

BIOENERGÉTICA

5.1 CONCEPTOS GENERALES

En las unidades de Nutrición y Enzimas tratados con anterioridad se ha expresado que la Bioquímica es una ciencia que intenta explicar los fenómenos vitales con los esquemas de la Física y la Química, es decir, aplicar a los fenómenos biológicos las mismas leyes que a la materia inorgánica. Al hablar de nutrición se explicó la forma en que los organismos obtienen *energía* de los alimentos que ingieren y que algunas formas de desnutrición (marasmo, kwashiorkor) y la muerte por inanición se relacionan con un desequilibrio energético. Al explicar el mecanismo de acción de las enzimas se mencionó una barrera *energética* que es necesario vencer para que una reacción *termodinámicamente* posible, ocurra por acción enzimática.

Es por tanto, necesario explicar algunos conceptos relacionados con la energía para comprender la *bioenergética* o *termodinámica bioquímica*, que estudia los cambios de energía que acompañan a las reacciones bioquímicas.

5.1.1. Conceptos Termodinámicos

Se utiliza el término *sistema* para designar una porción de materia que se desea estudiar; toda otra materia será el medio que rodea al sistema.

Un sistema posee un contenido energético que comprende un sinnúmero de formas de energía y la suma de todas se conoce como *energía interna* (E) del sistema. En física se dice que energía es todo aquello capaz de producir trabajo. Sin embargo, de todo ese contenido energético de un sistema, sólo una porción está disponible para realizar *trabajo* y es la *energía útil*; a esa porción de la energía total se le conoce como *energía libre* (FoG) o de Gibbs. Un *sistema* es un conjunto de cuerpos que contienen materia y energía, cuyo estado se define en términos de presión, temperatura y composición. El contenido total de energía de un sistema antes de que ocurra un proceso se designa como *estado inicial*, y el contenido de energía del sistema después de ocurrido el proceso que interesa estudiar se conoce como *estado final*. Medir los cambios de energía que ocurren durante un determinado proceso puede resultar difícil, pero resulta más fácil y preciso determinar el contenido energético del sistema en el estado inicial y en el estado final y calcular el cambio, que se acostumbra simbolizar con la letra griega delta mayúscula (A).

Si presión y temperatura con constantes, los cambios de energía se relacionan únicamente con la composición del sistema. Existen varios tipos de sistemas: Se define como *sistema aislado* aquel que no intercambia materia y energía con su medio. *Sistema cerrado* es aquel que intercambia energía pero

Considerando que cada mol de ATP requiere 7.3 Kcal para formarse, la cantidad de energía liberada cuando el NADH cede sus electrones al O₂ equivale aproximadamente a siete veces la que se requiere para la síntesis de un mol de ATP. Sin embargo, en realidad sólo se forman 3 moles de ATP en la fosforilación oxidativa; por tanto, la eficiencia del proceso es:

$$\text{EFICIENCIA} = \frac{\text{REAL}}{\text{IDEAL}} \times 100 = \frac{3}{7.3} \times 100 = 41.6\%$$

Esta eficiencia es muy alta si se compara con la de las mejores máquinas construidas por el hombre. Considerando en conjunto todos los procesos mitocondriales, este sistema ha alcanzado, a lo largo de la evolución, un grado de perfección difícilmente imaginable.

5.3. CADENA RESPIRATORIA

Toda la energía útil liberada durante la *oxidación* de los nutrimentos energéticos se aprovecha en las mitocondrias bajo la forma de equivalentes reductores (hidrógeno o electrones). El más importante de los sistemas de oxidorreducción en las células es la *cadena respiratoria* que es un sistema de transferencia de hidrógenos y electrones catalizada por proteínas enzimáticas ordenadas en forma secuencial en la membrana mitocondrial interna. Los equivalentes reductores son extraídos de los sustratos en el ciclo de Krebs o la P-oxidación de ácidos grasos y transportados a través de la cadena de transporte electrónico hasta el último aceptor de electrones, el oxígeno molecular, para formar agua.

5.3.1. Estructura Mitocondrial

La mitocondria ha sido llamada con toda propiedad, la "planta motriz" o el organelo

"ergopoyético" de la célula, puesto que aquí se produce la mayor parte de la energía derivada de la respiración (ciclo de Krebs, oxidación de ácidos grasos). En este organelo existen, además, los transportadores de electrones de la cadena respiratoria y los integrantes de un sistema acoplado de fosforilación oxidativa generadora de ATP.

El número de mitocondrias de un tejido es variable y refleja el grado de actividad metabólica aeróbica del mismo. El eritrocito no tiene mitocondrias y no puede generar energía a partir de oxígeno. En cambio, el tejido cardíaco es un tejido muy aeróbico; se calcula que la mitad del citoplasma son mitocondrias. El hígado posee entre 800 a 2000 mitocondrias por célula; es también un tejido muy aeróbico.

La mitocondria está formada por dos membranas, una *membrana externa* y una *membrana interna* con muchas invaginaciones llamadas *crestas mitocondriales* (fig. 5.3). La membrana externa es muy sencilla, está compuesta por 50% de lípidos (fosfolípidos y colesterol) y 50% de proteína con pocas funciones enzimáticas y de transporte. Sin embargo en la membrana externa existen muchas unidades de una proteína denominada *porina*, la cual forma canales que permiten difundir libremente sustancias con un peso molecular de 10,000. Existen también enzimas que llevan a cabo biosíntesis de ácidos grasos y fosfolípidos. La membrana interna es más compleja, está constituida en un 80% por proteínas y contiene todas las enzimas implicadas en el transporte de electrones (cadena respiratoria) y en la fosforilación oxidativa, deshidrogenasas y sistemas de transporte de sustrato y metabolitos entre el citosol y la *matriz mitocondrial*. Una característica particular de la mitocondria respecto a otros organelos es que posee su propio DNA. Es un DNA circular parecido al de las bacterias. Esto ha permitido proponer una hipótesis sobre el origen de las mitocondrias, que supone son procedentes de

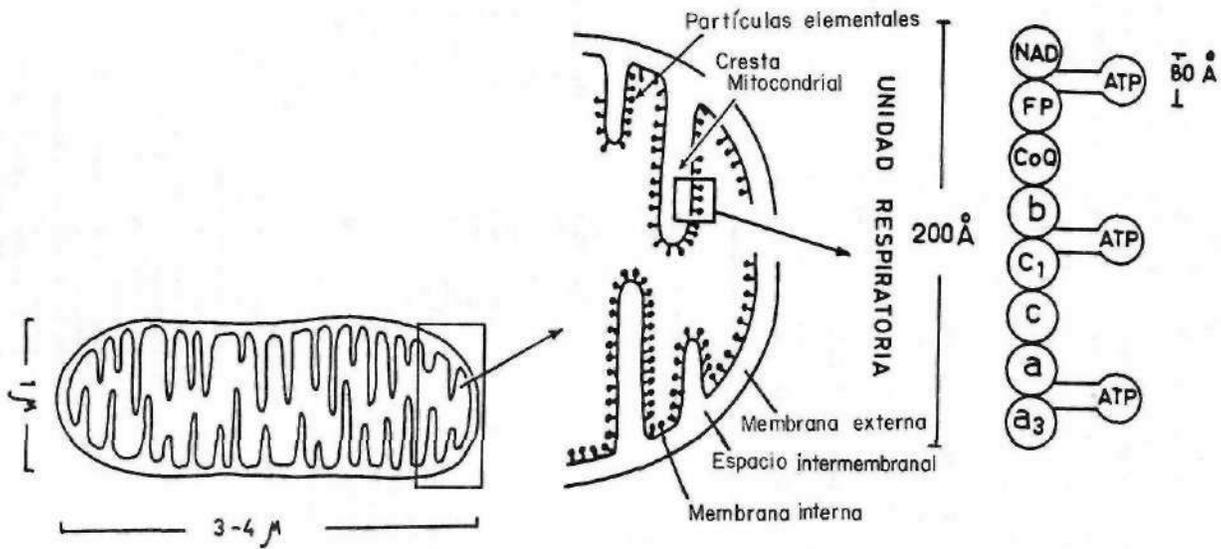


Fig. 5.3. Estructura mitocondrial.

primitivas bacterias que se establecieron en simbiosis con las células eucarióticas.

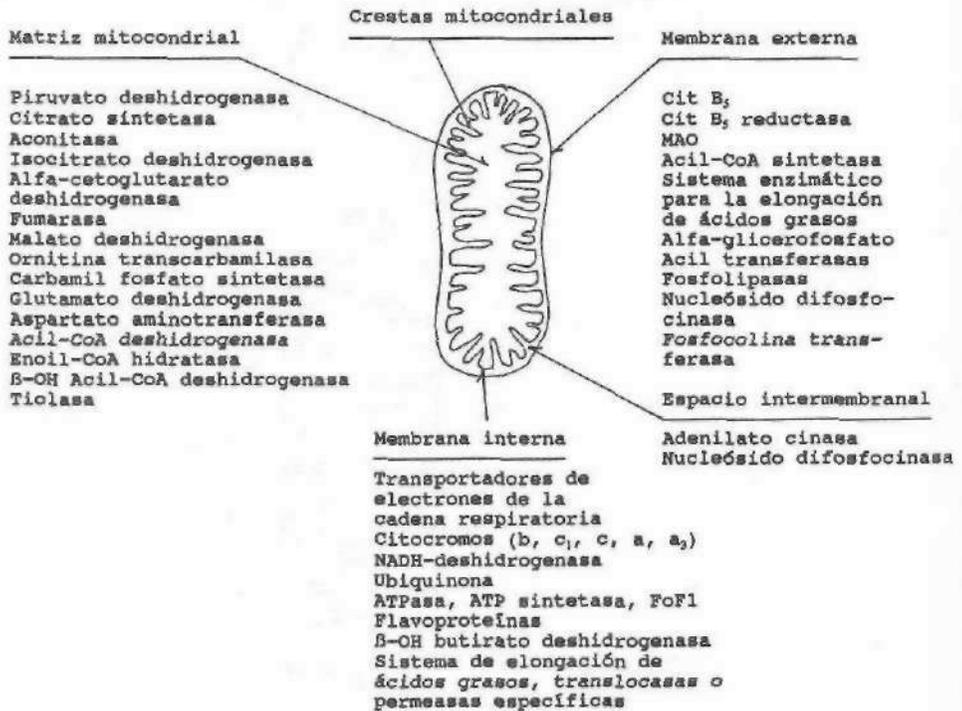
La membrana interna de las mitocondrias a diferencia de la membrana externa es prácticamente impermeable a sustancias polares. Existen proteínas transportadoras específicas que permiten el paso en forma controlada. Esta membrana tiene varios pliegues que se denominan *crestas*, cuyo número es proporcional a la actividad metabólica de la célula.

El espacio entre las membranas externa e interna se conoce como *espacio intermembranal* y tiene una composición química similar al citosol.

En el interior de la mitocondria se localiza la *matriz mitocondrial* rica en enzimas, se encuentran las del ciclo de Krebs, p-oxida-

ción y otras relacionadas con el metabolismo de glúcidos, aminoácidos y ácidos grasos. Existe en la matriz mitocondrial el DNA circular, ribosomas y las enzimas necesarias para la biosíntesis de proteínas, codificadas por el genoma mitocondrial. Sin embargo, las mitocondrias no son autónomas, la mayor parte de las proteínas mitocondriales son codificadas por el DNA nuclear.

Debe recordarse que la morfología de la mitocondria no es constante; se observan profundos cambios en el tamaño, forma y organización de membranas entre un estado de reposo a uno con actividad intensa. También cambia en forma apreciable su fisiología por la acción de algunas sustancias como la tiroxina.



53.1.1. Respiración Celular

Lo que se entiende por respiración, antes de conocer las bases bioquímicas de los procesos oxidativos, se refiere realmente al transporte de oxígeno desde el medio ambiente a la célula y, dentro de ésta, a la mitocondria. Es aquí donde se realiza la verdadera respiración o *respiración celular*. El proceso consiste en la transferencia de sustratos reducidos que cederán, primero sus hidrógenos, y luego los electrones hasta el oxígeno como aceptor final.

5.3.2. Deshidrogenasas

Se puede considerar el descubrimiento de las deshidrogenasas realizado por Thunberg a principios de siglo, como el inicio de lo que hoy se conoce como cadena respiratoria. Thunberg descubre la acción de enzimas deshidrogenasas capaces de catalizar la oxidación de ciertos sustratos en ausencia absoluta de oxígeno, utilizando azul de metileno como aceptor de hidrógeno el cual al reducirse se decolora transformándose en leucobase. Las deshidrogenasas pertenecen al grupo de enzimas llamadas oxidorreduc-tasas.

5.3.2.1. Coenzimas de Oxidorreducción

Algunas deshidrogenasas poseen como coenzimas a derivados de la vitamina nicotinamida como por ejemplo el nicotinamida adenina nucleotico (NAD_+) (Fig. 5.4.)

Otra coenzima de captación de equivalentes reducidos es el NADP^+ cuya estructura es muy parecida al NAD^+ con un fosfato mas en la ribosa adenilica (Fig. 5.5).

Muchas deshidrogenasas utilizan coenzimas derivadas de la vitamina B2 (riboflavina) como son *el flavin mononucleotico* (FMN) y *el flavin adenindinucleotico* (FAD) (Fig. 5.6).

La coenzima Q (CoQ), también llamada *ubiquinona* por su estructura química y ubicuidad, no pertenece al grupo de los dinucleotidos, tiene una estructura isoprenoide muy semejante a las vitaminas K y E. La CoQ sirve como transportador "móvil", que opera con deshidrogenasas ligadas a flavina como las NADH deshidrogenasas (Fig. 5.7). La coenzima Q es el único eslabón de la cadena respiratoria no unido a proteínas. Debido a su carácter hidrofóbico (estructura isoprenoide) se puede alojar en la zona hidrofóbica de la bicapa lipica de la membrana interna de la mitocondria y puede actuar como un portador móvil de electrones. La ubiquinona acepta hidrógenos y se reduce a dihidroquinona (CQH_2), en la siguiente etapa al reoxidarse cede dos electrones al sistema de citocromos y quedan dos protones libres en el medio.

Los equivalentes de reducción (hidrógeno) se extraen de los sustratos en el ciclo de Krebs, P-oxidación de ácidos grasos o indirectamente de la glucólisis y se dirigen secuencialmente, de acuerdo a su potencial redox a los diferentes eslabones de la cadena respiratoria.

Los equivalentes de reducción se introducen en la cadena respiratoria a nivel del NAD^+ o CoQ a partir de las reacciones de las deshidrogenasas ligadas a NAD^+ o **FAD**. Este sistema de transporte está dispuesto de tal manera que los miembros reducidos de los pares redox se oxidan por el miembro oxidado del siguiente componente del sistema (Fig. 5.8).

5.3.2.3. Donadores de Hidrógenos

Los equivalentes reducidos (hidrógenos) provenientes de sustratos del ciclo de Krebs, P-oxidación y otras vías metabólicas son catalizados por deshidrogenasas específicas y llegan a la cadena transportadora de hidrógenos a diferentes niveles (Fig. 5.9)

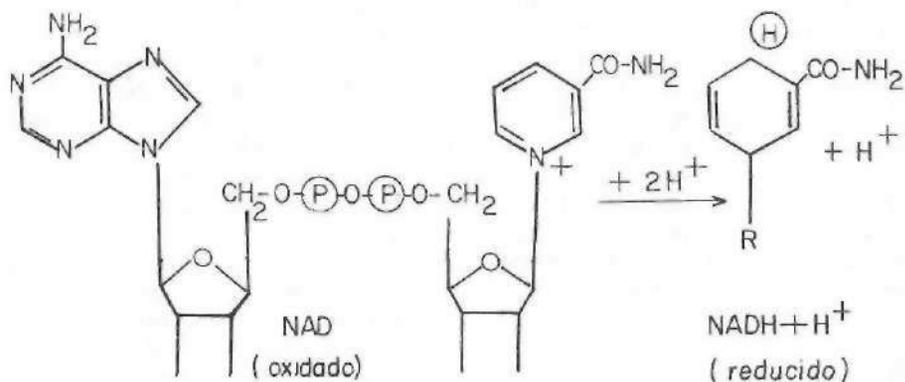


Figura 5.4 Mecanismo de captación de equivalentes reducidos (hidrógenos) por el NAD⁺

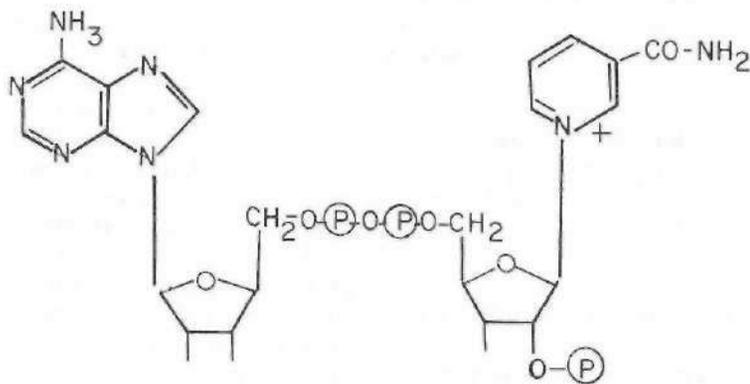


Fig. 5.5. Estructura del nicotín-adenín-dinucleótido fosfato (NADP⁺).

