



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

BIOQUÍMICA DEL Ca^{2+} Y SU FUNCIÓN COMO MENSAJERO INTRACELULAR

Alumno: Aurora Araque Arcones

Julio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

BIOQUÍMICA DEL Ca^{2+} Y SU FUNCIÓN COMO MENSAJERO INTRACELULAR

Alumno: Aurora Araque Arcones

Julio, 2020

ÍNDICE

RESUMEN Y ABSTRACT	5
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
LISTA DE ABREVIATURAS	7
1. INTRODUCCIÓN	10
2. OBJETIVOS	13
3. ABSORCIÓN Y VITAMINA D	13
3.1. METABOLISMO DE LA VITAMINA D.....	14
3.2. ABSORCIÓN INTESTINAL DE CALCIO.....	16
4. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO EN EL INTERIOR DE LAS CÉLULAS: PROTEÍNAS IMPLICADAS	17
4.1. HOMEOSTASIS DEL Ca^{2+} EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO/ SARCOPLASMÁTICO (ER/ SR).....	18
4.1.1. RECEPTORES IP_3 (IP3R).....	18
4.1.2. RECEPTORES RIANODINA (RYR)	20
4.1.3 ATPASA DE Ca^{2+}	21
4.2. HOMEOSTASIS DE Ca^{2+} EN LA MITOCONDRIA	23
4.2.1. INTERCAMBIADOR Na^+/Ca^{2+} MITOCONDRIAL (NCX).....	24
4.2.2. INTERCAMBIADOR H^+/Ca^{2+} MITOCONDRIAL.....	24
5. EL CALCIO COMO SEGUNDO MENSAJERO	25
6. HORMONA PARATIROIDEA (PTH)	28
7. PROTEÍNAS DE UNIÓN AL CALCIO	29
7.1. Proteínas mano EF.....	30
7.1.1. CALMODULINA (CAM)	30
7.1.2. TROPONINA C.....	31
7.2. ANEXINAS	32

7.3. PROTEÍNAS QUINASAS (PKC)	32
8. EFECTOS DEL CALCIO SOBRE EL METABOLISMO CELULAR	33
9. FUNCIONES Y PROCESOS CELULARES DEPENDIENTES DE CA²⁺.....	35
9.1. CONTRACCIÓN MUSCULAR	35
9.2. TRANSMISIÓN NERVIOSA	36
9.3. REGULACIÓN ENZIMÁTICA	37
9.4. PROCESOS DE COAGULACIÓN	38
CONCLUSIONES.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	40

RESUMEN Y ABSTRACT

RESUMEN

El calcio es un ión muy versátil con multitud de funciones en el ser humano, cuyo objetivo es mantener la homeostasis del organismo, que se debe en su mayor parte a la señalización de Ca^{2+} , además de considerarse como segundo mensajero, ayudando a otros metabolitos a realizar su función. El calcio se encuentra unido a diversas proteínas como la albúmina, o disuelto en el plasma.

Para mantener la homeostasis principalmente se requiere la presencia de dos hormonas la paratohormona (PTH) y la vitamina D, de manera que cuando la vitamina D es absorbida a través de la luz solar se produce la correspondiente absorción de calcio en el intestino principalmente por vía activa.

La señalización celular se produce gracias a proteínas implicadas en el transporte y almacenamiento, situados en los diferentes reservorios de este ión, como los receptores IP_3 y los receptores rianodina localizados principalmente en el RE, mientras que en la mitocondria otro reservorio de calcio encontramos el uniportador mitocondrial (MCU).

El calcio utiliza la vía del IP_3 para amplificar la señal a las demás células. Esta vía se caracteriza por la fosforilación de proteínas que provocan la salida del calcio de su lugar de reserva, de forma que queda libre en el citosol aumentando de esta manera su concentración y llevando a cabo respuestas celulares en forma de copa invertida. Finalmente destacar los procesos celulares que dependen del calcio. Este ión participa en la contracción muscular, en la liberación de los neurotransmisores, en la regulación enzimática, así como en procesos de coagulación.

Palabras clave: Calcio, vitamina D, contracción muscular, transmisión nerviosa.

ABSTRACT

Calcium is a very versatile ion with a multitude of functions in humans, whose objective is to maintain the homeostasis of the organism, which is mostly due to Ca^{2+} signaling, in addition to being considered as a second messenger, helping other metabolites to perform its function. Calcium is found attached to various proteins such as albumin, or dissolved in plasma.

In order to maintain homeostasis, the presence of two hormones, parathormone (PTH) and vitamin D, is required, so that when vitamin D is absorbed through sunlight, the corresponding absorption of calcium occurs in the intestine, mainly via active.

Cell signaling occurs thanks to proteins involved in transport and storage, located in the different reservoirs of this ion, such as IP3 receptors and ryanodine receptors located mainly in the ER, while in the mitochondria another calcium reservoir we find the uniporter mitochondrial (MCU).

Calcium uses the IP3 pathway to amplify the signal to the other cells. This pathway is characterized by the phosphorylation of proteins that cause calcium to escape from its reserve site, so that it remains free in the cytosol, thereby increasing its concentration and carrying out cellular responses in the form of an inverted cup.

Finally highlight the cellular processes that depend on calcium. This ion participates in muscle contraction, in the release of neurotransmitters, in enzymatic regulation, as well as in coagulation processes.

Key words: Calcium, vitamin D, muscle contraction, nerve transmission.

LISTA DE ABREVIATURAS

1 α ,25-OH₂D₃: calcitriol

24R,25(OH)₂D₃: 24-hidroxicalcidiol

25-OHD₃ – (25 – hidroxivitamina D₃) o calcidiol.

ACH: Acetilcolina

AMPA –R: Receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico.

ATP: Adenosin trifosfato

BBM: Membrana de borde en cepillo

Bcl-2: Proteínas de regulación de la liberación de citocromo c

C1: Dominio catalítico

C2: Dominio regulador

Ca/P: Calcio/ fósforo

Ca²⁺: Calcio

CaM: Calmodulina

CaSR: Receptor sensible de calcio

CO₂: Dióxido de carbono

DAG: Diacilglicerol

DBP: Proteína fijadora de la vitamina D.

DHRP: Canales de tipo L voltajes dependientes

ER: Retículo endoplasmático

GDP: Guanosín difosfato

Gla: G- carboxiglutamina.

GTP: Guanosín trifosfato

H⁺: Cation de hidrógeno

IAP: Proteínas de inhibición de la apoptosis

IP₃R: Receptor inositol 1,4,5 – trifosfato

Kd: Constante de disociación

LPS: Lipopolisacárido.

Mano EF: Dominios estructurales de hélice –asa– hélice.

MCU: Uniportador mitocondrial de Ca^{2+}

Mg^{2+} : Magnesio

$\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$: Sodio/ calcio

nAChR: Receptor nicotínico de acetilcolina

NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido

NCX: Intercambiador sodio/ calcio ($\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$)

NMDA-R: Receptor N- metil –D– aspartato

Pi: Fósforo inorgánico

PIP_2 : Fosfatidilinositol bisfosfato

PKC: Proteína quinasa

PLB: Fosfolambam

PMCA: Bomba de calcio de membrana plasmática

PtdIns (4,5) P_2 : Fosfatidilinositoles 4,5 - bisfosfato

PTH: Paratohormona

PTH1R: Receptor PTH1

QH2: ubiquinol – citocromo – c reductasa

RyR: Receptor de rianodina

SERCA: Bomba de calcio de la membrana plasmática

SNARE: Receptores de proteínas soluble sensible al extremo amino - terminal
etilmaleimida

Tn I: Troponina I

Tn T: Troponina T

TnC: Troponina C

UVB: Rayos ultravioleta

VDR: Receptor de vitamina D

VGCC: Canales operadores de voltaje

Vitamina D: (1,25 dihidroxicolecalciferol)

Vitamina D2: Ergocalciferol

Vitaminina D3: Colecalciferol

1. INTRODUCCIÓN

El papel fisiológico del calcio nació en Londres en 1883 cuando un fisiólogo británico Sidney Ringer estaba trabajando con tejido cardíaco de ranas observando la contracción del corazón aislado. Tras el experimento observó que si el corazón se encontraba en una solución isotónica realizada con agua del grifo, la contracción era óptima, no obstante repitió el experimento utilizando suero salino que contenía agua destilada en lugar de agua natural y examinó que la contracción era más lenta hasta finalmente detenerse, sin embargo si a esta agua destilada le adicionaba sales de calcio se conservaban las contracciones del mismo modo que cuando se realizó con agua corriente (Tresguerres, 2005).

El calcio (Ca^{2+}) es un nutriente mineral inorgánico, un elemento regulador necesario para el organismo además de estructural, puesto que participa en numerosos procesos corporales para mantener la homeostasis del organismo, es decir, que el calcio tiene la capacidad de presentar una serie de características que le permiten establecer el equilibrio en el organismo, gracias a la existencia de una multitud de procesos biológicos que dependen de las concentraciones idóneas de calcio tanto intracelulares como extracelulares, de esta forma el Ca^{2+} es utilizado para la transducción de señales extracelulares al interior de las células favoreciendo así una respuesta celular vital.

La versatilidad del Ca^{2+} como segundo mensajero es muy revelante porque en la célula existe multitud de enzimas cuya actividad está regulada directa o indirectamente por Ca^{2+} y/o la proteína calmodulina. Su concentración es más de cuatro órdenes de magnitud mayor en el medio extracelular que en el medio intracelular, (Díaz Horta, 2003) por lo que pequeños cambios en la concentración citosólica de Ca^{2+} induce la activación de multitud de procesos celulares.

Participa en funciones metabólicas a nivel intracelular donde es el responsable de establecer el potencial de membrana en la transmisión del impulso nervioso, además de intervenir en numerosas reacciones enzimáticas. También lleva a cabo procesos a nivel extracelular participando en funciones como la excitabilidad de la placa neuromuscular, en la coagulación de la sangre y en la secreción endocrina, así como en el mantenimiento de la permeabilidad de las membranas celulares, en la contractibilidad del corazón, en procesos metabólicos concretamente como segundo mensajero y en la formación del hueso donde a pesar de constituir su estructura, es

una reserva de calcio para conservar una concentración adecuada de este electrolito en la sangre.

Este mineral debe ser incorporado con la dieta, debido a que es un nutriente que no se puede sintetizar, lo podemos encontrar en alimentos como la leche y sus derivados, además de pescados como las sardinas, hortalizas, frutos secos, leguminosas, entre otros.

La absorción es un punto clave en la regulación que depende de varios factores que condicionan dicha absorción por ejemplo se produce una mayor absorción cuando la ingesta de calcio es baja y existe una deficiencia nutricional de la relación calcio / fósforo (Ca/P), por el contrario, se produce una absorción inferior cuando las cantidades de calcio ingeridas habitualmente son altas. Esta absorción se ve influenciada por promotores (Vitamina D, algunos aminoácidos y la lactosa en niños) e inhibidores (oxalatos, exceso de fosfatos, grasa o cinc) (Lorenzo Corchón, 2020).

Los minerales que se encuentran presentes en el organismo los podemos encontrar como electrolitos con carga positiva (cationes) y con carga negativa (aniones) cuando se encuentran inmersos en una solución acuosa como la sangre o líquidos extracelulares. El calcio se encuentra en el organismo sobre todo en estado iónico (Ca^{2+}), también las sales minerales asociadas a este ión como el fosfato cálcico se disocian en la solución, asimismo forma parte de compuestos orgánicos entre los que cabe destacar las fosfoproteínas.

Existen minerales que atraviesan fácilmente la sangre por la que circulan y posteriormente se excretan a través de los riñones, otros por el contrario como es el caso del calcio requieren transportadores para ser absorbidos y circular por la sangre. El Ca^{2+} es uno de los minerales más abundantes en el esqueleto, se encuentra en forma de cristales de hidroxapatita y otros fosfatos de calcio que contiene el 99% del calcio total del organismo, el resto de calcio se distribuye entre los líquidos intersticiales, líquido cefalorraquídeo, en el interior de las células y en el plasma sanguíneo. Del total de calcio que hay en el organismo tan solo el 1% forma parte del plasma.

El Ca^{2+} plasmático se encuentra distribuido:

- Calcio plasmático no difusible: Constituye el 46% y se encuentra unido a las proteínas en su mayor parte a albúmina, y en una menor proporción al resto de globinas. Este electrolito se considera una reserva plasmática de calcio ya que no difunde fuera de la membrana capilar.

