

Estudio de la comunicación celular con el uso del video como herramienta complementaria

Cecilia Martínez Castillo^{1,3}

María Elena Martínez Enríquez²

Alfonso Efraín Campos Sepúlveda²

Biología V

¹Departamento de Microbiología y Parasitología,

Lab. de Biología del Citoesqueleto de parásitos.

²Departamento de Farmacología, Lab. de Toxicología.

Facultad de Medicina

³Escuela Nacional Preparatoria 5, UNAM.

Introducción

Todos los organismos unicelulares y pluricelulares están formados por células, y se comunican entre ellos y con el medio. Durante la comunicación intercelular se establece un sistema de generación, transmisión, recepción y respuesta de una afluencia de señales que comunican e interrelacionan a las células funcionalmente entre sí. Estas señales permiten que unas células influyan en el comportamiento de otras y las señales son fundamentalmente químicas, biofísicas y eléctricas. En la comunicación intercelular el proceso está regulado por un sistema de hormonas o un sistema de neuronas a través de la sangre. En el sistema neuronal, la neurona envía una serie de mensajes a las células efectoras (musculares, glandulares y otras), que responden específicamente a un estímulo liberando neurotransmisores que se unen a los receptores de membrana situados en la superficie de la célula efectora que responden con cambios en el interior y en el exterior de la célula. En el sistema hormonal, la hormona actúa sobre la misma célula en la que se ha producido, o sobre una célula adyacente [Guyton, 2011].

El papel de estos procesos es el control de la diferenciación, de la proliferación y del crecimiento celular. El elemento principal que regula estas acciones radica en las membranas celulares. Como la mayoría de los fenómenos biológicos, la capacidad de regenerar y modular esos procesos físicos requiere del consumo de energía química. Todas las células poseen una diferencia de potencial entre el interior y el exterior celular que se denomina *potencial de membrana*, que se debe a la existencia de gradientes de concentración iónica a ambos lados y a diferencias en la permeabilidad relativa de la membrana celular a las distintas especies iónicas presentes; procesos celulares relacionados con la comunicación celular, involucran transporte a través de la membrana, transducción de señales y actividad eléctrica que se coordinan para la respuesta celular.

Justificación

Para abordar el tema de comunicación celular, los alumnos requieren incorporar a sus conocimientos algunas concepciones nuevas relacionadas con los procesos de comunicación, citados previamente. Para abordar el tema de comunicación celular, se encontraron complicaciones que impedían realizar la estrategia experimental en el laboratorio curricular, por lo que se acordó observar la experiencia procedimental en un video realizado en el laboratorio de investigación en farmacología.

Aprendizajes esperados

Estructura y función de la membrana celular, mecanismos de transporte pasivo y activo; excitabilidad celular y transducción de señales. Estos aprendizajes declarativos se estudiaron previamente durante el curso de Biología V y se determinó utilizar el video como una herramienta adicional para integrar dichos aprendizajes.

Objetivo

Integrar el conocimiento declarativo, procedimental y actitudinal al estudiar los mecanismos de comunicación celular utilizando el video dentro de las tecnologías de la información (TIC).

Material y métodos

Se utilizó el video como instrumento cognitivo que apoyara una estrategia de enseñanza aprendizaje que incluye los conocimientos declarativos, procedimentales y actitudinales. Se presentaron diferentes dificultades para ejecutar en el laboratorio curricular las prácticas, por lo cual se sustituyó las mismas por los videos. Los aprendizajes actitudinales se consideraron en todos los momentos de la enseñanza.

Como forma preparatoria se diseñó algunas experiencias procedimentales realizadas alternamente con las actividades teóricas, las cuales los prepararon conceptualmente para la integración final con esta estrategia. Se utilizaron cuadros de preconceptos los cuales fueron completados en forma individual y posteriormente revisados y corregidos en parejas. El cuadro I es un ejemplo del modelo utilizado para toda la temática estudiada.

Cuadro I. Preconceptos del tema “Transporte de membrana” I.