5.3.3 Citocromos

Paralelamente al descubrimiento de las deshidrogenasas por Thunberg, Warburg descubre que el cianuro, sustancia a la que son insensibles las deshidrogenasas, inhibe la respiración a bajas concentraciones. A la

enzima inhibida por cianuro, Warburg la denomina "enzima respiratoria" o *atmungsferment*. Los descubrimientos fueron difíciles de correlacionar entre sí, hasta que Szent Györgyi sugirió que las flavoproteínas podrían ser las intermediarias entre las deshidrogenasas de Thunberg y la enzima de

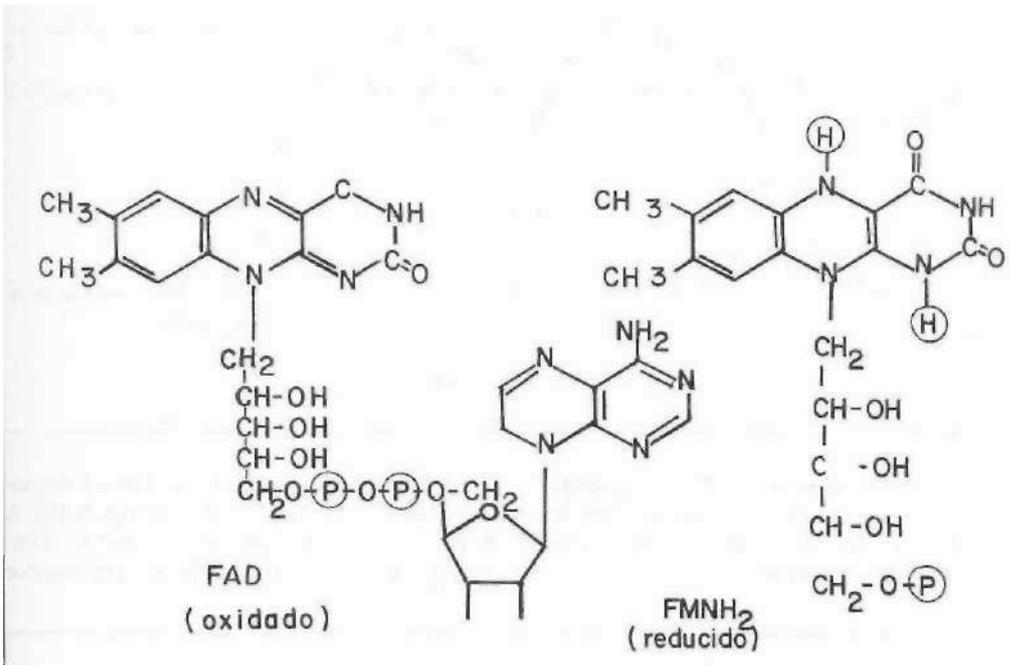


Fig. 5.6. Estructura del FAD (oxidado) y el FMN₂ (reducido). Obsérvese el sitio de incorporación de los hidrógenos(H)

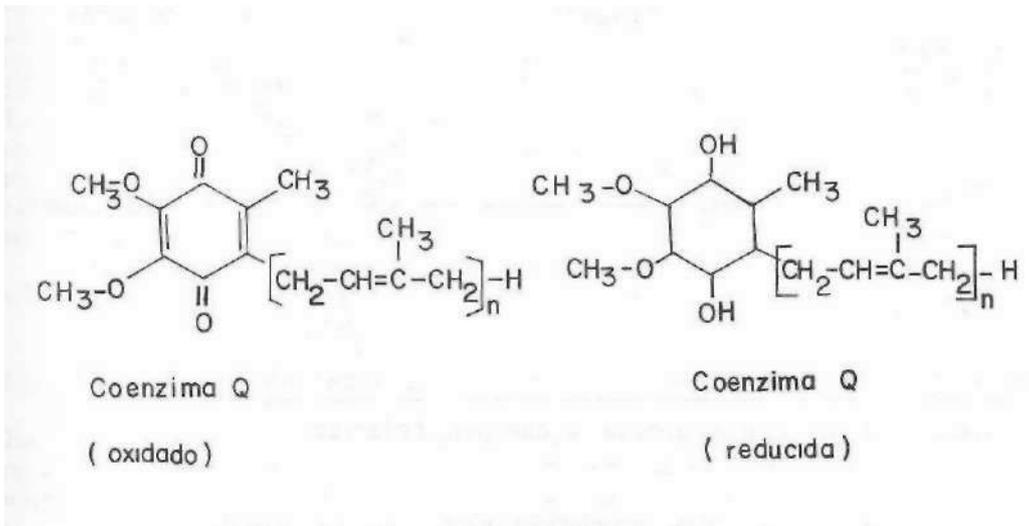


Fig. 5.7. Coenzima Q oxidada (CoQ) y reducida (CoQ-H₂)

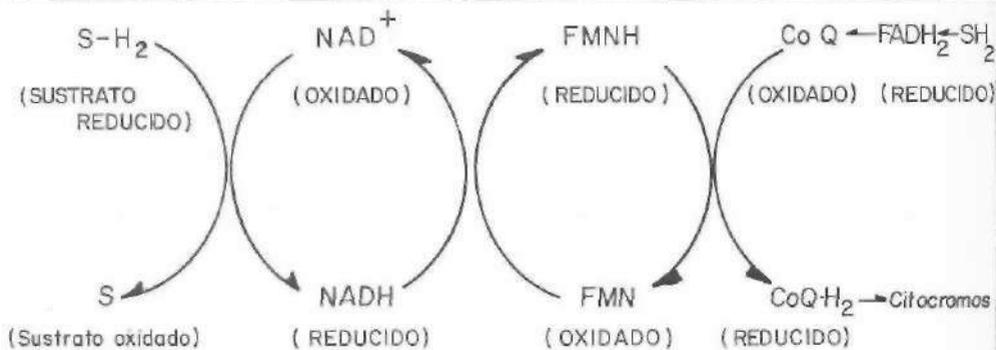


Fig. 5.8. Transporte de hidrógenos.

Warburg. Posteriormente Keilin descubre los *citocromos*; confirma que la enzima de Warburg es uno de ellos y que posee hierro, ya que es inhibida por cianuro.

Los citocromos son una clase de nenioproteínas que contienen hierro (fig. 5.10). A diferencia del grupo hemo de la hemoglobina en la que el hierro del hemo permanece

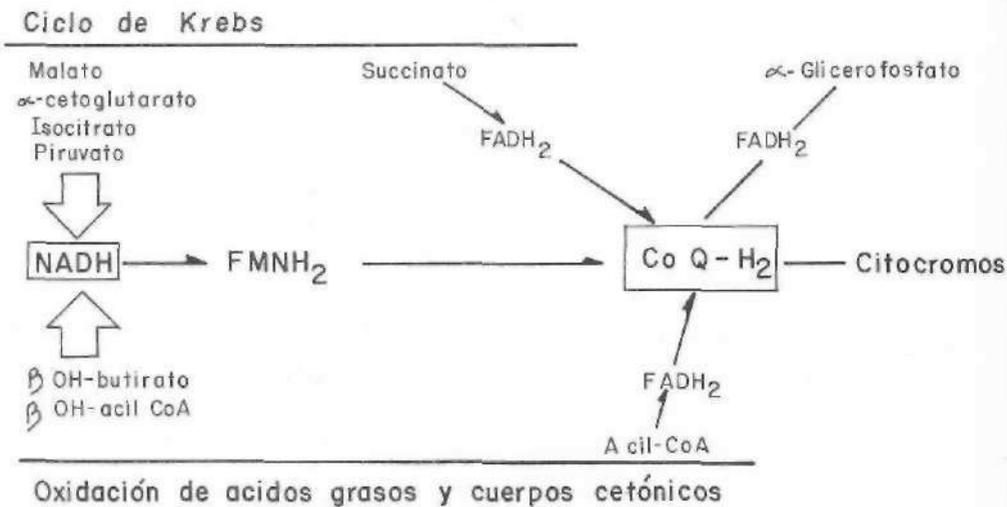


Fig. 5.9. Donadores de hidrógenos para la cadena respiratoria.

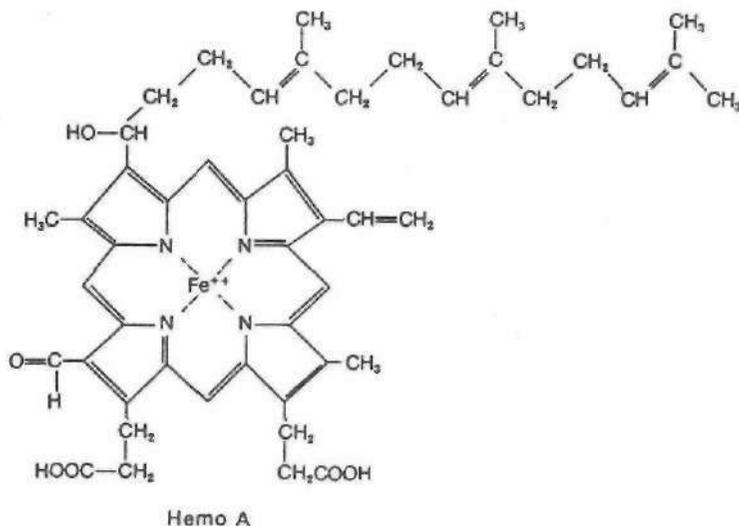


Fig. 5.10. Estructura del hemo del citocromo a.

en estado ferroso (Fe^{++}), el hierro del grupo hemo de los citocromos está alternadamente oxidado (Fe^{3+}) o reducido (Fe^{2+}) en la transferencia de electrones hacia el aceptor más ávido de ellos, el oxígeno.

Los citocromos de las mitocondrias se designaron a, b y c en base de la banda **a** de su espectro de absorción y al tipo de grupo hemo. Sin embargo, el orden en que actúan transportando electrones es diferente:



5.3.3.1. Transporte de Electrones

En las reacciones de transferencia de hidrógenos del NADH a la coenzima Q se transportan dos hidrógenos (dos protones y dos electrones). Al llegar a la C0QH2, se continúan transportando dos electrones por

los citocromos, pero un par de protones H^+ se liberan al espacio intermembranar, el cual se acidifica.

El transporte de electrones, se inicia al ser captados por el citocromo b; el hierro del grupo hemo oxidado (Fe^{3+}) al aceptar un electrón (e^-) se transforma en hierro reducido (Fe^{2+}). Recordar que reducción equivale a ganancia de electrones.

En la fig. 5.11 se ilustra la secuencia de reacciones en el transporte de electrones hasta el último aceptor.

5.3.3.2. Nivel de energía de las Reacciones

Durante la transferencia de hidrógenos y electrones desde el par NADH/NAD^+ a la molécula de oxígeno se produce un descenso de potencial redox de 1.14V que de acuerdo a la ecuación de Nernst, produce un cambio

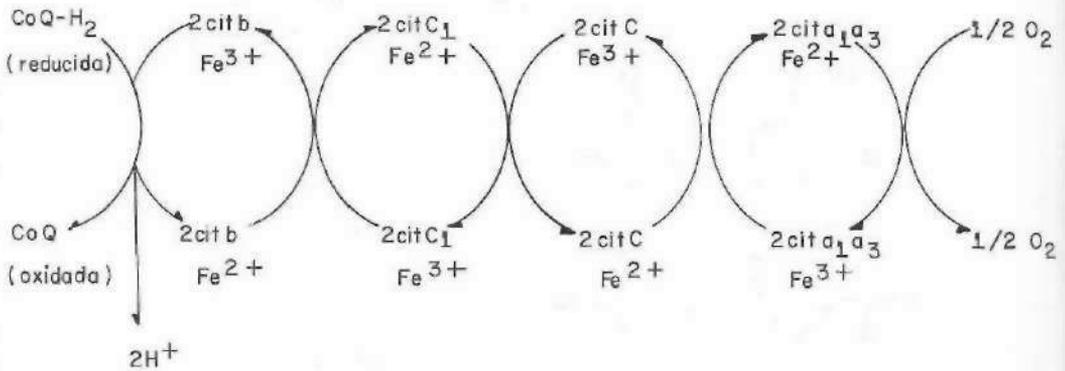


Fig. 5.11. Transporte mitocondrial de electrones. Adviértase que en los citocromos la transferencia es unielectrónica, por ello se requieren dos citocromos, uno por cada electrón transportado.

de energía libre de 52.6 Kcal por mol. Esta caída de potencial tiene lugar en etapas a medida que los hidrógenos o electrones pasan por los distintos eslabones de la cadena.

En todas las reacciones de la cadena se produce liberación de energía, pero solo en tres de ellas existe un sistema fosforilante acoplado que permite la síntesis de ATP; el resto de la energía liberada en las otras reacciones se pierde en forma de calor (energía no útil) que sin embargo, mantienen la temperatura corporal de los organismos homeotérmicos (mamíferos) en forma casi constante (=36.5°C).

ávido de electrones, y en la cadena transportadora de electrones mitocondrial determina el flujo electrónico. Finalmente llegan al oxígeno dos electrones que completarán su orbital con ocho, pero lo dejan con carga eléctrica negativa.



Los dos protones (hidrogeniones, H⁺) producidos al ceder la C0QH₂ los dos electrones de cada hidrógeno al cit b, son captados por el oxígeno iónico (V2O₂⁻) y forma una molécula de agua:



5.3.3.3. Ultimo aceptor de electrones: Oxígeno

El oxígeno es uno de los elementos de mayor electronegatividad en la tabla periódica. Esto significa que es el elemento más

La importancia que tiene el oxígeno como agente que determina el flujo de electrones y con ello la liberación de energía para formar ATP, se demuestra cuando un tejido sufre la falta de oxígeno (hipoxia tisular) como en el

infarto de miocardio, o cuando un tejido como el músculo esquelético demanda mayores cantidades de oxígeno durante el ejercicio intenso.

5.3.3.4. Oxidación Extramitocondrial

Existe otro tipo de transporte electrónico que se encuentra en el sistema retículo endoplásmico o en la fracción microsomal de hígado, así como en tejido esteroideogénico como la corteza suprarrenal, testículo, ovario y placenta.

Este sistema de transporte electrónico utiliza NADPH como fuente de equivalentes de reducción y un citocromo exclusivo de este sistema que no se encuentra en la mitocondria, el citocromo P450 llamado así porque la forma reducida tiene una banda de absorción a 450 nm.

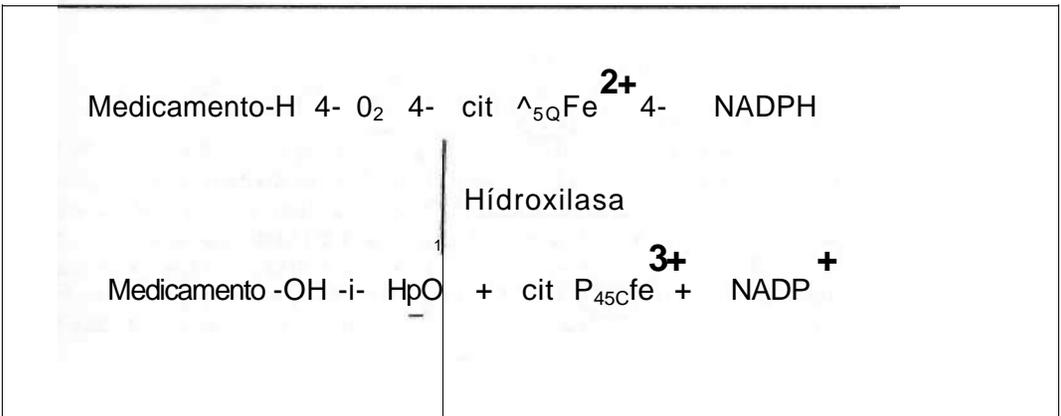
Esta cadena de transporte electrónica no es fosforilante puesto que no se sintetiza ATP. El fin de este sistema es la hidroxilación de ciertos metabolitos o fármacos (como fenobarbital, aminopirina, morfina y otros) esteroides o esteróles, ácidos grasos, hidrocarburos policíclicos y algunos aminoácidos. Este sistema permite la hidroxilación del colecalciferol (vitamina D3) a las

formas activas 24,25 -dihidroxicolecalciferol y 1,25-dihidroxicolecalciferol.

5.4 FOSFORILACIÓN (FORMACIÓN DE ATP)

Se ha mencionado a lo largo de esta unidad, que la energía contenida en los equivalentes de reducción (hidrógenos) ha sido liberada para ser finalmente almacenada en forma de *compuestos ricos en energía*. Estos compuestos son las sustancias claves del metabolismo energético celular.

Lipmann introdujo el concepto de *enlace de alta energía(-)* y de *enlace fosfato de alta energía (~P)* y con ello se apreció con claridad el papel de estos compuestos en bioenergética. De hecho, la conservación y transferencia de la energía celular se lleva a cabo gracias a la transferencia de grupos fosfatos. Los compuestos más ricos en energía ceden su energía al ADP y lo transforman en ATP, el cual a su vez la distribuye donde la requieren las necesidades celulares. Por consiguiente, el ATP es la figura central en el sistema de transferencia de energía en la célula y, con toda razón se le considera "la moneda energética celular". Esto se ilustra en la Tabla 5.2 donde el ATP



no materia y se denomina *sistema abierto* al que intercambia materia y energía con su entorno. Los sistemas biológicos se presentan como sistemas abiertos o cerrados, isotérmicos (igual temperatura) e isobáricos (igual presión). Un *sistema biológico* puede ser una célula, un organismo, una colonia o hasta el mundo entero.

