

EL PAPEL DEL CALCIO EN LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA

Es prácticamente imposible no enfatizar el papel del calcio en los sistemas biológicos avanzados, ya que, hacia donde sea que uno dirija un estudio de vías de control metabólicas, siempre hay un paso dependiente de calcio involucrado en el proceso. Algunos ejemplos del papel del calcio en el control metabólico son: 1) se encuentra acoplado a la fotosíntesis de oxígeno; 2) controla las deshidrogenasas en la fosforilación oxidativa; y 3) controla numerosas reacciones de cinasas. Por otra parte, el calcio no solo participa en el control de procesos metabólicos, existen otras funciones como:

1. El calcio controla la estabilidad mecánica de la pared celular de algunas células, de membranas en otras, y de la tensión en filamentos de una amplia variedad de células.
2. La contracción muscular es estimulada por calcio así como la exocitosis.
3. El calcio está íntimamente asociado con la fertilización, la división celular y la actividad hormonal.
4. Las sales de calcio como carbonatos (conchas), fosfatos (huesos y dientes) y oxalatos (estructuras en plantas), se encuentran en los biominerales.

Con todas estas funciones biológicas es de imaginar que la concentración de calcio se encuentra estrechamente regulada, la concentración de calcio libre en el fluido extracelular es aproximadamente 10^{-3} M mientras que el nivel intracelular es alrededor de 10^{-7} M dependiendo de la estirpe celular. Si la concentración intracelular de calcio alcanza 10^{-5} M se encienden las proteasas y la célula entra en un proceso que la llevará a la muerte.

El calcio es un ión divalente de 0.95 \AA de radio iónico y está disponible en el agua ya que sus sales no son muy insolubles. Tiene una fuerza de unión intermedia tanto en moléculas inorgánicas como orgánicas, comparado con la unión más fuerte que presentan los cationes en el otro extremo de la serie de metales de transición como zinc, lo cual lo hace muy útil para controlar los cambios conformacionales en proteínas y enzimas y por tanto la actividad celular. Sin embargo, ese control debe ser rápido también. El calcio tiene propiedades químicas que le permiten cumplir con estas condiciones.

1. La unión con calcio es **selectiva** como resultado de: a) su habilidad para interactuar con donadores por oxígenos neutrales como carbonilos y alcoholes, una interacción que esta ausente en la química del magnesio en agua y reduce su competencia con sodio; y b) su habilidad para unir un gran número de centros al mismo tiempo, esta habilidad tampoco la tiene el magnesio o cualquier otro catión pequeño como el zinc. Estos dos factores dan al calcio una química de enlace selectiva basada en el cociente carga-tamaño. Además, estas características lo hacen un agente ideal para uniones cruzadas (cross-linking agent).

2. La **estructura** del calcio difiere de otros elementos divalentes disponibles como el magnesio; el calcio es como los cationes sodio, potasio, estroncio, bario y los lantánidos quienes presentan frecuentemente números de coordinación elevados en sus compuestos y complejos. La geometría de sus compuestos está controlada en mayor proporción por la segunda esfera de coordinación y la solvatación en solución más que por la primera esfera de coordinación. En este punto el contraste con magnesio o aluminio no podría ser mayor.
3. La **cinética** del calcio es también muy diferente de la del magnesio en dos aspectos: En primer lugar, el calcio intercambia agua a una velocidad muy cercana al límite de difusión colisional (10^{10}s^{-1}) y sus constantes de formación están a menudo controladas por difusión, mientras que sus constantes de disociación están limitadas por la fuerza de enlace. En segundo lugar, en un complejo, los ligantes unidos al calcio son fluctuantes. Magnesio (o aluminio) no se parecen al calcio en ninguna de estas propiedades. De hecho, en este aspecto el calcio nuevamente se parece más al sodio, potasio y lantánidos. El tamaño similar que tienen estos iones, alrededor de 1.0\AA de radio iónico en todos los casos, es la propiedad responsable de estas similitudes a pesar de la diferencia de carga.

Teniendo en mente todas estas particularidades del calcio, tomemos el ejemplo de la coagulación sanguínea para comprender su papel único en los sistemas biológicos.

El calcio en la coagulación sanguínea

La coagulación se define como el proceso enzimático a través del cual la proteína soluble presente en el plasma llamada fibrinógeno, experimenta un cambio químico que la convierte en insoluble y le proporciona la capacidad para entrelazarse con otras moléculas iguales formando una red tridimensional de fibrina, en la cual quedan atrapadas algunas sales, agua y células sanguíneas.

La cascada de coagulación se divide arbitrariamente en tres vías: las vías de iniciación intrínseca y extrínseca, y la vía de terminación o vía común donde las dos anteriores convergen. Cada reacción en estas vías provoca el ensamble de una enzima (factor de coagulación activado), una pro-enzima o factor de coagulación inactivado el cual funciona como sustrato, y un cofactor. El ensamblaje se da en general sobre una superficie aniónica, por ejemplo fosfolípidos de membranas de restos celulares o plaquetas activadas. La estabilización de estas uniones cruzadas se da a través de puentes formados por iones Ca^{2+} .

