

ROLI I AMINOACIDIT TAURINË NË MEKANIZMIN E KRISTALIZIMIT TË KRIPËRAVE SHUMË PAK TË TRETSHME NË KUSHTET *IN VITRO*

Partizan MALKAJ^a, Theodor KARAJ^a, Evangelos DALAS^c

^aDepartamenti i Fizikës, Universiteti Politeknik i Tiranës, SHQIPËRI

^bDepartment of Chemistry, University of Patras, GREECE

E-mail: malkaj_p@hotmail.com

PËRMBLEDHJE

Në këtë studim trajtohet problemi i efektit të aminoacidit taurinë në procesin e formimit të kristaleve të kripërave shumë pak të tretshme (karbonatit të kalciumit dhe hidroksiapatitit) duke përdorur metodën e përbërjes konstante. Rezultatet tregojnë se në rastin e kristal-formimit të karbonatit të kalciumit (CaCO_3) shpejtësia e kristalizimit ndryshon nga 38% në 120%, ndërsa për hidroksiapatitin (HAP) kjo shpejtësi shkon nga 17 në 96%.

Rritja e shpejtësisë së formimit të faqeve kristalore shpjegohet me anë të bllokimit të vendeve më pak aktive nga ana e molekulave të aminoacidit taurinë. Të dhënat e analizave të bëra me *scanning electron microscopy* tregojnë për një proces të rritjes spirale të sipërfaqeve nëpërmjet difuzionit. Këtë fakt e vërteton edhe rendi i rritjes së kristaleve, që u gjet i barabartë me $n = 2$, në të dy rastet. Nga eksperimentet *in vitro* vërehet se rritja e përqendrimit të taurinës në gjak mund të çojë në depozitime patogjenike të këtyre kripërave në formën e gurëve në pankreas, në tëmth si dhe pllakave arteriosklerotike në organizmin e njeriut.

Fjalët kyçe: Rritja kristalore, aminoacide, karbonat kalciumi, hidroksiapatiti.

ABSTRACT

In this study the effect of aminoacide taurine as inhibitor in the process of crystallization of calcium carbonate and hydroxyapatite is investigated at conditions of sustained supersaturation and physiological imitation by means of the composition technique. It was found to increase the crystal growth rate possibly through blocking of the less active growth sites by taurine molecules. The acceleration effect of taurine on the crystal growth rate was 17-96% for vaterite formation and 38%-120% in the case of HAP formation. The presence of taurine in the supersaturated solutions leads to calcite crystals with a characteristic discontinuous planes of growth and poor habit, as compared to the rhombohedral morphology of the seed crystals. The apparent order for the crystallization reaction was determined to be 2, thus suggesting a surface diffusion controlled spiral growth mechanism.

Key words: Crystal growth, aminoacide, calcium carbonate, hydroxyapatite.

HYRJE

Taurina është një aminoacid i rëndësishëm, i cili nuk merr pjesë në sintezën e proteinave, por që gjendet i lirë ose në peptidet e thjeshta. Stu-

dimet *in vitro* në organizma të ndryshme kanë treguar se niveli i ulët i taurinës shoqërohet me probleme patologjike si kardiomiopatia, degjenerimi i retinës së syrit dhe vonesa në rritje, veçanërisht kur pamjaftueshmëria është e pranishme gjatë fazës së zhvillimit të organizmit [1, 2]. Tek personat diabetikë, prania e taurinës është nën vlerën mesatare [3]. Për taurinën nuk ka ndonjë dietë të përcaktuar, meqë organizmi mund ta sigurojë atë nëpërmjet vitaminës B6 si dhe aminoacideve metioninë dhe cisteinë. Këto të fundit, së bashku me taurinën janë përbërësit më të mëdhenj të ushqimeve suplementare të atletëve. Ajo gjendet me shumicë tek algat e detit, merlucët, molusqet si dhe tek gjiatë [4].