PRECONCEPTO	¿Cuánto sabes del tema?	
Ósmosis		
Difusión		
Difusión Pasiva:		
Difusión simple		
Difusión facilitada		
Difusión pasiva		
Proteína transportadora		
Dialisis		
Transporte pasivo		
PRECONCEPTOS DEL TEMA “TRANSPORTE DE MEMBRANA” II.		
Transporte Activo		
Uniporte		
Cotransporte		
Simporte		
Antiporte		
Bomba de Na ⁺ /K ⁺ Bomba de Na ⁺ y Ca ²⁺		
ATP		
Poro		
Canal		
Canal dependiente de voltaje		
Canal dependiente de ligando		
Canales activados por segundos mensajeros		
Actividades procedimentales	Observación de Membrana celular y nuclear. Ósmosis y difusión, Transporte de membrana. Disección de órganos de ratón e impresoras para diferenciación celular.	

Para realizar el primer video se utilizó un diseño experimental de órgano aislado con íleon de rata; para ello se sacrificó una rata Wistar de 250 gr de peso, se extrajo el intestino delgado y se colocó en solución de Krebs, la cual contenía la siguiente composición química milimolar (mM): Na Cl: 118, KCl: 4.7, glucosa: 11, NaHCO₃: 25, Ca Cl₂: 2.5, MgCl₂: 1.2, KH₂PO₄: 1.3, a pH 7.4.

El intestino se limpió, se colocó en una caja Petri. En las figuras 1 A y B se muestra cómo se cortó en secciones de 1.5 a 2 cm de longitud. Se fijaron con un hilo por ambos extremos dentro de la cámara para órgano aislado, ejerciendo una tensión de 2 gr. En las figuras 1, 2 y 3 se observa el proceso: se mantuvo a 37 °C, en condiciones de burbujeo constante de gas carbónico, el cual contiene una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂. Posteriormente, el intestino aislado se estimuló con diferentes concentraciones de Ach que fueron de 1×10^{-4} a 1×10^{-8} por duplicado, y la tercera no se estimuló funcionando como control negativo.

La respuesta del intestino a las diferentes concentraciones de Ach se registró en papel milimétrico conectado a un polígrafo, como se ve en la figura 2. (7).

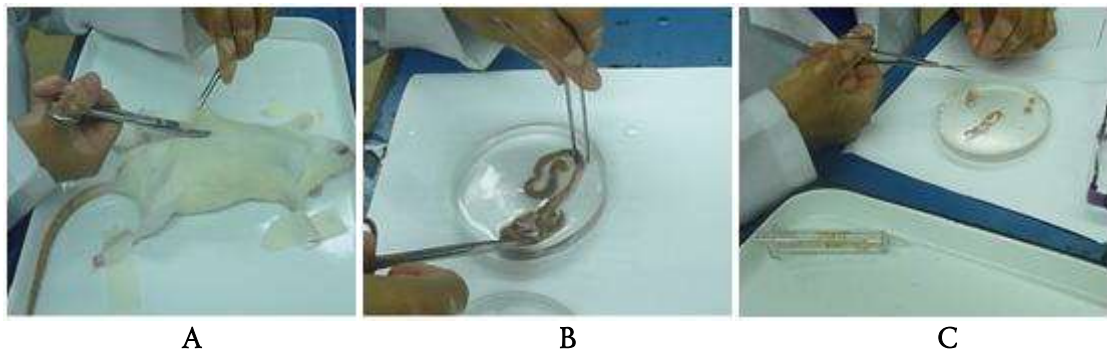


Figura 1. A. Fijación de la rata. B. Intestino delgado extraído de la cavidad abdominal. C. Fracciones experimentales.



Figura 2. Equipo de mantenimiento de órgano aislado. 1. Ingreso de solución de Krebs. 2. Transductores de señales de mecánica a eléctrica. 3. Contenedores de órganos aislados. 4. Polígrafo. 5. Sistema de plumas e inyección de tinta. 6. Plumitas de inscripción en papel del polígrafo. 7. Papel de registro milimétrico



Figura 3. Segmento de 2 cm de longitud del íleon de rata en el sistema de órgano aislado y se ejerció una fuerza de tensión 2 gr. de tensión. Se estimuló el sistema con acetilcolina (Ach) a diferentes concentraciones de 1×10^{-4} a 1×10^{-8}

El segundo video se hizo manteniendo el íleon de rata en solución de Krebs, pH 7.4, a temperatura ambiente, en una caja de Petri (figura 4).

Resultados y discusión

Los alumnos cubrieron los preconceptos antes de la presentación de los videos (ver cuadros 3 y 4). Además, incluyeron figuras representativas de los conceptos estudiados (no mostradas). Los videos motivaron el interés y el entusiasmo por los temas estudiados y aprendidos, por la biología, la medicina, y por la investigación.

