

SORPRESAS NUCLEARES: NUEVAS PERSPECTIVAS DE LA DINÁMICA DEL Ca^{2+} INTRACELULAR*

Verónica Morales Tlalpan, Carlos Saldaña y Mauricio Díaz Muñoz

RESUMEN

El aumento de calcio intracelular (Ca^{2+}_i) es una señal que regula una gran variedad de procesos celulares, tales como la contracción, la morfogénesis, el crecimiento, la apoptosis, la expresión génica, el metabolismo, la secreción y la fertilización entre muchos otros. Para llevar a cabo estas respuestas, la concentración de Ca^{2+}_i debe ser finamente regulada. Esta regulación se lleva a cabo por canales iónicos, bombas y proteínas que unen Ca^{2+} en diferentes compartimentos celulares. Entre los depósitos intracelulares mejor descritos en el manejo de Ca^{2+} se encuentran el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. La mitocondria es otro organelo con capacidad transitoria de manejo de Ca^{2+} . Sin embargo, el núcleo se ha convertido recientemente en centro de intensa investigación por su capacidad de movilizar Ca^{2+} y la presencia en sus membranas de todas las proteínas que intervienen en la dinámica del Ca^{2+}_i . Se ha reportado que el Ca^{2+} nuclear puede influir en procesos celulares entre los que se incluyen el control de la expresión de genes, el procesamiento de intrones, el ensamblaje de la envoltura nuclear y el tránsito bidireccional de moléculas desde y hacia esta estructura. La regulación del calcio nuclear es un campo emergente cuyos avances recientes serán revisados de manera breve.

PALABRAS CLAVE: Núcleo, Ca^{2+} , lípidos, envoltura nuclear, retículo nucleoplásmico fosfoinosítidos.

ABSTRACT

The increase in the intracellular calcium (Ca^{2+}_i) is a signal that regulates several cellular processes such as muscle contraction, morphogenesis, growth, apoptosis, gene expression, metabolism, secretion, fertilization, among others. To attain these responses, the intracellular calcium concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) is finely regulated by ion channels, ion pumps and Ca^{2+} binding proteins located in diverse compartments. Two organelles that function as Ca^{2+} sources are the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. Mitochondria capture and release Ca^{2+} transiently under physiological conditions to regulate ATP production. Recently, cell nucleus has become the focus of intense research because nucleus appears to be more complex than previously thought, for instance, nuclear membranes present different proteins involved in Ca^{2+} mobilization. It is now clear that changes in nuclear Ca^{2+} regulate numerous processes such as gene expression, alternative RNA splicing, nuclear envelope modification and molecular bidirectional traffic. We have now the tools and the experimental approaches to start unraveling the complexities of nuclear events.

KEY WORDS: Nucleus, Ca^{2+} , lipids, nuclear envelope, nucleoplasmic reticulum, phosphoinositides.

ANATOMÍA NUCLEAR

El núcleo fue una de las primeras estructuras celulares en ser identificadas al ser descrito por Franz Bauer en 1802, aunque su presencia se formalizó con la obra de Robert Brown hasta 1831. Sin embargo, la importancia de su papel fisiológico

tardó mucho tiempo en apreciarse. Ya en la segunda mitad del siglo pasado, se aceptaba en los libros de texto que el núcleo era el principal depositario del material genético, así como que tenía un importante papel en la división celular, la migración, la diferenciación, la fertilización y la

polarización celular. En los últimos años, la visión que se tiene del núcleo ha evolucionado, gracias a progresos en campos como la biología celular y molecular, así como con el advenimiento de técnicas de microscopía óptica que cuentan con mayor sensibilidad a la detección de fotones

*Recibido: 16 de marzo de 2007 Aceptado: 9 de octubre de 2007

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular. Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro, México. CP. 76230. Tel/Fax: (442) 238-1035 Correo E: vmtlalpan@gmail.com

y por ende, una mayor resolución espacial y temporal. Por lo tanto, actualmente se reconoce al núcleo como un organelo altamente compartimentalizado y en extremo dinámico (1).

