

Metabolismo

ATP

El nucleótido **adenosintrifosfato** (ATP) constituye el principal **método de almacenamiento de energía química** en la célula. La división de ATP es extremadamente exergónica: la energía liberada en este proceso (ΔG) es utilizada para fomentar ciertos mecanismos endergónicos como la biosíntesis y los procesos de desplazamiento y transporte mediante el **acoplamiento energético** (véase p. 16). Existen asimismo **coenzimas de nucleósido trifosfato** (GTP, CTP y UTP) con características químicas similares a las del ATP. Sin embargo, el metabolismo las emplea para cubrir otras necesidades (véase p. 92).

A. Estructura del ATP

El ATP es un nucleósido trifosfato, cuya cadena compuesta por tres fosfatos se encuentra unida al grupo 5'-OH del nucleósido adenosina (véase p. 64). Existen fosfatos α , β y γ . El fosfato α está conectado a la ribosa mediante **enlaces ésteres del ácido fosfórico**. La unión entre los diferentes fosfatos (**unión de anhídridos del ácido fosfórico**) es en cambio mucho más débil. La única coenzima realmente efectiva es generalmente el complejo entre ATP y un ion de Mg^{2+} , que se encuentra unido a los fosfatos α y β ($Mg^{2+} \cdot ATP^{4-}$). Pese a esto se suele hablar simplemente de ATP.

B. Energías de hidrólisis

La fórmula de fosfatos con uniones simples y dobles (**A**) no muestra la verdadera distribución de la carga energética en el ATP. Los átomos de oxígeno de los tres fosfatos tienen una carga negativa muy similar (color naranja), mientras que los átomos de fósforo constituyen centros de carga positiva (color verde). La inestabilidad de las uniones de anhídridos del ácido fosfórico se debe fundamentalmente a que los **átomos con carga negativa se repelen**. Cuando los fosfatos se separan este rechazo tiende a desaparecer. El anión de fosfato libre formado durante la hidrólisis de ATP está además mucho **mejor hidratado** y su **resonancia es más estable** que la del fosfato correspondiente en el ATP. Esto contribuye a exacerbar el carácter exergónico de la hidrólisis de ATP.

Bajo condiciones normales, la entalpía libre ΔG^0 (véase p. 18) de la hidrólisis de las uniones de anhídridos del ácido fosfórico en niveles de $pH = 7$ oscila entre los -30 y los $-35 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Mientras tanto, el valor de ΔG^0 permanece prácticamente constante, sin importar cuál de las uniones de anhídridos es la que se separa en el ATP (**1, 2**). Incluso la hidrólisis de difosfato (**4**) supera los $-30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. La separación del enlace

éster entre la ribosa y el fosfato (**3**) no supera, por el contrario, los $-9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

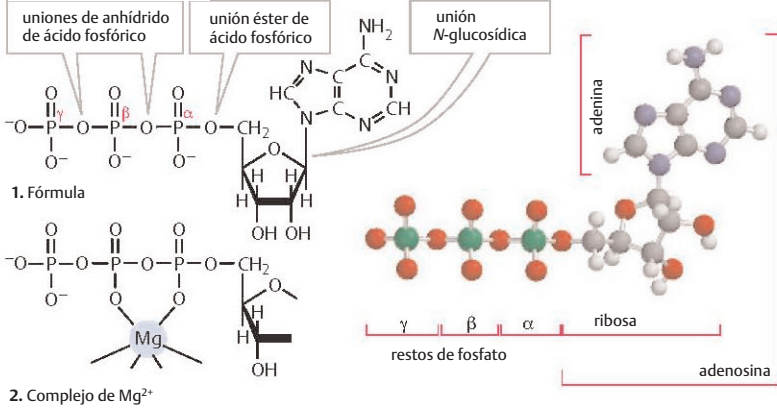
La ΔG efectiva de la hidrólisis de ATP es considerablemente mayor dentro de la célula debido a que la concentración de ATP, ADP y P, es muy inferior a aquella en condiciones normales ($= 1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) y también a que los niveles de ATP superan ampliamente los de ADP. El pH y la concentración de Mg^{2+} pueden modificar asimismo el valor de ΔG . La **utilización de energía fisiológica** de la hidrólisis de ATP para ADP y fosfato inorgánico (P_i) es de aproximadamente $-50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

C. Tipos de formación de ATP

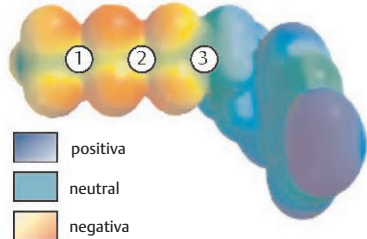
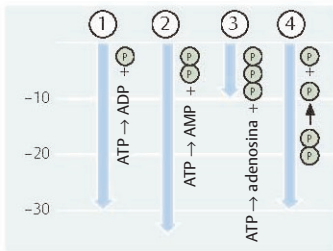
Pocas uniones contienen fosfatos con el suficiente potencial químico (véase p. 18) como para transferírseles al ADP y así permitir que se lleve a cabo la **síntesis de ATP**. Aquellos mecanismos a través de los cuales se incrementa el potencial del fosfato inorgánico a dichos niveles se denominan **fosforilaciones de cadenas de sustrato** (véase p. 106). Este tipo de reacciones se pueden observar únicamente durante la glucólisis (véase p. 130) y el ciclo del citrato (véase p. 114). El **fosfato de creatina** constituye otra unión de fosfato con una alta carga de energía. Se produce en el músculo a partir de ATP y es incluso capaz de regenerarlo (véase p. 344).

No obstante, la mayor parte del ATP celular no se genera a partir del mecanismo descrito anteriormente (es decir, traslado de los restos de fosfato de moléculas orgánicas al ADP), sino mediante **fosforilación oxidativa** (véase p. 120), un proceso que se desarrolla en las mitocondrias (en las plantas en los cloroplastos) y está unido energéticamente a un gradiente de protones por medio de una membrana. Estos gradientes de H^+ se generan gracias a una cadena respiratoria y constituyen la fuente de energía de la enzima **ATP-sintasa** para que el fosfato inorgánico se una directamente al ADP (véase p. 122). A diferencia de la fosforilación de cadenas de sustrato, la fosforilación oxidativa requiere necesariamente la presencia de oxígeno (condiciones **aeróbicas**) para poder llevarse a cabo.

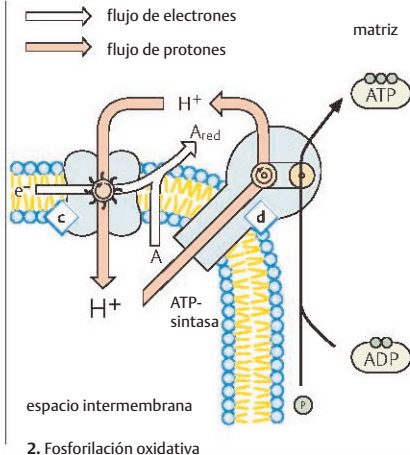
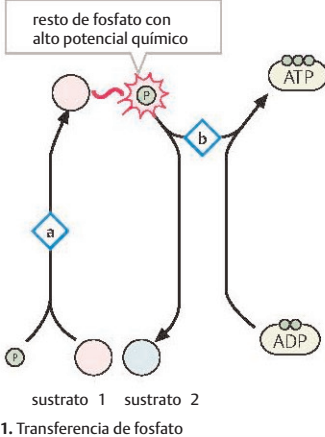
A. Estructura del ATP



B. Energías de hidrólisis



C. Tipos de formación de ATP



Acoplamiento energético

El acoplamiento energético se define como un mecanismo en el que un proceso dependiente de energía (endergónico) se une funcionalmente con un segundo proceso que libera energía (exergónico) de tal manera que el mecanismo se lleva a cabo voluntariamente (véase p. 16). Siguiendo esta lógica, en una linterna por ejemplo, la producción endergónica de luz se acopla a una reacción química exergónica mientras que un motor eléctrico utiliza el flujo exergónico de electrones para realizar el trabajo mecánico endergónico.

A. Acoplamiento energético

Las células vivientes acoplan los procesos endergónicos de todo tipo a una reacción química específica, a saber la separación de **adenosintrifosfato** (ATP, véase p. 104) en ADP y fosfato o AMP y difosfato. Es por ello que el ATP y ciertas moléculas similares son comúnmente llamadas uniones "ricas en energía". Esta expresión es de todos modos algo engañosa, ya que la energía de enlace entre los átomos de ATP no es mayor que entre otras moléculas, pero sí lo es la cantidad de energía (expresada en ΔG , véase p. 18) que se utiliza en la transferencia de fosfato desde el ATP a otras moléculas.

Para poder evaluar el potencial de transferencia de grupo de las uniones "ricas en energía" se compara arbitrariamente la variación en la entalpía libre (ΔG^0) durante la *hidrólisis* (véanse pp. 18 y 104). Esto no significa, sin embargo, que el ATP se hidroliza en reacciones acopladas energéticamente. En caso de que se llevara a cabo paralelamente la hidrólisis de ATP junto a un proceso endergónico, la hidrólisis sólo proporcionaría calor sin influenciar el proceso endergónico. Para que se produzca un acoplamiento químico ambas reacciones deben estar sincronizadas de manera que se genere un *producto intermedio conjunto*. Este fenómeno se explica en este capítulo tomando como ejemplo la **reacción glutamina sintetasa**.

La transferencia directa de NH_4^+ a glutamato es endergónica ($\Delta G^0 = +14 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), por lo que, en condiciones normales, no funciona de forma espontánea (véase p. 18). Dentro de la célula, la reacción se divide en dos pasos exergónicos: en primer lugar se transfiere el resto de γ -fosfato del ATP al glutamato. Se genera de esta forma un *anhídrido de ácido mixto* "rico en energía". En un segundo paso se sustituye el resto fosfato del producto intermedio por NH_3 , proceso en el cual se genera glutamina y fosfato libre. El balance de energía de la reacción total ($\Delta G^0 17 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) es equivalente a la

suma de las variaciones de la entalpía libre de la formación directa de glutamina ($\Delta G^0 = +14 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) y de la hidrólisis de ATP ($\Delta G^0 = -31 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) a pesar de que en realidad el ATP no se hidroliza.

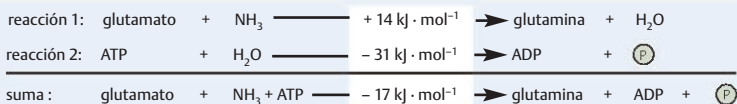
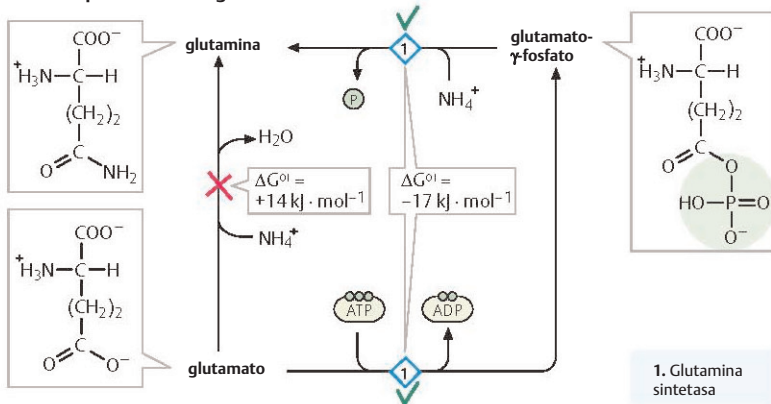
B. Fosforilación de cadenas de sustrato

En la célula existen sólo unos pocos metabolitos capaces de transferir el fosfato al ADP por medio de una reacción exergónica y producir así ATP (véase p. 104). Durante la síntesis de ATP se transfiere el fosfato inorgánico o el fosfato unido de manera similar al éster a los enlaces con un alto potencial de transferencia de fosfato. Este tipo de reacciones se denominan comúnmente *fosforilaciones de cadenas de sustratos*, ya que constituyen pequeñas partes de las rutas metabólicas ("cadenas de sustrato").

