

Contenido obra completa

VOLUMEN I

Prólogo	XV
1. Concepto y perspectivas de la bioquímica	1
<i>Emilio Herrera</i>	
2. El medio intracelular. Agua y electrolitos	11
<i>Eduardo Arilla</i>	
3. Estructura y propiedades de los aminoácidos	33
<i>Juan Carlos Prieto</i>	
4. Estructura de las proteínas	49
<i>José M. Cuezva, Jesús Vázquez y Federico Mayor</i>	
5. Enzimas	89
<i>Emilio Herrera</i>	
6. Cinética enzimática	109
<i>Emilio Herrera</i>	
7. Control de la actividad enzimática. Enzimología clínica	139
<i>Emilio Herrera</i>	
8. Vitaminas hidrosolubles y coenzimas	167
<i>Francisco Castillo y Jacobo Cárdenas</i>	
9. Principios de la termodinámica aplicados a la bioquímica. Bioenergética	227
<i>José María Medina</i>	
10. Oxidación biológica y cadena respiratoria	265
<i>José María Medina</i>	
11. Fotosíntesis	297
<i>Agustín G. Fontes y José María Maldonado</i>	
12. Ciclos del ácido cítrico y del ácido glioxílico	333
<i>Emilio Herrera</i>	
13. Estructura y química de los monosacáridos	357
<i>Eduardo Arilla</i>	
14. Oligosacáridos y polisacáridos. Glicoproteínas. Cartílago	391
<i>Eduardo Arilla</i>	
15. Carbohidratos en la dieta. Digestión y absorción de carbohidratos ..	427
<i>Emilio Herrera</i>	
16. Glucólisis	445
<i>Miquel Llobera y Antonio Zorzano</i>	
17. Gluconeogénesis	473
<i>Antonio Zorzano</i>	

BIOQUIMICA. Aspectos estructurales y vías metabólicas

Derechos reservados © 1991 respecto de la primera edición en español por
EMILIO HERRERA

McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA
Manuel Ferrero, 13 - 28036 Madrid

Primera edición: 1991
I.S.B.N.: 84-7615-778-9 (Obra completa)
I.S.B.N.: 84-7615-776-2 (Vol. I)
Depósito legal: M. 34.668-1991

Cubierta: Jesús Barbeito
Fotocompuesto en: MonoComp, S. A. Conde de Vilches, 31 - 28028 Madrid
Impreso en: EDIGRAFOS, S. A. c/Edison, B-22, Polígono Industrial San Marcos,
28906 GETAFE (Madrid)
Encuadernación: F. Méndez. Nicolás Morales, 23 - 28019 Madrid
Printed in Spain - Impreso en España

18.	La vía de las pentosas-fosfato	501
	<i>Enrique Meléndez</i>	
19.	Metabolismo del glucógeno y su regulación	529
	<i>Joan J. Guinovart</i>	
20.	Estructura de lípidos	557
	<i>Miguel Angel Lasunción</i>	
21.	Digestión y absorción de los lípidos de la dieta	575
	<i>Miguel Angel Lasunción</i>	
22.	Formación de grasas: biosíntesis de ácidos grasos y triacilglicéridos	591
	<i>Emilio Herrera</i>	
23.	Acúmulo y movilización de grasas. Oxidación de ácidos grasos. Cetogénesis	615
	<i>Emilio Herrera</i>	
24.	Metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares	645
	<i>Emilio Herrera</i>	
25.	Metabolismo de las lipoproteínas	667
	<i>Emilio Herrera y Miguel Angel Lasunción</i>	
26.	Metabolismo de fosfoacilglicéridos y esfingolípidos	703
	<i>María José Carmena y María Natividad Recio</i>	
27.	Eicosanoides: metabolismo y papel funcional	735
	<i>María José Carmena</i>	
28.	Estructura, metabolismo y función de las vitaminas liposolubles ...	761
	<i>Francisco Castillo y Jacobo Cárdenas</i>	
29.	Fuentes de aminoácidos: transporte y vías centrales del metabolismo de aminoácidos	809
	<i>Francisca Sánchez-Jiménez e Ignacio Núñez de Castro</i>	
30.	Biosíntesis y catabolismo de aminoácidos específicos	833
	<i>J. R. Viña y J. Viña</i>	
31.	Destino del ion amonio: ciclo de la urea y balance de nitrógeno ...	869
	<i>Francisca Sánchez-Jiménez, Francisco Cánovas e Ignacio Núñez de Castro</i>	
32.	Metabolismo de purinas y pirimidinas	899
	<i>Juan Carlos Prieto</i>	
	Índice analítico de la obra completa	I-XLII
VOLUMEN II		
33.	Bioquímica del DNA e ingeniería genética	923
	<i>Marta Izquierdo</i>	
34.	Biosíntesis del RNA: transcripción y modificaciones postranscripcionales	965
	<i>Albert Boronat</i>	
35.	Biosíntesis proteica	985
	<i>Juan Aguilar, Albert Boronat y Fausto García Hegardt</i>	
36.	Regulación de la expresión genética	1011
	<i>Juan Aguilar</i>	

37.	Destino y maduración de las proteínas en las células eucariotas	1029
	<i>Fátima Bosch Tubert</i>	
38.	Bioquímica de las membranas celulares	1053
	<i>Benito Herreros</i>	
39.	Transporte a través de las membranas	1085
	<i>Benito Herreros</i>	
40.	Hormonas y mecanismos de acción hormonal	1119
	<i>Juan Carlos Prieto</i>	
41.	Hormonas hipotalámicas, hipofisarias, tiroideas y esteroideas	1145
	<i>Juan Carlos Prieto</i>	
42.	Hormonas pancreáticas y gastrointestinales	1173
	<i>Raimundo Goberna, Juan Ramón Calvo y Emilio Herrera</i>	
43.	Bioquímica de los factores de crecimiento. Oncogénesis	1207
	<i>Manuel Benito y Margarita Lorenzo</i>	
44.	Metabolismo del calcio y del fósforo y su control hormonal. Metabolismo mineral	1227
	<i>Eduardo Arilla</i>	
45.	Bioquímica de las células sanguíneas: serie eritrocitaria	1255
	<i>José Luque, Montserrat Pinilla, Fernando Escrivá y Angel Giménez</i>	
46.	Proteínas plasmáticas. Bioquímica de la coagulación	1285
	<i>Fernando Escrivá y Angel Giménez</i>	
47.	Metabolismo de hemoglobinas y su patología molecular	1317
	<i>Manuel Benito y José María Culebras</i>	
48.	Transporte de gases en la sangre	1345
	<i>José María Culebras</i>	
49.	Bioquímica del sistema inmune	1361
	<i>José Peña y Corona Alonso</i>	
50.	Zonación hepática y heterogeneidad bioquímica de los hepatocitos .	1401
	<i>Manuel Palacin</i>	
51.	Neurobioquímica	1421
	<i>Cecilio Giménez, Jorgina Satrustegui y Carmen Aragón</i>	
52.	Bioquímica de los sistemas contráctiles y motrices	1455
	<i>Rafael Manso</i>	
53.	Metabolismo del músculo y bioquímica del ejercicio	1481
	<i>Antonio Zorzano y Anna Gumà</i>	
54.	Bioquímica de la visión	1503
	<i>José M. Cuezva y Federico Mayor, Jr.</i>	
55.	Bioquímica teórica	1527
	<i>Enrique Meléndez-Hevia y Néstor Torres</i>	
	Índice analítico de la obra completa	I-XLII

● **Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU**

● **Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)**

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Concepto y perspectivas de la Bioquímica

EMILIO HERRERA

CONCEPTO

La Bioquímica, término utilizado por primera vez en 1877 por Félix Hoppe-Seyler, puede ser definida como la ciencia que estudia los constituyentes químicos de los seres vivos, sus funciones y sus transformaciones, así como los procesos que controlan éstas. Es decir, se dedica al conocimiento de la base molecular de la vida, y es una ciencia derivada de la Fisiología, disciplina esta última que estudia las funciones del organismo vivo, vegetal o animal, y su coordinación. En Fisiología se entiende que el conocimiento parcial de los fenómenos ocurridos en los seres vivos lleva a comprender los procesos completos. Se hace especial hincapié en la integración de tales procesos tanto en el organismo vivo como en la función orgánica, tisular y celular. Ahora sabemos que, en última instancia, las funciones de células y órganos, e incluso del organismo completo, dependen de las moléculas que los constituyen y de su interacción; es decir, de los procesos bioquímicos que en ellos tienen lugar.

Con excepción de los más elementales, los seres vivos están constituidos por órganos que realizan actividades específicas. Desde antiguo se consideró que esta configuración era el resultado de una estrecha relación entre función y estructura, la cual era objeto del estudio de la Fisiología. Ahora dicha relación se ha investigado a nivel microscópico y, más recientemente, molecular. La enorme expansión de los conocimientos y la necesidad de profundizar en ellos ha hecho que la Fisiología clásica se divida en Fisiología Animal y Vegetal, e incluso que emerjan numerosas disciplinas separadas y específicas, comunes o no a cada una de dichas ramas: Microbiología, Genética, Embriología. En medio de todas ellas ha ido desarrollándose la Bioquímica, antiguamente denominada Química Fisiológica, pues, con excepción de algunos detalles concretos, los procesos fisiológicos tienen una base molecular común.

Si bien son interacciones moleculares las que rigen la funcionalidad de los seres vivos, no es posible considerar su unidad funcional, la célula, como una extensión lógica de los compuestos químicos que la constituyen, como si se tratara de un orden superior en la jerarquía que va del átomo a la macromolécula. Junto a la configuración particular del ser vivo y las propiedades fisicoquímicas de su entorno, hay numerosos y complejos procesos que rigen sus interacciones, los cuales son también abordados por la Bioquímica, de forma tal que esta ciencia

llega a superar la dualidad estructura-función del estudio clásico de los seres vivos, abarcando todas las aproximaciones moleculares de los fenómenos vitales. Sus límites se encuentran definidos, de una parte, por el objeto material de su estudio, el fenómeno vital, y, de otra, por su metodología experimental. Las técnicas y los conceptos necesarios para permitir una aproximación a la ordenación molecular y funcional de los seres vivos han hecho que el nacimiento y el desarrollo de la Bioquímica se haya basado en los fundamentos sólidos de otras ciencias, tales como la Química y la Física, e incluso que su crecimiento explosivo no haya podido ocurrir hasta la consolidación de la teoría química y el impulso exterior de sus antiguas fronteras dentro de la Biología.

Hay varios aspectos concretos que justifican la trascendencia que ha adquirido la Bioquímica en los últimos años. Por un lado, el esclarecimiento de la base molecular de procesos fundamentales tales como la transferencia de información desde un gen a una proteína, las etapas que constituyen las principales vías metabólicas del organismo, los fundamentos fisicoquímicos de la oxidación biológica o la estructura tridimensional del DNA y de numerosas proteínas. Por otro lado, el reconocimiento de que numerosos procesos vitales tienen una base molecular esencialmente común para todos los seres vivos; entre ellos cabe destacar la utilización del ATP como forma de energía metabólica, el proceso de la síntesis proteica y la transmisión de la información genética. Otro aspecto que justifica el enorme desarrollo de la Bioquímica en los últimos años es el reconocimiento de que la mayoría de las enfermedades son consecuencia de una alteración molecular, y que tanto para entender su fisiopatología como para llegar a un diagnóstico y para desarrollar una terapéutica adecuada se requieren unos fundamentos bioquímicos. A este interés clínico se une el hecho de que la Bioquímica ha permitido abordar aspectos médicos que hasta ahora eran completamente enigmáticos: el fundamento de la diferenciación y del crecimiento celular, el mecanismo de la memoria, la base molecular de las enfermedades psiquiátricas o el mecanismo de acción hormonal, entre otros. Todo ello ha contribuido al papel trascendental de la Bioquímica en Medicina, lo cual justifica a su vez que durante los últimos diez años prácticamente todos los galardonados con el Premio Nobel en Medicina y Fisiología hayan sido bioquímicos o investigadores muy vinculados a esta especialidad.

