

# MEDCELIČNE KOMUNIKACIJE NA OSNOVI VALOV KALCIJEVIH IONOV

ROK KUK

Fakulteta za matematiko in fiziko  
Univerza v Ljubljani

Val kalcijevih ionov predstavlja povečanje koncentracije teh ionov v posamezni celici, ki se širi med sosednjimi celicami. Regulacija  $\text{Ca}^{2+}$  v celicah je ključnega pomena za delovanje organizmov. Napačno delovanje mehanizmov, ki nadzirajo koncentracijo kalcijevih ionov, lahko povzroči velik nabor bolezni, zato je pomembno razumeti, kako ta regulacija deluje. V članku so predstavljeni mehanizmi spreminjanja koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v živalskih celicah. Opisani so tudi procesi komunikacije med bližnjimi celicami na podlagi spreminjanja koncentracije kalcijevih ionov. Predstavljen je grob matematični model, ki opisuje reguliranje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v celici in difuzijo med sosednjimi celicami.

## INTERCELLULAR COMMUNICATION WITH CALCIUM ION WAVES

A calcium ion wave is an increase in the concentration of these ions, which spreads to nearby cells. Cell regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  is key for the functioning of organisms. Abnormal regulation of calcium ion concentration in cells causes a large number of diseases. This is why it is important to understand how cells regulate  $\text{Ca}^{2+}$ . This paper describes the basic physical mechanisms which cause changes of calcium ion concentration in cells and how cells use calcium waves for communication. A simplified mathematical model of  $\text{Ca}^{2+}$  regulation and diffusion is also presented.

### 1. Uvod

Tipično živalsko celico sestavlja celična membrana, znotraj katere sta citoplazma in celično jedro. Glavne komponente citoplazme so celični organeli (mitohondrij, endoplazemski retikulum, ...) in citosol (vodna raztopina, v kateri plavajo organeli in jedro). Živalska celica je shematsko prikazana na sliki 1.

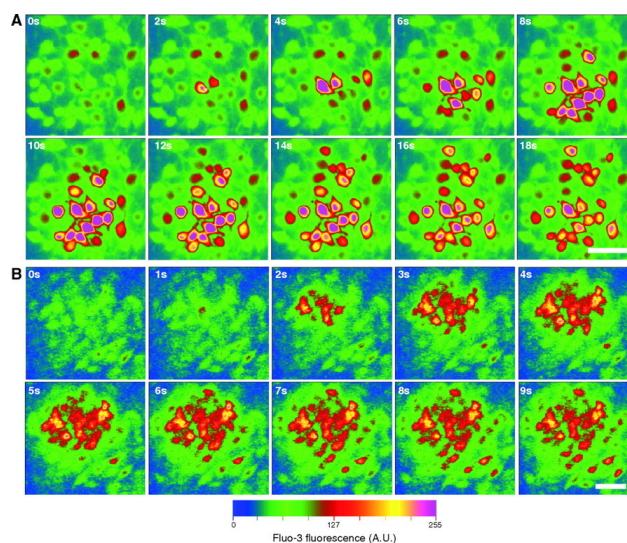


**Slika 1.** Shema živalske celice. S številkami je označena celična membrana (14), citosol (11), mitohondrij (9), zrnati in gladki endoplazemski retikulum (5 in 8) ter ostali organeli. Vir: [1].

V citosolu so poleg drugih snovi tudi ioni  $\text{Ca}^{2+}$ . Tipična koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu je  $\sim 10^{-7}$  mol/L [2]. Medcelični val  $\text{Ca}^{2+}$  predstavlja povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu določene celice, ki mu sledi zaporedje podobnih dogodkov v okoliških celicah. Pri tem se koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu posamezne celice približno desetkrat poveča [3]. Val povzroči električna, mehanska ali farmakološka stimulacija začetne celice. Povečanje koncentracije se nato širi med celicami radialno navzven od začetne celice. Širi se do nekaj deset sekund. Hitrost vala je odvisna od načina stimulacije začetne celice in tipično znaša  $\sim 10\text{-}20$   $\mu\text{m/s}$  [4]. V tem se val  $\text{Ca}^{2+}$  loči od običajnega valovanja. Pri valovih kalcijevih ionov ne gre za valovanje prožnega sredstva, ampak za povečanje koncentracije ionov kalcija v citosolu posamezne celice, ki mu sledi povečanje koncentracije v sosednji celici in nato v sosedni te celice itd.

Valove  $\text{Ca}^{2+}$  je mogoče opazovati z uporabo fluorescenčne optične mikroskopije. V citosol celic dodamo indikator, ki se mu ob vezavi s  $\text{Ca}^{2+}$  poveča fluorescentnost. To lahko uporabimo za merilo koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ . Na vzorec posvetimo s svetlobo (npr. živosrebrna svetilka, laser), ki jo indikator

absorbira in preide v vzbujeno stanje. Nato odda foton z znano valovno dolžino. Oddana svetloba potuje skozi emisijski filter na CCD detektor in tako dobimo sliko, ki predstavlja prostorsko odvisnost koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  [5, 6]. Na sliki 2 sta prikazana dva primera širjenja povečanja koncentracije kalcijevih ionov posneta s fluorescenčno mikroskopijo.



**Slika 2.** Primera širjenja vala  $\text{Ca}^{2+}$  v dveh vrstah celic posneta z fluorescenčno mikroskopijo. Bela črta ustreza razdalji  $50\ \mu\text{m}$ . Barva predstavlja spremembo v intenziteti fluorescenčne svetlobe. Povečanje fluorescence pomeni povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ . Povečanje koncentracije teh ionov se s časom širi od stimulirane celice do sosednjih celic. To širjenje imenujemo val kalcijevih ionov. Svetlozelena telesa predstavljajo posamezne celice. A) Val v glialnih celicah (vrsta celic, ki ima pomembno vlogo pri delovanju živčevja). B) Val v endotelijskih celicah (vrsta celic, ki tvori notranjo plast žil) v možganih podgane. Vir: [4].

Prva poročila o valovih  $\text{Ca}^{2+}$  so bila objavljena okrog leta 1990. Opazili so jih v kulturah astrocitov (vrsta glia celic v osrednjem živčevju) po dodatku glutamata (molekula, ki je pogost prenašalec živčnih impulzov pri vretenčarjih) izven celic [7].

Poznejše delo raziskovalnih skupin je pokazalo, da lahko astrociti in nevroni komunicirajo. Nevronska aktivnost v hipokampusu lahko sproži valove  $\text{Ca}^{2+}$  v bližnjih astrocitih in valovi v astrocitih lahko vplivajo na aktivnost nevronov. Nadaljnje študije so pokazale, da astrociti aktivno sodelujejo v procesiranju informacij v centralnem živčevju. Astrociti, ki sicer ne ustvarjajo električnih impulzov, prenašajo informacije s fluktuacijami koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  [8]. Pozneje so valove  $\text{Ca}^{2+}$  opazili tudi v mnogih drugih vrstah celic [4]. Večina opazovanj valov je bila izvedenih *in vitro* (v nadzorovanem umetnem okolju – posodi s kulturo), nekaj opazovanj pa tudi *in vivo* (v živem organizmu), npr. v možganih in jetrih.

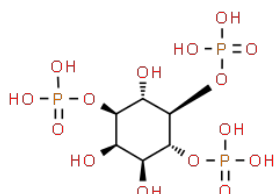
Medcelični valovi  $\text{Ca}^{2+}$  so kompleksni pojavi, ki vključujejo prenos signala med celicami, to pa je omejeno z lastnostmi difuzije in sestave celic. Razumevanje valov  $\text{Ca}^{2+}$  izhaja iz opazovanj z mikroskopijo, farmakologijo in matematičnega modeliranja. Modeliranje predstavlja bistveno orodje za razumevanje mehanizma in vedenja valov. Modeli omogočajo določanje parametrov, ki jih je sicer težko izmeriti (npr. permeabilnosti membran), in izdelavo napovedi, ki jih je nato mogoče eksperimentalno preizkusiti. V nadaljevanju je predstavljen mehanizem nastanka in širjenja valov ter grob matematični model, ki jih opisuje.

## 2. Mehanizem širjenja valov

Da bi razumeli, kako se valovi  $\text{Ca}^{2+}$  širijo, moramo vedeti, kaj povzroči začetek vala, kateri mehanizmi regulirajo koncentracijo kalcijevih ionov v celici in kako se povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  prenaša med celicami.

## 2.1 Nastanek valov

Povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu celice lahko sproži več mehanizmov. Val se lahko začne, ko eno celico mehansko stimuliramo, in se nato širi preko sosednjih celic. Obremenitev celične membrane najverjetneje povzroči odcepitev molekule inozitol trifosfat ( $\text{IP}_3$ ) od kompleksnejše molekule ( $\text{PIP}_2$ ) v celici. Slika 3 prikazuje strukturo  $\text{IP}_3$ . Inozitol trifosfat povzroči povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu. Ta mehanizem bo opisan v nadaljevanju. Eksperimentalno se stimulacijo celice doseže s piezoelektrično napravo, ki omogoča upravljanje obremenitve z električno napetostjo. Za stimulacijo se lahko uporabi tudi električni impulz z mikroelektrodo na zunanosti celice.

