

CZU 631.445.4:631.461(478)

INTERCONEXIUNILE CĂILOR METABOLICE ALE AMINOACIZILOR DIN SOL LA CONVERTIREA LOR ÎN CADRUL CICLULUI KREBS

NINA FRUNZE

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM

Abstract. On the basis of compared analysis of the data obtained by the author, as well as those cited in the sources of literature, it is presented, for the first time, a summarized characteristic of the peculiarities of Krebs Cycle during the transformation process of amino acids from typical chernozem soil. The metabolic pathways, the determination of the formed amino acids nature and their correlations, are conditioned by the structural parameters and the size of molecular weight of biomolecules. Molecular breaking of biomolecules in catabolic pathways (40,65-138,97g/mol) outstrips the anabolic ones (29,89-113,61 g/mol), determining the balance between them as being negative (-18,25-28,13%).

Key words: Amino acids, Amphibolic pathways, Anabolic pathways, Catabolic pathways, Metabolic pathways.

ÎNTRUDUCERE

Se cunoaște că transformarea AA are loc prin șase căi de descompunere a Ciclul Krebs, numit și ciclul acidului citric sau ciclul acizilor tricarboxilici (CAT): prin acidul piruvic, acetoacetyl-CoA, acizii α -cetoglutamic, succinic, fumaric și oxalilacetic (A. Leninger, 1995; P. Louisot, 1989) și prin tot atâtea căi de biosinteză – prin piruvat, oxalilacetat, α -cetoglutarat, 3-fosfoglicerat, fosfoenolpiruvat-eritroz-4-fosfat și fosforibozil-pirofosfat+ATP (G.Zarnea, 1984). Pentru aprecierea direcției proceselor metabolice, e necesară informația referitoare la bilanțul căilor catabolice și anabolice. Însă cota cantitativă a fiecăreia dintre acestea, precum și raportul lor, nu sunt identificate. Necunoscute rămân a fi, deocamdată, și deosebirile lor proporționale, inclusiv și cele dintre solurile arabile și de țelină.

Scopul acestor cercetări a fost relevarea interrelațiilor biochimice ale schimbului **anabolic și catabolic** intermediar al AA din cernoziomul tipic al Republicii Moldovei.

MATERIAL ȘI METODĂ

Obiectul nostru de studiu a fost cernoziomul tipic. Conținutul de humus în stratul 0-20 cm a alcătuit 2,50-3,11%. Reacția mediului din sol – slab alcalină, pH-ul=7,8. Greutatea specifică a solului 2,60g/cm³, porozitatea 50-60%, masa volumetrică 1,06-1,30 g/cm³. Investigațiile s-au efectuat în anii 2006-2008 în rotația a doua a unui asolament cu 7 sole de culturi furajere, la staționarul Bazei experimentale a AȘ „Biotron” în următoarele variante: 1– fondul nefertilizat (control), 2 – fondul mineral (îngrășămintele minerale calculate pentru 2,5% RAF – (radiația activă fotosintetică a plantelor), 3–fondul organic (gunoi de grajd de bovine + resturi vegetale + siderate (îngrășămintele verzi). Îngrășămintele se administră în dependență de cultură în așa fel, ca după conținutul cantitativ de NPK variantele fertilizate să fie echivalente. Probele de sol se prelevau primăvara de la adâncimea 0-20 cm, din care prin hidroliza acidă (HCl) se extrăgeau și se studiau sumar AA liberi și legați. Determinările se efectuau în repetări triple prin metoda cromatografică a schimbului de ioni la analizorul automat AAA-339. Mărimile medii ale indicilor obținuți au fost prelucrate statistic. Ca etalon în aprecierea comparativă a conținutului cantitativ și celui calitativ de AA din cernoziomul arabil tipic a servit solul alăturat de țelină (fondul natural).

