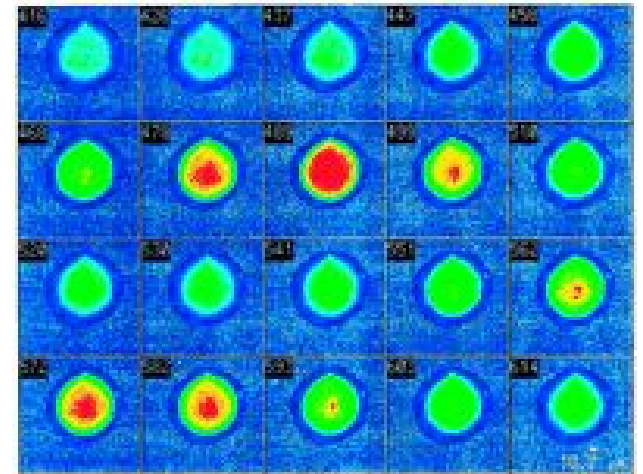


Einführung in die Systembiologie

Calciemoszillationen und ihre Ursachen

Ursula Kummer



Chiu et al., Hum. Reprod. (2003) 18 (2): 408-416.

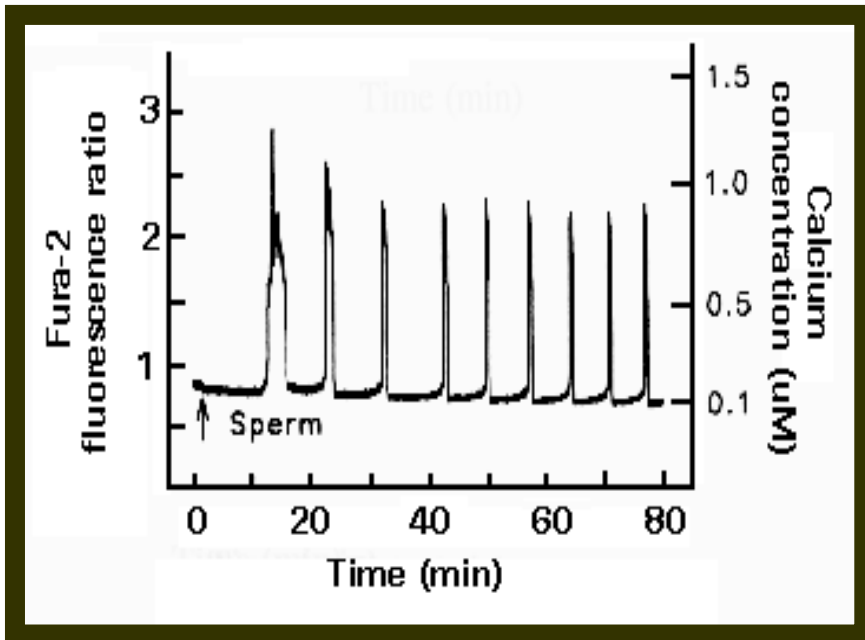
Calcium - ein Botschafter und viele Botschaften

Calciumionen agieren als sekundäre Botenstoffe in
fast allen Eukaryonten

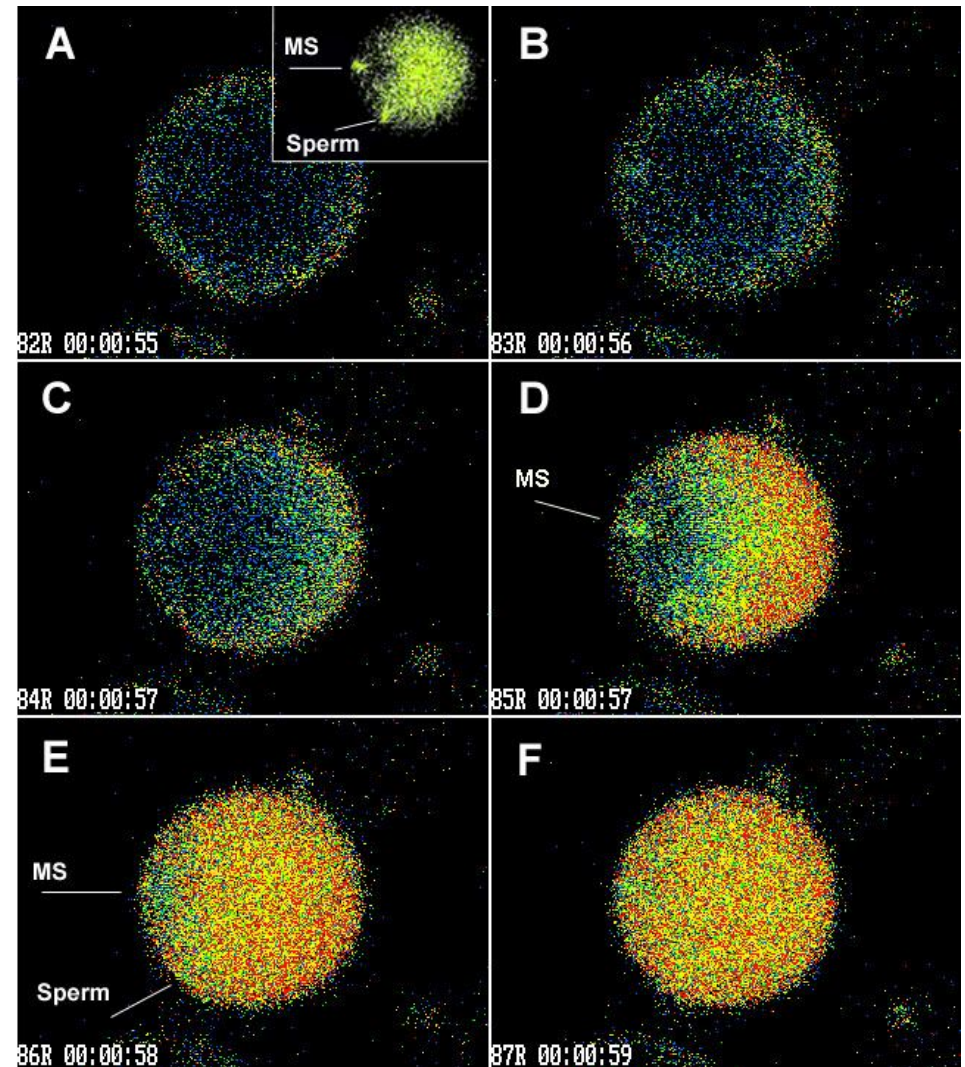
Alleine für Leberzellen sind ca. 40 Agonisten bekannt

Wie kann ein Botenstoff die verschiedenen Informationen
übertragen?

Calciumsignaltransduktion während der Fertilisation

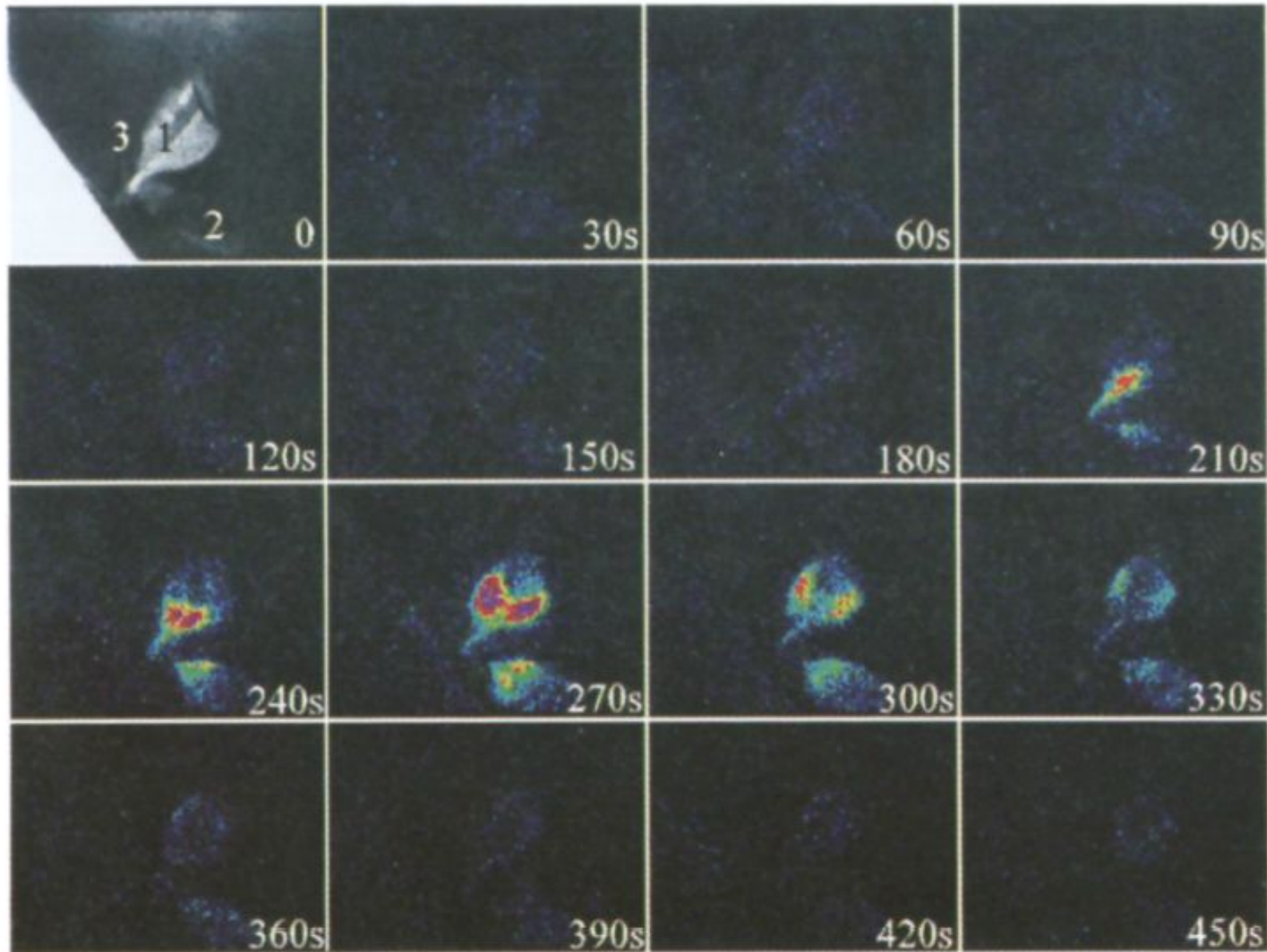


Kline D., Theriogenology, 1996, vol. 45, 81-90



Chris Fox (www.kent.edu/projects/cell)

