
MODELO PARA SIMULAR LA HOMEÓSTASIS NEURONAL DURANTE UN INFLUJO INCREMENTADO DEL CALCIO A TRAVÉS DEL CANAL ASOCIADO AL RECEPTOR IONOTRÓPICO DE GLUTAMATO ACTIVADO POR N-METIL-D-ASPARTATO

L. Lareo, S. Albarracín

Departamento de Nutrición y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Cra. 7ª N° 43-82. Bogotá, Colombia
l.lareo@javeriana.edu.co

RESUMEN

Dada la importancia del receptor ionotrópico de glutamato activado por N-Metil-D-Aspartato en los procesos de aprendizaje y la formación de la memoria mediados por el transporte de calcio a través del canal asociado a dicho receptor resulta importante desarrollar modelos que permitan comprender la homeóstasis que le permite a la neurona manejar incrementos en el flujo de dicho catión sin llegar a desarrollar procesos necróticos ni apoptóticos. Este trabajo presenta una sencilla simulación de parte de los procesos metabólicos asociados al receptor como un paso inicial para comprender los mecanismos subyacentes al aprendizaje y memoria.

Palabras clave: aprendizaje, calcio, excitotoxicidad, memoria, modelo, receptor, simulación

ABSTRACT

Given the importance of the ionotropic glutamate receptor activated by N-Methyl-D-Aspartate in learning processes and memory formation mediated by the transport of calcium through the pore channel associated to this receptor; it is important to develop models that permit the understanding of the homeostasis that gives the neuron the capacity to handle an increased flow of this cation without necrosis or apoptosis. This work presents a simple simulation based on the metabolic processes associated with the receptor as a first step to the understanding of the underlying mechanisms of learning and memory.

Key words: calcium, excitotoxicity, learning, memory, model, receptor, simulation

INTRODUCCIÓN

Una de las metas permanentes de muchos científicos es la de incrementar nuestra ca-

pacidad de aprender y memorizar. En 1999 Tsien *et al.*, de la Universidad de Princeton, en colaboración con otros investigadores de MIT y de la Universidad de Washing-

ton, reportaron uno de los grandes avances en este t3pico. Ellos lograron demostrar que incrementando la expresi3n de la subunidad NB2B del receptor ionotr3pico de glutamato activado por N-Metil-D-Aspartato (iGluR-NMDA) en una nueva cepa de ratones gen3ticamente modificados, a los que se denomin3 "Doogie" se obtuvo una mayor capacidad de aprender y memorizar que la de sus cong3neres. Estas investigaciones permitieron demostrar que esta subunidad del iGluR-NMDA es una de las mol3culas clave para regular y controlar la habilidad cerebral de asociar eventos, centro del proceso de aprendizaje. De septiembre de 1999 hasta ahora, el iGluR-NMDA se volvi3 el blanco preferido para el dise1o de medicamentos que buscan incrementar la capacidad de aprendizaje y la memoria y tratar varios de los des3rdenes de la memoria asociados con el envejecimiento.

El iGluR-NMDA es un complejo macromolecular multiheterom3rico constituido por tres tipos diferentes de subunidades proteicas, denominadas NR1, de la que existen ocho isoformas codificadas por el mismo gen que sufre "splicing" alternativo, las NR2 de las cuales existen cuatro diferentes cada una codificada por su propio gen y las NR3 de las que existen dos cada una con su propio gen codificador. No se conoce, a3n, con precisi3n su estructura cuaternaria ni la estequiometr3a del complejo. Este receptor tiene asociado a su estructura un canal cati3nico que permite la electro-difusi3n de calcio y sodio, hacia el interior celular y potasio desde el interior hacia el medio extracelular. As3, este complejo, se constituye en el principal sistema regulador del transporte de calcio en el sistema nervioso central y aparentemente en otros tejidos perif3ricos.

El cambio de la home3stasis del calcio en la c3lula neural puede desencadenar una serie de eventos entre los que se cuentan la necrosis, en el caso de reducci3n de los niveles de calcio, o de apoptosis, en el caso

de que se incrementen indiscriminadamente. Ambas situaciones son controversiales y en el caso del rat3n "Doogie" no se han presentado.

En este trabajo se presenta una simulaci3n metab3lica que permite predecir los niveles de calcio y de prolongaci3n de la activaci3n del poro que pueden ser regulados por los mecanismos homeost3ticos que se conocen para las c3lulas CA1 de hipocampo en las que se logr3 la sobreexpresi3n del receptor.

