

Estabilitat estructural d'un cicle de substrat

Albert SORRIBAS* i Ramón BARTRONS**

Unitat Docent de Biostatística (*), Departament de Bioquímica (**)
Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona
C/Casanova nº143, Barcelona (36)

Abstract

Structural stability of a substrate cycle

The dynamic behaviour of an open substrate cycle composed of two enzymes has been investigated in the transition phase between two steady states as a result of a changes in a parameter of the system. If the input flux is not dependent on S_1 then changes in E_1 or E_2 do not affect the final steady state concentration of S_2 . Changes in input flux results in changes in both concentrations. In this conditions, reaction $S_2 \rightarrow S_1$ appears as a damper mechanism in front of variations in the kinetic parameters of the forward reaction.

Cicle de substrat

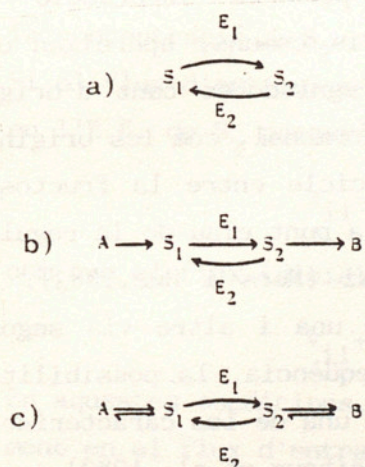


fig.1 Tipus de cicles de substrat.
a) Cicle tancat, b) Cicle obert unidireccional, c) Cicle obert bidireccional. S_1 i S_2 són els metabòlits dels cicle. E_1 i E_2 són els enzims. A i B representen les parts de les vies metabòliques fora del cicle.

Hom anomena cicle de substrat al conjunt de dues reaccions oposades allunyades de l'equilibri. El funcionament conjunt d'ambdues reaccions resulta en el reciclatge dels metabòlits implicats amb despesa d'energia. Des d'un punt de vista conceptual, podem esquematitzar-ne tres tipus fonamentals (fig.1) segons que siguin tancats (fig.1a) o oberts (fig.1b,c). Els primers es troben, fonamentalment, en els processos de modificació covalent dels enzims, mentre els altres dos apareixen en la interacció de dues vies metabòliques oposades amb intermediaris comuns (fig.1c), com ara glucolisi i gluconeogènesi, o bé per l'existència d'una reacció que s'oposa a la reacció $S_1 \rightarrow S_2$ sense

formar part de cap via metabòlica (fig.1b). Un cicle obert d'aquestes característiques apareix entre l'AMP i l'adenosina com a mecanisme per a controlar la concentració d'adenosina (Arch i Newsholme, 1978). Darrerament, s'ha trobat evidència del seu funcionament en hepatòcits aïllats (Bontemps et al, 1983).

Quan el cicle es trobi en estat estacionari (E.E.) s'acomplirà:

$$v_{i1} = k_2 [S_2]_{\text{E.E.}}$$

per tant la concentració de S_2 a l'E.E. ($[S_2]_{\text{E.E.}}$) serà:

$$[S_2]_{\text{E.E.}} = v_{i1} / k_2 \quad (2)$$

La concentració a l'E.E. de S_1 ($[S_1]_{\text{E.E.}}$) serà funció dels paràmetres cinètics de E_1 i E_2 , del flux d'entrada v_{i1} i de la constant de velocitat de metabolització de S_2 .

Mitjançant l'equació (2) podem determinar la concentració de S_2 en l'estat estacionari en funció dels paràmetres v_{i1} i k_2 . És interessant fer notar que aquesta concentració, si el flux d'entrada v_{i1} és independent de S_1 , tant sols és funció d'aquests dos paràmetres v_{i1} i k_2 , per tant, no serà modificada per canvis en els paràmetres cinètics dels enzims del cicle. Els canvis en aquests paràmetres, sense modificació del flux d'entrada, determinaran que el cicle assoleixi un nou estat estacionari en el que la concentració de S_2 no s'ha variat.