- Calcio plasmático difusible:

- Calcio iónico: Representa el 47.5% del calcio plasmático, es la fracción más importante ya que está controlada por las hormonas que participan en los intercambios con los diferentes órganos como es el riñón, tubo digestivo y huesos.
- Calcio no ionizado: Constituye el 6.5% del calcio plasmático y forma parte de complejos como bicarbonatos, fosfatos, citratos y sulfatos. (Férrandez, et al, 2011)

Los mecanismos que regulan el metabolismo del calcio (Ca^{2+}) deben intervenir en el hueso, riñón e intestino. Para ello este ión debe atravesar la membrana celular, que es una bicapa hidrófoba, utilizando diferentes sistemas de transporte como canales iónicos en la membrana plasmática y de orgánulos subcelulares, los cuales permiten el transporte a favor de gradiente a través del hialoplasma, así como proteínas transportadoras y bombas iónicas favoreciendo la retirada del ión fuera del hialoplasma en contra de gradiente de concentración.

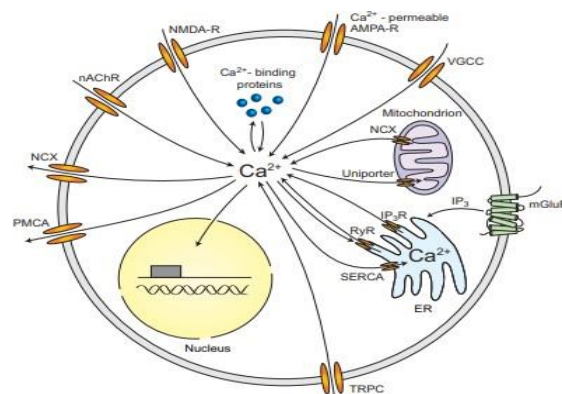


Figura 1: Homeostasis del calcio intracelular: La fotografía representa los distintos canales de Ca^{2+} , mecanismos de bombeo y sistemas tamponados que presenta la membrana celular que permite la entrada de Ca^{2+} en condiciones normales. Existen bombas de calcio tipo PMCA y el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) que permiten la liberación de Ca^{2+} en contra de gradiente de concentración. Bombas tipo SERCA presente en orgánulos como retículo endoplasmático en el que el calcio citoplasmático es captado por este gracias a proteínas citosólicas que unen Ca^{2+} . Cuando la concentración de calcio es elevado también es captado por la mitocondria a favor de gradiente. Por otro lado el Ca^{2+} almacenado puede ser liberado al hialoplasma o al núcleo a través de canales de Ca^{2+} activados por IP_3 (IP_3R), mediante el receptor rianodina (RyR). También se puede observar canales operadores de voltaje (VGCC), canales operadores de receptor entre los que se encuentran (nAChR) y canales de Ca^{2+} que participan en la entrada de este ión al citosol (NMDA-R) y (AMPA-R) (Grienberger & Konnerth, 2012).

A causa de su importancia, el mantenimiento en el organismo de las concentraciones de calcio presente en las células y en la sangre, se ayuda de dos hormonas principalmente, la paratohormona (PTH) y la calcitonina de actuación rápida, y la vitamina D (1,25-dihidroxicolecalciferol) que actúa a más largo plazo. La PTH aumenta la reabsorción de calcio en el hueso (a través de un aumento de la actividad osteoclástica) y en riñón (a nivel tubular). La vitamina D por el contrario aumenta la absorción de calcio en el intestino y en el hueso (Férrandez, Sosa, & Setton., 2011).

El estudio de la bioquímica del calcio es muy importante ya que la gran mayoría de procesos que se producen en el organismo dependen del calcio, por lo que se realizará un breve estudio en el que se expondrá con más detalle los diferentes receptores, así como las diversas funciones en las que participa como mensajero intracelular.

2. OBJETIVOS

Como se ha mencionado anteriormente el calcio es un elemento de gran interés, ya que la homeostasis del organismo se debe en su mayor parte a la señalización de Ca^{2+} dando lugar a multitud de funciones que van desde la proliferación en el hueso hasta la apoptosis celular. Por este hecho se realizará una revisión sobre los conocimientos actuales del calcio como uno de los mensajeros intracelulares. Su función es de crucial importancia ya que es el que se encarga de actuar como señal para llevar a cabo las funciones vitales del organismo.

3. ABSORCIÓN Y VITAMINA D

A principios del siglo XX se identificó la vitamina D concretamente en el año 1930. Al principio la vitamina D se identificó como una vitamina tradicional, ya que nuestro organismo por si solo no es capaz de producirla y debemos ingerirla a través de los alimentos, sin embargo posteriormente se observó que esta proteína puede ser producida por el organismo por medio de una reacción fotoquímica al exponer la piel a la luz solar.

Su nombre hace referencia a una molécula constituida por 4 anillos (A,B,C,y D) con cadenas laterales distintas. (Peters & Araújo Martini , 2015). Los anillos son derivados del colesterol, dando lugar a la estructura principal de los esteroides (cortisol, aldosterona, estradiol), ya que presenta la estructura principal del anillo

ciclopentanoperhidrofenantreno. (Zuluaga Espinosa et al, 2011), por lo tanto se considera como un esteroide liposoluble.

En los seres humanos podemos encontrar la vitamina D de dos formas o compuestos diferentes: Vitamina D₃ o colecalciferol y vitamina D₂ o ergocalciferol. La primera es la fuente más importante de vitamina D en el organismo, se sintetiza en la membrana de las células epidérmicas por la exposición al sol donde es absorbida por los rayos ultravioleta B (UVB), en una longitud de onda entre 290 y 315nm sobre el 7-dehidrocolesterol. Otra de las formas de obtener esta vitamina es a través de la dieta normal o suplementada. Esta vitamina aparece en alimentos como el pescado azul, en la yema de huevo, pan y cereales, con el inconveniente de que esta vitamina es muy escasa en productos que se consumen habitualmente. La vitamina D₂ por el contrario es producida por plantas fúngicas y levaduras a partir del ergocholesterol. (Alonso et al, 2010).

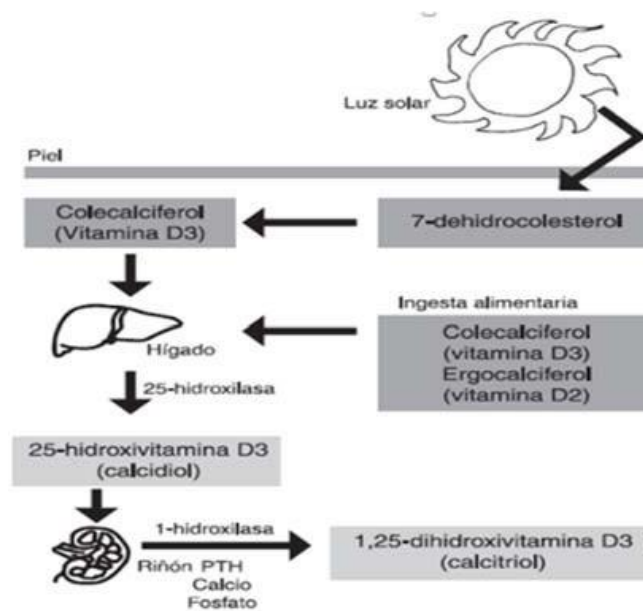
En el organismo ambos compuestos son inactivos por lo que deben sufrir una serie de transformaciones hasta convertirse en productos activos y así poder llevar a cabo funciones esenciales en el organismo como pueden ser la homeostasis del calcio.

3.1. Metabolismo de la Vitamina D

Una vez que la vitamina D ha sido absorbida por las irradiaciones ultravioleta de la piel transforma al 7-dehidrocolesterol en previtamina D₃ a través de una reacción fotoquímica. Estructuralmente esta vitamina es incompatible con las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos de la membrana plasmática, como consecuencia es expulsada hacia el medio extracelular y se une a una proteína específica del hígado concretamente la α -2 globulina. (Querales, Marvin , Cruces, Rojas, & Sanchez, 2010). Para activarse esta hormona debe sufrir dos hidroxilaciones sucesivas: la primera de ellas tiene lugar en el hígado, para ello la vitamina D₃ unida a la proteína del suero α -2 globulina viaja por la circulación sanguínea hasta el hígado donde se convierte en 25-hidroxivitamina D₃ (25-OHD₃), denominada calcidiol, que es el principal metabolito de esta vitamina. La hidroxilación se lleva a cabo en los hepatocitos donde una serie de enzimas catalizan la hidroxilación con función de citocromo P450, incluyendo CYP2R1, CYP2D25, CYP27A1, CYP3A4 Y CYP2J3, las cuales favorecen la conversión de vitamina D₃ a 25-hidroxivitamina D₃ (25-OHD₃). (Zuluaga Espinosa et al, 2011). La segunda hidroxilación se lleva a cabo en los riñones, para ello el calcidiol unido a una proteína de unión a la vitamina D (DBP), es transportada hasta el riñón,

para finalizar el proceso de activación en el túbulo proximal donde la megalina que es la proteína que se encuentra en la membrana plasmática de las células tubulares renales, lo introduce en la célula, formando dos metabolitos la $1\alpha,25$ - dihidroxivitamina D_3 [$1\alpha,25$ -(OH) $2D_3$], conocida como calcitriol, y la $24R,25$ -dihidroxivitamina D_3 [$24R,25$ (OH) $2D_3$], también conocido como 24-hidroxicalcidiol. De esta manera el calcitriol es liberada y dirigida hacia la mitocondria donde se convierte en la forma hormonalmente activa de esta vitamina, gracias a la enzima 1- hidroxilasa llevando a cabo la mayoría de sus efectos biológicos, que son mediados por el factor de transcripción nuclear conocido como receptor de vitamina D (VDR). La $1,25$ (OH) $2D$ tiene una función endocrina muy importante que es la de mantener la homeostasis del calcio. (Gómez de Tejada Romero, et al, 2011). La producción de calcitriol esta regulada por la propia concentración de $1\alpha,25$ - dihidroxivitamina D_3 , la hormona paratoidea (PTH) y las concentraciones séricas del calcio y el fosfato.

Figura 2: Metabolismo de la vitamina D.



La vitamina D realiza su función calcitropa en distintos órganos, regulando la síntesis de diversas hormonas en las células intestinales, paratoideas, óseas y renales, pero su función principal es regular la homeostasis del calcio, que consiste en aumentar la absorción del calcio que tienen lugar en el intestino, siendo el principal regulador de su absorción activa (Peters & Araújo Martini , 2015).

La vitamina D presenta varias vías para mantener las concentraciones de calcio:

- Atrae a las proteínas que se encuentran implicadas en la absorción intestinal del calcio, asimismo estimula la absorción de fosfato. (Es un mecanismo que

se desconoce hasta el momento). Cuando el calcio no se halla en la dieta, la vitamina D es capaz de movilizar el calcio mediante mecanismos complejos, que provocan la estimulación de los osteoblastos y la activación de los osteoclastos. En este proceso la hormona paratiroidea (PTH) desempeña un papel importante, debido a que es una sustancia esencial producida por la glándula paratiroidea que ayuda al organismo a almacenar y a utilizar el calcio.

- Tanto la vitamina D como la parathormona son las que se encargan de la reabsorción del calcio filtrado a través del túbulo distal. (Navarro- Moreno & Alía- Ramos , 2006)

3.2. Absorción intestinal de calcio

La absorción de calcio en el intestino tiene lugar mediante dos vías diferentes: un transporte activo (transcelular) concretamente en el duodeno y un transporte pasivo (paracelular) que ocurre en todo el intestino.