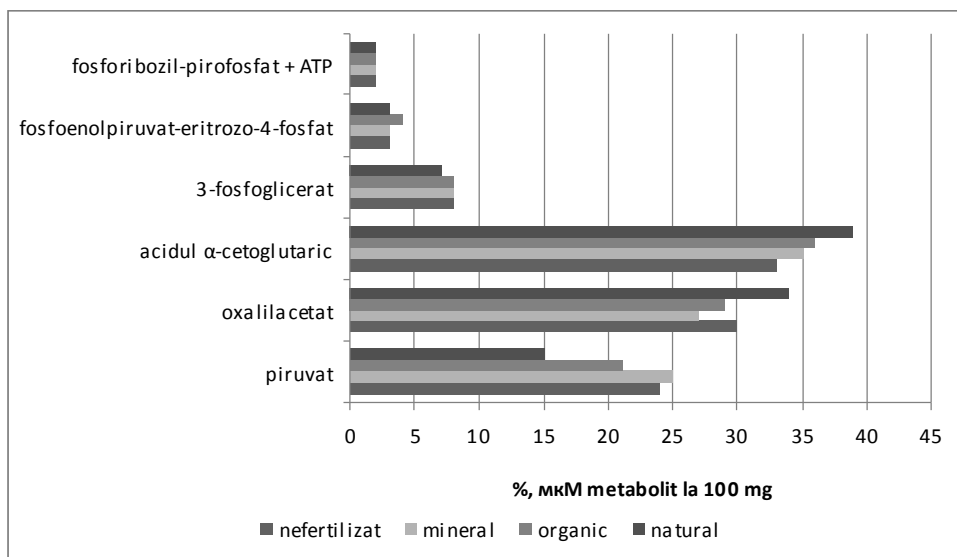
Ipoteza noastră de lucru o constituia presupunerea că CAT a aminoacizilor studiați decurge conform schemei clasice stabilite (G. Zarnea, 1984; A. Leninger, 1995).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

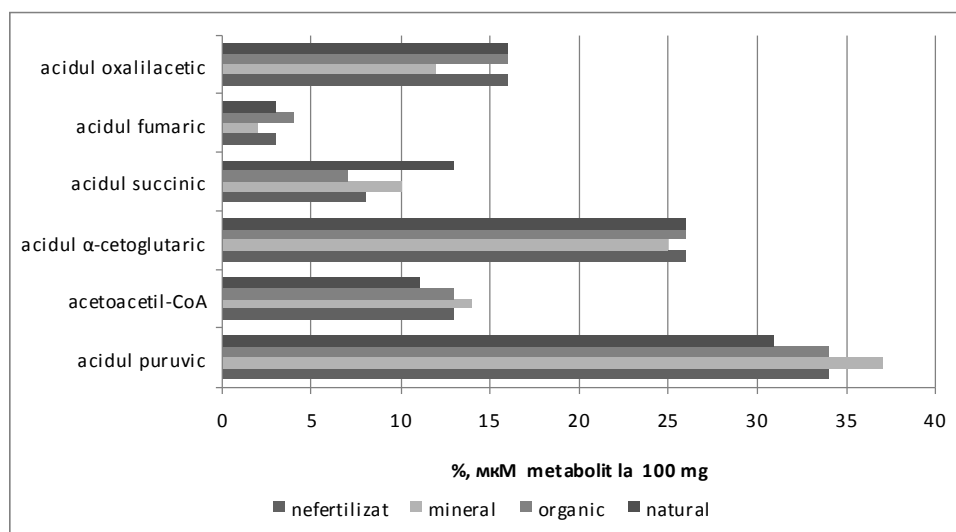
În total, în hidrolizatele de sol au fost determinați și identificați 18 AA: aspartic, treonina, serina, glutamic, prolina, glicina, alanina, valina, cisteina, metionina, izoleucina, leucina, tirozina, fenilalanina, Y-aminobutiric, lizina, histidina, arginina. Dintre AA, frecvent întâlniți, standard, nu s-a identificat triptofanul (posibil degradat la hidroliză), iar dintre AA rar întâlniți, nestandard, a fost identificat aminoacidul Y-aminobutiric, care reprezintă un produs indispensabil al metabolismului acidului glutamic. A fost determinat fondul aminoacidic al acestui sol și ponderea sa în conținutul total de azot. A fost stabilit, de asemenea, că fondul aminoacidic are o corelare strânsă cu conținutul substanței organice din sol (N.Frunze, 2011). A fost prezentată caracteristica generală a proprietăților structurale, fizice și chimice ale biomoleculilor studiate. S-a constatat că în solul cu conținut sporit de humus, AA cu grupe carboxilice predomină asupra biomoleculilor cu grupe aminice. La fel, s-a constatat că greutatea specifică a AA cu structuri aromatice și heterociclice e mai înaltă în comparație cu solurile mai sărace în humus. Majoritatea dintre ele au valori minime și medii ale indicilor fizici. Individualitatea chimică a acestor biomolecule e condiționată de prezența R-grupelor ionizate (28,28-37,5%) și a capacității lor de a interacționa cu moleculele de apă (59,7-66,9%) din mediul ambiant, însă, cu toate acestea, ele nicidecum nu sunt independente una față de alta (N. Frunze, 2011).