M3TODOS

Todos los par3metros utilizados para las simulaciones fueron derivados de estudios experimentales publicados. Un ejemplo del uso de dichos valores se presenta en la figura 1. El modelo se desarroll3 en etapas individuales cada de las cuales se integr3 al modelo final para dar una visualizaci3n del proceso completo y se emplearon como mecanismos aceptados de acople entre las mismas s3lo los que han sido descritos experimentalmente. Las simulaciones fueron llevadas a cabo con los programas, Alejandra desarrollado por Athel Cornish-Bauden, que se encuentra a3n en prueba, (Cornisa-Bauden, 2000), GENESIS que es una extensi3n del General Neural Simulation System (Ballha, 1998) y el programa GEPASI (<http://gepasi.dbs.ac.uk>).

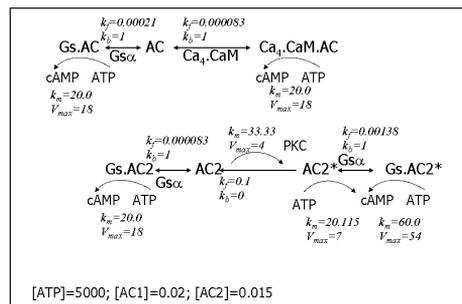
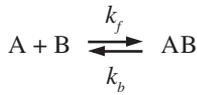


Figura 1. Ejemplo de los par3metros requeridos para el modelaje de cada reacci3n.

La aproximación empleada en este trabajo obedece a las reacciones químicas básicas:



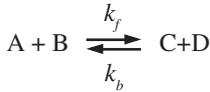
Donde S es el sustrato; E es la enzima; SE es el complejo enzima sustrato y P es el producto.

$V_{max} = k_3$; el sustrato es saturante luego todo E está como SE

$V_{max}(\text{seg-1}) * [\text{Etot}] (\mu\text{M}) = [\text{SE}] * k_3 O [\text{Etot}] * k_3 y$

$K_m (\mu\text{M}) = (k_3 + k_2) / k_1$ (Deff.)

y la ecuación.



Donde A y B son los reactantes; C es el producto. La reacción es completamente reversible.

$K_d = k_b / k_f$ (Deff.)

Si B es limitante, y B/2 es está asociado, entonces en equilibrio

$[A] * [B_{50}] * k_f = [C_{50} = B_{50}] * k_b \Rightarrow [A] = k_f / k_b = (K_d) - 1$

y K_d es la concentración de A en la que el 50% de B está asociado.

Se empleó la cinética de Michaelis-Menten para el caso especial de cascadas de dos enzimas con la premisa que el paso final es irreversible.

Los parámetros celulares básicos para seguir la simulación fueron:

Proporción de proteína en la célula: 15%; proporción de lípido en la célula: 2%; volumen de la célula "modelo": $1 * 10^{-6} \mu\text{l}$; equivalencia de μM a #/célula: $1 \mu\text{M} = 6 * 10^5$ moléculas/célula.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El receptor NMDA presenta un papel esencial en la plasticidad sináptica refinando las

conexiones neuronales durante el desarrollo o en los procesos denominados de potenciación a largo plazo (long-term potentiation, LTP) en aprendizaje y la memoria (5). La proteína quinasa dependiente de Ca^{2+} y calmodulina (CAMKII) están presentes en la respuesta sináptica en el hipocampo y su activación incrementa la respuesta. Se ha evidenciado que el cAMP se requiere para el proceso de LTP (REF.). Con base en estos hechos se propone que la ruta del cAMP dispara la señalización del CAMKII a través de la regulación de las fosfatasa. Ante un influjo alto de Ca^{2+} la CaM (Ca^{2+} /calmodulina) no sólo activa la CaMKII y calcineurina (CaN) sino que también eleva los niveles intracelulares del cAMP a través de la activación de las adenilato ciclasas dependientes de CaM. Con este modelo se evaluaron las interacciones entre las rutas de CaMKII, cAMP y CaN para verificar si son suficientes para producir y regular una prolongación de la activación de la CaMKII luego de que un ingreso masivo de Ca^{2+} ha terminado.

En la figura 2 se presenta el esquema del diagrama de flujos empleado para esta parte del modelo.

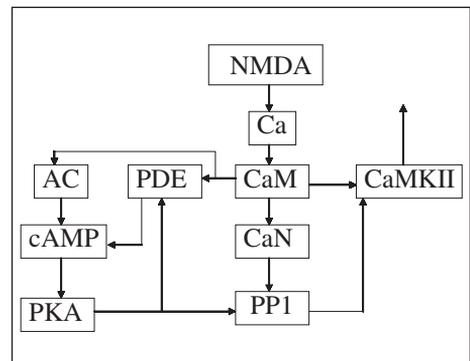


Figura 2. Diagrama de flujo de las enzimas asociadas en el modelo para la regulación de un ingreso de calcio en una neurona postsináptica.

