

RESPUESTA AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

Angélica Rueda y Sánchez de la Vega
Correo E: aruedasan@prodigy.net.mx

1. Si hay 56 Ci en 1 mmol de $[^3\text{H}]$ -rianodina y el frasco contiene 0.1 mCi/ml, se tienen 0.1 Ci por litro, lo que es igual a $1.79 \mu\text{moles}$. Entonces la concentración de $[^3\text{H}]$ -rianodina es de $1.79 \times 10^{-6} \text{ M}$.

2. Para convertir las cuentas por minuto (cpm) a desintegraciones por minuto (dpm) tiene que considerar la eficiencia del contador de centelleo líquido y la basal de radiactividad del mismo.

Entonces:

$$\text{dpm} = (\text{cpm totales} - \text{basal de radiactividad}) \div 0.55.$$

3. Para convertir los valores de radiactividad de dpm a pmol/mg de proteína hay que considerar que un 1 pmol de $[^3\text{H}]$ -rianodina (56 nCi) equivale a 123200 dpm.

Los valores en la Tabla 1 quedarán:

4. La gráfica de los datos de ambos experimentos queda como se muestra en la figura 1. El mejor ajuste corresponde a una hipérbola equilátera.

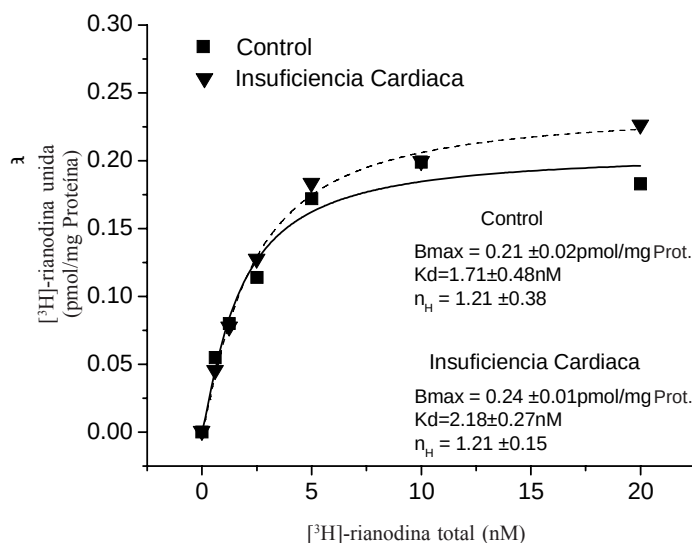


TABLA 1

Unión Total					Unión Específica	
$[^3\text{H}]$ -Rianodina (nM)	cpm Serie 1	cpm Serie 2	Promedio	dpm	dpm	pmol/mg Proteína
0.6	251	265	258	433	338	0.055
1.25	369	423	396	684	493	0.080
2.5	688	523	606	1065	704	0.114
5	1027	873	950	1691	1057	0.172
10	1418	1461	1439	2580	1223	0.199
20	1974	2283	2128	3834	1129	0.183
Unión inespecífica						
0.6	63	82	73	96		
1.25	125	124	125	190		
2.5	224	212	218	360		
5	372	366	369	634		
10	827	706	766	1357		
20	1459	1556	1507	2704		

Y los valores de la Tabla 2 quedarán:

TABLA 2

Unión Total				Unión Específica		
[³ H]-Rianodina (nM)	cpm Serie 1	cpm Serie 2	Promedio	dpm	dpm	pmol/mg Proteína
0.6	205	226	215	355	279	0.045
1.25	363	367	365	627	475	0.077
2.5	640	548	594	1044	784	0.127
5	920	854	887	1576	1128	0.183
10	1230	1167	1198	2143	1228	0.199
20	1920	1847	1884	3388	1390	0.226

Unión inespecífica				
0.6	58	66	62	76
1.25	102	105	104	152
2.5	165	160	163	260
5	249	284	266	448
10	499	547	523	915
20	1083	1155	1119	1998

La cantidad total de receptores funcionales de rianodina en la fracción sarcoplasmática cardiaca equivale a la unión máxima (Bmax por sus siglas en inglés). La afinidad de estos receptores a la [³H]-rianodina corresponde a la Kd. A pesar de que los cardiomiocitos del corazón con insuficiencia cardiaca son hipertróficos, la cantidad de receptores de rianodina (normalizada por la cantidad de proteína) no difiere de los controles. Por otra parte, el que la afinidad por la [³H]-rianodina se mantenga, indica que la regulación que ejercen otras moléculas y proteínas accesorias sobre el receptor de rianodina es la misma.

5. Los datos de la figura 1 indican que la disfunción cardiaca en la insuficiencia cardiaca congestiva no se puede explicar por una disminución en el número de receptores funcionales de rianodina o por su afinidad por el ligando; los cuales son similares a los que se obtienen en microsomas de un corazón normal (1). Las causas de la disminución en la función cardiaca del corazón hipertrófico son motivo de una fuerte controversia en la actualidad. Algunos grupos de investigación tienen evidencias para proponer que es la modulación del receptor de rianodina (por fosforilación)

la que compromete la función cardiaca. Mientras que otros investigadores han encontrado que es la cantidad de calcio de los reservorios intracelulares, la que esta significativamente disminuida (1).

6. El receptor de rianodina es un homotetrámero (cada subunidad con un peso molecular aproximado de 560 kDa) por lo que se puede asumir que cada mol de receptor tiene la capacidad de unir de 1 a 4 moles de rianodina. La ocupación del primer sitio de unión por rianodina, podría favorecer o disminuir la afinidad de los siguientes sitios, modificando el coeficiente de cooperatividad o coeficiente de Hill (n_H). En estos experimentos el n_H fue cercano a la unidad. Así podemos asumir que no hay cooperatividad en la unión y que al menos una rianodina se une por cada receptor activo.

REFERENCIAS

1. Jiang MT, Lokuta AJ, Farrell EF, Wolff MR, Haworth RA, Valdivia HH (2002) Abnormal calcium release, but normal ryanodine receptors, in canine and human heart failure. *Circ Res* 91:1015-1022.