En la reacción **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa**, uno de los pasos de la glucólisis (izquierda), el grupo aldehído se oxida transformándose de glicerol-3-fosfato a un grupo carboxilo. A lo largo de la reacción se incorpora asimismo un fosfato inorgánico al producto, de manera tal que se genera un anhidrido ácido mixto (1,3-bisfosfoglicerato). La **fosfopiruvato hidratasa** (enolasa, ver centro del gráfico) es la encargada de catalizar la separación de las moléculas de agua del 2-fosfoglicerato. En el *enolfosfato* resultante (fosfoenolpiruvato), el potencial del resto fosfato alcanza niveles extremadamente elevados (ΔG^0 de la hidrólisis = $-62 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), a diferencia del 2-fosfoglicerato. Otro tipo de reacción similar es la producción de *succinilfosfato*, una de las etapas de la reacción tiocinasa **succinil-CoA ligasa** que se lleva a cabo en el ciclo de Krebs. Durante esta reacción el fosfato inorgánico es incorporado nuevamente a la unión de anhidrido ácido mixto para ser luego transferido al GDP. El succinilfosfato es no obstante sólo un producto intermedio que la enzima no libera.

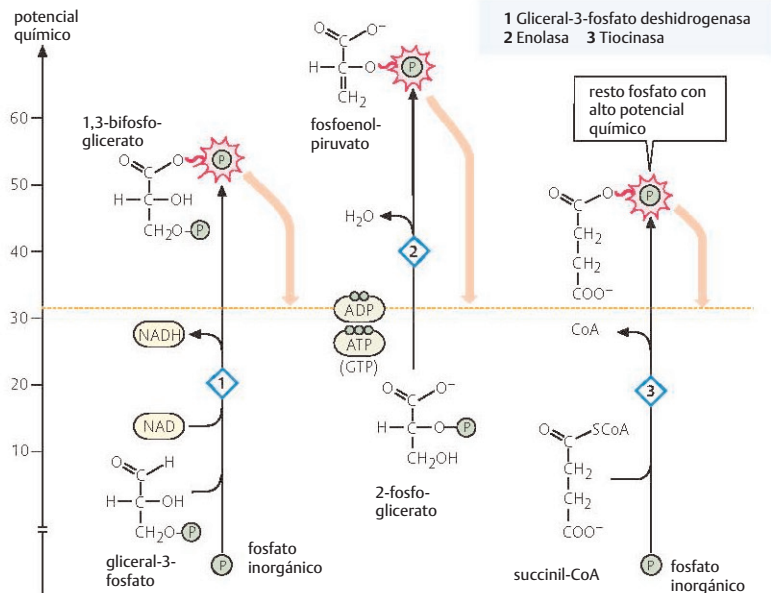
El concepto de "fosforilación de cadenas de sustrato" se utiliza a menudo de manera ambigua. Algunos autores afirman que esta fosforilación comprende todas aquellas reacciones que provocan un aumento en el potencial del fosfato. Otros emplean este término para referirse a las reacciones posteriores, en las cuales el organismo produce ATP o GTP a partir de productos intermedios "ricos en energía".

A. Acoplamiento energético



2. Balance de energía

B. Fosforilación de cadenas de sustrato



Almacenamiento de energía en las membranas

La energía metabólica no sólo se almacena en forma de uniones con “carga energética” (véase p. 106) sino también cuando las cargas eléctricas se separan, proceso en el cual se consume energía, y se cubren con una capa aislante que impide que vuelvan a unirse y distribuirse a lo largo de la célula. Este sistema se denomina comúnmente *condensador*. En las membranas biológicas la energía es almacenada obedeciendo este principio. Se habla por ello de “energía conservada”. La membrana actúa como aislante mientras que las cargas están constituidas por átomos y moléculas con carga eléctrica (*iones*).

A. Gradiente electroquímico

Existe una diversidad de iones (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , entre otros) distribuidos aleatoriamente fuera y dentro de la célula viva (1). Esto se debe al efecto de ciertos procesos de transporte activo (B) y a que las membranas biológicas contienen **canales iónicos** selectivos que regulan el flujo de ciertos tipos de iones (véase p. 402). El **gradiente electroquímico** es el que determina si un ion atraviesa la membrana o no la atraviesa, y en qué dirección lo hace. Es por ello que está íntimamente relacionado con el grado de concentración del ion a ambos lados de la membrana (*gradiente de concentración*) así como con la *diferencia de potencial eléctrico* entre el espacio interior y exterior de la célula (**potencial de membrana**).

El comportamiento de un determinado tipo de ion se calcula a través de la **ecuación de Nernst**, en la que $\Delta\Psi_G = (R \cdot T/F \cdot n) \cdot \ln(c_{\text{exterior}}/c_{\text{interior}})$. $\Delta\Psi_G$ expresa el potencial de membrana (en milivoltios, mV), en el que *no* se desarrolla ningún tipo de transporte neto del ion en cuestión a través de la membrana (**potencial de equilibrio**). Para los iones univalentes, el factor $R \cdot T/F \cdot n$ es de 26 mV a una temperatura de 25 °C. Si observamos la tabla de la derecha (2), el potencial de equilibrio de K^+ es de alrededor de -90 mV, es decir un valor similar al potencial de reposo. Para los iones de Na^+ , en cambio, $\Delta\Psi_G$ el equilibrio de potencial es de +70 mV, valor muy superior al potencial de reposo. Esto ocasiona que los iones de Na^+ ingresen inmediatamente a la célula al abrirse los canales (véase p. 360).

El potencial de membrana de las células en reposo (**potencial de reposo**) oscila entre los -50 y los -90 mV, es decir que en el interior de la membrana plasmática predomina la carga negativa. Los cationes Na^+ y K^+ , el Cl^- y los aniones orgánicos son los que más contribuyen al potencial de reposo (1). De la

tabla se desprende los niveles de concentración de estos iones en el exterior e interior de las células animales al igual que los respectivos coeficientes de permeabilidad (2).

B. Bomba sodio-potasio

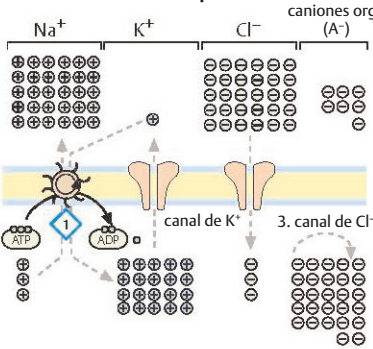
La **bomba sodio-potasio** ($\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPasa}$) de la membrana plasmática es la principal causa de la distribución desigual de iones de sodio y potasio dentro y fuera de la célula viva, lo que se ve claramente al observar su potencial de membrana. Esto ocasiona que la membrana plasmática consuma ATP y expulse continuamente 3 iones de Na^+ al exterior a cambio de 2 iones de K^+ . La **bomba sodio-potasio** [1] es un proceso inherente a todas las células y el que consume la mayor parte de ATP del organismo.

El ciclo catalítico de la bomba sodio-potasio (2) recorre varios estadios: primero fomenta la unión de tres iones de sodio en la cara interna de la membrana (parte superior derecha del gráfico). En el exterior de la célula, por su parte, la fosforilación de los restos de aspartato en la subunidad α provoca que se modifique su conformación y se liberen los iones de sodio. En una tercera etapa se unen allí dos iones de potasio. La enzima recupera luego su conformación original gracias a la hidrólisis del aspartilfosfato. Tras liberar los iones de sodio en el interior de la célula, la enzima se encuentra finalmente preparada para dar comienzo a un nuevo ciclo.

C. Gradientes de protones

Los iones oxonio (H_3O^+ , “iones H^+ ”, véase p. 14) pueden generar asimismo gradientes electroquímicos. En lo que respecta a la *fosforilación oxidativa*, estos **gradientes de protones** desempeñan un papel decisivo en la síntesis celular de ATP (véase p. 120). Al igual que en todos los iones, el contenido energético depende directamente del gradiente de concentración, en otras palabras, de la **diferencia de pH ΔpH** entre ambos lados de la membrana. Cabe mencionar, no obstante, que el **potencial de membrana $\Delta\Psi$** contribuye también a aumentar o disminuir el contenido energético. El resultado de ambos cocientes es la **fuerza protón-motriz Δp** , que mide el rendimiento químico del gradiente de H^+ . Es así como el gradiente de protones, por ejemplo, libera aproximadamente 24 kJ por mol de H^+ a través de la membrana interna de las mitocondrias (véase p. 122).

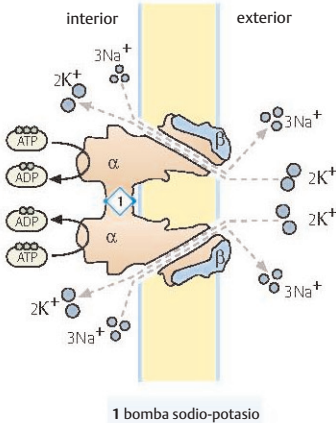
A. Gradiente electroquímico



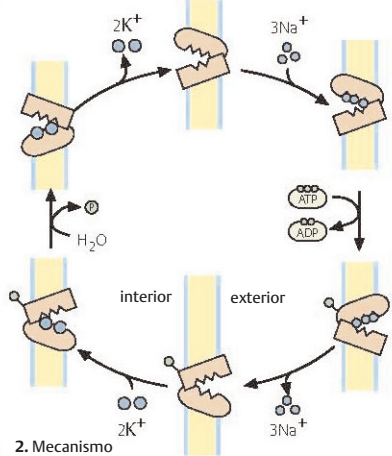
Ion	Nivel de concentración		Permeabilidad 10 ⁹ ·cm s ⁻¹	Potencial de equilibrio mV
	Citoplasma mM	Espacio extracelular mM		
K ⁺	100	5	500	-90
Na ⁺	15	150	5	+60
Cl ⁻	13	150	10	-80
A ⁻	138	34	0	-

2. Potenciales de equilibrio

B. Bomba sodio-potasio

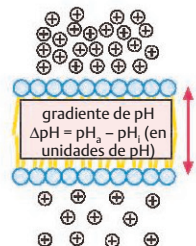
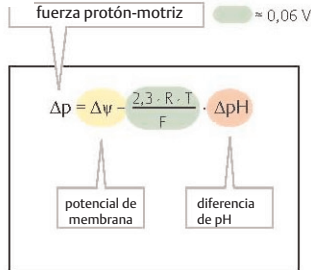
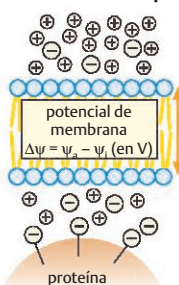


1. Estructura



2. Mecanismo

C. Gradientes de protones



Metabolismo energético: conceptos generales

A. Metabolismo energético: conceptos generales

Se denomina metabolismo energético al conjunto de rutas metabólicas y reacciones que tienen como objetivo generar energía química en forma de ATP (véase p. 104) en la célula. Según mencionamos anteriormente en la página 96, a lo largo del proceso evolutivo se han ido desarrollando diferentes tipos de alimentación. Los animales, y por ende el ser humano, cuentan con un metabolismo puramente *quimioheterótrofo*. Para producir ATP dependen de sustancias orgánicas que ingieren a través de los alimentos y degradan luego en un proceso oxidativo a través de las rutas metabólicas *catabólicas*. El *oxígeno molecular* (O_2) desempeña un rol clave en este mecanismo ya que su presencia/ausencia determina qué moléculas pueden degradarse y si dicha degradación será sólo parcial o total.

