

## INFLUENŢA CONCENTRAŢIEI UNOR GLUCIDE ASUPRA TRANSPORTULUI METIONINEI ÎN DIFERITE CELULE

Maria Făgărăşan, dr. I. Hirschfeld

Abilitatea de a transporta aminoacizi împotriva gradientului de concentraţie — proprietate observată de către van Slyke și Meyer încă din 1913 (cit. 1.) — este răspîndită la o mare varietate de celule: saci intestinali, creier, celule ascitice Ehrlich, secţiuni renale, eritrocite etc. (2—4).

Fenomenul de transport activ prezintă două elemente constitutive: un transportor de membrană, capabil să se combine specific și reversibil cu substanţa de transportat și un transductor de energie metabolică, rezultată prin scindarea ATP grație activității enzimatice a ATP-azei ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ ),  $\text{Mg}^{2+}$  — dependentă, localizată în membrană (5, 6).

Între transportul activ al aminoacizilor și cel al glucidelor s-a evidențiat o interrelație specifică în diferite tipuri celulare. Acțiunea glucidelor asupra transportului aminoacizilor este explicată prin mai multe mecanisme:

1. glucidele transportate activ inhibă transportul aminoacizilor prin sustragerea unei cantități de energie necesară acestui proces (7);

2. glucoza și celelalte glucide metabolizabile sporesc sursa energetică a celulei (3);

3. glucidele pot avea o acțiune directă, de natură alosterică asupra transportorului de membrană (8, 9).

În scopul aprofundării studiului influenței glucidelor asupra transportului aminoacizilor, în lucrarea de față ne-am propus să urmărim efectul concentrației unor glucide asupra influxului metioninei în celule izolate.

### Material și metodă

Celulele (hematii umane, proaspete, citratate și celule ascitice Ehrlich de 12 zile) au fost spălate și suspendate în tampon Krebs-Ringer (pH:7,4) în concentrație de 4%, concentrație ce s-a dovedit a fi optimă pentru aceste cercetări (10).

Din glucoză, galactoză, fructoză și xiloză s-au pregătit soluții de 100, 50, 25 și 10 m M concentrație finală cu care s-au preîncărcat celulele prin incubare timp de 30 minute la 37° C, excesul îndepărtându-se prin centrifugare. Pentru urmărirea influxului aminoacidului s-a folosit metionină marcată cu  $^{75}\text{Se}$ -selenometionină (Amersham, Anglia) a cărei activitate gama minute s-a măsurat într-un cristal de scintilație cu puțin racordat la un numărător automat de particule de tip Numedit. Aminoacidul marcat s-a adăugat celulelor resuspendate în tampon la 37° C prelevându-se probe din timp în timp (1, 4, 7 și 15 minute). Procesul s-a oprit prin adăugarea tamponului răcit la 4° C. Supernatantul s-a îndepărtat prin centrifugare rapidă, după care s-a măsurat radioactivitatea intracelulară (11).

## Rezultate și discuții

Atît eritrocitele cit și celulele ascitice Ehrlich, preîncărcate cu soluțiile de diferite concentrații ale glucidelor luate în studiu, au manifestat cu puține excepții, o creștere a capacității de acumulare a metioninei.

Glucosa transferată în prealabil în celule ascitice Ehrlich produce o stimulare a influxului metioninei la toate concentrațiile folosite (tab. nr. 1).

Tabelul nr. 1

Efectul glucozei intracelulare (în diferite concentrații) asupra influxului metioninei în celule ascitice Ehrlich, la 37° C

Timp de incub.	1'		4'		7'	
Mediul de preincub.	Radioact. intracel.	Diferența față de martor	Radioact. intracel.	Diferența față de martor	Radioact. intracel.	Diferența față de martor
Martor	6.000	—	12.815	—	15.180	—
Gluc. 100 mM	8.720	+2.720***	14.380	+1.565***	15.000	— 180
Gluc. 50 mM	8.520	+2.520***	13.250	+ 435**	15.675	+ 495***
Gluc. 25 mM	9.530	+3.530***	13.850	+1.035***	15.615	+ 435**
Gluc. 10 mM	9.850	+3.850***	15.990	+3.175***	17.615	+2.435***

\* DL<sub>0.05</sub> = 328

\*\* DL<sub>0.01</sub> = 440

\*\*\* DL<sub>0.001</sub> = 583

A acțiune stimulatorie mai accentuată s-a observat în primul minut al experienței, menținându-se în timp, pentru cazurile în care concentrația glucozei a fost mai redusă (25 și 10 m M), scăzînd sau dispărînd total pentru concentrații mai ridicate (50 și 100 m M).

Efectul stimulator al glucozei trecute în prealabil în eritrocite s-a manifestat mai tardiv, devenind semnificativ doar în minutul 4 pentru concentrații medii (25 și 50 m M) și în minutul 7 pentru celelalte con-

Tabelul nr. 2

Efectul glucozei intracelulare (în diferite concentrații) asupra influxului metioninei în eritrocite, la 37° C

Timp de incub.	1'		4'		7'		15'	
Mediul de preincub.	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M
Martor	4.195	—	7.225	—	8.090	—	9.145	—
Glucoză 100 mM	4.180	— 15	7.140	—85	8.592	502***	10.175	1.030***
Glucoză 50 mM	4.220	25	7.420	195*	8.655	565***	10.060	915***
Glucoză 25 mM	4.345	150*	7.710	485***	8.400	310***	10.105	960***
Glucoză 10 mM	3.710	—485***	7.330	105	8.700	610***	9.525	380***

\* DL<sub>0.05</sub> = 149

\*\* DL<sub>0.01</sub> = 199

\*\*\* DL<sub>0.001</sub> = 262

concentrații (100 și 10 m M), efect care apoi s-a menținut ridicat și în minutul 15, în primul minut al experienței neputându-se vorbi despre o acțiune specifică (tab. nr. 2).