Si el flux d'entrada s'incrementa de v_{i1} fins a $v_{i1} + \Delta v_{i1}$, la concentració en l'E.E. de S_2 passarà al valor $S_2 + \Delta S_2$ acomplint-se:

$$v_{i1} + \Delta v_{i1} = k_2 (S_2 + \Delta S_2) = k_2 S_2 + k_2 \Delta S_2$$

com que el flux inicial de sortida era $F = k_2 S_2$ tindrem:

$$v_{i1} + \Delta v_{i1} = F + \Delta F \rightarrow \Delta v_{i1} = \Delta F$$

En aquestes condicions, independència del flux v_{i1} respecte a S_1 , un increment en el flux d'entrada incrementa en la mateixa quantitat absoluta el flux de sortida.

Els canvis en k_2 afecten la concentració estacionària de S_2 de manera que, en el cas que v_{i1} no variï simultàneament, el flux de sortida no és modificat.

En l'E.E. s'acompleix: $v_1 - v_2 = k_2 [S_2]_{\text{E.E.}} = v_{i1}$, de manera que el flux d'entrada i el de sortida són iguals i del mateix valor que la diferència $v_1 - v_2$.

Donat que el sistema considerat és unidireccional s'ha d'acomplir que $v_1 \gg v_2$, la qual cosa limita els possibles canvis en la dinàmica del cicle.

Estabilitat

El canvi en els paràmetres cinètics de E_1 i E_2 no modifica la concentració estacionària de S_2 però pot afectar l'estabilitat d'aquest estadi. Per estabilitat s'entén la capacitat del sistema per a recuperar-se de petites fluctuacions en les variables d'estat (les concentracions de S_1 i S_2 en aquest cas) al voltant dels seus valors en l'E.E. Un sistema és inestable si, com a resposta a petites variacions en les concentracions no es recupera. Un sistema és neutralment estable quan, en resposta a aquestes fluctuacions es manté prop de l'E.E. sense arribar-hi (cas de comportament oscil.latori). L'estabilitat d'un sistema com el de la fig.2 depén de la forma de les funcions g_1 i g_2 (eq.2) que defineixen la seva dinàmica. Donat que g_1 i g_2 són funcions no-lineals de les variables (S_1 i S_2), l'estudi de l'estabilitat de l'E.E. ha de fer-se per linearització del sistema (2) en les condicions de l'E.E. (Nicolis i Prigogine, 1977). D'acord amb això, el sistema (2) es transforma en:

$$\frac{dx_i}{dt} = \left(\frac{dg_i}{dS_1} \right)_{\sigma} x_1 + \left(\frac{dg_i}{dS_2} \right)_{\sigma} x_2 \quad i=1,2$$

on x_i representa la pertorbació de la concentració $[S_i]_{\sigma}$ al voltant d'E.E. i dg_i/dS_j , la derivada de la funció g_i respecte de S_j .

L'estabilitat del sistema depén del valor de la traça (T) i del determinant (Δ) de la matriu jacobiana:

$$J = \begin{pmatrix} dg_1/dS_1 & dg_1/dS_2 \\ dg_2/dS_1 & dg_2/dS_2 \end{pmatrix}_{\sigma}$$

de manera que si $T < 0$ el sistema és estable, si $T=0$ és neutralment estable i si $T > 0$ és inestable. Juntament amb el valor de T, el valor de Δ indicarà la dinàmica del sistema prop de l'E.E.