En la vía transcelular el calcio entra desde el lumen a la célula a través del plasmalema del enterocito, concretamente la membrana de borde en cepillo (BBM) donde se encuentran canales de calcio especializados (TRPV5 y TRPV6). Posteriormente se produce una difusión intracelular mediada por la proteína citosólica ligadora de calcio (calbindinD -9K), que transporta al calcio hacia la cara basolateral del enterocito en la que se encuentran unas proteínas: la Ca^{2+} -ATPasa y el anti-porter $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ cuya síntesis está regulada por la vitamina D (Quesada Gómez & Sosa Henríquez, 2011), y donde es excretado al espacio extracelular. Esta absorción acontece cuando la vitamina D procede de los alimentos o de alimentos poco ionizables. (Boland, 2005). El transporte por vía paracelular se lleva a cabo mediante la difusión de iones entre los espacios intracelulares de las células, para ello el Ca^{2+} atraviesa las uniones herméticas celulares por transporte pasivo. Este tipo de transporte ocurre cuando el ión calcio que hay en la luz del intestino se encuentra en concentraciones altas o normales, aquí no participa la vitamina D y por lo tanto la absorción por este mecanismo solo depende del aporte dietético de Ca^{2+} difusible. (Quesada Gómez & Sosa Henríquez, 2011)

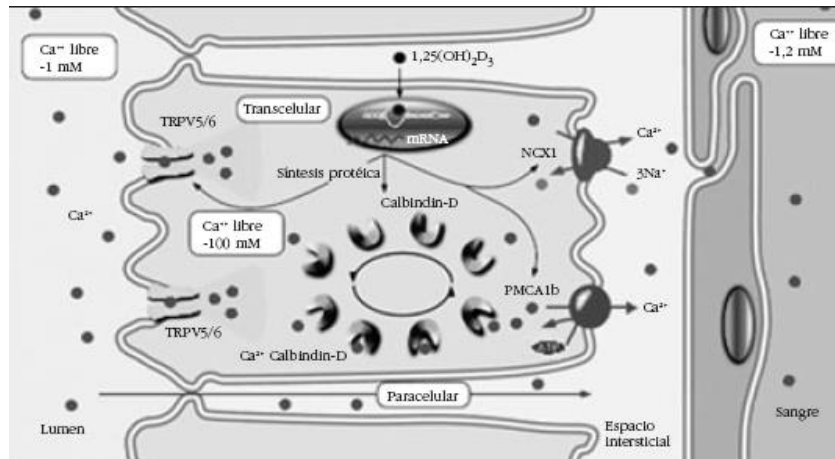


Figura 3: Transporte epitelial del calcio:

Las células del intestino absorben el calcio que hay en el medio mediante transporte transcelular y paracelular. El calcitriol que es la forma en la que el calcio se encuentra en el plasma estimula las primeras etapas del transporte activo (transcelular) en la que el Ca^{2+} entra a la célula a través de los canales de calcio que hay en la membrana (TRPV5 y TRPV6), después se produce una difusión intracelular unido a la calbindinas y finalmente se produce la expulsión al espacio extracelular gracias a una ATPasa (PMCA1b) y el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX1). El transporte paracelular es pasivo y se produce a través de las uniones herméticas entre las células y es expulsado al medio extracelular solamente por el gradiente electroquímico del Ca^{2+} (Quesada Gómez & Sosa Henríquez, 2011).

4. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO EN EL INTERIOR DE LAS CÉLULAS: PROTEÍNAS IMPLICADAS

El ión calcio Ca^{2+} es el responsable de una gran variedad de procesos celulares diferentes, es el motivo por el cual la señalización celular regulada por este ión tiene gran importancia. En la homeostasis del Ca^{2+} hay multitud de orgánulos intracelulares que son capaces de acumular calcio en su interior consiguiendo una concentración de Ca^{2+} similar o superior a la concentración que hay en el citosol. Estos reservorios de calcio son el retículo endoplasmático (ER), la mitocondria, el aparato de Golgi, y otros compartimentos ácidos, entre los que cabe destacar los gránulos de secreción. En el aparato de Golgi la acumulación de Ca^{2+} es menor que en el resto de orgánulos.

El Ca^{2+} es continuamente bombeado desde el hialoplasma hacia los orgánulos intracelulares a través de ATPasas situadas en la membrana plasmática mediante un

transporte con gasto de energía metabólica. Mientras se produce el estado de reposo los canales se encuentran cerrados siendo la concentración de Ca^{2+} baja.

4.1. Homeostasis del Ca^{2+} en el retículo endoplasmático/ sarcoplasmático (ER/ SR)

El retículo endoplasmático (ER), es un orgánulo multifuncional en las células eucariotas, se distribuye a través de un sistema complejo de membranas internas continuo, que se despliega por toda la célula, compuesto por una envoltura nuclear y un conjunto de túbulos y hojas, las cuales se forman y se colapsan continuamente. (Shibata et al, 2010). El calcio es almacenado en este orgánulo con el objetivo de mantener y regular la concentración de calcio citoplasmática. Este orgánulo realiza un abanico de funciones como regular el calcio a nivel muscular en la contracción/ relajación gracias a que presenta una captación y liberación rápida. (Michalak & Opas, 2009).

El retículo sarcoplásmico (RS) es el principal depósito de Ca^{2+} intracelular, donde la concentración de este ión es similar a la del medio extracelular (10^{-3} M). En dicho orgánulo existen dos tipos de canales de liberación de Ca^{2+} : el receptor de inositol trisfosfato o (IP_3R) y el receptor de Rianodina (RyR).

4.1.1. Receptores IP_3 (IP_3R)

Los receptores IP_3 se consideran un modelo de mensajeros intracelulares, son canales de calcio que se encuentra en aquellas células no excitables situados en la membrana del RE, así como en vesículas secretoras neuroendocrinas y en la membrana citoplasmática cuya función es la de incrementar los niveles de calcio citosólico activando a los receptores de calcio de los depósitos intracelulares, permitiendo la liberación de Ca^{2+} . Para llevar a cabo este proceso el inositol fosfato se une a receptores localizados en la membrana de este orgánulo. (Mikoshiba, 2007)

En la actualidad existen 3 isoformas de los receptores IP_3 : $\text{IP}_3\text{R1}$, $\text{IP}_3\text{R2}$ e $\text{IP}_3\text{R3}$ presentando mayor afinidad por el calcio la isoforma $\text{IP}_3\text{R2}$ y menor afinidad $\text{IP}_3\text{R3}$. La isoforma $\text{IP}_3\text{R1}$ predomina en el sistema nervioso concretamente en las células de Purkinje, por el contrario los receptores de tipo $\text{IP}_3\text{R2}$ prevalecer en células hepáticas y musculares, por último la isoforma $\text{IP}_3\text{R3}$ se encuentra distribuida uniformemente.

La estructura de estos receptores consta de: un dominio controlador catalítico C-terminal y un dominio supresor N-terminal capaz de participar en la regulación de la actividad de la proteína a través de la unión de $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$, están distribuidos formando un complejo macromoleculoso de tetrámeros compuestos por subunidades que rodean un poro que tiene poca afinidad por el ión calcio. Cada subunidad contiene un único espacio de unión para el IP_3 en el extremo N-terminal y un dominio transmembrana. Este dominio citosólico se sitúa en el lugar de unión al IP_3 y a la calmodulina cerca del extremo amino-terminal de la proteína. (Iwai, Michikawa, Ivan, Ikura, & Katsuhiko, 2007), (Taylor, Genazzani, & Morris, 1999).

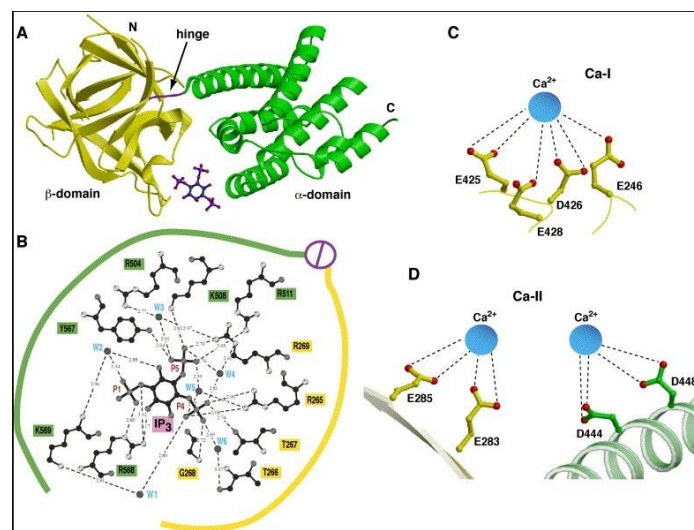


Figura 4. Estructura del receptor IP_3 : A. Configuración tridimensional, formada por un dominio alfa con actividad catalítica y un dominio β con actividad supresora. B. Disposición del núcleo IP_3 en los receptores $\text{IP}_3\text{R1}$ donde se pueden observar los dominios de los extremos catalíticos y supresores en el exterior quedando el núcleo encerrado. C y D. Configuración que se adopta cuando el ión calcio se incorpora a sus zonas de unión (Bosanac et al, 2004).

La apertura del canal de calcio tiene lugar por la vía IP_3/DAG que eleva la concentración de Ca^{2+} citosólico. Ésta se activa al ligarse (hormonas) a determinados receptores acoplados a la proteína G que conllevan la posterior activación de la fosfolipasa C, una vez que el inositol trifosfato IP_3 ha entrado al hialoplasma provoca la apertura de los canales de calcio del RE de forma que se libera iones Ca^{2+} almacenados en el hialoplasma aumentando la afinidad de receptores IP_3 para que se produzca una mayor liberación. La elevación de la concentración de Ca^{2+} mediada por este receptor es transitoria ya que existe una serie de ATPasas localizadas en la membrana que provoca el bombeo activo de calcio desde el hialoplasma hacia el

espacio extracelular. En este proceso también se produce la hidrólisis de fosfato del IP_3 que inhibe la liberación de Ca^{2+} desde el retículo endoplasmático.

En resumen la apertura de estos canales mediante el receptor IP_3 es estimulada por los iones calcio, que cuando existe una alta concentración en el citosol se inhibe la liberación inducida por este receptor.

4.1.2. Receptores rianodina (RYR)

Estos receptores son homotetrámeros con una distribución en forma de campana. Se encuentran también en la membrana del retículo endoplasmático, siendo un receptor típico de células excitables, se trata de un canal de cationes poco selectivo por el ión calcio y con una alta conductividad. (Mackrill, 2010)

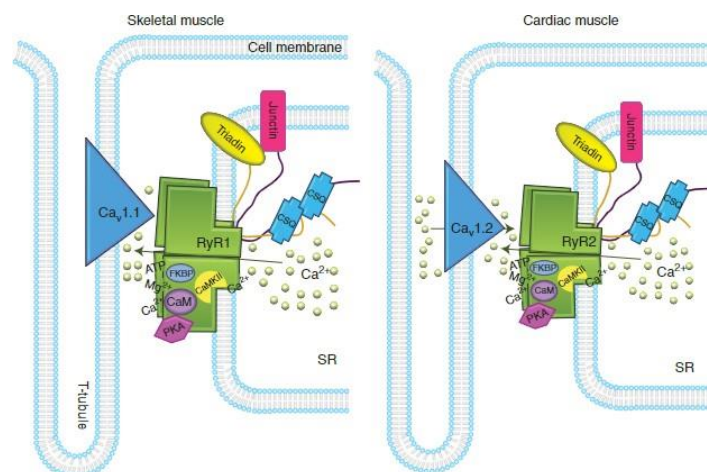


Figura 5: Receptores de Rianodina junto a una serie de moduladores en el músculo esquelético y cardíaco (Lanner et al, 2010).

Existen 3 isoformas de los receptores RyR: (RyR1, RyR2, RyR3), la primera isoforma predomina en células del músculo esquelético aunque también las podemos encontrar en células nerviosas y hematopoyéticas, los receptores RyR2 se localizan en células del músculo cardíaco y finalmente los RyR3 son característicos del diafragma y del cerebro aunque los podemos encontrar en varios tejidos. (Correia, Silva, & Silva, 2012). Estructuralmente están compuestos por una región citoplasmática N- terminal en la que se distinguen 3 dominio (A,B,C) responsables del cambio conformacional que conlleva la apertura del canal y una región C- terminal donde se incluyen a su vez dominios transmembrana (Santulli et al, 2018).

En el papel de estos receptores los iones calcio actúan como efectores, cuando existe carencia de otros elementos como el Mg^{2+} o ATP que también se comportan como efectores produciendo una curva de activación / inactivación de la liberación de Ca^{2+} en el retículo. Cuando los niveles de calcio se encuentra a niveles de 0.1M en el citosol los canales se encuentran abiertos, por el contrario una disminución de calcio hasta niveles milimolares conlleva la inactivación del canal, asimismo en ausencia de Mg^{2+} y ATP los canales están cerrados al competir con Ca^{2+} en los sitios con alta afinidad, uniéndose a los espacios de menor afinidad (Meissner, 2004).