El comportamiento de un sistema, biológico o inorgánico, se rige por leyes o principios establecidos por una rama de la fisicoquímica que estudia los fenómenos energéticos de los sistemas, la *termodinámica*. La aplicación de las leyes de la termodinámica a los seres vivos resulta de extraordinaria utilidad si se considera que los procesos bioquímicos, son reacciones químicas que deben ajustarse en todo a las leyes que rigen el comportamiento de los procesos termodinámicos. La *termoquímica* es una rama de la termodinámica que estudia los cambios de calor asociados con las reacciones químicas. Con ayuda de la termoquímica se puede predecir la factibilidad de una reacción y la cantidad de calor que liberará o que debe administrarse para que pueda realizarse.

La termodinámica clásica también se llama "termodinámica de equilibrio" porque sus principios se cumplen sólo cuando se alcanza el equilibrio. Sin embargo, la condición de equilibrio es incompatible con la vida; los seres vivos deben mantener sus procesos lejanos del equilibrio. Según Bichat, "la vida es el conjunto de funciones que se resisten a la muerte". En términos ter-

modinámicos, la vida es el conjunto de factores que tienden al equilibrio pero impiden que éste se alcance.

Las limitaciones de la termodinámica clásica se superan gracias a la "termodinámica de los procesos irreversibles" o "termodinámica de desequilibrio".

Sin embargo, como la termodinámica clásica permite obtener información de los fenómenos vitales, estudiaremos aquellos aspectos aplicables a los procesos bioquímicos cuyo conocimiento resulta imprescindible para entender los principios generales de la bioenergética.

La primera ley de la termodinámica establece que la energía total de un sistema, más la de su entorno, permanece constante. A esta ley se le conoce también como "Ley de la conservación de la energía" que significa que: *la energía no se crea ni se destruye, sólo se transforma*. Sin embargo, dentro de ese sistema total, la energía puede transformarse de una a otra forma, por ejemplo, la energía eléctrica puede transformarse en energía térmica, energía radiante o energía mecánica.

La forma de energía más usual es el *calor* (Q); puede afirmarse que casi todos los eventos físicos o químicos que ocurren en la naturaleza, absorben o desprenden calor al efectuarse, es decir, son procesos *exotérmicos* o *endotérmicos*.

Imaginemos un *sistema aislado*, al cual se le administra una determinada cantidad de calor (Q) lo cual puede provocar un cambio en la energía interna del sistema (AE) o un trabajo que realiza el sistema.

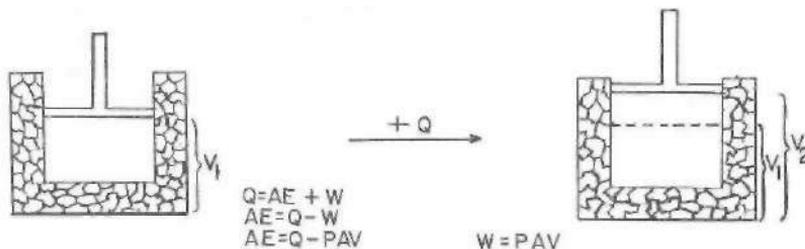


Tabla 5.2
Energía libre estándar de hidrólisis de algunos compuestos ricos en energía

Compuesto	$-\Delta F^{\circ}$ Kcal/mol	$-\Delta F^{\circ}$ KJ/mol
Fosfoenol piruvato	14.8	61.9
Carbamil fosfato	12.3	51.4
1,3 -Difosfoglicerato	11.8	49.3
Fosfocreatina	10.3	43.1
S-Adenosil-metionina	10.0	41.8
Acil-CoA	7.7	32.2
ATP	7.3	30.5
Pirofosfato	6.0	25.1
Glucosa -1- fosfato	5.0	20.9
Fructosa -6- fosfato	3.8	15.9
AMP	3.4	14.2
Glucosa -6- fosfato	3.3	13.8
Glicerol -3- fosfato	2.2	9.2

ocupa una posición intermedia entre los fosfatos y otros compuestos con alta energía y los fosfatos de baja energía.

La célula cuenta con dos mecanismos generadores de ATP que son: a) a partir de compuestos con un contenido de energía mayor que el ATP, denominado *fosforilación a nivel del sustrato* y b) la *fosforilación oxidativa* acoplada a la cadena respiratoria.

5.4.1. A nivel de Sustrato

Intermediarios ricos en energía de la ruta glicolítica como el 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG) y el fosfoenolpiruvato (PEP) pueden transferir su fosfato de alta energía al ADP en reacciones catalizadas por la fosfogliceratocinasa y piruvatocinasa respectivamente. Los ΔF° de estas dos reacciones son -11.8 y -14.8 Kcal/mol respectivamente y, por tanto, la transferencia del fosfato es termodinámicamente posible y da como resultado la síntesis de ATP.

Sustancias como la fosfocreatina y fosfoginina (llamadas tradicionalmente fos-

fágenos) sirven como almacén de energía en el músculo. En condiciones fisiológicas, la reacción de la creatinfosfocinasa permite que las concentraciones de ATP se mantengan constantes en el músculo, aunque se utilice en forma continua.

En el ciclo de Krebs se lleva a cabo una reacción catalizada por la succinatotiocinasa, en la que se forma a nivel de sustrato un ATP a partir de GTP. En esta reacción el compuesto de alta energía no es un fosfato sino un derivado de la coenzima A, succinil-CoA.

5.4.2. Fosforilación Oxidativa

A pesar de los incontables años-hombre empleados en la investigación experimental sobre el mecanismo de la fosforilación oxidativa, aun no existe una descripción precisa. Existen varias teorías razonables y algunas de éstas se aceptan como factibles en la actualidad y serán analizadas a continuación.

Por *fosforilación oxidativa* se entienda la *fosforilación* del ADP para dar ATP utili-

zando la energía liberada en la *oxidación* de las coenzimas de la cadena respiratoria. Los sitios de fosforilación son aquellos lugares de la cadena respiratoria, donde el AF es suficiente para permitir la síntesis de ATP acoplada al transporte electrónico.

El perfeccionamiento de los medios instrumentales ha permitido el descubrimiento de nuevos componentes de la cadena respiratoria.

Tal es el caso de las ferroproteínas no hémicas pertenecientes a las ferrosulfoproteínas: unas están asociadas a la NADH deshidrogenasa, otras a la succinato deshidrogenasa y finalmente, a los citocromos b y c. La importancia de las ferrosulfoproteínas en la cadena respiratoria se debe a que coinciden con los sitios de fosforilación I y II. También se han descubierto dos especies diferentes de citocromo (b^+ y b^-) que difieren en su potencial redox.

Para comprender más acerca del comportamiento de la fosforilación oxidativa con la cadena respiratoria es necesario conocer la disposición espacial de los componentes de la cadena (fig. 5.12).

En la fig. 5.12 se ilustran los complejos formados por coenzimas de oxidoreducción y citocromos denominados *complejos de Green*. Se muestran también los sitios donde se encuentra acoplada la fosforilación con los complejos de la cadena. La razón fósforo/oxígeno indica las moléculas de ATP sintetizadas por átomo de oxígeno consumido. En este sentido, la razón fósforo/oxígeno es igual a *tres* para el caso de los sustratos que utilizan NAD^+ , a *dos* para el caso de los sustratos FAD y a *uno* para el caso del ascorbato. Así, tenemos que los sitios de fosforilación están situados como sigue:

Sitio 1: Entre la flavoproteína 1 (FMN) y $1aCoQ$

Sitio 2: Entre el cit b y el cit C_j

Sitio 3: Entre el cit a, 83 y el oxígeno

La membrana interna posee numerosas estructuras esféricas orientadas hacia el inte-

rior, unidas a la membrana por un pedículo. Estas estructuras, observadas por primera vez por Fernández Moran, se denominaron en un principio "partículas elementales de Fernández Moran" y hoy, más comúnmente, esferas o partículas mitocondriales. Se ha establecido que estas partículas están relacionadas con los sitios de fosforilación (Fig. 5.13).

Al conjunto acoplado que se encuentra dispuesto en un orden funcional dentro de la membrana interna se le conoce como *unidad respiratoria*. Es conveniente conservar en mente este esquema que permite explicar algunas de las teorías propuestas para la fosforilación.

Hasta el momento se han enunciado tres hipótesis que intentan explicar cómo la energía originada en el transporte de equivalentes reducidos y electrones puede ser traducida en energía utilizable en forma de ATP. Estas hipótesis son las siguientes:

Hipótesis química. (Slater, 1953). Slater parte de un hecho bastante comprobado: la naturaleza siempre se imita a sí misma. De esta manera, postula Slater que la fosforilación se lleva a cabo de una manera similar a la que ocurre a nivel del sustrato en la glucólisis. Esta teoría postula la existencia de un intermediario químico muy inestable, con un potencial energético que actuaría como intermediario entre la cadena respiratoria y la síntesis de ATP.

En este sentido, si no hay ADP que fosforilar, el intermediario no podría ceder su fosfato con la consecuente inhibición de la respiración. Sin embargo, esta teoría que fue una de las más conocidas para explicar la fosforilación oxidativa últimamente ha caído en descrédito, por falta de apoyo experimental, ya que no se han logrado aislar los supuestos intermediarios. Además es posible *desacoplar* la cadena respiratoria de la fosforilación. Las otras teorías cada vez reciben más apoyo experimental.

Hipótesis conformacional. (Boyer-Chance, 1964). Esta hipótesis tiene analogía con el

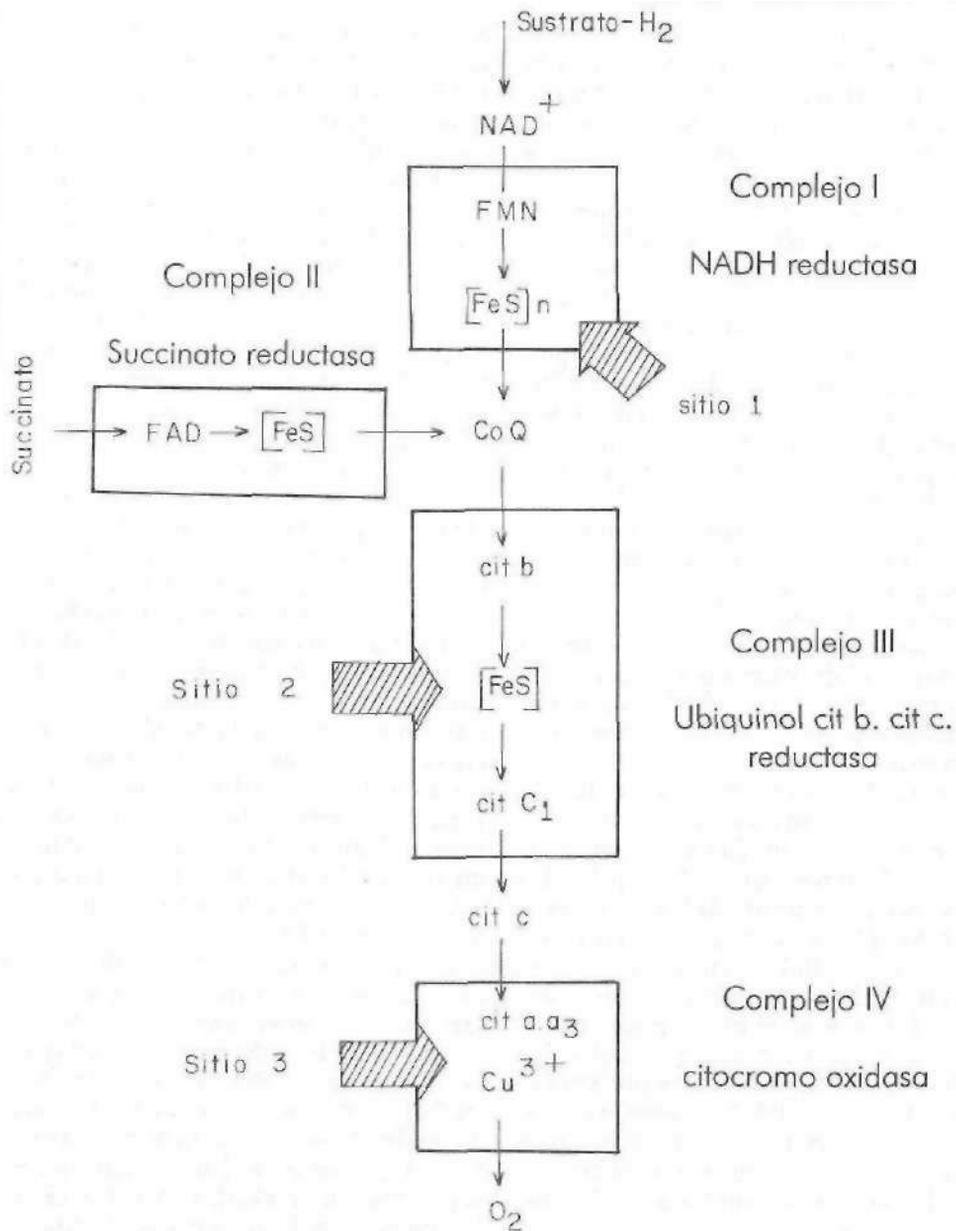


Fig. 5.12. Complejos de Green (I, II, III y IV) de la cadena respiratoria. FeS = ferrosulfoproteínas.

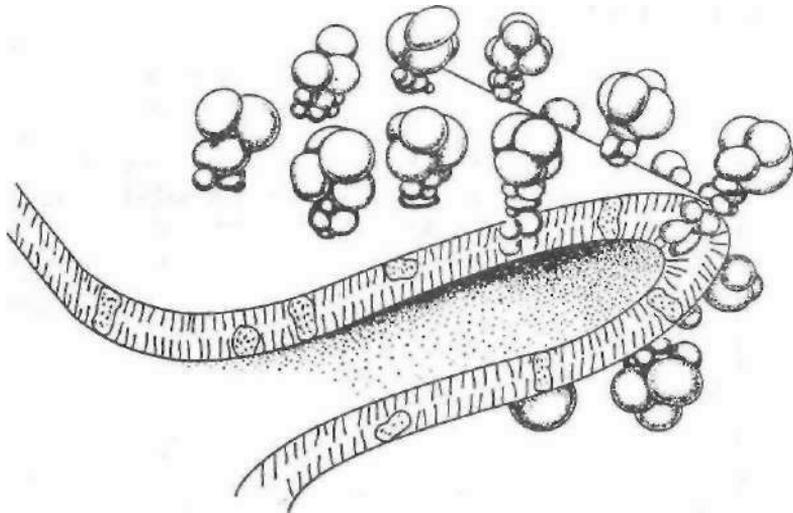


Fig. 5.13. Partículas elementales o esferas mitocondriales.

proceso de la contracción muscular en la que la hidrólisis del ATP induce cambios conformacionales en la cabeza de la miosina. La hipótesis conformacional considera que como consecuencia del transporte electrónico se libera energía que de alguna forma induce un cambio conformacional de una proteína membranal. Este cambio de conformación inducido hace que la proteína se coloque en un estado energético alto, el cual vuelve a su estado normal cediendo esa energía al ADP y Pi para formar ATP. Sin embargo, existen pocas evidencias experimentales que apoyen esta hipótesis en forma concluyente.

Hipótesis quimiosmótica. Esta hipótesis, propuesta originalmente por Peter Mitchell, 1961 y modificada por él mismo en 1981 y luego por Lehninger (1984) es actualmente la más aceptada y la que tiene más apoyo experimental. Es un artículo publicado en *Nature*, Mitchell dio un argumento negativo: en los 8 años transcurridos desde la enuncia-

ción de la hipótesis química, "los esfuerzos para aislar los intermediarios ricos en energía han sido infructuosos porque, simplemente, no existen".

La hipótesis de acoplamiento quimiosmótico de Mitchell compara los sistemas generadores de energía de la membrana mitocondrial con una batería electroquímica común; de la misma manera que la energía se puede almacenar en baterías debido a la separación de las cargas positivas y negativas en los diferentes compartimientos, se puede establecer un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna durante el transporte electrónico.

Los postulados de la teoría quimiosmótica de Mitchell son los siguientes:

- 1.- La membrana mitocondrial interna es *impermeable* a los protones.
- 2.- La cadena respiratoria está situada *asimétricamente* en la estructura de la membrana, lo que favorece la expulsión de protones.