Calciumsignaltransduktion in Pflanzen



Signalleitung durch
die ganze Pflanze

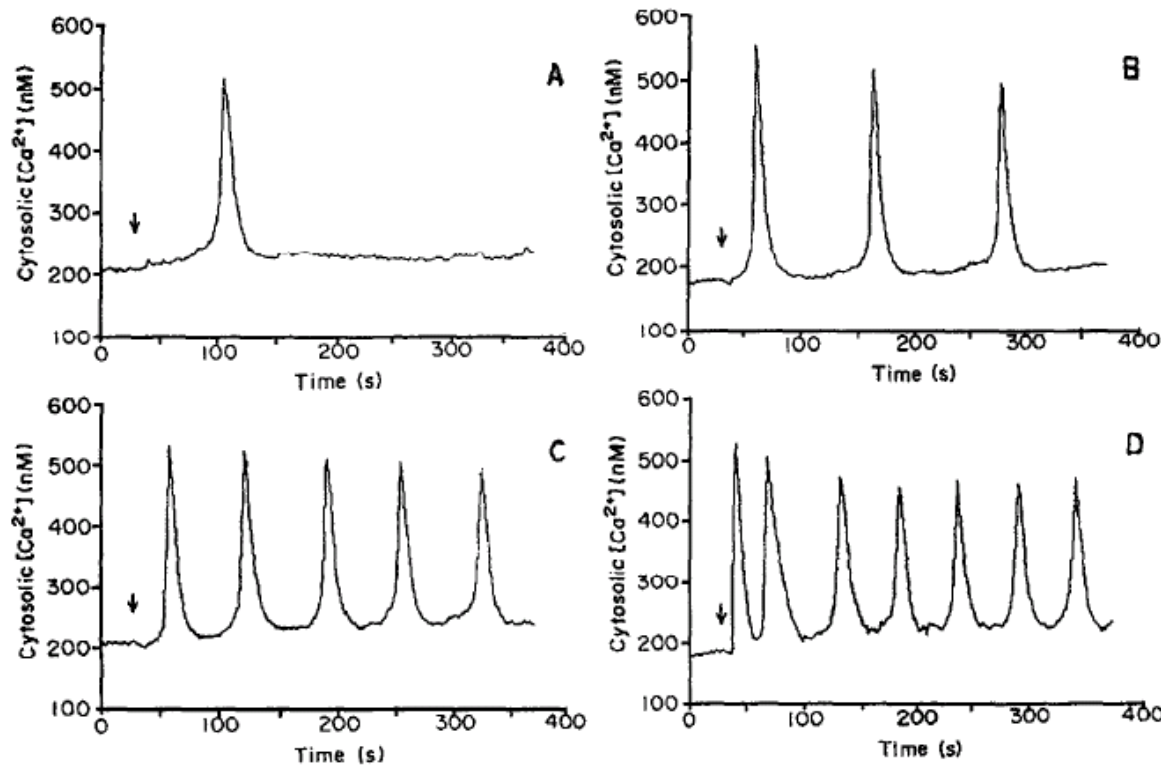
Fig. 5

(Campbell et al., Cell Calcium, 19, 1996)

1cm

Calciumsignaltransduktion in Leberzellen I

Die Konzentration des Agonisten bestimmt die Antwort
-> Frequenzkodierung



Weniger Agonist

- > Unterstimulierte Zellen
- > Calcium im Ruhezustand
- > Niedriges konstantes Niveau

Deutlich mehr Agonist

- > Überstimulierte Zellen
- > Hoher konstanter Calciumlevel
- > Apoptosis

Fig. 1 Dose dependence of phenylephrine-induced $[Ca^{2+}]_i$ oscillations in a single hepatocyte.

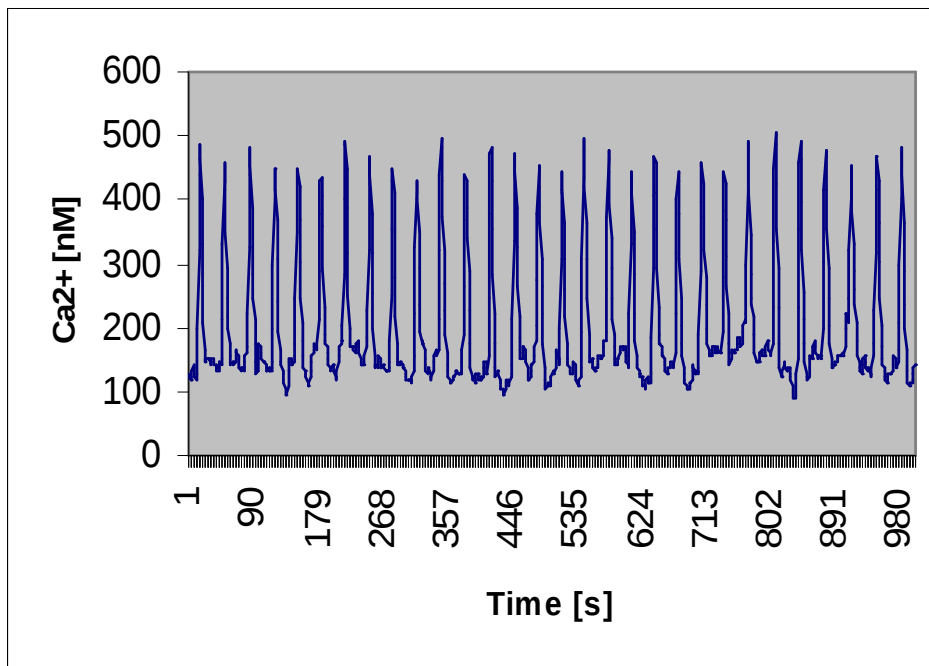
The effects of sequential challenges with increasing phenylephrine concentrations on the $[Ca^{2+}]_i$ response obtained in a single Fura-2-loaded hepatocyte are shown. The doses of agonist used are 0.5 (A), 2.0 (B), 5.0 (C) and 10 μ M (D) with the points of addition indicated by the arrow on each trace. Reproduced with permission from [24]

(Thomas et al., Cell Calcium, 1991)

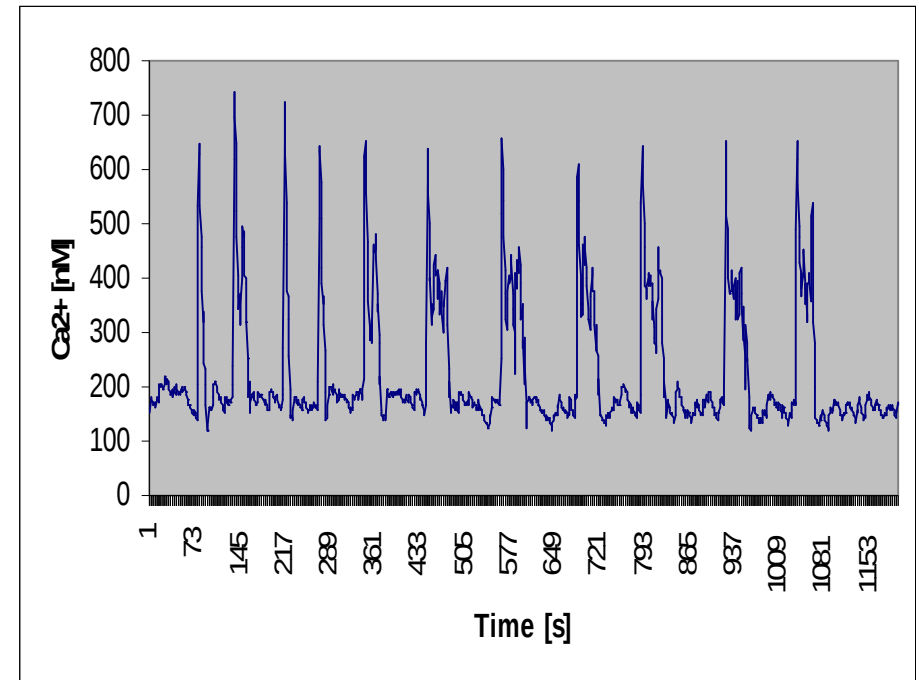
Calciumsignaltransduktion in Leberzellen II

Die Art des Agonisten ist ebenfalls bestimmend
-> Formkodierung

a) Phenylephrine



b) ATP



Wie kommt es zu Oszillationen?

Oszillationen und ähnliche Dynamik sind Systemeigenschaften
-> keine Einzelteile können solche Dynamik zeigen

Die Dynamik entsteht aus dem Zusammenspiel verschiedener
Komponenten

Oft spielen Feedbacks eine wichtige Rolle

-> Modelle können die Ursachen aufklären

Systemzustände

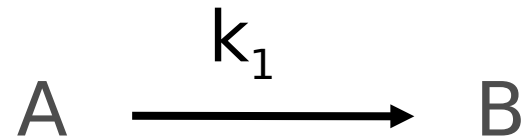
Viele Systeme nehmen nach einer gewissen Zeit ein Fließgleichgewicht (steady state) als stabilen Zustand ein

Allerdings kann der steady state auch instabil werden, was nicht heissen muss, dass das **System** instabil wird. Vielmehr kann das System stabil um den instabilen steady state oszillieren.