NACIMIENTO Y DESARROLLO DE LA BIOQUIMICA

No es fácil establecer cuándo comienza la historia de la Bioquímica; hay quienes consideran que, desde un punto de vista práctico, se inicia cuando Noé realiza por primera vez la fermentación alcohólica al transformar las uvas en vino. En realidad, aunque los primeros experimentos bioquímicos y los primeros intentos de conocer la composición de los seres vivos, así como el fundamento de los fenómenos fisiológicos y la etiología de las enfermedades pueden considerarse de la más remota antigüedad, las bases científicas para el desarrollo de la Bioquímica moderna no comienzan a establecerse hasta principios del siglo XVI.

Un médico suizo, Paracelso (Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, 1493-1541), fue el primero en proponer que los procesos vitales eran esencialmente químicos. Era aficionado a la alquimia y defensor de la observación y la experiencia como principales árbitros de la verdad, e introdujo conceptos químicos para el estudio de los procesos biológicos. Ello hizo que el médico belga Jan Baptist van Helmont (1577-1644), discípulo suyo, estudiara los procesos de la

fermentación, demostrando la liberación de dióxido de carbono en la combustión de la madera, así como en la fermentación de la uva y de la malta.

Pero el verdadero creador de la Química fisiológica moderna fue Justus von Liebig (1803-1873), quien analizó cuidadosamente los alimentos y las excretas de animales, descubriendo la formación de urea, ácido hipúrico, ácido úrico y otros compuestos orgánicos. Describió también los ciclos del carbono y del nitrógeno en animales y plantas. Un colega suyo, Friedrich Wöhler, logró en 1828 sintetizar urea a partir de cianato amónico mediante procesos químicos. Ello hizo que además de despertarse el interés por la química orgánica de los productos naturales, se ganara una importante batalla al vitalismo de la época al demostrar la posibilidad de síntesis química (sin «fuerza vital») de un producto, como la urea, que era fabricado por los propios animales. El laboratorio de Justus von Liebig constituyó la meca de la química de la época; muchos de sus discípulos llegaron a ser famosos (Erlemeyer, Volhard, Kekulé, Schmidt) y crearon escuelas de las que surgieron prestigiosos químicos, físicos, fisiólogos y bioquímicos (Arrhenius, Nernst, Lewis, von Miller, van't Hoft, Landsteiner, Fischer, Wieland, Willstätter, Warburg, Lynen, Meyerhof, Krebs, Theorell, Lipmann, etc.).

En la primera etapa del siglo XIX, el desarrollo de las ciencias biológicas estaba mediatizado por la teoría del vitalismo, que suponía la vida como el resultado de una fuerza vital sobrenatural, no abierta a la experimentación. Dicha teoría fue mantenida incluso por quienes entendían las funciones de los seres vivos en términos químicos y físicos, y tuvo especial arraigo en Francia, donde Marie F. X. Bichat (1771-1802) llegó a proponer que la vida era el conflicto entre las fuerzas vitales y las fuerzas fisicoquímicas, y que las leyes físicas eran seguidas únicamente después de la muerte. Los experimentos meticulosos de Pasteur contribuyeron también a un apoyo intrínseco del vitalismo, al inducir el abandono de la teoría de la generación espontánea, mostrando que, aunque algunas partes del proceso de la fermentación (por ejemplo, la transformación del almidón en azúcar) eran producidas sólo por fermentos (enzimas) extraíbles de las levaduras, la conversión del azúcar en alcohol y anhídrido carbónico requería obligatoriamente la presencia de la célula de levadura viva. Concluyó, por tanto, que era necesaria la participación de un factor vital para llevar a cabo el proceso, y con ello atribuyó a la fermentación alcohólica una categoría más allá de una serie de reacciones químicas catalizadas y controladas por enzimas, que hoy denominamos *via metabólica*.

Conocimiento de las enzimas

Los primeros pasos hacia el conocimiento de las enzimas son consecuencia de la dedicación al estudio de la fermentación alcohólica y de los procesos digestivos. En 1833, A. Payen y J. F. Persoz consiguieron aislar una sustancia derivada del extracto alcohólico de malta, inestable a altas temperaturas y que facilitaba la transformación rápida del almidón en azúcar, sustancia a la que denominaron *diastasa* (del griego *diadstasis*, separación). En aquella época, el término *fermento* era utilizado por unos como sinónimo de *microorganismo que lleva a cabo la fermentación*, en tanto que otros lo reservaban para designar a los principios activos de los jugos digestivos (gástrico, pancreático y saliva). Con el fin de solventar la confusión, W. Kühne propuso en 1878 el término de *enzima* (del griego *levadura*) para dichos catalizadores solubles, ya que su actividad era parecida a la de la levadura en la fermentación. Sin embargo, no se utilizó de forma generalizada hasta después de la Segunda Guerra Mundial, cuando desapareció prácticamente el de fermento. En 1897, Eduard Buchner logró ganarle la batalla

definitiva al vitalismo, al conseguir un extracto de células de levadura mediante trituración con arena, que denominó *zimasa*, demostrando que catalizaba las mismas reacciones de fermentación que las células intactas; es decir, logró realizar la fermentación alcohólica mediante un extracto enzimático, en ausencia de células vivas. La trascendencia del descubrimiento de Buchner radica también en que aportó la base para futuras investigaciones, que dieron como fruto el posterior descubrimiento de determinadas vías metabólicas. En torno a la misma época, Emil Fischer (1852) propone la hipótesis de interacción estérica entre una enzima y su sustrato, conocida como la relación entre la llave y su cerradura, y Richard Willstätter (1872-1945) y otros químicos inician los trabajos para lograr la purificación de las enzimas. Los esfuerzos para profundizar en el conocimiento de la naturaleza enzimática culminan con la cristalización de la *ureasa* por J. B. Sumner en 1926, aunque todavía un año después (1927), S. Kostytschew y colaboradores publican un artículo en el que intentan justificar los experimentos de Buchner en términos vitalistas. En años sucesivos se fueron purificando y cristalizando otras enzimas, y en particular las digestivas, llegándose a demostrar que todas eran de naturaleza proteica, por lo cual el conocimiento de la estructura de las enzimas que se iban purificando hubo de esperar hasta contar con la metodología necesaria para determinar, primero, la secuencia de aminoácidos en las proteínas y, después, su disposición en el espacio. La metodología para conocer la secuencia de aminoácidos de las proteínas fue desarrollada por primera vez por F. Sanger, quien en 1945 logró establecer la estructura primaria de la insulina.

Los estudios sobre el funcionamiento de las enzimas y los factores que lo modulan, es decir, sobre la *cinética enzimática*, se fueron desarrollando en paralelo con los orientados a conocer su naturaleza. Los primeros trabajos fueron realizados con la sacarosa a principios del presente siglo (Henri en París y Brown en Birmingham), y permitieron concluir que la enzima y su sustrato forman un complejo que se rompe a determinada velocidad, dando lugar a la enzima libre y al producto. A su vez, los investigadores propusieron que, de acuerdo con la ley de acción de masas en las reacciones ordinarias, la velocidad de la reacción sería proporcional a la concentración de los reactantes, hasta que se alcanza un límite en el que dicha velocidad no aumentaría más, correspondiente a la saturación de la enzima por dichos reactantes. Henri desarrolló una teoría que permitía dar una expresión matemática a tales interacciones, la cual fue reavivada y desarrollada por Michaelis en 1913 con la participación de Menten, Briggs y Haldane. Desde entonces se han ido sucediendo una serie de ampliaciones y modificaciones a esta teoría, que han llevado al desarrollo de numerosas y complicadas ecuaciones matemáticas.

El concepto de coenzima fue propuesto en 1897 por G. Bertrand, quien sugirió que una enzima estaba constituida por dos componentes, uno activo y otro inactivo, que era capaz de potenciar la acción del primero. Posteriormente, las coenzimas se reconocieron como factores funcionales que permitían la interacción de unas enzimas con otras dentro de una vía metabólica.

Descubrimiento de las vías metabólicas

A medida que se descubrían las enzimas se fueron estudiando las reacciones catalizadas por ellas, localizadas en el interior celular e interconectadas entre sí, constituyendo una *vía metabólica*, en la que el producto de una de las reacciones constituye el sustrato de la siguiente, y así sucesivamente. Es lógico que, dado el interés despertado por las fermentaciones, una de las primeras secuencias de

reacciones propuesta como vía metabólica fuera la de la fermentación alcohólica, descrita por Carl Neuberg a principios del presente siglo. Este autor utilizó como base experimental el extracto enzimático *zimasa*, que había preparado Buchner. Muy pronto se reconoció la semejanza entre las reacciones que tenían lugar en la fermentación alcohólica y las de la degradación de la glucosa en las células animales (glucólisis), que fueron descritas por Embden, Meyerhof, Parnas y sus discípulos, recibiendo esta vía metabólica el nombre inicial de *vía de Embden-Meyerhof*.

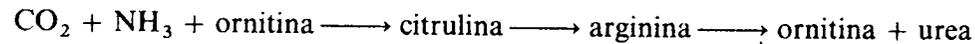
El descubrimiento de todas y cada una de las reacciones de la glucólisis requirió la contribución de otros bioquímicos, entre los que cabe destacar a Otto Warburg, quien, junto a sus colaboradores, descubrió la reacción de oxidación del gliceraldehído-3-fosfato a ácido fosfoglicérico y llegó a purificar diversas enzimas del proceso (*gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa*, *enolasa*, *piruvato quinasa* y *lactato deshidrogenasa*). El propio Warburg contribuyó activamente al descubrimiento de la vía de oxidación directa de la glucosa-6-fosfato, que ahora conocemos como *vía de las pentosas*. De forma paralela a estos hallazgos se fueron descubriendo y desarrollando los principios de la bioenergética. En 1929 Fiske y Subbarow aislan el ATP y la creatina de músculo; en 1937, Warburg observa la formación de ATP en la reacción de oxidación del gliceraldehído-3-fosfato, comentada antes; en 1940, Kalckar realiza los primeros estudios sobre la fosforilación oxidativa; en 1941, Lipmann postula el papel del ATP en los ciclos de transferencia energética, y en 1943, Ochoa demuestra que la relación P:O de la fosforilación oxidativa de los ácidos tricarbóxicos es de 3:0. Todo ello, unido a los estudios de Claude en 1940-1945 sobre las mitocondrias, constituye un ejemplo de la elaboración del conocimiento científico, que en este caso concreto llevó a la correcta interpretación de la energética celular.