Studierea căilor metabolice de transformare a AA a relevat raporturi diferite ale căilor catabolice și anabolice. Includerea scheletelor carbonice de AA în CAT al sistemelor celulare din cernoziomul tipic avea următoarele cote masico-molare: prin acidul piruvic 14-15%, acetoacetyl-CoA 46-54%, acidul α -cetoglutamic 17-20%, succinic 4-8%, fumaric 1-2% și oxalilacetic 7-11%. Însușirea precursorilor prin căile de biosinteză a AA urma conform raporturilor proporționale: prin piruvat cu ponderea de 8-13%, oxalilacetat 22-27%, α -cetoglutarat 35-41%, 3-fosfoglicerat 7-10%, fosfoenolpiruvat- eritroz-4-fosfat 6-9% și prin fosforibozil-pirofosfat + ATP – 10-12% (fig. 1). În afară de aceasta, o atare analiză a

arătat că și căile metabolice, care determină natura AA formați și raporturile lor, sunt condiționate de parametrii structurali și de mărimea masei moleculare a biomoleculelor.



A



B

Figura 1. Căile metabolice de includere a aminoacizilor în CAT: A – precursorii biosintezei, B – scheletelor carbonice.

La fel, s-a constatat că fracțiile molare de masă ale biomoleculelor din diferite căi metabolice de inserare în CAT le depășesc pe cele ale anabolismului AA, determinând bilanțul dintre ele ca unul negativ. La studierea naturii amfibolice a căilor CAT, am pornit de la faptul că masele moleculare ale reprezentanților anabolismului și catabolismului sunt diferite (tab. 1). Plus la aceasta, suma maselor a 1 mol de fiecare participant al anabolismului (1860,53 g/mol) o depășește pe cea a catabolismului (1451,51 g/mol) cu 21,98%. În acest sens prezintă interes relevarea aportului cantitativ al masei molare a produșilor lor intermediari ca rezultat al alcătuirii unui astfel de echilibru între ele. S-a dovedit că parametrii structurali ai biomoleculelor etapei amfibolice condiționează raportul dintre ele. În acest caz s-a relevat că cea mai mare scindare avea loc pe calea acetoacetil-CoA (46-54%), cu cea mai mare pondere în solul variantelor arabile. Următoarea, după ponderea masică, a fost calea α -cetoglutaratului (17-20%), apoi cea a acidului piruic (14-15%) și oxalilacetic (7-11%). O participare mai mică în catabolismul AA a fost realizată pe calea acizilor fumaric (1-2%) și succinic (4-8%). Raporturile proporționale dintre produșii

finali de includere a catenelor carbonice în CAT aveau următorul aspect, ce reflectă, în opinia noastră, trăsăturile distinctive ale activității vitale a microorganismelor din fondurile studiate:

Fondul nefertilizat (control) – 14:52:18:05:01:10

Fondul mineral – 15:54:17:05:02:07

Fondul organic – 14:52:18:04:02:10

Fondul natural (țelina) – 14:46:20:08:01:11

Compararea căilor de biosinteză, conform aportului masic al precursorilor posibili, a relevat, de asemenea, trăsături distinctive în comparație cu analiza precedentă potrivit ponderii molare. Lideri în desfășurarea biosintezei erau, la fel, căile β -cetoglutaratului (35-41%), oxalilacetatului (22-27%) și a piruvatului (8-13%), deși aportul lor cantitativ diferă. În acest caz, în mod esențial s-au evidențiat următoarele trei căi: 3-fosfogliceratul (7-10%), fosfoenolpiruvat-eritroz-4-fosfatul (6-9%) și fosforibozil-pirofosfatul + ATP (10-12%), raporturile proporționale ale acestora caracterizându-se în modul următor:

Fondul nefertilizat (control) – 13:24:35:09:07:12

Fondul mineral – 13:22:38:10:06:11

Fondul organic – 11:23:38:09:09:10

Fondul natural (țelina) – 08:27:41:07:06:11

Compararea masei totale a scheletelor carbonice (39,61-135,79 g/mol) a diferitelor căi de includere în CAT a relevat superioritatea lor față de cele ale precursorilor (29,89-113,61 g/mol) diferitelor căi de biosinteză a AA, determinând echilibrul dintre ele cu valori negative (-9,72-22,18%). Dar cel mai interesant lucru s-a depistat la compararea masei totale a acestor produși intermediari pe variante. În acest caz a avut loc o diferențiere mai pronunțată a variantelor, ce dezvăluie utilizarea de acoperire a AA asupra formării lor. Valorile maxime ale bilanțului (-9,72 și -12,76%) au fost identificate în solul fondului nefertilizat și celui mineral, iar cele minime (-20,17 și -22,18%) – în solul fondului organic și celui natural, corespunzător.

Tabelul 1

Masa metaboliților din diferite căi ale ciclului acizilor tricarboxilici, g/mol

Căile metabolice	Masa moleculară	Fondurile experimentale			
		nefertilizat	mineral	organic	natural
Procesele anabolice					
$C_3H_3O_3$ Piruvat	87,27	3,74	4,75	6,75	8,77
$C_4H_4O_5$ Oxalilacetat	132,36	7,21	7,76	14,08	29,99
$C_5H_6O_7$ α -cetoglutarat	178,53	10,59	13,68	23,01	46,99
$C_3H_5O_7P$ 3-fosfoglicerat	184,40	2,77	3,49	5,26	8,32
$C_7H_9O_{13}P_2$ Fosfoenolpiruvat-Eritroz-4-fosfat	363,73	2,11	2,18	5,16	7,20
$C_5H_{12}O_{15}P_3 + C_{10}H_{16}O_{13}N_5P_3$ Fosforibozil-pirofosfat + ATP	914,24	3,47	4,11	5,76	12,34
Procesele catabolice					
$C_3H_4O_3$ Acidul piruvic	88,35	5,62	7,31	11,36	18,54
$C_{25}H_{40}O_{18}N_7P_3S$ Acetoacetyl-CoA	854,47	20,51	26,32	41,95	62,08
$C_5H_6O_5$ Acidul α -cetoglutaric	146,53	7,06	8,25	14,23	26,71
$C_4H_6O_4$ Acidul succinic	118,52	1,92	2,63	2,99	10,62
$C_4H_4O_4$ Acidul fumaric	112,36	0,65	0,67	1,59	2,22
$C_4H_3O_5$ Acidul oxalilacetic	131,28	3,85	3,54	8,07	14,90