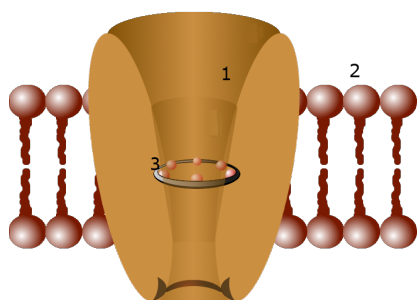


**Slika 3.** Struktura molekule inozitol trifosfat ( $\text{IP}_3$ ). Vir: [9].

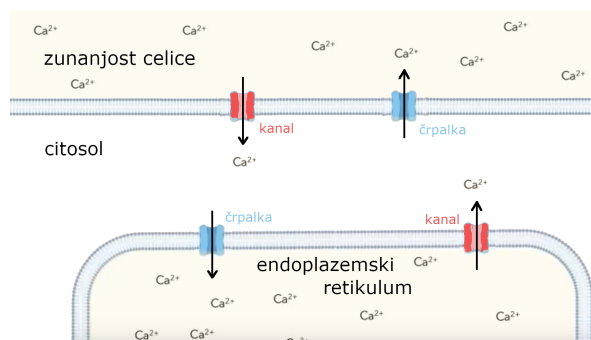
Poleg stimulacije ene celice lahko val sproži tudi stimulacija več celic naenkrat. Tako stimulacijo se doseže z mehanskim raztegovanjem cele plasti celic, z dodatkom nevrottransmitterja (npr. glutamat, serotonin) v okolico celic ali z znižanjem koncentracije kalcijevih ionov v prostoru med celicami. Val  $\text{Ca}^{2+}$  se lahko začne tudi spontano, brez izvenceličnega sprožilca [4].

## 2.2 Regulacija $\text{Ca}^{2+}$ v celici

V citosolu je tipična koncentracija ionov  $\text{Ca}^{2+}$  približno  $10^{-7}$  mol/L, njihova koncentracija izven celice pa je tipično nekaj desetstisočkrat večja. Tako veliko razliko v koncentraciji vzdržujejo črpalke kalcija, ki transportirajo  $\text{Ca}^{2+}$  iz celice v okolico in iz citosola v endoplazemski retikulum (ER) ter mitohondrij. ER in mitohondrij tako delujeta kot skladišče  $\text{Ca}^{2+}$  znotraj celice. V nadaljevanju bomo obravnavali le endoplazemski retikulum. Tipična koncentracija kalcijevih ionov v ER je  $\sim 10^{-3}$  mol/L [3]. Najpomembnejše črpalke, ki regulirajo znotrajcelični nivo  $\text{Ca}^{2+}$ , so transmembranski proteini iz družine P-ATPaz. Te transportirajo kalcijeve ione z uporabo molekule ATP (adenozin trifosfat). Črpalke te vrste se nahajajo na membrani endoplazemskega retikuluma in na celični membrani [3].



**Slika 4.** Shema ionskega kanala. Oznake na sliki: 1) stene kanala, 2) membrana, 3) filter ionov. Slika je povzeta po [10].



**Slika 5.** Poenostavljena shema celice. Prikazana je membrana, ki ločuje citosol in zunanost celice, ter membrana, ki ločuje notranost endoplazemskega retikuluma in citosol. Puščice nakazujejo smer transporta ionov  $\text{Ca}^{2+}$ .

Poleg črpalk lahko na koncentracijo kalcijevih ionov vplivajo tudi ionski kanali. To so proteini na membranah, ki omogočajo ionom, da skozi poro prečkajo membrano. Ione prepuščajo selektivno (le določene velikosti in naboja, v našem primeru le  $\text{Ca}^{2+}$ ) od večje k manjši koncentraciji. Ionski kanali se odzivajo na kemijske signale z odpiranjem ali zapiranjem pore. Ko je kanal odprt, stečejo kalcijevi ioni skozi kanal zaradi razlike v koncentraciji. To je vzrok za hitro povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu posamezne celice, ki so ga opazili s fluorescenčno mikroskopijo. Ko je kanal zaprt, ne prepušča ionov. Taki kanali se nahajajo na membrani endoplazemskega retikuluma in na celični membrani [4]. Shema ionskega kanala je prikazana na sliki 4, slika 5 pa prikazuje shemo celice z ER ter lego kanalov in črpalk.

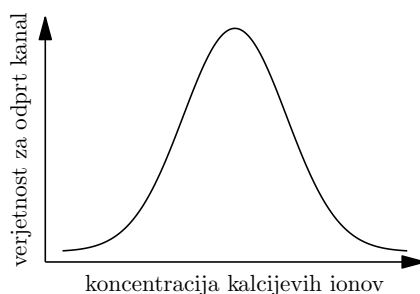
Odprtje kanalov na membrani endoplazemskega retikuluma povzroči tok  $\text{Ca}^{2+}$  v citosol. Zato pride do upada koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v ER, kar sproži odprtje kanalov na celični membrani (ti so občutljivi na koncentracijo  $\text{Ca}^{2+}$  v ER) in kalcijevi ioni lahko pridejo v celico. To prepreči, da bi znotraj celice zmanjkalo  $\text{Ca}^{2+}$ , ki je nujno potreben za delovanje procesov v celici [2, 11].

Odpiranje in zapiranje kanalov na membrani endoplazemskega retikuluma regulirajo receptorji, ki se nahajajo na kanalih. Za valove  $\text{Ca}^{2+}$  imata glavno vlogo dve vrsti receptorjev, ki upravljata kanale za kalcijeve ione. To sta receptorja  $\text{IP}_3\text{R}$  in  $\text{RyR}$ .

### 2.2.1 Receptor $\text{IP}_3\text{R}$

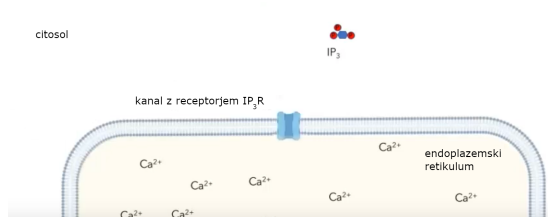
Receptor  $\text{IP}_3$  ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) odpira ali zapira  $\text{Ca}^{2+}$  kanal glede na koncentraciji molekul  $\text{IP}_3$  in  $\text{Ca}^{2+}$ . Če na receptor ni vezana molekula  $\text{IP}_3$  je kanal zaprt. Ob majhni koncentraciji molekule  $\text{IP}_3$  v citosolu je v takem stanju večina receptorjev na membrani endoplazemskega retikuluma.

Verjetnost, da je kanal odprt, je odvisna od koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu (ob pogoju, da je na receptor vezan  $\text{IP}_3$ ). Pri nizkih koncentracijah  $\text{Ca}^{2+}$  je verjetnost za odprt kanal majhna in narašča s povečevanjem koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ . Pri neki koncentraciji verjetnost doseže maksimum nato pa z naraščanjem koncentracije pada [4]. Ta odvisnost ima torej zvonasto obliko in je shematsko prikazana na sliki 6.

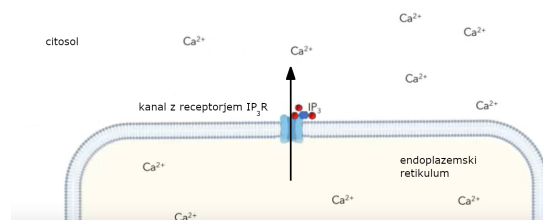


**Slika 6.** Približna odvisnost verjetnosti, da je kanal odprt, od koncentracije kalcijevih ionov v citosolu.

Posledica lastnosti receptorja je, da se ob vezavi  $\text{IP}_3$  na  $\text{IP}_3\text{R}$  začne sproščati  $\text{Ca}^{2+}$  iz endoplazemskega retikuluma, ki nato še poveča verjetnost za odprt kanal. Ta mehanizem imenujemo s  $\text{Ca}^{2+}$  inducirano sproščanje  $\text{Ca}^{2+}$ . Stanje pred vezavo  $\text{IP}_3$  in po vezavi je prikazano na slikah 7 in 8.