Studimi ka për qëllim evidentimin e efektit të aminoacidit taurinë në dukuritë e kalcifikimit biologjik dhe më konkretisht në kristal-formimin e kripërave shumë pak të tretshme siç janë karbonati i kalciumit (CaCO_3) dhe hidroksiapatiti (HAP). Karbonati i kalciumit është minerali më i gjendur në natyrë dhe në organizmin e njeriut gjendet në formën e gurëve në veshka, të tëmthit si dhe në kalcifikimin e aortave të zemrës [5]. Ndërsa HAP, si krija më e gjendur në kushtet fiziologjike, është modeli më i përdorur në studimin e kalcifikimit të indeve të rënda (siç janë kockat dhe dhëmbët) dhe në kalcifikimet patologjike të kartilageve, valvulave të zemrës, etj. Problemi që shtrohet është: a ndikon taurina në shkallën, shpejtësinë, përmasat, mekanizmin dhe fazë-formimin e kristaleve të kripërave shumë pak të tretshme në mjediset biologjike?

MATERIALI DHE METODA

Metoda eksperimentale e përdorur është Constant Composition Method [6, 7]. Përparësia e kësaj metode ka të bëjë me sigurimin e një kohe më të gjatë të zhvillimit të eksperimentit, kontrollit të shpejtësisë së tij si dhe natyrës së polimorfrit të precipituar [8, 9]. Kripërat e përdorura në eksperiment u siguruan nga ndërmarrja Merck ndërsa aminoacidi taurinë u sigurua nga ndërmarrja Sigma dhe kishte një shkallë pastërtie shumë të lartë (> 99%). Në intervalin e përqendrimeve në të cilën u përdor aminoacidi si dhe

në kushtet në të cilat u zhvilluan eksperimentet e bërthamëformimit dhe rritjes së kristaleve të karbonatit të kalciumit, aminoacidi ishte pothuaj plotësisht i tretshëm. Karakterizimi i kristaleve të përfutuara u bë nëpërmjet teknikave SEM, FT-IR spectroscopy, X-ray Diffraction dhe Thermogravimetric Analysis (TGA).

REZULTATET DHE DISKUTIME

Studimet kinetike për karbonatin e kalciumit u realizuan në temperaturën $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$, ndërsa për rastin e HAP në $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Energjia e lirë e Gibbs-it, për formimin e CaCO_3 jepet me anë të relacionit:

$$\Delta G_x = -\left(R_g T / 2\right) \ln\left(\text{IP} / K_{s,x}^0\right) = -\left(R_g T / 2\right) \ln \Omega_x \quad (1)$$

ku R_g është një konstante, T temperatura absolute, IP produkti i aktivitetit jonik të karbonatit të kalciumit në tretësirën e punës, $K_{s,x}^0$ konstantja e ekuilibrit për polimorfën x të precipituar.

Ndërsa për rastin e HAP, energjia e lirë e Gibbs-it jepet nga:

$$\Delta G_{\text{HAP}} = -R_g T \ln\left(\text{IP}_{\text{HAP}} / K_{s,\text{HAP}}^0\right) = -\frac{R_g T}{9} \ln S \quad (2)$$

ku S është superngopja e tretësirës, IP produkti jonik i hidroksiapatitit të precipituar dhe $K_{s,\text{HAP}}^0 = 2.35 \times 10^{-59}$.

Kushtet eksperimentale dhe rezultatet kinetike për CaCO_3 dhe HAP paraqiten në tabelat 1 dhe 2.

