

Contracció cel·lular: modelització i visualització de calci intracel·lular

Alberto López Sola and Joan Francesc Gilabert Navarro

Projectes Enginyeria Física 2

Enginyeria física

Universitat Politècnica de Catalunya

(Dated: 28 de mayo de 2014)

L'objectiu del nostre treball ha estat simular la dependència de la activació/desactivació de la contracció muscular amb la concentració de calci en la cèl·lula muscular. Nosaltres ens hem centrat en simular sota quines situacions la senyalització de calci porta a activar aquest mecanisme mitjançant l'entorn MATLAB, i quins efectes pot tenir una mutació en alguna de les parts responsables.

I. INTRODUCCIÓ

La cèl·lula utilitza diferents mecanismes per sensar excitacions exteriors i per traduir-les en accions. Un d'ells es la alteració de la concentració dels ions de Ca. És molt important degut a que connecta les senyals elèctriques rebudes del sistema nerviós amb la contracció cel·lular.

La conseqüent depolarització cel·lular activa uns canals (VOCCs) que permeten que es formi un flux de Ca dins del citoplasma. Aquest, però, comporta una concentració baixa i local. La finalitat del mecanisme és la d'obrir el reticle sarcoplasmàtic (SR) que actua com a amplificador. Els SR tener una funció d'emmagatzematge del Ca intracel·lular i, al obrir-se fan augmentar la concentració global.

L'obertura o la no obertura dels SR ve regulada per uns canals, els receptors de rianodina (RyRs) que actuen en funció del flux inicial de Ca en un procés anomenat 'Ca-induced Ca-release(CICR)' (Aquest és el punt on nosaltres hem fet les simulacions).

L'increment de la concentració global d'aquest ió permet que les proteïnes actina i miosina entrin en contacte i s'activi d'aquesta manera la contracció. Finalment, un cop la contracció ha acabat, el Ca tornar a dins dels SR a la espera d'una nova excitació.[1]

II. MATERIALS AND METHODS

Per modelitzar un pols de calci variant amb el temps, hem utilitzat la següent funció:

$$Ca(t) = Ca_{max} \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right) \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) \quad (1)$$

Amb τ una constant que determina l'amplada del pols. Aquesta funció compleix que el pols trobi el seu valor màxim en els instants inicials a continuació decaigui ràpidament a 0. Tal i com era d'esperar si pensem que es degut a un impuls electric.

El problema del CICR resideix en que aquest procés no es tan fàcil de modelitzar com podria ser mitjançant *rate equations*. Es pot comprovar que per un nombre petit de canals de RyR els resultats no convergeixen. Per aquesta raó em treballat amb altres models que s'ajusten de millor manera al comportament real.

El comportament dels canals de RyR es modelitza mitjançant un model estocàstic. Podem pensar en el RyR com una molècula amb quatre estats possibles, on només un d'ells obre el SR. Llavors, direm que la probabilitat de saltar d'un estat a l'altre o de quedar-se on està vindrà donada pel producte d'una constant per l'infinitesimal de temps de la nostra simulació.

Per tant, per cada iteració de temps evaluarem una variable aleatoria uniforme entre 0 i 1 i depenent del valor obtingut sabrem si el canal de RyR canvia d'estat o es queda com està.[2]

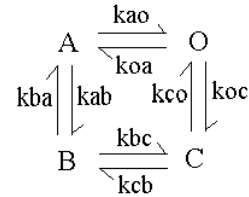


Figura 1: Esquema dels quatre estats possibles del RyR

El model determinista dels canals RyR utilitza les *rate equations* de l'equació (2).

$$\begin{aligned} \frac{dA}{dt} &= Ok_{oa} + Bk_{ba} - A(k_{ab} + k_{ao}) \\ \frac{dB}{dt} &= Ak_{ab} + Ck_{cb} - B(k_{ba} + k_{bc}) \\ \frac{dC}{dt} &= Bk_{bc} + Ok_{oc} - C(k_{co} + k_{cb}) \\ \frac{dO}{dt} &= Ak_{ao} + Ck_{co} - O(k_{oa} + k_{oc}) \end{aligned} \quad (2)$$

Aquest comportament només és observable amb un número elevat de canals de RyR.