Cuando existen cantidades suficientes de O_2 (**estado aeróbico, 1**), el organismo puede emplear todos los tipos de metabolitos para obtener la energía necesaria. Entre estos metabolitos figuran la glucosa, los ácidos grasos, los aminoácidos y todas aquellas sustancias que ingresan al ciclo de Krebs a través de las rutas catabólicas. En ausencia de O_2 (**estado anaeróbico, 2**) o en caso de que se produzca un déficit temporario de éste (hipoxia), los mamíferos sólo pueden producir ATP si recurren a la descomposición de *glucosa* mediante *glucólisis anaeróbica* (1a, 1b).

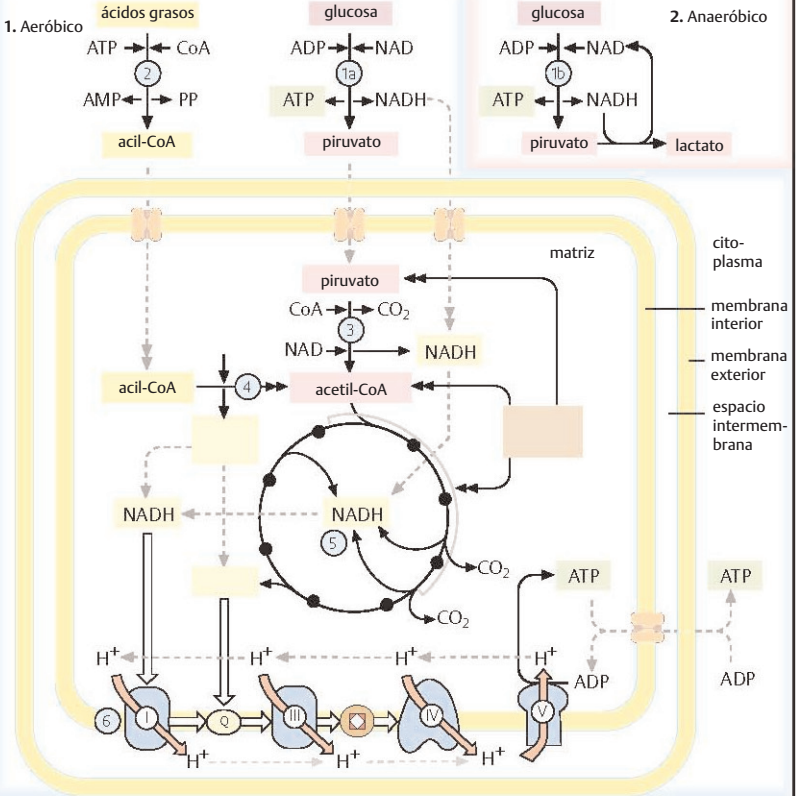
En **condiciones aeróbicas** (parte izquierda del gráfico), el ATP se forma casi exclusivamente mediante fosforilación oxidativa (6). Después de ser activados y transformados en *acil-Co* (2), los **ácidos grasos** son transportados al interior de la matriz mitocondrial por medio de la carnitina (véase p. 146). Una vez allí comienza el proceso de β -oxidación (4), por el cual los ácidos grasos son degradados a restos de acetilo unidos a la coenzima A (CoA). En el citoplasma, la **glucosa** es transformada en piruvato mediante la *glucólisis* (véase p. 130) y este a su vez en *acetil Co-A* por *descarboxilación oxidativa* (3), proceso que tiene lugar en la matriz mitocondrial. El NADH producido en el citoplasma llega a la matriz mitocondrial gracias al transportador malato (véase p. 118). Los restos de acetilo se oxidan hasta formar CO_2 durante el ciclo de Krebs (5). De la degradación de **aminoácidos** resultan asimismo restos de acetilo así como productos que fluyen inmediatamente al ciclo de Krebs (véase p. 168 y sig.). Las coen-

zimas reducidas (NADH, QH_2) son absorbidas por las moléculas de oxígeno mediante la cadena respiratoria, proceso en el cual se libera energía química que el organismo emplea mediante un gradiente de protones para producir ATP (6).

En **condiciones anaeróbicas** (parte superior derecha del gráfico) el NADH y QH_2 ya no pueden reoxidarse por medio de la cadena respiratoria. Esto ocasiona que se detenga la síntesis de ATP en las mitocondrias paralizando incluso todo el metabolismo de la matriz mitocondrial. Como consecuencia, la célula sólo puede producir ATP a través de la **glucólisis anaeróbica**. En caso de que este proceso se lleve a cabo de manera continua, el NADH del citoplasma debe ser reoxidado constantemente. Para cumplir con dicha exigencia las células animales reducen el piruvato a lactato, siempre bajo condiciones anaeróbicas, para volcarlo luego al torrente sanguíneo. Este tipo de proceso se denomina **fermentación**. Sólo se crean 2 ATP por glucosa durante la producción de lactato debido a que el proceso de fermentación consume bajas cantidades de ATP.

Para calcular el número de moléculas de ATP formadas en estado aeróbico es necesario hacer uso del **cociente P/O**, es decir la relación molar entre el ATP ("P") y las moléculas de agua ("O") creadas en el proceso. De acuerdo con los estudios realizados hasta el momento, se cree que durante la translocación de dos electrones de NADH al O_2 ingresan alrededor de 10 protones al espacio intermembrana. En el caso del ubiquinol (QH_2) sólo ingresan 6. La ATP-sintasa (véase p. 122) requiere aproximadamente tres moléculas de H^+ para sintetizar un ATP, por lo que el cociente P/O no puede ser jamás superior a **3 o 2**. Como resultado se calcula que el consumo de energía asciende hasta los 38 ATP por mol de glucosa. Sin embargo, el valor real suele ser bastante más bajo ya que el gradiente de H^+ favorece el desplazamiento de algunos metabolitos a la matriz mitocondrial así como el intercambio de ATP^{4-} por ADP^{3-} (véase p. 118). El cociente P/O real de oxidación de NADH y QH_2 oscila entre **2,5 y 1,5**, lo que ocasiona que el consumo de energía sea de aproximadamente **32 ATP por glucosa**. De todas maneras, no se puede afirmar que éste sea un valor constante, ya que puede adaptarse a las necesidades específicas del organismo a través de proteínas desacoplantes (UCPs, véase p. 124) y otros mecanismos.

A. Metabolismo energético: conceptos generales



Proceso	Nombre	P.	Reactivo(s)/Producto(s)	Enzima(s) clave	Regulado mediante
1a	glucólisis aeróbica (CP)	131	glucosa → 2 piruvato	p. 139	p. 139
1b	glucólisis anaeróbica (CP)	131	glucosa → 2 lactato	p. 139	p. 125
2	activación de ácidos grasos (MME)	147	ácido graso → acil-CoA	p. 145	p. 145
3	descarboxilación oxidativa (MM)	113	piruvato → acetil-CoA	p. 101	p. 101
4	β oxidación (MM)	147	acil-CoA → n acetil-CoA	p. 145	p. 145
5	ciclo de Krebs (MM)	115 117	acetil-CoA → 2 CO ₂	citrato sintasa isocitrato-DH oxoglutarato-DH	citrato ↓, NADH ↑, succinil-CoA ↓ ADP ↑, Ca ²⁺ ↑, ATP ↓, NADH ↓ Succinil-CoA ↓, NADH ↓
6	fosforilación oxidativa (MMI)	121	NADH, ETFH ₂ , O ₂ , ADP → NAD ⁺ , ETF, H ₂ O, ATP	-	[NAD ⁺]/[NADH] [ADP]/[ATP] p. 125

CP: citoplasma, DH: deshidrogenasa, MM: matriz mitocondrial, MME: membrana mitocondrial exterior, MMI: membrana mitocondrial interior

Oxoácido deshidrogenasas

En el metabolismo intermediario existen diversos **complejos multienzimáticos** que catalizan la **descarboxilación oxidativa** de 2-oxoácidos y la translocación de los restos acilo resultantes a la coenzima A. La molécula NAD^+ actúa como aceptor de electrones. Entre las coenzimas que participan en esta reacción se encuentran el difosfato de tiamina, la lipoamida y el FAD. A la categoría de las **oxoácido deshidrogenasas** pertenecen asimismo a) el **complejo piruvato deshidrogenasa** (PDH, piruvato \rightarrow acetil-CoA), b) el **complejo 2-oxoglutarato deshidrogenasa** del ciclo de Krebs (ODH, 2-oxoglutarato \rightarrow succinil-CoA), y c) las enzimas del metabolismo catabólico de aminoácidos, como por ejemplo el **complejo deshidrogenasa de cadena ramificada** (véase p. 170)

A. Piruvato deshidrogenasa: reacciones

La reacción piruvato-deshidrogenasa se lleva a cabo en la matriz mitocondrial. Este complejo multienzimático de PDH (**B**) está compuesto por tres enzimas (E1 a E3).

- [1] En una primera etapa la **piruvato deshidrogenasa** [E1] cataliza la descarboxilación de piruvato y la translocación de los restos hidroxietilo al **difosfato de tiamina** (TPP). Esta misma enzima es luego la encargada de catalizar la oxidación del grupo hidroxietilo unido al TPP y convertirlo en restos acetilo que son transportados a su vez a la **lipoamida** junto con los equivalentes de reacción obtenidos.
- [2] La segunda enzima, la **dihidrolipoil acetiltransferasa** [E2] desplaza el resto acetilo de la lipoamida hacia la **coenzima A**, dejando atrás el componente dihidrolipoil reducido.
- [3] La tercera enzima, la **dihidrolipoil deshidrogenasa** [E3] es la responsable de reoxidar la dihidrolipoil-lisina, proceso durante el cual produce **NADH**. El **FAD** unido a la enzima absorbe los electrones que son translocados al NAD^+ diluido por medio de un puente de disulfuro de la subunidad de E3 (no se muestra en el gráfico) que posee un efecto catalítico. Esto sólo es posible debido a que el entorno en el que se encuentra el FAD del interior de la proteína E3 le brinda un potencial de reducción-oxidación inusualmente bajo (véase p. 13B).

Las cinco **coenzimas** que forman parte del mecanismo reactivo del complejo enzimático se pueden unir a los componentes enzimáticos de diferentes maneras. El difosfato de tiamina está unido en forma no covalente a E1, mientras que la lipoamida y el resto lisina de E2 sí se encuentran unidas de manera

covalente y el FAD se conecta a E3 como **grupo prostético**. El NAD^+ y la coenzima A, por el contrario, se asocian sólo temporalmente al complejo enzimático ya que pertenecen al grupo de las coenzimas solubles.