**Slika 7.** Endoplazemski retikulum in citosol pred vezavo  $\text{IP}_3$  (zaprt kanal).



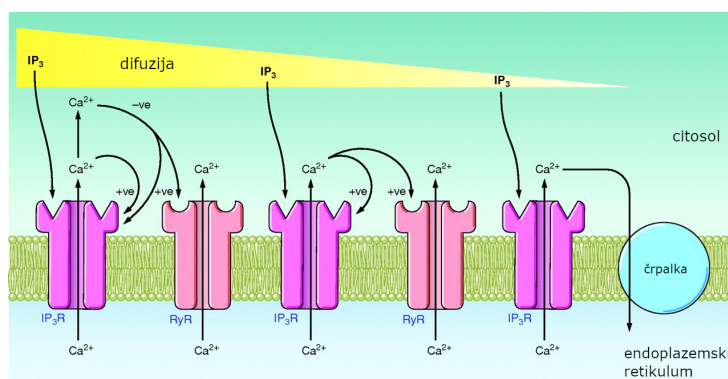
**Slika 8.** Endoplazemski retikulum in citosol po vezavi  $\text{IP}_3$  (odprt kanal).

Občutljivost  $IP_3R$  na  $Ca^{2+}$  omogoča aktivacijo bližnjih receptorjev na membrani. Signal  $Ca^{2+}$  se tako širi od enega samega odprtega kanala do sosednjih, ki se nato odprejo. Tako aktivacija receptorjev z  $IP_3$  povzroči odprtje kanalov po celotni celici, kar privede do opaženega povečanja koncentracije  $Ca^{2+}$  v citosolu [4]. Pri visokih koncentracijah kalcijevih ionov verjetnost za odprt kanal pada. Zato se po dosegu koncentracije  $Ca^{2+}$ , pri kateri je verjetnost maksimalna, začnejo kanali zapirati. To ustavi sproščanje  $Ca^{2+}$  v citosol.

### 2.2.2 Receptor RyR

Receptor RyR deluje podobno kot  $IP_3R$ , le da ne potrebuje molekule  $IP_3$ , da se odpre. Verjetnost, da je receptor RyR odprt, regulira le koncentracija  $Ca^{2+}$ . Ta odvisnost je podobna kot pri receptorju  $IP_3R$  in ima zvonasto obliko (slika 6). Delovanje receptorja RyR tako ojača mehanizem s  $Ca^{2+}$  inducirane sproščanja  $Ca^{2+}$ .

Receptorji  $IP_3R$  in RyR lahko tvorijo mešane skupke na membrani, kjer lahko povečanje koncentracije  $Ca^{2+}$  zaradi  $IP_3R$  stimulira sosednje RyR. Mehanizem s  $Ca^{2+}$  inducirane sproščanja  $Ca^{2+}$  deluje kot pozitivna povratna zanka. Kalcijevi ioni v citosolu povečajo verjetnost, da so kanali odprti, kar dodatno poveča tok ionov v citosol. Povečevanje koncentracije  $Ca^{2+}$  sledi difuziji  $IP_3$  po celici. Encimi v citosolu pri tem pretvarjajo  $IP_3$  v druge molekule. Zaradi zaprtja receptorjev, ki ga povzroči povečanje koncentracije  $Ca^{2+}$  v citosolu in razgradnje  $IP_3$ , se naraščanje koncentracije  $Ca^{2+}$  po nekem času zaključi. Koncentracija nato pada zaradi črpanja  $Ca^{2+}$  nazaj v endoplazemski retikulum preko črpalk na njegovi membrani [4]. Mehanizmi so povzeti na sliki 9.



**Slika 9.** Shema glavnih mehanizmov, ki povzročijo val v celici.  $IP_3$  difundira po celici in se veže na receptor  $IP_3R$ , kar odpre kanal in omogoči sproščanje  $Ca^{2+}$  iz endoplazemskega retikuluma. Povečana koncentracija kalcijevih ionov v citosolu povzroči še večje sproščanje iz ER. Nekaj  $Ca^{2+}$  difundira do receptorjev RyR, kar povzroči še dodatno sproščanje ionov. Povišana koncentracija kalcijevih ionov v citosolu zmanjša verjetnost za odprt kanal  $IP_3R$  (zvonasta odvisnost), kar prekine povratno zanko sproščanja kalcijevih ionov iz ER. Ker se  $IP_3$  s časom razgradi in je pogoj za odprt kanal, se naraščanje koncentracije  $Ca^{2+}$  ustavi. Črpalka transportira ione nazaj v notranjost ER, kar povzroči zmanjševanje koncentracije v citosolu in se tudi kanali RyR zaprejo. Vir: [4].

Hitrost širjenja valov  $Ca^{2+}$  v celici je odvisna od difuzije  $IP_3$  in  $Ca^{2+}$  po celici ter prostorske porazdelitve in lastnosti receptorjev. Ker proces s  $Ca^{2+}$  inducirane sproščanja  $Ca^{2+}$  poteka le, dokler se kanali ne zaprejo, ima povečanje koncentracije  $Ca^{2+}$  približno enako amplitudo povsod v celici. Nasprotno se koncentracija  $IP_3$  zaradi difuzije manjša z razdaljo od začetnega mesta. Dobrih indikatorjev za  $IP_3$  ni, zato je težko izmeriti njegovo koncentracijo. Dokler je koncentracija  $IP_3$  na difuzivni valovni fronti dovolj velika, da aktivira  $IP_3R$ , se bo mehanizem sproščanja kalcijevih ionov sprožil in val se bo širil brez degradacije, kar se ujema z eksperimenti. Sproščanje kalcijevih ionov je lahko posledica vstopa molekul  $IP_3$  v citosol iz sosednjih celic ali zunanje stimulacije celice (kar povzroči odcepitev  $IP_3$  od kompleksnejše molekule, ki je že v celici) [4].

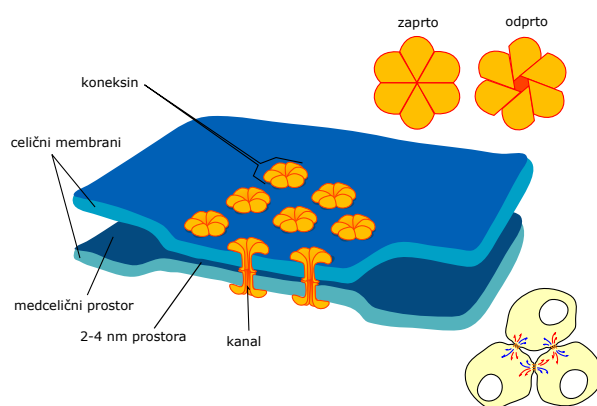


## 2.3 Širjenje vala $\text{Ca}^{2+}$ med celicami

Celična membrana preprečuje difuzijo  $\text{IP}_3$  in  $\text{Ca}^{2+}$  iz celice, zato mora obstajati drugačen mehanizem za prenos vala  $\text{Ca}^{2+}$  iz ene celice v sosednjo. Večina živalskih celic je povezanih s presledkovnim stikom, ki omogoča električno in kemijsko komunikacijo. Drugi možen mehanizem, ki omogoča komunikacijo tudi med nepovezanimi celicami pa je, da stimulirana celica izloči snov, ki difundira do druge celice, kjer ta snov sproži val  $\text{Ca}^{2+}$ .

### 2.3.1 Presledkovni stik

Presledkovni stiki so nanoskopski kanali med celičnimi membranami, ki povezujejo citoplazmo dveh sosednjih celic. Omogočajo difuzijo snovi med celicama. Kanale sestavljajo beljakovine imenovane koneksini. Lastnosti koneksinov določajo, katere snovi prepušča kanal. Koneksini so dobro prepustni za  $\text{Ca}^{2+}$  in  $\text{IP}_3$  [4]. Presledkovne stike prikazuje slika 10.



**Slika 10.** Shematski prikaz presledkovnih stikov na meji med dvema celicama. Slika povzeta po [12].

Prvi mehanizem za medcelično komunikacijo z  $\text{Ca}^{2+}$  je bil odkrit v astrocilih leta 1992 [8]. V tej študiji so odkrili, da tok tekočine v medceličnem prostoru ne vpliva na smer in hitrost širjenja valov  $\text{Ca}^{2+}$  med celicami. To je kazalo, da mehanizem širjenja v tem primeru ne poteka skozi tekočino med celicami. Pokazali so tudi, da lahko z dodatkom snovi, ki blokira presledkovne stike, ustavijo širjenje valov med celicami, medtem ko se  $\text{Ca}^{2+}$  nemoteno sprošča znotraj stimulirane celice. Od tod so sklepali, da širjenje vala  $\text{Ca}^{2+}$  v astrocilih poteka preko presledkovnih stikov. Nadaljnje raziskave so to potrdile [8].

Ta mehanizem podpirajo tudi opazovanja širjenja koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  med dvema celicama. Val  $\text{Ca}^{2+}$  se v drugi celici sproži šele  $\sim 1$  s po tem, ko je v prvi (sosednji) celici val dosegel celično membrano. Poleg tega se val v drugi celici širi od mesta, ki je v stiku s prvo celico. Valovi se ne širijo z drugih mest v citosolu. Potrebo po kontaktu celic so preizkusili na plasti epitelijskih celic, ki so jo prerezali. Mehansko vzbujeni valovi se niso širili čez režo [4].