El núcleo está constituido por una doble membrana o envoltura nuclear (EN) rica en lípidos y proteínas, y que contiene al nucleoplasma (Fig. 1 A). La EN se divide en membrana nuclear externa (MNE) y membrana nuclear interna (MNI). La MNE es continuación del retículo endoplásmico (RE), contiene ribosomas y lleva a cabo la síntesis de proteínas. La MNI interacciona con ciertos segmentos de la cromatina y forman una red llamada lámina nuclear. La MNE y la MNI están separadas por un espacio de 25-45 nm y se fusionan en regiones específicas en donde se encuentran los complejos del poro nuclear (Fig. 1 B). El poro nuclear está compuesto aproximadamente por 50 tipos de proteínas diferentes, llamadas nucleoporinas. Cada canal nuclear contiene múltiplos de 8 de cada una de las nucleoporinas y se estima que cada macrocomplejo está formado por más de 1000 proteínas en total (2) (Fig. 1 B). Esta complejidad se reduce debido a que las nucleoporinas presentan motivos estructurales comunes como los solenoides tipo α , propelas tipo β y repeticiones de fenilalaninas-glicinas (FG) (3). La parte central del ensamblaje de las nucleoporinas forma un canal acuoso de 10 nm de diámetro y 45 nm de longitud que permite el transporte de macromoléculas entre el citoplasma y el nucleoplasma de 50 kDa aproximadamente (2). Sin embargo, este transporte presenta dos interesantes características. Las moléculas neutras que no interactúan con las repeticiones FG de las nucleoporinas, no ingresan fácilmente al interior nuclear, mientras que las moléculas que si interactúan con las repeticiones FG, son capaces de translocarse rápidamente al interior

nuclear a altas velocidades. Los poros nucleares hasta ahora descritos presentan propiedades de permeabilidad similares (3).

En el pasado se pensaba que el interior nuclear o nucleoplasma, era uniforme y simplemente contenía el material genético. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que el nucleoplasma está organizado en dominios funcional y morfológicamente diferenciados (Fig. 1 A y C) (4). En estos dominios se llevan a cabo procesos como la replicación, la reparación y la transcripción del material genético (4, 5 y 6). Una gran variedad de proteínas con funciones altamente especializadas se localizan en estos dominios, tales como: 1) Complejos multimoleculares involucrados en la transcripción, 2) Proteínas que interactúan con el citoesqueleto a través de la unión a actina, 3) Cinasas y fosfatasa que modulan la actividad de ciclinas e influyen en el ciclo celular, 4) Factores involucrados en el procesamiento del ARN "splicing", 5) Pequeñas ribonucleoproteínas (snRPs) que participan en la maduración del ARN y 6) Enzimas involucradas en la replicación, la reparación y la recombinación del ADN (4).

En 1997 Fricker demostró con microscopia electrónica, que los núcleos de diversos tipos celulares contenían invaginaciones de la envoltura nuclear. El grupo de Nathanson en el 2003 describió la presencia de una red tubular intranuclear en núcleos provenientes de hepatocitos. El aspecto de esta red se visualizó a partir de las reconstrucciones tridimensionales de las imágenes obtenidas con microscopia confocal de 2 fotones. En la actualidad, se acepta que en el interior del núcleo está dispuesta una serie de canales que se extienden por todo el organelo y que hacen contacto con la membrana nuclear externa, y que se conoce como retículo nucleoplásmico (RN) (5, 7).

Entre los dominios o estructuras intranucleares que destacan en el núcleo encontramos a los "speckles" que son estructuras electrodensas al microscopio electrónico de forma irregular localizadas en los espacios intercromáticos y en regiones con poco ADN y enriquecidas con factores que procesan el ARN. Estas estructuras intranucleares están comúnmente acompañadas por los "para-speckles", que son menos abundantes y de menor tamaño y cuya función se ha asociado con la transcripción. Otras estructuras intranucleares son los cuerpos de Cajal que contienen ribonucleoproteínas involucradas en el procesamiento del ARN y que son abundantes en células con una alta actividad proliferativa; los gemelos de los cuerpos de Cajal, asociados también con el procesamiento del ARN; los gránulos intercromáticos constituidos por 20-25 gránulos, involucrados en la transcripción, en el procesamiento de ARN mensajero y que están enriquecidos con ARN polimerasa II; las fibrillas pericromáticas, que son sitios de transcripción activa que coinciden con espacios donde se ha detectado la incorporación de uridina tritiada; los cuerpos promielocíticos de leucemia (llamados así porque están relacionados con la leucemia pro-mielocítica aguda), que se localizan en número de 5-30 en zonas donde se recluta ADN de cadena sencilla (ssADN) para reparar al ADN que ha sufrido daño (1, 4).