În rezultat apare întrebarea - catabolismul "reglează" inițierea biosintezei sau invers? Posibil că biosinteza și toate celelalte activități, care necesită energie, forțează începutul catabolismului, producător de ATP, în dependență de concentrația produsului final anabolic. Doar viteza utilizării energiei legăturilor fosfatice ale ATP-ului determină viteza cu care ATP se restabilește din ADP din contul energiei mediului ambiant. De aceea ATP se regenerează numai în cantitatea necesară nevoilor imediate. Acesta este încă un aspect al principiului economiei maxime a logicii moleculare a celulelor vii (A. Leninger, 1995). Prin urmare, predominarea descompunerii unor substanțe nutritive și biosinteza altora, mai întâi de toate, este determinată de starea fiziologică și de necesitățile solului în metaboliți și energie. Prin acești factori, într-o mare măsură, poate fi explicată existența permanentă a stării de dinamică a constituenților chimici ai săi ca un tot întreg. Factorii vizați sunt legați între ei și interacționează în corespundere cu regulile logicii moleculare ale materiei vii.

CONCLUZII

1. Privite în ansamblu, interconexiunile de convertire a AA pot fi caracterizate printr-o remarcabilă diversitate și individualitate a nutrienților consumați pe diferite căi metabolice. Cele din urmă, la rândul lor, determină natura AA formați și raportul dintre ei și sunt condiționate de parametrii structurali și de mărimea masei moleculare a acestora.

2. O altă particularitate a acestora este "plasticitatea" metabolismului, decurgând din capacitatea sistemelor celulare de a se adapta la tipul și la cantitatea de nutrienți diferiți, prezenți în mediu. Astfel, includerea scheletelor carbonice de AA în CAT al sistemelor celulare din cernoziomul tipic avea următoarele cote masico-molare: prin acidul piruvic 14-15%, acetoacetyl-CoA 46-54%, acidul á-cetoglutaric 17-20%, succinic 4-8%, fumaric 1-2% și oxalilacetic 7-11%.

3. Diversitatea produșilor metabolici ar fi o altă particularitate, ce constă în coexistența diferitelor căi metabolice, ce se pot substitui una cu alta în funcție de condițiile fiziologice și/sau de mediu. Încorporarea precursorilor prin căile de biosinteză a AA urma conform raporturilor proporționale: prin piruvat cu ponderea de 8-13%, oxalilacetat 22-27%, á-cetoglutarat 35-41%, 3-fosfoglicerat 7-10%, fosfoenolpiruvat-eritroz-4-fosfat 6-9% și prin fosforibozil-pirofosfat + ATP – 10-12%.

4. Cea mai distinctă dintre ele, însă, este intensitatea metabolismului aminoacidic, conform căruia ponderea masico-molară a biomoleculilor din diferite căi catabolice de inserare în CAT (40,65-138,97 g/mol) o depășește pe cea a anabolismului aminoacidic (29,89-113,61 g/mol), determinând echilibrul dintre ele ca fiind unul negativ (-18,25-28,13%).

BIBLIOGRAFIE

1. Frunze, N.I. Amino acid pool a typical chernozem of Moldova//Eurasian Soil Science, 2011, vol.44, nr.10, p. 1139-1143.
2. Frunze, N.I. Strukturnye osobennosti aminokislotnyh biomolekul černozeoma tipičnogo Moldovy i ih fiziko-himičeskie svojstva//Agrohimiâ, 2011, 11, p.22-27.
3. Leninger, A.L. *Biochimie*. în 4 volume, Editura Tehnică, București, 1995, vol.2, 475 p.
4. Louisot, Pierre. *Biochimie generale et medicale*. Simer S.A., Paris, 1989, 488 p.
5. Zarnea, G. *Tratat de microbiologie generală*. Editura Academiei RS România, București, 1984, 474 p.

Data prezentării – **19.09.2011**