Cardena respiratoria

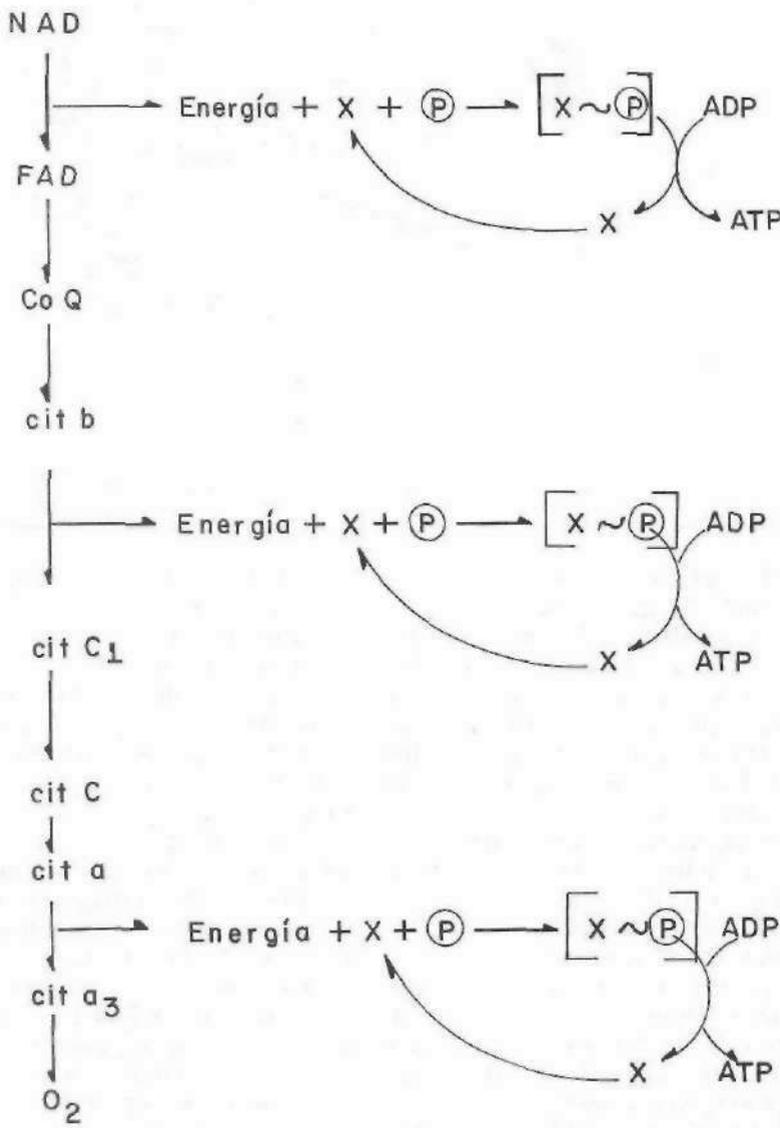


Fig. s/n c

3.- La síntesis de ATP se realiza en las partículas submitocondriales que funcionan como una ATP sintetasa. Estas partículas están dispuestas asimétricamente y se "activan" por el retomo de protones al interior de la mitocondria del espacio intermembranar.

4.- Existencia de un sistema de difusión (probablemente H^+/K^+), que tiene por objeto disipar el gradiente de pH, sin eliminar el potencial de membrana (fig. 5.14).

Según la hipótesis de Mitchell, no existen sitios de fosforilación propiamente dichos, sino que la síntesis de ATP tiene lugar siempre que exista un gradiente protónico (fuerza protón-motriz). La hipótesis ha recibido gran apoyo experimental:

1) La adición de protones (ácido) al medio externo de las mitocondrias conduce a la generación de ATP.

2) La cadena respiratoria contiene sus componentes organizados lateralmente (asimetría transversal) como los requiere la teoría.

3) El cociente fósforo/hidrogenión de la ATPasa (ATP sintetasa más propiamente) es 1:2 y los cocientes hidrógeno/oxígeno para la oxidación del succinato y del P-hidroxibutirato son 4 y 6 respectivamente en concordancia con las proporciones fósforo/oxígeno esperadas de 2 y 3.

Gran parte de los conocimientos actuales sobre la ATPasa (ATP sintetasa) se deben al grupo de Racker. La fracción purificada de ATPasa está constituida por esferas de unos 90 Å procedentes de las partículas de Fernández Moran. Consta de una porción hidrosoluble denominada F₁ (subunidades 3a, 3p, y, 5 y e) que contiene el centro activo y una porción hidrofóbica denominada F₀,

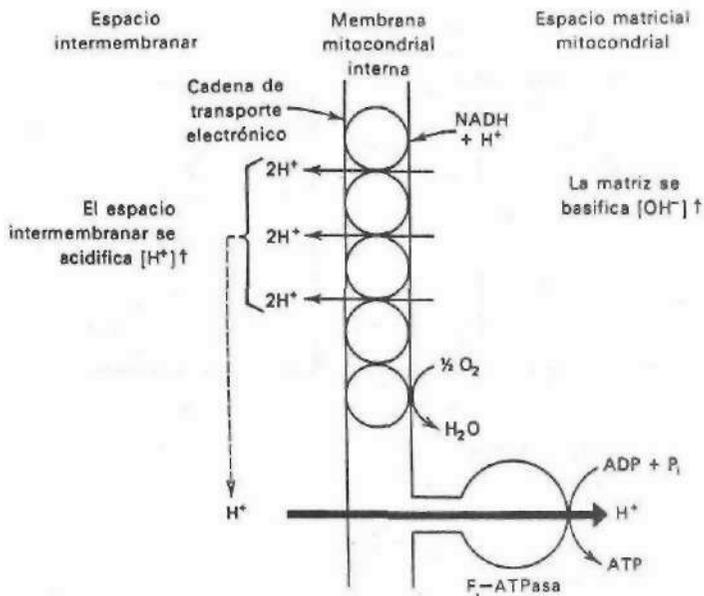


Fig. 5.14. Hipótesis del acoplamiento quimiosmótico.

enterrada en la membrana mitocondrial que actúa como canal protónico. Entre ambas porciones y la membrana se encuentra un factor (F4) que recibe el nombre de OSCP ("oligomycin-sensitivity-conferring-protein),

imprescindible para la acción de la oligomicina (ver adelante desacoplantes) y que es un verdadero "cancerbero protónico" puesto que de éste depende el transporte de protones (Fig. 5.15).

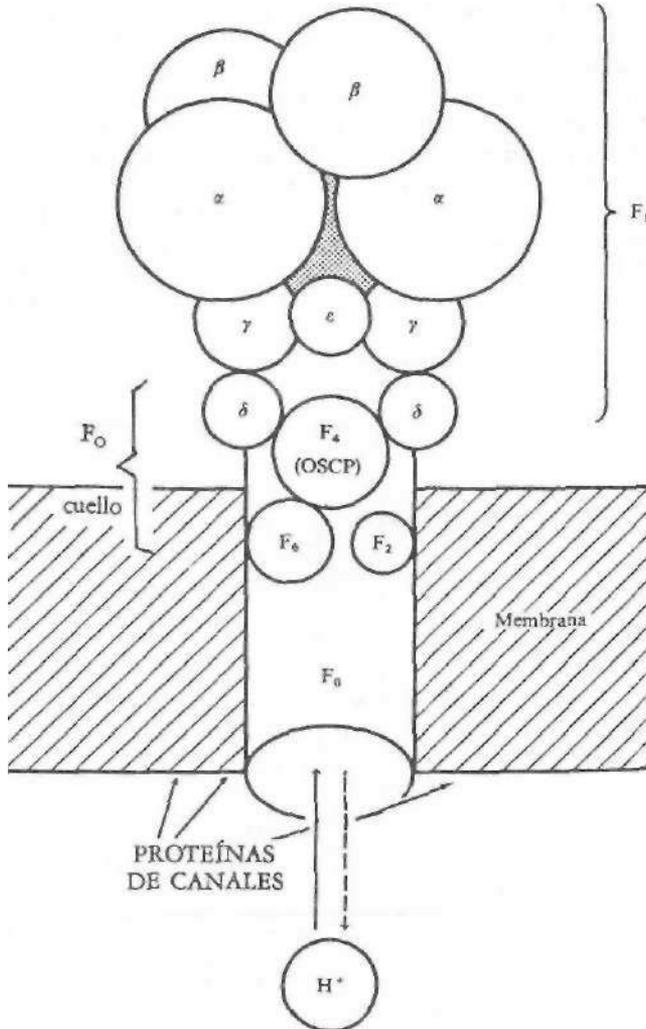


Fig. 5.15. Estructura de la ATP sintetasa (ATPasa mitocondrial).

5.4.3. Hidrólisis de ATP

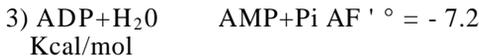
La unión esencial entre las vías de producción y de utilización de energía se mantiene mediante el adenosin 5-trifosfato (ATP), el cual es considerado la "moneda universal" de energía libre en los sistemas biológicos (Fig. 5.16).

5.4.3.1. Enlaces de alta energía

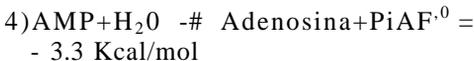
En la figura 5.16 se muestra la estructura del ATP y del ADP; dado que el ATP es una especie *amónica*, se piensa que la forma fisiológica está quelada con un catión divalente como el magnesio. Aunque en la figura se indican los enlaces fosfato como (~), señalando que son *enlaces de alta energía* en realidad la energía no está acumulada en un sólo enlace ya que la repulsión por cargas negativas existe en los tres fosfatos. La energía libre de hidrólisis del ATP depende de cómo transcurre la hidrólisis:



La energía liberada por la hidrólisis del penúltimo fosfato (fosfato P) es ligeramente menor:



Finalmente, si la hidrólisis tiene lugar en el fosfato restante (fosfato cc) la energía disminuye ostensiblemente.



Por otro lado, la hidrólisis del pirofosfato (PPi) resultante de la reacción (2):

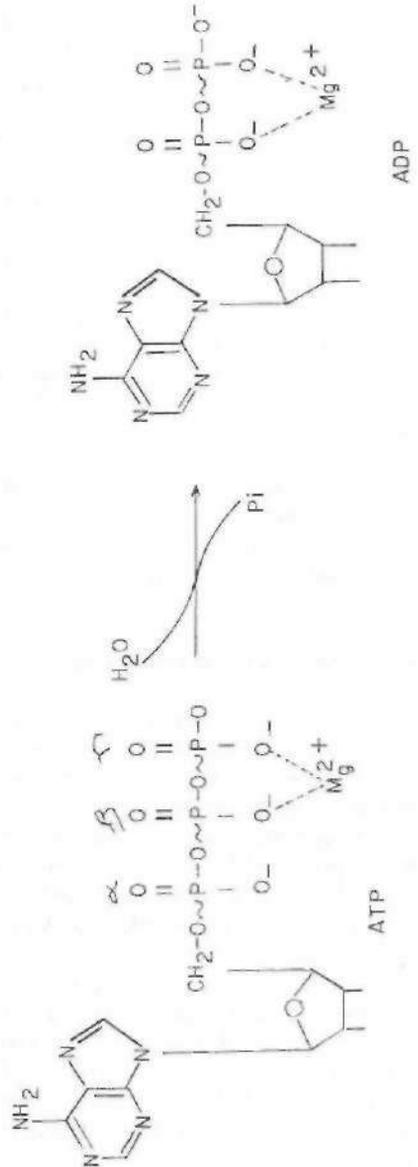


Figura 5.16 Estructura del adenosintrifosfato (ATP) y adenosindifosfato (ADP). $\Delta F'^{\circ} = -7.3$ Kcal/mol..



En virtud de que existen dos posibilidades de hidrólisis, la energía de hidrólisis del ATP puede ser dosificada en la cantidad necesaria (reacciones 1 y 2). La activación de los ácidos grasos y de aminoácidos, son de los pocos casos en que se utiliza la reacción 2, ya que aporta un poco más de energía.

5.4.3.2. Utilización de ATP

Como consecuencia de la posición intermedia del ATP en la tabla de energía libre estándar de hidrólisis (Tabla 5.2), éste puede actuar como donador de fosfato a los compuestos que están por debajo de él en la lista y como aceptor de energía proveniente de los que están por encima. Así, un ciclo ATP/ADP conecta estos procesos que *generan* energía a las reacciones que la utilizan (Fig. 5.17).

5.4.4. Inhibidores y desacoplantes

Gran parte de los conocimientos que se tienen sobre la cadena respiratoria han sido obtenidos por el uso de inhibidores. Los *inhibidores* son compuestos químicos capaces de inhibir específicamente el flujo electrónico en tres puntos diferentes de la cadena. El primero de ellos es inhibido por *barbitúricos* como el amital, el veneno retenona y el antibiótico *piericidina*. El segundo sitio, entre el citocromo b y el c, es inhibido por el *dimercaptopropanol* (dimercaprol o BAL) y el antibiótico *antimicina A*. Los venenos clásicos, *cianuro* (CN), *monóxido de carbono* (CO), ácido sulfídrico (H₂S) y ácido *hidrazoico* (HN₃) inhiben a la citocromo oxidasa (cit a, a₃) (Fig. 5.18).

Según el *teorema de Chance*, en presencia de un inhibidor, los intermediarios de la cadenasituados por encima (en electronegatividad) del punto de inhibición, estarán muy

reducidos, mientras que los situados debajo del punto de bloqueo aparecerán muy oxidados; utilizando un símil hidráulico (Fig. 5.19) se puede observar en el esquema (A), que el flujo de electrones queda asegurado al estar disponible el oxígeno que los recibe. En (B), un inhibidor específico bloquea el flujo de electrones y los acarreadores anteriores al bloqueo permanecen reducidos, mientras que los posteriores se encuentran oxidados.

Otro grupo de compuestos llamados *desacoplantes* o *desacopladores* impiden la síntesis de ATP pero permiten el flujo de electrones por la cadena respiratoria. En efecto, existen sustancias naturales, tales como el *dicumarol* y las *hormonas tiroideas*, y algunos sintéticos como el *dinitrofenol* (DNP) capaces de desacoplar ("desconectar") la respiración de la fosforilación. La adición de estas sustancias a una suspensión mitocondrial, provoca un marcado aumento del consumo de oxígeno, sin que exista síntesis de ATP.

El efecto desacoplante de la tiroxina ha permitido explicar por un lado, el efecto de esta hormona sobre el metabolismo basal en el hipertiroidismo, y por otro, su uso, al igual que el dinitrofenol, en el tratamiento de la obesidad.

El antibiótico *oligomicina* bloquea completamente la oxidación y la fosforilación en mitocondrias intactas. Actúa uniéndose al tallo de la ATPasa, lo que provoca el cierre del canal protónico y, por ende, el flujo de protones y la síntesis de ATP. Sin embargo, en presencia de dinitrofenol, la oxidación procede sin fosforilación, indicando que la oligomicina no actúa en la cadena respiratoria, sino a través de su unión con la proteína OSCP (Fig. 5.19).

5.4.4.1. Intoxicación por cianuro

La ingestión de cianuro de potasio (KCN) produce una rápida inhibición de la cadena res-

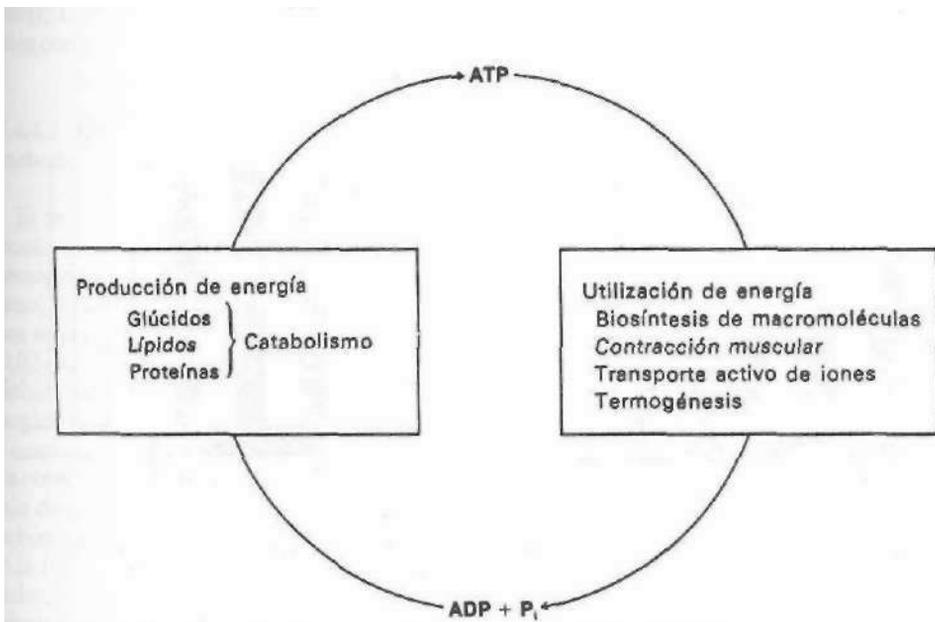


Fig. 5.17. Relación entre la producción y la utilización de energía.

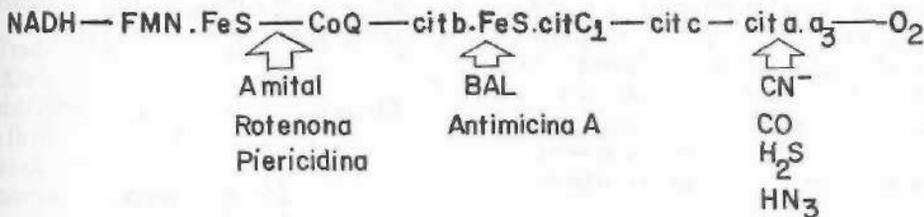


Fig. 5.18. Sitios de inhibición de la cadena respiratoria.

piratona a nivel de la citocromo oxidasa. El cianuro se fija al Fe³⁺ del hemo del cit a, 83 impide que el oxígeno reaccione con éste. Cesan la respiración mitocondrial y la generación de energía (ATP) y se produce la

muerte rápida por hipoxia tisular, muy especialmente en el sistema nervioso.