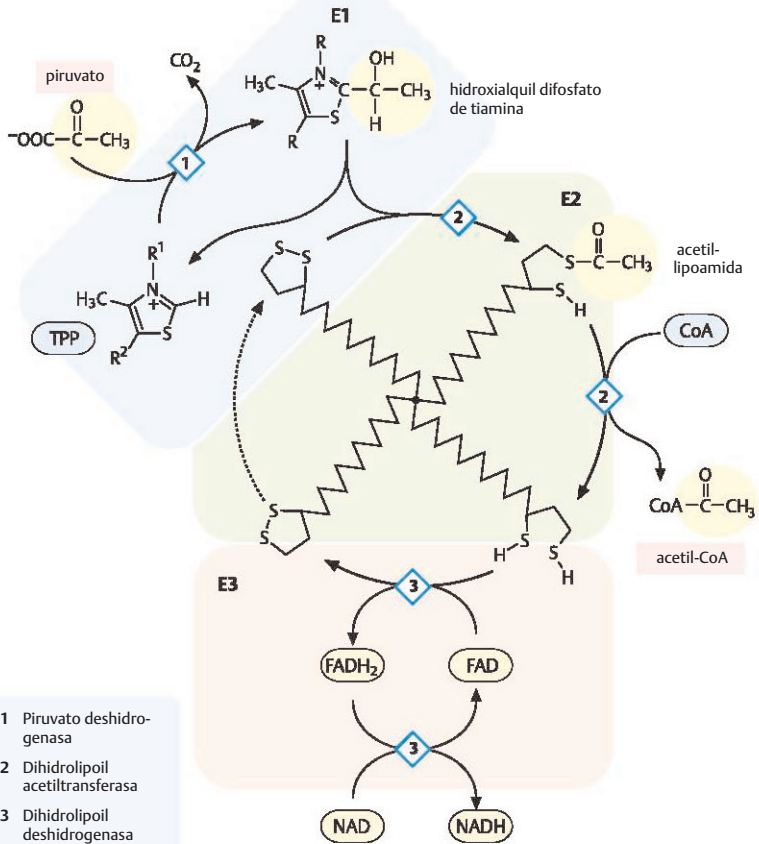
Las relaciones espaciales entre los componentes del complejo constituyen un factor determinante de la catálisis de PDH. La coenzima lipoamida de unión covalente es parte de un dominio móvil de E2, lo que la convierte en una coenzima extremadamente móvil. Durante el proceso de catálisis el **Brazo lipoamida** oscila constantemente entre E1 y E3, lo que le permite entrar en contacto tanto con el TPP unido a E1 como con la coenzima A diluida y el FAD, que actúa como aceptor de electrones en E3.

B. Complejo PDH de la *Escherichia coli*

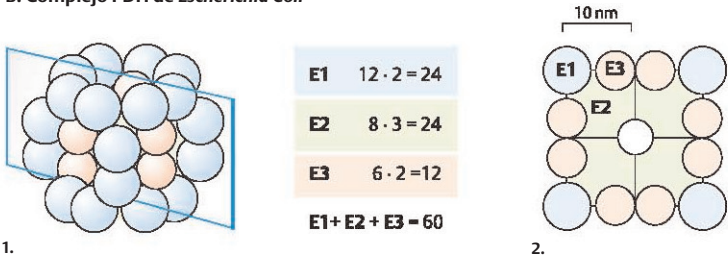
El complejo PDH de la bacteria *Escherichia coli* ha sido objeto de numerosos estudios a lo largo de los años. Tiene un diámetro superior a los 30 nm, su tamaño es mayor al de un ribosoma, y una masa de $5.3 \cdot 10^6$ Da. Está compuesto por un total de 60 polipéptidos (1, 2): 24 moléculas de E2 (8 trímeros) conforman el núcleo cubiforme. Cada una de las seis caras de este cubo contiene dímeros de componentes de E3 mientras que en sus 12 aristas se localizan moléculas dimeras de E1. Si bien las oxoácido deshidrogenasas de los animales tienen una estructura muy similar, el número de subunidades y la masa varían ampliamente de las de este tipo de bacterias.

Información adicional. La reacción PDH es prácticamente irreversible y se lleva a cabo en un momento estratégico; entre el metabolismo de carbohidratos y de lípidos. Libera además los restos acetilo necesarios para iniciar el ciclo de Krebs. Es por ello que el organismo regula la actividad de la PDH de manera muy estricta. En las células animales, la **interconversión** desempeña un papel clave (véase p. 102B). Algunas **proteínas cinasas** específicas de PDH desactivan los componentes de E1 mediante fosforilación, mientras que las **proteínas fosfatasa**s son las encargadas de reactivarlos. La unión de cinasas y fosfatasa al complejo PDH está regulada por metabolitos. Es así como la presencia de altos niveles de concentración de acetil-CoA, por ejemplo, fomentan la unión de cinasas e inhiben la reacción, mientras que el Ca^{2+} aumenta la actividad de las fosfatasa. La hormona insulina activa el PDH impidiendo que se lleve a cabo la fosforilación.

A. Piruvato deshidrogenasa: reacciones



B. Complejo PDH de Escherichia Coli



Ciclo de Krebs: reacciones

El **ciclo de Krebs** o ciclo del ácido cítrico es una ruta metabólica cíclica que tiene lugar en la matriz mitocondrial. En ocho pasos realiza la oxidación de restos acetilo ($\text{CH}_3\text{-CO-}$) para producir dióxido de carbono (CO_2), proceso en el cual se obtienen equivalentes de reacción que son desplazados luego a NAD^+ y a la ubiquinona y de éstos a la cadena respiratoria (véase p. 120). En la página 116 se describen otras de las funciones del ciclo de Krebs en el metabolismo.

A. Ciclo de Krebs

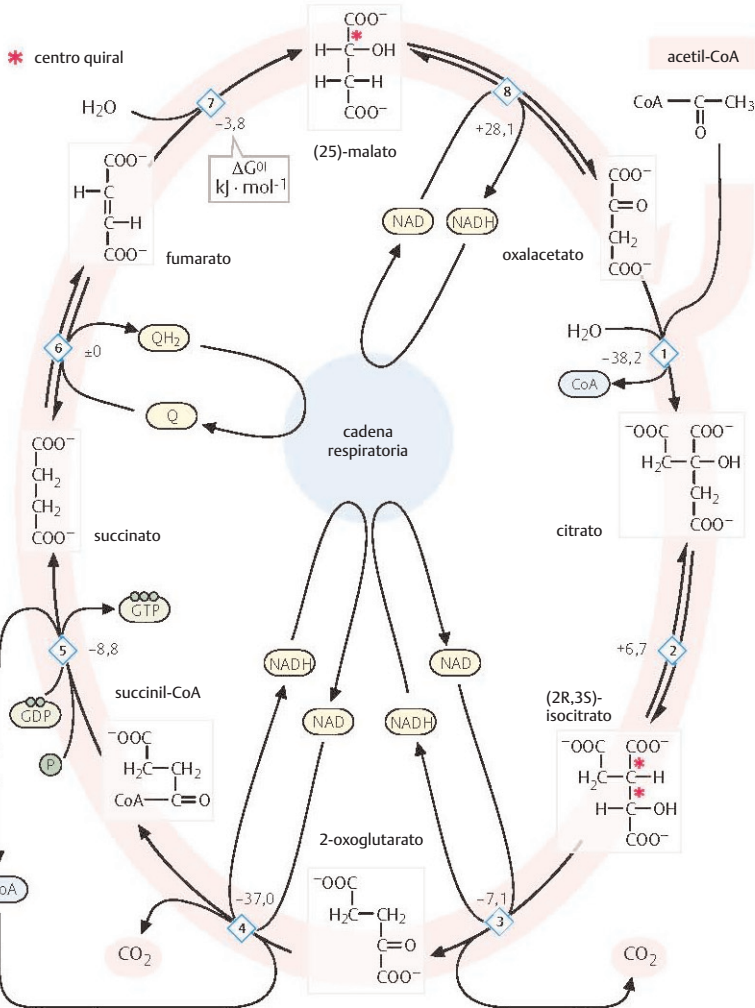
La acetil-CoA constituye la principal precursora del ciclo ya que le brinda los restos acetilo necesarios. Se origina a partir de la β -oxidación de ácidos grasos (véase p. 146) y de la *reacción piruvato deshidrogenasa* (véase p. 112), ambos procesos se llevan a cabo en la matriz mitocondrial.

- [1] En una primera etapa, la *citrato sintasa* [1] cataliza la transferencia a un resto acetilo de la **acetil-CoA** (véase p. 8) a la molécula transportadora oxalacetato. Como resultado de esta reacción exergónica se produce ácido **cítrico** de tres carbonos, de allí que el ciclo de Krebs se denomine también ciclo del ácido cítrico.
- [2] Durante la segunda reacción el citrato se isomeriza y se convierte en **isocitrato** (desplazamiento de un grupo hidroxilo dentro de la molécula). La enzima responsable es la aconitato hidratasa (“aconitasa” [2]), ya que durante la reacción se emplea *aconitato* insaturado (no se muestra en el gráfico) como producto intermedio unido a una enzima. Debido a las propiedades de la aconitasa, la isomerización transcurre de manera completamente *estereoespecífica*: a diferencia del citrato, sustancia no quiral, el isocitrato posee dos centros quirales, es decir que puede presentarse en cuatro formas isoméricas diferentes. En el ciclo de Krebs se produce, no obstante, un único estereoisómero, el (*2R,3S*)-isocitrato.
- [3] Primera etapa de oxidación: la *isocitrato deshidrogenasa* [3] oxida el grupo hidroxilo del isocitrato y lo convierte en grupo cetona al mismo tiempo que uno de los grupos carboxilo se divide, formando CO_2 , y se producen **2-oxoglutarato** (antes llamado α -cetoglutarato) y NADH.
- [4] En el cuarto paso se obtiene **succinil-CoA** que conlleva asimismo un proceso de oxidación y uno de carboxilación. La *2-oxoglutarato deshidrogenasa* [4], un complejo multienzimático muy similar al complejo fuerza catalizadora de esta reac-

ción, en la que se produce nuevamente NADH.

- [5] La posterior división del tioéster succinil-CoA en **succinato** y coenzima A por la acción de la *tiocinasa* [5] es un proceso fuertemente *exergónico* que se emplea en la síntesis de un enlace anhídrido del ácido fosfórico (“*fosforilación de cadenas de sustrato*”, véase p. 104). El organismo, sin embargo, no produce ATP como sería de esperar sino **trifosfato de guanosina (GTP)**, sustancia que sólo puede ser transformada en ATP mediante una *nucleósido difosfato cinasa* (no se muestra en el gráfico).
 - [6] Por medio de las reacciones descritas hasta el momento, el resto acetilo se oxida por completo hasta convertirse en CO_2 . Paralelamente, la molécula transportadora oxalacetato se reduce asimismo a succinato. Durante el ciclo de Krebs se llevan a cabo tres reacciones más, en las cuales el succinato es regenerado para producir nuevamente oxalacetato: la *succinato deshidrogenasa* [6] reduce el succinato a **fumarato**. A diferencia de las demás enzimas del ciclo de Krebs, la succinato deshidrogenasa constituye una proteína integral de la membrana mitocondrial interior. Es por ello que se la clasifica como complejo II de la cadena respiratoria. La succinato deshidrogenasa contiene FAD como grupo prostético, aunque el principal aceptor de electrones es la **ubiquinona**.
 - [7] Al añadir agua a la unión doble del fumarato por medio de la *fumarasa* [7] se crea el compuesto quiral (*2S*)-**malato**.
 - [8] En el paso final del ciclo de Krebs, el malato se vuelve a oxidar (por acción de la *malato deshidrogenasa* [8]) hasta formar nuevamente **oxalacetato**, proceso en el cual se produce asimismo NADH. Se cierra aquí el ciclo y comienza uno nuevo. Como el equilibrio de la reacción está determinado por el malato, la producción de oxalacetato [8] depende de la reacción exergónica [1], que rompe inmediatamente dicho equilibrio.
- A modo de **balance** podemos afirmar que durante el ciclo de Krebs se transforma un resto acetilo y $2 \text{H}_2\text{O}$ en 2CO_2 . Se producen al mismo tiempo 1GTP , $3 \text{NADH} + \text{H}^+$ y 1 ubiquinona reducida (QH_2). La célula genera a partir de estas coenzimas reducidas y por medio de fosforilación oxidativa alrededor de 9 moléculas de ATP (véase p. 122), que junto al recién formado GTP esta cifra asciende a 10 ATP por grupo acetilo.