LÍPIDOS NUCLEARES

Las membranas nucleares, como todas las membranas biológicas están constituidas de lípidos y proteínas siguiendo el modelo del mosaico fluido propuesto por Singer en 1972. En el núcleo se han reportado la presencia de fosfolípidos que usualmente se encuentran en otras membranas biológicas, así como la presencia de colesterol. Se ha

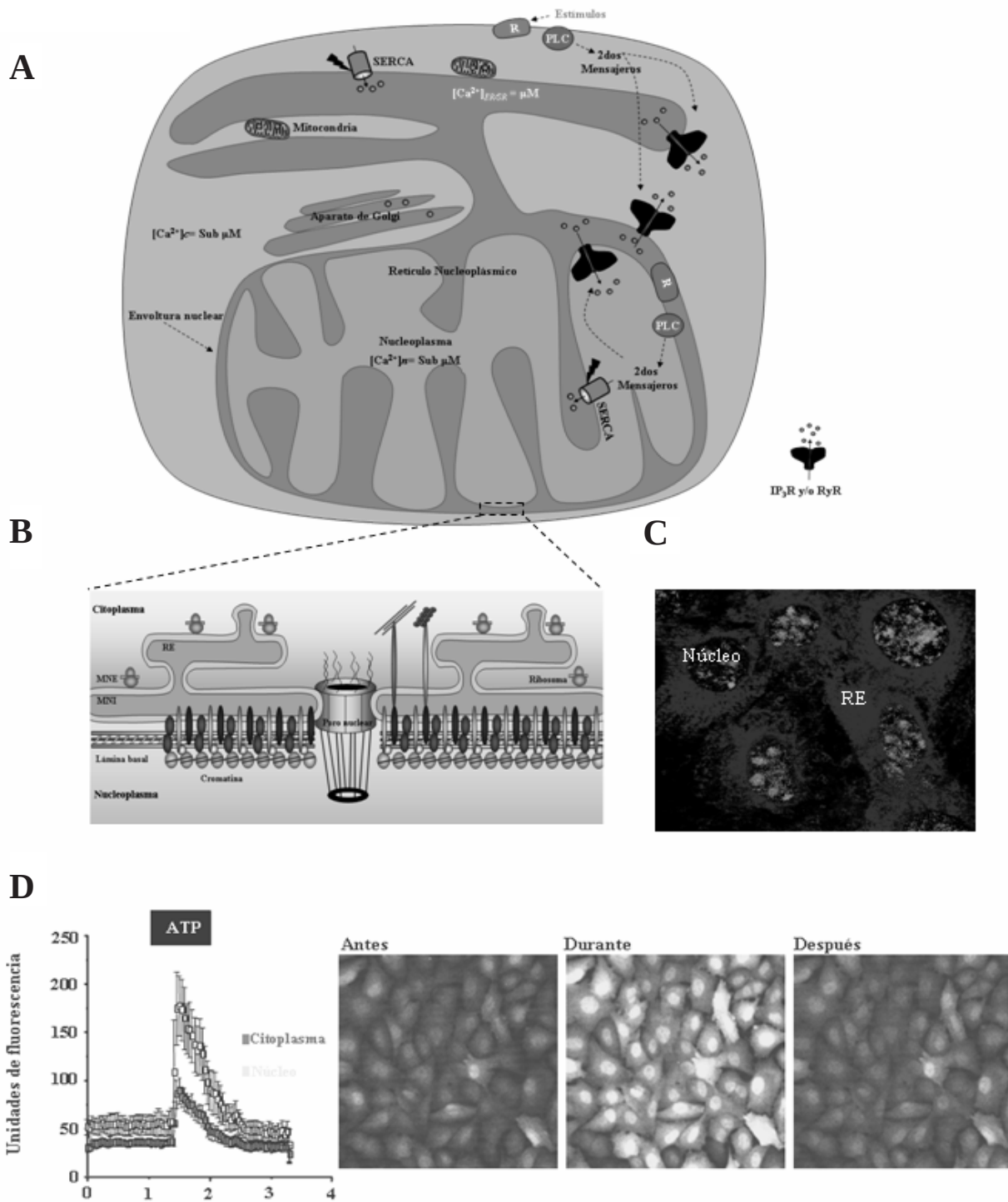


Figura 1. Anatomía del Núcleo y Movilización de Ca^{2+} Nuclear. Panel A. Esquema de una célula en el que se indican los diferentes compartimentos de Ca^{2+} : mitocondria, aparato de Golgi, retículo endoplásmico, y el núcleo (envoltura nuclear y nucleoplasma). Se hace referencia a la concentración de Ca^{2+} que existen en cada organelo, lo cual es indicado por el código de niveles de intensidad de gris. De las algunas de las proteínas involucradas con el manejo de Ca^{2+} como son: SERCA, receptor de IP_3 y de rianodina. Panel B. Representación esquemática de las membranas nucleares y del poro nuclear. La membrana nuclear externa (MNE) es una continuación del retículo endoplásmico (RE) y contiene ribosomas adosados; la membrana nuclear interna (MNI) forma parte de la lamina nuclear e interacciona con la cromatina; el poro nuclear está formado por un anillo citoplásmico y otro nuclear. Panel C. Imagen correspondiente de una célula de la granulosa proveniente de folículos ováricos vista con un microscopio confocal. En la imagen, la señal central intensa corresponde al marcador nuclear TO-PRO 1, mientras que la señal de menor intensidad está asociada a la presencia del receptor de rianodina. Panel D. Se muestra una gráfica con la movilización de calcio citoplásmico (gris oscuro) y nuclear (gris claro) promovida por ATP en células de la granulosa provenientes de folículos ováricos. Se destaca que la señal del núcleo es mayor. A la derecha se aprecian imágenes de microscopía confocal correspondientes a los tiempos de antes, durante y después de la adición de ATP. En este ejemplo las células se incubaron con el indicador fluorescente Fluo4-AM. Nótese que la señal en el núcleo es siempre mayor que en el citoplasma.