De esta forma el calcio actúa como gatillo, disparando la coagulación sanguínea. El calcio extracelular tiene un papel dual en este proceso. Cuando ocurre una lesión en el organismo, el calcio activa un set de proteasas, a través del desdoblamiento de una serie de proteínas multidominio, y simultáneamente una dominios localmente a fragmentos celulares y membranas (fosfolípidos). Este efecto se desencadena como consecuencia de sitios de unión que se encuentran muy expuestos en las proteínas de la cascada de coagulación, estos sitios están compuestos por un aminoácido especial llamado g-carboxiglutamina (Gla). Estas proenzimas tienen secuencias ricas en Gla provocando que la unión con calcio transforme un segmento polimérico con conformación aleatoria en un segmento altamente organizado, el cual mantiene en su

organización a los iones calcio parcialmente expuestos de tal forma que permite la unión con los fosfolípidos u otros aniones en los tejidos dañados. Por ejemplo, la proteasa multidominio, protrombina, reajusta sus interacciones dominio-dominio para que la hidrólisis necesaria para formar el coágulo se pueda llevar a cabo.

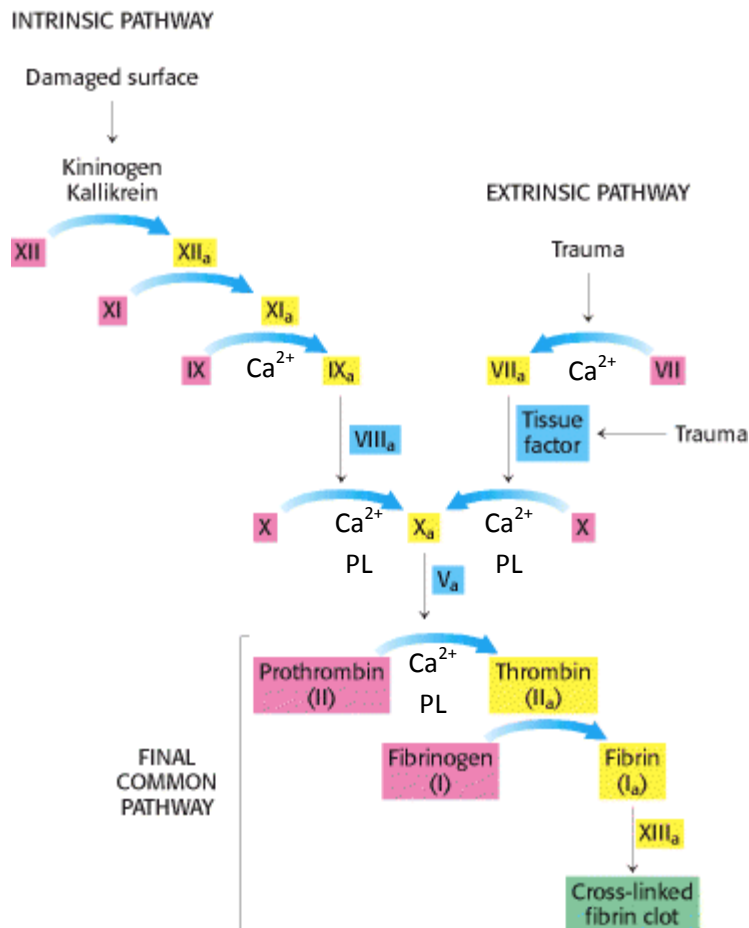


Figura 1. Vías intrínseca, extrínseca y común de la coagulación sanguínea.

OBJETIVO ACADÉMICO:

Que el alumno conozca la función del calcio en la coagulación sanguínea y las propiedades que le permiten participar en procesos biológicos similares.

PROBLEMA:

Identificar las propiedades que permiten al calcio su función en la coagulación sanguínea y otros procesos biológicos.

MATERIALES:

Tubo <i>Vacutainer</i> con 0.5 mL de citrato de sodio 0.130 M	1	Tubos 13 x 100	6
Baño de agua	1	Bulbos	1
Gradilla	1	Pipeta automática 100 – 1000 µL	1
Pipeta pasteur	6	Puntas azules para pipeta automática	8
Aguja para <i>vacutainer</i>	1		

REACTIVOS:

NaCl 0.025 M	Pb(NO ₃) ₂ 0.025M
CaCl ₂ 0.025 M	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.025 M
ZnCl ₂ 0.025 M	Al ₂ (SO ₄) ₃ 0.025M
SrCl ₂ 0.025 M	BaCl ₂ 0.025M
KCl 0.025 M	

MATERIAL BIOLÓGICO:

4.5 mL de sangre venosa

DESARROLLO EXPERIMENTAL

1. Extraer 4.5 mL de sangre por punción venosa empleando un *vacutainer* con citrato de sodio 0.130 M.
2. Precalentar el tubo con la sangre y las soluciones de los diferentes iones a 37°C en un baño de agua durante 10 minutos.
3. Durante el periodo de espera contestar las siguientes preguntas:

a) ¿Cuál es la función del calcio en la coagulación sanguínea?

b) ¿Qué propiedad o propiedades de este catión considera que son las responsables de esa función?

c) ¿Considera que otro ión puede realizar la función del calcio?