A. Ciclo de Krebs



- | | | |
|-----------------------------|---|----------------------------|
| 1 Citrato sintasa | 4 Complejo 2-oxoglutarato d ₂ H ₂ O ₂ deshidrogenasa | 6 Succinato deshidrogenasa |
| 2 Aconitato hidratasa | 5 Tiocinasa | 7 Fumarasa |
| 3 Isocitrato deshidrogenasa | | 8 Malato deshidrogenasa |

Ciclo de Krebs: funciones metabólicas

A. Ciclo de Krebs: funciones

El ciclo de Krebs (véase p. 114) se grafica normalmente como rueda del metabolismo intermediario. Cumple funciones tanto catabólicas como anabólicas, es **anfibiólico**.

Como **ruta catabólica** da comienzo a la “**oxidación final**” de los sustratos de energía. Muchas rutas metabólicas desembocan en productos intermedios del ciclo de Krebs o liberan metabolitos tales como piruvato o acetil-CoA que pueden formar parte asimismo del ciclo. Una vez allí, los átomos de carbono son oxidados y transformados en CO₂. Los equivalentes de reducción obtenidos son empleados luego en la **fosforilación oxidativa**, es decir para la producción aeróbica de ATP (véase p. 104). El ciclo de Krebs libera además **componentes de las rutas anabólicas**. Los productos intermedios de este ciclo se convierten en:

- Glucosa (gluconeogénesis, componentes: oxalacetato y malato, véase p. 134),
- Porfirina (componente: succinil-CoA, véase p. 188),
- Aminoácidos (componentes: 2-oxoglutarato, oxalacetato, véase p. 174),
- Ácidos grasos e isoprenoides (componente: citrato, véase más adelante).

En las mitocondrias, los niveles de concentración de productos intermedios del ciclo Krebs son extremadamente bajos. Si bien durante la oxidación de acetil-CoA a CO₂, éstos se regeneran continuamente, su nivel de concentración permanece generalmente constante. Las rutas metabólicas anabólicas que toman productos intermedios del ciclo de Krebs (p. ej. gluconeogénesis) consumirían en poco tiempo las pequeñas cantidades presentes en las mitocondrias en caso de que no ingresen más metabolitos al circuito para reemplazar a las sustancias ya consumidas. Las transformaciones que nutren al ciclo de Krebs obedeciendo a este mecanismo son denominadas **reacciones anapleróticas**. La contrapartida está constituida por reacciones **catapleróticas**, es decir reacciones que extraen del ciclo los metabolitos superfluos. En esta categoría se encuentran las transaminaciones, reacciones que consumen oxalacetato y 2-oxoglutarato (véase p. 168).

La degradación de la mayoría de los aminoácidos es de carácter anaplerótico, ya que de ella surgen intermediarios del ciclo de Krebs o piruvato (**aminoácidos glucogénicos**, véase p. 168). Es por ello que se puede afirmar que este proceso constituye la base de la gluconeogénesis. Uno de los pasos anapleróticos más importantes del metabolismo ani-

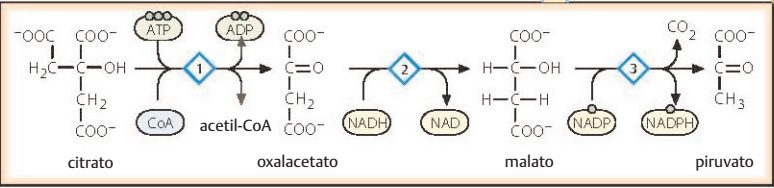
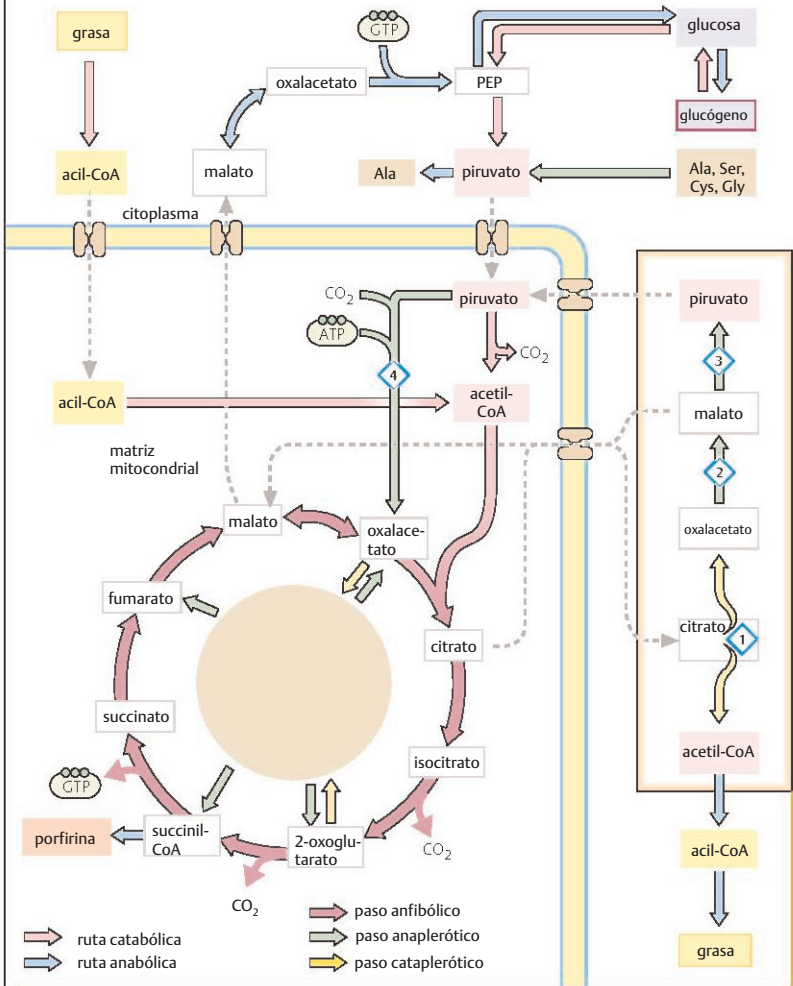
mal consiste en la transformación de piruvato en oxalacetato. Esta reacción consume ATP y es catalizada por medio de la **piruvato carboxilasa** [4]. Así es que sustancias como los aminoácidos liberadores de piruvato y lactato son empleadas en el proceso de gluconeogénesis.

La **acetil-CoA**, por el contrario, tiene un efecto **no anaplerótico** en el metabolismo animal. En el ciclo de Krebs, el esqueleto carbonado de la acetil-CoA se oxida por completo hasta convertirse en CO₂, impidiendo que el organismo lo utilice en algún mecanismo de biosíntesis. La única sustancia que se libera durante la degradación de ácidos grasos es la acetil-CoA. Esto explica que los animales no sean capaces de transformar los ácidos grasos en glucosa. Es por ello, a su vez, que en períodos de ayuno el organismo utiliza primero las proteínas y no las reservas de grasa. A diferencia de los ácidos grasos, los aminoácidos liberados en este proceso pueden mantener constantes los niveles de glucosa (véase p. 378).

El ciclo de Krebs no sólo absorbe acetil-CoA resultante de la degradación de ácidos grasos sino que también aporta el material necesario para la **biosíntesis de ácidos grasos** e isoprenoides. La acetil-CoA, producida en la matriz de las mitocondrias gracias a la acción de la piruvato deshidrogenasa (véase p. 112), es incapaz de atravesar la membrana mitocondrial interior. Esto ocasiona que el resto acetilo y el oxalacetato se condensan por medio de la **citrato sintasa** y se conviertan en citrato, que es luego expulsado de la mitocondria al tiempo que ingresa malato por medio de un antiportador (parte derecha del gráfico, véase p. 118). Una vez en el citoplasma, el citrato se divide en acetil-CoA y oxalacetato por medio de la **citrato liasa** [1], una enzima que consume ATP. La **malato deshidrogenasa** [2] del citoplasma reduce el oxalacetato a malato, que es transportado de regreso al interior de la mitocondria a través del antiportador mencionado anteriormente. El malato también puede ser oxidado y transformado en piruvato mediante la “**enzima malato**” [3] en un proceso de descarboxilación. El NADPH resultante es utilizado asimismo en la biosíntesis de ácidos grasos.

Información adicional. Las plantas y bacterias son capaces de transformar la acetil-CoA en succinato mediante el **ciclo del glioxilato** para incorporarlo luego al ciclo de Krebs. Es por ello que en estos organismos la degradación de ácidos grasos tiene un efecto anaplerótico. En las plantas esta ruta metabólica está localizada en orgánulos especiales llamados **glioxisomas**.

A. Ciclo de Krebs: funciones



- 1 Citrato liasa
- 2 Malato deshidrogenasa
- 3 Enzima malato
- 4 Piruvato carboxilasa

Transporte mitocondrial

Las mitocondrias están rodeadas por dos membranas (véase p. 206). La *membrana exterior* contiene **porina**, sustancia que la hace permeable a moléculas con una masa inferior a los 10 kDa (véase 206), a diferencia de la *membrana interior*, impermeable incluso frente a moléculas pequeñas (los gases como el O_2 y el CO_2 constituyen la excepción). Esto provoca que tanto los sustratos del metabolismo mitocondrial como sus productos deban atravesar la mitocondria con ayuda de un **transportador** específico. Existe un sistema de transporte especial a lo largo de ambas membranas encargado de que ingresen proteínas codificadas en el núcleo (véase p. 218).

A. Transporte de metabolitos

La intensidad y dirección del transporte de metabolitos a través de la membrana mitocondrial depende de la situación metabólica. En el gráfico de la derecha se muestran diversos procesos de transporte que combinan los diferentes "pools" de metabolitos del citoplasma y de la matriz mitocondrial en un entorno catabólico (izquierda) y anabólico (derecha).

En el citoplasma, los **carbohidratos** son convertidos en *piruvato* que llega a la matriz con la ayuda del *transportador monocarboxilato* (1), mientras que el NADH lo hace indirectamente a través de otro tipo de *transportadores* (3) (véase C). Los **ácidos grasos** ingresan a la matriz en forma de acil-CoA a través del *transportador de carnitina* (2, véase p. 146) mientras que el **amino nitrógeno** se incorpora principalmente en forma de glutamina y glutamato. El ATP formado en la matriz mitocondrial es expulsado al citoplasma a cambio de ADP.