Cuadro 3. Respuestas a los preconceptos de Transporte de membrana I.

PRECONCEPTO	TRANSPORTE DE MEMBRANA	
Ósmosis	Es el fluo de agua a través de una membrana semipermeable, desde un compartimiento que tiene una concentración baja de solutos hacia el otro compartimiento de mayor concentración.	
Difusión	Movimiento permanente errático ~calor Efectivo para todas las moléculas de iones	
Difusión Pasiva:	No requiere energía es a favor de gradiente de concentración: Simple y facilitada	
Difusión simple Aumenta proporcionalmente a la concentración de sustancia que difunde(lineal)	Estructura de los canales: proteicos. Vías acuosas a través de los intersticios de las moléculas de proteínas. Difunden directamente. Permeabilidad selectiva Abren y cierran a través de compuertas.	
Difusión facilitada	Movimiento por transportador. Puede difundir en ambos sentidos. -Glucosa y aminoácidos Se aproxima a un máximo Vmax a medida que aumenta la concentración de la sustancia (exponencial). Eje.	K y Na Movimiento: Por voltaje Por ligando
Difusión pasiva	A favor de un gradiente de concentración. Sustancias con elevada solubilidad en lípidos. Sustancias con poco grado de ionización.Sustancias de pequeño tamaño y pm 100 – 200 (4 amstrong).	
Proteína transportadora	En una proteína transportadora, el canal no está abierto simultáneamente a los dos lados de la membrana. Solo con un lado a la vez. Se abre la puerta interior, la puerta exterior está cerrada o ambas puertas están cerradas	
Diálisis	Paso	
Transporte pasivo	No requiere gasto energético, es a gradiente de concentración.	
RESPUESTAS A LOS PRECONCEPTOS DE TRANSPORTE DE MEMBRANA II.		
Transporte Activo	Requiere gasto energético, ATP	
Uniporte	Transporte de un solo de la membrana. Transporta un solo ión. Requiere ATP. Transpora lisina y K ⁺	
Simporte	Transporte de 2 o más moléculas en la misma dirección.	Sulfato, β-Glutamato, Fosfato, Na ⁺
Antiporte	se transportan dos sustancias a la vez o secuencialmente en direcciones opuestas a través de transportadores	Na ⁺ , Ca ²⁺
Bomba de Na ⁺ /K ⁺ Bomba de Na ⁺ y Ca ²⁺ Una molécula transportadora puede ser una bomba (transporte activo), simporte, cotransportador de una, o antiportador	3 sitios receptores para unir iones de sodio, 2 sitios receptores para unir iones de potasio. Activa ATPasa. Degrada ATP en ADP + enlace de fosfato de alta energía. Impulsa iones Na al exterior e iones K al interior. Es electrogénica, crea potencial eléctrico. Controla volumen celular. Un acarreador tiene sitios de unión, las porinas y las proteínas de los canales no. Cuando un canal se abre, miles O millones de iones pueden pasar a través de la membrana de una sola vez, pero sólo uno o una pequeña cantidad de moléculas pueden pasar a través de una molécula portadora.	
ATP	Molécula de Alta energía. Fosforilación del ADP con Pi	
Poros	Los poros están siempre abiertos al medio intracelular y extracelular, no tienen cambios conformacionales.	
Canal	Un canal se abre a ambos lados de la membrana con un cambio conformacional, se abre simultáneamente al medio intracelular y extracelular. Los canales están en estado abierto o estado cerrado.	
Canal dependiente de voltaje	El cierre y apertura de los canales son controladas por un sensor que puede ser eléctrico, químico o mecánico.	
Canal dependiente de ligando Los ligandos regulan la apertura de canales de los receptores.	Participan en la transmisión sináptica. Tienen dos mecanismos de abertura: por unión del neurotransmisor al receptor asociado al canal (receptores ionotrópicos, receptores activados directamente); por unión del neurotransmisor al receptor que no está asociado al canal.	
Canales activados por segundos mensajeros	La mayor parte de estos canales están en las membranas postsinápticas membrana (metabotrópicos)., Estos canales se abren indirectamente, el receptor y el efector (canal) son moléculas direrentes. Hay dos familias, los acoplados a la proteína G y los acoplados a tirosinaquinasa	
Actividades procedimentales	Observación de Membrana celular y nuclear. Transporte de	

Los videos mostraron el movimiento peristáltico, que es un movimiento mecánico del músculo liso, y lo percibieron tanto en las cajas de Petri como en el del sistema de órgano aislado. El movimiento del intestino en la caja de Petri tuvo una

duración breve de aproximadamente 20 min. Durante este tiempo se observó que el intestino se fue desplazando debido a su movimiento peristáltico involuntario en el espacio de la caja de Petri como se observa la secuencia de fotografías de la figura 4 (A, B y C).