Differentialgleichungen

Wdh.

Einfaches Beispiel:



$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1 \cdot [A]$$

Rate der
Konzentrations-
änderung von A

Konzentration von A

Geschwindigkeitskonstante

Verschiedene stationäre Zustände

Einfachster Fall: $A \longrightarrow B$

Radioaktiver Zerfall oder irreversible Reaktion in einem geschlossenen System. Die Reaktion läuft komplett ab. Danach passiert nichts mehr, da alles Substrat aufgebraucht ist.

Das passiert normalerweise so nicht, da man nie absolute Irreversibilität hat.



(Thermodynamisches) Gleichgewicht



Das System ist geschlossen (kein Masse- oder Energieaustausch mit der Außenwelt).

In allen geschlossenen Systemen, wird nach einiger Zeit das Gleichgewicht erreicht. Noch immer laufen Reaktionen ab, aber Hin- und Rückreaktion haben die gleiche Geschwindigkeit.

Thermodynamische Gleichgewichtszustände gibt es in vitro, aber nie in einem lebenden System.



Steady state (Fließgleichgewicht)



Das System ist offen und es gibt Ein- und Ausflüsse. Unter diesen Umständen kann es auch weitere, stabile Zustände geben.



Wie berechnet man einen steady state?

Einfachste Möglichkeit: Simulation.

Nachteil: Eher hoher Rechenaufwand (für den Computer)

Newton-Algorithmus

Effizienter und exakt

Steady State

Mathematisch bedeutet das, dass man die rechte Seite der ODEs null setzt. Also suchen wir die Nullstelle einer Funktion.

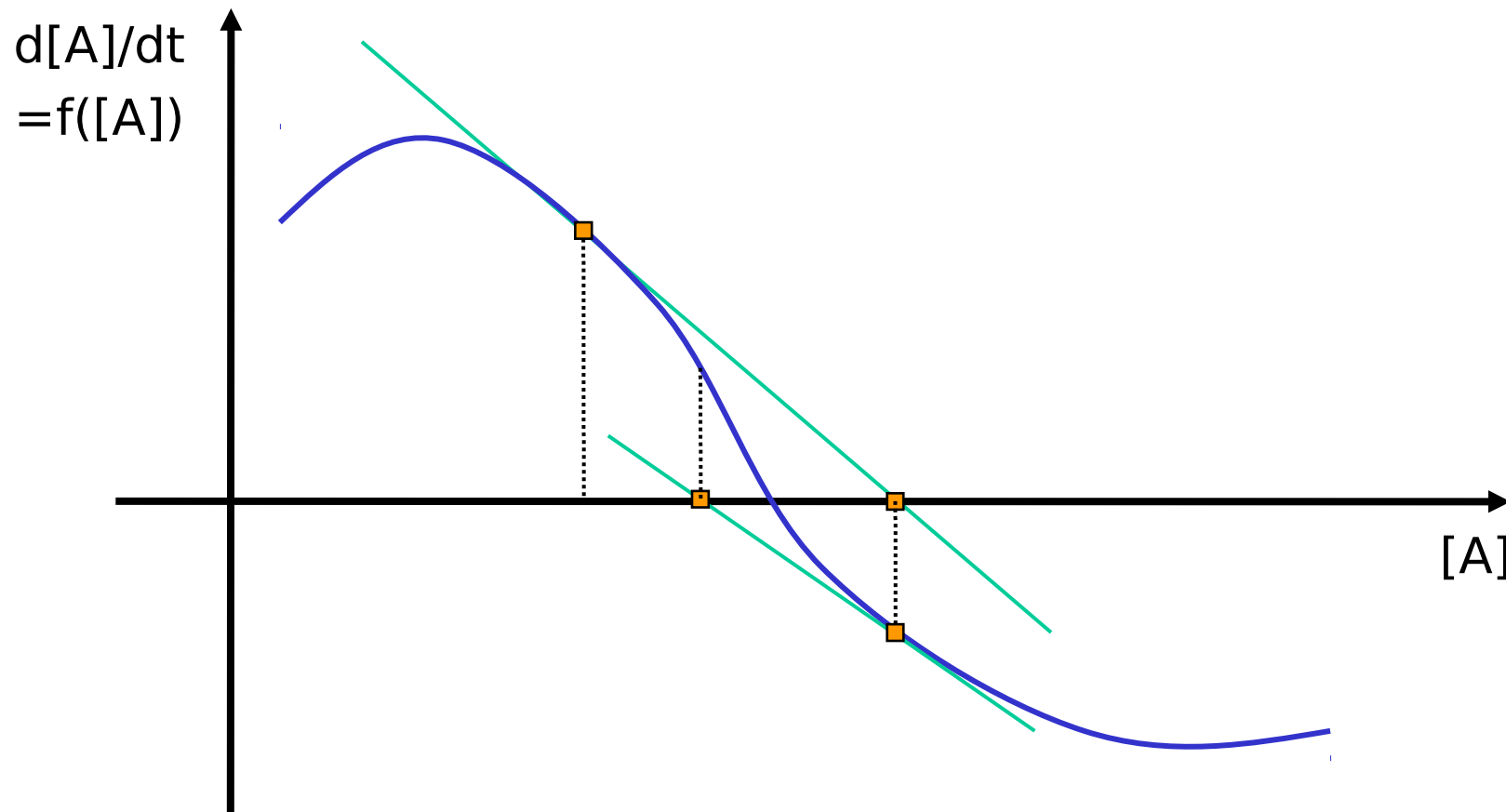
$$d[A]/dt = f([A])$$

Steady State:

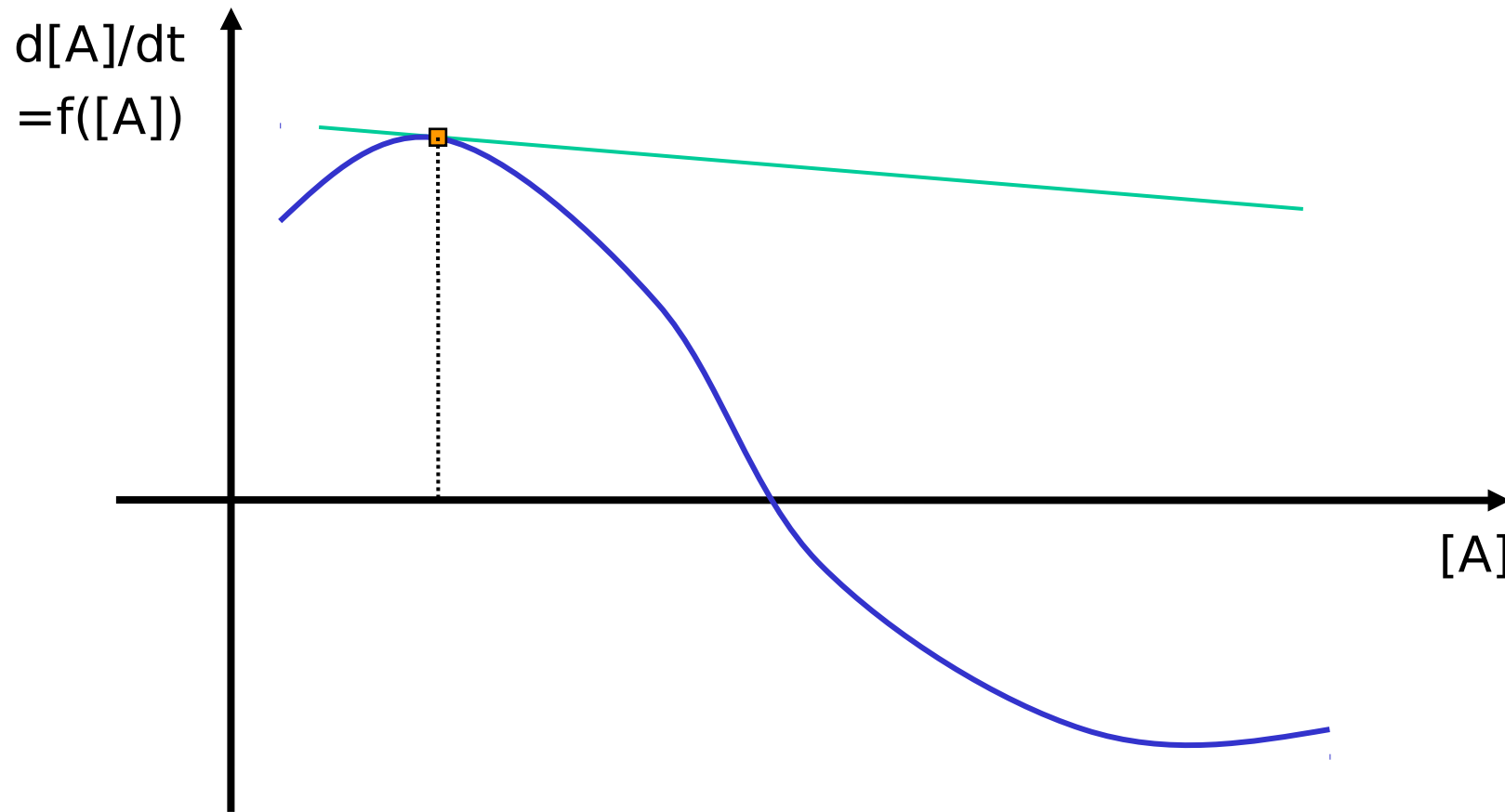
$$f([A]) = 0$$

Newton-Algorithmus

$$[A]_{i+1} = [A]_i - \frac{f([A]_i)}{f'([A]_i)}$$



Probleme des Newton-Algorithmus



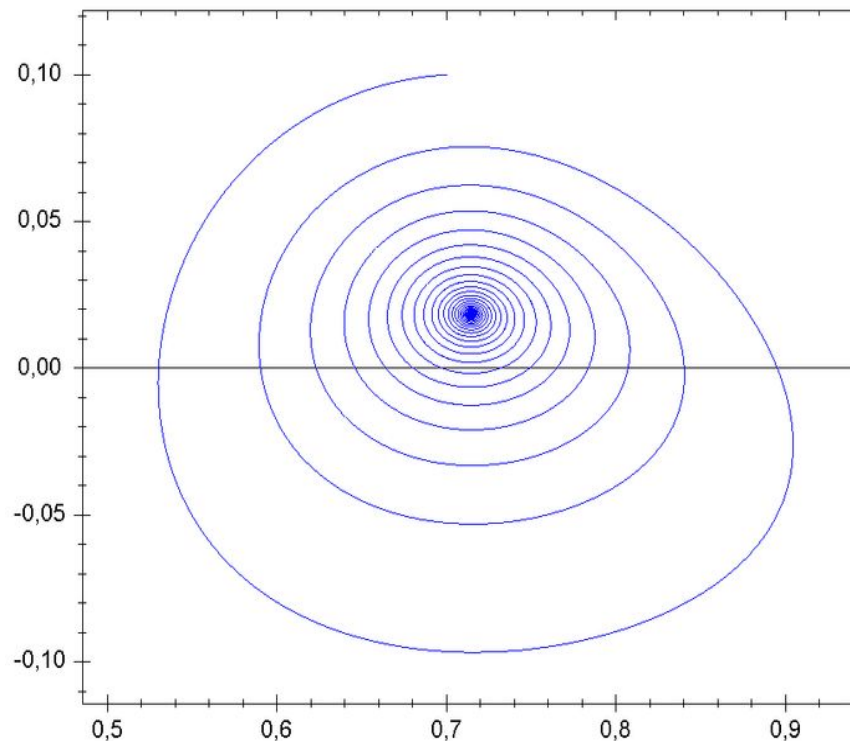
Phasendiagramme

Auftragen von Variablen gegeneinander

Beispiel:

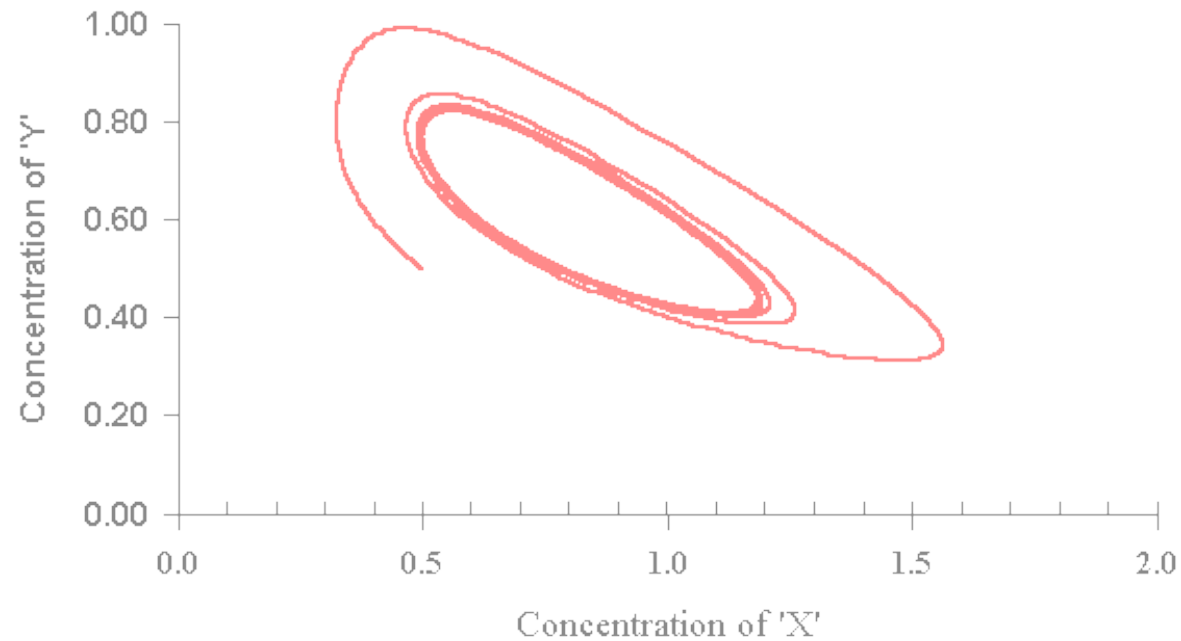
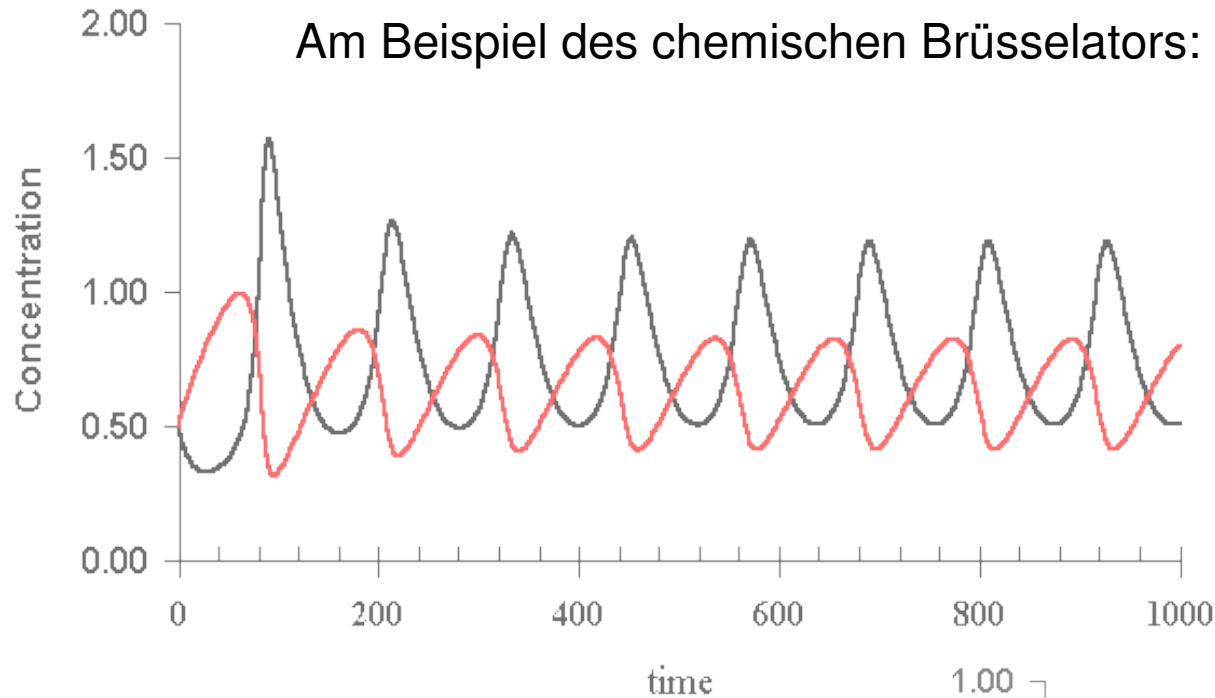
Fixpunkt

= steady state



Der Phasenraum:

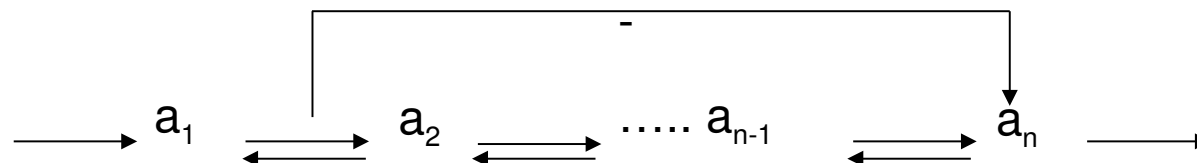
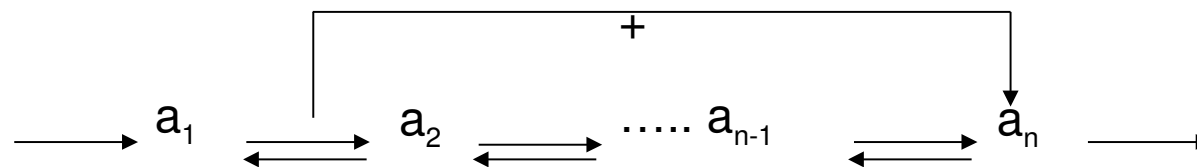
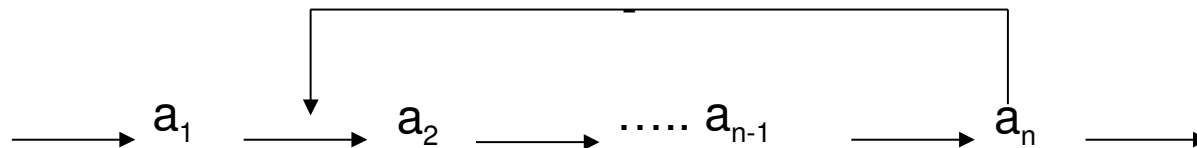
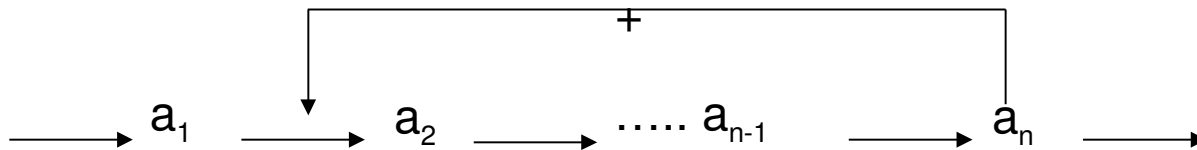
Am Beispiel des chemischen Brüsselators:



Wann gibt es Oszillationen?