Se simuló la aplicación de un estímulo inicial como el que, se supone, recibiría una célula de Doogie. Esto conlleva a que el poro esté abierto durante, aproximadamente, 230 mseg, más del doble de lo que se tarda en una célula normal. Se calcularon las actividades de las cuatro enzimas, CaMKII, PKA, PPI y CaN, con base en sus concentraciones las cuales se presentan en la figura 3.

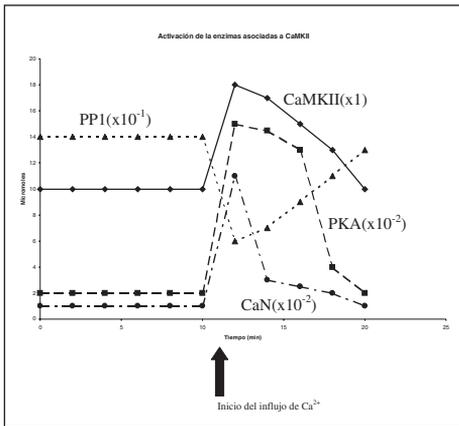


Figura 3. Concentración de las enzimas consideradas en el modelo en el período de tiempo que se evidenció una actividad marcada para el manejo del influjo de calcio.

El incremento inicial de Ca^{2+} causa una activación de la CaMKII, la AC, la CaN y la PKA debido al incremento de cAMP producido por la AC. La simulación predice que la activación de la AC sobrepasa la degradación del cAMP por la activación de la fosfodiesterasa (PDE) por la PKA que a su vez inhibe la acción de la PPI. Cuando la concentración intracelular retorna al valor normal la PKA y la CaN rápidamente son desactivadas. La actividad basal de las mismas asegura que la PPI recupera su actividad en un lapso del orden de los 20 minutos. La PPI aun activa defosforila la CaMKII inactivándola. Así el sistema vuelve a sus valores normales en un lapso máximo de 20

minutos. Esta activación prolongada por el incremento en el flujo inicial de Ca^{2+} durante 20 minutos es suficiente para disparar los procesos fisiológicos asociados al LTP y los incrementos en los procesos de memoria y aprendizaje asociados a este hecho. Este tiempo es también suficiente para que se inicie la síntesis de proteínas necesaria para la memoria a largo plazo (LTM) como ya lo demostraron Goelet *et al.* (1986).

CONCLUSIONES

Según el sencillo modelo de simulación presentado se deriva que si es posible generar un medicamento que sobreestime el iGluR-NMDA para incrementar la actividad del poro de Ca^{2+} mejorar la capacidad de aprender y memorizar y aun manejar esos niveles incrementados con los mecanismos homeostáticos y de señalización normales de la célula. Adicionalmente se sabe que existe un gran número de interacciones en los procesos de señalización diferencial que desencadena la activación del iGluR-NMDA y la concomitante apertura de su canal. Por ejemplo en el presente modelo no se incluyeron las actividades intracelulares asociadas a las modificaciones de la plasticidad neuronal que implica interacciones con las moléculas del citoesqueleto y otras proteínas de soporte. El modelo será mejorado al considerar cinéticas no sólo de Michaelis-Menten que asumen la irreversibilidad de la última etapa sino otras posibilidades de manejo de esas reacciones a nivel celular y otras rutas de señalización asociadas y no asociadas con las enzimas consideradas hasta ahora.

Adicionalmente se puede concluir, a partir de los resultados de esta simulación, que las concentraciones de las enzimas estudiadas están en los niveles intracelulares que les permiten manejar eficientemente incrementos en la concentración de calcio evitando así que se desencadenen procesos

de neurotoxicidad que pueden causar la muerte celular o disparar los procesos apoptóticos.

LITERATURA CITADA

1. BHALLA, U.S. (1998) GENESIS. En *The book of GENESIS*. J. M. Bower y D. Beeman, Eds. Springer-Verlag, Berlin. Capítulo 10; Público en <http://piris.-pharm.mssm.edu/~rilab/>
2. CORNISH-BAUDEN, A. (2000). Alejandra. Programa de simulación metabólica. De uso reservado.
3. GEPASI (2000) <http://gepasi.dbs.ac.uk>
4. GOELET, P.; CASTELLUCCI, V.F.; SCHA-CHER S. y KANDEL E.R. (1986). The long and the short of long-term memory-a molecular framework. *Nature*, 322: 419-422.
5. PLÁTENIK, J.; KURAMOTO N. y YONEKA Y. (2000). Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals. *Life Sciences*, 67: 335-364.
6. TANG, Y.P.; SHIMIZU, E.; DUBE, G.R.; RAMPON, G.A.; KERCHNER, M.; ZHUO, G. LIU y TSIEN, J.Z. (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, 401: 63-69.

Recibido: 12-05-2005
Aceptado: 12-09-2005