Ostaja še vprašanje, kaj ima večji vpliv na prenos vala med celicami –  $\text{Ca}^{2+}$  ali  $\text{IP}_3$ ? Beljakovine v citosolu močno omejujejo širjenje  $\text{Ca}^{2+}$ . Efektivni difuzijski koeficient  $\text{IP}_3$  je zato veliko večji od koeficienta za  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\sim 280 \mu\text{m}^2/\text{s}$  in  $\sim 13 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ) [4].  $\text{IP}_3$  lahko zato hitreje doseže večje razdalje kot kalcijevi ioni, še posebej ob prehodu čez presledkovni stik, pri čemer se njegova koncentracija v prvotni celici zmanjša.

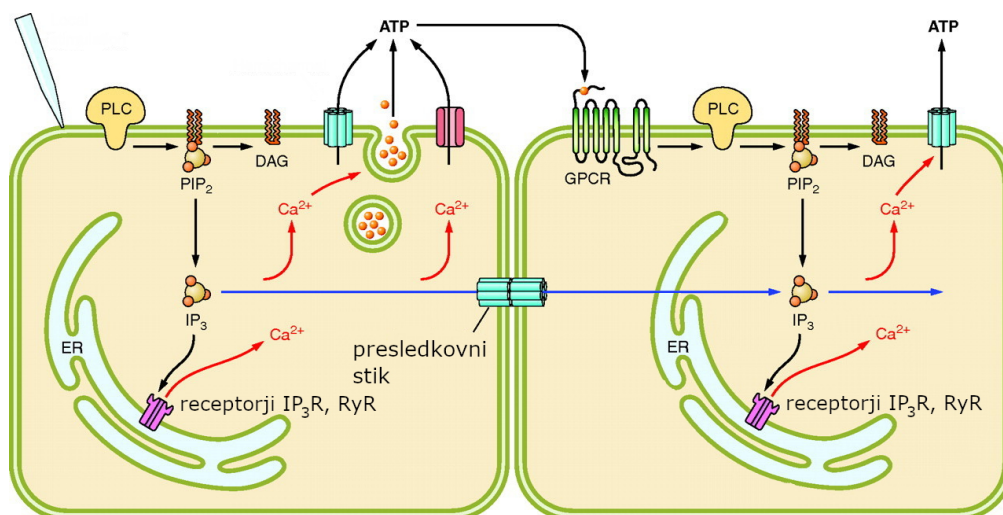
Bolj verjetno je torej, da bo s  $\text{Ca}^{2+}$  inducirano sproščanje  $\text{Ca}^{2+}$  v sosednji celici sprožila difuzija  $\text{IP}_3$  kot pa difuzija  $\text{Ca}^{2+}$ . To povzroči širjenje povečane koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  med sosednjimi celicami, ki jo lahko opazimo. Tudi matematično modeliranje valov  $\text{Ca}^{2+}$  v celicah podpira hipotezo, da je glavni mehanizem širjenja valov difuzija  $\text{IP}_3$  skozi presledkovne stike [4].

### 2.3.2 Parakrinsko signaliziranje

Drugi mehanizem za širjenje vala  $\text{Ca}^{2+}$  med celicami je parakrinsko signaliziranje. To je način signaliziranja, pri katerem se signalna molekula iz celice izloči v medcelični prostor, kjer se z difuzijo prenese do sosednjih celic.

Ta mehanizem je bil odkrit leta 1992 [13]. Opazili so, da v kulturah cerebralnih astrocitov valovi  $\text{Ca}^{2+}$  potujejo tudi čez območja, kjer ni bilo celic. Poleg tega je tok tekočine v medceličnem prostoru vplival na smer širjenja valov. To je bilo v nasprotju z valovi, ki se prenašajo preko presledkovnih stikov, kjer tok tekočine nima vpliva na valove. Zato so sklepali, da se valovi  $\text{Ca}^{2+}$  širijo z dvema različnima mehanizmoma. Leta 1999 so raziskovalci pokazali, da stimulirani astrociti izločijo molekulo ATP, ki deluje kot posrednik za širjenje valov  $\text{Ca}^{2+}$  [14]. Vzorci medcelične tekočine po sprožitvi vala  $\text{Ca}^{2+}$  so vsebovali ATP. Dodajanje ATP v drugo kulturo celic, pa je sprožilo val  $\text{Ca}^{2+}$ . Trenutno kaže, da je ATP glavna signalna molekula za prenos valov kalcijevih ionov. [3, 4].

Izločeni ATP difundira med celicami in na zunanosti druge celice povzroči vrsto procesov pri katerih se iz sestavin v celici sintetizira molekula  $\text{IP}_3$ . Ta molekula pa po prej opisanem mehanizmu povzroči povečanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v celici. Izločanje ATP iz stimuliranih celic je dobro preverjeno, sam mehanizem izločanja pa ni dobro znan. Predlaganih je več hipotetičnih mehanizmov. ATP je najpogostejši posrednik za parakrinsko signalizacijo, mogoča pa je tudi komunikacija z drugimi molekulami [4]. Mehanizmi širjenja med celicami so povzeti na sliki 11.

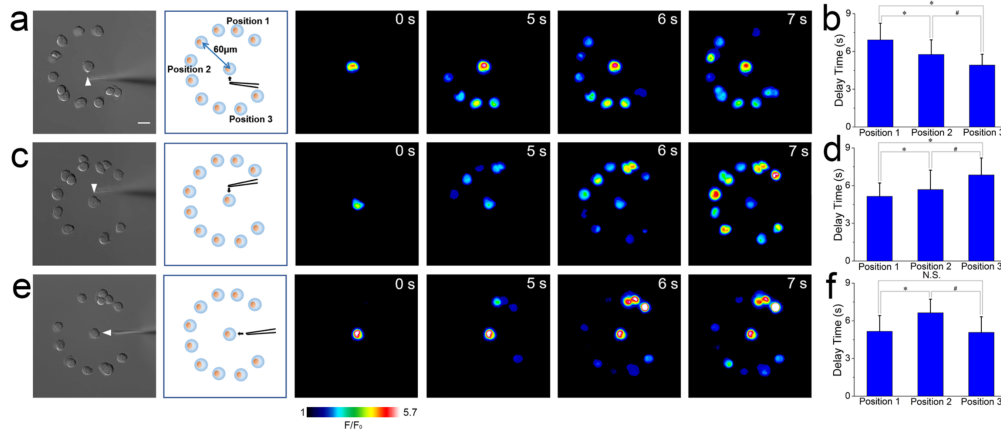


**Slika 11.** Shematski prikaz mehanizmov prenosa vala  $\text{Ca}^{2+}$  med dvema celicami. Lokalna mehanska stimulacija lahko vodi do povečane koncentracije  $\text{IP}_3$  v začetni celici.  $\text{IP}_3$  difundira znotraj celice in vodi do  $\text{Ca}^{2+}$  induiranega sproščanja  $\text{Ca}^{2+}$ . Difuzija  $\text{IP}_3$  skozi presledkovni stik vodi do sproščanja kalcijevih ionov v drugi celici. Dodatno (ali alternativno) stimulirana začetna celica izloči ATP. Medcelična difuzija ATP na bližnji celici aktivira receptorje na površini celice, kar privede do proizvodnje  $\text{IP}_3$  v sosednji celici. Nastali  $\text{IP}_3$  nato sproži sproščanje kalcijevih ionov v tej celici. Slika je povzeta po [4].

### 3. Lastnosti in pomen valov kalcijevih ionov

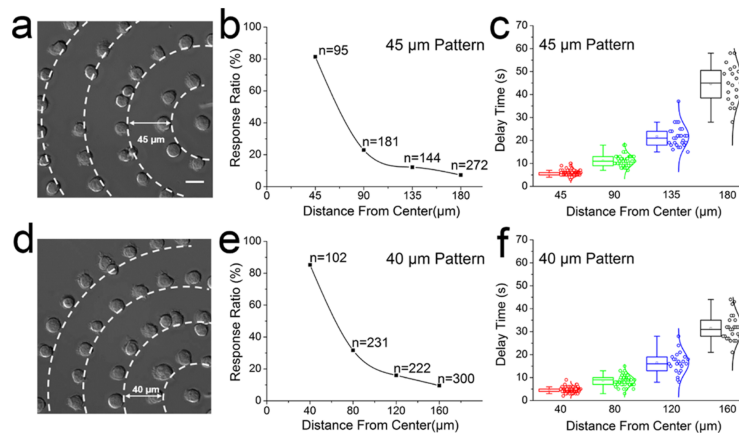
Medcelični valovi  $Ca^{2+}$ , ki so posledica predvsem difuzije  $IP_3$  preko presledkovnih stikov, dosežejo majhne razdalje (do  $\sim 5$  celic) zaradi zmanjševanja koncentracije  $IP_3$ . Medcelični valovi, ki temeljijo na parakrinski signalizaciji, pa dosežejo večje razdalje (več sto  $\mu m$ ), saj se signal izvenceličnega ATP (delno) ojači v vsaki celici [15]. Nekatere vrste celic komunicirajo pretežno z enim ali drugim mehanizmom, nekatere pa s približno enakovredno kombinacijo obeh [4].