estimado que el contenido de lípidos en núcleos hepáticos alcanza un 3% del peso total del organelo (proteínas 75% y ADN 22%) y se localizan preferentemente en la EN. Inicialmente los lípidos en el núcleo se consideraron como un mero componente estructural, pero este concepto ha cambiado en los últimos años (8). El metabolismo de lípidos en el núcleo se acepta como un mecanismo autónomo, por ejemplo, se ha determinado la producción de ceramida a partir de esfingomielina por medio de la actividad de la esfingomielinasa nuclear. La ceramida se ha postulado como un segundo mensajero activador de la variante molecular δ de la proteína cinasa C (PKC δ) en varios sistemas celulares (9). Además, se ha reportado la presencia de la fosfatidil inositol fosfato cinasa (PIP₂), que sintetiza al fosfatidil inositol 4,5 bisfosfato, el cual es el precursor del inositol 1,4,5-trisfosfato (IP₃). También se tienen datos que indican que la síntesis y procesamiento de ARN y ADN está fuertemente influenciado por lípidos nucleares, ya que la interacción lípido-ARN protege al ácido nucleico de la acción de enzimas degradativas (8).

De manera interesante se han descrito en la matriz nuclear la presencia de fosfolípidos endonucleares, que es el término utilizado para diferenciar estos lípidos de los que se localizan en la EN. Sin embargo, sus componentes y cantidad no han sido establecidos, aunque se supone que la fosfatidil colina es el fosfolípido predominante. Además de los fosfolípidos comunes, en este material lipídico endonuclear se encuentran niveles altos de ácido fosfatídico y de diacilglicerol (DAG) (8).

La presencia de algunos de estos lípidos en el núcleo se ha asociado a sistemas de señalización especializada. Por ejemplo, los fosfoinositoles constituyen hasta el 10 % de los

lípidos nucleares, y se les ha localizado tanto en la membrana nuclear como en dominios intranucleares ("speckles" y gránulos intercromáticos). En ambas estructuras se ha demostrado la presencia de PIP₂, DAG e IP₃ (8).

SEÑALIZACIÓN NUCLEAR

Se ha descrito ampliamente que al unirse los mensajeros a sus receptores localizados en la membrana plasmática, se desencadenan cascadas de señalización por la activación de cinasas de proteínas, fosfatasa y moléculas adaptadoras. Estos eventos de señalización afectan el metabolismo intermediario y eventualmente pueden influir en el encendido o apagado de genes (10). Gran cantidad de evidencias indican que en el núcleo también existe una transducción de señales con características similares a las descritas en la membrana plasmática y el citoplasma (5, 6, 8, 10, 11).