Ca_i (10^{-4} mol/l)	ΔG_{HAP} (kJ/mol)
3	-3.08
2.75	-2.09
2.5	-2.72
2.25	-2.51
2	-2.27

Tabela 1. Kristalizimi i CaCO_3 në prani të taurinës në pH = 8.50, 25°C , $C_{\text{taurine}} = 2.4 \times 10^{-4}\text{M}$

Analizat kinetike, në mungesë dhe në prani të aminoacidit taurinë, tregojnë se varësia shpejtësisë së kristalizimit R , nga mbingopja e tretësirës, e cila është $\sigma_c = \Omega_c^{1/2} - 1$ (për CaCO_3) dhe $\sigma = S^{1/9} - 1$ (për HAP), jepet me anë të relacionit:

$$R = k\sigma^n \quad (3)$$

Ca _t (10 ⁻⁴ mol/l)	Taurinë (mg/ml)	ΔG _{HAP} (kJ/mol)
5	0	-4.3
4	0	-3.94
3.5	0	-3.63
3	0	-3.29
2.5	0	-2.88
5	0.4	-4.43
4	0.4	-3.94
3.5	0.4	-3.63
3	0.4	-3.29
2.5	0.4	-2.88
5	0.2	-4.43
5	0.6	-4.43
5	0.8	-4.43

Tabela 2. Kristalizimi i HAP në prani të taurinës, në pH = 7.40, 37°C, 0.15M NaCl

Në këtë relacion të fundit k është konstante, s është funksion i vendeve aktive të rritjes kristalore dhe n është rendi i reaksionit.

Vlera e rendit të reaksionit n , gjendet nga varësia e $\ln R$ në lidhje me $\ln \sigma$. Analizat kinetike tregojnë se në rastin e kristalizimit të karbonatit të kalciumit në prani dhe në mungesë të taurinës (figura 1a), kemi të njëjtën vlerë $n = 2 \pm 0.2$. Kjo tregon se nuk kemi ndryshim të mekanizmit të rritjes kristalore, i cili në këtë rast është ai i rritjes spirale të kristaleve me anë të difuzionit. Të njëjtin rezultat marrim edhe në rastin e kristalizimit të HAP (fig. 1b). Të dhënat tona eksperimentale tregojnë se rritja e sasisë së taurinës në tretësirën e mbingopur çon në rritjen e shpejtësisë së rritjes kristalore, si në rastin e karbonatit të kalciumit nga 17-96%, ashtu edhe në rastin e HAP, nga 38%-120%.

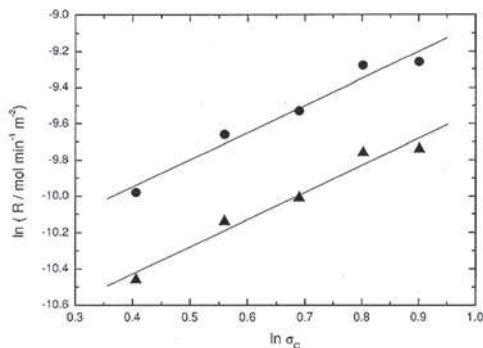


Figura 1a. Kinetika e kristalizimit të karbonatit të kalciumit (●) në prani dhe (▲) në mungesë të taurinës (pH = 8.50, 25°C, $C_{\text{taurine}} = 2.4 \times 10^{-4} \text{M}$)

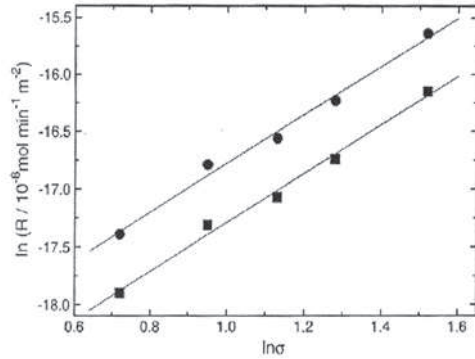


Figura 1b. Kinetika e kristalizimit të hidroksiapatitit (●) në prani dhe (▲) në mungesë të taurinës (pH = 7.40, 37°C, 0.15M NaCl).