Si el envenenamiento no ha sido letal, se debe administrar al individuo expuesto al cianuro, nitrito de amilo (inhalaado) o 330 mg de

Cambio de energía = (calor absorbido)-(trabajo efectuado).

Esta ecuación es la representación matemática de la 1a. Ley de la Termodinámica.

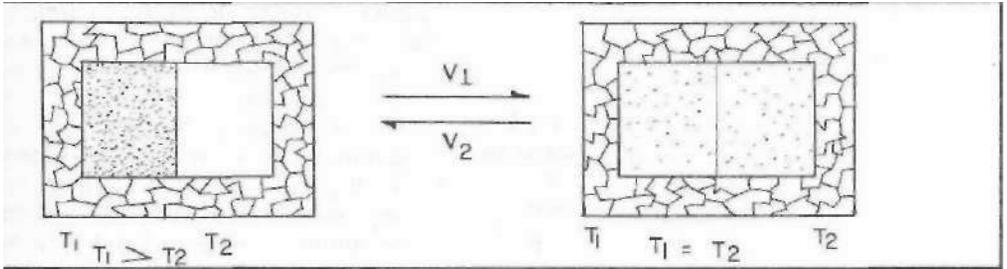
Cuando el proceso se efectúa a presión constante se tendrá:

$$AE = Q_p - PAV$$

Q_p es la cantidad de calor que se absorbe o se libera en un proceso a *presión constante* y se denomina *entalpía* (H). Los cambios de entalpía se representan por ΔH , por la que la 1a. Ley de la termodinámica se puede representar así:

$$AE = \Delta H - PAV \text{ o } \Delta H = AE + PAV$$

cepto, la *entropía* (S). La segunda ley de la termodinámica establece que si un proceso ocurre espontáneamente, la entropía total del sistema debe aumentar. Dicho de otra manera en un sistema cerrado las únicas reacciones espontáneas son aquéllas que tienden al equilibrio y a un *aumento de entropía o de desorden*. Esta segunda ley se basa en observaciones experimentales como son: a) el flujo de calor es unidireccional desde la temperatura más elevada a otra menor; supongamos que se coloca un trozo de metal frío junto a uno caliente, en un sistema aislado se observará que la temperatura del caliente baja y la del frío sube. Este flujo de energía es espontáneo y sólo se detiene cuando $T_1 = T_2$.



donde ΔH es el cambio de entalpía o cantidad de calor absorbido o liberado por el sistema, cuando a presión constante realiza un trabajo. En los sistemas biológicos, el cambio de volumen (ΔV) es muy pequeño correspondiendo el cambio entálpico al cambio de energía interna del sistema.

Si, en estas condiciones, se libera calor al medio, ΔH es negativo y si dice que la reacción es *exotérmica*. Si en la reacción se absorbe calor del exterior ΔH es positivo y el proceso es *endotérmico*.

La primera ley de la termodinámica no dice nada acerca de la dirección de flujo de energía en un proceso y es necesario establecer una segunda ley que utiliza otro con-

Cuando un sistema alcanza el equilibrio, ya no se produce ningún cambio energético, pero suponiendo que se efectuara el proceso (V_2) no violaría la 1a. Ley de la Termodinámica, pero sí la segunda que establece "*todos los procesos espontáneos siempre tienden al equilibrio*".

Todos los fenómenos que ocurren en la naturaleza en forma espontánea, como son: la caída de un cuerpo, la difusión de un soluto, la cristalización de una solución sobresaturada, la expansión de un gas, varias reacciones químicas, etc., son capaces de producir trabajo en condiciones apropiadas hasta llegar al equilibrio. Lógicamente para efectuar cualquiera de estos fenómenos en sentido

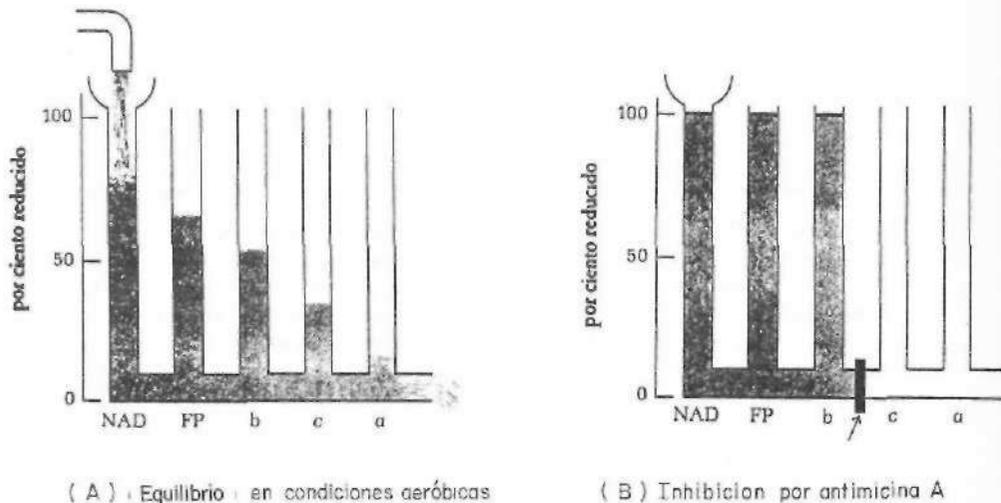


Fig. 5.19. Análogo hidráulico del estado de oxidorreducción de los acarreadores en el estado aeróbico (A) y después de la inhibición con antimicina A (B).

nitrito de sodio (NaNO_2) por vía endovenosa seguida de la administración de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) en solución al 25% (50-100 ml) por vía endovenosa y oxígeno a tres atmósferas (oxígeno hiperbárico). La administración de nitritos tiene por objeto formar metahemoglobina (MHB) que tiene Fe^{+3} y que desplaza al ion cianuro (CN) de su unión con el cit a_3 (Fe^{+3}) formándose cianometahemoglobina (CN-MHB). Esta reacción es acelerada por el oxígeno hiperbárico (OHB):

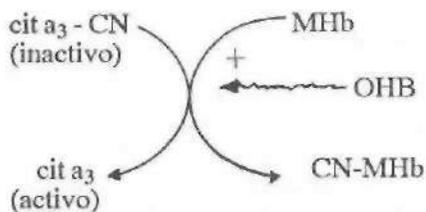


fig.2

El tiosulfato de sodio convierte luego la CN-MHB a MHB simultáneamente a la transformación de tiosulfato en sulfocianuro de sodio (NaSCN) el cual es posteriormente eliminado por orina. La reacción es catalizada por la enzima hepática (*rodanasa*).

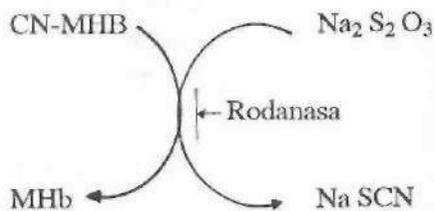


fig 3

Es de gran utilidad administrar también en forma oportuna hidroxocobalamina (vitamina Bi_2 -) que se combina con el CN de la CN-MHB y se transforma en cianocobala-

mina, la cual no es tóxica y funciona también como vitamina.

5.4.4.2 Intoxicación por monóxido de carbono

El monóxido de carbono (CO) es un gas incoloro e inodoro, con gran afinidad por la hemoglobina (200-300 veces más que el oxígeno) y por el cit *a*₂. Los efectos tóxicos serios se presentan a dosis bajas de monóxido (0.02-0.03%) cuando el 40% de la hemoglobina se ha transformado en carboxihemoglobina (CO.Hb). Este gas se produce en la combustión incompleta de los hidrocarburos como en los gases del escape de un vehículo de gasolina o un calentador de leña o carbón en espacios cerrados. Los síntomas de la intoxicación incluyen alteraciones visuales, cefalea, taquicardia, taquipnea y finalmente coma y muerte. La piel muestra coloración rojo cereza, sobre todo en los labios, por CO-Hb.

El tratamiento consiste en administrar O₂ para que la CO-Hb sea convertida en HbO₂ y el cit *a*, a₃-CO en cit *a*, a₃ - O₂.

55 CICLO DE KREBS

Tradicionalmente se ha estudiado el ciclo de Krebs relacionado con el metabolismo de carbohidratos; sin embargo, es también una vía final en el metabolismo de lípidos y aminoácidos, a través de diferentes entradas, la principal de ellas, acetil CoA (Fig. 5.20). Durante el curso de la oxidación de la acetil CoA en el ciclo, se forman equivalentes reducidos (NADH, FADH₂) como resultado de deshidrogenasas específicas. Estos equivalentes reducidos entran en la cadena respiratoria donde se generan grandes cantidades de ATP por fosforilación oxidativa.

Este ciclo, descrito por Sir Hans Krebs en 1937, tiene como primer paso la combina-

ción de acetil-CoA con oxalacetato (OAA) para formar *ácido cítrico*, un *ácido tricarbóxico* de 6 carbonos. Por esta razón, al ciclo de Krebs se le conoce también como el ciclo de los ácidos tricarbóxicos o ciclo del ácido cítrico.

Además de ser un ciclo eminentemente *degradativo* (catabólico), el ciclo de Krebs participa en reacciones anabólicas como la gluconeogénesis, trasaminación, desanimación y lipogénesis, por lo que se le considera más bien un ciclo *anfibólico*. Estas reacciones se llevan a cabo en casi todos los tejidos, pero es el tejido hepático el único donde ocurren todas.

Ya desde 1935 el bioquímico americano de origen húngaro Szent György utilizando preparaciones con mitocondrias intactas, demostró que la respiración celular era estimulada por ácidos dicarbóxicos (succínico, fumárico, málico y oxalacético). De hecho, los nombres de la mayoría de los componentes del ciclo de Krebs corresponden a los vegetales donde fueron inicialmente descubiertos: ácido málico en la manzana (*Malus*), ácido cítrico en las frutas *cítricas*, ácido aconítico en el acónito (*Aconitum*), ácido fumárico en la *Fumaria*, ácido succínico en el ámbar (*Succinum*, resina fósil de un pino extinguido). En esas fechas, los bioquímicos alemanes Knoop y Martius establecieron la siguiente secuencia de reacciones.

Ácido cítrico —* ácido aconítico —• ácido isocítrico —• ácido a-cetoglutárico —• ácido succínico.

Estos antecedentes y sus propios experimentos condujeron al bioquímico inglés Hans Krebs a conectar la oxidación de los ácidos tricarbóxicos y dicarbóxicos con la oxidación de los alimentos en el organismo. Cuando Lipmann demostró catorce años más tarde la formación de acetil-CoA a partir de piruvato, se confirmó que el ácido cítrico se formaba por acoplamiento del ácido oxalacético con la acetil-CoA. Ahora se sabe que el ciclo es universal (plantas y animales).

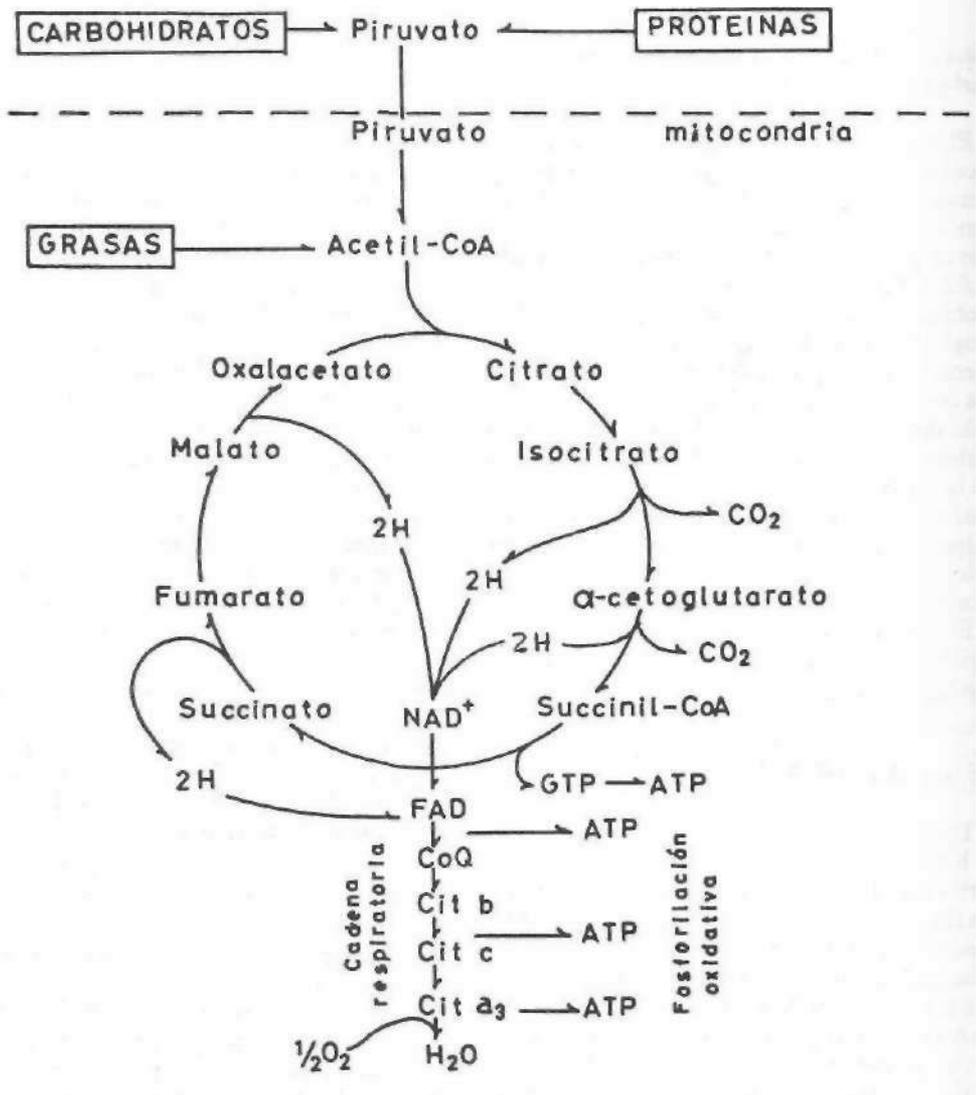


Fig. 5.20. Ciclo de Krebs en el metabolismo celular. Reproducción autorizada con modificaciones de Martin, D. W. Jr. y Cois., Harper's Review of Biochemistry, 20a. edición, pág. 160, 1985, Lange Medical Publications, Los Altos, California.

5.5.1 Reacciones del ciclo. Enzimas y Coenzimas

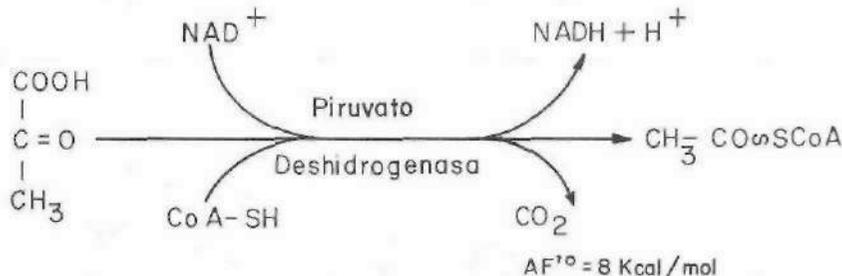
Los componentes del ciclo se encuentran en todos los tejidos en las mitocondrias, aunque algunas enzimas y metabolitos también se encuentran en el citosol (extramitocondrial). Dentro de las mitocondrias, las enzimas se localizan en la membrana interna y en la matriz mitocondrial, y próximas a las de la cadena respiratoria. Esta proximidad facilita el adecuado acoplamiento de ambos procesos.

La conexión de la glucólisis (última etapa de la degradación de la glucosa) con el ciclo de Krebs consiste en la descarboxilación oxidativa del piruvato a acetil-CoA. Esta transformación es catalizada por un complejo multienzimático llamado *piruvato deshidrogenasa*.

metabolismo de lípidos) y de algunos aminoácidos.

La siguiente reacción, propiamente la inicial del ciclo, es la condensación de la acetil-CoA con oxalacetato (último producto del ciclo) catalizada por la *citrato sintetasa* (también llamada *enzima condensante de Ochoa*). La reacción supone la hidrólisis del enlace tioéster de la acetil-CoA, lo que implica la liberación de energía en forma de calor, haciendo el proceso prácticamente irreversible.

El citrato es convertido en isocitrato por medio de la enzima *aconitasa* (aconitato hidratasa). La reacción tiene lugar en dos pasos: deshidratación hasta cis-aconitato (el cual permanece unido a la enzima) y rehidratación hasta isocitrato en el equilibrio hay un 90% de citrato, 3% de cis-aconitato y 7% de isocitrato, por lo que se encuentra



El complejo piruvato deshidrogenasa tiene un PM superior a 7 millones y posee tres actividades enzimáticas: *piruvato desacetilasa* (con pirofosfato de tiamina), *dihidrolipoil transacetilasa* (con ácido lipoico y coenzima A) y *dihidrolipoil deshidrogenasa* (con FAD y NAD⁺). La reacción global es esencialmente irreversible.