Otra vía metabólica que comenzó a descubrirse a principios del presente siglo fue la *β -oxidación de los ácidos grasos*, de la que F. Knoop estableció los fundamentos ya en 1905. Tuvo la ingeniosa idea de colocar un anillo fenólico como radical no metabolizable al final de la cadena de los ácidos grasos. De esta manera se adelantaba a los métodos modernos de marcaje con isótopos radiactivos. Mediante el análisis de los productos con radicales fenólicos eliminados por animales que ingerían dichos ácidos grasos «marcados», llegó a la conclusión de que la oxidación de los mismos se llevaba a cabo de dos en dos átomos de carbono, comenzando por el que se encontraba en posición β con relación al terminal carboxílico. Lógicamente, el conocimiento completo de esta vía metabólica no se logró hasta más adelante, en que se fueron descubriendo aspectos concretos de las reacciones intermedias y, en particular, hasta que F. Lipmann y F. Lynen descubrieron que el acetil-CoA era un producto intermedio y final de la misma. Posteriormente, el propio Lynen y su grupo describieron la oxidación descarboxilativa del piruvato con formación de acetil-CoA como paso esencial en la interconexión entre el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Describieron también las principales reacciones de la síntesis de ácidos grasos y la formación de cuerpos cetónicos como una derivación de la oxidación de los ácidos grasos.

El descubrimiento del metabolismo de los aminoácidos se inició a principios de siglo, y ya en 1906, G. Embden, utilizando un sistema de hígado perfundido, demostró que algunos aminoácidos eran cetogénicos. Mediante el método de «marcaje» con el anillo fenólico, el propio Knoop propuso en 1910 que una de las primeras reacciones en el metabolismo de los aminoácidos era su desaminación oxidativa con formación de amoníaco y el α -cetoácido correspondiente. Bastante más tarde, Braunstein y Kritzman describieron la transaminación entre un aminoácido y un α -cetoácido, reacción fundamental en el metabolismo de los aminoá-

cidos, y en 1938, Kuhn y colaboradores aislaron el fosfato de piridoxal, un derivado de la vitamina B₆ y coenzima que participa en dicha transaminación.

La primera vía metabólica cíclica que se descubrió fue la síntesis de la urea, derivada del metabolismo nitrogenado a través del denominado *ciclo de la ornitina*. Fue descrita por Krebs y Henseleit en 1932, y en un principio se postularon sólo tres pasos intermedios:



requiriéndose unos diez años más y la participación de otros bioquímicos para esclarecerla en su totalidad. Aparte del propio interés del conocimiento de esta vía metabólica, el hallazgo de Krebs fue fundamental para su posterior descubrimiento del *ciclo del ácido cítrico* que lleva su nombre (*ciclo de Krebs*), ya que era la primera descripción de una vía metabólica de esta naturaleza en la que unos metabolitos entran y otros salen a través de una serie de reacciones cíclicas. De hecho, la mayoría de las reacciones del ciclo del ácido cítrico se conocían ya gracias a los trabajos de A. Szent-Györgyi sobre el metabolismo del succinato, y de F. Knoop y C. Martius sobre el del citrato, pero fue mérito de Krebs colocarlas en orden de forma cíclica, aportando a su vez una serie de experimentos que corroboraban esta brillante idea (1937). Como para otras vías metabólicas, fue también necesaria la aportación de más investigadores para completar los detalles de las distintas reacciones que participaban en el ciclo del ácido cítrico; entre ellos cabe destacar a Severo Ochoa, quien purificó varias enzimas, llegando a clarificar aspectos esenciales de su mecanismo de acción y control: *piruvato deshidrogenasa*, *citrato sintasa*, *isocitrato deshidrogenasa*, *2-oxoglutarato deshidrogenasa* y la entonces denominada *enzima málica*.

Inicios de la biología molecular

Los fundamentos de la herencia y de la evolución de las especies han constituido desde sus inicios uno de los principales capítulos de la biología. La Bioquímica no ha sido ajena a ello, pues igual que los demás procesos ocurridos en los seres vivos, los fenómenos de la herencia tienen una base molecular, y genetistas, citólogos, químicos orgánicos y bioquímicos han aunado sus esfuerzos para descifrarlos. En 1856, Charles Darwin había publicado su teoría sobre el origen de las especies para explicar los cambios acaecidos en los seres vivos, pero sin lograr explicar los mecanismos de la herencia. Diez años más tarde (1866), Gregor Mendel publicó su primer trabajo, en el que describe el análisis de la distribución cuantitativa de los caracteres hereditarios de las plantas de guisantes que cruzaba en su jardín, y llegó a la conclusión de que existían ciertas unidades particulares o factores genéticos que controlaban los rasgos hereditarios de los individuos y eran transmitidos intactos a la descendencia. Dichos factores fueron denominados después *genes*.

Durante varios años, los genes permanecieron como entidades abstractas, cuya localización celular no fue definida hasta comienzos del presente siglo, cuando se concluyó que se encontraban en los cromosomas, los cuales, a su vez, se hallaban en el núcleo celular. Se comprobó que dichos cromosomas estaban constituidos por proteína y una segunda sustancia denominada *ácido nucleico*, que ya había sido descubierta por Miescher en 1868 y a la que se había dado poca importancia. De hecho, era difícil imaginar que la estructura relativamente uniforme del ácido nucleico, con sólo 4 bases nitrogenadas distintas, pudiera ser capaz de transportar la información genética.

El primer paso importante hacia la biología molecular fue la hipótesis de *un gen-una enzima*, emitida por Beadle, Tatum y Euphrussi, en la que se proponía que la síntesis de cada enzima era codificada por un gen concreto. A pesar de la amplitud de esta hipótesis, durante toda la primera mitad del presente siglo fueron sucediéndose una serie de cuestiones que no permitían alcanzar una visión certera de esta relación. Así, los físicos Böhr, Delbruck y Schrödinger encontraban paradójica la estabilidad del gen frente a las fluctuaciones estadisticomecánicas que cabía esperar sobre la base de su estado físico. Se propuso incluso que el gen podría constituir un estado excepcional de la materia sujeto a leyes complementarias de las de la física atómica, pero no circunscrito a ellas. El misterio del gen se desveló en 1950, cuando J. D. Watson y F. H. C. Crick descubrieron que estaba compuesto por *ácido desoxirribonucleico* (DNA), y que la información genética que determina la estructura de las proteínas estaba codificada en la secuencia de las bases nitrogenadas de los nucleótidos contenidos en la estructura helicoidal de las dos cadenas que lo constituyen.

A partir del descubrimiento del DNA, el avance del conocimiento de todos los procesos relacionados con la bioquímica de la transmisión genética fue verdaderamente vertiginoso, y sería imposible hacer aquí una referencia histórica de cada uno de los hallazgos que se sucedieron. Cabe, sin embargo, citar algunos de ellos: mecanismo de la replicación del DNA; naturaleza del código genético; fundamento estructural y funcional de la síntesis de proteínas; mecanismos de regulación de la expresión genética en microorganismos, y procesos de reparación del DNA celular.

Desarrollo tecnológico

El rápido desarrollo tecnológico producido a mediados del presente siglo contribuyó de forma esencial al avance del conocimiento bioquímico. Por ejemplo, el desarrollo de la microscopía, en especial la introducción del microscopio electrónico, y la invención de la ultracentrífuga, que permitió el fraccionamiento subcelular, sirvieron para evidenciar la organización funcional de la célula. La utilización de isótopos radiactivos, la posibilidad de utilizar sistemas libres de células en experimentos funcionales, y el gran desarrollo de técnicas analíticas y de separación han sido fundamentales para el estudio de las vías metabólicas y de los mecanismos que las controlan. Las técnicas de difracción de rayos X en manos de científicos como Kendrew han permitido conocer la estructura tridimensional de las proteínas, como, por ejemplo, la de la hemoglobina en 1960. Realmente, la integración del metabolismo y su control no hubiese sido posible sin conocer las estructuras íntimas de las enzimas involucradas. Estas tecnologías han permitido también conocer la estructura de las inmunoglobulinas, revolucionando así el campo de la inmunología. En la actualidad, incluso las técnicas de secuenciación de proteínas han sido superadas por las de manipulación *in vitro* de genes aislados.

La aplicación de las técnicas microbiológicas a los organismos animales ha promovido el interés en el cultivo de tejidos y células animales. El avance en este campo ha permitido abordar de forma directa los procesos de diferenciación celular y de morfogénesis, constituyendo un sistema simple y adecuado para estudiar los procesos de neurotransmisión, acción hormonal y genética molecular. Un ejemplo de la aplicación de esta metodología lo encontramos en las hibridaciones celulares, que han permitido obtener nuevas células con genoma distinto, y que constituyen unos elementos de enorme interés básico y biotecnológico. Estas

técnicas han sido complementadas por otros hallazgos trascendentales, entre los que, por citar algunos, cabe mencionar la descripción y catalogación de las enzimas de restricción por P. Berg y la preparación y utilización de anticuerpos monoclonales por C. Milstein y J. Kohler ya en los años ochenta. Todo ello ha permitido a la biología molecular alcanzar cotas de desarrollo que hace escasos años parecían inalcanzables. De esta manera se ha conseguido introducir en unas cuantas bacterias (*clonación*) toda la dotación genética de una célula eucariota, pudiéndose identificar cada una de las regiones del genoma contenidas en cada clon de la genoteca. Se pueden incluso expresar y analizar sus productos o secuenciar el DNA correspondiente.

Toda esta tecnología va revelando aspectos fundamentales de la estructura del DNA del genoma de los mamíferos, y se espera que permita descifrar los mecanismos de regulación de los genes involucrados en la ontogenia de los organismos superiores.

PERSPECTIVAS FUTURAS DE LA BIOQUIMICA

A lo largo de este capítulo hemos ido revisando algunos de los progresos del conocimiento de las bases moleculares de la vida y, por tanto, de la Bioquímica a lo largo de los tiempos. En la actualidad conocemos ya la mayor parte de las reacciones químicas que constituyen el metabolismo intermediario, y se ha establecido también la enorme semejanza entre las principales vías metabólicas de todos los seres vivos. Desde el punto de vista estructural, comprendemos el mecanismo básico de acción de numerosas enzimas y de la regulación enzimática. Conocemos también las bases moleculares de la expresión genética, y nos vamos aproximando a la comprensión molecular de los mecanismos de defensa de los distintos organismos.

Es interesante destacar que la mayor parte de estos hallazgos han tenido lugar durante el presente siglo, lo cual muestra la gran juventud de esta disciplina e implica, a su vez, que aún se encuentra en fase de rápido crecimiento; de hecho, a pesar de todos los logros hasta ahora conseguidos, existen una serie de retos que van a ser abordados por la investigación bioquímica en los próximos años. De entre ellos vamos a destacar los más significativos:

1. *Mecanismos de diferenciación y morfogénesis en organismos pluricelulares.* Poco a poco se han ido descifrando algunos aspectos químicos implicados en el desarrollo y diferenciación de sistemas relativamente sencillos, como es el caso de la esporulación o de la formación de cilios en bacterias. En la actualidad, gracias a los conocimientos de la biología molecular y a las técnicas de ingeniería genética disponibles, podrá abordarse la investigación de cómo se utiliza la información contenida en un óvulo fertilizado para dirigir su desarrollo hasta ser transformado en un organismo diferenciado.