4.1.3 Atpasa de Ca^{2+}

Otro componente esencial es la ATPasa de Ca^{2+} (SERCA) unido a su proteína reguladora fosfolamban (PLB) responsable de la eliminación de Ca^{2+} del citoplasma. Este componente son enzimas integrales de membrana responsables del transporte de calcio desde el citoplasma al retículo sarcoplásmico. Estas enzimas encajan la hidrólisis de ATP al transporte de iones a través de la membrana por medio de la formación de un intermediario fosforilado. La fosforilación da lugar a la disociación de la proteína ATPasa de Ca^{2+} disminuyendo la inhibición y favoreciendo el bombeo de Ca^{2+} al lugar donde se almacena, disminuyendo las concentraciones de este ión en el citoplasma. (Flores Peredo et al, 2013), (Beard, Laver, & Dulhunty, 2004).

Estas bombas de calcio también las podemos encontrar en la membrana citoplasmática, ambas bombas actúan de la misma forma. Su principal es que son proteínas integrales de tipo P que se fosforilan reversiblemente durante su ciclo catalítico. Constan de tres subunidades alfa que transporta los iones en los cambios de conformación y es la subunidad que se puede fosforilar, la subunidad beta que se encarga de direccionar a la proteína desde el núcleo hasta la membrana celular y la gamma que es una subunidad reguladora.

El mecanismo de acción de esta ATPasa se realiza mediante dos conformaciones (E1 y E2). El estado conformacional E1 se encuentran dos espacios donde el ión calcio puede unirse presentando una alta afinidad por él y situado en el lado citoplasmático, o extracelular por el contrario el estado conformacional E2 está situado en el lado luminal o intracelular y tienen una menor afinidad.

Dependiendo de si la ATPasa de Ca^{2+} se encuentra en la membrana plasmática o en el retículo su estequiometría es diferente, así la bomba que forma parte de la

membrana plasmática transporta un átomo de Ca^{2+} por cada molécula de ATP que hidroliza junto con una molécula de hidrogeno que bombea en sentido contrario, sin embargo la bomba que se encuentra en el retículo transporta dos iones de calcio por cada molécula de ATP que hidroliza.

Durante el funcionamiento la proteína atraviesa por dos estados mencionados anteriormente. Cuando la proteína se encuentra en la conformación E1 esta es permeable al lado donde existe menor concentración de ión calcio, es decir el espacio intracelular y el E2 que es permeable al lado con mayor concentración, es decir al lado extracelular. La liberación de calcio siempre se produce en el lugar de mayor gradiente y se requiere que la proteína se encuentre fosforilada para este cambio conformacional durante el ciclo en el que se produce el bombeo. Un ejemplo de esto lo podemos observar en la contracción del músculo.

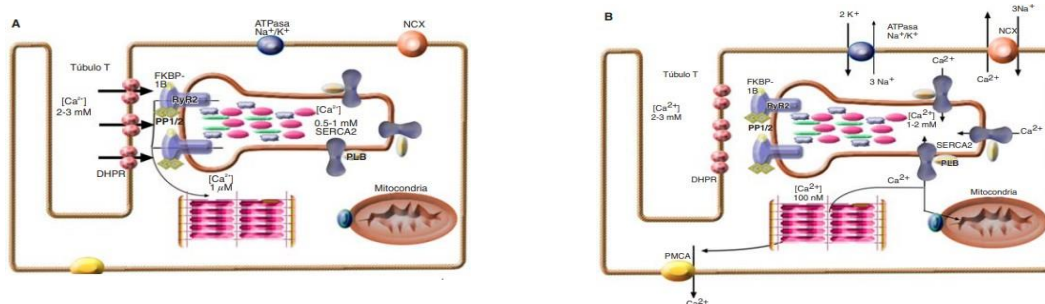


Figura 6: Proceso de acoplamiento de excitación- contracción- relajación muscular.

- En la imagen A se puede observar como da comienzo la contracción, se produce cuando los canales de tipo L voltajes dependientes (DHRP) reciben la despolarización de la membrana, los cuales se activan y permiten que pase una concentración pequeña de Ca^{2+} . La entrada de Ca^{2+} es percibida por el receptor de rianodina (RyR) que se activa y libera abundantes cantidades de Ca^{2+} incrementando ligeramente la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma. De esta manera se produce una interacción con la troponina C y por consiguiente el entrecruzamiento de la actina y la miosina.
- Cuando ha finalizado el proceso de contracción es imprescindible quitar el Ca^{2+} para volver a las concentraciones basales, y al estado de reposo, para ello la ATPasa de Ca^{2+} (SERCA) devuelve el 60-70% de Ca^{2+} que se había liberado al interior del retículo, para que en el siguiente ciclo contenga una cantidad considerable de Ca^{2+} para liberar, por el contrario el intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) se encarga del 30-40% de Ca^{2+} restante que lo traslada al exterior de la célula. En este último también puede participar un canal plasmático de Ca^{2+} (PMCA) y el transporte de Ca^{2+} al interior de la célula, sin embargo estos tienen una actividad menor (Reyes- Juarez & Zarain - Herzberg, 2006).

4.2. Homeostasis de Ca^{2+} en la mitocondria

La mitocondria es un orgánulo citoplasmático que está compuesto por tres espacios diferentes: crestas mitocondriales, espacio intermembranoso y matriz mitocondrial, recubierto por una membrana doble lipídica, semejante a la celular. Cuya función es suministrar la mayor parte de la energía necesaria para cualquier actividad celular donde a partir de piruvato y oxígeno dan lugar a una molécula rica en energía como es el ATP, gracias a que transforma los carbohidratos y grasas en energía. Atendiendo a su morfología consta de dos membranas una externa que es permeable a solutos e iones de pequeño peso molecular donde cabe mencionar el calcio, y una membrana interna impermeable a los iones.

Juega un rol importante en la homeostasis del calcio ya que mantiene unos niveles bajos de Ca^{2+} citosólico. Para que la acumulación de calcio tenga lugar en el interior de la mitocondria es necesario que tanto membrana externa como interna confluyan, de esta manera el ión calcio pasa a la mitocondria por mediación de una proteína que actúa como uniportador mitocondrial de Ca^{2+} conocido como (MCU), situado en la membrana mitocondrial interna, abarca dos dominios transmembrana y forma un canal por oligomerización, además permite que el calcio se acumule de forma rápida gracias al gradiente electroquímico (De Stefani, Raffaello, Teardo, Szabó, & Rizzuto, 2011).

La absorción de calcio por parte de la mitocondria es relativamente lenta debido a que el uniportador mitocondrial MCU tiene baja afinidad por el calcio (K_d 20-30 μ M). Para entender como a pesar de esa baja afinidad que presenta es capaz de mantener bajos niveles de calcio citoplasmático se planteó la “hipótesis del microdominio” que se apoya en que en la mitocondria se produce una alta captación de calcio porque las mitocondrias se sitúan cerca los orgánulos que liberan Ca^{2+} (Contreras, Drago, Zampese, & Pozzan, 2010). Por lo que podemos concluir que la elevada concentración de calcio citoplasmático procedente bien del espacio extracelular o de orgánulos que actúan como almacén originan microdominios que activan la entrada de calcio en las mitocondrias cercanas manteniendo así bajas concentraciones de calcio citosólicas (Carefoli, 2002).

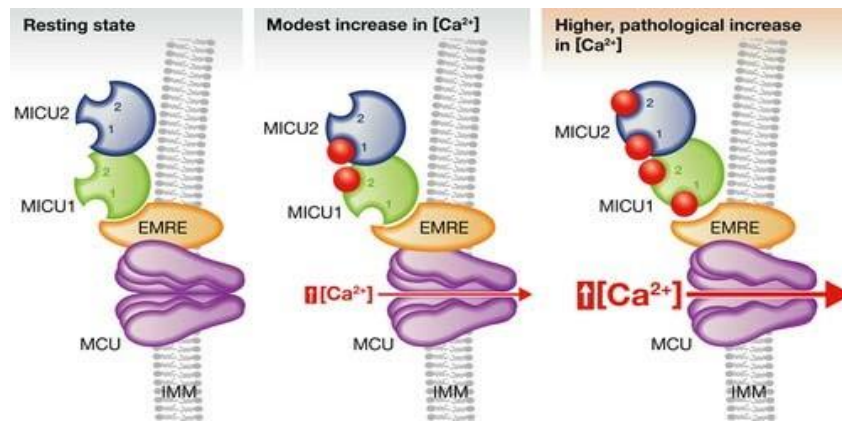


Figura 7: Estructura del Uniportador mitocondrial:

MCU requiere la presencia de las subunidades MICU1 y MICU2. Tras un aumento en la concentración de calcio citosólico provoca que el calcio se una a MICU1 y a MICU2 provocando la apertura del canal MCU. Cuando las concentraciones son muy elevadas el complejo MCU se bloquea permitiendo que el calcio se acumule en la mitocondria (Ahuja & Muallen, 2014).

Por otro lado el Ca^{2+} sale de la mitocondria mediante mecanismos que se comportan como intercambiadores dependientes entre los que destacan el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial (NCX) y el intercambiador $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial.

4.2.1. Intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial (NCX).

Intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial (NCX): Es uno de los mecanismos fundamentales para liberar el ión Ca^{2+} de la mitocondria, el lugar en la que este intercambiador lleva a cabo su función es cuando existe un cambio brusco en la concentración de Ca^{2+} mitocondrial dependiente de Na^+ y con una actividad eléctrica, presentando una estequiometria de movilizar 3 Na^+ por cada ión de Ca^{2+} (Xie, et al, 2018)

4.2.2. Intercambiador $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial.

Intercambiador de $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$: Este intercambiador responde cuando la concentración de calcio mitocondrial es baja por lo que favorece la entrada electrogénica del ión calcio por cada salida de 1 H^+ , mientras que cuando dicha concentración es alta actúa de forma inversa sacando el calcio de la mitocondria (Malli & Graier, 2010).

En la mitocondria una de las funciones que desempeña el calcio es la activación del metabolismo mitocondrial, pues activa tres enzimas deshidrogenasas del ciclo de los

ácidos tricarboxílicos: piruvato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y oxalacetato deshidrogenasa adquiriendo poder reductor para producir ATP mediante la respiración mitocondrial (Poburko & Demaurex, 2012). De esta forma cuando en el organismo se requiere energía para algún proceso metabólico un aumento de la concentración de calcio en el citosol atrae a la captura de calcio por parte de la mitocondria.

Este orgánulo también se encarga de controlar la neutralización de Ca^{2+} en aquellos lugares donde se encuentran conectados con canales de liberación como por ejemplo el retículo endoplásmico. La acumulación de calcio por parte de la mitocondria en estos lugares es tan eficiente que permite una rápida eliminación de concentraciones elevadas de Ca^{2+} presentes en el citoplasma suprimiendo los efectos de este ión sobre los receptores RyR e IP3 (Rizzuto, et al, 2012). Finalmente las mitocondrias también participan en procesos de apoptosis que se relaciona con altos niveles de calcio en el interior de la mitocondria.

5. EL CALCIO COMO SEGUNDO MENSAJERO

El calcio como segundo mensajero juega un papel muy importante ya que es utilizado para la transducción de señales extracelulares al interior de las células. Hay que destacar que uno de los requisitos que hay que tener en cuenta para pertenecer al grupo de segundo mensajeros es la de su combinación no solo con proteínas intracelulares específicas, extremadamente especializadas capaces de regular su señal, sino también con moléculas como los fosfatos, además de presentar un pequeño peso molecular. Para su movilización requiere de una serie de bombas y canales especializados (PMCA y SERCA) que bombean al ión hacia el exterior mediante una hidrólisis de ATP, ya que como se ha mencionado anteriormente el calcio presenta una diferencia de tres órdenes entre la concentración que existe en el espacio extracelular y el que hay en el hialoplasma. (Cali, Brini, & Carafoli, 2018). La regulación del calcio sin este sistema de intercambiadores que puedan regular su concentración intracelular sería imposible.

Las bombas PMCA son ATPasas de calcio que se encuentran en la membrana citoplasmática, siendo el principal sistema de extrusión de calcio presente en todas las células eucariotas. Su función es la de transportar un ión de calcio desde el citosol

al espacio extracelular por cada molécula de ATP que hidrolizan en contra del gradiente de concentración, manteniendo la concentración de calcio citosólico. Este tipo de bombas se activan por CaM que reduce su K_d de 10-20 μ M en estado de reposo a 0.2-0.5 μ M cuando se activa. (Brini & Carafoli, 2009), (Reyes- Juarez & Zarain - Herzberg, 2006).