Contrastando con la actividad del mismo músculo en el sistema de órgano aislado donde el suministro de nutrientes y condiciones reguladas de pH, el aporte de CO₂, temperatura, y de O₂ necesarios para la actividad celular, permiten el funcionamiento por tiempo prolongado (figuras 2 y 3). Se pudieron apreciar las contracciones peristálticas del fragmento de intestino, el cual en este sistema puede permanecer vivo hasta 8 hr., difiriendo con el tiempo que dura el órgano aislado en un sistema de caja de Petri donde no recibe los nutrientes, y las condiciones de anoxia y cambios en el pH influyen en la reducción del tiempo de funcionamiento del órgano. Estas condiciones las asociaron los alumnos directamente con los procesos de transporte de membrana, transducción de señales, reconociendo la transducción de señal mecánica del intestino a eléctrica en los registros poligráficos.

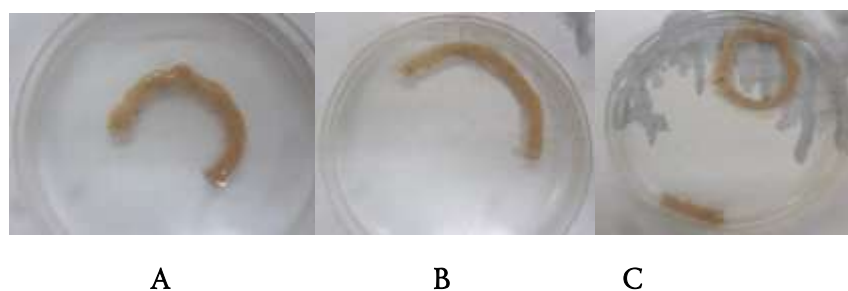


Figura 4. Secuencia de movimientos del músculo liso de intestino *in vitro* en solución de Krebs. **A.** Tiempo I Intestino después del lavado con solución de Krebs. **B y C.** Movimiento peristáltico del músculo liso e inicia el desplazamiento del intestino dentro de la caja de Petri conteniendo solución de Krebs, hasta que finalmente se circulariza en un extremo y deja de presentar el movimiento peristáltico a los 20 minutos después de la extracción.

Asimismo los alumnos percibieron las variaciones en los registros realizados por el polígrafo sobre el papel, que reflejaron la transducción de la señal del músculo liso de íleon de rata. Adicionalmente los registros del polígrafo muestran diferencias debidas a los cambios en la concentración de la, (figura 4 B y C).

Al final del ensayo se adicionó Ach en una concentración de 1×10^{-4} a los 3 órganos, lo cual se reflejó en los registros del polígrafo mostrando una respuesta muy intensa debido a la elevada concentración de Ach.

Los receptores de Ach presentan varias modificaciones conformacionales cuando se estimulan. Además de su estado abierto-cerrado, tiene un estado cerrado-saturado. Cuando la concentración de Ach es constante durante un largo periodo de tiempo, la proteína se protege y evita que continúe el paso de iones (Changeux, 1993).

La Ach utiliza canales dependientes del receptor, nicotínicos y muscarínicos. Ambos canales dejan pasar iones de Na^+ y K^+ . Unos son activados por diferentes sustancias, pero ambos se activan por Ach en forma diferente. Las dependientes del receptor muscarínico están separadas del propio receptor. Este receptor al activarse por la muscarina activa una cascada de segundos mensajeros que son los que en realidad actúan, finalmente, sobre el canal, alejado del receptor. Es un receptor matabotrópico.

Se observó que las concentraciones bajas de Ach dan una respuesta moderada; al incrementar la concentración, la respuesta se amplifica notoriamente. Lo que es más evidente en el control de la figura C, registro 2, donde se adicionó también Ach y la respuesta es muy intensa con respecto a cuando la Ach no está presente.