Recientemente se demostró en las membranas nucleares y en el retículo nucleoplásmico la presencia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) para diferentes ligandos como acetilcolina, angiotensina, prostaglandina, endotelina, ácido lisofosfatídico (LPA), hormona paratiroidea y glutamato, entre otros. La localización de estos receptores se determinó a través de técnicas inmunohistoquímicas utilizando microscopia confocal y electrónica, así como por ensayos de radioligandos en núcleos aislados. La funcionalidad de estos receptores se ha comprobado midiendo la activación de proteínas cinasas activadas por mitógenos, y por la producción de IP₃ y DAG. Los receptores nucleares pueden ser activados por ligandos que se derivan de las propias membranas, como el LPA y las prostaglandinas, así como por ligandos no lipogénicos. Éstos últimos pueden ser generados en el interior celular como parte del

metabolismo o pueden ser factores intracrininos, que serían captados desde el espacio extracelular por endocitosis. Se especula que la activación de receptores de membrana plasmática están involucrados en respuestas a corto plazo, mientras que los receptores nucleares serían responsables de respuestas a largo plazo (12).

También en el núcleo se ha documentado la presencia de enzimas efectoras como fosfolipasa C, A₂ y D, proteínas cinasas A y C, adenilato ciclase, ATPasas e intercambiadores iónicos. De esta manera, la activación de receptores nucleares potencialmente puede modular cascadas de señalización que pudieran culminar con la movilización de Ca²⁺ nuclear, la fosforilación de elementos estructurales y enzimas reguladoras, así como el ensamblaje de complejos macromoleculares (5, 6, 12). La función de estos complejos está asociada con el control de la transcripción del ADN, la maduración del ARN y la regulación de las diferentes fases del ciclo celular (7).

CASCADA NUCLEAR DE FOSFOINOSITIDOS-Ca²⁺

En la membrana plasmática la activación de GPCR y algunos miembros de la familia de receptores de cinasas de tirosina, provocan que la PLC se active. Esta enzima es clave en la formación de segundos mensajeros ya que cataliza la liberación de DAG e IP₃ a partir de la hidrólisis de PIP₂. Ambos mensajeros activan a proteínas específicas, el DAG estimula a la proteína cinasa C (PKC) y proteína cinasa D (PKD), mientras que, el IP₃ se une a su receptor (IP₃R). La función del IP₃ es la movilización de Ca²⁺ de pozas intracelulares, principalmente el RE (10).

De manera sorpresiva, en el núcleo también se ha descrito un sistema de señalización similar al reportado para la membrana plasmática y el

citoplasma. En el núcleo se han encontrado casi todas las proteínas y enzimas involucradas en cascadas de señalización que involucran fosfoinosítidos, GPCR, PLC y el IP_3R (12). Existen evidencias de la presencia en el núcleo de la ATPasa de Ca^{2+} sensible a tapsigargina (SERCA) y del receptor a rianodina (RyR) que comúnmente son ubicados en el RE, que ponen de manifiesto la coexistencia de una maquinaria biológica con la capacidad de movilizar Ca^{2+} en las membranas nucleares. Se ha reportado la presencia de estos elementos de la dinámica del Ca^{2+} en núcleos de ovocitos de *Xenopus*, en células HeLa, hígado, mioblastos, miocitos y en células de la capa granulosa del ovario. Sin embargo surge la pregunta: ¿Cuál es la función de la movilización de Ca^{2+} en el núcleo? Actualmente se sabe que el Ca^{2+} nuclear interviene en diferentes procesos como la apoptosis, la expresión de genes, organización de la cromatina, la translocación de proteínas, el ensamble de la EN, el transporte de moléculas, la regulación del ciclo celular y la fosforilación de proteínas (3, 5, 7).

HOMEOSTASIS DE Ca^{2+} NUCLEAR

Los gradientes de Ca^{2+} en los diferentes compartimentos celulares han sido descritos por varios investigadores. Como es bien sabido, el Ca^{2+} en el citoplasma está finamente regulado por una diversidad de canales iónicos y ATPasas que mantienen la concentración de este catión en niveles submicromolares bajos (10). Con anterioridad, ya se había descrito que organelos como el RE, la mitocondria y aun el aparato de Golgi, participan en la dinámica del Ca^{2+} . Sin embargo, hasta fechas recientes se ha incluido al núcleo en la lista de organelos movilizados de Ca^{2+} (3, 5, 6, 11, 15).