La acetil-CoA puede provenir también de la P-oxidación de los ácidos grasos (ver Me-

desplazado hacia la formación de citrato. Sin embargo, el consumo de isocitrato y la producción continua de citrato *in vivo*, por ley de acción de masas, hace que la reacción esté desplazada hacia la isomerización citrato -* isocitrato. La aconitasa reacciona en forma *asimétrica*, actuando sobre la parte del citrato que deriva del oxalacetato. Esto era desconcertante ya que el ácido cítrico es un compuesto simétrico. Se supone que esto

es debido a que el citrato se une al sitio activo de la aconitasa por tres puntos, de forma que la enzima puede diferenciar los dos grupos $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ del citrato (fig. 5.21).

El isocitrato es oxidado por deshidrogenación, en una reacción catalizada por la *isocitrato deshidrogenasa*. La enzima requiere NAD^+ y Mg^{++} . La reacción se lleva a cabo en dos pasos: una deshidrogenación en la que se forma oxalosuccinato, el cual permanece unido a la enzima, y luego se descarboxila a α -cetoglutarato. En esta reacción irreversible se produce CO_2 y el primer $\text{NADH}+\text{H}^+$ del ciclo. El citosol posee también isocitrato deshidrogenasa pero requiere NADP^+ como coenzima, a diferencia de la del ciclo, que requiere NAD^+ .

La conversión de α -cetoglutarato (o 2-oxo-glutarato) en succinil-CoA es catalizada por un complejo multienzimático α -cetoglutarato deshidrogenasa, cuya acción es análoga a la piruvato deshidrogenasa y utiliza los mismos cofactores: pirofosfato de tiamina (TPP) ácido lipoico, NAD^+ , FAD y coenzi-

ma A. La reacción es prácticamente irreversible y en ella se forma el segundo CO_2 , que proviene de oxalacetato. Para que la acetil-CoA convierta en CO_2 su radical aceto, el ciclo ha de dar dos vueltas.

El ciclo continúa, por acción de la *succinato tiocinasa* (o succinil-CoA sintetasa; por la reacción en sentido inverso) que convierte la succinil CoA en succinato con la transferencia del enlace de alta energía a la fosforilación de GDP que pasa a GTP (o de IDP que pasa a ITP). Ambos nucleótidos pueden ser utilizados para la formación de ATP por acción de un nucleósido difosfato cinasa o *fosfocinasa*. Este es el único sitio del ciclo en que se genera ATP a *nivel del sustrato*. Una reacción alternativa en tejidos extrahepáticos es la conversión de succinil-CoA en succinato catalizada por la *succinil CoA transferasa* (o *tioforasa*) acomplada a la conversión de acetoacetato en acetoacetil-CoA. Esta es una reacción que permite la incorporación de cuerpos cetónicos al ciclo de Krebs. En el propio hígado hay también una

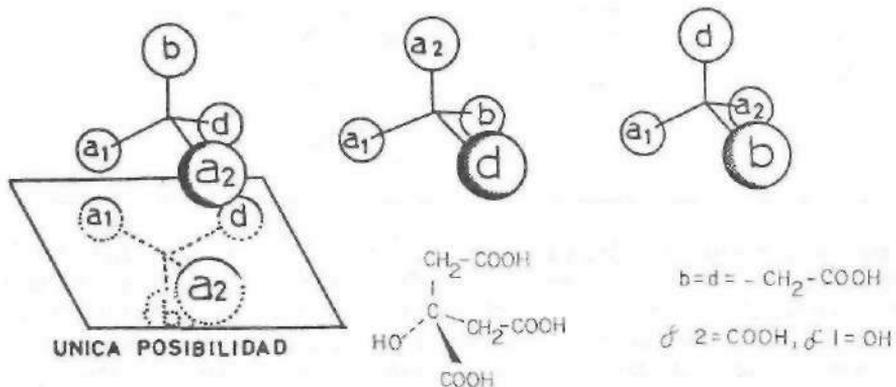


Figura 5.21 Especificidad del sitio activo.

deacilasa que hidroliza directamente la succinil-CoA en succinato más coenzima A.

Por acción de la *succinato deshidrogenasa*, el succinato es deshidrogenado a fumarato, pero esta enzima utiliza FAD como coenzima, la cual en estado reducido (FADH₂) constituye una fuente directa de electrones para la cadena respiratoria a nivel de la coenzima Q. Esta es la única enzima del ciclo integrada a la membrana mitocondrial interna, directamente ligada a la cadena respiratoria. Se reúnen así, anatómica y fisiológicamente, el ciclo de Krebs el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa.

El fumarato presenta luego una serie de cambios para regenerar el oxalacetato que comprende una hidratación catalizada por la *fumarasa (fumarato hidratasa)* para formar L-malato, el cual luego se oxida o oxalacetato por medio de la *deshidrogenasa málica* y el NAD⁺ como coenzima.

En la Fig. 5.22 se muestran las reacciones completas del ciclo.

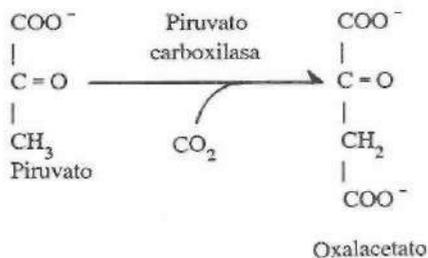
5.5.2 Papel anfibólico del ciclo de Krebs Procesos anapleróticos

Una vía metabólica es anfibólica cuando puede funcionar tanto en sentido catabólico como en sentido anabólico. Desde este punto de vista el ciclo de Krebs puede considerarse como una verdadera "glorieta bioquímica", ya que material que llega de fuentes hidrocarbonadas puede abandonarlo para formar grasa, mientras que los aminoácidos que llegan pueden abandonarlo para formar carbohidratos. Solo una vía parece cerrada; la que conduce de grasas a carbohidratos. En la fig. 5.23 se muestran las interconversiones más comunes de los intermediarios del ciclo.

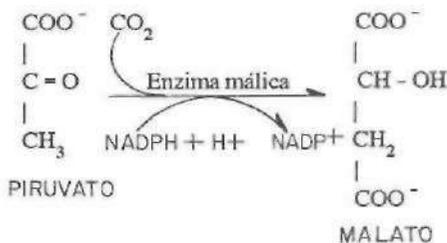
En la fig. 5.23 puede observarse cómo se sintetizan ácidos grasos a partir de citrato que sale de la mitocondria, así como la síntesis del grupo hemo proveniente de succinil-CoA. El oxalacetato es el intermediario que

mayor demanda muestra para mantener el ciclo. Aunque en realidad con solo una pequeña cantidad de oxalacetato se forman grandes cantidades de citrato para el ciclo, por lo que se considera que desempeña un papel *catalítico*, la verdad es que si se incrementan las demandas de oxalacetato para formar otros compuestos como el aminoácido *aspartato*, o bien fosfoenolpiruvato para la *gluconeogénesis*, entonces se requerirán vías metabólicas que aseguren la disponibilidad de oxalacetato para mantener el flujo de metabolitos del ciclo. A esas reacciones auxiliares se les denomina *anapleróticas*: son las catalizadas por la *piruvato carboxilasa* y por la *enzima málica* (Fig. 5.24).

La piruvato carboxilasa es una enzima de la gluconeogénesis (Unidad VI) que cataliza la carboxilación de piruvato a oxalacetato:



La otra reacción anaplerótica es catalizada por una malato deshidrogenasa dependiente de NADP⁺, llamada enzima málica. Esta enzima produce la carboxilación y reducción del piruvato, transformándolo en malato:



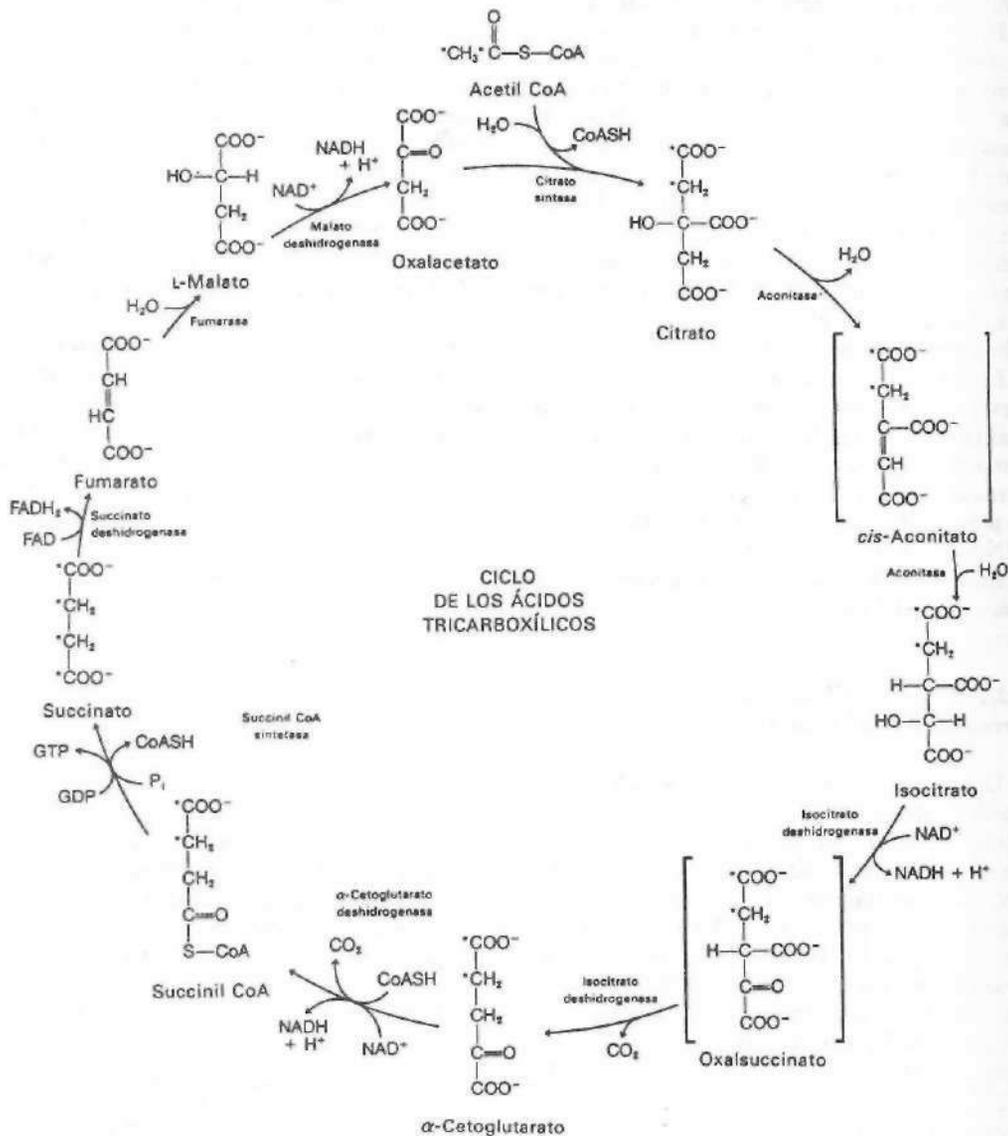


Figura 5.22. Ciclo de los ácidos tricarboxílicos.

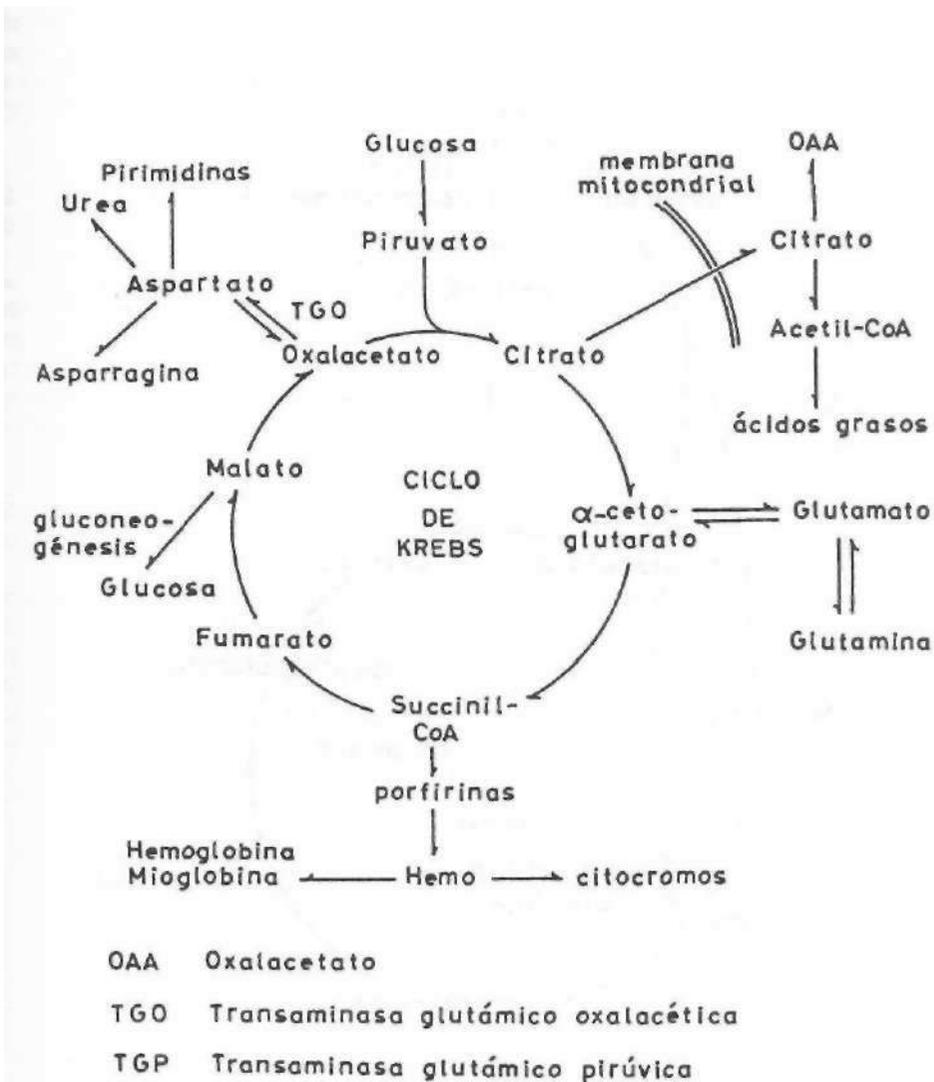


Figura 5.23 Papel anfibólico del ciclo de Krebs.

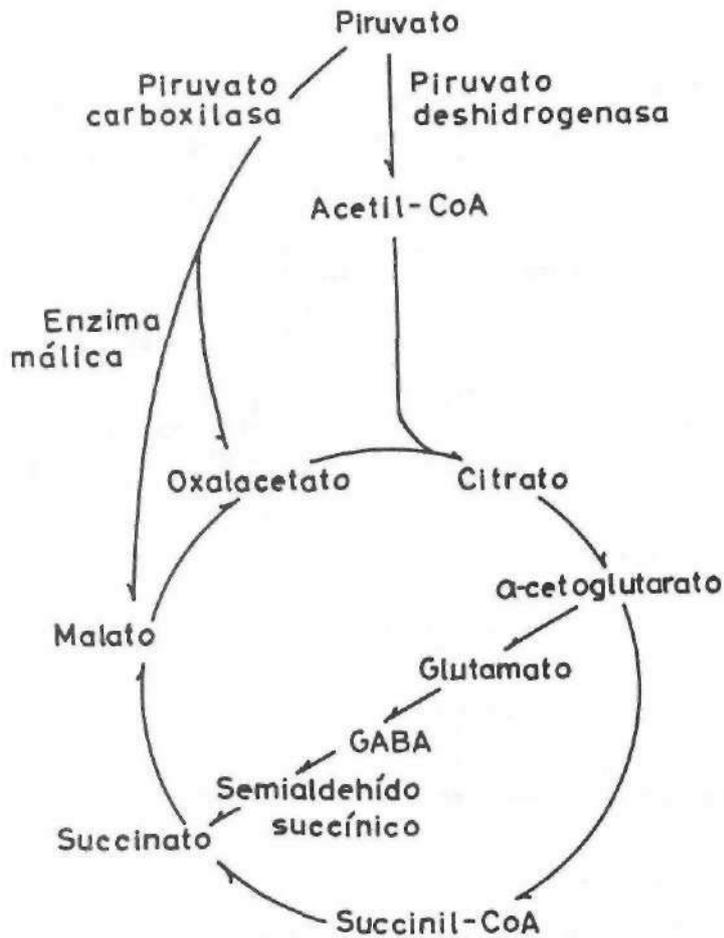


Fig. 5.24. Vías anapleróticas y formación de GABA en el ciclo de Krebs.

Posteriormente, el malato se transforma en oxalacetato por la malato deshidrogenasa del ciclo. De estas dos reacciones anapleróticas,

la más importante es la catalizada por la piruvato carboxilasa, cuya actividad aumenta en situaciones que causan agotamiento

del oxalacetato como el ejercicio, el ayuno y la diabetes. La actividad de la enzima varía en forma inversa, disminuyendo en la diabetes y aumentando por administración de insulina.