Hem simulat els dos models, l'estocàstic i el determinista i hem estudiat la convergència dels dos per a un nombre de canals elevat.

Per simplificar i veure més clarament la convergència dels dos models s'ha treballat amb el cas concret en que el canal només té dos estats. L'única modificació que cal fer respecte l'original es posar les constants $k_{ab}=k_{oc}=0$.

La dependència del calci als nostres models s'introdueix mitjançant les *equation rates* del model, en el model de quatre estats hi ha vuit *rates* en total com es pot veure a l'equació (2) i a la figura 1, quatre són constants i les altres quatre depenen de la concentració de calci segon les següents fórmules:

$$k = k_o \frac{\frac{[Ca]^2}{k_d^2}}{1 + \frac{[Ca]^2}{k_d^2}} \quad (3)$$

$$k = k_j \frac{\frac{[Ca]}{k_d}}{1 + \frac{[Ca]}{k_d}} \quad (4)$$

on k representa una *rate* qualsevol i k_d, k_o, k_j són constants. En concret, al model de quatre estats, k_{AO} i k_{BC} es calculen utilitzant (3), mentre que k_{OC} i k_{AB} utilitzen (4). En el cas del model de dos estats, només hi ha dos *rates*, k_{ao} que fa ús de (3) i k_{oa} que és constant.

S'ha desenvolupat un codi per simular el comportament estocàstic basat en múltiples iteracions on cada cop s'evalua una variable aleatoria uniforme per determinar si hi ha o no canvi d'estat en funció de les contants.

Per veure com aproxima aquest mètode al determinista s'ha de simular per molts canals a l'hora. Això traduït al codi només suposa tornar a iterar tot el procés tantes vegades com canals volguem simular.

Fins aquí hem considerat que la concentració de calci és independents per a dos instants de temps diferents, ara canviem això, prenent a cada instant com a vector d'ocupació inicial el vector d'ocupació de l'instant anterior i afegint a la concentració de calci un terme de *feedback* segons l'expressió:

$$Ca_{nou} = Ca + \frac{c}{n} \cdot g - diff_{out}(Ca_{keep} - 0,1) \quad (5)$$

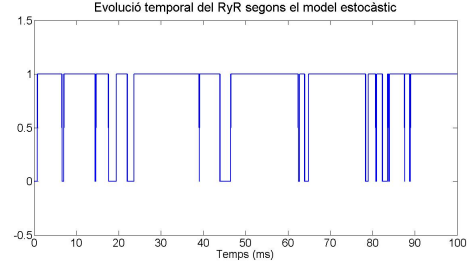
on c és el nombre de canals obert, n el nombre de canals totals, g i $diff_{out}$ són coeficients que responen al calci entrant pels canals oberts i a la difusió respectivament i Ca_{keep} és la concentració Ca_{nou} en l'instant anterior.

III. RESULTATS

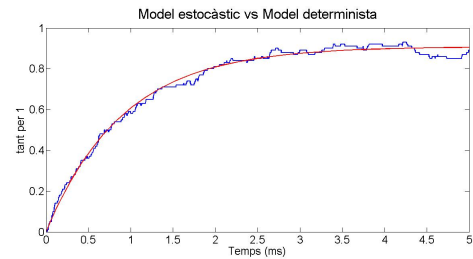
Comencem a exposar els resultats obtinguts partint del model de dos estats, s'observa a la figura 2a com el

comportament d'un sol canal de RyR no té cap tipus de comportament determinista.

La raó per la qual la majoria de temps es troba en l'estat obert és perquè hem posat les constants $k_{ao} = 1ms^{-1}$ i $k_{oa} = 0,1ms^{-1}$.