2. *Mecanismo bioquímico de la conducta.* Ya conocemos las bases fisicoquímicas de la conducción del impulso nervioso y su transmisión de unas células a otras. No conocemos, sin embargo, cómo las neuronas integran toda la información recibida de otras, y la transforman en una respuesta que supone tanto el proceso cognoscitivo como un determinado comportamiento del individuo. El lenguaje que entienden las neuronas para transmitir la información está constituido por los neurotransmisores, que no son más que sustancias químicas cuya síntesis, reconocimiento y degradación dependen de procesos bioquímicos. Por ello, llegar a entender el mecanismo de la conducta y del propio conocimiento constituye otro de los retos actuales de la Bioquímica.

3. *La patología molecular.* El reconocimiento de que prácticamente todas las enfermedades tienen un componente molecular, con la única excepción de las traumáticas, hace que se estén asentando las bases para una verdadera revolución de la medicina: el nivel molecular de la patología. La «molecularización» de la medicina no es ya una utopía, y supone la necesidad de un abordaje de la patología, el diagnóstico e incluso la terapéutica (incluida la prevención) desde el punto de vista molecular. Esta será la base de la medicina de las próximas décadas, y en esta dirección ya se están dando unos pasos firmes y de enorme trascendencia. Prueba de ello es el conocimiento de los errores congénitos del metabolismo, que constituye en la actualidad el único capítulo de las enfermedades moleculares ampliamente desarrollado. Sin embargo, se está avanzando también muy deprisa en el estudio molecular de las grandes enfermedades consideradas globalmente como somáticas o no hereditarias (cáncer, diabetes), las de etiología exógena (virosis, deficiencias vitamínicas, alcoholismo) e incluso las neurológicas y psiquiátricas (enfermedades degenerativas, neurosis, esquizofrenia).

4. *Biotecnología.* La obtención y el manejo de fragmentos discretos de DNA, así como su posterior introducción en una célula huésped en la que se llegue a producir la expresión de los genes contenidos en tales fragmentos, implican un potencial tecnológico de enorme interés para su empleo en medicina, agricultura e industria. Como ejemplos de aplicación de la tecnología del *DNA recombinante* podríamos citar los siguientes:

— Producción por microorganismos de hormonas humanas de naturaleza peptídica o proteica. En este sentido ya es una realidad la producción de somatostatina, insulina y hormona del crecimiento humanas para su utilización médica.

— Obtención de vacunas mediante la producción de anticuerpos neutralizantes de epítomos víricos mediante su inclusión por manipulación genética en otras proteínas.

— Diagnóstico prenatal de enfermedades congénitas por análisis del DNA de células fetales presentes en el líquido amniótico utilizando genes normales como sondas de hibridación.

— Terapia genética para el tratamiento de enfermedades metabólicas con la implantación en los individuos afectados de clones capaces de elaborar la enzima que no se exprese.

— Mejora en las cosechas mediante la clonación de genes responsables de la fijación del nitrógeno en plantas de importancia agrícola o de otros que codifiquen la resistencia a factores ambientales.

CONCLUSION

Así pues, hemos visto cómo la Bioquímica ha tenido sus orígenes en la confluencia de intereses por el estudio de los seres vivos de químicos, físicos, biólogos, médicos y farmacéuticos, que lo abordaron desde distintos puntos de vista. Las primeras investigaciones fueron dirigidas al conocimiento de la composición y estructura de los seres vivos, pero rápidamente fueron transformándose en estudios funcionales, de manera que el concepto de la organización estructural de los seres vivos existente en el siglo XIX derivó al de la organización funcional de la célula. La uniformidad estructural y funcional básica de los diversos tipos de biomoléculas, con independencia del organismo del que proceden, la existencia de vías metabólicas comunes y la universalidad del código genético, han venido a demostrar que la base bioquímica de todos los seres vivos es común. Este concep-

to de uniformidad molecular de los seres vivos está influyendo notablemente en el desarrollo actual de la Bioquímica. A su vez, es de prever que ésta siga teniendo un gran auge en los años futuros, ya que permitirá aportar explicaciones precisas a los diversos fenómenos de la vida que aún desconocemos; encontrará cada día más aplicaciones en las ciencias de la salud y contribuirá de forma importante al avance tecnológico del futuro.

TEXTOS DE CONSULTA

- Cohen, S. S.: «The biochemical origins of molecular biology», *TIBS*, agosto, págs. 334-336, 1984.
- Darnell, J.; Lodish, H., y Baltimore, D.: *Biología celular y molecular*, Editorial Labor, S. A., Barcelona, 1988.
- Dounce, A. L., y Allen, P. Z.: «Fifty years later: recollections of the early days of protein crystallization», *TIBS*, 317-320, agosto 1988.
- Dowben, R. M.: *General Physiology, a molecular approach*, Harper & Row Publ., Nueva York, Evanston y Londres, 1969.
- Florkin, M.: *A history of Biochemistry*, Elsevier Publ. Co., Amsterdam, Londres y Nueva York, 1972.
- Gascón, P.: «Anticuerpos monoclonales: El descubrimiento biológico más importante de los últimos quince años», *JANO*, 636:9-11, 1984.
- Karlson, P.: «From vitalism to intermediary metabolism», *TIBS*, N 184-N 186, agosto 1976.
- Kornberg, A.; Horecker, B. L.; Cornudella, L., y Oro, J.: *Reflections on Biochemistry*, en honor a Severo Ochoa, Pergamon Press, Oxford y Nueva York, 1976.
- Krebs, H., y Martin, A.: *Reminiscences and reflections*, Clarendon Press, Oxford, 1981.
- Schlenk, F.: «Early nucleic acid chemistry», *TIBS*, febrero, págs. 67-69, 1988.
- Watson, J. D.: *Molecular biology of the gene*, 2.ª ed., W. A. Benjamin, Inc., Nueva York, 1970.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

El medio intracelular. Agua y electrólitos

EDUARDO ARILLA

De todos los componentes del organismo, el agua es el más abundante. Constituye aproximadamente el 70 por 100 del peso total del cuerpo.

Una pérdida del 10 por 100 del contenido de agua (en el hombre) es causa de enfermedad, y una pérdida del 20 por 100 puede originar la muerte.

En general, los tejidos más jóvenes tienen más agua. En el embrión de mamífero la proporción de agua es superior a la que se puede detectar en cualquier fase más avanzada del desarrollo, y en las fases de envejecimiento la proporción de agua es mínima.

El contenido acuoso varía también en los diferentes tejidos, y es máximo, lógicamente, en los medios líquidos del organismo. Cabe destacar que los tejidos de vitalidad más intensa son más ricos en agua que los más inertes.

ESTRUCTURA MOLECULAR DEL AGUA

La molécula de agua está ordenada según un tetraedro irregular, con el átomo de oxígeno situado en su centro (fig. 2.1), y los enlaces establecidos con los dos

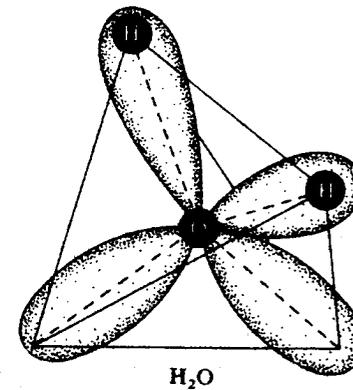


Figura 2.1. Representación de la molécula de agua (H₂O) considerando la hibridación tetraédrica sp³ del átomo central.

átomos de hidrógeno se encuentran dirigidos hacia dos vértices del tetraedro, en tanto que los electrones no compartidos, situados en los dos orbitales híbridos sp^3 , ocupan los dos vértices restantes. Mediante análisis espectroscópico y de rayos X se ha determinado que el ángulo entre los dos átomos de hidrógeno es de $104,5^\circ$, ligeramente menor que el ángulo tetraédrico ($109,5^\circ$), y la distancia interatómica media H-O es de 0,0965 nm.

El lado del oxígeno opuesto a los dos hidrógenos es relativamente rico en electrones, en tanto que en el otro lado los núcleos de hidrógeno, relativamente desnudos, forman una región de carga positiva local. Así, aunque la molécula de agua no posee una carga neta, es un *dipolo eléctrico*.

Puentes de hidrógeno

La acción electrostática recíproca existente entre el núcleo de hidrógeno de una molécula de agua y el par de electrones no compartidos de otra se denomina *punte de hidrógeno* (fig. 2.2). Los puentes de hidrógeno no se presentan solamente en los distintos estados físicos del agua, sino que tienden a formarse entre cualquier átomo electronegativo, como el oxígeno, el nitrógeno y el flúor, y un átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo. Esta cuestión se volverá a considerar en relación con la estructura tridimensional de las proteínas y con el apareamiento de las bases nitrogenadas dentro del DNA.

Los puentes de hidrógeno son mucho más débiles que los enlaces covalentes; su fuerza es máxima cuando los dos grupos que interactúan se hallan orientados de modo que proporcionen el máximo de atracción electrostática. Además, poseen una longitud de enlace característica, que depende de la geometría estructural de las moléculas unidas y de su distribución electrónica.

Cuando existe un cierto número de puentes de hidrógeno entre dos estructuras, la energía necesaria para separarlas es mucho mayor que la suma de las energías de enlace de los puentes de hidrógeno individuales. Esta interacción se presenta de un modo característico en las proteínas y en algunas moléculas de ácidos nucleicos, y participa en el denominado fenómeno de *cooperatividad*, que se describirá más adelante.

Los puentes de hidrógeno se forman y se rompen mucho más rápidamente en los sistemas acuosos que la mayor parte de los enlaces covalentes. Este hecho, junto con su especificidad geométrica y su carácter direccional, les proporciona

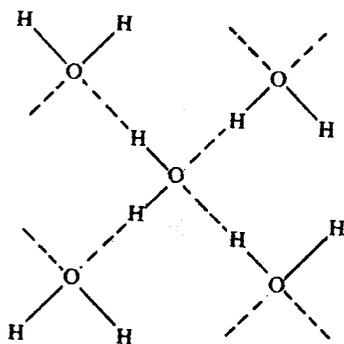


Figura 2.2. Puentes de hidrógeno en el agua. Los cuatro pares de electrones del oxígeno, dos compartidos y dos solitarios, determinan una configuración tetraédrica de los átomos de oxígeno. Los átomos de hidrógeno no son equidistantes con respecto a los átomos de oxígeno, por lo que las moléculas de agua mantienen su individualidad.

una gran ventaja biológica sobre los enlaces covalentes en los procesos biológicos que tienen lugar a gran velocidad.

ESTRUCTURA MACROMOLECULAR DEL AGUA

De los tres estados físicos en que puede existir el agua, el vapor, como cabría esperar, posee la estructura más sencilla. A partir de datos de densidad de gases se calcula un peso molecular de 18 para el vapor de agua, lo que implica que en estado gaseoso no existe asociación importante entre las moléculas de H_2O .