5.5.2.1 Incorporación de aminoácidos al ciclo

Dentro de las funciones anfibólicas del ciclo de Krebs se encuentra la incorporación de aminoácidos con fines energéticos; o bien con fines anabólicos, la transformación de metabolitos del ciclo en aminoácidos para biosíntesis de proteínas (Fig. 5.25).

5.5.2.1.1. Desaminación oxidativa y formación de GABA

En condiciones normales, existe en las neuronas inhibitoras del cerebro una vía colateral del ciclo de Krebs en la que se forma un *neurotransmisor inhibitor* derivado de un intermediario del ciclo; se trata del *ácido gama-aminobutírico* (GABA) formado por descarboxilación del ácido glutámico, proveniente por transaminación del ct-cetoglutarato (Fig. 5.24).

Al faltar o estar disminuida la actividad de la piruvato deshidrogenasa, que alimenta al ciclo de Krebs con acetil-CoA, o la piruvato carboxilasa, que cataliza la principal reacción anaplerótica, se presenta la acidosis pirúvica congénita. Este padecimiento se acompaña de convulsiones al faltar el GABA inhibitor con predominio del neurotransmisor excitador: ácido glutámico.

Caso clínico: Paciente femenina de 4 años de edad con retraso somático y psicomotor profundo con problemas de deglución, tetraparesia espástica, convulsiones tónicas con frecuencia de varias crisis al día y atrofia cortical y subcortical (microcefalia). Hay antecedentes de hipoxia neonatal prolonga-

da con cianosis. Los niveles de biotina en plasma se encontraron en el límite inferior de lo normal (261.5 pg/ml; normal 500 ± 200). Nunca ha tenido manifestaciones clínicas ni químicas de acidosis metabólica ni cetosis. Estudios metabólicos demostraron elevación anormal, en plasma y orina, de alanina y ácidos pirúvico y láctico. Las anomalidades bioquímicas se corrigieron con dosis altas de biotina, pero no de tiamina.

Cuestionario:

- 1.- ¿De qué deficiencia enzimática se trata?
- 2.- ¿Cómo explicaría las convulsiones observadas en este caso?
- 3.- ¿A qué atribuiría el daño neurológico?

Comentarios:

Inicialmente se pensó en una deficiencia de piruvato deshidrogenasa (PDH), por lo que se prescribió una dieta cetogénica (60% de las calorías provistas por grasas) y dosis altas de tiamina (300-mg/día). Falk y cois, han observado que una dieta cetogénica se asocia a mejoría clínica y bioquímica en pacientes con deficiencia de PDH, al proveer de acetil-CoA a través de una vía (beta-oxidación) que no está bloqueada. No se observó mejoría bioquímica o clínica por lo que se decidió administrar dosis altas de biotina (10 mg al día) cofactor de la piruvato carboxilasa (PC) y un suplemento de ácidos aspártico y glutámico con objeto de proveer sustratos adicionales al ciclo de Krebs*.

5.2.2.2. Participación de lípidos en el ciclo

Existen dos vías de entrada de material lipídico al ciclo de Krebs con fines degradativos: a través del glicerol o a través de ácidos grasos, provenientes ambos de triglicéridos

* Caso clínico tomado de: Velázquez, A y cois. Piruvato carboxilasa deficiente que responde a biotina. LI Reunión reglamentaria de la Asociación de Investigación Pediátrica, A. C. Pg. 248-265, 1990, con la gentil autorización del Primer Autor.

contrario se requiere energía. En base a esto la 2a. Ley de la termodinámica también puede expresarse así: "todos los procesos en equilibrio solo pueden salir de él a expensas de otro sistema que tienda al equilibrio".

A diferencia de la entalpia, la entropía es una función matemática que no tiene análogo físico sencillo y su significado es más bien abstracto. La termodinámica establece que la entropía es una medida de la distribución al azar de la energía o una "medida del desorden". Cuanto más caótico o desordenado es un sistema, más grande es su entropía; cuando más ordenado y estructurado es un sistema, más pequeña será su entropía.

La 3a. Ley de la termodinámica establece que "un cristal perfecto en el cero absoluto tiene cero entropía".

La ecuación que combina las dos leyes de la termodinámica es:

$$AF = AH - TAS$$

donde AF es el cambio de energía libre, AH es el cambio de entalpia; AS es cambio de entropía y T es la temperatura absoluta.

Como vemos, la entropía se encuentra ligada a la temperatura y la ecuación que la define matemáticamente es:

$$S = \frac{Q}{T}$$

o bien $ST = Q$

5.1.2. Ciclo de la energía en los seres vivos.

5.1.2.1. Organismos *autótrofos* y *heterótrofos*

La realización de todas y cada una de las funciones celulares requiere energía. Los organismos *autótrofos*, utilizan la energía de la luz solar, y a partir de $C O_2$ y $H_2 O$ sintetizan moléculas del tipo de los carbohidratos y producen oxígeno. El proceso por el cual se transforma la *energía* radiante del sol y se captura en forma de *energía química* en la glucosa, se denomina *fotosíntesis*. Otro tipo de organismos, los *heterótrofos*, mediante la respiración, que requiere oxígeno, utilizan la energía química acumulada en los alimentos durante el proceso de la *nutrición* y liberan CO_2 y $H_2 O$ al medio ambiente con los cuales los autótrofos vuelven a generar alimento químico y repetir el ciclo (fig. 5.1).

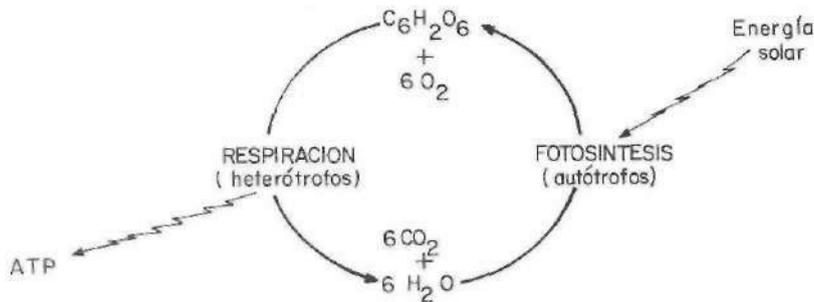


Fig. 5.1. Ciclo energético de los seres vivos.

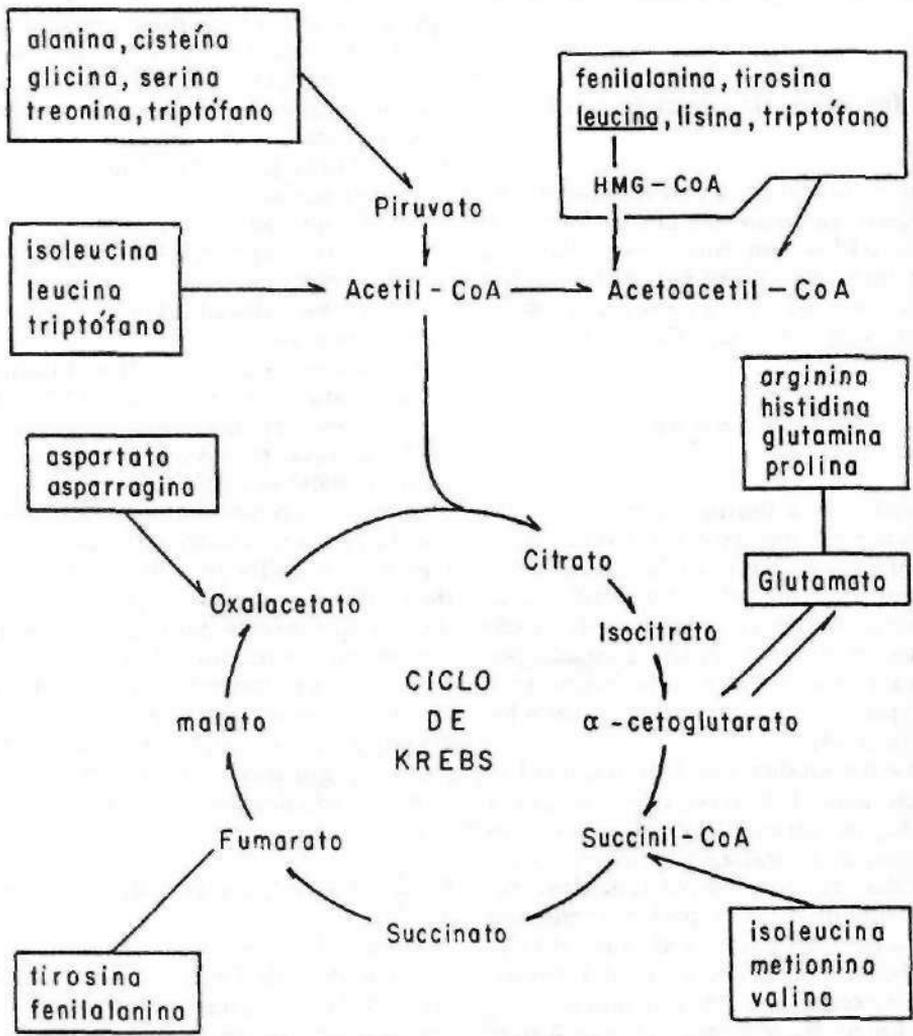
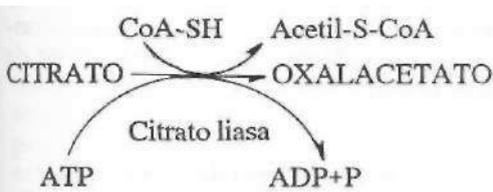


Fig. 5.25. Rutas de entrada de los aminoácidos en el ciclo de Krebs. Reproducida con autorización de J. M. Orten y O. W. Neuhaus, Human Biochemistry, 10a. edición, pág. 344, C. V. Mosby, Co. St. Louis, 1982.

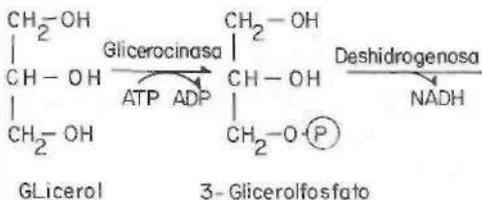
(ver Unidad VII). Por otro lado, del ciclo salen intermediarios al citosol que permiten la síntesis de ácidos grasos, la cual es extramitocondrial. En virtud de que la síntesis de grasas es extramitocondrial, necesitan transportarse al citosol indirectamente los precursores (acetil) (CoA), ya que la membrana mitocondrial es impermeable a derivados de CoA. El citrato formado intramitocondrialmente sale al citosol donde es transformado en oxalacetato y acetil-CoA por acción de la *ATP-citrato liasa*, extramitocondrial:



La acetil-CoA es el precursor de la biosíntesis extramitocondrial de ácidos grasos (Fig.5.26).

5.5.2.2.1 Incorporación de glicerol vía gliceraldehído

El glicerol proveniente de triglicéridos puede entrar al ciclo de Krebs transformándose en gliceraldehído por medio de la acción concertada de 3 enzimas: *glicerocinasa*, *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa* y *fosfotriosa isomerasa*:



El 3-gliceraldehído-P continúa su ruta degradativa hasta piruvato, y de ahí a acetil-CoA.

5.5.2.2.2 Incorporación de ácidos grasos

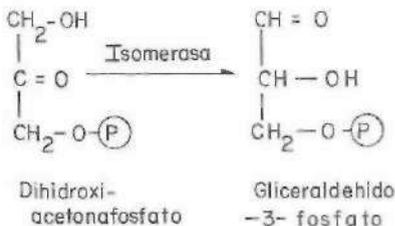
Incorporación de ácidos grasos vía acetil-CoA. Los ácidos grasos provenientes de triglicéridos son degradados intramitocondrialmente hasta acetil-CoA en un proceso conocido como beta-oxidación (ver Unidad VII).

5.5.3 Regulación del ciclo del ácido cítrico

La proximidad intracelular física y funcional del ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria, determina que la actividad de uno dependa de la otra y viceversa. A su vez, ambas vías metabólicas están reguladas por las concentraciones relativas de ATP/ADP y NADH/NAD⁺.

El rendimiento del ciclo corresponde al número de equivalentes reducidos y al ATP formado:

3 NADH.x 3ATP (fosforilación oxidativa)	=9 ATP
1 FADH ₂ x 2ATP (fosforilación oxidativa)	= 2 ATP
1 GTP x 1 ATP (nivel del sustrato)	/• 1 ATP
total	=12 ATP



A esta cantidad habría que agregar 3 ATP más en caso de considerar la formación de acetil-CoA a partir de piruvato donde se forma 1 NADH intramitocondrial. Es evidente que la acumulación excesiva de compuestos de alta energía (ATP y NADH) inhiben ciertas reacciones del ciclo, y la acumulación de ADP y NAD^+ determinan la estimulación de ciertas enzimas. De modo general, el ciclo no puede funcionar más rápidamente que lo que le permite la utilización del ATP generado. En caso extremo, si el flujo electrónico y la síntesis de ATP acoplada funcionara a toda su capacidad, todo el ADP de la célula se convertiría en ATP y todo el NAD^+ para aceptar hidrógenos. Por tanto, cesaría el funcionamiento del ciclo.

5.5.3.1 Efecto de la concentración de ATP/ADP

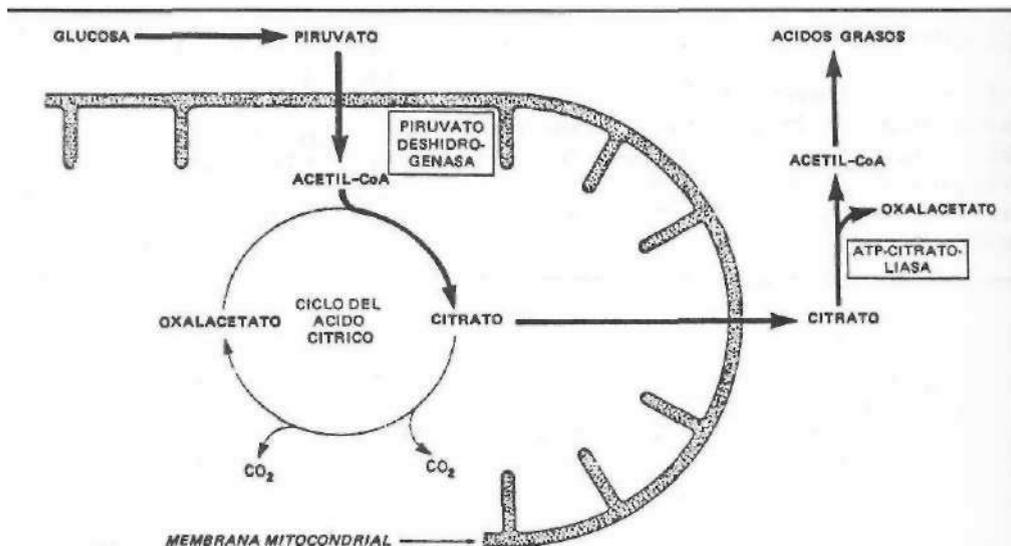
La regulación del ciclo ocurre a nivel de algunas enzimas. Por ejemplo, la isocitrato

deshidrogenasa es activada por ADP e inhibida por ATP, y la K_m de la citrato sintetasa para la acetil-CoA es aumentada por el ATP. Por otro lado, un incremento de ATP impide la regeneración de GDP para la succinato tiocinasa produciéndose acumulo de succinil-CoA, el cual es inhibidor de la citrato sintetasa y consecuentemente, del inicio del ciclo. Además, el ATP y las acil-CoA de cadena larga son inhibidores alostéricos de la citrato sintetasa.

En resumen un aumento de la relación ATP/ADP inhibe la actividad del ciclo de Krebs. En la cadena respiratoria, la fosforilación del ADP es también dependiente de esa relación.

5.5.3.2 Control a nivel de la relación NAD^+/NADH

Una disminución de la cadena respiratoria disminuye la regeneración de NAD^+ lo que inhibe las reacciones de la isocitrato deshi-



5.26. Participación del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos a partir de la glucosa.

drogenasa, a-cetoglutarato deshidrogenasa, al acumularse al coenzima NADH reducida común a estas deshidrogenasa mitocondrial por el ADP en contrarrestada por el NADH y el ATP. La succinaceto deshidrogenasa es inhibida por el oxalacetato, y la disponibilidad de oxalacetato es controlada por la malato deshidrogenasa y, en última instancia del cociente NAD^+/NADH .

5.5.3.3 Control a nivel de la piruvato deshidrogenasa

El piruvato ocupa una posición clave en el metabolismo, ya que puede ser reconvertido en glucosa, reducido a lactato, transaminado para formar alanina, o finalmente ser descarboxilado oxidativamente hasta acetyl-CoA. Es por lo tanto, importante el control de su metabolismo a nivel de esta enzima, la piruvato deshidrogenasa, que determina su entrada al ciclo.

La mayor parte del piruvato se oxida a acetyl-CoA, pero una cierta cantidad se convierte en oxalacetato (proceso anaplerótico), permitiendo que la acetyl-CoA se combine con este último para que el ciclo de Krebs funcione adecuadamente. Así, la acetyl-CoA proveniente de los ácidos grasos o de ciertos aminoácidos (cetogénicos), no puede entrar al ciclo a menos que esté ya presente el oxalacetato proveniente de la carboxilación del piruvato.