V primeru, ko se valovi širijo s parakrinskim signaliziranjem, se zaradi difuzije ATP (ki je približno enako hitra v vse smeri), najprej poveča koncentracija  $Ca^{2+}$  v celicah, ki so najbližje mestu, s katerega se izloča ATP. To potrjujejo tudi meritve (slika 12).



**Slika 12.** Primer širjenja valov  $Ca^{2+}$  s parakrinskim signaliziranjem. Bela črta na sliki levo zgoraj ustreza razdalji 50  $\mu m$ . V vseh treh primerih je bila začetna celica mehansko stimulirana na mestu označenem z belo puščico (leve slike). Zaporedje posnetkov fluorescence prikazuje širjenje povečanja koncentracije  $Ca^{2+}$  med celicami. Na desnih grafih so časovni intervali med trenutkom stimulacije in trenutkom, ko val doseže označeno mesto (pozicije 1, 2, 3). Videti je, da val najprej doseže celice, ki so najbližje mestu mehanske stimulacije. Vir: [5].

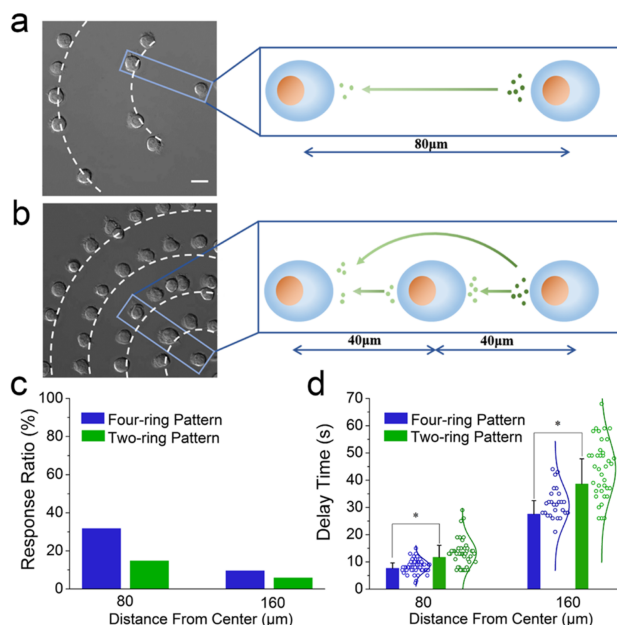
Slika 13 prikazuje število celic, v katerih se poveča koncentracija  $Ca^{2+}$  pri različnih razdaljah od stimulirane celice. Delež celic, ki se odzovejo na val, z večanjem razdalje pada. Časovni interval med stimulacijo začetne celice in odzivom druge celice pa z razdaljo narašča približno kvadratično [5]. Tudi to kaže na difuzivno naravo širjenja valov  $Ca^{2+}$ .



**Slika 13.** Odvisnost odzivnosti celic na val  $Ca^{2+}$  od njihove razdalje do stimulirane celice. Vir: [5].



Na sliki 14 je viden učinek mehanizma (delne) regeneracije ATP, zaradi katerega lahko val doseže večjo razdaljo. Vmesne celice, ki se odzovejo na val, izločajo ATP. Zato pri večji gostoti celic (več obročih) koncentracija ATP z razdaljo pada počasneje. Zaradi večje koncentracije se odzove tudi več celic. Vmesne celice torej delujejo kot ojačevalci signala [5].



**Slika 14.** Odzivnost celic pri dveh različnih razdaljah med koncentričnimi obroči, na katerih so locirane celice. (a) ATP difundira od stimulirane celice (skrajno desno) do celic na prvi krožnici 80 μm od centra. (b) ATP difundira od stimulirane celice (spodaj desno) do celic na prvi krožnici pri razdalji 40 μm, in nato še do druge krožnice pri 80 μm. (c) delež celic ki se odzovejo na val  $\text{Ca}^{2+}$ . Odziv celic pri dveh krožnicah je manjši od odziva pri štirih krožnicah. (d) časovni interval med stimulacijo celice in odzivom celic na določeni razdalji. Časovni interval je pri štirih obročih manjši od intervala pri dveh. Vir: [5].

Kljub omejenemu dosegu imajo medcelični valovi  $\text{Ca}^{2+}$  veliko učinkov na delovanje organizmov. Valovi  $\text{Ca}^{2+}$  vplivajo na delovanje nekaterih ionskih kanalov, predvsem kanalov za kalij. Koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  učinkuje na delovanje nekaterih encimov v celici, kar lahko vpliva na komunikacijo z drugimi molekulami za signalizacijo in tako posredno vpliva na delovanje nevronov, gladkih mišic, očesne retine, jeter in endotelijskih celic (ki upravljajo širjenje in oženje krvnih žil). Valovi  $\text{Ca}^{2+}$  lahko vplivajo tudi na encime v citosolu in preko njih posredujejo signale v jedro celice in tako vplivajo na izražanje genov [4, 8, 16].

Koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu je natančno nadzorovana, ker kalcijevi ioni kontrolirajo ključne procese v celici: diferenciacijo, metabolizem, transkripcijo genov, celično delitev, apoptozo (celična smrt) in druge. Tako  $\text{Ca}^{2+}$  vplivajo na kompleksne procese kot je učenje in razvoj. Neustrezna koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu je lahko vzrok za veliko bolezni. Napačno delovanje kanalov kalcijevih ionov v živčevju vodi k paralizi, migreni, težavam v koordinaciji gibanja. Gluhost in kožne bolezni so lahko posledica mutacij v črpalkah  $\text{Ca}^{2+}$  [11].

V zadnjih dveh desetletjih se pojavljajo indikacije, da imajo  $\text{Ca}^{2+}$  valovi pomembno vlogo tudi pri nastanku Alzheimerjeve bolezni. Pri gensko spremenjenih miših, ki jih uporabljajo kot model za raziskovanje poteka Alzheimerjeve bolezni, so opazili porast koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v astrocitih in pogostejše valove  $\text{Ca}^{2+}$ . Kalcijevi valovi bi lahko bili del mehanizma, s katerim možganske obloge (najverjetnejši vzrok Alzheimerjeve bolezni) povzročajo degradacijo nevronov [4, 17, 18].

#### 4. Matematični model širjenja valov

V nadaljevanju je predstavljen matematični model širjenja valov  $\text{Ca}^{2+}$ , ki je povzet po članku [19]. Model je seveda poenostavitev realnega dogajanja. Spodaj so opisane predpostavke o poteku procesov v modelu.

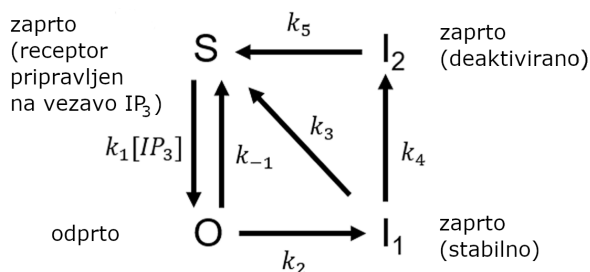
Vnos  $\text{Ca}^{2+}$  v citosol se zgodi preko dveh poti: (i) vnos iz medceličnega medija skozi  $\text{Ca}^{2+}$  kanale v celični membrani in (ii) izločanje iz zalog v celici (v endoplazemskem retikulumu). Izločanje iz ER poteka preko receptorjev  $\text{IP}_3\text{R}$  in  $\text{RyR}$ . Dejavnik zunaj celice sproži nastanek molekule  $\text{IP}_3$  (odcepi se od kompleksnejše molekule), ki nato difundira po citosolu in odpre receptorje  $\text{IP}_3\text{R}$ . Temu sledi izločanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz ER. To imenujemo z  $\text{IP}_3$  inducirano sproščanje  $\text{Ca}^{2+}$ . Upoštevati je treba še prej opisani mehanizem s  $\text{Ca}^{2+}$  inducirane sproščanja  $\text{Ca}^{2+}$ , pri katerem sodeluje tudi receptor  $\text{RyR}$ . Hkrati se  $\text{Ca}^{2+}$  črpa iz citosola skozi celično membrano in tudi nazaj v endoplazemski retikulum.

K temu modelu procesov v eni celici je potrebno dodati še model širjenja med celicami preko presledkovnih stikov in ATP. Vsak podsistem bomo obravnavali ločeno.