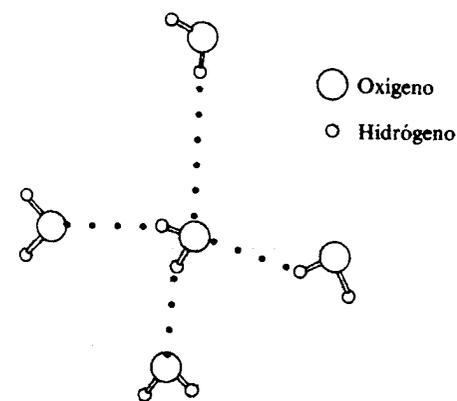
La estructura del agua en el estado sólido y, particularmente, en el líquido es considerablemente más complicada. Estudiaremos primero la estructura del hielo, bien establecida en la actualidad por estudios de difracción de rayos X.

Hielo

En la figura 2.3 se muestra la disposición de las moléculas de H_2O en un cristal de hielo. Destaca de inmediato el patrón hexagonal del cristal propiamente dicho. Otro carácter evidente de la estructura del hielo es la gran cantidad de «espacio vacío» que queda en el cristal, lo que explica su baja densidad.

La estabilidad de la estructura «abierta» del hielo puede explicarse en función de la geometría en torno a un átomo individual de oxígeno (fig. 2.3). Obsérvese que el oxígeno está rodeado por cuatro hidrógenos, dos de ellos enlazados covalentemente, mientras los otros dos están unidos al oxígeno por *puentes de hidrógeno*. Es destacable el hecho de que los cuatro enlaces formados por un átomo de oxígeno se dirigen hacia los ángulos de un tetraedro regular, precisamente la geometría preferida por un átomo rodeado de un octeto de electrones. En otras

Enlaces de hidrógeno en una molécula de agua en el hielo



Hielo

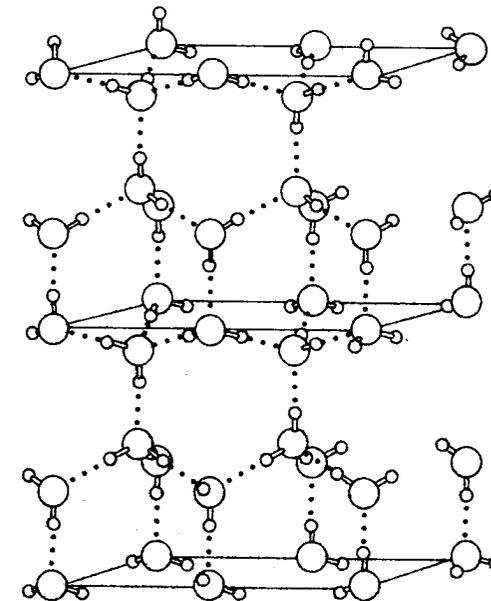


Figura 2.3. Disposición tetraédrica de cuatro hidrógenos alrededor de un átomo central de oxígeno en el hielo.

palabras, la estructura abierta del hielo mantenida por puentes de hidrógeno satisface el requerimiento de la coordinación tetraédrica cuádruple en torno al oxígeno.

La molécula de H_2O , con dos átomos de hidrógeno y dos pares no compartidos de electrones, se caracteriza por su capacidad para formar redes tridimensionales unidas por puentes de hidrógeno.

La estructura ordinaria del hielo que aparece en la figura 2.3 no es la única forma en que las moléculas de H_2O pueden asociarse para rendir una estructura tridimensional estable. Existen un total de ocho formas de hielo estable a presiones altas. Como cabría esperar, las formas de presión alta son más densas que el hielo ordinario, y la densidad aumenta por ligera deformación de los puentes de hidrógeno que aproxima los átomos de oxígeno uno a otro.

Agua líquida

W. K. Roentgen sugirió en 1892 que el agua es una mezcla de moléculas «parecidas a las del hielo» y de moléculas «parecidas a las del vapor». Sin embargo, durante muchos años se creyó que el agua líquida, al menos a una temperatura próxima a cero grados, consistía en gran parte en «racimos de moléculas» de H_2O con geometría idéntica a la de una pequeña porción de un cristal de hielo. Semejante modelo adolece de un indudable punto débil; en efecto, no concuerda con el hecho de que el agua muy pura puede sobreenfriarse a $-40^\circ C$ sin congelarse. Es difícil creer que tal cosa ocurra si el agua líquida contiene algo que puede convertirse en microcristales de hielo. En la actualidad quienes proponen modelos para la estructura del agua se suelen cubrir las espaldas refiriéndose a «racimos parecidos a los del hielo». Cabe deducir entonces que las moléculas de H_2O en estos racimos están unidas de forma similar, pero no idéntica, a las del hielo ordinario.

Quizá el modelo más popular de este tipo sea el que desarrolló H. Frank en la Universidad de Pittsburgh en la década de los cincuenta. En él se representan «racimos abiertos» de moléculas de H_2O unidas por puentes de hidrógeno, que nadan en un mar de moléculas de H_2O relativamente «libres» (fig. 2.4). Tales racimos presentan una gran variedad de formas y tamaños, con una geometría quizá completamente distinta de la del hielo, y se supone que se colapsan y cambian constantemente de forma, dando lugar a la pintoresca descripción de «racimos parpadeantes».

Un aspecto interesante de este modelo es su capacidad para explicar los cambios de volumen que experimenta el agua cerca del punto de congelación. El colapso gradual de los racimos abiertos, inducido por el calentamiento, se equilibra por un ligero aumento de la distancia entre las moléculas de H_2O , lo que lleva a un mínimo en la curva de volumen-temperatura a unos $4^\circ C$. El modelo explica también una peculiar observación, es decir, el desprendimiento de calor cuando se mezclan moléculas no polares con el agua. Dichas moléculas estabilizarían los «racimos parpadeantes» al ocupar el espacio existente entre ellos. De esta manera, las especies no polares estimulan la formación de nuevos racimos a expensas de moléculas libres de H_2O , proceso que, al implicar la formación de puentes de hidrógeno, probablemente sea exotérmico.

Existe, sin duda, una vaguedad inquietante en relación con este modelo. En efecto, no describe claramente la geometría de un «racimo parpadeante» ni tampoco qué debe entenderse por molécula de agua «libre». Se han propuesto otros muchos modelos, algunos más específicos, para la estructura del agua líquida. El

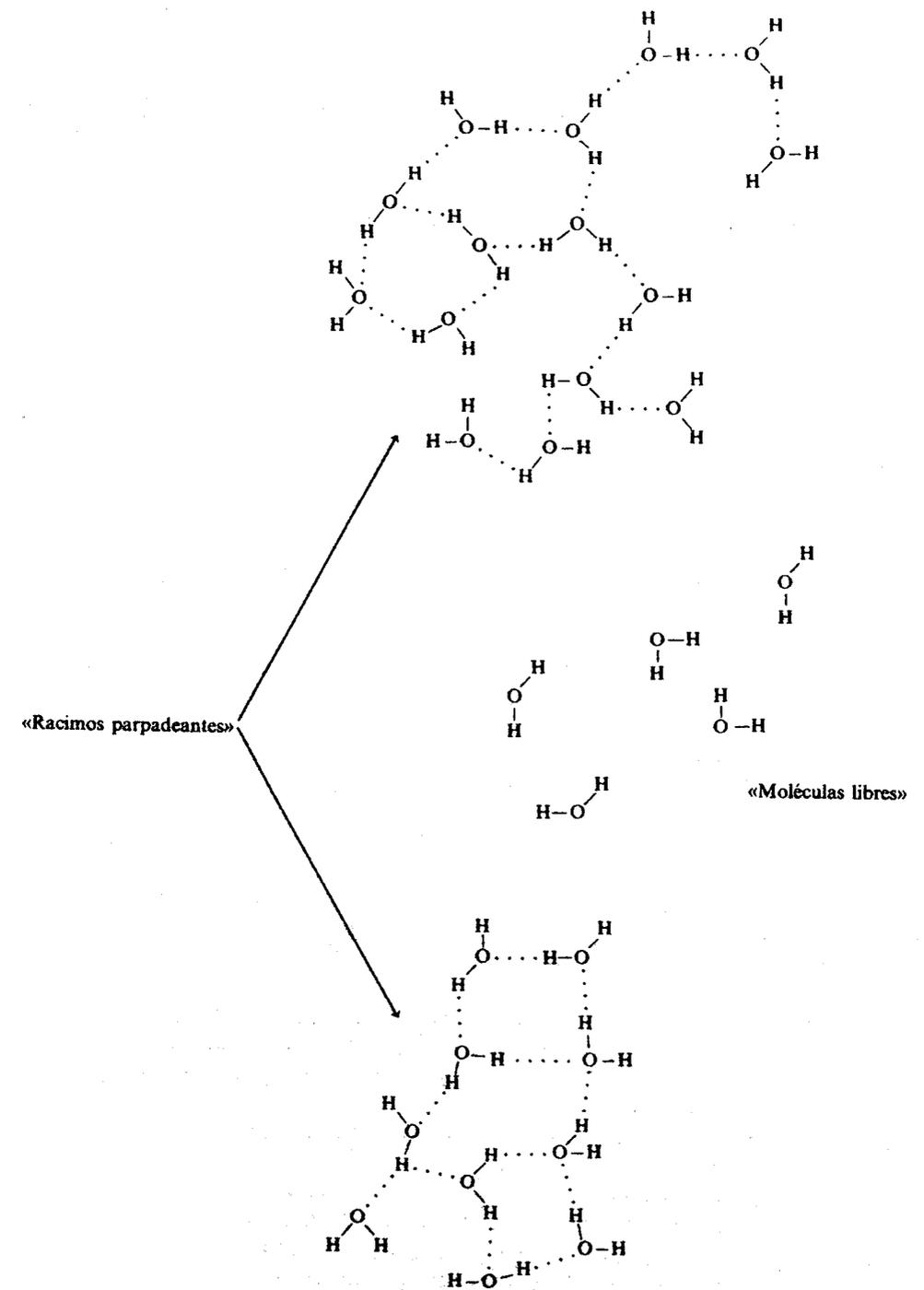


Figura 2.4. «Racimos parpadeantes» de moléculas de agua unidas por puentes de hidrógeno en el agua líquida. Entre los racimos hay moléculas de agua relativamente «libres».

hecho de que no se disponga todavía de un modelo específico que explique todas las propiedades del agua refleja nuestra ignorancia básica respecto a la naturaleza del estado líquido en general y del agua en particular.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL AGUA Y SU SIGNIFICADO BIOLÓGICO. CONCEPTO DE pH

Las propiedades del agua son la base fisicoquímica de una serie de funciones esenciales para la integridad del organismo.

El carácter dipolar de las moléculas de agua favorece la asociación entre ellas, con otras moléculas, mediante puentes de hidrógeno. La alta afinidad que muestran entre sí es la causa de su alto calor específico, calor latente de vaporización, conductividad térmica, densidad, tensión superficial, punto de fusión y punto de ebullición, así como de su papel de disolvente de moléculas anfipáticas.

Dada la capacidad del agua para formar puentes de hidrógeno con otras moléculas, actúa como disolvente de compuestos no iónicos, pero de carácter polar. Asimismo, debido a su polaridad, disuelve las sales cristalizadas y otros compuestos iónicos. El agua es un *electrólito débil*.

1. *Calor específico.* El agua contribuye notablemente a estabilizar la temperatura del organismo en función de su elevado calor específico. Recordemos que el calor específico de un cuerpo es el número de calorías que deben suministrarse a un gramo de éste para elevar su temperatura de 15 a 16 °C.

Como los puentes de hidrógeno se rompen lentamente al ir aumentando la temperatura por calentamiento, el calor específico del agua es mayor que el de cualquier otro líquido del organismo.

