

CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS QUE MODULAN LA DINÁMICA DE CALCIO INTRACELULAR HEPÁTICO DURANTE LA EXPRESIÓN DEL OSCILADOR SINCRONIZADO POR ALIMENTO.

Báez-Ruiz A, Vázquez-Martínez O, y Díaz-Muñoz M. Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro. Teléfono y fax: 5623-4035. E-mail: adrientalin@hotmail.com

Una gran variedad de funciones fisiológicas y conductuales muestran un ritmo circadiano en mamíferos, los cuáles son controlados por el núcleo supraquiasmático (NSQ). Sin embargo, a pesar de que los ciclos de luz-oscuridad son un sincronizador muy importante, se sabe que mediante un procedimiento de restricción temporal en el acceso de alimento también es posible sincronizar a otro reloj, conocido como oscilador sincronizado por alimento (OSA), y el cual es independiente al NSQ. No se ha definido el sitio anatómico donde reside este reloj, pero se postula que éste consiste en una compleja asa de retroalimentación entre sistema nervioso y órganos periféricos, implicados con el control hambre-saciedad. Una manifestación de la expresión de éste reloj es la conducta anticipatoria al alimento (CAA), un fenómeno que implica cambios conductuales y fisiológicos, que incluyen una condición reostática hepática distintiva.

El Ca^{2+} actúa como un segundo mensajero presente en la regulación de diversos procesos metabólicos y otras funciones celulares. Su manejo es un proceso muy delicado y es llevado a cabo por una gran cantidad de proteínas. Se conocen algunos de los procesos de mantenimiento de la homeostásis de Ca^{2+} intracelular hepático en condiciones normales (Barrit, 2000) o los cambios que sufre la regulación de este catión en modelos patológicos: de regeneración inducida por hepatectomía (Díaz-Muñoz et al, 1998 y Magnino *et al*, 2000), de cirrosis y fibrrosis inducidas por intoxicación con CaCl_2 y ligación canalicular respectivamente (Dufour *et al*, 1999). Sin embargo, no hay información acerca de cómo podría estar regulado el manejo de dicho mensajero hepático durante la expresión del OSA. Si los diversos procesos de regulación del funcionamiento hepático se encuentran modulados por cambios en la concentración de Ca^{2+} intracelular, y el hígado presenta tantas modificaciones ya mencionadas anteriormente durante la manifestación del oscilador circadiano del alimento, la pregunta de nuestra investigación es si la maquinaria que orquesta el manejo de Ca^{2+} intracelular se pueda ver modificada también en respuesta a la adaptación que sufre dicho órgano en nuestro modelo de estudio.

El planteamiento de este proyecto busca explorar una posible relación entre el manejo de Ca^{2+} intracelular en el hígado y la expresión del OSA a partir del estudio de las proteínas que modulan la homeostásis de este catión, utilizando diferentes pruebas bioquímicas, de biología molecular e inmunohistoquímicas. Para comprobar ésta hipótesis, se estudiarán a los receptores a Ryanodina e IP_3 , así como a la ATPasa de Ca^{2+} , mediante métodos de inmunohistoquímica, biología molecular. En los resultados obtenidos hasta el momento, se ha encontrado diferencias en la expresión de algunas de las proteínas antes mencionadas (microarreglos de cADN, Tabla I), así como también cambios en el

funcionamiento del receptor a Ryanodina, a través de un ensayo de unión específica utilizando un ligando marcado radiativamente (Tabla II), y la actividad de la ATPasa de Ca^{2+} . De acuerdo con los datos obtenidos, se cumple la hipótesis planteada, la cual postula que la homeostasis hepática de calcio se verá afectada durante la expresión del OSA.

PROTEÍNA	GENE	AAB VS CTRLB	AA11 VS CTRL11	AA14 VS CTRL14	CTRL11VS AYUNO	AA11 VS AYUNO
PMCA	1	---	2.8 ▼	---	---	---
	2	2.3 ▲	9.3 ▲	---	---	---
	3	2.6 ▼	---	---	16.4 ▲	13.2 ▲
	4	---	---	---	---	---
SERCA	1	---	---	---	---	7.5 ▼
	2	---	---	---	---	9.1 ▼
	3	---	---	---	---	---
RYR	1	2.6 ▲	---	15.2 ▲	2.5 ▼	---
IP ₃ R	1	---	---	---	---	---
	2	---	2.8 ▼	---	---	---
	3	---	2.8 ▼	---	---	---

Tabla I Expresión de genes relacionados con el manejo de Ca^{2+} intracelular. Los símbolos ▲ representan aumento en la expresión de ese gen, mientras que ▼ significa un decremento.

GRUPO EXPERIMENTAL	Bmax (nmol)	Kd (fmolas/mg)
<i>ad libitum</i> 11	22.0	15.2
HRA 11	27.1	57.5
Ayuno 24 hrs	11.8	5.6

Tabla II. Análisis de Scatchard del receptor a ryanodina. En el se dan a conocer los siguientes datos: Bmax (número de receptores presentes) y Kd (constante de disociación, el cual describe la afinidad del receptor por su ligando).

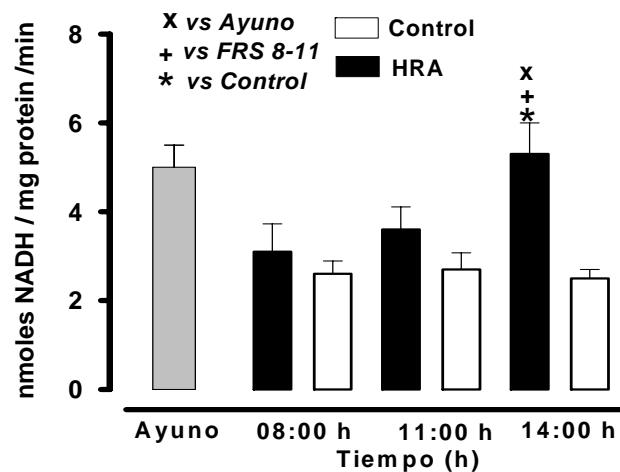


Figura 1. Actividad de la SERCA en fracciones microsomales hepáticas. Los símbolos indican diferencias significativas contra los grupos señalados.