D'acord amb les equacions (2), el valor de T i Δ serà (Ricard i Soulie, 1982):

$$T = \left(\frac{dv_2}{dS_1} \right)_{\sigma} - \left(\frac{dv_1}{dS_1} \right)_{\sigma} + \left(\frac{dv_1}{dS_2} \right)_{\sigma} - \left(\frac{dv_2}{dS_2} \right)_{\sigma} - k_2$$

$$\Delta = k_2 \left[\left(\frac{dv_1}{dS_1} \right)_{\sigma} - \left(\frac{dv_2}{dS_1} \right)_{\sigma} \right]$$

El sistema serà estable si: $\left(\frac{dv_2}{dS_1} \right)_{\sigma} + \left(\frac{dv_1}{dS_2} \right)_{\sigma} < \left(\frac{dv_1}{dS_1} \right)_{\sigma} + \left(\frac{dv_2}{dS_2} \right)_{\sigma} + k_2$ mentre que si ambdós termes de la desigualtat anterior són iguals, el que faria que $T=0$, el sistema serà neutralment estable. Altra manera serà inestable. Si quan $T=0$ s'acompleix $\Delta > 0$ el sistema reaccionarà oscil.latòriament a les pertorbacions.

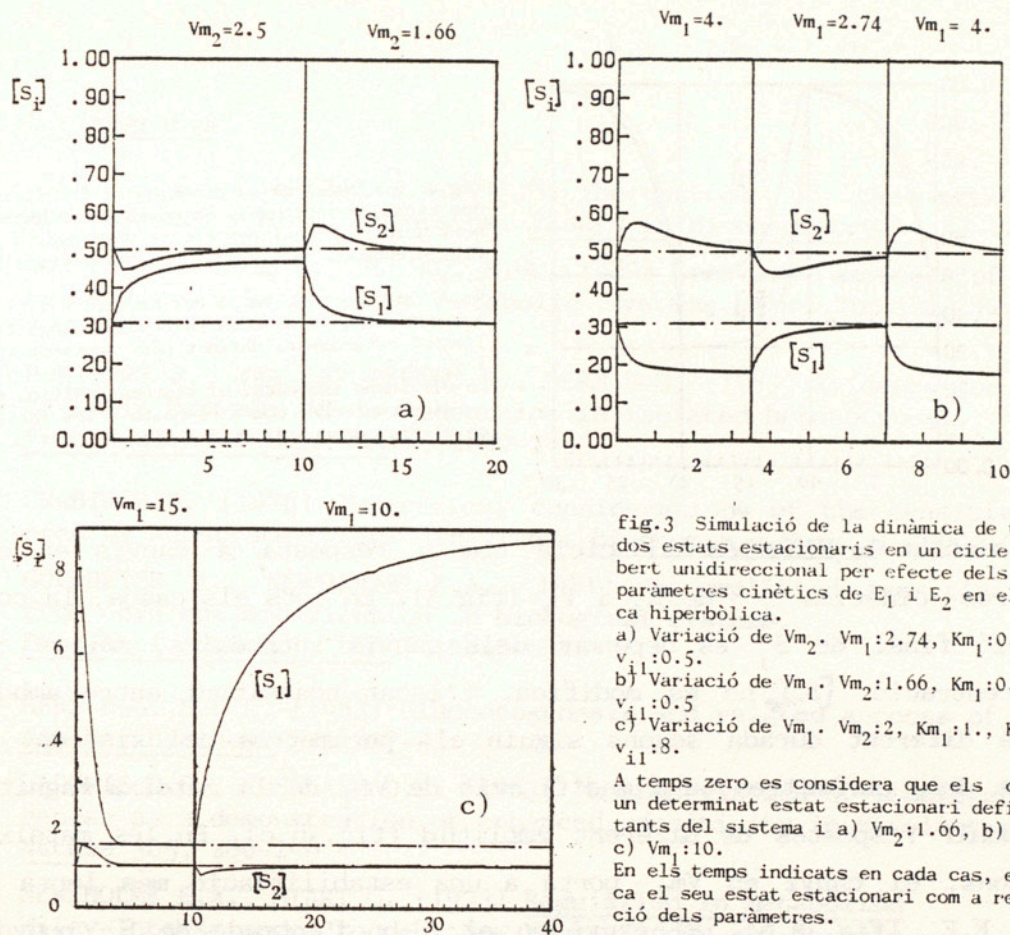


fig.3 Simulació de la dinàmica de transició entre dos estats estacionaris en un cicle de substrat obert unidireccional per efecte dels canvis en els paràmetres cinètics de E_1 i E_2 en el cas de cinètica hiperbòlica.