(a) Canvis d'estat (1 obert, 0 tancat) d'un canal de RyR



(b) Comparativa de l'evolució temporal del nombre d'estats oberts dels dos models

Figura 2: Resultats per al model de dos estats

A continuació comparem el model estocàstic i determinista. Com es pot veure a la figura 2b, per un número de 100 canals de RyR el model estocàstic (blau) aproxima de manera adequada al comportament determinista (vermell). Amb l'augment progressiu dels canals, la corba cada cop aproxima millor a la descrita per les equacions diferencials.

Llavors, podem concloure que el model estocàstic es comporta com s'havia pensat en un principi. També es pot simular de manera homòloga per el cas de 4 estats i continua donant els mateixos resultats.

Passem ara a observar els resultats relacionats amb els polsos de calci. S'ha comprovat que la funció del calci que entra a la cèl·lula sigui correcta de manera qualitativa. Es pot veure com té un comportament semblant a un pols, de manera que la concentració augmenta molt en un període de temps molt curt per després tornar a 0.

Els resultats més interessants del treball són probablement els obtinguts en introduir el *feedback* de calci donat a l'expressió (5) i utilitzant el model de quatre estats lleugerament modificat. Les constants donades per l'equació (3) ara tenen un exponentes 4 i treballem amb uns valors de $g=10$ i $diff_{out}=0.1$.

Amb aquestes condicions obtenim les ocupacions relatives dels estats (relatives al nombre de canals total) i la

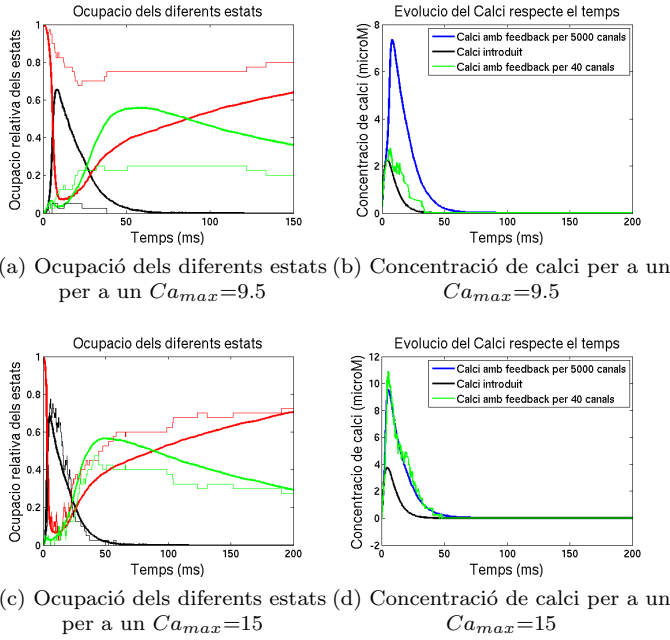


Figura 3: Resultats per a diferents valors de C_{max} amb 40 canals i 5000 canals

concentració de calci present tenint en compte tots els efectes (entrada de calci, difusió, canals oberts). Variant el nombre de canals podem també fer una comparativa entre el comportament més determinista o estocàstic que trobem. Per a un nombre de canals alt (en el nostre cas 5000) veiem que els resultats s'assemblarien més a un model determinista, mentre que per a un nombre més baix (40 canals) seria més aleatori, amb una senyal amb més soroll.

En concret presentem els resultats per a 40 i 5000 canals i per a valors de C_{max} en (1) de 9.5 i 15. Les línies gruixudes en 3a i 3c representen resultats per a 5000 canals, les fines per a 40. En aquestes mateixes figures les línies vermelles representen la ocupació de l'estat A, les negres l'estat O i les verdes l'estat B, l'estat C no apareix representat perquè no té molta importància dins del nostre estudi.