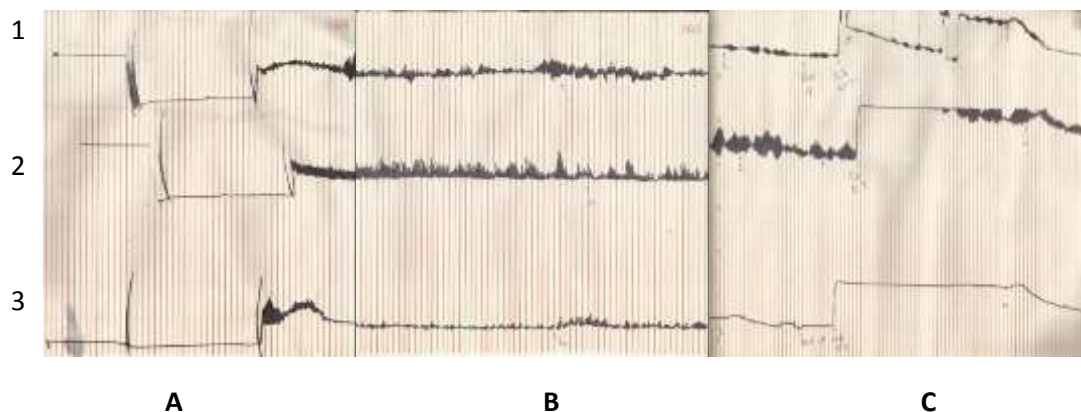


Figura 5. Aparecen los registros del polígrafo. **A.** Calibración del equipo. **B.** Concentración baja de acetil colina 1×10^{-8} , **C.** Concentración alta de Ach 1×10^{-4} . **1.** [Ach 1×10^{-8}], **2.** Control sin Ach, **3.** [Ach 1×10^{-8}].

En el caso de los canales ionotrópicos dependientes de Ach con receptor nicotínico, se encuentran en las sinapsis interneuronales y en la sinapsis neuromuscular en donde permiten la comunicación sináptica. Se localizan en la membrana postsináptica. Son pentámeros de dos subunidades α , β , ϵ , δ , pero puede haber combinaciones variadas. Cuando se libera Ach, ésta se une a la terminación NH_2 extracelular de una o varias unidades y modifica la estructura del poro. Éste se abre y deja pasar Na y K, con lo que la célula se despolariza (figura 6) [Arce, 2006].

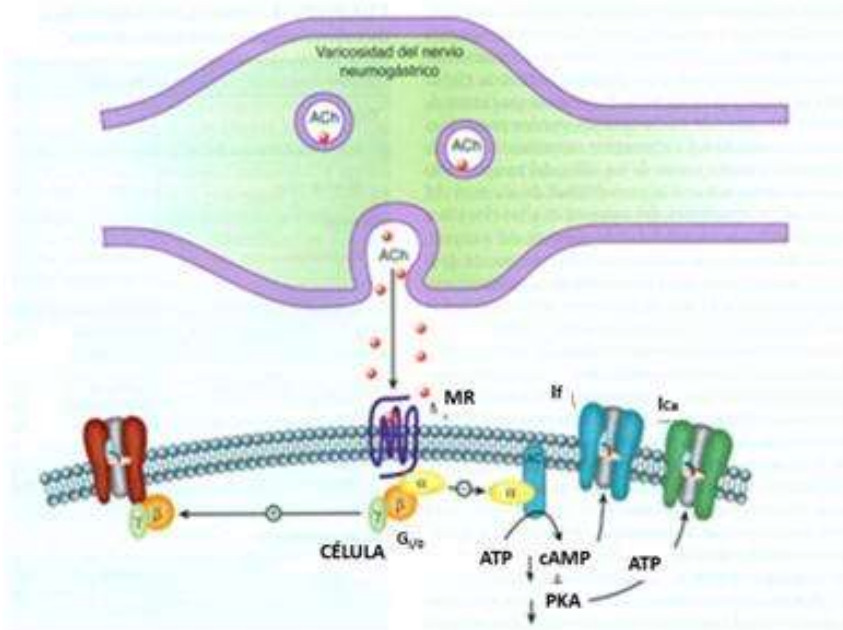


Figura 6. Envío de señales muscarínicas y nicotínicas (tomada de Katzung, et al., 2011).

La transmisión muscarínica. La acetil colina liberada de un axón colinérgico, interactúa con el receptor muscarínico (MR) a través de $G_{i/o}$ con un canal de K, el cual origina hiperpolarización. La abertura de los conductos de corrientes de sodio del marcapasos, dependientes de voltaje (I_f) cambia a potenciales más negativos y disminuye la fosforilación de los conductos de calcio de tipo N (I_{Ca}) (figura 6) [Katzung *et al.* 2011].