##### 4.1 Model receptorja $\text{IP}_3\text{R}$

Najprej bomo modelirali odpiranje in zapiranje receptorja  $\text{IP}_3\text{R}$ . Na receptor vplivata koncentraciji  $\text{IP}_3$  in  $\text{Ca}^{2+}$ . Tu lahko  $\text{Ca}^{2+}$  odpre ali zapre  $\text{IP}_3\text{R}$ . Za model velja:

1. Predpostavimo, da je receptor  $\text{IP}_3\text{R}$  sestavljen iz štirih enakih neodvisnih enot, ki so lahko v štirih različnih stanjih [19, 20]. Prehodi med stanji so prikazani na sliki 15.
2. Kanal receptorja je odprt, če so vse štiri enote receptorja v stanju  $O$ . Oznaka  $O$  predstavlja delež enot v odprtem stanju. Zato je verjetnost za odprt kanal  $P_{\text{IP}_3\text{R}} = O^4$ .
3. V stanju  $S$  je kanal receptorja zaprt in  $\text{IP}_3$  ni vezan na receptor.
4. Vezava  $\text{IP}_3$  na receptor povzroči prehod enote v stanje  $O$ . Kot smo prej opisali, koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  vpliva na verjetnost, da bo kanal odprt (zvonasta odvisnost). Verjetnost za prehod iz stanja  $S$  v  $O$  bo zato funkcija koncentracije kalcijevih ionov.
5. Predpostavili bomo še, da je stanje  $O$  nestabilno, ker meritve kažejo, da lahko tako  $\text{Ca}^{2+}$  kot  $\text{IP}_3$  tudi inhibirata receptor. Zato v našem modelu enota receptorja iz stanja  $O$  preide v bolj stabilno stanje  $I_1$ . Predpostavimo, da ima prehod v nasprotno smer majhno verjetnost in ga zanemarimo. Prav tako zanemarimo prehod iz  $S$  v  $I_1$ .
6. Prehod iz  $I_1$  v  $S$  predstavlja disociacijo  $\text{IP}_3$  z vezavnega mesta na receptorju  $\text{IP}_3\text{R}$ . Dodamo še stanje  $I_2$ . Zaradi kemijskih reakcij, ki lahko potečejo na tem receptorju, ta potrebuje nekaj časa, da se lahko spet odpre. To modeliramo s stanjem  $I_2$ , v katerem je receptor zaprt.



**Slika 15.** Diagram stanj in prehodov za receptor  $\text{IP}_3\text{R}$ . Konstante  $k$  predstavljajo verjetnost za prehod na časovno enoto. Vir: [19].

Sprememba deleža enot receptorja v posameznem stanju na časovno enoto je enaka produktu verjetnosti za prehod v to stanje na časovno enoto (kar podajajo konstante  $k$ ) in deležu enot, ki lahko v

to stanje preidejo. Na podlagi zgornjega diagrama lahko zapišemo populacijske enačbe, ki opisujejo spreminjanje deleža enot v posameznem stanju.

V odprto stanje  $O$  lahko enota pride le iz zaprtega stanja  $S$ . Da se receptor odpre je potreben  $IP_3$ , zato bomo naredili približek, da je verjetnost za prehod sorazmerna s koncentracijo  $[IP_3]$  v citosolu. Iz stanja  $O$  lahko enota preide nazaj v  $S$  ali v  $I_1$ . Verjetnost za oba prehoda je sorazmerna s tem koliko enot je v stanju, ki lahko opravi prehod (v stanju  $O$ ). Enačba, ki opisuje spreminjanje deleža enot v stanju  $O$  je torej

$$\frac{dP_O}{dt} = k_1[IP_3]P_S - k_{-1}P_O - k_2P_O.$$

Podobno lahko zapišemo tudi enačbe, ki opisujejo spremembo deleža enot s časom v drugih stanjih, kjer si pomagamo z zgornjim diagramom. Dobimo

$$\begin{aligned} \frac{dP_{I_1}}{dt} &= k_2P_O - (k_3 + k_4)P_{I_1}, \\ \frac{dP_{I_2}}{dt} &= k_4P_{I_1} - k_5P_{I_2}. \end{aligned}$$

Vsota deležev enot, ki so v posameznem stanju mora biti enaka 1. Zato lahko za delež enot v stanju  $S$  zapišemo

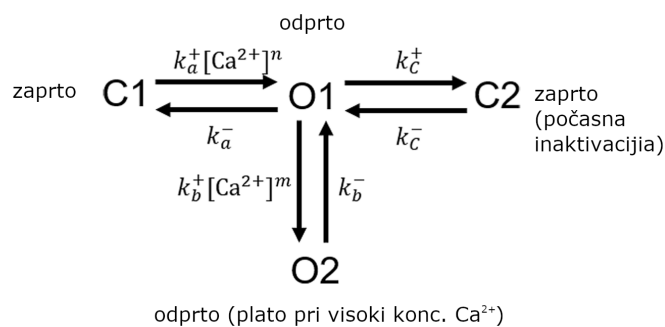
$$P_S = 1 - P_O - P_{I_1} - P_{I_2}.$$

Kot že omenjeno pa je receptor odprt, če so vse enote v stanju  $O$ . Zato je verjetnost za odprt receptor  $IP_3R$

$$P_{IP_3R} = P_O^4.$$

V zgornjih enačbah so  $k_{-1}$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  in  $k_5$  konstante. Vrednost  $k_1$  je odvisna od koncentracije  $Ca^{2+}$  v citosolu, s čimer modeliramo to, da je verjetnost za odprtje odvisna od koncentracije kalcijevih ionov (zvonasta krivulja). Te odvisnosti in vrednosti konstant se določa eksperimentalno.

## 4.2 Model receptorja RyR



Slika 16. Diagram stanj in prehodov v modelu CICR. Vir: [19].

Dinamiko prehodov med stanji receptorja RyR opišemo na podoben način kot dinamiko receptorja  $IP_3R$ . Dobimo sistem sklopljenih diferencialnih enačb, ki opisujejo verjetnost, da je receptor v posameznem stanju. Kalcijevi ioni aktivirajo receptor v nekaj milisekundah, nato pa sledi počasno padanje verjetnosti, da je odprt, ki traja nekaj sekund. Dinamiko tega receptorja opišemo s

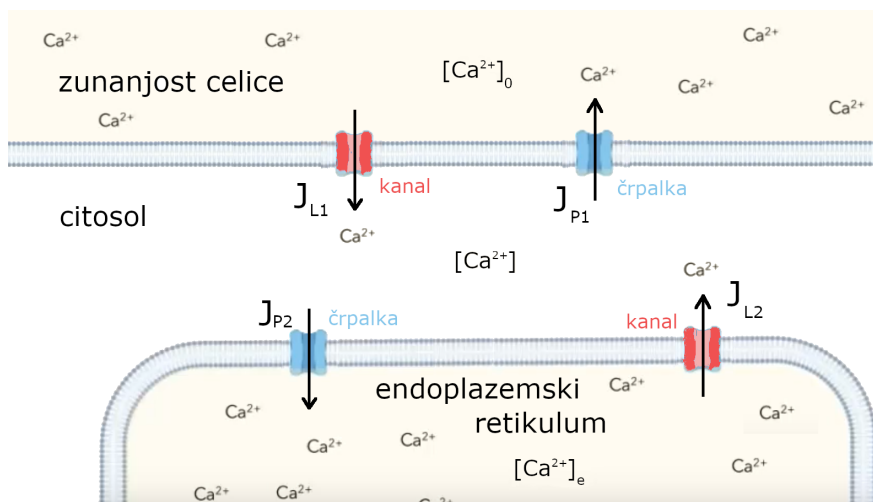
poenostavljenim modelom

$$\begin{aligned}\frac{dP_{C_1}}{dt} &= -k_a^+ [\text{Ca}^{2+}]^n P_{C_1} + k_a^- P_{O_1} \\ \frac{dP_{O_1}}{dt} &= k_a^+ [\text{Ca}^{2+}]^n P_{C_1} - k_a^- P_{O_1} - k_b^+ [\text{Ca}^{2+}]^m P_{O_1} + k_b^- P_{O_2} - k_c^+ P_{O_1} + k_c^- P_{C_2} \\ \frac{dP_{O_2}}{dt} &= k_b^+ [\text{Ca}^{2+}]^m P_{O_1} - k_b^- P_{O_2} \\ \frac{dP_{C_2}}{dt} &= k_c^+ P_{O_1} - k_c^- P_{C_2} \\ P_{C_1} + P_{C_2} + P_{O_1} + P_{O_2} &= 1,\end{aligned}$$

kjer sta  $C_1$  in  $C_2$  zaprti stanji ter  $O_1$  in  $O_2$  odprti stanji (slika 16), pripadajoče spremenljivke  $P$  pa so verjetnosti, da je receptor v tem stanju. Predpostavili smo, da sta prehoda iz  $C_1$  v  $O_1$  in iz  $O_1$  in  $O_2$  odvisna od koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ . Prehod iz  $O_1$  v  $C_2$  je dodan, da upoštevamo počasen upad verjetnosti, da je kanal odprt po aktivaciji. Prehod iz  $O_1$  v  $O_2$  pa zato, da upoštevamo plato odprtih receptorjev RyR, ko se koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  povečuje. Zato predpostavimo, da so prehodi odvisni od koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  na (neznano) potenco  $n$  ali  $m$ , ki se jo določa eksperimentalno. Oznake  $a$ ,  $b$  in  $c$  predstavljajo posamezne prehode,  $k_i^\pm$  pa so konstante. Prehoda  $a$  in  $b$  sta hitra (skala milisekund),  $c$  pa počasen (skala sekund) [19].