Así, debido a su capacidad de almacenar calor, como consecuencia de su alto calor específico, el organismo dispone de un mecanismo *tampón* o *amortiguador* que evita o disminuye la elevación de la temperatura corporal.

2. *Calor latente de vaporización.* El calor de vaporización es una medida directa de la cantidad de energía necesaria para superar las fuerzas de atracción entre las moléculas adyacentes de un líquido, de modo que las moléculas individuales puedan separarse unas de otras y pasar al estado gaseoso.

El alto calor latente de vaporización del agua permite mantener la temperatura del organismo más baja que la del ambiente.

El organismo pierde continuamente agua por la piel y los pulmones en forma de vapor. A esto se une la evaporación del sudor como otra forma de vaporización del agua corporal, y todo ello permite que se absorba más calor que si se evaporase cualquier otro líquido.

Tenemos, pues, otro mecanismo amortiguador que frena la elevación de la temperatura corporal absorbiendo calor.

Su calor específico y calor de vaporización elevados permiten que el calor liberado en reacciones bioquímicas exotérmicas sea fácilmente absorbido, eliminado, o las dos cosas, con pequeñas variaciones de la temperatura del individuo.

3. *Conductividad térmica.* Por su notable conductividad térmica, mayor que la de ningún otro líquido orgánico, el agua influye en la termorregulación corporal, al conducir fácilmente el calor y, por tanto, igualar con rapidez la temperatura de todos los sectores del medio interno y, por supuesto, de las células.

4. *Densidad.* La variación de la densidad del agua líquida en función de la temperatura puede explicarse si se admite que en el agua líquida, a temperaturas

próximas a la del punto de fusión, persisten algunos puentes de hidrógeno. A temperaturas más elevadas, la energía térmica es suficientemente grande como para destruir estas restricciones estructurales.

5. *Tensión superficial.* La tensión superficial del agua es la más alta después de la del mercurio, por lo que casi todas las sustancias disueltas en agua son capilarmente activas (disminuyen la tensión superficial del agua). Así, la presencia de proteínas en su seno disminuye la tensión superficial del agua en los capilares y células, facilitando con ello los intercambios entre los tejidos, ya que al decrecer la tensión superficial junto a la membrana, disminuye la resistencia a la ósmosis intercelular. Por otra parte, el valor de la tensión superficial depende parcialmente de las sustancias en contacto con la superficie libre. Así, el epitelio alveolar secreta una sustancia tensioactiva que disminuye la tensión superficial de los líquidos que revisten los alvéolos. En ausencia de esta sustancia tensioactiva, la expansión pulmonar resulta casi imposible.

6. *Disolvente de moléculas anfipáticas.* El agua dispersa o solubiliza muchos compuestos formando *micelas* que contienen simultáneamente grupos fuertemente no polares y grupos fuertemente polares. Tales moléculas reciben el nombre de anfipáticas.

En el agua, los grupos apolares tienden a asociarse. Estas asociaciones se denominan *interacciones hidrofóbicas*. En sentido figurado, el agua tiende a «oprimir» juntas las moléculas apolares.

Las moléculas de solutos apolares se reúnen en el seno del agua, no precisamente porque tengan una gran afinidad entre ellas, sino porque las moléculas de agua se enlazan entre sí con fuerza. Ya hemos citado que el agua es una sustancia altamente cohesiva, principalmente porque forma un gran número de puentes de hidrógeno consigo misma. Las moléculas de agua situadas alrededor de la molécula anfipática tenderán a reorientarse apropiadamente para formar el máximo número de nuevos puentes de hidrógeno.

Muchos componentes celulares son anfipáticos y tienden a formar estructuras en las que las partes no polares, hidrofóbicas, se hallan ocultas al agua, especialmente en las proteínas, en los ácidos nucleicos y en los lípidos polares. Sabemos que el agua y los productos de su ionización, los iones *hidrógeno* (H^+) e *hidroxilo* (OH^-), son factores importantes en la determinación de la estructura y las propiedades biológicas de las proteínas, de los ácidos nucleicos, de las membranas, de los ribosomas y de otros muchos componentes celulares.

7. *Disolvente de compuestos no iónicos, pero de carácter polar.* Esta propiedad se debe a la capacidad del agua para establecer puentes de hidrógeno con grupos funcionales polares de otras moléculas.

8. *Disolvente de sales cristalizadas y otros compuestos iónicos.* El agua posee una *constante dieléctrica* muy elevada, entendiéndose por constante dieléctrica la tendencia del disolvente a oponerse a la atracción electrostática entre los iones negativos y positivos. La alta constante dieléctrica del agua es una expresión de su polaridad y capacidad para formar una capa de solvente orientada alrededor de un ion y de este modo debilitar las interacciones electrostáticas.

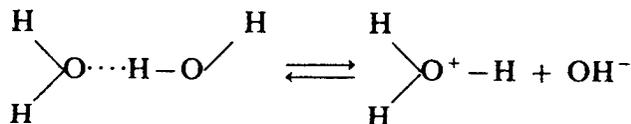
Por todo ello, el agua es el disolvente general del organismo, que condiciona los fenómenos osmóticos, mantiene el estado coloidal del citosol o transporta los compuestos nutritivos y los productos de desecho de la actividad celular. Además, hay claras evidencias de que el agua participa en muchas reacciones bioquímicas.

9. *Electrólito débil. Concepto de pH.* El agua es un electrólito débil debido a la pequeña masa del átomo de hidrógeno y a que su único electrón se halla fuertemente retenido por el átomo de oxígeno.

Origina el mismo catión que los ácidos y el mismo anión que las bases, por lo

que es una sustancia *anfótera* o *anfólito*, es decir, puede comportarse como ácido o como base.

El equilibrio de disociación del agua está muy desplazado hacia la izquierda: las concentraciones de iones en el agua pura son mínimas. La información acerca de la disociación del agua se obtiene a partir de medidas de conductividad, ya que la conductividad de las soluciones se explica por la presencia de iones. A partir del valor de la conductividad del agua pura se calcula la concentración de iones H_3O^+ (*hidronio*) y OH^- , que resulta aproximadamente 10^{-7} molar, a 25°C , por lo que la concentración molar del agua no cambia significativamente debido a su pequeñísima ionización:



Aplicando la ley de acción de masas al equilibrio:

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]^2}$$

La concentración de agua sin disociar es tan elevada que puede considerarse constante:

$$K \cdot [\text{H}_2\text{O}]^2 = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] \quad K \cdot [\text{H}_2\text{O}]^2 = K_w \\ K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]$$

Como la constante K_w es el resultado del producto de dos concentraciones iónicas, se llama *producto iónico del agua*.

Y puesto que

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-7} \quad \text{y} \quad [\text{OH}^-] = 10^{-7}$$

Deducimos que

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14}$$

Conociendo una de estas concentraciones puede deducirse por completo el carácter de una disolución diluida. A este fin se ha escogido la concentración de iones hidronio, H_3O^+ , y se utiliza como valor numérico para expresarla el exponente cambiado de signo de la potencia de diez, concepto que recibe el nombre de *pH*:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Si la concentración de los iones OH^- se expresa mediante el exponente cambiado de signo, al que se denomina *pOH*, se obtiene la relación:

$$\text{pH} + \text{pOH} = 14$$

En las disoluciones ácidas (con $[\text{H}_3\text{O}^+] > 10^{-7}$ mol/L), los valores del pH

son menores que 7. En las disoluciones alcalinas ($[\text{H}_3\text{O}^+] < 10^{-7}$ mol/L), el pH es mayor que 7. Una disolución neutra tiene un pH igual a 7.

EFFECTOS DE LOS SOLUTOS SOBRE LAS PROPIEDADES DEL AGUA. PROPIEDADES COLIGATIVAS

La presencia de solutos disueltos provoca cambios en la estructura y en las propiedades del agua líquida.

El efecto de un soluto sobre el disolvente se manifiesta en un conjunto de propiedades, llamadas *propiedades coligativas*, que dependen del número de partículas de soluto por unidad de volumen del disolvente y del descenso relativo de la presión de vapor, el descenso crioscópico, la elevación ebulloscópica y la presión osmótica.

En el momento actual se conocen diversos factores que deben tenerse en cuenta para desarrollar una teoría que permita una explicación atractiva de las propiedades coligativas.

Entre estos factores sobresalen los siguientes:

1. *La atmósfera iónica.* P. Debye y su discípulo E. Hückel señalaron que un ion en solución se encontrará rodeado de una atmósfera iónica que contiene un exceso de iones de carga contraria. La existencia de semejante atmósfera impide a los iones actuar como partículas de soluto completamente independientes y, como resultado, el ion es sin duda menos eficaz que la molécula de no electrólito en cuanto a su influencia sobre las propiedades coligativas.

2. *Fuerzas electrostáticas entre iones y moléculas polares de agua.* Estas fuerzas son particularmente poderosas en cationes pequeños de carga alta, donde pueden conducir a la aparición de una forma hidratada. Con un catión grande de carga baja como el K^+ , las fuerzas ion-dipolo son más débiles, pero pueden adquirir importancia a concentraciones elevadas.

3. *Cambios en la estructura del agua debidos a la presencia de iones.* Los iones pueden cambiar el equilibrio entre los «racimos parpadeantes» y las moléculas de agua «libre». Al parecer, la mayor parte de los iones simples actúan como «rompedores de estructuras», ya que inducen la formación de moléculas de agua libre a expensas de racimos con iones de hidrógeno.

4. *Asociaciones entre iones de cargas opuestas para formar «pares de iones».* La formación de pares de iones tiene una importancia mínima, salvo en soluciones salinas de concentraciones elevadas.

ELECTROLITOS

Los solutos se clasifican a menudo en tres categorías según las conductividades eléctricas de sus soluciones acuosas. Las sustancias que se disuelven como moléculas y que, en consecuencia, dan soluciones no conductoras se clasifican como *no electrólitos*.

Las sustancias que existen en solución acuosa como una mezcla en equilibrio de iones y moléculas reciben el nombre de *electrólitos débiles*. Muchos ácidos son electrólitos débiles y se ionizan parcialmente.

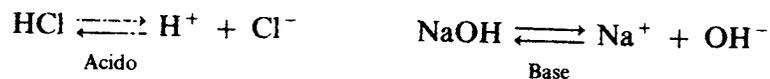
Los *electrólitos fuertes* existen casi exclusivamente en forma de iones en solución acuosa. Se incluyen aquí casi todas las sales neutras, por ejemplo, NaCl , así como las bases fuertes NaOH , KOH , etc.

En disolución, los iones migran hacia los electrodos de acuerdo con los signos de sus cargas, de aquí que los iones positivos y negativos reciban los nombres de *cationes* y *aniones*, respectivamente. La fuente de corriente, batería o pila, provoca el transporte de los electrones por el filamento desde el *ánodo al cátodo*.

Los electrólitos fuertes suelen estar ionizados ya por completo en estado sólido, de tal modo que al disolverlos o fundirlos no se hace más que liberar los iones de las fuerzas que los mantienen fijos en la *red cristalina*.