En situaciones anabólicas las mitocondrias expulsan sobre todo **oxalacetato** y **citrato**, que actúan como precursores de la gluconeogénesis y de la biosíntesis de ácidos grasos. Los transportadores involucrados en este proceso se describen más detalladamente en B.

B. Tipos de transporte

El transporte relacionado con la hidrólisis de ATP, es decir el transporte primario activo (véase p. 210), no resulta relevante a nivel mitocondrial. Los procesos de transporte son impulsados principalmente por el **gradiente de protones** y el **potencial de membrana** a través de la membrana interna (véase p. 108). La distribución desigual de iones y el hecho de que la concentración de H^+ en el espacio intermembrana sea entre 10 y 100 veces mayor (véase p. 120), provoca que el potencial de la matriz sea entre 180 y 200 mV más negativo que en el exterior de la mitocondria. Esto resulta favorable para todos los procesos de

transporte en los que se transfiera una carga negativa de la matriz hacia el espacio intermembrana o carga positiva hacia la matriz. Esto se aplica por ejemplo a la *ADP/ATP-transportasa* y al *transportador de tricarboxilato*, tal y como se puede observar a partir de la carga de los metabolitos transportados (números rojos).

El **piruvato** producido en el citoplasma (izquierda) ingresa a la matriz mediante el antiportador a cambio de OH^- . Si bien se trata aquí de un proceso *electroneutral*, los iones de OH^- reaccionan en el espacio intermembrana de manera irreversible con los iones de H^+ allí presentes. Como resultado de esta reacción se produce agua. De esta manera se mantiene constante el gradiente de concentración de OH^- . El cotransporte de **fosfato** y H^+ mediante el *transportador de fosfato* es impulsado a su vez por el gradiente de protones.

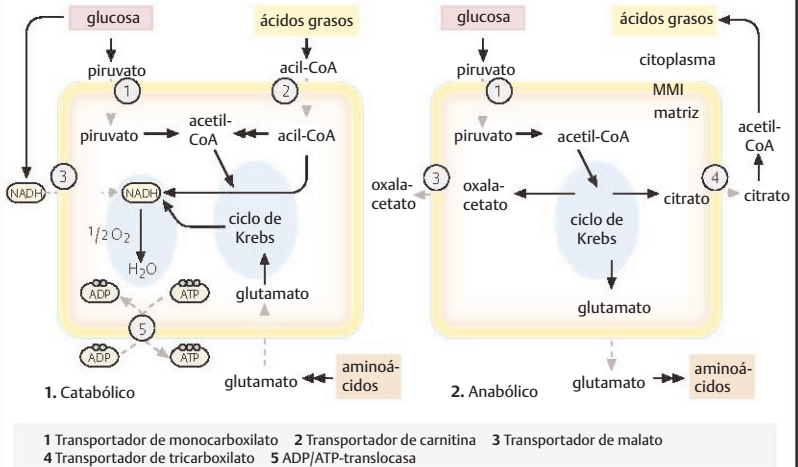
C. Transportador de malato y glicerofosfato

En la membrana interna no existe ningún transportador de NADH, por lo que éste debe ingresar a la matriz indirectamente.

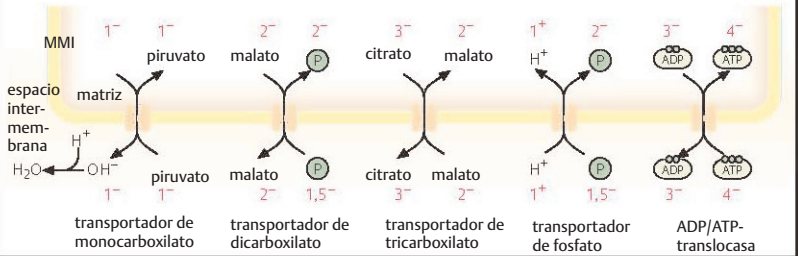
En el caso del **transportador de malato** (izquierda), activo en el corazón, hígado y riñones por ejemplo, el oxalacetato es reducido mediante la malato deshidrogenasa [1a] con la ayuda de NADH hasta ser transformado en malato. Éste ingresa a su vez a la matriz unido al antiportador a cambio de 2-oxoglutarato. Una vez allí, la isoenzima mitocondrial de la MDH (malato deshidrogenasa) [1b] regenera el oxalacetato y el NADH. Este último es reoxidado a través de la cadena respiratoria mientras que el oxalacetato, sustancia para la cual no existe ningún transportador en la membrana interior, es transformado en aspartato por medio de la aspartato transaminasa [2a]. El aspartato es expulsado nuevamente de la matriz y libera oxalacetato en el citoplasma para el paso [1a] y glutamato para ser así transportado una vez más a la matriz [2b]. A modo de resumen podemos afirmar entonces que el NADH se desplaza del citoplasma hacia la matriz sin consumir ATP.

El **transportador de glicerofosfato** (derecha) se encuentra activo en la musculatura y en el cerebro de los animales superiores. En este proceso se emplea NADH citoplasmático para reducir glicerona-3-fosfato, un intermediario de la glucólisis, a **glicerol-3-fosfato** [3a], que ingresa al espacio intermembrana a través de la porina y vuelve a ser oxidado en la cara externa de la membrana interior y convertido a glicerona-3-fosfato mediante la *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa* [3b]. Los equivalentes de reducción se incorporan a la cadena respiratoria por medio de la **ubiquinona (Q)**.

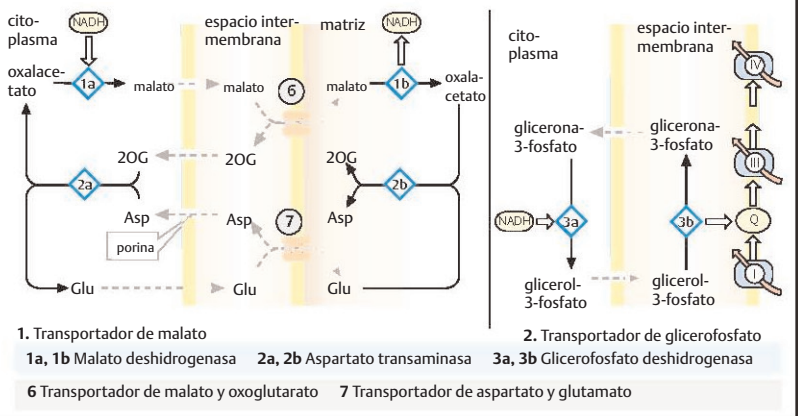
A. Transporte de metabolitos



B. Tipos de transporte



C. Transportador de malato y glicerofosfato



Cadena respiratoria

La *cadena respiratoria* forma parte del proceso de *fosforilación oxidativa* (véase p. 110). Es la encargada de catalizar el transporte progresivo de electrones de NADH o ubiquinona reducida (QH₂) hacia el oxígeno molecular. Se trata de una reacción fuertemente exergónica (véase p. 12) debido a la gran diferencia de potencial redox entre el donante (NADH o QH₂) y el aceptor (O₂). Una gran parte de la energía obtenida en este proceso es utilizada para generar un gradiente de protones en la membrana mitocondrial interior y éste, a su vez, para producir ATP a partir de la *ATP-sintasa*.

A. Componentes de la cadena respiratoria

La *cadena de transporte de electrones* está compuesta por tres grandes complejos proteicos (**complejos I, III y IV**), todos éstos integrados en la membrana interna de la mitocondria, y dos moléculas de transferencia móviles: **ubiquinona** (coenzima Q) y **citocromo c**. Pese a que pertenece en realidad al ciclo de Krebs, la *succinato deshidrogenasa* es considerada el **complejo II** de la cadena respiratoria. La *ATP-sintasa* (véase p. 122) suele ser denominada también **complejo V** a pesar de que no participa en el transporte de electrones.

Estos complejos están compuestos por numerosas subunidades y contienen **cofactores redox** unidos a proteínas (véanse pp. 86 y 122). Entre ellas figuran la *flavina* (FMN o FAD en los complejos I y II), los **centros hierro-azufre** (en I, II y III) y los **grupos hemo** (en II, III y IV). Sólo 13 de los más de 80 polipéptidos de la cadena de transporte están codificados por el genoma mitocondrial (véase p. 126). Todos los demás son codificados en el núcleo y deben ser trasladados a las mitocondrias tras ser sintetizados en el citoplasma.

Los electrones se incorporan a la cadena de transporte a través de diferentes rutas. Durante la oxidación de NADH mediante el **complejo I** se unen a la ubiquinona (Q) por medio de FMN y los centros Fe/S. Los electrones obtenidos a partir de la oxidación de succinato, acil-CoA y otros sustratos se incorporan por medio de la *succinato deshidrogenasa* y otras *deshidrogenasas mitocondriales* a la ubiquinona a través del FADH₂ unido a la enzima, y de la flavoproteína transportadora de electrones (ETF, véase p. 146). El ubiquinol transfiere electrones al **complejo III**, que los traspasa a su vez a la pequeña proteína hemo *citocromo c* a través de dos grupos hemo de tipo b, uno del centro Fe/S y otro del hemo c₁. El citocromo c transporta los electrones al

complejo IV, la *citocromo c oxidasa*, que tiene como componentes redox activos dos centros de cobre (Cu_A y Cu_B) y los grupos hemo a y a₃, a través de los cuales los electrones se incorporan finalmente al **oxígeno**. Como resultado de la reducción de 2 electrones de medio átomo de O₂ se genera, al menos formalmente, el anión O²⁻, fuertemente básico, que se convierte en agua al unirse con dos protones. La **producción de un gradiente de protones** está conectada al flujo de electrones mediante los complejos I, III y IV (véase p. 108).

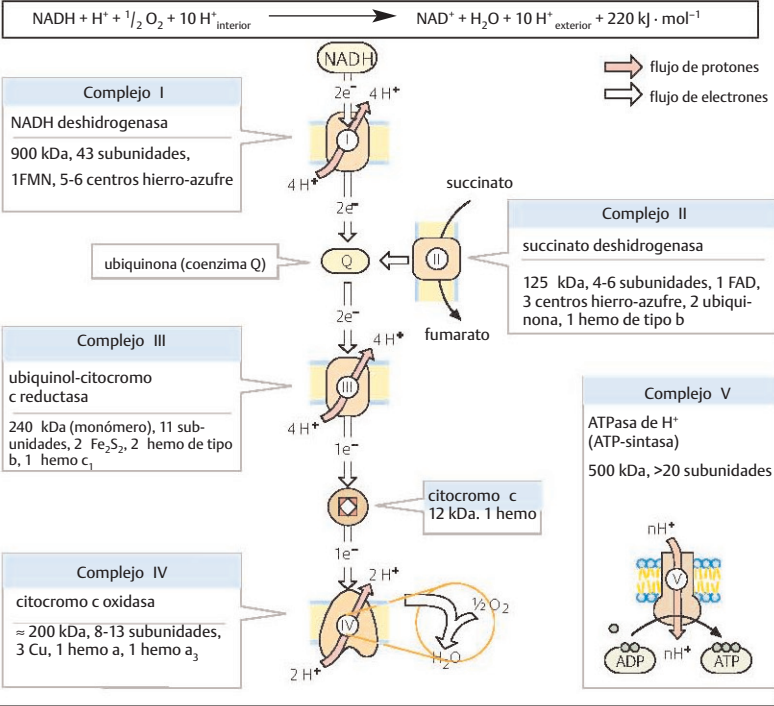
B. Disposición

El transporte de protones a través de los complejos I, III y IV se lleva a cabo siguiendo un cálculo de **vectores** desde la matriz hacia el espacio intermembrana. Si los electrones de desplazan por medio de la cadena de transporte, se produce como consecuencia un incremento en la concentración de H⁺, es decir que el pH disminuye en al menos una unidad. Por cada molécula de H₂O se bombean alrededor de 10 iones de H⁺ al espacio intermembrana. En caso de que la membrana esté intacta, el reflujo de protones a la matriz se puede dar únicamente por acción de la *ATP-sintasa* (véase p. 122). Sobre este principio se basa la relación entre el transporte de electrones y la producción de ATP (véase p. 124).