### 4.3 Model izmenjave $\text{Ca}^{2+}$ preko membran

Opisati moramo še tokove kalcijevih ionov preko membrane endoplazemskega retikuluma in preko celične membrane v zunanost. Predpostavimo, da je v celici en endoplazemski retikulum, ki izmenjava  $\text{Ca}^{2+}$  s citosolom ( $J_{L2}$  predstavlja izločanje iz ER,  $J_{P2}$  pa vnos v ER). Citosol izmenjava kalcijeve ione s prostorom izven celice. Oznaka  $J_{L1}$  predstavlja vnos v celico,  $J_{P1}$  iz izločanje iz celice. [19, 21]. Tokovi so prikazani sliki 17.



Slika 17. Shema tokov kalcijevih ionov preko membran.

Spreminjanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu je enako neto vsoti tokov ionov. Tokova  $J_{L1}$  in  $J_{L2}$  povečujeta koncentracijo ionov v citosolu, tokova  $J_{P1}$  in  $J_{P2}$  pa jo zmanjšujeta. Spreminjanje koncentracije kalcijevih ionov v citosolu s časom opisuje enačba

$$\frac{d[\text{Ca}^{2+}]}{dt} = J_{L1} - J_{P1} + J_{L2} - J_{P2}.$$

Tokova  $J_{L1}$  in  $J_{L2}$  povečujeta koncentracijo ionov in imata zato pozitiven predznak (sprememba koncentracije s časom je pozitivna). Tokova  $J_{P1}$  in  $J_{P2}$  pa jo zmanjšujeta in imata zato negativen predznak. Koncentracijo kalcijevih ionov v endoplazemskem retikulumu povečuje tok črpalke  $J_{P2}$ , zmanjšuje pa tok skozi kanal  $J_{L2}$  (če je odprt). Podobno kot prej zapišemo enačbo za časovno spreminjanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v endoplazemskem retikulumu

$$\frac{d[\text{Ca}^{2+}]_e}{dt} = J_{P2} - J_{L2}.$$

Določiti moramo še kako so tokovi odvisni od koncentracije. Predpostavili bomo, da črpalke delujejo stalno in da je tok skozi kanal sorazmeren s koncentracijo kalcijevih ionov v citosolu. Tokova skozi črpalke sta

$$\begin{aligned} J_{P1} &= k'_2 [\text{Ca}^{2+}], \\ J_{P2} &= k'_4 [\text{Ca}^{2+}]. \end{aligned}$$

Ko so kanali odprti skozi tečejo kalcijevi ioni zaradi razlike v koncentraciji. Pri tem gre za difuzijo  $\text{Ca}^{2+}$  skozi odprtino kanala. Iz difuzijske enačbe vemo, da je tok sorazmeren z negativnim gradientom koncentracije (tok teče iz območja z višjo koncentracijo v območje z nižjo). Zato bomo predpostavili, da sta tokova skozi kanale v membranah sorazmerna z razliko v koncentraciji kalcijevih ionov. Tok iz zunanosti celice v citosol skozi odprt kanal je tako sorazmeren z razliko koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu in koncentracije izven celice  $[\text{Ca}^{2+}]_0$ , torej

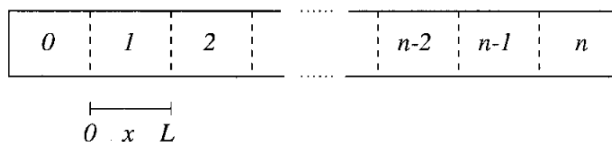
$$J_{L1} = k'_1 ([\text{Ca}^{2+}] - [\text{Ca}^{2+}]_0),$$

kjer je  $k'_1$  konstanta. Podobno je tok iz endoplazemskega retikuluma v citosol skozi odprt kanal sorazmeren z razliko med koncentracijama v teh dveh območjih in je

$$J_{L2} = k'_3 ([\text{Ca}^{2+}] - [\text{Ca}^{2+}]_e).$$

#### 4.4 Model difuzije med celicami

Difuzijo skozi presledkovne stike lahko modeliramo z difuzijsko enačbo [19]. Predstavljamo si niz celic, kot je na sliki 18. Vsaka celica ima dolžino  $L$ , koordinata  $x$  pa predstavlja lego znotraj posamezne celice ( $0 < x < L$ ). Za boljšo preglednost bomo koncentracijo kalcijevih ionov v  $i$ -ti celici označili z  $u_i = [\text{Ca}^{2+}]_i$ .



Slika 18. Niz  $n$  celic.

Če predpostavimo, da znotraj celice  $\text{Ca}^{2+}$  prosto difundira, lahko zapišemo difuzijsko enačbo za koncentracijo kalcijevih ionov v  $i$ -ti celici

$$\frac{\partial u_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u_i}{\partial x^2},$$

Spreminjanje koncentracije s časom na nekem mestu v celici je sorazmerno z difuzijskim koeficientom  $\text{Ca}^{2+}$  v citosolu in drugim prostorskim odvodom koncentracije ionov. Upoštevati pa moramo še, da



so v celici še kanali in črpalke, ki lahko spreminjajo koncentracijo  $\text{Ca}^{2+}$ . Zato k difuzijski enačbi dodamo še člen, ki opisuje pritekaje oz. odtekanje ionov

$$\frac{\partial u_i}{\partial t} = h(x)f(u_i) + D\frac{\partial^2 u_i}{\partial x^2}.$$

Funkcija  $f([\text{Ca}^{2+}]_i)$  opisuje neto sproščanje/črpanje  $\text{Ca}^{2+}$  v posamezni celici. Če je funkcija  $f$  pozitivna, kalcijevi ioni pritekajo v citosol. Zato ima ta člen pozitiven predznak, saj pritekaje ionov povzroči naraščanje koncentracije (odvod koncentracije s časom je pozitiven). Za odtekanje ionov iz citosola velja nasprotno.

Funkcija  $h(x)$  opisuje prostorsko porazdelitev mest, kjer kalcijevi ioni pritekajo oz. odtekajo iz citosola. Ker sproščanje/črpanje  $\text{Ca}^{2+}$  ni enakomerno porazdeljeno po celici (ampak se dogaja le na membrani ER, celični membrani in presledkovnih stikih) funkcijo  $f$  pomnožimo s  $h(x)$ , ki je enaka 1 na mestih kanalov in črpalk, sicer pa je enaka 0.

Z zgornjo enačbo opišemo difuzijo  $\text{Ca}^{2+}$  v celici. Podobno bi lahko zapisali tudi za difuzijo  $\text{IP}_3$  v celici. Da modeliramo valove  $\text{Ca}^{2+}$  pa je potrebno opisati še tok kalcijevih ionov in  $\text{IP}_3$  skozi presledkovne stike. Predpostavimo, da se ioni  $\text{Ca}^{2+}$  nahajajo pri  $x = 0$  in  $x = L$ . Za opis toka snovi lahko uporabimo Fickov zakon za difuzijo

$$J = -D\frac{\partial u_i}{\partial x},$$

kjer je  $J$  ploščinska gostota toka ionov zaradi difuzije. Po tej enačbi je tok snovi sorazmeren z gradientom koncentracije te snovi. Predpostavimo še, da je tok ionov skozi presledkovni stik sorazmeren z razliko v njihovi koncentraciji. Za mejo med celicama (presledkovni stik) velja

$$\begin{aligned} -D\frac{\partial u_i}{\partial x}\Big|_{x=0} &= P[u_{i-1}(L, t) - u_i(0, t)], \\ D\frac{\partial u_i}{\partial x}\Big|_{x=L} &= P[u_{i+1}(0, t) - u_i(L, t)], \end{aligned}$$

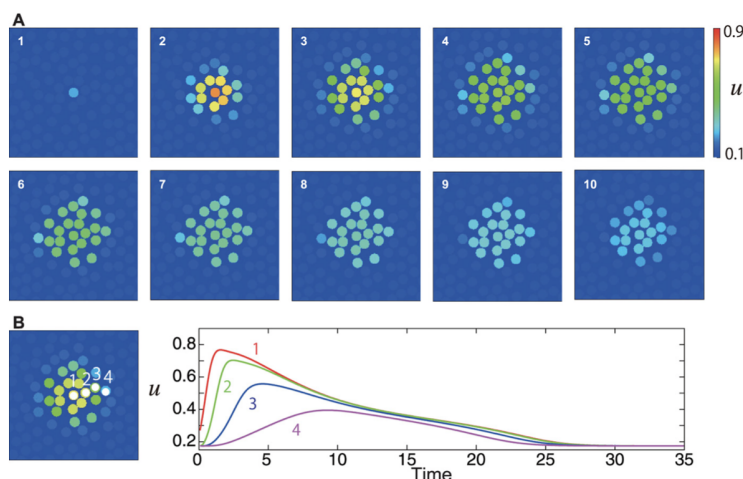
kjer je  $P$  konstanta permeabilnosti presledkovnega stika za kalcij. Večji  $P$  pri enaki razliki koncentracij pomeni večji tok ionov med celicama.

