intracelular del calcio". *Estimulación por etanol y otros efectores. Acta Cien Ven.* 55, 2004, pp. 304-314.
4. M. Brini, E. Carafoli, "Calcium pumps in health and disease". *Physiol. Rev.* 89, 2009, pp.1341-1378.
5. E. Carbone, D. Aswandulla, "Neuronal calcium channels: Kinetics, Blockade and modulation". *Prog. Biophys. Melee. Biol.* 54, 1989, pp. 31-58.
6. W.A. Catterall, "Structure and regulation of voltage-gated Ca^{2+} channels". *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 2000, pp. 521-55.
7. L. Dode, C. De Greef, I. Mountian, M. Attard, M.M. Town, R. Casteels, *et al.*, "Structure of the human sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase 3 gene. Promoter analysis and alternative splicing of the SERCA3 pre-mRNA". *J Biol Chem*; 273, 1998, pp. 13982-13994.
8. J. Lytton, A. Zarain-Herzberg, M. Periasamy, D.H. MaCLennan, "Molecular cloning of the mammalian smooth muscle sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase". *J Biol Chem*; 264, 1989, pp. 7059-7065.
9. C. M. Misquitta, D. P. Mack A. K. Grover, sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} (SERCA)-pumps: link to heart beats and calcium waves, *cell calcium*, 25(4), 1999, pp. 277-290.