a) Variació de V_{m_2} . $V_{m_1}:2.74$, $K_{m_1}:0.5$, $K_{m_2}:1.$, $k_2:1$, $v_{i1}:0.5$.

b) Variació de V_{m_1} . $V_{m_2}:1.66$, $K_{m_1}:0.5$, $K_{m_2}:1.$, $k_2:1$, $v_{i1}:0.5$.

c) Variació de V_{m_1} . $V_{m_2}:2$, $K_{m_1}:1.$, $K_{m_2}:1.$, $k_2:8.$, $v_{i1}:8$.

A temps zero es considera que els cicles estan en un determinat estat estacionari definit per les constants del sistema i a) $V_{m_2}:1.66$, b) $V_{m_1}:2.74$

c) $V_{m_1}:10$.

En els temps indicats en cada cas, el sistema modifica el seu estat estacionari com a resposta a la variació dels paràmetres.

De les expressions anteriors es dedueix que una condició necessària perquè el sistema (2) pugui tenir un E.E. inestable o neutralment estable és que v_1 o v_2 siguin depenents dels seus productes, o bé que E_2 sigui inhibït per excés de substrat.

Dinàmica d'un cicle de substrat obert unidireccional estable

Considerem un cicle com el de la fig.2 amb $v_i = V_{m_i} S_i / (K_{m_i} + S_i)$ $i=1,2$

En aquesta situació tindrem $T = -K_{m_1} V_{m_1} / (K_{m_1} + [S_1])^2 - K_{m_2} V_{m_2} / (K_{m_2} + [S_2])^2 - k_2$, i, per tant, $T < 0$, donat que tant les constants cinètiques com les concentracions dels substrats a l'E.E. són sempre positives.

Les concentracions de S_1 i S_2 a l'E.E. seran:

$$[S_2]_{\text{E.E.}} = v_{i1} / k_2 \quad [S_1]_{\text{E.E.}} = k' / (V_{m_1} - k') \quad \text{amb } k' = v_{i1} + v_2 \quad (3)$$

El canvi en els paràmetres cinètics de E_1 i E_2 provocarà un canvi en l'E.E. del sistema. Les noves concentracions a l'E.E. es poden obtenir de les expressions (3). El sistema arriba al nou estat estacionari donat que és estable. En l'E.E. final, la concentració de S_2 és la mateixa si no ha variat el fluxe d'entrada o la constant de velocitat de metabolització de S_2 .

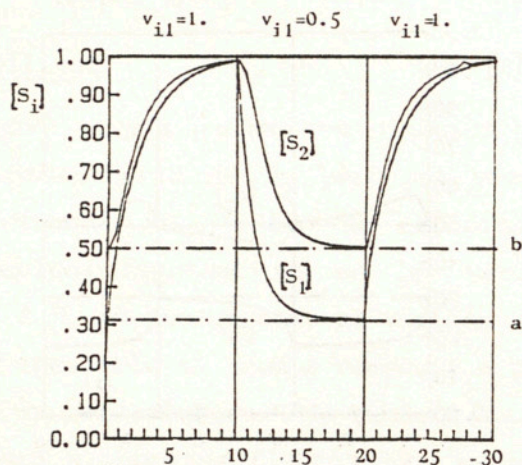


fig.4 Simulació de la dinàmica de transició entre dos estats estacionaris en un cicle de substrat obert unidireccional per efecte dels canvis en el flux d'entrada de S_1 en el cas de cinètica hiperbòlica.

$V_{m_1}:2.74$, $K_{m_1}:0.5$, $V_{m_2}:1.66$, $K_{m_2}:1.$, $k_2:1.$
A temps zero, el sistema es troba estabilitzat en l'estat estacionari definit per aquestes constants i $v_{i1}:0.5$
En els temps indicats, el sistema modifica el seu estat estacionari com a resposta a les variacions en el flux d'entrada de S_1 .