#### 4.5 Celoten model

Z zgornjima enačbama smo povezali koncentracijo  $\text{Ca}^{2+}$  med sosednjimi celicami. Skupaj z enačbami difuzije lahko tako opišemo transport ionov med celicami preko presledkovnih stikov. Podobno bi lahko modelirali tudi difuzijo  $\text{IP}_3$  skozi presledkovne stike, kar je nujno nastanek valov  $\text{Ca}^{2+}$ , saj ravno difuzija  $\text{IP}_3$  v drugo celico sproži odprtje kanalov in povišanje koncentracije kalcijevih ionov. Če te enačbe združimo še z enačbami izmenjave  $\text{Ca}^{2+}$  preko membran in enačb za odprtost kanalov, lahko s takim modelom dobro opišemo širjenje valov kalcijevih ionov. Tak sistem enačb se lahko reši numerično z metodo končnih diferenc.

Poleg širjenja skozi presledkovne stike je pomembno tudi širjenje preko ATP, a tega tu ne bomo obravnavali. Spodaj je primer numeričnega izračuna dinamike, kjer je dodan še model širjenja valov z ATP.

## Medcelične komunikacije na osnovi valov kalcijevih ionov



**Slika 19.** Primer rezultatov simulacije širjenja vala  $\text{Ca}^{2+}$ . Celica v centru je stimulirana ob času 0,  $u$  pa je brezdimenzijska koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$ . (A) Spreminjanje koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v odvisnosti od časa. (B) Spremembe v koncentraciji  $\text{Ca}^{2+}$  v celicah označenih na levi. Vir: [19].

Iz zgornje simulacije širjenja vala (slika 19), je videti, da model replicira glavne lastnosti valov kalcijevih ionov. Širi se od stimulirane celice navzven v vse smeri, celice se hitro aktivirajo in nato se koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  počasi vrača na začetno raven. Val ima omejen doseg, saj se amplitude povečanja koncentracije ionov manjšajo z oddaljevanjem od začetne celice.

## 5. Zaključek

Medcelični valovi  $\text{Ca}^{2+}$  so pojav, s katerim več vrst celic medsebojno komunicira. Valove kalcijevih ionov sproži mehanska stimulacija celice, dodajanje farmakoloških snovi ali pa se sprožijo spontano. Pri tem ne gre za valovanje prožnega medija, ampak za povečanje koncentracije kalcijevih ionov v citosolu posamezne celice, ki mu nato sledi enak pojav v sosednjih celicah. Valovi se širijo z dvema mehanizmoma. To sta difuzija  $\text{IP}_3$  skozi presledkovne stike in izločanje ATP v medcelični prostor. Oba v bližnji celici stimulirata izločanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz endoplazemskega retikuluma.

Regulacija koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  v celicah je ključnega pomena za delovanje raznih procesov v celicah. Napake v uravnavanju koncentracije kalcijevih ionov v citosolu lahko vodijo do velikega nabora bolezni. Valovi  $\text{Ca}^{2+}$  imajo pomembno vlogo pri reguliranju organov, predvsem možganov. Zdi se, da so vpleteni tudi pri nastanku Alzheimerjeve bolezni, a so potrebne dodatne raziskave, da bi bolje določili njihovo vlogo. Malo je znanega tudi o valovih  $\text{Ca}^{2+}$  v živih organizmih, saj je bila večina raziskav izvedenih *in vitro*, manj pa *in vivo*. Pomembno vprašanje je, ali se valovi v živih organizmih vedejo podobno kot v laboratorijskih vzorcih.

Da bi bolje razumeli, kako se celice odzovejo na signale, bi bilo treba bolj natančno določiti tudi prepustnost presledkovnih membran in receptorjev ter njihovo porazdelitev. Deloma si je mogoče pri tem pomagati s prilagajanjem matematičnih modelov na meritve. Prihodnje študije o vplivu valov  $\text{Ca}^{2+}$  v živih organizmih bi lahko pripomogle k razumevanju različnih procesov, ki se dogajajo v možganih in drugih organih.

## 6. Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Ireni Drevenšek Olenik za mentorstvo pri pisanju članka.

## LITERATURA

- [1] Kelvinsong, *Animal cell*, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=22952603>, Ogled: 6. 3. 2022.
- [2] Anant B. Parekh and James W. Putney, *Store-operated calcium channels*, *Physiological Reviews* **85** (2005), no. 2, 757–810.
- [3] David E. Clapham, *Calcium signaling*, *Cell* **131** (2007), no. 6, 1047–1058.
- [4] Luc Leybaert and Michael J. Sanderson, *Intercellular  $ca_{2+}$  waves: Mechanisms and function*, *Physiological Reviews* **92** (2012), no. 3, 1359–1392.
- [5] Fulin Xing, Ping Zhang, Pengchong Jiang, Ziyuan Chen, Jianyu Yang, Fen Hu, Irena Drevenšek-Olenik, Xinzheng Zhang, Leitong Pan, and Jingjun Xu, *Spatiotemporal characteristics of intercellular calcium wave communication in micropatterned assemblies of single cells*, *ACS Applied Materials & Interfaces* **10** (2018), no. 3, 2937–2945.
- [6] Yuki Fujii, Shohei Maekawa, and Mitsuhiro Morita, *Astrocyte calcium waves propagate proximally by gap junction and distally by extracellular diffusion of atp released from volume-regulated anion channels*, *Scientific Reports* **7** (2017), no. 1, 13115.
- [7] Ann H. Cornell-Bell, Steven M. Finkbeiner, Mark S. Cooper, and Stephen J. Smith, *Glutamate induces calcium waves in cultured astrocytes: Long-range glial signaling*, *Science* **247** (1990), no. 4941, 470–473.
- [8] Eliana Scemes and Christian Giaume, *Astrocyte calcium waves: What they are and what they do*, *Glia* **54** (2006), no. 7, 716–725.
- [9] Royal Society of Chemistry, *Ip3*, <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.388562.html>, Ogled: 6. 3. 2022.
- [10] Paweł Tokarz, *Ion channel*, [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ion\\_channel.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ion_channel.png), Ogled: 6. 3. 2022.
- [11] D. Mekahli, G. Bultynck, J. B. Parys, H. De Smedt, and L. Missiaen, *Endoplasmic-reticulum calcium depletion and disease*, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **3** (2011), no. 6.
- [12] LadyofHats, *Gap cell junction*, [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gap\\_cell\\_junction-en.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gap_cell_junction-en.svg), Ogled: 6. 3. 2022.
- [13] M. O. Kristian Enkvist and Ken D. McCarthy, *Activation of protein kinase c blocks astroglial gap junction communication and inhibits the spread of calcium waves*, *Journal of Neurochemistry* **59** (1992), no. 2, 519–526.
- [14] Peter B. Guthrie, Joshua Knappenberger, Menahem Segal, Michael V. L. Bennett, Andrew C. Charles, and S. B. Kater, *Atp released from astrocytes mediates glial calcium waves*, *Journal of Neuroscience* **19** (1999), no. 2, 520–528.
- [15] David N. Bowser and Baljit S. Khakh, *Vesicular atp is the predominant cause of intercellular calcium waves in astrocytes*, *Journal of General Physiology* **129** (2007), no. 6, 485–491.
- [16] Andrea Volterra and Jacopo Meldolesi, *Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues*, *Nature Reviews Neuroscience* **6** (2005), no. 8, 626–640.
- [17] Frank M. LaFerla, *Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in alzheimer's disease*, *Nature Reviews Neuroscience* **3** (2002), no. 11, 862–872.
- [18] Kishore V. Kuchibhotla, Carli R. Lattarulo, Bradley T. Hyman, and Brian J. Bacskai, *Synchronous hyperactivity and intercellular calcium waves in astrocytes in alzheimer mice*, *Science* **323** (2009), no. 5918, 1211–1215.
- [19] Toshihiro Sera and Susumu Kudo, *Mathematical models for intra- and inter-cellular  $ca^{2+}$  wave propagations*, *Journal of Biorheology* **34** (2020), no. 1, 9–17.
- [20] Andrew P. LeBeau, David I. Yule, Guy E. Groblewski, and James Sneyd, *Agonist-dependent Phosphorylation of the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor : A Possible Mechanism for Agonist-specific Calcium Oscillations in Pancreatic Acinar Cells*, *Journal of General Physiology* **113** (1999), no. 6, 851–872.
- [21] J Keizer and L Levine, *Ryanodine receptor adaptation and  $ca_{2+}(-)$ induced  $ca_{2+}$  release-dependent  $ca_{2+}$  oscillations.*, *Biophys J* **71** (1996), no. 6, 3477–3487 (eng).