El núcleo contiene dos compartimentos de Ca^{2+} , la envoltura nuclear y

retículo nucleoplásmico. La concentración de Ca^{2+} en la envoltura nuclear, que es una continuación del RE, oscila en el rango micromolar, equivalente a lo reportado para el RE. En contraste, en el retículo nucleoplásmico la concentración de Ca^{2+} fluctúa en el rango nanomolar similar a la concentración reportada para el citoplasma. Dada la cercanía de ambos compartimentos, la envoltura nuclear puede liberar Ca^{2+} directamente al retículo nucleoplásmico a través de los IP_3R y de RyR y de esta manera alterar su concentración en regiones específicas dentro del núcleo. Este aumento en la concentración de Ca^{2+} nuclear puede amplificarse de manera importante, gracias a la existencia del retículo nucleoplásmico (6, 11). Adicionalmente la presencia de la ATPasa de Ca^{2+} sensible a tapsigargina puede bombear el Ca^{2+} de regreso a la envoltura nuclear (16).

Sin embargo, la permeabilidad de la envoltura nuclear al Ca^{2+} citosólico es controversial, se ha propuesto que el Ca^{2+} ingresa de manera pasiva al interior nuclear a través del poro nuclear. Otros autores sugieren que la envoltura nuclear es una barrera física para el paso de este ión, adicionalmente se ha propuesto el Ca^{2+} nuclear y citoplásmico se regulan de forma independiente. También se ha propuesto que el incremento en la concentración de Ca^{2+} citoplásmico y nuclear pueden tener diferentes efectos en la actividad nuclear (6, 11).

El Ca^{2+} nuclear regula funciones celulares específicas, como la translocación de proteínas cinasas y la expresión de ciertos genes. Por ejemplo, en miocitos cardíacos se demostró que los IP_3R localizados en la envoltura nuclear son activados por la estimulación del receptor a endotelina-1. Al ser estimulados, los IP_3R liberan Ca^{2+} en la vecindad del canal, y activan a la proteína calmodulina cinasa II (CamKII), la

cual fosforila a una proteína que desacetila histonas tipo II (HDAC5). Esta fosforilación provoca la salida del núcleo al citosol de HDAC5, y en consecuencia se activa la transcripción de MEF2 ("myocyte enhancer factor two"), desencadenándose de esta manera la expresión de los elementos involucrados en la hipertrofia cardíaca (13).

DETERMINACIONES DE Ca^{2+} NUCLEAR

Muchos de los estudios para determinar el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular han sido realizados gracias a uso de indicadores fluorescentes. Estos colorantes fluorescentes (Fura-2, Indo-1, Fluo-4, Quin-1) han permitido estudiar por espectrofluorimetría la movilización de Ca^{2+} en tiempo real y con gran detalle. Aunado a la generación de nuevos indicadores de Ca^{2+} de baja afinidad, ha sido posible extender el estudio de las oscilaciones espaciales y temporales de Ca^{2+} a diversos organelos, entre ellos el núcleo. Entre los indicadores más utilizados para medir Ca^{2+} en el núcleo destacan el Oregon Green, el Fluo-3 AM, el Fluo-4AM, el Mag-Fura-2, el Mag-fura Red, el Fluo-5N y el Rhod-5N. Además, se han generado otros indicadores de Ca^{2+} fluorescentes con características novedosas, algunos se encuentran acoplados a dextrán, como el Fura-2 dextrán, el Calcium Green dextrán y el Fluo-4 dextrán. Estos fluoróforos penetran al núcleo a través del poro nuclear y se acumulan en el nucleoplasma, por su gran peso molecular (>10 kDa). Sin embargo, se han observado cambios en las propiedades de algunos de estos indicadores. Con respecto a la generación de indicadores de Ca^{2+} proteicos, se han producido moléculas específicas biolumiscentes para determinados organelos, pero son sensibles a pH. No obstante, el estudio de la dinámica de Ca^{2+} en el núcleo

requiere de una alta resolución espacial. A pesar de las adversidades, en estas condiciones se ha estudiado la movilización de Ca^{2+} nuclear en respuesta a IP_3 , tapsigargina, ADP-ribosa cíclico (cADPR) y el nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), los dos últimos activadores del RyR (14, 15).