Goldene Regel:

Immer dann, wenn ein feedback existiert,
der nicht unmittelbar ist.



Hopf-Bifurkationen

Übergang von einem stationären in einen
oszillierenden Zustand (später verallgemeinert)
- E. Hopf, 1942

Immer dann, wenn
sich das System gerade noch im stationären
Zustand befindet

Dynamik in der Biochemie

Konzept des Fließgleichgewichts in vielen Fällen unzutreffend

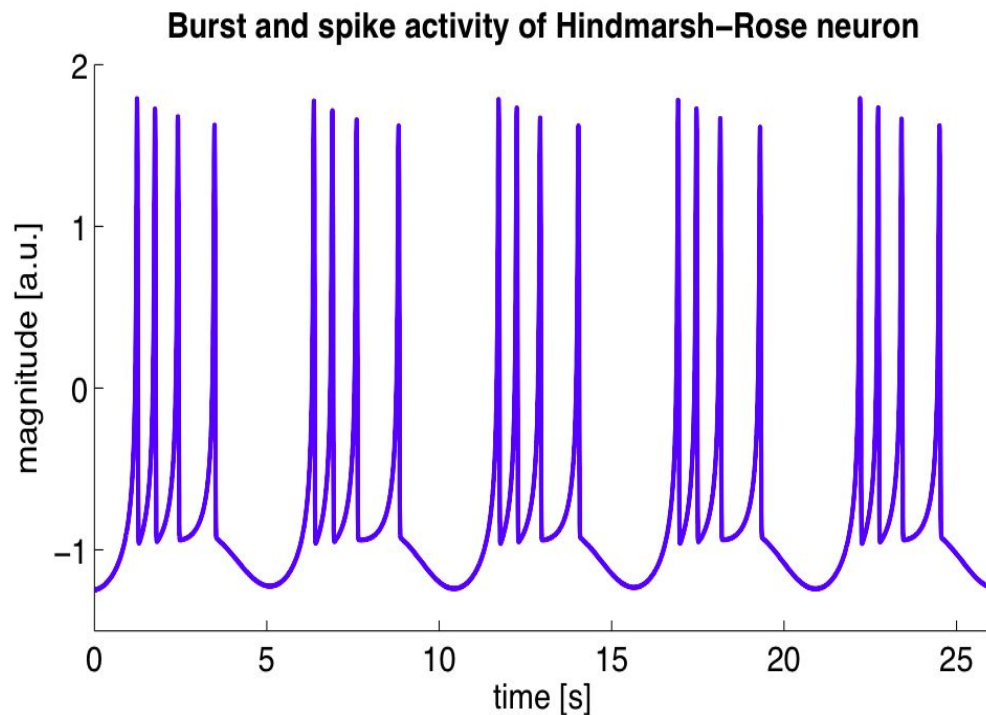
Lebende Systeme sind dynamisch, d.h. ihre Komponenten verändern sich stark mit der Zeit

Beispiel: Oszillationen in der Konzentration von Metaboliten im Organismus werden häufig gefunden

Musterbildung hat ebenfalls dynamische Ursachen

Oszillationen in der Biochemie

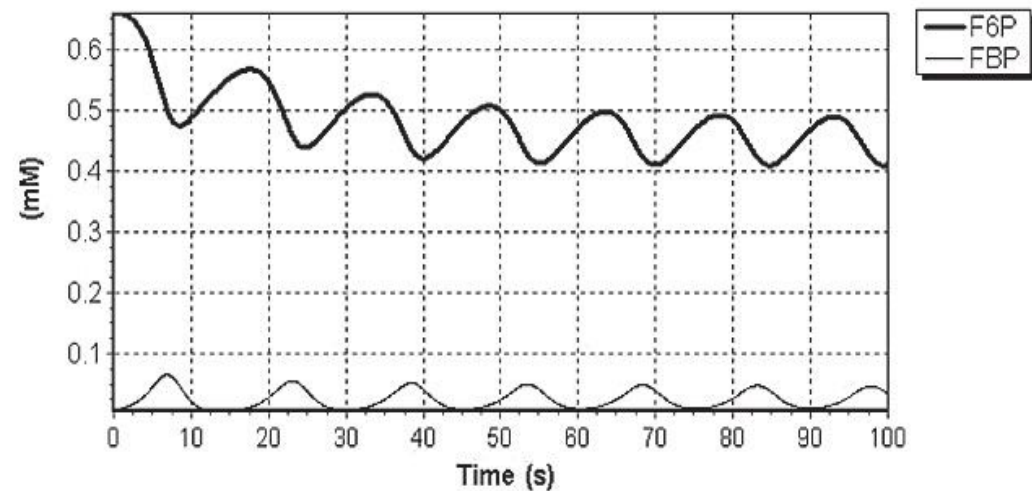
Einige Beispiele:



Nervensignale:
Ein Teil der Information
wird in der Frequenz
des Signals
(der Oszillation) codiert.
Wird der Auslöser
stärker, erhöht sich die
Frequenz.

Oszillationen in der Biochemie

Einige Beispiele:



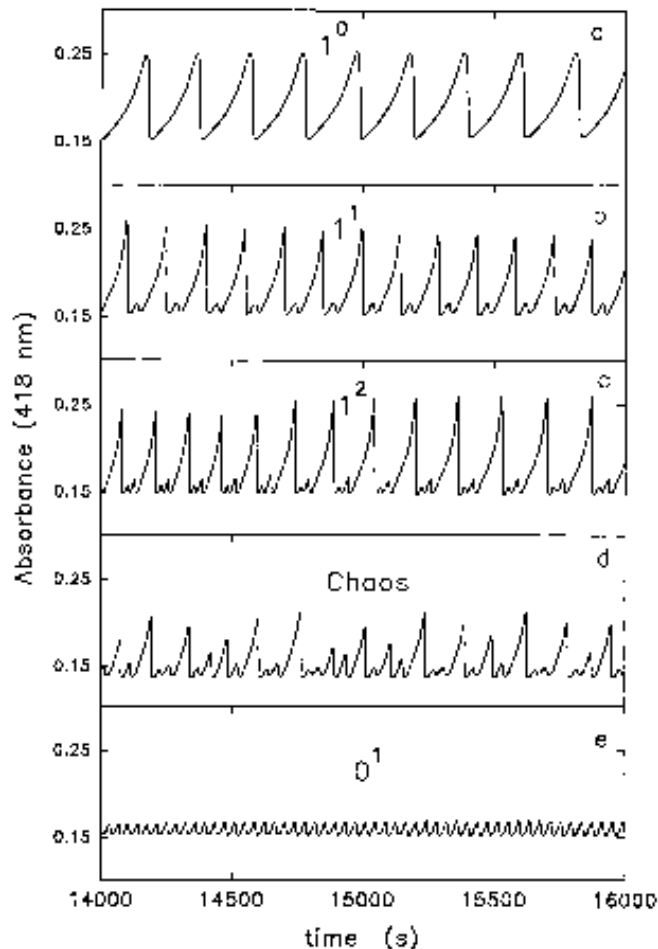
Intermediate der Glykolyse
oszillieren unter bestimmten
Bedingungen.
Nutzen, bzw. Konsequenz
noch unbekannt.

Figure 4. Intra-cellular concentration of metabolites in yeast (F6P and FBP) in mM (millimolar) versus time with a glucose stimulatory concentration of 11 mM and a period of oscillation around 10 s. F6P = fructose-6-phosphate; FBP = fructose-1,6-biphosphate.

Silva et al., Genet. Mol. Res. 5 (3): 525-535 (2006)

Komplex periodisches Verhalten

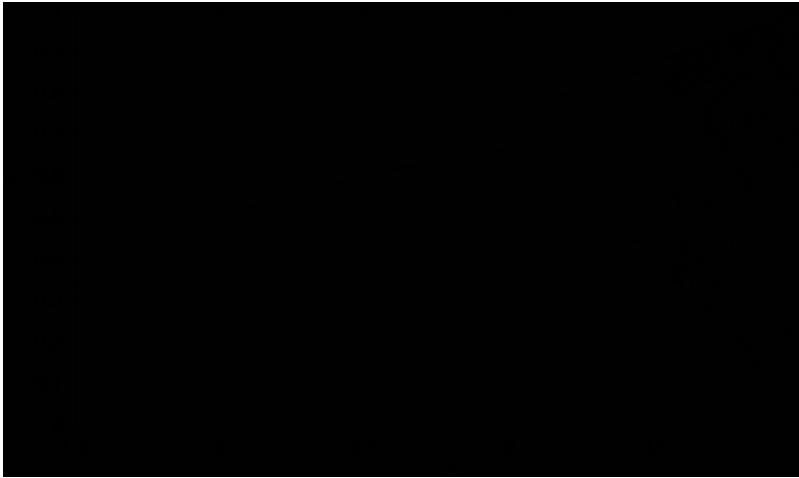
2086 *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, No. 9, 1997



Man spricht von Periode 2, 3 etc. je nachdem nach wievielen Oszillationen sich die Periodizität wiederholt.