4. En función de su respuesta a las preguntas anteriores y con base en el ANEXO I. Seleccione 4 propiedades que considere necesarias para que un catión lleve a cabo la coagulación sanguínea y algunos iones que cumplan con dichas propiedades. Realice un experimento comparativo para comprobar sus hipótesis siguiendo las instrucciones a partir del punto 5.
5. Etiquetar el número de tubos de ensaye necesarios para realizar cada comparación con el nombre del catión correspondiente.
6. Agregar 100 μL de la solución stock de cada catión seleccionado e incubar por 3 minutos a 37°
7. Agregar 100 μL de sangre a cada tubo e incubar a 37°C durante 5 minutos y observar.
8. Continuar la incubación y observar los tubos cada minuto durante 10 minutos más. Anotar los hallazgos en la tabla número 2.

Tabla 2. Resultados.

<i>Hipótesis de la primera comparación:</i>					
Cationes					
propiedad: _____					
observaciones					
<i>Hipótesis de la segunda comparación:</i>					
Cationes					
propiedad: _____					
observaciones					
<i>Hipótesis de la tercera comparación:</i>					
Cationes					
propiedad: _____					
observaciones					
<i>Hipótesis de la cuarta comparación:</i>					
Cationes					
propiedad: _____					
observaciones					

9. Discuta y compare sus resultados con el resto del grupo contestando las siguientes preguntas:

a) Además del calcio, ¿algún otro catión provocó la formación de un coágulo? _____

b) ¿Qué propiedades comparte este catión con el calcio?

c) ¿El tiempo de formación y la estabilidad del coágulo fueron similares?

d) ¿A qué atribuye estos efectos? ¿Qué propiedades son diferentes entre este catión y el calcio?

e) ¿Se puede extrapolar el comportamiento de este catión en la coagulación a otras proteínas y enzimas que requieren de calcio para llevar a cabo su función?

f) ¿Considera que se puede atribuir la función del calcio a una sola propiedad?

g) En base a su respuesta ¿Qué propiedades son las responsables de la función única del calcio?

CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Funciones biológicas del calcio.
2. Cascada de coagulación sanguínea, vía extrínseca e intrínseca.
3. Efecto del calcio en la coagulación sanguínea.

DISPOSICIÓN DE RESIDUOS

1. Inactivar todos los tubos de ensaye agregando 10 mL de hipoclorito de sodio
2. Desechar el contenido de los tubos en un contenedor etiquetado como R1 el cual debe mencionar cada uno de los iones empleados.

ANEXO I. Propiedades de algunos cationes

Propiedad	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Sr ²⁺	Ba ²⁺	Mn ²⁺	Pb ²⁺	Al ³⁺	Zn ²⁺
Tamaño (A)	1.00 (1.02)	1.33 (1.38)	0.60 (0.72)	0.95 (1.00)	(1.18)	(1.35)	0.75 (0.67)	(1.19)	(0.535)	(0.74)
Estado de oxidación predominante	+1	+1	2+	2+	2+	2+	2+/3+	2+/4+	3+	2+
Número de coordinación	6(+)	8(±)	6	7(±)			6(+)	4,6(raro)		
Longitud de enlace	irregular	irregular	regular	Irregular	Irregular	Irregular	regular		regular	regular
Angulo de enlace	irregular	irregular	regular	Irregular	irregular	irregular	(regular)		regular	Regular
geometría	irregular	irregular	octaédrica	Irregular	irregular	irregular	Octaédrica> otras		octaédrica	Tetraédrica> octaédrica> penta- coordinación
Velocidad de intercambio de H ₂ O	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁷	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	¿?	>10 ⁻⁵	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁷
Átomos donadores	oxígeno	oxígeno	oxígeno	Oxígeno	Oxígeno, azufre	Oxígeno, azufre	oxígeno, nitrógeno	oxígeno, azufre	oxígeno	Nitrógeno, azufre, oxígeno
ligantes	Donadores por oxígeno neutros o con carga pequeña	Donadores por oxígeno neutros o con carga pequeña	Carboxilatos, fosfatos y polifosfatos (carga total > -2)	Donadores por oxígeno neutros, carboxilatos y fosfatos	Sulfatos, carboxilatos y fosfatos.	Sulfatos, carboxilatos y fosfatos	Donadores por oxígeno cargados, carboxilatos, fosfatos combinados con donadores por nitrógeno y algunos tiolatos	Sulfatos, tioles, fosfatos y carboxilatos		Aminas, tiolatos, carboxilatos
Estabilidad de los complejos	Muy baja	Muy baja	De baja a regular	De baja a regular	Baja	Baja	De regular a alta	Alta	regular	Alta