Podem veure a la figura 3 que per a un valor de $C_{max}=9.5$ i 40 canals (línia fina) menys del 10% dels canals s'obren mentre que per 5000 canals (línia gruixuda) aquest percentatge és bastant elevat. Per tant veiem que en aquesta concentració de calci els resultats del model més determinista i el model estocàstic són molt diferents. En canvi per a $C_{max}=15$ fins un 60% s'obre en els dos casos. A més també podem observar a les figures 3d i 3b com la concentració de calci augmenta considerablement per als dos nombres de canals en el cas de $C_{max}=15$, mentre que per a $C_{max}=9.5$ la concentració donada per l'equació (5) s'ajusta pràcticament a la funció de l'equació (1).

A. Mutacions

Un dels components de la cèl·lula més importants per al nostre treball és el receptor de ryanodina, RyR, una proteïna que forma els canals intracel·lulars de calci. Concretament ens fixem amb la RyR2, més present al teixit muscular del cor, mentre que altres receptors del mateix tipus existeixen, com ara el RyR1, present als músculs esquelètics o el RyR3, molt present en el cervell.

Mutacions en la proteïna RyR2 pot provocar un mal funcionament del cor, actuant sobre la concentració de calci en els processos en el que aquest ió actua com a senyalitzador. Aquest és el cas en bona part dels casos de *Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia* (CPVT), una enfermetat que provoca un ritme cardíac anormal (arrítmies), alguns símptomes d'episodis d'aquesta malaltia són vertigen, marejos i desmaís.[3]

Per tal d'observar els efectes que podria tenir una mutació d'aquest tipus, en el nostre model modifiquem el valor de k_0 en (3) i repetim els gràfics de la figura 3, com podem veure a la figura 4, aquest canvi fa que la majoria dels canals no s'obrin en situacions on en condicions normals hi havia un nombre important de canals oberts. Això impediria el pas d'ions calci, provocant un mal funcionament del mecanisme senyalitzador. Això podria dur a enfermetats com la CPVT que abans hem comentat.

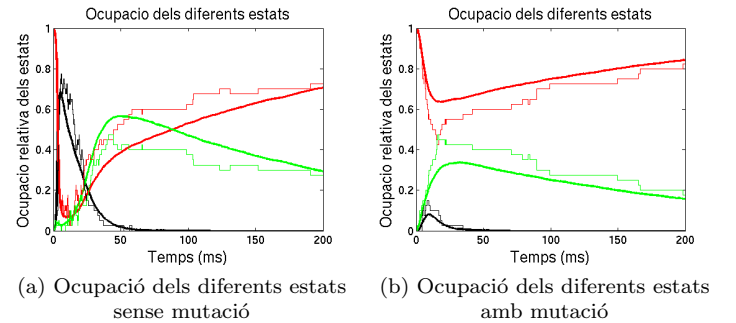


Figura 4: Ocupació dels diferents estats per a 40 i 5000 canals i $C_{max}=15$

IV. DISCUSSIÓ I CONCLUSIONS

Combinant models estocàstics i deterministes hem vist com per a un nombre elevat de canals LCC els dos models convergeixen, mentre que si aquest nombre és baix el comportament es completament diferent.

Aquest tractament és important perquè experimentalment el número de canals no sempre es molt elevat, per tant no és suficient amb un model determinista

per estudiar la contracció cel·lular. Per això cal una alternativa que descrigui de manera adequada tots els casos possibles. Finalment, hem pogut aplicar el que s'ha après en una mutació per veure els seus efectes. Cosa que no hagués sigut possible amb un sol model.

-
- [1] Martin D. Bootman, Daniel R. Higazi, Stephen Coombes and H. Llewelyn Roderick, *Calcium signalling during excitation-contraction coupling in mammalian atrial myocytes*, (2006)
- [2] Sten Rüdiger, *Stochastic models of intracellular calcium signals*, Institute of Physics, Humboldt University at

- Berlin, Germany (2013)
- [3] *Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia*, disponible a <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/catecholaminergic-polymorphic-ventricular-tachycardia>, U.S. National Library of Medicine (2009)