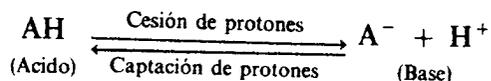
ACIDOS, BASES Y SALES

Son sustancias que al disolverse liberan iones. Arrhenius define un *ácido* como aquella sustancia que en disolución acuosa se disocia dando iones hidrógeno (H^+). Y *base*, toda sustancia que al disolverse se disocia dando iones hidroxilo (OH^-).



Esta definición no permite explicar cómo sustancias que no rinden iones hidroxilo, OH^- , se comportan como bases. Por ello, Brønsted propone que un ácido es aquella sustancia que al ionizarse produce iones hidrógeno, H^+ , y base, toda sustancia capaz de aceptar estos iones hidrógeno, H^+ . Como los ácidos ceden protones y las bases los captan, a cada ácido le corresponde, como es lógico, una *base conjugada*. Es decir, si un ácido cede un protón, el ion, así formado, puede captarlo de nuevo comportándose como base.

Por tanto, los procesos de captura o cesión de protones transcurren de forma reversible.



El ácido y la base conjugada forman un *par ácido-base*. Cuanto mayor es la facilidad con que un ácido cede un protón, es decir, cuanto «más fuerte» es un ácido, tanto más difícilmente acepta el protón la base conjugada. En otras palabras, cuanto más fuerte es un ácido, tanto más débil es su base conjugada, o cuanto más débil es un ácido, tanto más fuerte es su base conjugada.

Una misma sustancia que se comporta como ácido o como base, según con quién reaccione, se denomina *anfótera*.

Lewis amplía el concepto de ácido a sustancias capaces de aceptar un par de electrones, y de base a aquellas sustancias capaces de ceder un par de electrones.

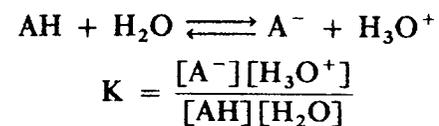
Las sales son combinaciones formadas por iones en estado sólido. Por tanto, son electrólitos que al disociarse dan iones diferentes a los del agua.

FUERZA DE ACIDOS Y BASES

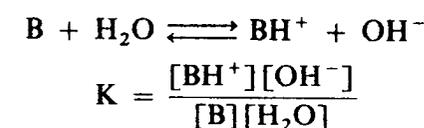
Para poder comparar la facilidad con que los distintos ácidos ceden protones o la tendencia que muestran las distintas bases a aceptarlos, será necesario hacer que los distintos ácidos reaccionen con la misma base, o que las distintas bases reaccionen con el mismo ácido. Por ello, cuando se trata de establecer comparaciones se escoge el agua, ya que, por su naturaleza anfótera, es particularmente adecuada para realizar estas medidas y, por otro lado, pueden aprovecharse las facilidades experimentales que supone el uso de disoluciones acuosas.

Si se aplica la ley de acción de masas a la reacción de un ácido (AH) o de una base (B) con el agua, se obtiene:

Reacción de un ácido con agua:



Reacción de una base con agua:

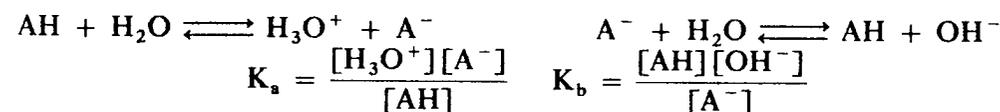


La concentración constante de moléculas de agua en las disoluciones acuosas diluidas puede pasarse al segundo miembro, y así:

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{AH}]} \quad K_b = \frac{[\text{BH}^+][\text{OH}^-]}{[\text{B}]}$$

Las constantes K_a y K_b se denominan *constantes de disociación* del ácido o de la base y caracterizan la fuerza de un ácido o de una base. Los ácidos fuertes poseen constantes de acidez grandes, mientras que los ácidos débiles tienen constantes de acidez muy pequeñas. En los cálculos es frecuente usar los logaritmos negativos de las constantes (pK_a o pK_b).

Entre la K_a de un ácido y la K_b de su base conjugada existe una relación sencilla:



$$K_a \cdot K_b = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-][\text{AH}][\text{OH}^-]}{[\text{AH}][\text{A}^-]} = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = K_w = 10^{-14}$$

Y expresando este resultado mediante los logaritmos cambiados de signo:

$$pK_a + pK_b = 14$$

Los ácidos fuertes están virtualmente disociados por completo en disoluciones acuosas diluidas. Para ellos, el valor de K_a se aproxima a infinito. Lo mismo cabe decir de una base fuerte y su K_b .

ACTIVIDAD Y FUERZA IONICA

En las disoluciones muy concentradas de electrólitos actúan las fuerzas de atracción entre los iones, de modo que los cationes y los aniones no se desplazan con completa independencia y forman «enjambres» de iones de signos opuestos. Con ello disminuye el número de partículas libremente desplazables en la disolución, y la *concentración activa* o *actividad* de la disolución es menor que la concentración real:

$$A = \gamma \cdot c$$

Donde A es actividad; γ , coeficiente de actividad, y c, concentración.

Las fuerzas de atracción entre iones con cargas de signos opuestos disminuyen rápidamente al aumentar las distancias entre ellos. En las disoluciones concentradas, en las que los iones se encuentran más próximos, se hacen mayores y, por tanto, la actividad se hace menor ($\gamma < 1$). En las disoluciones muy diluidas, la actividad y la concentración efectiva se hacen equivalentes entre sí. En la práctica, la actividad y la concentración, aun en disoluciones más concentradas, muchas veces se suponen iguales entre sí.

La ecuación de Debye-Hückel establece una relación entre el coeficiente de actividad media de un electrólito (A) y la fuerza iónica de la solución (μ):

$$-\log \gamma = A(z_+ z_-) \sqrt{\mu}$$

Donde z_+ y z_- son las cargas del ion positivo y negativo, respectivamente. El valor de A a 25 °C es 0,5091. Esta ecuación sólo es válida para soluciones de electrólitos muy diluidas.

Lewis usa el concepto de *fuerza iónica* (μ) para incluir el efecto iónico total, que se define como la semisuma de los productos de la concentración (c) de cada ion por el cuadrado de su carga (z):

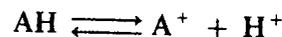
$$\mu = \frac{1}{2} \sum cz^2$$

Esta fórmula nos indica que, para diluciones muy diluidas, la concentración c tiende a cero, y en este caso la fuerza iónica μ también tiende a cero.

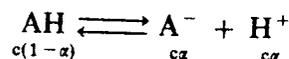
GRADO DE DISOCIACION

La magnitud con que se ionizan las moléculas de un electrólito en una disolución acuosa se describe como el *grado de disociación* o *grado de ionización* del compuesto en dicha disolución. Este grado de disociación caracteriza al electrólito, y toma valores desde 0 hasta 1.

Para un ácido débil (AH):



Si hay α moléculas disociadas, se encontrarán α iones A^- , α iones H^+ y quedarán sin disociar $1 - \alpha$ moléculas de AH. Por tanto, para una concentración c se puede escribir:



Aplicando la ley de acción de masas:

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]} = \frac{c\alpha \cdot c\alpha}{c(1-\alpha)} = \frac{c^2\alpha^2}{c(1-\alpha)} = \frac{c\alpha^2}{1-\alpha}$$

Para electrólitos débiles $\alpha \ll 1$, luego:

$$K_a = c\alpha^2$$

$$\alpha = \sqrt{\frac{K_a}{c}}$$

EFFECTO DE LAS SALES SOBRE LA DISOLUCION DE LOS ACIDOS. DISOLUCIONES TAMPON

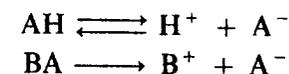
Cuando se mezcla una sal de un ácido débil con dicho ácido débil en solución, disminuye su disociación, y el pH resultante es más alto que cuando no está presente la sal en la solución. Las sales de los ácidos débiles, en oposición a los propios ácidos débiles, suelen estar completamente ionizadas y, por tanto, cuanto más alta es la concentración de la sal, tanto mayor es la acción de masas para reprimir la disociación del ácido.

Las soluciones que contienen ácidos débiles y sus sales se llaman *soluciones tampón*, *amortiguadoras* o *buffer*. Su finalidad es impedir o amortiguar las variaciones de pH.

El pH de una solución amortiguadora puede calcularse utilizando la *ecuación de Henderson-Hasselbalch*, obtenida de la siguiente manera.

Si designamos un ácido débil como AH, su sal puede representarse como BA, donde B y A son el ion positivo y el ion negativo, respectivamente.

En el equilibrio de las reacciones de disociación de AH y BA en una solución tampón tenemos:



Aplicando la ley de acción de masas al equilibrio de disociación del ácido débil:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

$$[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{AH}]}{[\text{A}^-]}$$

La mayor parte del ácido está presente como AH, con una fracción muy pequeña de iones A^- y H^+ . Cuando se agrega la sal BA a la solución del ácido, prácticamente todos los iones A^- proceden de la sal completamente disociada. Se puede asumir que en una solución amortiguadora diluida, la concentración del ácido no disociado [AH] es igual a la concentración total del ácido, y también que la concentración del ion ácido [A^-] es igual a la concentración total de sal [BA].

Bajo esta suposición podemos expresar la última ecuación como

$$[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{Acido}]}{[\text{Sal}]}$$

Aplicando logaritmos y cambiando de signo:

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K_a - \log \frac{[\text{Acido}]}{[\text{Sal}]}$$

Y sustituyendo

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{Sal}]}{[\text{Acido}]}$$

A partir de esta ecuación se deduce que el pH de una disolución tampón depende de la naturaleza del ácido débil que la integra, y de la proporción relativa entre la sal y el ácido, pero no de las concentraciones absolutas de estos componentes.

CAPACIDAD TAMPON. CURVAS DE TITULACION

La *capacidad amortiguadora* o *tampón* de un sistema es la cantidad de ácido o base fuerte que puede neutralizar sufriendo un desplazamiento de pH de una unidad.

Esta eficacia amortiguadora está vinculada a dos factores: las concentraciones absolutas del sistema y la proporción relativa de las formas disociada y sin disociar. Dicha eficacia es máxima cuando el cociente sal/ácido está próximo a la unidad.