Para actuar como segundo mensajero se requiere ser activado por un primer mensajero el cual emite una señal a través de la transducción de señales, difunden a través de la célula o incluso a través de la membrana plasmática formada por proteínas G capaces de propagar la señal al interior celular. Estas proteínas transmembrana actúan como canales que al abrirse permiten el paso del calcio a favor de gradiente, de forma que el ión Ca^{2+} entra en el hialoplasma donde su difusión se ve dificultada por multitud de proteínas como la calmodulina CaM y la troponina C (Grabarek, 2006).

El sistema que mantiene el metabolismo del calcio se basa en un equilibrio entre el aporte y su eliminación, detectando alteraciones del calcio en el espacio extracelular, de forma que libera hormonas que controlan dicha concentración principalmente tres: la paratohormona (PTH), la vitamina D y la calcitonina. Además existen otras hormonas que regulan el calcio en menor medida y son los corticoesteroides suprarrenales, los estrógenos, y el glucagón entre otros. La homeostasis del calcio se lleva a cabo mediante tres mecanismos principalmente: absorción de calcio a nivel del intestino, absorción de calcio a nivel renal y por último control de la liberación de calcio por parte del hueso para mantener la concentración de calcio en la sangre (Shifrin MD, 2020).

Existen varias rutas de señalización en las que la hormona que actúa como primer mensajero se acopla con un receptor que se une a enzimas efectoras, activando una proteína efectora. El calcio como segundo mensajero sigue la vía de transducción de la fosfolipasa C que consiste en que una hormona o ligando primario se une al receptor provocando un cambio conformacional que libera una molécula de GDP, a la vez que se le une una molécula de GTP. El GTP unido a la subunidad alfa de la proteína G se desplaza a través de la membrana hasta llegar a la fosfolipasa C que es la proteína efectora (Constanzo, 2011). Esta fosfolipasa está activada de manera que acepta como sustrato al bisfosfato de fosfatidilinositol 4,5 (PIP_2) que es un fosfolípido de membrana y actúa como segundo mensajero, de forma que el PIP_2 se divide en dos

productos el diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5 – trifosfato (IP₃). El IP₃ es soluble en agua y viaja por el citoplasma y se une a los canales de calcio de la membrana de orgánulos de almacenamiento, su acoplamiento permite que el canal se abra y se libere calcio al citosol, de esta manera los iones calcio liberados son capaces de iniciar una cascada de transmisión de señales (Gamper & Shapiro, 2007).

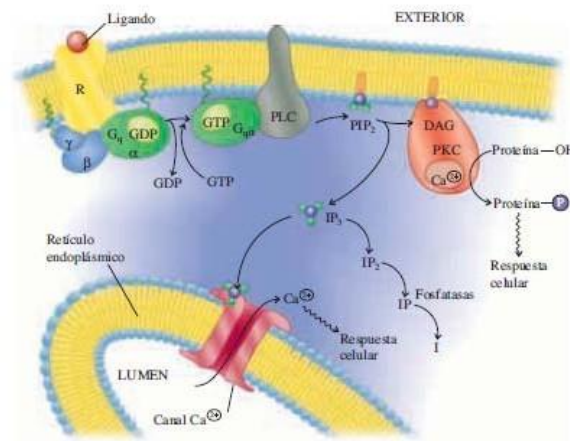


Figura 8: Vía de señalización del inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃):

Un ligando se une a una proteína transmembrana cambiando su forma, los fosfolípidos de membrana concretamente los fosfatidilinosoles (fosfolipasa C) se fosforilan, dando lugar a dos productos DAG y IP₃ que actúan como segundos mensajeros. El primero de ellos permanece en la membrana, mientras que el IP₃ se difunde a través del citosol. Se une a los canales de calcio presentes en el retículo endoplasmático provocando un cambio conformacional en el canal, de forma que el canal se abre y el calcio sale al citoplasma aumentando su concentración durante un tiempo reducido. Este calcio posteriormente será utilizado como segundo mensajero para dar una respuesta celular aumentando la señalización celular (Horton H. , Moran, Scrimgeour, Perry, & Rawn, 2002).

La respuesta celular que llevan a cabo los receptores intracelulares IP₃ es en forma de copa invertida un ejemplo de esta respuesta es lo que ocurre cuando se libera glucosa por parte del hígado. La vasopresina es una hormona antidiurética que actúa contrayendo los vasos sanguíneos y por lo tanto aumentando la presión arterial, al igual que en la reabsorción de los túbulos renales, en el hígado actúa a través de este sistema de segundos mensajeros.

Cuando en el organismo los niveles de glucosa son bajos, la vasopresina se unirá a los receptores situados en la membrana activando de esta manera a las proteínas G, dando lugar a dos productos el IP₃ y el DAG, un aumento de IP₃ provoca la liberación

del calcio de su lugar de almacenamiento, a su vez el calcio activará una fosforilasa, la cual activará una cascada de fosforilasa, que concluirá con la rotura del glucógeno liberando una gran multitud de moléculas de glucosa. El DAG junto al IP_3 cuando han realizado su función y la glucógeno sintetasa se fosforile el IP_3 será inhibido (García Sáinz, 2020). El metabolismo de calcio está regulado principalmente por tres hormonas: paratohormona, calcitonina y vitamina D.

Además la vía IP_3 quinasa no solo activa la liberación de calcio al citosol sino que en algunos casos se produce una inhibición, es lo que ocurre en la fecundación, cuando una serie de inhibidores obstaculizan la descarga de calcio se bloquea la activación del ovocito, de manera que el ciclo celular tiene que volver a empezar, lo mismo ocurre con la exocitosis de los gránulos corticales (Scott F, 2005)

6. HORMONA PARATIROIDEA (PTH)

La hormona paratiroidea (PTH) es producida en las glándulas paratiroides, e interviene en la regulación de calcio a nivel intestinal, renal, así como en el intercambio iónico entre el fluido extracelular y el tejido óseo, además también participa en procesos de hidroxilación activando a la vitamina D otra de las hormonas que intervienen en la regulación de la homeostasis de calcio (Guyton & Hall, 2011)

En la estructura de las proteínas G transmembrana encontramos ensamblado un receptor sensible de calcio (CaSR) primordialmente en las glándulas paratiroides y en el riñón. El objetivo de este receptor es detectar una alteración en las concentraciones de calcio extracelular de manera que la regulación de la PTH se basa en un feedback o retroalimentación negativa de forma que cuando los niveles de calcio junto con otros derivados son altos la producción de PTH se ve inhibida, favoreciendo su eliminación, sin embargo cuando hay bajos niveles de calcio el receptor CaSR está expresado y se produce una adecuada secreción de la hormona PTH (Brown, 2013).

El CaSR está constituido por tres dominios: un dominio N- terminal situado en la parte extracelular de la proteína, un dominio formado por 7 hélices transmembrana dispuesta de manera que forman el núcleo y finalmente un dominio intracelular que contiene un extremo carboxilo terminal

Una vez que la PTH ha sido sintetizada puede actuar en el hueso que fomenta la liberación de calcio tras un aumento de reabsorción en el hueso y en el riñón estimula

la síntesis de vitamina D favoreciendo el incremento de absorción del calcio en el intestino.

A continuación se van a explicar de manera esquemática como tiene lugar la homeostasis de Ca^{2+} mediante el receptor de sensor de calcio en la PTH:

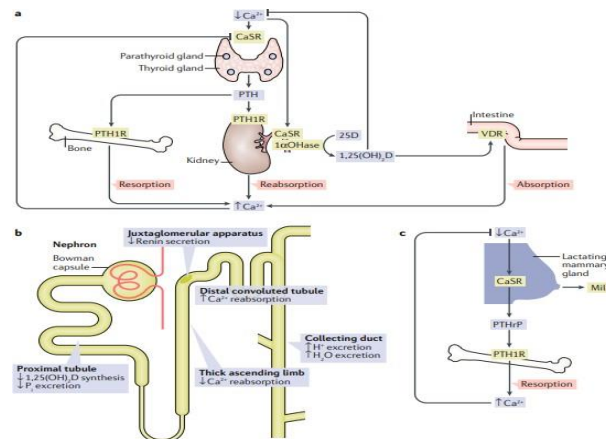


Figura 6: Función del receptor CaSR de la PTH en la regulación del calcio:

- Este receptor que se encuentra en las glándulas paratiroides se encuentra expresado cuando disminuyen las concentraciones de calcio extracelular de manera que una vez que se sintetiza la hormona PTH se une al receptor PTH1 (PTH1R) provocando un aumento de la reabsorción de Ca^{2+} en el tejido óseo. Este receptor también se encuentra en el riñón, contribuyendo a la activación de la vitamina D, cuyo receptor se encuentra a nivel intestinal y favorece la absorción de calcio tras la ingesta de alimentos. Asimismo encontramos el receptor CaSR que mediante estudios de inmunohistoquímica se conoce que se encuentra en la rama ascendente del asa de Henle aumentando la reabsorción de calcio.
- En esta ilustración encontramos el esquema de una nefrona, el receptor sensible de Ca (CaSR) se localiza en varias partes: en el túbulo proximal, túbulo colector y membrana basolateral. En el túbulo proximal se produce el control de la excreción de P_i regulada por PTH, así tras un aumento en la concentración de calcio la vitamina D se ve inhibida. En el túbulo colector
- La expresión de CaSR también se encuentra presente en la glándula mamaria conduciendo el calcio para la fabricación de leche (Hannan, Kallay, Chang, Brandi, & Thakker, 2019).

7. PROTEÍNAS DE UNIÓN AL CALCIO

Las proteínas son polipeptidos de un gran tamaño, son las responsables de dirigir todos los procesos fundamentales para vivir, además de dar forma y estructura a las

células. Todas ellas son específicas y realizan funciones que llevan a cabo de la misma manera, mediante la unión selectiva a moléculas. La concentración de calcio en el citoplasma se regula mediante un conjunto de moléculas que se encargan de su unión y transporte gracias a que este ión cuenta con una carga eléctrica y radio iónico idóneo para unirse fuerte y selectivamente a las proteínas, para ello la proteína tiene que sufrir una serie de cambios conformacionales que actúan como señales de regulación.

7.1. Proteínas mano EF

Atendiendo a la estructura de las proteínas, estas se clasifican en diferentes niveles de estructuración. En el caso de la estructura secundaria que es el resultado de organizar en el espacio la estructura primaria existe una estructura supersecundaria conocida como motivos estructurales.

En la mayoría de las proteínas reguladoras de unión al calcio intracelular existen dominios estructurales denominados hélice – asa – hélice también llamados mano EF (EF-hand). El calcio se puede unir al asa de estas proteínas porque en el asa contienen residuos de glutamato y aspartato (Horton H, et al, 2008).

Las afinidades de unión a calcio a las proteínas varían y esto conlleva que existan dos tipos de dominios EF-hand, los dominios reguladores y los dominios estructurales. Los dominios reguladores son típicos de proteínas que se comportan como sensores provocando cambios conformacionales al unirse el ión calcio, cuya función es la transducción de señales. Por el contrario los dominios EF-hand estructurales es característico en proteínas buffers que son las que tienen una mayor afinidad para atraer al calcio sufriendo un pequeño cambio conformacional, responsables de mantener la homeostasis en el medio (Díaz Horta, 2003).

En la actualidad se conocen multitud de proteínas de unión al calcio siendo las más importantes la calmodulina, troponina C, parvalbúmina,

7.1.1. Calmodulina (CAM)

La calmodulina es una proteína que actúa como sensor de Ca^{2+} distribuida en todas las células eucariontes, compuesta por cuatro motivos de mano EF la cual origina una única proteína con dos estructuras globulares, que forman lóbulos N y C terminal

conectados por una hélice de tipo α asemejando una estructura en forma de pesa. La afinidad con la que el calcio se une a la calmodulina es de 10^{-6} M en el lóbulo C y 10^{-5} M en el lóbulo N existiendo una afinidad de 10 veces mayor entre un lóbulo y otro (Bhattacharya, et al, 2004).

El contacto entre calmodulina (P) y calcio provoca el cambio conformacional desde el estado inactivo (P) a otro intermedio (Ca^{2+} -P*) que se convierte una condición para alcanzar el estado activo cuando se forme el complejo (Ca^{2+} - P**.-E*) (Ikura & Ames, 2006).

Los cambios conformacionales que se producen son causados a partir de la unión de iones calcio a los pares EF- hand provocan una reorganización de las hélices que forman cada lóbulo, dando lugar a una superficie hidrofóbica sobre cada lóbulo, de forma que la calmodulina adopta una configuración más extendida. (Vetter & Leclerc, 2003).