Beispiel: Substratkonzentration in der von der Peroxidase katalysierten Oxidation von NADH

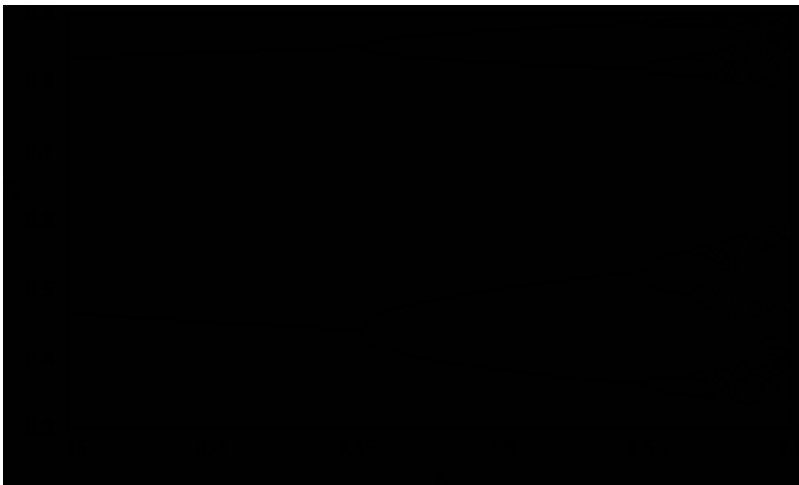
Bifurkationsdiagramme



Period-doubling Route

Auch bei Vergrößerungen ist das Szenario der Periodenverdoppelung beobachtbar

Die Parameterregion, in der komplexperiodische Lösungen beobachtbar sind, ist um so kleiner, je komplexer die Periodizität ist.

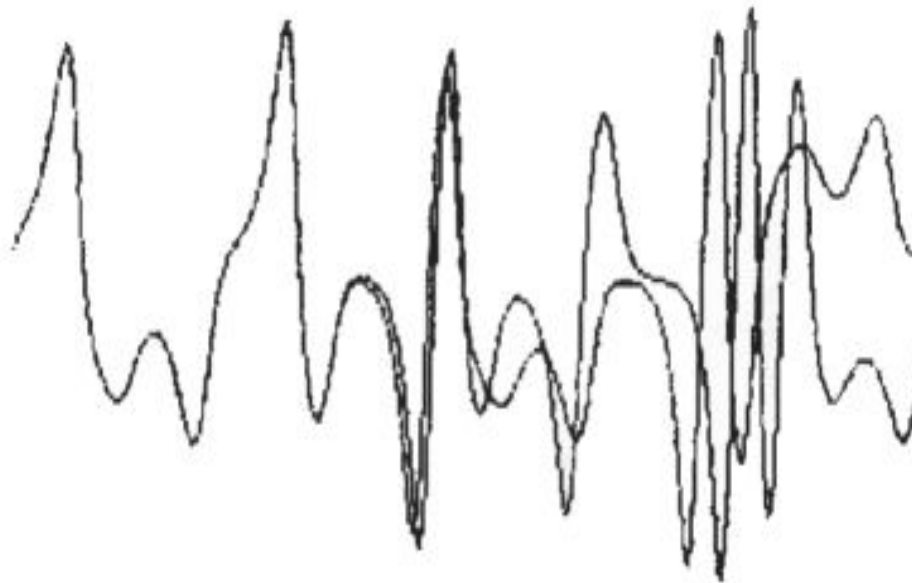


Es gibt auch einige andere Wege ins Chaos

Der Schmetterlingseffekt

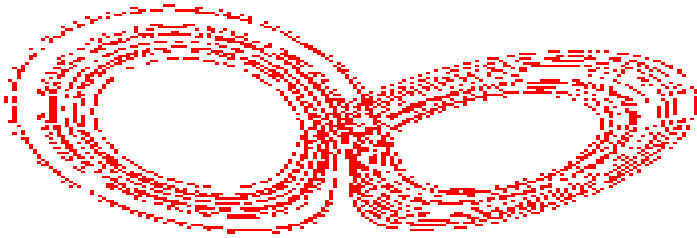
Chaos ist deterministisch

Extreme Sensitivität gegenüber der Ausgangsbedingungen



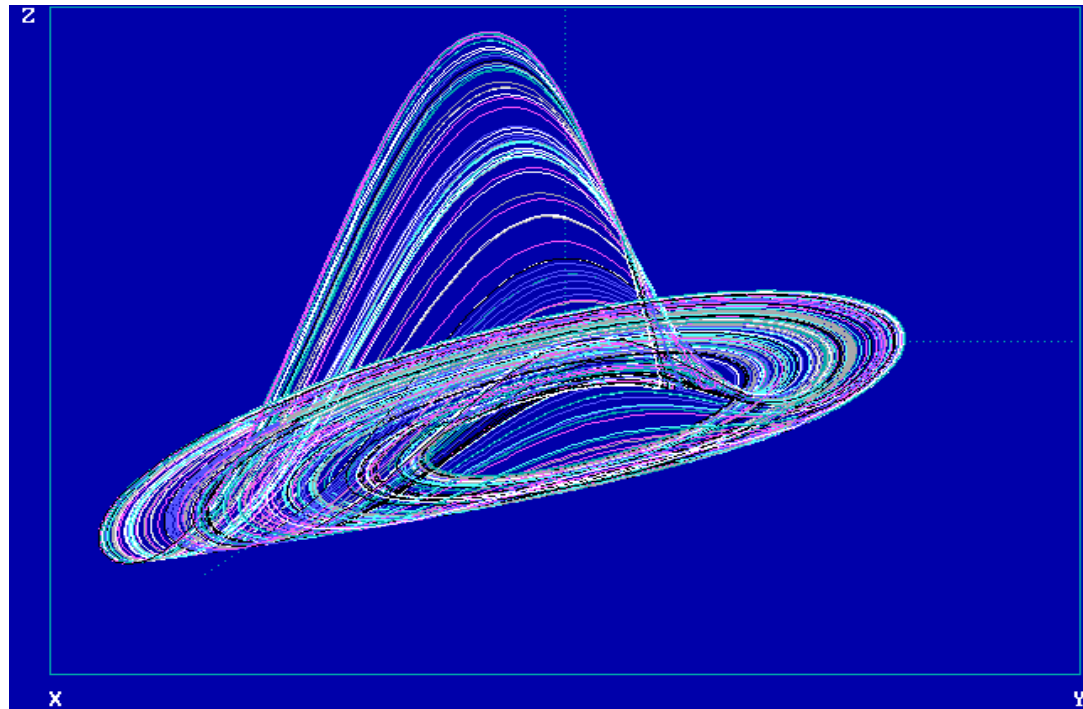
Chaotische Attraktoren

Lorenz



Rössler

$$\begin{aligned}dx &= -y - z \\dy &= x + ay \\dz &= b + xz - cz\end{aligned}$$



Chaos in der Biologie?

Ist nicht immer eindeutig zu indentifizieren, da dazu lange Zeitreihen nötig sind

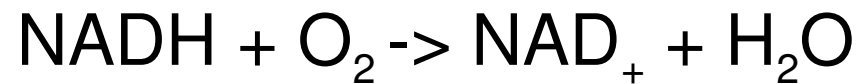
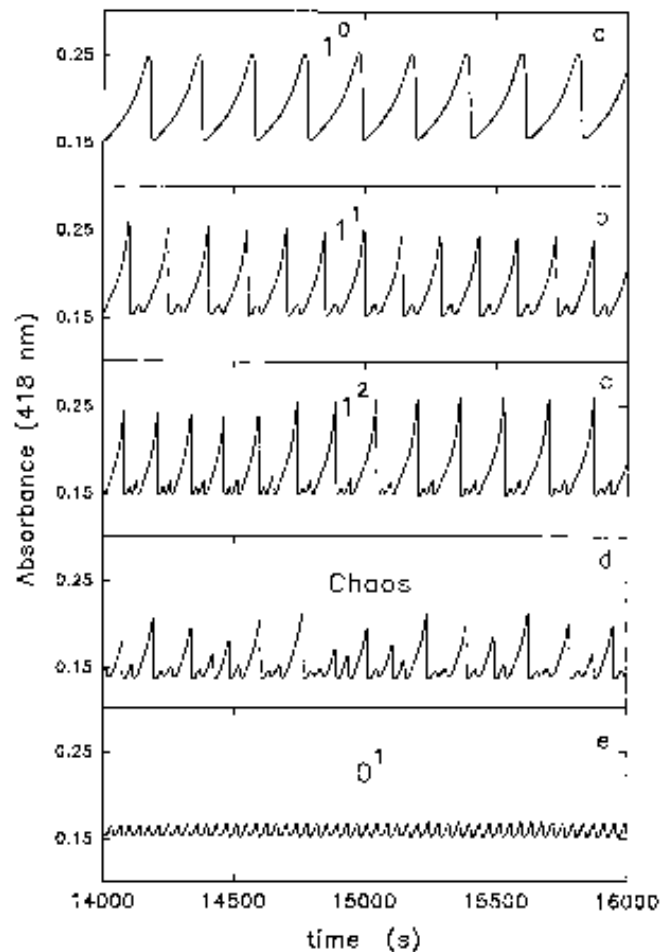
Einige wirklich bewiesene Beispiele:

Herzschlag ist bei gesunden Menschen chaotisch

Enzymatische Reaktionen können chaotische Dynamik zeigen

Chaos in der Peroxidase-Oxidase Reaktion

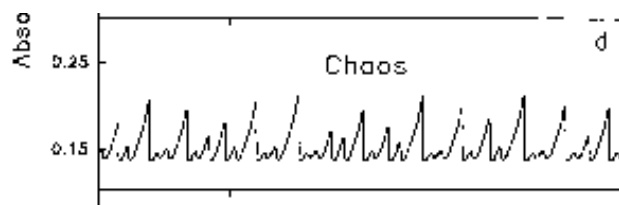
2086 *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, No. 9, 1997



Next-Amplitude Map

Die Maxima (oder Minima) aufeinanderfolgender Amplituden werden gegeneinander aufgetragen.

Macht deterministische Zusammenhänge sichtbar (Chaos)



Kummer et al.