Këtë fakt e vërtetojnë edhe mikrografitë e realizuara me SEM (figura 2). Në bazë të tyre men-

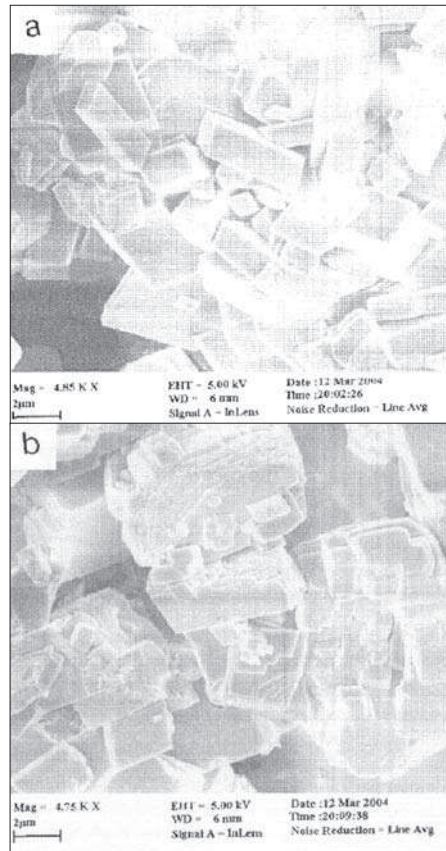


Figura 2. Mikrografitë (SEM) të a) kristaleve të karbonatit të kalciumit në mungesë të inhibitorit; b) rritja e kalcitit në prani të $2.4 \times 10^{-4} \text{M}$ taurinës; $Ca_t = C_t = 3 \times 10^{-3} \text{M}$

dojmë se kemi të bëjmë me një dendësi të lartë të vendeve aktive të rritjes mbi sipërfaqet e kristaleve, duke induktuar një barrierë potenciale të lartë për bërthamëformimin njëpërmasor dhe një varësi jo lineare të shpejtësisë së kristalformimit të qosheve, faqeve dhe shkallëve [10].

PËRFUNDIME DHE REKOMANDIME

Aminoacidi taurinë, i pranishëm në tretësirat e mbingopura fiziologjike ndikon në formimin e kristaleve të kalcitit që karakterizohen nga plane të shkëputura rritjeje, krahasuar kjo me format romboedrike. Prania e taurinës nuk ndikon në përmasat dhe mekanizmin e kristal-formimit. Rendi i reaksionit është $n = 2 \pm 0.2$, tipik për mekanizmin e rritjes spirale me anë të difuzionit.

Gjithashtu mund të themi se nga eksperimentet *in vitro* rezulton që rritja e përqendrimit të taurinës në plazmën e gjakut [11] mund të çojë në depozitime patologjike të karbonatit të kalciumit në formën e gurëve të tëmthit, ose

pllakave arteriosklerotike, kancerit të kockave apo prostatit (në rastin e HAP).

BIBLIOGRAFIA

1. STURMAN J.A. (1993) *Phys. Rev* 73, 119.
2. SHEIK K., TOSKES P. and DAWSON N. (1981) *Gastroenterology* 80, 1363.
3. TIMBRELL J.A. and WATERFIELD C.J. (1996) *Adv. Exp.Med. Biol.* 403, 125.
4. HUXTABLE R.J., SEMBRING L.A. (1983) *Sulfur Amino Acids: Biochemical and Chemical Aspects*, Alan R. Liss, New York, 5-37.
5. KAUFMAN, PITT H.A., FRASCA P. and LILLENOE K.D. (1994) *Hepatology* 19,1124.
6. TOMPSON M.B. and NANCOLAS G.H. (1997) *Science* 200, 1059.
7. KAZMIERCZAK T.F., TOMSON M.B. and NANCOLAS G.H. (1982) *J. Phys. Chem.* 86, 103.
8. MALKAJ P. and DALAS E. (2006) *Materials Letters* 60, 1043-1046.
9. MALKAJ P., PIERRI E. and DALAS E. (2006) *J. Mater. Sci: Mater Med* 17, 403-406.
10. YAMORI Y., LOVENBERG W. (1978) *Biochem. Pharmacol.* 27, 2689.
11. CHERNOV A.A. (2004) *J. Crystal Growth* 264, 499.