7.1.2. Troponina C

La troponina forma parte de un conjunto de proteínas que pertenece a la superfamilia de la mano EF que se unen al calcio, el complejo troponina está formado por tres subunidades polipeptídicas: troponina C (TnC), troponina I (TnI) y troponina T (TnT). La TnC se encarga de unirse al calcio y se encuentra en células musculares esqueléticas y cardíacas mientras que la subunidad TnI tiene función inhibitoria y la subunidad TnT se une a la tropomiosina. (Fan, et al, 2020).

Estructuralmente la troponina C está formada por una hélice con dos lóbulos unidos que contiene un dominio amino y carboxilo respectivamente adquiriendo una estructura de cuatro manos EF. En presencia de bajas concentraciones de calcio el lóbulo amino se encuentra desordenado y puede variar dependiendo de los efectos del calcio a diferencia del lóbulo C- terminal que se encuentra ligado fuertemente con la parte inhibitoria TnI (Yang, et al, 2014). La estructura bilobulada contiene zonas con carácter hidrofóbico y zonas reguladoras, dependientes de calcio y localizadas en el lóbulo N. Cuando el calcio se une a estos lugares reguladores provoca la apertura de la mano EF. La subunidad inhibitoria TnI se ensambla justo a la hendidura hidrofóbica promoviendo el consiguiente cambio conformacional de la estructura (Vinogradova, et al, 2005).

7.2. Anexinas

Las anexinas son un grupo de proteínas activadas por calcio, que se caracterizan por poseer varios dominios con cuatro repeticiones de aproximadamente 70 aminoácidos, con distinta afinidad de unión al calcio, pero a diferencia de lo que ocurre en EF-hand, estos dominios se encuentran en el núcleo de la adhesina y no en la parte periférica. Cada repetición de anexina se dobla formando cinco hélices alfa de forma que adquieren una estructura convexa quedando los extremos amino-terminal y carboxilo, próximos entre sí (Moss & Morgan, 2004)

Son capaces de interactuar con moléculas cargadas negativamente concretamente los fosfolípidos de membrana, además tienen un dominio N-terminal que cuando tiene unido calcio puede atravesar las membranas interactuando con los ligandos de proteínas citoplasmáticas (Gerke, et al, 2005).

Hoy las funciones de las anexinas se desconocen pero hay estudios que proponen que actúan principalmente en procesos de exocitosis regulados por calcio, al igual que intervienen en la conexión de membrana - membrana o cambios en el citoesqueleto. Moss y Morgan experimentaron con ratones knockout observando cambios en la homeostasis del calcio. Las anexinas localizadas en el citoplasma de aquellas células que se encuentran en reposo deben ser activadas, para ello el calcio intracelular tiene que movilizarse en respuesta a diferentes estímulos, de forma que las anexinas se incorporan a las membranas. (Rescher & Gerke, 2004), (Moss & Morgan, 2004).

En ausencia de fosfolípidos en la membrana la afinidad de las anexinas por el calcio es baja (K_d : 0.025 - 1mM), pero en presencia de ellos la afinidad aumenta 100 veces.

7.3. Proteínas quinasas (PKC)

La proteína quinasa (PKC) forma parte de un conjunto de proteínas cuya función es la de controlar mecanismos de transducción de señales con el fin de activar determinados factores de transcripción, mediante la fosforilación de proteínas con residuos de serina y treonina, actuando de puente entre el segundo mensajero en nuestro caso el calcio y la respuesta celular. Las isoenzimas de las PKC se han clasificado en tres familias: PKCs clásicas (α , β , γ), PKCs nuevas (δ , ϵ , η y θ) y PKCs atípicas. Las proteínas quinasa clásicas son aquellas que para llevar a cabo su

regulación necesitan lípidos como el diacilglicerol (DAG) e iones como el Ca^{2+} , incluso fosfolípidos ácidos (Koivunen, Aaltonen, & Peltonen, 2006). Su estructura está compuesta por cuatro subunidades: un doble dominio catalítico (C1) cuya función es la de fosforilar a los sustratos, y dos dominios reguladores (C2) responsables de mantener la quinasa inactiva (Corbalán- García & Gómez-Fernández, 2016).

La liberación de Ca^{2+} se pensaba que estaba relacionada con fosfolípidos situados en el plasmalema, como fosfatidilinositoles 4,5- bisfosfato ($\text{PtdIns}(4,5)\text{P}_2$) sin embargo hay multitud de trabajos recientes que señalan que existen vías alternativas que también participan en la transducción de señales activando o incluso secuestrando complejos proteicos. De este modo el calcio y los fosfolípidos de membrana controlan las PKC clásicas que responde de diferente manera dependiendo de las concentraciones de calcio intracelular existentes en el citoplasma.

De esta forma centrándonos en el dominio C2 que adquiere una estructura plegada en lámina beta encontramos dos regiones diferenciadas, la primera que interactúa con los residuos de serina y tiene afinidad por el Ca^{2+} pudiendo unir de uno hasta 3 iones, la segunda región se utiliza de unión para lípidos ácidos.

La activación de la PKC tiene lugar cuando esta enzima se enlaza a un fosfolípido de membrana, la fosfatidilserina a través del dominio C2, siendo más efectivo en presencia de calcio dependiendo de su concentración. El calcio en la unión de la enzima al fosfolípido de membrana juega un papel importante ya que se cree que es el que actúa de puente ligando la PKC y la fosfatidilserina, pero la activación no ocurre completamente hasta que no se une el diacilglicerol (DAG), al igual que cuando los niveles de calcio son elevados y hay carencia de DAG (Guerrero – Valero, et al, 2007).

8. EFECTOS DEL CALCIO SOBRE EL METABOLISMO CELULAR

El calcio cuando no se encuentra en concentraciones adecuadas produce efectos fisiológicos que alteran dichas concentraciones desequilibrando la homeostasis en el organismo.

La degradación oxidativa de los lípidos o una alteración en las bombas atpasas de calcio conlleva un aumento de la concentración de calcio que activa a las diferentes proteasas dificultando los procesos posteriores, en el caso de la endonucleasas

alteran la estructura del ADN, las caspasas alteran el citoesqueleto y la fosforilasas producen trastornos en la degradación del glucógeno, favoreciendo la necrosis celular. (Repetto Jiménez & Repetto Kuhn, 2009)

La mitocondria acepta iones calcio cuando hay gran cantidad de calcio en el citosol, esto conlleva que la función de la mitocondria que es la producción de ATP se vea reducida porque la captación de calcio provoca que el potencial de membrana disminuya.

Un aumento considerado de calcio en el citosol produce apoptosis celular. Por lo general están reguladas por un grupo de proteínas conocidas como Bcl-2, y proteínas IAP, en primer lugar en la célula la cromatina se condensa, para dividirse posteriormente formando los fragmentos apoptóticos. Otra manera que presenta la célula de sufrir necrosis es por la inflación del citosol, así como de sus orgánulos, la membrana se debilita y favorece la liberación de los componentes que son perjudiciales para la célula, en nuestro caso el caso que se transforma en un producto tóxico (Orrenius, Zhivotovsky, & Nicotera, 2003).

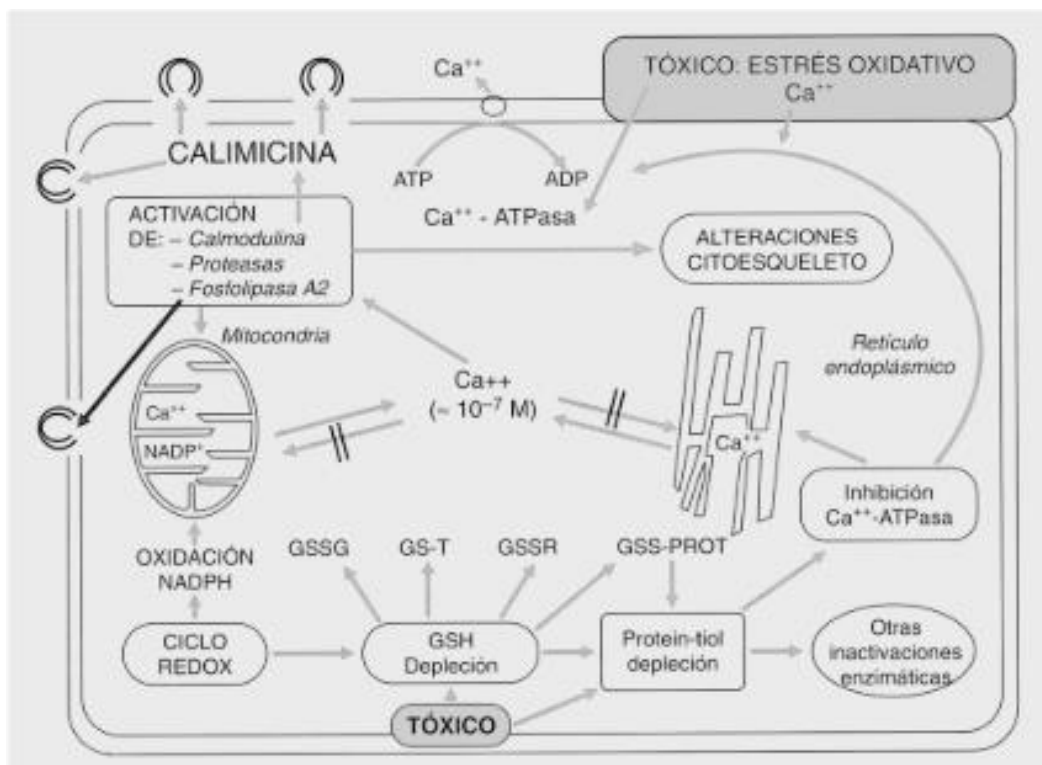


Figura 7: Procesos que ocurren cuando el calcio se transforma en producto tóxico (Repetto Jiménez & Repetto Kuhn, 2009).

9. FUNCIONES Y PROCESOS CELULARES DEPENDIENTES DE Ca^{2+}

El calcio en el organismo se encuentra principalmente ionizado, siendo más abundante en el espacio extracelular. Dentro de las funciones en las que participa el calcio hay una serie de procesos que dependen de este ión y que pasaremos a explicar a continuación.

9.1. Contracción muscular

Dentro de las funciones del calcio como segundo mensajero encontramos la contracción muscular, que tiene lugar cuando sus concentraciones citoplasmáticas son elevadas. La fibra muscular está constituida por dos proteínas: la actina, y la miosina, que la afinidad entre ellas es alta, pero no se encuentra unidas ya que entre ellas se encuentran otras dos proteínas, la troponina y la tropomiosina de forma que en la configuración que se adquiere se encuentran dos centros de unión al calcio, de forma que cuando los iones se unen a estos centros la fibra cambia su conformación aproximándose ambas proteínas.

En estas condiciones en el que la concentración de calcio es alta, un estímulo nervioso alcanza la membrana de la fibra muscular, que provoca la liberación de neurotransmisores colinérgicos como la acetilcolina (ACh), la membrana disminuye el potencial por lo que se despolariza y los iones de calcio pasan desde el exterior hacia el interior, es decir el impulso viaja a través de la membrana hasta alcanzar el retículo endoplasmático donde los iones de calcio se encuentran almacenados y son liberados al citosol.

En el momento en el que la célula muscular se encuentra en reposo, los filamentos de actina y miosina se encuentran separados, pero la liberación de calcio provoca que los filamentos se desplacen entre ellos llegando a superponerse, de esta forma tiene lugar la contracción. Todo ello ocurre en presencia de energía en forma de ATP en el que las cargas negativas de las membranas de la actina y la miosina se unen a las cargas positivas de los iones calcio, modificando la estructura de la miofibrilla pasando del estado relajado al contraído.

Cuando ha tenido lugar la contracción, el músculo tiene que volver al estado relajado, que ocurre porque el calcio es retirado y almacenado de nuevo en el retículo gracias

a los receptores que se encuentran en la membrana de dicho orgánulo como el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) (Ulate Montero & Ulate Campos, 2006)

9.2. Transmisión nerviosa

Las neuronas como unidad funcional del sistema nervioso son las responsables de transmitir la señal eléctrica mediante los terminales nerviosos y así poder comunicarse con la siguiente neurona y llevar a cabo la transmisión del impulso nervioso.