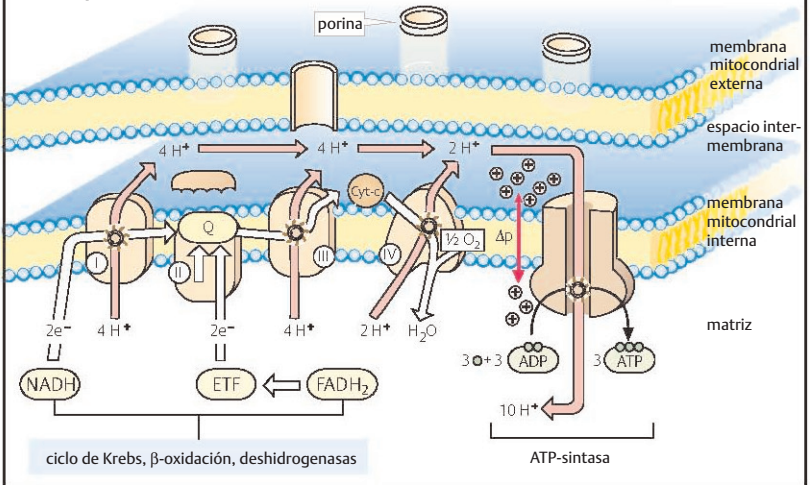
Como mencionamos anteriormente, los complejos I a V se encuentran integrados en la membrana interna de la mitocondria a pesar de que no entran en contacto entre sí, ya que los electrones son transportados a través de la ubiquinona y el citocromo c. Debido a su extensa cadena lateral apolar, la ubiquinona se puede desplazar libremente por la membrana, mientras que el citocromo c, sustancia soluble en agua, está adherido a la *cara externa* de la membrana interna.

La oxidación de NADH mediante el **complejo I** se lleva a cabo en la *cara interna* de la membrana, o sea en la matriz, en donde también se localizan el ciclo de Krebs y la β-oxidación, los dos procesos más importantes en los que se libera NADH. La reducción de O₂ y la producción de ATP se desarrollan asimismo en la matriz con la ayuda de un antiporador. El ATP obtenido ingresa al espacio intermembrana (véase p. 118) al tiempo que éste expulsa ADP. Una vez allí, el ATP es transferido al citoplasma a través de porinas.

A. Componentes de la cadena respiratoria



B. Disposición



Síntesis de ATP

En la **cadena respiratoria** (véase p. 120) los electrones son desplazados desde NADH o ubiquinol (QH₂) hacia la molécula de O₂. La energía obtenida en este proceso se emplea para **generar un gradiente de protones** en la membrana mitocondrial interna. La **síntesis de ATP** depende por ello de que se produzca un reflujo de protones del espacio intermembrana hacia la matriz.

A. Sistemas redox de la cadena respiratoria

El traspaso de electrones de NADH al oxígeno se desarrolla de manera progresiva circulando a lo largo de al menos diez sistemas redox intercalados de los cuales en su mayor parte se encuentran unidos como **grupos prostéticos** en los complejos I, III y IV. Llama la atención la gran cantidad de coenzimas que están involucradas en el transporte de electrones. Como se explica en la página 12, en las reacciones redox, la entalpía libre ΔG , es decir el rendimiento químico, varía únicamente de acuerdo con la diferencia de potencial redox entre el donante y el aceptor. La cantidad de energía que consume una reacción no sufre ninguna modificación al incluir nuevos sistemas redox.

En el caso de la cadena respiratoria, la diferencia de los potenciales normales del donante (NAD⁺/NADH, E⁰ = -0,32 V) y del aceptor (O₂/H₂O, E⁰ = +0,82 V) corresponde a una diferencia energética ΔG° superior a los 200 kJ · mol⁻¹, cantidad que se divide luego en pequeños “paquetes”, cuyo tamaño está determinado por la diferencia de los potenciales redox de cada uno de los **productos intermedios**. Sólo en este proceso de división el organismo consume el 60% de toda la energía disponible para la cadena respiratoria.

En el gráfico se pueden observar los sistemas redox más importantes del transporte mitocondrial de electrones y sus respectivos potenciales redox (valores aproximados). Estos potenciales son los responsables de determinar la ruta por la que circularán los electrones, ya que los eslabones de una **serie redox** deben estar ordenados en sentido ascendente para que el transporte se lleve a cabo de manera espontánea (véase p. 12).

En el **complejo I**, los electrones pasan de NADH+H⁺ al FMN (véase p. 86) para atravesar luego varios **centros hierro-azufre (Fe/S)**. Estos sistemas redox sólo son estables dentro de las proteínas. Contienen, según el tipo, entre 2 y 6 iones de hierro que forman complejos al entrar en contacto con sulfuro inorgánico y grupos SH de restos cisteína. La **ubiquinona** (coenzima Q, véase p. 12) es un

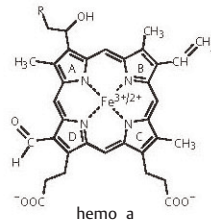
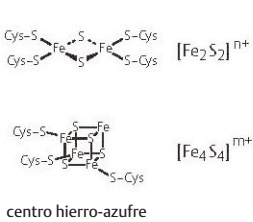
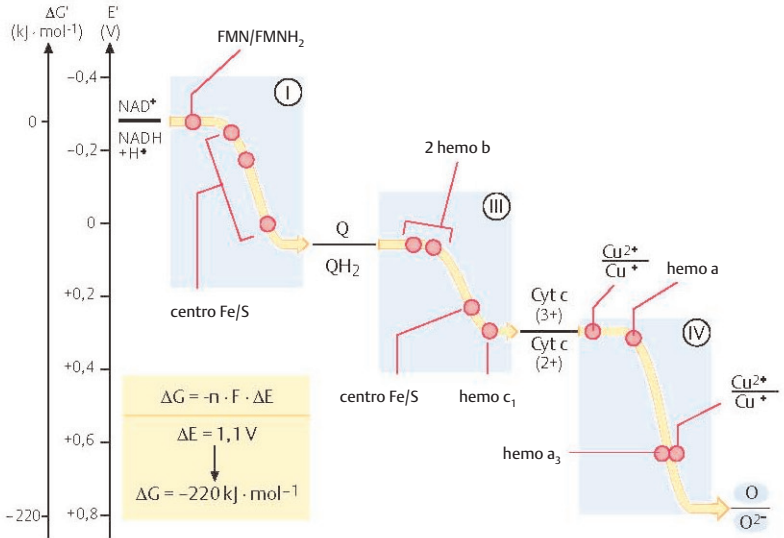
transportador móvil que absorbe los electrones de los complejos I y II así como de la ETF para incorporarlos al **complejo III**. Los **grupos hemo** y sus numerosas variantes participan asimismo del proceso de transporte de electrones. Los hemo de tipo b son los que componen la hemoglobina (véase p. 286). El hemo c del citocromo c se encuentra unido en forma covalente a la proteína, mientras que anillo tetrapirrólico del hemo a está isoprenilizado y contiene un grupo formilo. En el **complejo IV**, un **ion cobre** (Cu_B) y el hemo a₃ reaccionan directamente con el oxígeno.

B. ATP-sintasa

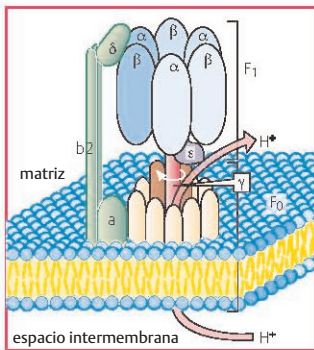
La **ATP-sintasa** transportadora de H⁺ (**complejo V**) constituye una compleja “máquina molecular”. La enzima está conformada por dos partes, un **canal de protones** (F₀, “sensible a la oligomicina”) integrado a la membrana y una **unidad catalítica** (F₁) que sobresale de la matriz. La parte F₀ está compuesta por doce péptidos c que tensan la membrana y la atraviesan y una subunidad a. La “cabeza” de la parte F₁ está formada por tres subunidades α y tres subunidades β , entre las cuales se localizan tres centros catalíticos activos. La “base” de la estructura entre F₀ y F₁ está compuesta por una subunidad γ y una subunidad ϵ . Existen asimismo dos polipéptidos, b2 y δ , que forman una especie de “estátor”, encargado de fijar de manera relativa las subunidades α y β con la parte F₀.

El ciclo catalítico puede dividirse en tres fases, cada una de las cuales pasa por los tres centros catalíticos activos. En la primera fase se unen el ADP y P_i, luego se forma el enlace de anhídrido y por último se divide el producto. Cuando los protones fluyen a lo largo del canal proteico F₀, los tres centros activos pasan al siguiente estado. Se supone que la energía del transporte de electrones se utiliza primero en una rotación de la subunidad γ que cambia en forma cíclica la conformación de las subunidades α y β relativamente estáticas en la parte F₀, promoviendo de esta manera la síntesis de ATP.

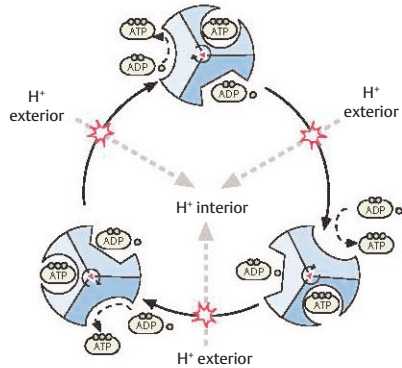
A. Sistemas redox de la cadena respiratoria



B. ATP-sintasa



1. Estructura y localización



2. Ciclo catalítico

Regulación del metabolismo energético

La degradación de los nutrientes y la producción de ATP deben adaptarse continuamente a los cambiantes requerimientos de energía del organismo. Esto pone de manifiesto la necesidad de coordinar la producción y el consumo de ATP ya que la *cantidad total* de coenzimas presentes en el organismo son insuficientes. Si bien el cuerpo humano produce alrededor de 65 kg de ATP por día, en total contiene sólo entre 3 y 4 g de nucleótidos de adenina (AMP, ADP y ATP). Esto ocasiona por lo tanto que cada molécula de ADP deba ser fosforilada hasta transformarse en ATP y desfosforilada nuevamente miles de veces al día.

A. Control respiratorio

El **control respiratorio** constituye un mecanismo sencillo de regulación que adapta "automáticamente" la síntesis de ATP al consumo. Consiste en *acoplar* el ciclo de Krebs (1), la cadena respiratoria (2) y la síntesis de ATP (3) a través de coenzimas comunes.