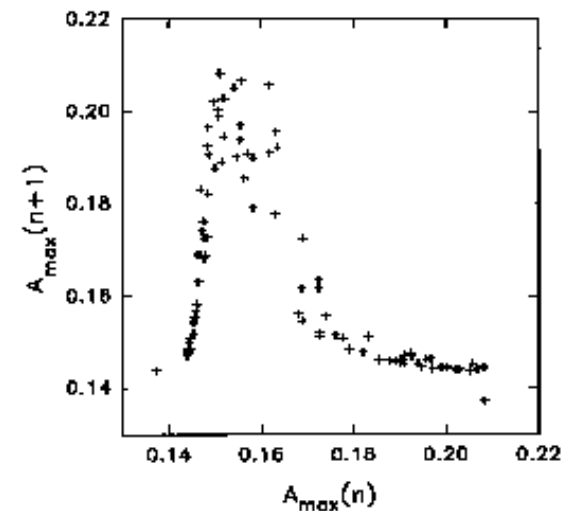
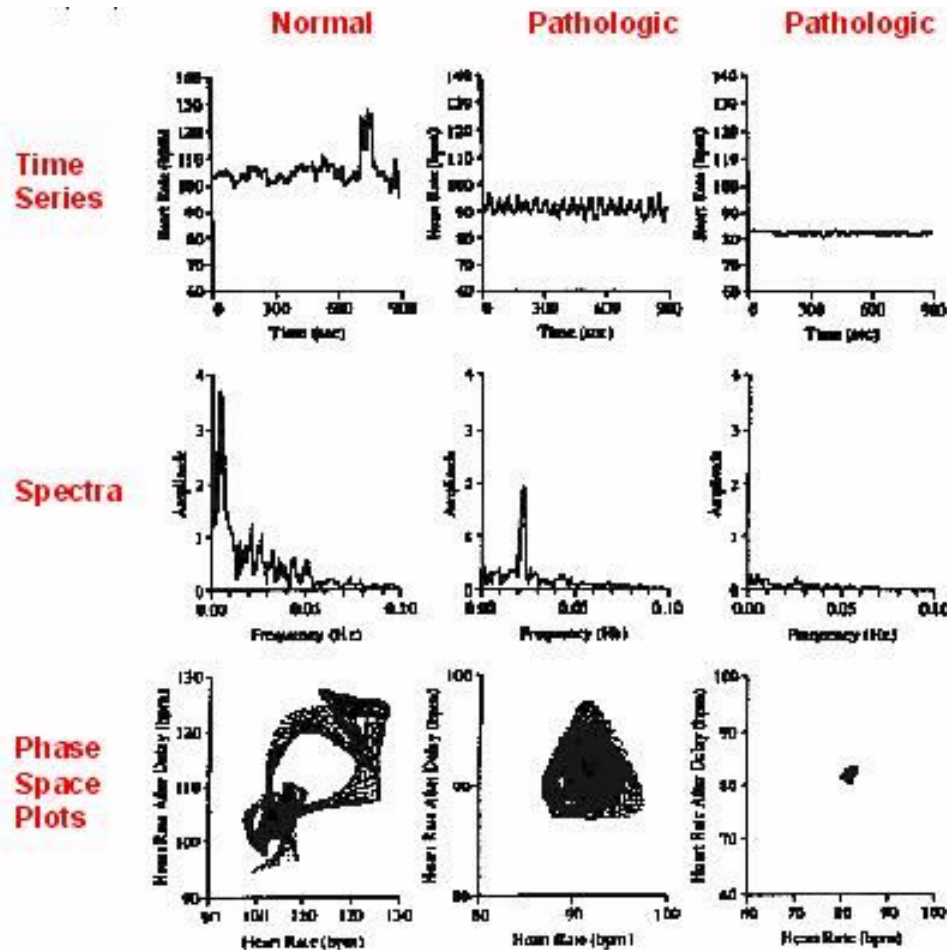


Figure 2. Next-amplitude map constructed from the chaotic state shown in Figure 1d, which was monitored at 418 nm, corresponding to the absorption maximum of compound III. Here we plot the absorbance maximum of one oscillation, $A_{\max}(n+1)$, against the absorbance maximum of the preceding oscillation, $A_{\max}(n)$.

Beispiel: Herzschlag



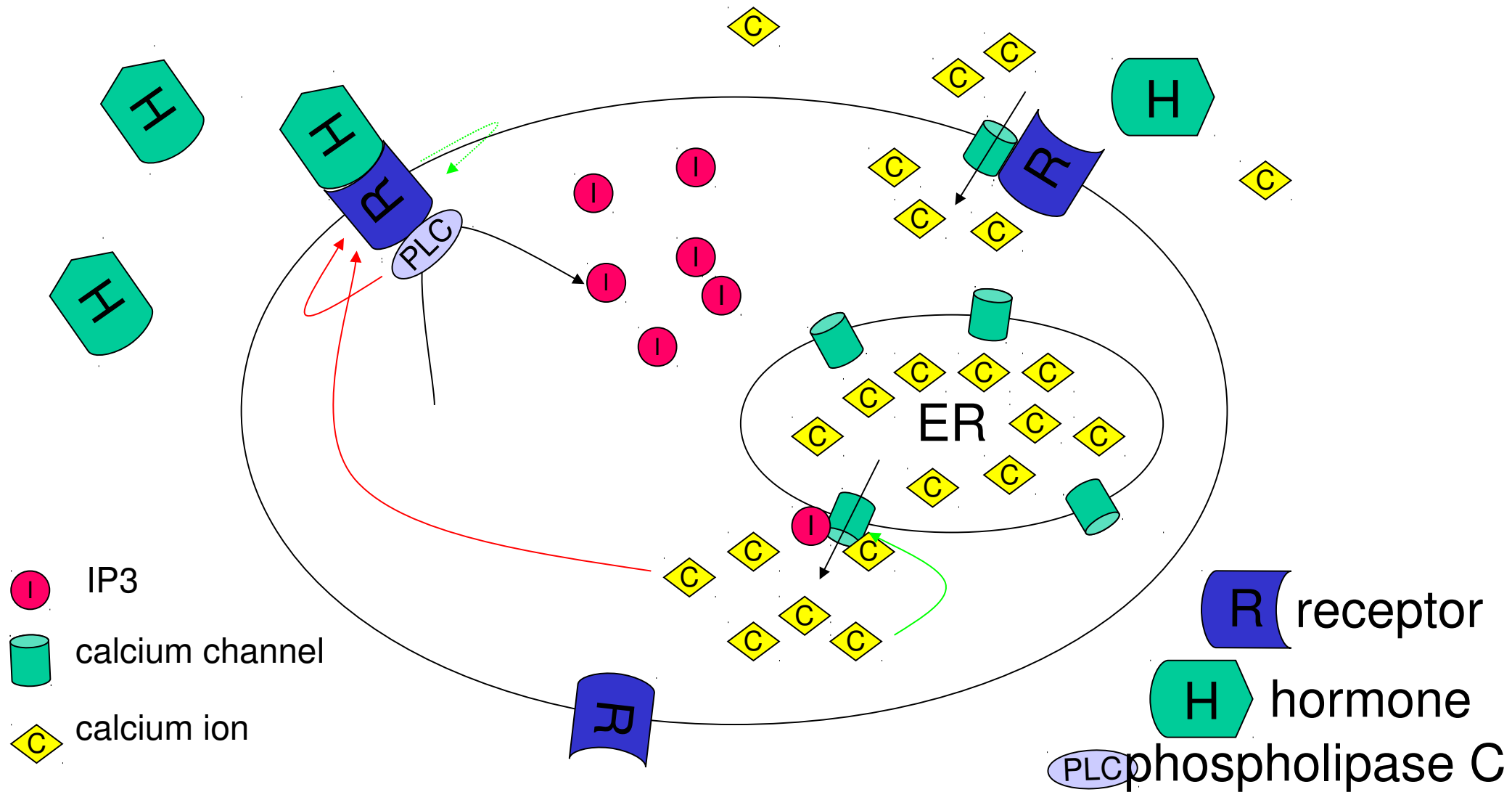
Frequenzspektrum als
weitere Analysetool

Zurück zu den Calcium- Oszillationen

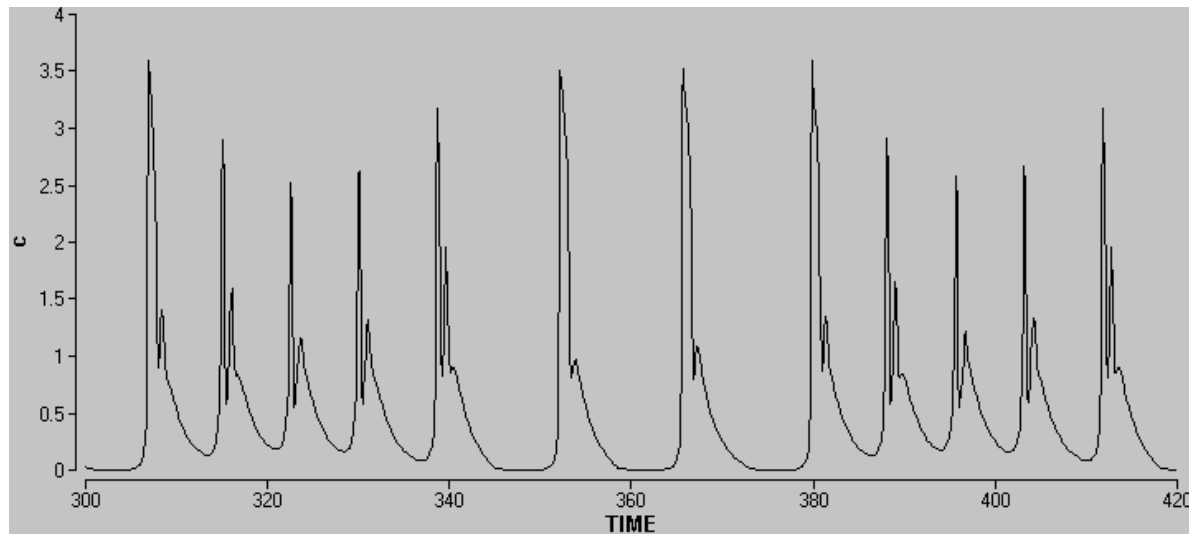
Wo sind die entscheidenden Feedbacks?