În hematii, dintre glucidele testate, galactoza s-a dovedit a fi cea mai eficientă în ce privește stimularea transportului metioninei (tab. nr. 3). Galactoza stimulează influxul metioninei în eritrocite; în primele minute ale experienței; acțiunea s-a menținut în timp numai în cazurile în care concentrația a fost de 100 și 50 m M, celelalte soluții (de 25 și 10 m M) devenind inhibitori în procesul de transport.

Tabelul nr. 3

Efectul galactozei intracelulare (în diferite concentrații) asupra influxului metioninei în eritrocite la 37° C

Mediul de preincub.	1'		4'		7'		15'	
	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M	Radioact. intracel.	Diferența față de M
Martor	3.600	—	7.515	—	8705	—	10.240	—
Galactoza 100 mM	4.915	1.315***	8.385	870***	10.340	1.635***	10.400	160
Galactoza 50 mM	4.630	1.030***	8.140	625***	10.360	1.655***	12.175	1.935***
Galactoza 25 mM	5.160	1.560***	7.200	—315***	8.400	—305***	9.545	—705***
Galactoza 10 mM	3.795	195*	7.375	—140	8.845	140	9.710	530***

\* DL<sub>0,05</sub> = 176

\*\* DL<sub>0,01</sub> = 235

\*\*\* DL<sub>0,001</sub> = 309

Valorile din tabele reprezintă media a cîte patru probe paralele. Prelucrarea statistică a fost efectuată după Slușanschi (12). DL = diferența limită.

Cu toate că și în cazul xilozei și al fructozei s-a observat o tendință de stimulare a procesului de transport acțiunea acestor substanțe n-a fost semnificativă.

Eritrocitele umane sînt angajate în puține direcții metabolice. Producția energetică în aceste celule este dependentă de calea Embden-Meyerhof, principala sursă generatoare de ATP. Aproximativ 15—20% din energia eritrocitului este cheltuită pentru transport, găsindu-se remarcabile schimbări în viteza glicolizei legate de caracteristicile permeabilității membranei eritrocitare (13), interacțiune localizată la nivelul acesteia, unde este localizat și sistemul transportor.

Desigur că acțiunea stimuloare manifestată de glucide se poate motiva prin creșterea sursei de energie metabolică necesară transportului metioninei în eritrocite sau în celule ascitice Ehrlich. Explicația aceasta însă nu poate fi extinsă la toate glucidele și pentru toate concentrațiile luate în lucru, deoarece, după cum reiese din tabelul 2 și 3 galactoza, cu toate că se metabolizează mult mai lent decît glucoza, a avut un efect stimulator mai accentuat decît aceasta. De asemenea, în unele cazuri, un glucid, din stimulator al procesului de transport s-a transformat în inhibitor al aceluiași proces, sau și-a pierdut efectul inițial. Pentru explicarea

acestor efecte trebuie să luăm în considerare rezultatele cercetărilor lui Alvarado (8) și să admitem faptul că hexozele exercită un efect alosteric asupra mediatorului aminoacidului și în aceste tipuri celulare.

Nu s-a evidențiat o dependență specifică între acțiunea glucidului și concentrația sa, de unde presupunem că nu atât concentrația cât natura glucidului determină acțiunea specifică manifestată de glucide asupra transportului metioninei prin membrana eritocitară.

Procesul de transport, pe cât de complex, pe atât de important pentru multe sfere ale medicinei moderne, rămîne în continuare în atenția cercetărilor noastre.

*Sosit la redacție: 17 ianuarie 1974.*

### Bibliografie

1. Schoffeniels E.: Comparative Biochemistry. Ed. Florin, Acad. Press, New York, 1965, 137;
2. Fodor P.: Biologia moleculară și medicina modernă. Ed. medicală, București, 1969;
3. Abadon P. N., Scholefield P. G.: Can. J. Biochem. Phys. (1962), 40, 1, 603;
4. Winter C. G., Christensen H. N.: J. Biol. Chem. (1964), 240, 9, 3594;
5. Hokin L. E., Hokin M. R.: Federation Proc. (1963), 22, 8;
6. Clayman S., Scholefield P. G.: Biochim. Biophys. Acta (1969), 173, 277;
7. Gaspary W. F., Crane R. K.: Biochim. Biophys. Acta (1970), 203, 308;
8. Alvarado F.: Science (1966), 151, 1010;
9. Hirschfeld I., Făgărășan M.: Experientia (1969), 25, 365;
10. Hirschfeld I., László A., Făgărășan M.: Rev. Med. (1969), 15, 4, 466;
11. Johnstone R. M., Scholefield P. G.: Biochim. Biophys. Acta (1965), 94, 130;
12. Slusanschi H.: St. cerc. Biochimie (1965), 8, 3, 251;
13. Tsuboi K., Fukunaga K.: Biochim. Biophys. Acta (1970), 196, 215.