Cuando la célula consume bajas cantidades de ATP (1), la mitocondria deja prácticamente de producir ADP. Sin el ADP la *ATP-sintasa* (3) no puede disminuir el gradiente de protones en la membrana mitocondrial interna, lo que inhibe a su vez el transporte de electrones en la cadena respiratoria de manera tal que el NADH no puede ser reoxidado a NAD⁺. Esto provoca que aumente la relación NADH/NAD⁺, lo que inhibe el ciclo de Krebs y afecta por ende la degradación de los sustratos AH₂. Por el contrario, el incremento en el consumo de ATP (2) estimula la degradación de nutrientes y la cadena respiratoria. Al impedir la formación de un gradiente H⁺, ya sea por desacoplamiento (3, véase B) u otro fenómeno, se aceleran la oxidación del sustrato (1) y el transporte de electrones (2). Durante este proceso, sin embargo, el organismo no produce ATP sino que genera únicamente calor.

B. Desacoplantes

Aquellas sustancias que separan funcionalmente la oxidación y la fosforilación se denominan **desacoplantes**. Las proteínas desacoplantes son las encargadas de disipar el gradiente de protones permitiendo que los iones H⁺ se desplacen desde el espacio intermembrana hacia la matriz mitocondrial sin la participación de la ATP-sintasa.

Este desacoplamiento puede ser causado por daños en la membrana interna o por compuestos liposolubles capaces de transportar protones a través de la membrana, como por ejemplo el **2,4-dinitrofenol** (1). La proteína **UCP-1** (del inglés *uncoupling protein 1*, también

llamada "termogenina", 2) actúa como desacoplante natural. Es un canal iónico de las mitocondrias del *tejido adiposo pardo*, presente en los recién nacidos y en los animales que hibernan, cuya única función consiste en generar calor. El frío activa la *lipasa sensible a hormonas* [1] (véase p. 330) debido a la acción de la *noradrenalina* (p. 434). La exacerbación de la lipólisis favorece la producción de grandes cantidades de ácidos grasos libres en los tejidos adiposos que activan el transporte de H⁺ mediante la segregación de UCP-1. Esto provoca a su vez que la descomposición de ácidos grasos se lleve a cabo independientemente de la cantidad de ADP disponible, es decir alcanza niveles de velocidad máxima y libera únicamente calor. Cada vez resulta más evidente que en otras células existen asimismo otros tipos de proteínas UCP reguladas por hormonas como la tiroxina (véase p. 426). Así es como controlan la producción de ATP y, en consecuencia, el metabolismo basal.

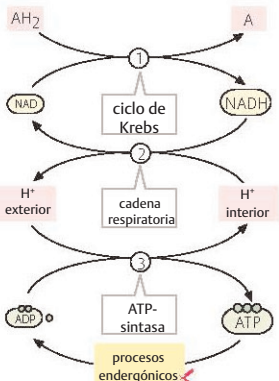
C. Proteincinasa dependiente de AMP

Otro de los mecanismos globales de regulación del metabolismo energético se basa en la actividad de una determinada proteincinasa (véase p. 410) que se activa por medio del adenosinmonofosfato (AMP). Este mecanismo regula la actividad de las rutas anabólicas y catabólicas en relación con la disponibilidad de ATP. Esta *proteincinasa dependiente de AMP* (AMPK) actúa principalmente en el hígado, los músculos y el sistema nervioso central.

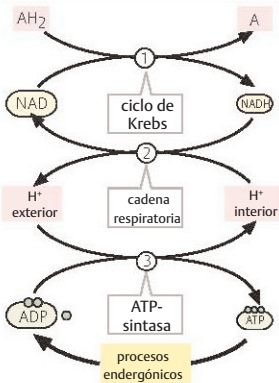
Las rutas anabólicas y ciertos procesos endergónicos como la contracción muscular consumen grandes cantidades de ATP, aumentando de esta manera el nivel de concentración de ADP dentro de la célula. Al incrementarse, la *adenilato cinasa* [2] (véase p. 344) comienza a transformar más ADP en ATP y **AMP**, lo que induce a su vez que se active la AMPK, responsable de la fosforilación de numerosas enzimas clave del metabolismo intermediario (véase p. 100). Esto inhibe las rutas anabólicas que consumen ATP al mismo tiempo que activa las vías catabólicas que lo producen. Al aumentar nuevamente la concentración de ATP, el organismo deja de producir AMP, lo que ocasiona que disminuya la actividad de la cinasa.

En el hígado, la AMPK favorece por ejemplo la β-oxidación de los ácidos grasos y la cetogénesis (véase p. 318), mientras que se inhibe la biosíntesis de ácidos grasos a través de la desactivación de la acetil-CoA carboxilasa (véase p. 150). En los músculos, por su parte, la AMPK fomenta, entre otros procesos, la absorción de glucosa al activar la proteína GLUT4 (véase p. 140) e inhibe la formación de glucógeno.

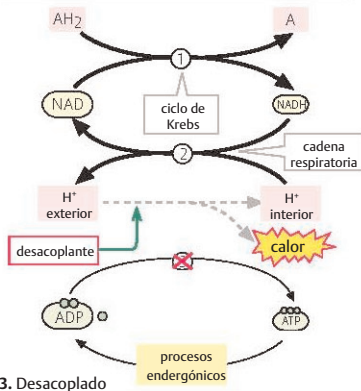
A. Control respiratorio



1. Disminuye la necesidad de ATP

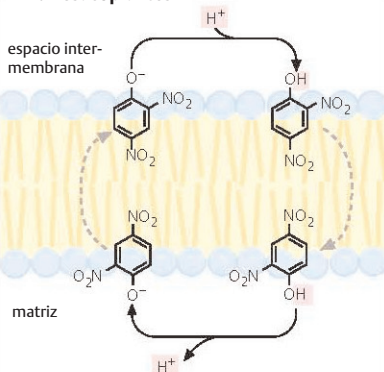


2. Aumenta la necesidad de ATP

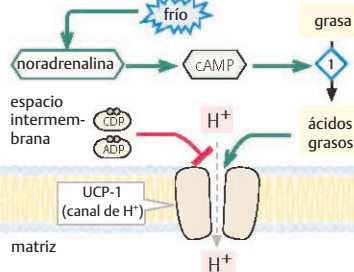


3. Desacoplado

B. Desacoplantes



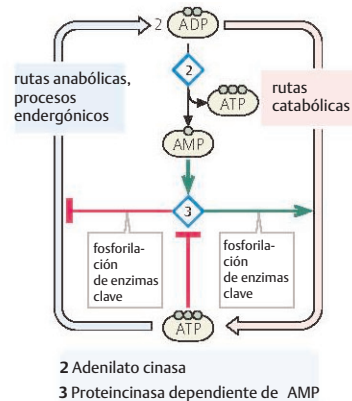
1. 2,4-dinitrofenol



1. Lipasa sensible a hormonas

2. UCP-1 (termogenina)

C. Proteínas dependiente de AMP



2 Adenilato quinasa

3 Proteínas dependiente de AMP

Bioquímica patológica

La mayor parte del ATP celular se genera cuando se lleva a cabo la *fosforilación oxidativa* en las mitocondrias en contacto con oxígeno molecular (O_2) (véase p. 110). Es por ello que los órganos que consumen grandes cantidades de ATP (cerebro, fibras musculares rojas, etc.) dependen directamente de este tipo de obtención de energía más efectivo y pueden verse seriamente afectados en caso de sufrir algún déficit agudo o crónico de oxígeno (*hipoxia*, **A**) o defecto en la función mitocondrial (**B**). Incluso una breve interrupción en la irrigación de sangre oxigenada (en caso de un accidente cerebrovascular o infarto de miocardio) puede ocasionar daños irreversibles en el sistema nervioso central y el miocardio. Es por ello que el estudio de los procesos bioquímicos que ocurren en la célula permitiría lograr grandes avances en el tratamiento de estas afecciones tan frecuentes.

A. Hipoxia

Existe una serie de mecanismos fisiológicos y bioquímicos que aseguran la irrigación de O_2 al aumentar la demanda o disminuir su disponibilidad. La falta transitoria de O_2 se compensa de la siguiente manera (1): el *pulmón* aumenta la incorporación de O_2 al aumentar la frecuencia respiratoria y la ventilación a la vez que el *corazón* se contrae más rápido y con más fuerza, lo que le permite transportar más sangre por unidad de tiempo. En los *eritrocitos* los efectores alostéricos de la hemoglobina tales como el 2,3-bisfosfoglicerato (véase p. 290) se encargan de que los tejidos reciban más O_2 . Al sufrir episodios continuos de hipoxia a largo plazo aumenta el número de eritrocitos (*hematocrito*) por acción de hormonas como la eritropoyetina (epo). Hoy en día se sabe que las células del cuerpo cuentan asimismo con mecanismos que adaptan el metabolismo a una posible hipoxia. En este proceso resultan de vital importancia los factores de transcripción (véase p. 240) denominados *factores inducibles por hipoxia* (HIF).

El activador de genes más estudiado es el **HIF-1 α** que se une al DNA y favorece a través del mediador CBP/p300 (véase p. 243) la transcripción de genes cuyos productos son requeridos en condiciones de hipoxia. Entre ellos figuran no sólo numerosas enzimas de la glucólisis y otras rutas metabólicas, sino también la hormona epo productora de sangre (véase más arriba), y algunos factores de crecimiento que mejoran la irrigación vascular de los tejidos a largo plazo.

Se ha podido constatar por qué el HIF-1 α se activa únicamente en condiciones de

hipoxia (2): cuando la disponibilidad de O_2 es normal (**normoxia**, izquierda), las prolinil y asparaginil hidroxilasas [1] hidroxilan los restos prolina y asparagina de HIF-1 α . Cuando la **proteína VHL** se une a la proteína hidroxilada el complejo es degradado por el proteasoma (véase p. 162). En caso de que se produzca un déficit de O_2 (**hipoxia**, derecha) no existe tal hidroxilación, lo que permite que el HIF-1 α se una al factor de transcripción activo.

B. Enfermedades mitocondriales

El DNA funcional se encuentra no sólo en el núcleo celular sino también en las mitocondrias (DNAmt, véase p. 206), aunque cabe mencionar que el **genoma mitocondrial** representa menos del 0,1% del DNA total de la célula. En el ser humano, el DNAmt está compuesto por una hélice doble circular de 16.569 pares de bases que contiene 37 genes. La mayoría de los genes codifican los RNA requeridos en la traducción y únicamente 13 proteínas que se presentan como subunidades de los complejos de la cadena respiratoria. Las proteínas mitocondriales restantes están codificadas en el núcleo y deben ser transportadas a la mitocondria tras la traducción.

Las enfermedades originadas a causa de mutaciones del DNAmt son denominadas **enfermedades mitocondriales**. En la Tabla de la derecha se enumeran algunos de los trastornos más frecuentes. El cuadro clínico puede incluir desde pequeñas disfunciones hasta graves daños en los órganos que pueden manifestarse incluso desde edades tempranas. Los tejidos que consumen más energía son los más afectados por este tipo de enfermedades. Entre los síntomas más frecuentes se encuentran la debilidad muscular (*miopatías*) y trastornos neurológicos.

Según una teoría muy controvertida (aunque carente de fundamentos sólidos), la creciente degeneración de los órganos en **edad avanzada** está ocasionada por la acumulación de mutaciones en el genoma mitocondrial. Las mutaciones del DNAmt son de hecho especialmente frecuentes ya que las mitocondrias contienen, por un lado, grandes concentraciones de "especies reactivas del oxígeno" (ERO, véase p. 288) que favorecen el desarrollo de mutaciones, y carecen al mismo tiempo de las enzimas reparadoras de DNA (véase p. 254).