El impulso nervioso generado por una alteración temporal de la permeabilidad en la membrana neuronal viaja a través de la neurona hasta llegar a la parte final de dicha neurona formada por los terminales nerviosos que contienen los botones sinápticos. La llegada de la señal a estos lugares provoca la apertura de los canales de Ca^{2+} , de esta forma se induce la exocitosis de las vesículas sinápticas presentes en los terminales nerviosos, estas vesículas son orgánulos donde se encuentran almacenados los neurotransmisores.

En la membrana vesicular hay multitud de proteínas dependientes de calcio algunas de ellas son segmentos transmembrana y otros se encuentran unidos mediante transformaciones post- traslacionales, entre las que cabe destacar la sinaptobrevina, sinaptofisinas, sinapsinas y sinaptotagmina I (Fernández Chacón, 2001). Nos centraremos en la última proteína mencionada ya que es la que se considera como sensor del Ca^{2+} .

La sinaptotagmina I pertenece a la familia de proteínas SNARE (receptores de proteínas soluble sensible al extremo amino terminal etilmaleimida (NSF)), por lo general no se encuentra sola sino acoplada junto a tres proteínas transmembrana. Están constituidas por cuatro hélices y contiene dos dominios C_2A y C_2B con una estructura secundaria de hoja β que permite la fusión de las vesículas (Fernández - Chacón, et al, 2001). Tiene un papel esencial y es que coopera para que las proteínas SNARE dificulten la liberación de los neurotransmisores, de esta manera la presencia de calcio, favorece la exocitosis, ya que permite que la sinaptotagmina se una a la membrana plasmática.

En las sinapsis químicas cuando el potencial de acción llega al final del axón provoca la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje lo que conlleva que los neurotransmisores almacenados en las vesículas se liberen, provocando la entrada de

calcio. Este proceso tiene lugar como consecuencia de un aumento en la concentración del ión en el medio extracelular $10^{-3}M$ que en el medio intracelular $10^{-7}M$ de forma que las vesículas se unen a la membrana del axón y los neurotransmisores quedan libres en el espacio sináptico.

Desde el punto de vista bioquímico las proteínas SNARE constituyen un complejo cuya función es tensar las membranas plasmáticas que estén cercanas, promoviendo la fusión de ambas bicapas. Mientras se produce la sinapsis el complejo SNARE provoca la fusión de las membranas y como consecuencia se libera el neurotransmisor, asociado a la entrada de calcio a la célula. (Milosevic & Sorensen , 2015).

Una vez que la secreción celular (exocitosis) ha tenido lugar los neurotransmisores se propagan por medio de la hendidura sináptica ensamblándose a los receptores situados en la membrana de la neurona postsináptica (Purves, et al, 2001).

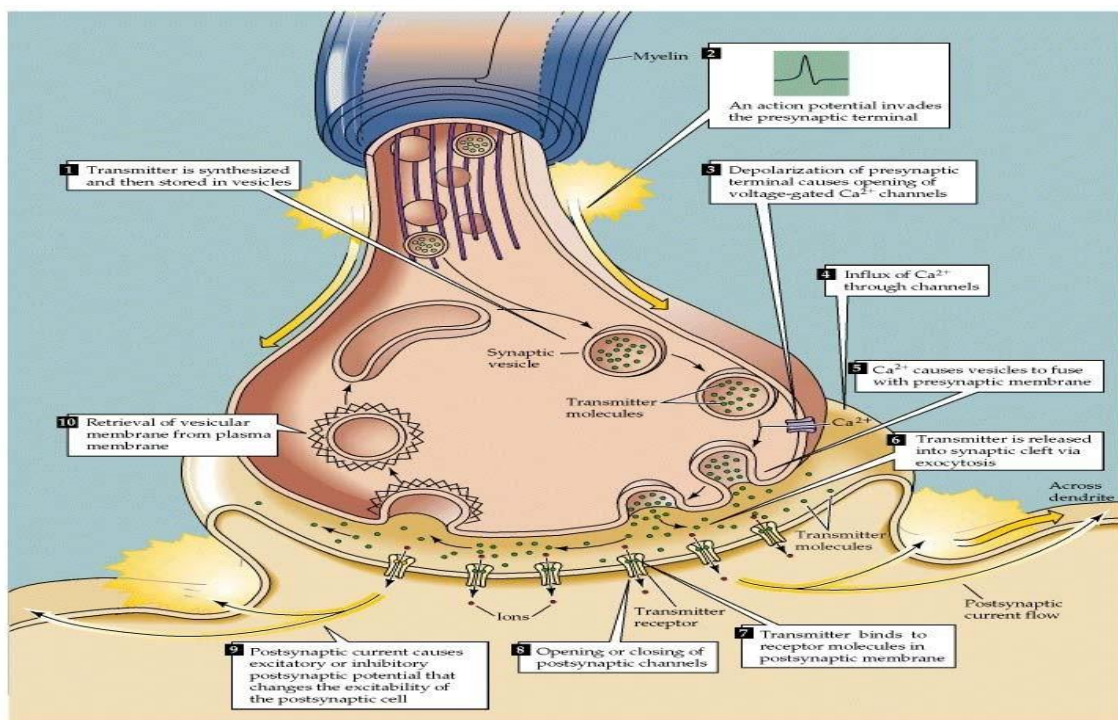


Figura 8: Sucesión de procesos que tienen lugar durante las sinapsis químicas.

9.3. Regulación enzimática

El calcio participa como regulador metabólico en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos conocido regularmente como ciclo de Krebs.

El ciclo de Krebs es una ruta que participa en el catabolismo de los carbohidratos, tiene lugar en la matriz mitocondrial donde a partir de acetil Co-A procedente de la oxidación del piruvato, este se oxida hasta CO_2 , dando lugar a dos moléculas de CO_2 , 3 $\text{NADH} + \text{H}^+$, QH_2 y GTP. Está formada por ocho reacciones en las que intervienen una serie de enzimas en la que su activación depende de la concentración de distintos metabolitos (Nelson & Cox, 2017).

El calcio como regulador de esta ruta coopera con tres enzimas para lograr su activación, como se aprecia en la figura 8 se trata de la enzima piruvato deshidrogenasa que convierte el piruvato en Acetil- CoA, la isocitrato deshidrogenasa que cataliza la deshidrogenación y pérdida del CO_2 en la reacción número 3 en el que el isocitrato se oxida a α -cetoglutarato, y por último los iones calcio también activan la α -cetoglutarato deshidrogenasa una reacción en la que se obtiene succinil- CoA y CO_2 . En todas las reacciones el calcio actúa como un activador de las reacciones asociado a un aumento en la concentración de este ión, mientras que estas reacciones se ven inhibidas por una disminución de compuestos como el Acetil – CoA, NADH, ATP, citrato y succinil – CoA (Müller- Esterl, 2008).

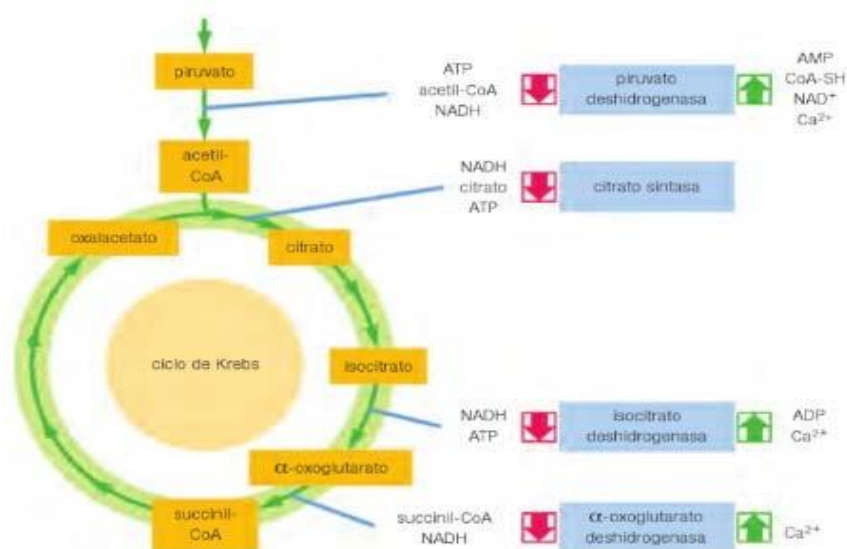


Figura 9: Ciclo de los ácidos tricarboxílicos.

9.4. Procesos de coagulación

La coagulación es un proceso que se activa cuando el endotelio vascular se daña, esto conlleva que el fibrinógeno que se encuentra en la sangre en forma inactiva (proenzimas o zimógenos) es una proteína soluble que cuando se activa pasa a ser

una proteína no soluble participando en el proceso de la coagulación. La forma activada le proporciona una característica esencial al fibrinógeno y es que le concede la capacidad de entretrejer una red asociándose a otras proteínas formando como una especie de malla tridimensional de fibrina.

La cascada de la coagulación está distribuida en tres fases:

- Fase inicial: este proceso se desencadena cuando se rompe el vaso por el que circula la sangre y entra en contacto con el espacio extracelular que lo detecta como extraño. En este momento el factor X pasa a la forma activa transformándose en trombina y colabora para formar la red de fibrina.
- Fase de amplificación: En esta fase se aviva la activación plaquetaria mediante un feedback positivo que activa a los factores tisulares XI, IX, VIII y V.
- Fase de propagación: Se caracteriza por la activación del factor X que ocurre como en la fase anterior por un feedback positivo de proteínas, cuyo objetivo es la formación de trombina y fibrina (Pérez - Gómez & Bover, 2007).

Todas las fases tienen en común que para que se lleven a cabo necesitan un factor de la coagulación activado, un zimógeno y un cofactor. El complejo que se forma necesita de iones calcio para su estabilización, de forma que el calcio es el precursor que inicia la coagulación sanguínea.

El calcio en la coagulación sanguínea es conocido como factor IV y es necesario para que los factores de la coagulación se unan a los fosfolípidos de la membrana. La unión se produce cuando en un residuo de ácido glutámico se crea un sitio específico con carga negativa que contienen aminoácidos como g- carboxiglutamina (Gla) que facilita la transición de la proteína a su forma activa y de esta manera se unen a los fosfolípidos de membrana sanando el tejido dañado (Martinuzzo, 2017). Los lugares donde actúan el calcio se puede observar en la siguiente figura:

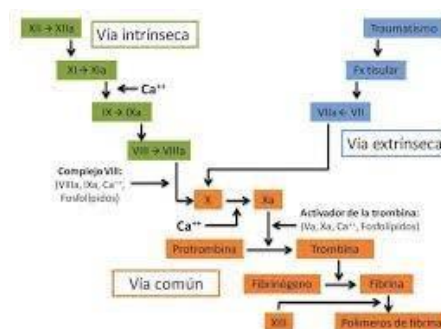


Figura 10: Vía intrínseca y extrínseca donde participa el calcio (Sanagustín , 2016)

CONCLUSIONES

Definitivamente el estudio del calcio es un campo bastante interesante de estudio, ya que se descubre que no solo está implicado en las acciones comunes que conocemos actualmente como es el crecimiento óseo sino que está implicado en otras muchas funciones. Es muy importante porque controla la homeostasis del cuerpo, pero en cantidades superiores a las normales hay que controlarlo ya que puede ocasionar la apoptosis a causa de convertirse en elemento tóxico cuando se encuentra en concentraciones mayores.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahuja, M., & Muallen, S. (2014). The gatekeepers of mitochondrial calcium influx: MICU1 and MICU2. *EMBO Reports*, 15(3), 205- 206.
- Alonso López, C., Ureta Velasco, N., Pallás Alonso, C., & Grupo PrevInfad. (julio-septiembre de 2010). Vitamina D profiláctica. *Pediatría Atención Primaria*, Vol XII(núm 47), pp 495-510.
- Beard, N., Laver, D., & Dulhunty, A. (2004). Calsequestrin and the calcium release channel of skeletal and cardiac muscle. *Prog Biophys Mol Biol*, 85(1):33-69.
- Bhattacharya, S., Bunick, C., & Chazin, W. (2004). Target selectivity in EF-hand calcium binding proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1742, 69-79.
- Boland, A. J. (2005). Acción de la Vitamina D en intestino. *Actualizaciones en Osteología*, Vol 1, pp 34-39.
- Boland, A. J. (s.f.). Acci.
- Bosanac, I., Michikawa, T., Mikoshiba, K., & Ikura, M. (2004). Structural insights into the regulatory mechanism of IP3 receptor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1742(1-3), 89-102.
- Brini, M., & Carafoli, E. (2009). Calcium Pumps in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 1341-1378. doi:10.1152/physrev.00032.2008.