Wie wird Information übertragen?

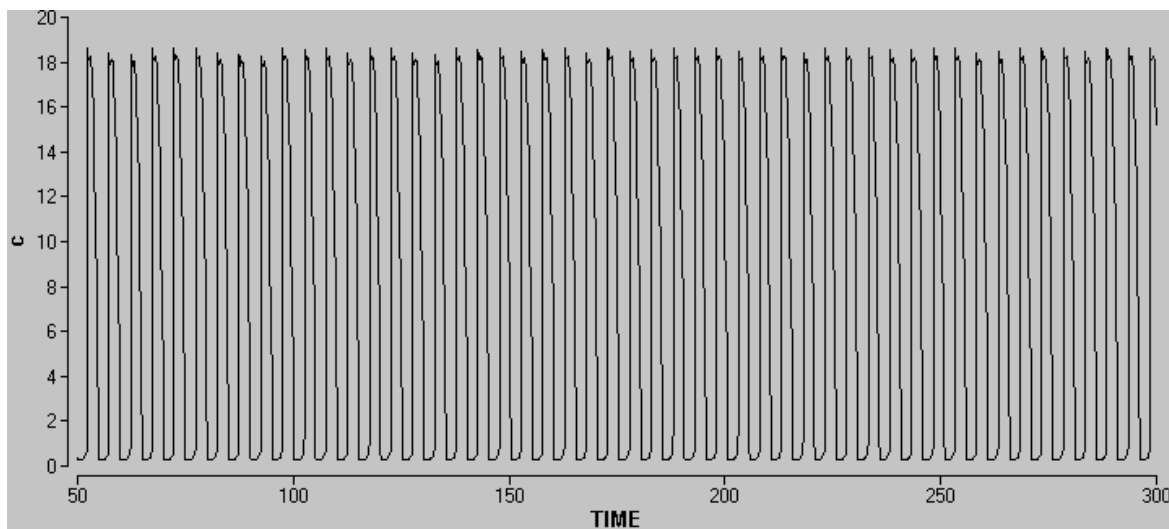
Schematische Übersicht



Simulationen eines Calciummodells



Bursting als Antwort
auf ATP



Spiking als Antwort
auf Vasopressin

Kopplung an Enzymaktivitäten

Die meisten Enzyme, die von Calcium beeinflusst werden haben mehrere Bindungsstellen und binden Calcium kooperativ

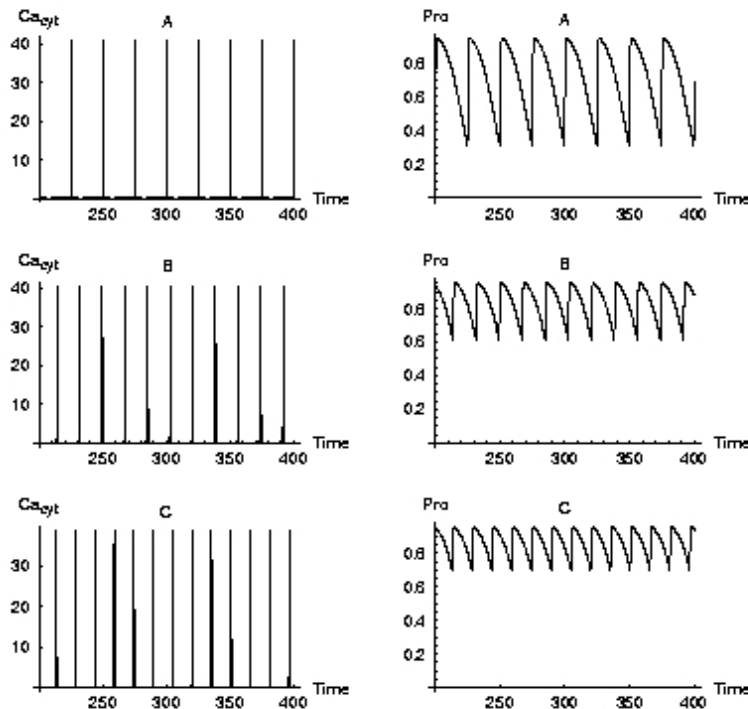
$$\frac{dEnz}{dt} = \frac{k_{act} * Ca_{cyt}^p}{K_M^p + Ca_{cyt}^p} - k_{inact} * Enz$$

Man kann die Dekodierung studieren, indem man diesen Term an ein Calciumsignal hängt!

Frequenzdekodierung

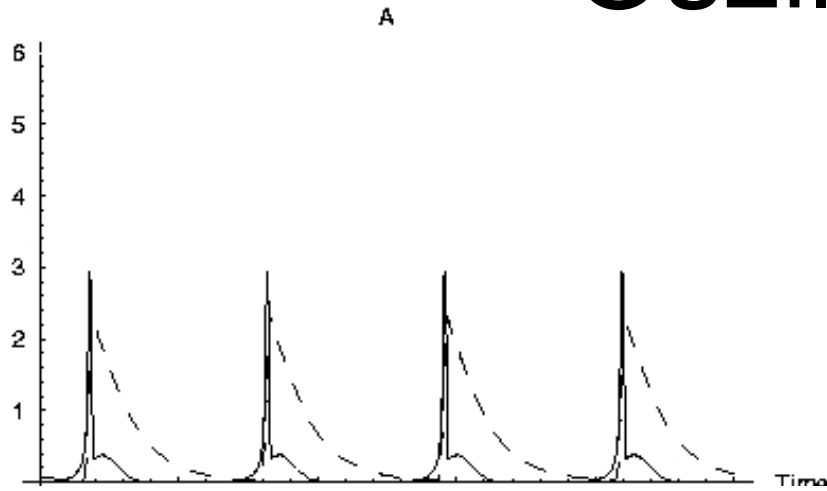
Basierend auf Experimenten (calciumsensitive, intramitochondriale Dehydrogenasen (pyruvate-DH, 2-oxoglutarate-DH, NAD⁺-isocitrate-DH)

(Robb-Gaspers et al., BBA, **1966**, 17-32,1998)

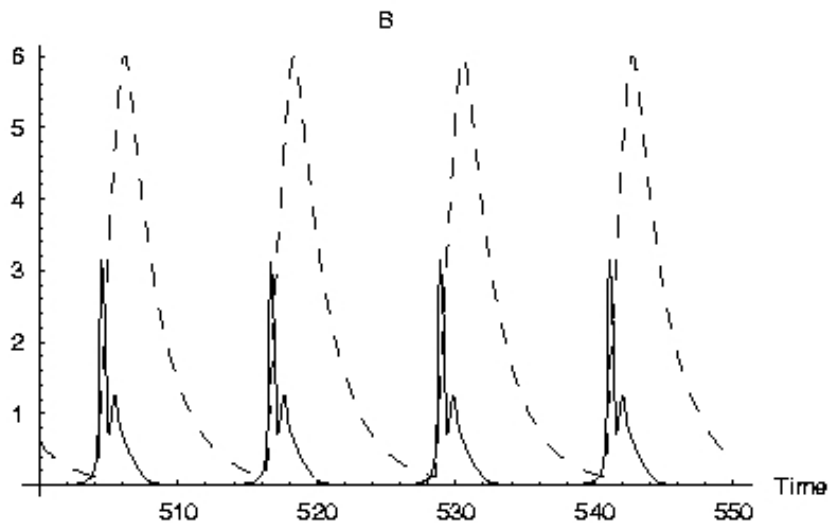


Die Durchschnittskonzentration steigt, aber die Amplitude ist relativ konstant.

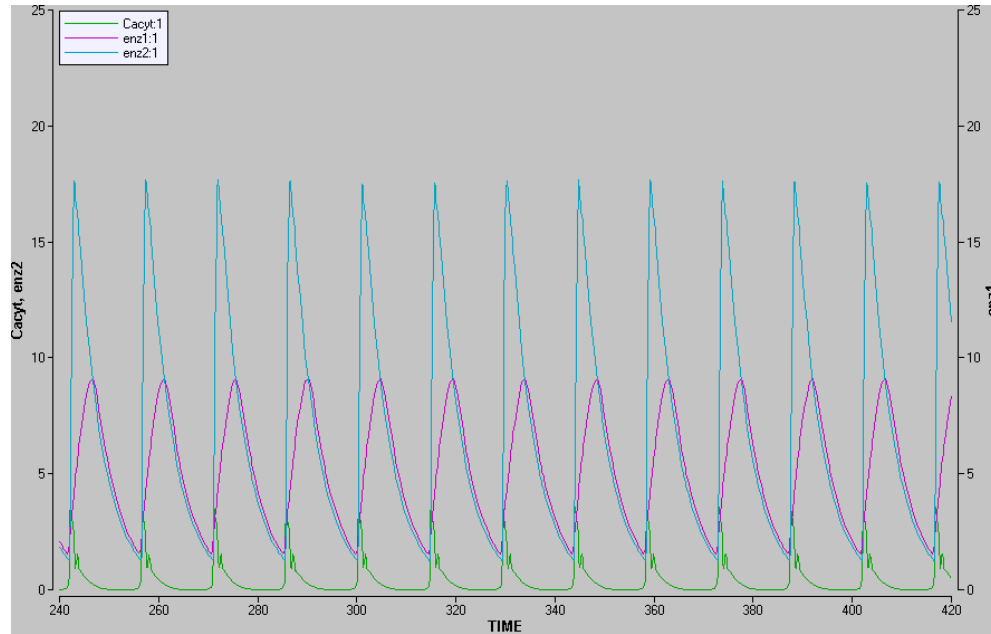
Decodieren der Form der Oszillation



Gleiche Amplitude und Frequenz, aber unterschiedliches Aktivierungsverhalten des selben Enzyms.



Decodieren von Frequenzen von Bursting



Zwei Enzyme (Aktivität magenta, bzw. blau), die sich nur in ihren Bindungsparametern unterscheiden