Se han encontrado dos tipos de regulación del complejo de la piruvato deshidrogenasa, el primero se realiza por inhibición competitiva por parte de acetyl-CoA y NADH; de esta manera, cuando el aporte de acetyl-CoA es suficiente a expensas de los ácidos grasos, la enzima es inhibida, evitando así el desperdicio innecesario de piruvato derivado de la glucosa. El segundo tipo de regulación se lleva a cabo por la existencia de dos formas interconvertibles de la piruvato deshidroge-

asa: una, *fosforilada*, o forma *inactiva*, la otra *desfosforilada*, es la forma *activa*. La existencia de una u otra es catalizada por dos enzimas: la *piruvato deshidrogenasa cinasa*, que requiere ATP, y la *piruvato deshidrogenasa fosfatasa*. *De hecho, ambas enzimas forman parte del complejo, asociadas a la dihidrolipoil transacetilasa.*

La principal función reguladora es ejercida por la *cinasa* que al fosforilar la piruvato deshidrogenasa con hidrólisis de ATP la convierte en su forma inactiva; esto ocurre cuando hay exceso de ATP en la célula. Cabe destacar el papel estimulador que ejercen sobre la *cinasa* la acetyl-CoA y el NADH, y el papel inhibitor del piruvato y el ADP.

Por el contrario, si baja el ATP celular, la *fosfatasa* le quita un fosfato a la piruvato deshidrogenasa y la reactiva. La fosfatasa es inhibida por exceso de NADH; esta inhibición es revertida por NAD^+ .

La actividad del complejo piruvato deshidrogenasa también es regulada por algunas hormonas. De entre ellas cabe destacar la *insulina* que incrementa la forma activa (desfosforilada) en tejido adiposo; las catecolaminas como la adrenalina pueden activar la piruvato deshidrogenasa en el tejido cardíaco. Estos efectos hormonales no están mediados por cambios en los niveles de AMPc tisulares ya que la *cinasa* y la *fosfatasa* son insensibles a éste.

Se ha detectado en niños deficiencia de algunas de las subunidades reguladoras del complejo piruvato deshidrogenasa. Estos niños muestran habitualmente niveles séricos elevados de lactato, piruvato y alanina que producen una acidosis láctica crónica. Tales pacientes muestran graves defectos neurológicos y en la mayoría el defecto enzimático conduce a la muerte. En ciertos casos, los pacientes responden a un tratamiento dietético reduciendo el mínimo los carbohidratos y administrando una dieta cetogénica.

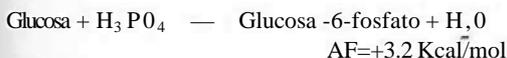
5.1.2.2 Reacciones endergónicas y exergónicas

Algunos procesos vitales como: la síntesis de macromoléculas, la conducción de impulsos nerviosos, la contracción muscular y el transporte activo, requieren energía para llevarse a cabo. Las reacciones metabólicas involucradas en los procesos de síntesis se denominan rutas o vías anabólicas o *anabolismo*; son reacciones que requieren energía y se denominan *endergónicas*. Desde el punto de vista termodinámico proceden con cambio de energía libre (AF+) de signo *positivo*. Para que estas reacciones ocurran, se deben *acoplar* a otro tipo de reacciones que liberan energía (*exergónicas*).

Las reacciones metabólicas que producen energía se denominan *catabólicas*. En estas reacciones se convierten las moléculas complejas, como: carbohidratos o grasas, en moléculas más pequeñas (CO₂ y H₂O en último término). Al ocurrir este tipo de reacciones se libera la energía almacenada y se consume oxígeno. Estas reacciones transcurren con cambio de energía libre *negativo*. (AF-), son espontáneas e irreversibles, y por tanto, *exergónicas*.

En la práctica, un proceso endergónico no puede ocurrir en forma independiente, debe formar parte de un sistema acoplado exergónico-endergónico cuyo cambio global debe ser exergónico. El conjunto de procesos exergónicos (catabólicos) y endergónicos (anabólicos) constituye lo que se conoce como *metabolismo*.

Un ejemplo clásico de acoplamiento energético es la fosforilación de la glucosa:

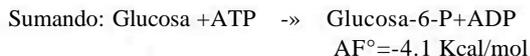
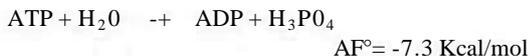
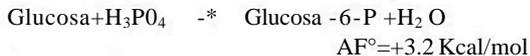


la reacción no es viable termodinamicamente en la dirección propuesta. Sin embargo, acoplada a la hidrólisis de ATP:



$$\text{AF}^\circ = -7.3 \text{ Kcal/mol}$$

La hidrólisis del ATP confiere a la reacción global un cambio exergónico que le permite transcurrir en la dirección propuesta:



En los sistemas biológicos, muchas reacciones exergónicas-endergónicas están acopladas de esta manera, es decir con un intermediario común obligado. El principal compuesto *intermediario* o portador de alta energía en la célula viva es el adenosintrifosfato (ATP).

A continuación describiremos las reacciones que dan lugar a la formación de este importante intermediario.

5.2 REACCIONES DE OXIDORREDUCCIÓN

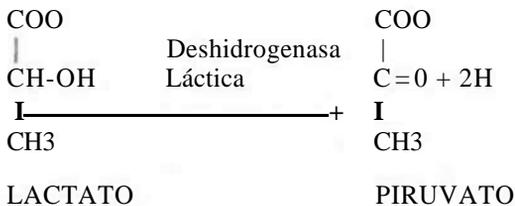
Tradicionalmente, el estudio de los temas de oxidaciones biológicas y sus relaciones con la bioenergética se ha considerado como uno de los más difíciles para el estudiante. Trataremos en este capítulo de presentar los aspectos químicos de la manera más comprensible.

5.2.1. Conceptos de oxidación y reducción

En la vida diaria se encuentran varios ejemplos de oxidación, como la combustión del gas usado en las estufas, la leña que se quema en las chimeneas o la oxidación del hierro dejado a la intemperie. En los prime-

ros casos, el carbono y el hidrógeno de los combustibles se combinarán con el oxígeno del aire para formar CO₂ y H₂O y desprender energía calórica. En el último ejemplo, el hierro al combinarse con el oxígeno formará óxido de hierro. El factor común a estos dos procesos *oxidativos* es la *participación de oxígeno*.

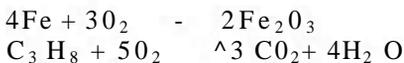
En la célula, la oxidación de la glucosa hasta CO₂ y H₂O con liberación de energía se realiza en varias etapas, algunas de las cuales transcurren sin la participación de oxígeno. Por ejemplo la transformación de lactato en piruvato:



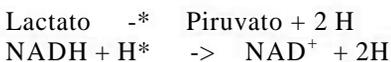
En esta reacción de *oxidación* se *pierden hidrógenos*. Muchas reacciones de oxidación que ocurren en el metabolismo se realizan por *pérdidas de hidrógenos* o *deshidrogenación*.

Ya sea que el mecanismo de oxidación ocurra con ganancia de oxígeno o con pérdida de hidrógeno, en ambos procesos se implica la *pérdida de electrones*. Así, una reacción de oxidación puede ocurrir por cualquiera de estos tres mecanismos:

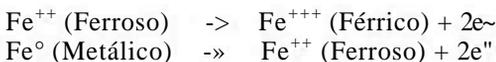
a) Ganancia de Oxígeno:



b) Pérdida de Hidrógeno:



c) Pérdida de Electrones:



El fenómeno contrario se denomina *reducción*. Este puede ocurrir por pérdida de oxígeno, ganancia de hidrógeno o ganancia de electrones. En toda reacción química, los hidrógenos o electrones que una molécula pierde, otra molécula los debe ganar. Es decir, una se oxida y la otra se reduce; a la reacción global se llama reacción de *oxidorreducción*.

5.2.1.1. Número de oxidación

En las reacciones de oxidorreducción se maneja a menudo el concepto de *número de oxidación* que se define como el número de electrones que se transfieren en una reacción de oxidorreducción.

a) Los elementos en su estado natural (por ejemplo, un metal) poseen todos sus electrones y por lo tanto su número de oxidación es de cero.

b) Cuando el oxígeno se combina con otro elemento generalmente capta dos electrones para completar su orbital con ocho electrones y su número de oxidación es menos dos (-2).

c) Cuando el hidrógeno se combina, generalmente cede un electrón y su número de oxidación es más uno (+1) por el protón que queda sin contraparte.

d) En una molécula neutra, la suma de los números de oxidación de sus átomos es de cero.

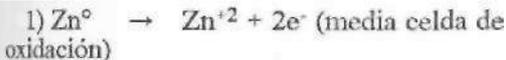
Cuando un elemento pierde o gana electrones cambia su número de oxidación. Si el elemento se *oxida*, su número de oxidación *aumenta* y si se *reduce*, su número de oxidación *disminuye*, por ejemplo:



El Zn se oxidó al pasar su número de oxidación de cero a +2. El H se redujo pues pasó de número de oxidación +1 a cero.

Es pertinente notar que en esta reacción los componentes del ion sulfato (SO₄²⁻) no

cambian su número de oxidación, mientras el Zn y el H sí lo cambian. Con estos últimos se pueden armar dos medias celdas o hemipilas; la del que se oxida y la del que se reduce. Si el Zn se oxida, quiere decir que pierde electrones y si el H se reduce es porque gana electrones. Las dos medias celdas pueden quedar de la siguiente manera:



Si las hemipilas se unen entre sí por un puente salino (KCl), los electrones pueden pasar de una a la otra y el flujo de electrones genera una corriente eléctrica que se puede medir con un voltímetro. Como el Zn tiene más tendencia a ceder electrones que el hidrógeno, los electrones pasarán de la hemipila del Zn a la del hidrógeno (fig. 5.2).

5.2.1.2. Potencial de oxidorreducción

El esquema de la fig. 5.2 ilustra el fundamento de una pila eléctrica en la cual la energía química se transforma en energía eléctrica. Al voltaje observado cuando los electrones fluyen de una semicélula a la otra se le llama *potencial de oxidorreducción* o fuerza electromotriz.

La facilidad con la que un donador de electrones (agente reductor) cede sus electrones a un aceptor electrónico (agente oxidante) se expresa como potencial de oxidorreducción (potencial redox) del sistema. El potencial redox de un par de oxidorreducción se determina (en voltios) comparándolo con una hemipila patrón de referencia (habitualmente la del electrodo de hidrógeno de la figura 5.2). El potencial del electrodo de referencia se sitúa por convención en 0.0V a pH 0.0; a concentración 1M y 25°C; sin embargo, cuando se corrige este

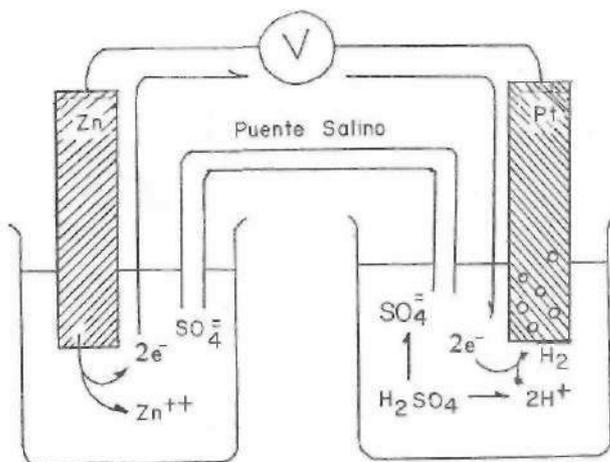


Fig. 5.2. Pila voltaica o galvánica formada por dos medias celdas (semicélulas). V = Voltímetro; Pt electrodo de platino, Zn = electrodo de cinc.

potencial par pH 7.0 el potencial de referencia es -0.42V. Este potencial se conoce como potencial redox estándar (E_i).

5.2.1.3. Nivel de energía de las reacciones de oxidorreducción

En la pila voltaica descrita antes, el trabajo eléctrico producido será el resultado de la diferencia de potencial (E) por el número de electrones (N) transportados. Si el número de electrones se expresa en número de moles (n) y la carga de un mol de electrones en faradios (9), el trabajo eléctrico útil será igual al cambio de energía, y por lo tanto:

$$AF = -n \cdot F \cdot \Delta E$$

AF = cambio de energía libre

F = equivalente del Faraday (26,062 KcalV-imoH)

El signo negativo de la ecuación se debe a que cuando AF resulta positivo la reacción es exergónica. En condiciones estándar y fisiológicas.

$$AF^\circ = -n W E o'$$

$E'o$ La diferencia de potencial está ajustada al pH 7.0, que es cercano al pH fisiológico, el potencial de reducción para el par $H^+/1/2 H_2$ no es cero, sino -0.42 V (la concentración de H^+ no es 1M, sino $10^{-7}M$).

En la tabla 5.1 se indican los potenciales redox estándar de interés especial en bioquímica.

Tabla 5.1.
Potenciales redox estándar de diversas reacciones químicas

SISTEMA	n	Eo voltios
1/2 O ₂ +2H ⁺ /H ₂ O	2	+ 0.82
Citocromo a Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	+ 0.29
Citocromo c Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	+0.25
Citocromo c ₁ Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	+ 0.22
Coenzima Q + 2H ⁺ /COQH ₂	2	+0.10
Citocromo b Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	+0.08
Mitocondrial		
Fumarato +2H ⁺ /Succinato	2	+ 0.03
Citocromo b Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	+0.02
Microsomal		
Oxalacetato +2H ⁺ /malato	2	- 0.166
Piruvato +2H ⁺ /lactato	2	- 0.185
Acetaldehído +2H ⁺ /etanol	2	- 0.197
FAD+2H ⁺ /FADH ₂	2	-0.219
NAD ⁺ +2H ⁺ /NADH+H ⁺	2	- 0.320
NADP ⁺ +2H ⁺ /NADPH+H ⁺	2	- 0.320
2H ⁺ /H ₂	2	-0.421
Ferredoxina Fe ⁺³ /Fe ⁺²	1	-0.430
Acetato +2 ⁺ /Acetilaldehído	2	- 0.60
Cetoglutarato +2H ⁺ /Succinato+CO ₂	2	- 0.70
Piruvato +2H ⁺ /Acetato+CO ₂	2	- 0.70

mica. Esta lista permite predecir la dirección del flujo de electrones de un par redox a otro. Los electrones fluirán de la reacción E'o fuertemente negativa a la reacción con E'o más positivo.

En la ecuación de Nernst se correlaciona la diferencia de potencial estándar de las reacciones bioquímicas con la constante de equilibrio, en virtud de que ambas tienen como factor común el cambio de energía libre estándar (revisar subcapítulo 4.5.1.).

Por lo tanto

$$m \bullet = \frac{RT}{nF} \ln K_{eq}$$

En esta ecuación R es la constante de los gases (1.987 Kcal⁻¹. mol⁻¹) y T es la temperatura en grados absolutos a 25°C (298°K), sustituyendo los valores tenemos:

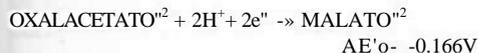
$$\Delta E_o' = \frac{(1.987)(298)}{n(23062)} \ln K_{eq} = \frac{0.059}{n} \log K_{eq}$$

Esta ecuación permite calcular la constante de equilibrio de una reacción redox directamente de los valores de E'o' de las semirreacciones de redox y viceversa.

Con la ecuación: $\Delta F'^{\circ} = -n \cdot \Delta E_o'$ se puede calcular el cambio de energía libre de un par de redox si se conoce la diferencia de potencial de cada reacción. Tomamos como ejemplo la oxidación de malato a oxalacetato.

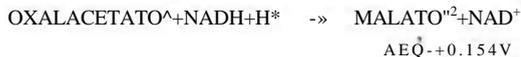


Se buscan en la tabla los potenciales estándar de cada una de las semirreacciones de redox.



En una pila electroquímica los electrones fluyen de la semirreacción con el E'o más negativo hacia el más positivo. Por lo tanto, el NADH perderá electrones y el oxalacetato los aceptará.

La ecuación queda:



Aplicando la ecuación:

$$\Delta F'^{\circ} = -n \Delta E_o'$$

Sustituyendo los valores se tiene:

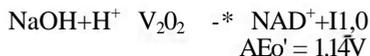
$$\Delta F'^{\circ} = -(2 \text{ moles}) (23,062 \text{ Kcal} \cdot \text{mol} \cdot \text{V}^{-1}) (0.154V)$$

$$\Delta F'^{\circ} = -7.14 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Utilizando esta misma ecuación se puede calcular el cambio de energía libre que se produce en la reacción redox neta de la respiración, es decir, la transferencia de electrones desde el NADH al oxígeno molecular. Las semirreacciones redox serían:



El flujo de electrones irá del más negativo al más positivo, el NADH se oxidará y el oxígeno se reducirá. La reacción total será:



Aplicando la ecuación:

$$\Delta F'^{\circ} = -n \Delta E_o'$$

$$\Delta F'^{\circ} = -(2) (23062)(1.14) = -52.6 \text{ Kcal/mol.}$$