- Brown, E. (2013). Role of the calcium- sensing receptor in extracellular calcium homeostasis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27, 333-343.
- Cali , T., Brini, M., & Carafoli, E. (2018). The PMCA pumps in genetically determined neuronal pathologies. *Neuroscience Letters*, 663, 2-11.
- Carefoli, E. (2002). Calcium signaling: A tale for all season. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(3), 1115-1122.
- Constanzo, L. (2011). *Fisiología* (Cuarta Ed ed.). Elsevier.
- Contreras, L., Drago, I., Zampese, E., & Pozzan, T. (2010). Mitochondria: The calcium connection. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1797, 607-618.
- Corbalán- García, S., & Gómez-Fernández, J. (2016). Protein kinase C regulatory domains: The art of decoding many different signals in membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1761, 633-654.
- Correia, A., Silva, P., & Silva, B. (2012). Malignant hyperthermia: clinical and molecular aspects. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 62(6), 828-837. doi:10.1590/S0034-70942012000600007
- De Stefani, D., Raffaello, A., Teardo, E., Szabó, I., & Rizzuto, R. (2011). A forty-kilodalton protein of the inner membrane is the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*, 476, 336-340. doi:10.1038/nature10230
- Díaz Horta, O. (2003). El ión calcio: su regulación y función en la célula B pancreática. *Revista Cubana de Endocrinología*, 14(3). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-295320030003000008&lng=es&tlng=es.
- Fan, X., Xing, L., Ge, P., Cong, L., Hou, Q., Ge, Q., . . . Zhou, G. (2020). Electrochemical sensor using gold nanoparticles and plasma pretreated graphene based on the complexes of calcium and Troponin C to detect Ca²⁺ in meat. *Food Chemistry*, 307. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125645
- Fernández - Chacón, R., Königstorfer, A., Gerber, S., García, J., Matos, M., Stevens, C., . . . Südhof, T. (2001). Synaptotagmin I functions as a calcium regulator of release probability. *Nature*, 410, 41- 49.

- Fernández Chacón, R. (2001). La sinaptotagmina y el calcio: La unión hace la liberación. *Boletín SECF*, 4(1).
- Fernández, A., Sosa, P., & Setton, D. (Julio de 2011). Calcio y nutrición. Buenos Aires.
- Flores Peredo, L., Rodríguez, G., & Zarain Herzberg, Á. (2013). Participación de las bombas de calcio del retículo endoplásmico en el cáncer. *Revista Educación Bioquímica*, 32(4), 137-144.
- Gamper, N., & Shapiro, M. (2007). Target - specific PIP2 signalling: how might it work. *The Journal of Physiology*, 582, 967-975. doi:10.1113/jphysiol.2007.132787
- García Sáinz, J. (2020). *Biblioteca digital*. Recuperado el 13 de 06 de 2020, de http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/28/html/sec_6.html
- Gerke, V., Creutz, C., & Moss, S. (2005). Annexins: Linking Ca²⁺ signalling to membrane dynamics. *Molecular Cell Biology*, 6, 449-461.
- Gómez de Tejada Romero, M., Sosa Henríquez, M., Del Pino Montes, J., Jódar Gimeno, E., & Quesada Gómez, J. (enero- marzo de 2011). Documentación de posición sobre las necesidades y niveles óptimos de vitamina D. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, Vol.3, pp 53-68.
- Grabarek, Z. (2006). Structural Basis for Diversity of the EF- hand Calcium - binding Proteins. *Journal of Molecular Biology*, 359(3), 509-525. doi:10.1016/j.jmb.2006.03.066
- Grienberger, C., & Konnerth, A. (2012). Imaging Calcium in Neurons. *Neuron*, 73, 862-885.
- Guerrero - Valero, M., Marín - Vicente, C., Gómez- Fernandez, J., & Corbalán - García, S. (2007). The C2 Domains of Classical PKCs are Specific PtdIns (4,5)P₂-sensing Domains with Different Affinities for Membrane Binding. *Journal of Molecular Biology*, 371, 608-621.
- Guyton, A. C., & Hall, J. (2011). *Tratado de Fisiología Médica* (Duodécima ed ed.). Elsevier Saunders.

- Hannan, F., Kallay, E., Chang, W., Brandi, M., & Thakker, R. (2019). The calcium-sensing receptor in physiology and in calcitropic and noncalcitropic diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, *15*, 33- 51.
- Hoenderop, J., Nilius, B., & Bindels, R. (2005). Calcium absorption across epithelial. *Physiol. Rev*;85, 373- 422.
- Horton , H., Moran, L., Scrimgeour, K., & Rawn, J. (2008). *Principios de Bioquímica* (Cuarta edición ed.). Pearson.
- Horton, H., Moran, L., Scrimgeour, K., Perry, M., & Rawn, J. (2002). *Principles of Biochemistry*. Pearson Education Int.
- Ikura, M., & Ames, J. (2006). Genetic polymorphism and protein conformational plasticity in the calmodulin superfamily: Two ways to promote multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1159-1164. doi:10.1073/pnas.0508640103
- Iwai, M., Michikawa, T., Ivan, B., Ikura, M., & Katsuhiko, M. (2007). Molecular basis of the isoform- specific ligand- binding affinity of inositol 1,4,5- trisphosphate Receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, *282*(17), 12755-12764.
- Koivunen, J., Aaltonen, V., & Peltonen, J. (2006). Protein kinase C (PKC) family in cancer progression. *Cancer Letters*, *235*, 1-10.
- Lanner, J., Georgiou, D., Joshi, A., & Hamilton, S. (2010). Ryanodine Receptors: Structure, Expression, Molecular Details, and Function in Calcium Release. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *2*(a003996).
- Lorenzo Corchón, A. (2020). *Calcio, fósforo y magnesio*. Recuperado el 2020, de <https://www.asturnatura.com/articulos/nutricion/energia-nutrientes-componentes-dieta/calcio-fosforo-magnesio.php>
- Mackrill, J. J. (2010). Ryanodine receptor calcium channels and their partners as drug targets. *Biochemical Pharmacology*, *79*, 1535-1543.
- Malli, R., & Graier, W. F. (2010). Mitochondrial Ca²⁺ channels: Great unknowns with important functions. *FEBS Letters*, *584*(10), 1942-1947.
- Martinuzzo, M. (2017). Blood Coagulation System Physiology. *Fisiología de la hemostasia normal*, *21*(Extraordinario), 31-42.

- Meissner, G. (2004). Molecular regulation of cardiac ryanodine receptor ion channel. *Cell calcium*, 35, 621-628.
- Michalak, M., & Opas, M. (Junio de 2009). Endoplasmic and sarcoplasmic reticulum in the heart. 19 (6), pp 253-259.
- Mikoshiba, K. (2007). IP3 receptor/ Ca²⁺ channel: from discovery to new signaling concepts. *Journal Neurochem*, 102(5), 1426-1446. doi:10.1111/j.1471-4159.2007.04825.x
- Milosevic, I., & Sorensen , J. (2015). *Fusion machinery: SNARE protein complex. Presynaptic Terminals.*
- Moss, S., & Morgan , R. (2004). The annexins. *Genome Biology*, 5(219).
- Müller- Esterl, W. (2008). *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida.* Reverté.
- Navarro- Moreno, M., & Alía- Ramos , P. (2006). Metabolismo óseo. Vitamina D y PTH. *Endocrinología y Nutrición, Vol 53(3)*, 199-208.
- Nelson, D., & Cox, M. (2017). *Lehninger Principios de Bioquímica* (Séptima Ed ed.). Ediciones Omega.
- Orrenius, S., Zhivotovsky, B., & Nicotera, P. (2003). Regulation of cell death: the calcium- apoptosis link. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4, 552- 565.
- Pérez - Gómez, F., & Bover, R. (2007). La nueva cascada de la coagulación y su posible influencia en el difícil equilibrio entre trombosis y hemorragia. *Revista Española de Cardiología*, 60(12), 1217-1219.
- Peters, B., & Araújo Martini , L. (2015). Funciones Plenamente Reconocidas de Nutrientes - VitaminaD. *ILSI Brasil, Vol 2.*
- Poburko, D., & Demarex, N. (2012). Regulation of the mitochondrial proton gradient by cytosolic Ca⁽²⁺⁾signals. *Pfügers Archiv*, 464(1), 19-26. doi:10.1007/s00424-012-1106-y
- Purves, D., Augustine, G., Fitzpatrick, D., Katz, L., LaMantia, A.-S., McNamara, J., & Williams, S. (2001). *Neuroscience.* Sunderland (MA): Asociados de Sinauer.

- Querales, Marvin , I., Cruces, M., Rojas, S., & Sanchez, L. (2010). Deficiencia de Vitamina D: ¿Factor de riesgo de síndrome metabólico? *Revista médica de Chile*, 138(10), 1312-1318.
- Quesada Gómez, J., & Sosa Henríquez, M. (2011). Nutrición y osteoporosis. Calcio y Vitamina D. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 3(4) pp 165-182.
- Quesada Gómez, J., & Sosa Henríquez, M. (2011). Nutrición y osteoporosis. Calcio y Vitamina D. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, Vol 3 (4), pp 165-182.
- Repetto Jiménez, M., & Repetto Kuhn, G. (2009). Toxicología fundamental. Diaz de Santos.
- Rescher, U., & Gerke, V. (2004). Annexins- unique membrane binding proteins with diverse functions. *Journal of Cell Science*, 117(3), 2631-2639. doi:10.1242/jcs.01246
- Reyes- Juarez, J. L., & Zarain - Herzberg, Á. (2006). Función del retículo sarcoplásmico y su papel en las enfermedades cardíacas. *Archivos de cardiología de México*, 76 (Supl. 4), 18-32.
- Rizzuto, R., De Stefani, D., Raffaello, A., & Mammucari, C. (2012). Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13, 566-578. doi:10.1038/nrm3412
- Sanagustín , A. (2016). *Biovet Laboratorio Clinico*.
- Santulli, G., Lewis, D., des Georges, A., Marks, A., & Franck, J. (2018). Ryanodine Receptor Structure and Function in Health and Disease. *Subcell Biochem*, 87, 329-352. doi:10.1007/978-981-10-7757-9_11
- Scott F, G. (2005). En G. Scott F, *Biología del desarrollo*. Médica Panamericana.
- Shibata , Y., Shemesh, T., Prinz, W., Palazzo, A., Kozlov, M., & Rapoport, T. (2010). Mechanisms determining the morphology of the peripheral ER. *Cell*, 143 (5): 774-788.
- Shifrin MD, A. (2020). Brief Overview of Calcium, Vitamin D, Parathyroid Hormone Metabolism and Calcium - Sensing Receptor Function. En *Advances in Treatment and Management in Surgical Endocrinology* (págs. 63-70).

- Taylor, C., Genazzani, A., & Morris, S. (1999). Expression of inositol trisphosphate receptors. *Cell Calcium*, 26(6), 237-251.
- Tresguerres, J. (2005). Fisiología humana. Madrid: Mc Graw - Hill Interamericana.
- Ulate Montero, G., & Ulate Campos, A. (2006). El calcio en los miocitos cardíacos y su papel en las miocardiopatías. *Revista Costarricense de Cardiología*, 8(1), 19-25.
- Vetter, S., & Leclerc, E. (2003). Novel aspects of calmodulin target recognition and activation. *European Journal of Biochemistry*, 270, 404-414.
- Vinogradova, M., Stone, D., Malanina, G., Karatzaferi, C., Cooke, R., Mendelson, R., & Fletterick, R. (2005). Ca²⁺- regulated structural changes in troponin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(14), 5038-5043.
- Xie, A., Zhou, A., Liu, H., Shi, G., Liu, M., Boheler, K., & Dudley, S. (2018). Mitochondrial Ca²⁺ flux modulates spontaneous electrical activity in ventricular cardiomyocytes. *PLOS ONE*, 13(7), 1-17.
- Yang, S., Barbu- Tudoran, L., Orzechowski, M., Craig, R., Trinick, J., White, H., & Lehman, W. (2014). Three- Dimensional Organization of Troponin on Cardiac Muscle Thin Filaments in the Relaxed State. *Biophysical Journal*, 106, 855-864.
- Zuluaga Espinosa, N., Alfaro Velásquez, J., Balthazar González, V., Jiménez Blanco, K., & Campuzano Maya, G. (2011). Vitamina D: nuevos paradigmas. *Medicina & Laboratorio*, Vol 17 (5-6).