CONCLUSIÓN

Los avances experimentales de los últimos años, han cambiado la visión inicial que se tenía del núcleo celular.

De su papel único como depositario del material genético, actualmente el núcleo se considera un organelo dinámico que presenta: 1) Características estructurales y funcionales distintivas, 2) Compartimentos intranucleares y estructuras subnucleares bien definidas, 3) Capacidad para efectuar señalización en sus membranas, y 4) Autonomía en el manejo de entrada y salida de Ca^{2+} .

El núcleo ha sido y seguirá siendo el centro de interés de muchos grupos científicos del orbe. Sin lugar a duda,

el estudio de la fisiología nuclear será un eslabón importante en la biología del siglo XXI que ayudará a comprender el procesamiento del material genético en todas sus dimensiones, la comunicación que se establece entre el núcleo y los demás organelos y la influencia de los procesos nucleares en varias patologías.

Agradecimientos. Escrito apoyado con los donativos PAPPIT para MDM y CS. PFAMU para VMT.

REFERENCIAS

1. Lamond AI, Sleeman JE (2003) Nuclear substructure and dynamics. *Curr Biol*. 13:R825-8.
2. D'Angelo MA, Hetzer MW (2006) The role of the nuclear envelope in cellular organization. *Cell Mol Life Sci*. 63:316-32.
3. Peters R (2007) Single-molecule fluorescence analysis of cellular nanomachinery components. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. 36:371-94.
4. Lamond AI, Spector DL (2003) Nuclear speckles: a model for nuclear organelles. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 8:605-12.
5. Echevarría W, Leite FM, Guerra MT, Zipfel WR, Nathanson MH (2003) Regulation of calcium signals in the nucleus by a nucleoplasmic reticulum. *Nature Cell Biology* 5:440-446.
6. Alonso MT, Villalobos C, Chamero P, Alvarez J, Garcia-Sancho J (2006). Calcium microdomains in mitochondria and nucleus. *Cell Calcium*. 40:513-25.
7. Fricker M, Hollinshead M, White N, Vaux D (1997) Interphase Nuclei of Many Mammalian Cell Types Contain Deep, Dynamic, Tubular Membrane-bound Invaginations of the Nuclear Envelope. *J Cell Biol*. 136: 531-544.
8. Ledeen RW, Wu G (2004) Nuclear lipids: key signaling effectors in the nervous system and other tissues. *J Lipid Res*. 45:1-8.
9. Albi E, Cataldi S, Bartoccini E, Magni MV, Marini F, Mazzoni F, Rainaldi G, Evangelista M, Garcia-Gil M (2006) Nuclear sphingomyelin pathway in serum deprivation-induced apoptosis of embryonic hippocampal cells. *J Cell Physiol*. 206:189-95.
10. Berridge M J, Lipp P y Bootman M. D. (2000) The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 1:11-21.
11. Gomes DA, Leite M F, Bennett A M y Nathanson A M (2006) Calcium signaling in the nucleus. *Can J Physiol Pharmacol*. 84:325-32.
12. Gobeil F, Fortier A, Zhu T, Bossolasco M, Leduc M., Grandbois M, Heveker N, Bkaily G, Chemtob S y Barbaz D. (2006) G-protein-coupled receptors signalling at the cell nucleus: an emerging paradigm. *Can J Physiol Pharmacol*. 84:287-97.
13. Wu X, Zhang T, Bossuyt J, Li X, McKinsey T A, Dedman J R, Olson E N, Chen J, Brown J H y Bers D M (2006) Local IP_3 -dependent perinuclear Ca^{2+} signaling in cardiac myocyte excitation-transcription coupling. *J Clin Invest*. 116:675-82.
14. Perez-Terzic C, Stehno-Bittel L, y Clapham D E (1997) Nucleoplasmic and cytoplasmic differences in the fluorescence properties of the calcium indicator Fluo-3. *Cell Calcium*. 21:275-82.
15. Gerasimenko O y Tepikin A (2005) How to measure Ca^{2+} in cellular organelles? *Cell Calcium*. 38:201-11.
16. Gerasimenko J V, Maruyama Y, Yano K, Dolman NJ, Tepikin A V, Petersen O H, Gerasimenko O V (2003) NAADP mobilizes Ca^{2+} from a thapsigargin-sensitive store in the nuclear envelope by activating ryanodine receptors. *J Cell Biol*. 163:271-82.