Hom ha simulat la dinàmica del cicle com a resposta a canvis en els paràmetres cinètics de E_1 i E_2 (fig.3). En tots els casos, la concentració final de S_1 és dependent dels canvis introduïts, mentre que la concentració $[S_2]_e$ no es modifica. L'estat transitori entre ambdós E.E. té diferent durada segons siguin els paràmetres del sistema. Depenent dels paràmetres, una modificació de V_{m_1} de la mateixa magnitud pot produir respostes de diferent amplitud (fig.3b,c). En les mateixes condicions, el canvi en V_{m_2} porta a una estabilització més lenta en el nou E.E. (fig.3a,b). El canvi en el flux d'entrada de S_1 provoca el pas a un nou E.E. en que s'ha modificat tant $[S_1]_e$ com $[S_2]_e$ (fig.4). D'acord amb això, aquest cicle es comportaria com un amortidor dels efectes de les modificacions en E_1 i E_2 , de manera que el flux no es modificaria, essent acumulades les variacions en la concentració estacionària de S_1 .

Conclusions

L'estudi de la dinàmica d'un cicle de substrat obert unidireccional estable en el que el flux d'entrada de S_1 no depèn de la concentració d'aquest substrat, ens indica que la presència de la reacció $S_1 \leftarrow S_2$ actua d'amortidora dels efectes sobre E_1 . En aquest sentit, com a resposta a modificacions en els paràmetres cinètics de E_1 i E_2 , el sistema canvia d'estat estacionari de manera que el flux final és el mateix que el que tenia abans de la modificació. El cicle, però, respón als canvis en el flux d'entrada de S_1 canviant la $[S_2]_e$, per tant, el flux de sortida. Si la reacció $S_1 \leftarrow S_2$ és en funcionament, els efectors de E_1 no tindran efecte sobre el flux de sortida, mentre si ho faran quan l'esmentada reacció estigui fortament inhibida. Aquest mecanisme permetria el control del flux per part d'efectors sobre E_2 .

Bibliografia

- ARCH J.R.S., NEWSHOLME E.A. (1978) The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. Essays in Biochemistry 14,83-123
- BOITEUX A., HESS B., SEL'KOV E.E. (1980) Creative functions of instability and oscillations in metabolic systems. Curr.Top.Cell.Reg. 17,171-203
- BONTEMPS F., VAN DER BERGHE G., HERS H-G. (1983) Evidence for a substrate cycle between AMP and adenosine in isolated hepatocytes. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 80,2829-2833
- CRABTREE,B. (1976) Theoretical considerations of the sensitivity conferred by substrate cycles "in vivo". Biochem.Soc.Symp. 4, 999-1002
- GOLDBETER A., NEWSHOLME E.A. (1981) An amplified sensitivity arising from covalent modification in biological systems. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 78,6840-6844
- HERS H-G.,HUE L. (1983) Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis Ann.Rev.Biochem. 52, 617-53
- LAPORTE D.C., KOSHLAND D.E. (1983) Phosphorylation of isocitrate dehydrogenase as a demonstration of enhanced sensitivity in covalent regulation. Nature 305, 286-296
- NEWSHOLME E.A., START C. (1973) Regulation in metabolism Wiley-Interscience, London, New York, Sydney and Toronto.
- NICHOLIS G., PRIGOGINE I. (1977) Selforganization in non-equilibrium systems John Wiley & Sons New York,London,Sydney and Toronto.
- RICARD J., SOULIE J.M. (1982) Self organization and dynamics of an open futile cycle. J.Theor.Biol. 95, 105-121
- STEIN R.B., BLUM J.J. (1978) J.Theor.Biol. 72, 487-522

Material i mètodes

S'han emprat rates de la soca Wistar i un pas a l'inici de la gestació de 200 g. Per a l'anàlisi dels detalls s'ha