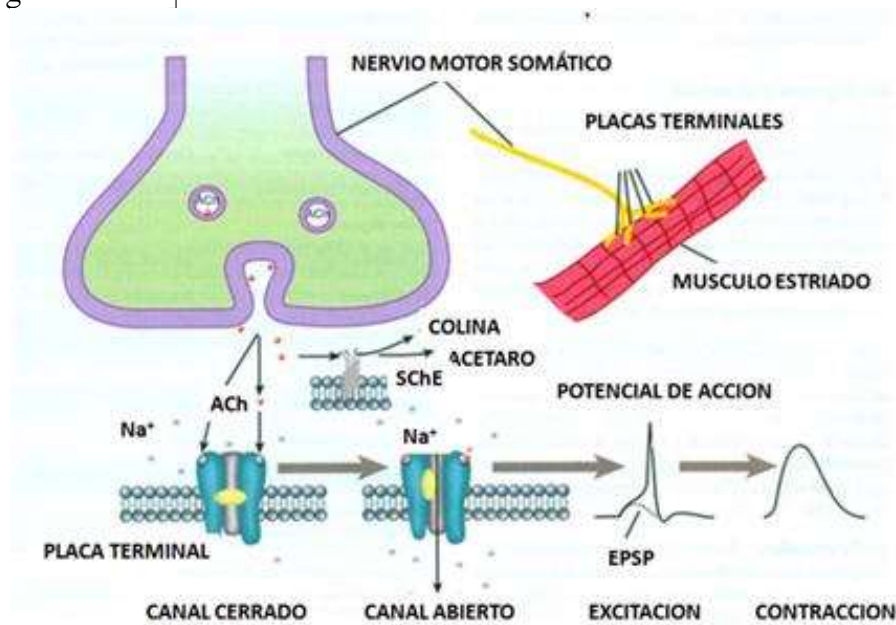


Figura 7. Transmisión nicotínica en la unión neuromuscular de músculo estriado (tomada de Katzung, et al., 2011).

La ACh liberada de la terminación nerviosa motora interactúa con subunidades del receptor nicotínico pentámero para abrirlo y permite que el Na origine un

potencial postsinápticoexcitatorio (EPSP). Este último despolariza la membrana muscular y genera un potencial de acción y desencadena la contracción. La acetilolinesterasa (AChE) de la matriz extracelular hidroliza Ach (figura 7) [Katzung *et al.* 2011].

Conclusiones

El video resultó ser una estrategia de fácil observación, integración de conocimientos procedimentales y declarativos, involucró valores, donde los alumnos se responsabilizan de su aprendizaje al cumplir con los preconceptos y las consideraciones de lo innecesario que es sacrificar animales si se dispone de otras opciones, y se favoreció el aprendizaje de los temas estudiados.

El alumno se motivó para investigar los mecanismos que se dan en la contracción muscular y comprendieron que la acetilcolina utiliza canales dependientes del receptor, nicotínicos y muscarínicos. Ambos canales dejan pasar iones de Na^+ y K^+ . Ambos se activan con acetilcolina. Las condiciones del mediodeterminaron el funcionamiento de las células; en condiciones favorables, se efectuó la señalización, el transporte de iones a través de la membrana con la apertura y cierre de canales que dirigen la actividad eléctrica, y la ejecución de la contracción. En condiciones desfavorables el tejido cesa su función.

La desventaja de esta estrategia es que no desarrollan destrezas en la ejecución de las actividades experimentales.

Bibliografía

- ❖ Alberts, B. (2005) *Biología celular y molecular*. Omega, España.
- ❖ Arce, V. M., ed. I Catalina Pablo F. ed. II, Mallo F. ed. III (2006). *Endocrinología*. Ed. Lit. IV Universidad de Santiago de Compostela ed. IV. Ervizo Publicaciones ed. V. Universidad de Vigo, Servizo de publiccións, España.
- ❖ Changeux, Jean Pierre. (1993) Chemical Signaling in the Brain. *Sci. American* Nov.
- ❖ Guyton, C. A. y Hall, E. (2011) *Tratado de fisiología médica*. 12a. ed., Elsevier. Saunders, México.
- ❖ Katzung, B. G., Masters, S. B. y Trevor A. J. (2011). *Farmacología básica y clínica*. 11a. ed., McGraw-Hill, México.