La *curva de titulación* de un ácido débil como el acético (fig. 2.5) representa las variaciones de pH con respecto a diferentes proporciones relativas entre la sal y el ácido de una solución tampón. Antes de agregar la base, el pH se debe solamente

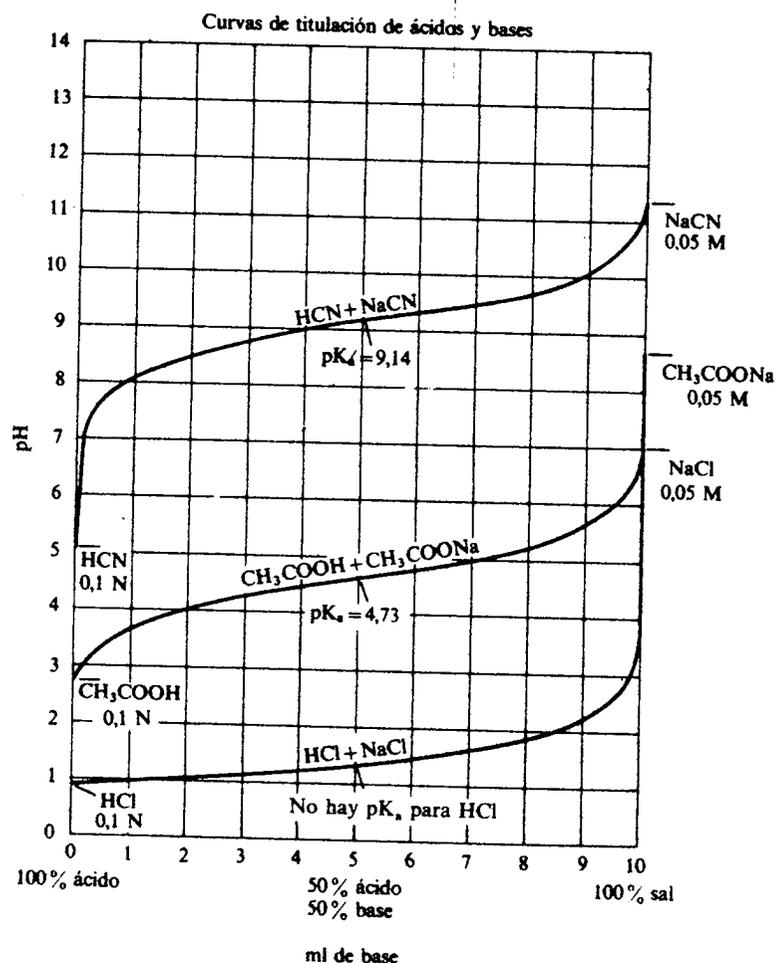


Figura 2.5. Curvas de titulación de ácidos monobásicos.

al ácido. Tan pronto como se ha agregado algo de base ésta reacciona con una cantidad equivalente del ácido y forma una cantidad equivalente de sal y agua. Pero el ácido débil, más su sal disuelta, constituyen una solución tampón, cuyo pH puede calcularse mediante el uso de la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Sal}]}{[\text{Acido}]}$$

Como el pK_a es constante para un ácido dado (dentro de ciertos límites) durante su titulación, la única variable es el $\log [\text{Sal}]/[\text{Acido}]$, que cambia con la adición de volúmenes definidos de una base conocida. Los logaritmos de estos cocientes, sumados al valor del pK_a del ácido, dan los valores calculados del pH durante la titulación. Los valores de pH representados frente a los mililitros de base agregados dan una curva de titulación para el ácido.

TAMPONES FISIOLÓGICOS

En el organismo se forman continuamente iones H^+ a partir de distintas fuentes. El catabolismo de muchas proteínas y otras moléculas biológicamente importantes libera hacia el líquido extracelular ácidos fosfórico y sulfúrico. Estos ácidos en gran parte se disocian en iones H^+ y aniones. Asimismo, muchos ácidos orgánicos como los ácidos grasos y el ácido láctico se producen en calidad de productos finales de reacciones metabólicas y liberan también por disociación ion hidrógeno. No obstante, la fuente principal de ion hidrógeno es el ácido carbónico formado a expensas del dióxido de carbono producido metabólicamente.

Por otra parte, la constancia de la concentración de hidrogeniones en el líquido extracelular es fundamental, puesto que influye sobre la estructura y actividad de las moléculas proteicas, sobre la distribución de otros iones entre las células y el líquido extracelular y sobre la actividad de hormonas, drogas y otros iones. Cerca de la mitad de los ácidos producidos metabólicamente son neutralizados por las bases procedentes de los alimentos, pero el resto debe ser neutralizado por el propio organismo. Para ello, éste se vale de dos procedimientos consecutivos: el tamponamiento del ácido (o base) y su posterior eliminación del ácido (o base), es decir, la compensación respiratoria y renal.

Los tampones fisiológicos son la primera línea de defensa frente a los cambios del pH de los líquidos corporales. El tampón intracelular más importante es el sistema fosfato, $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, con un $\text{pK}' = 7,2$ ó $6,8$ (se llama pK' al valor del pK en condiciones fisiológicas). Otros fosfatos orgánicos tales como la glucosa-6-fosfato y el ATP contribuyen también a mantener el pH.

El principal tampón extracelular en la sangre y fluidos intersticiales es el sistema bicarbonato, $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$, con un $\text{pK}' = 6,1$. Otros sistemas reguladores del pH sanguíneo son las proteínas y los aminoácidos, que se tratan en el capítulo 48. Con todos ellos se consigue un pH de 7,4 en sangre arterial y 7,35 en sangre venosa y líquidos intersticiales (menor por tener más CO_2 y con ello más H_2CO_3).

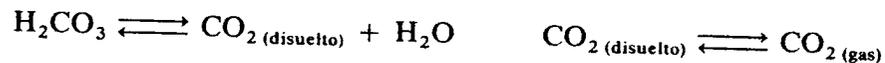
Se considera que una persona sufre *acidosis* si el pH de la sangre arterial es menor de 7,4 y *alcalosis* si es mayor. Los límites de pH, entre los cuales la vida humana es posible, aunque sólo sea durante unos minutos, son 7,0 y 7,8.

En el interior del eritrocito, además del tampón fisiológico bicarbonato, el que mayor importancia tiene es el de hemoglobina reducida/oxihemoglobinato

(HHb/HbO₂⁻), importante no sólo para la regulación del pH, sino también por su papel decisivo en el transporte de CO₂.

Tampón ácido carbónico/bicarbonato

En el tampón bicarbonato el ácido carbónico está en equilibrio con el CO₂ disuelto, y éste a su vez lo está con el CO₂ gaseoso:



De tal modo que cuando la sangre tenga que absorber un exceso de iones OH⁻, el H₂CO₃ empleado es reemplazado rápidamente por el CO₂ gaseoso pulmonar:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}, \quad 7,4 = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$1,3 = \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = \log 20$$

De donde se deduce que en la sangre la concentración de bicarbonato es 20 veces la de CO₂ disuelto como H₂CO₃.

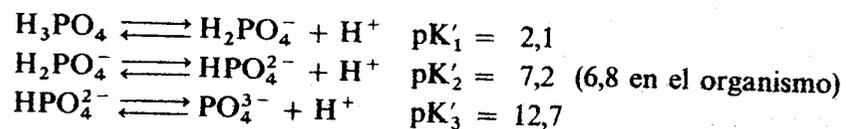
Si éste fuera un sistema cerrado, todo aumento de ion hidrógeno haría descender la concentración de bicarbonato, aumentar la concentración de ácido carbónico en cantidad similar y descender el pH. Al aumentar la concentración de bicarbonato se incorporaría ion hidrógeno y se elevaría el pH. Quizá sea más fácil comprender estos cambios volviendo a considerar la ecuación siguiente:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

Está claro que el aumento de la concentración de HCO₃⁻ provocará un descenso de la concentración de ion hidrógeno. El sistema tampón ácido carbónico/bicarbonato actúa donando un ion hidrógeno cuando desciende la concentración de ion hidrógeno y aceptando iones hidrógeno cuando se eleva la concentración de éstos. Recordemos que un sistema tampón es más eficiente si actúa a nivel de su pK o muy próximo al mismo. Si el tampón ácido carbónico/bicarbonato (pK = 6,1) actuara como sistema cerrado, entonces al pH fisiológico de 7,4 podría amortiguar también cargas de ácido, pero sería insuficiente para las cargas de alcali. Afortunadamente el sistema tampón ácido carbónico/bicarbonato es un sistema abierto; pueden variar independientemente las concentraciones de H₂CO₃ y HCO₃⁻. El ácido carbónico es regulado por el sistema respiratorio y el HCO₃⁻ por los riñones.

Tampón fosfato

Para el estudio del tampón fosfato es preciso observar su modo de disociación:



Sólo interesa el segundo equilibrio, a nivel del equilibrio ácido base, pues su valor de pK es el que está más próximo al pH:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}, \quad 7,4 = 6,8 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

$$\log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 0,6; \quad \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 4$$

A pH fisiológico es un buen amortiguador, pero su concentración en plasma es la sexta parte de la del bicarbonato, por lo que tiene menos poder que éste. Es importante en los líquidos tubulares de los riñones por ser éstos más ácidos que el plasma, aproximándose más a su pK, y porque en ellos el tampón fosfato está concentrado. Es muy importante en los líquidos intracelulares por estas dos mismas razones.

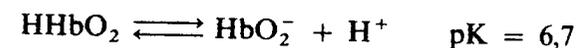
Tampón hemoglobina

El tampón de Hb reducida/oxihemoglobina debe sus propiedades principalmente a la capacidad de disociación del grupo imidazólico de la histidina unido al Fe²⁺.

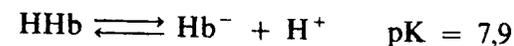
Al aumentar la acidez, la oxihemoglobina pasa a Hb reducida por liberación de oxígeno y viceversa. En condiciones fisiológicas la Hb reducida se comporta como un ácido débil cuya disociación depende de que lleve oxígeno en el átomo de hierro.

La oxigenación de la Hb aumenta su acidez, cediendo H⁺; introduciendo un ácido en el medio, se facilita la pérdida de O₂ y con ello la formación de Hb reducida.

La disociación de la oxihemoglobina es:



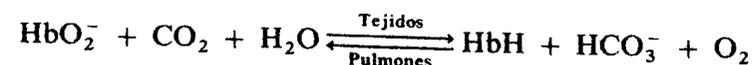
Y la de la hemoglobina es:



El 80 por 100 de HHbO₂ está disociado y el 20 por 100 en forma ácida.

El 20 por 100 de HHb está disociado y el 80 por 100 sin disociar.

Por estas dos razones la Hb es un tampón eficaz, ya que al modificarse el pK puede cambiar la proporción base conjugada/ácido sin alterar el pH. En resumen, para la Hb puede escribirse:



El sitio principal de amortiguación del CO₂ es el eritrocito, y su tampón principal es la hemoglobina (Hb). Los eritrocitos son muy permeables al CO₂ y contienen altas concentraciones de *anhidrasa carbónica*, la enzima que hidrata CO₂ a H₂CO₃. El CO₂ es amortiguado por difusión en los eritrocitos, donde es hidratado a H₂CO₃ y luego disociado a H⁺ más HCO₃⁻. El H⁺ se combina con la Hb⁻ para formar HHb. El HCO₃⁻ sale de la célula por difusión en intercambio

por cloruro. El resultado es que el CO_2 retenido es amortiguado y el bicarbonato es liberado a la sangre en intercambio por cloruro. En consecuencia, en estados de retención de CO_2 aumentan tanto el H_2CO_3 como el HCO_3^- . En la hiperventilación ocurre a la inversa.

En el capítulo 48 se amplían más detalladamente estos conceptos relacionados con el control del pH de la sangre.

Cada uno de los sistemas amortiguadores antes señalados ha sido tratado como si pudiera trabajar aisladamente en los líquidos corporales. Pero en realidad intervienen juntos, puesto que el ion hidrógeno es común a las reacciones químicas de todos los sistemas. Por tanto, todo lo que modifica la concentración de iones hidrógeno desequilibra los sistemas tampones. Este es el denominado *principio isohídrico*.

BALANCE HIDRICO

El funcionamiento celular no depende únicamente de que la célula reciba un suministro continuo de nutrientes orgánicos y de que elimine sus productos metabólicos finales, sino también del mantenimiento de unas condiciones fisicoquímicas estables en el líquido extracelular que la rodea. Es decir, debe conseguirse que el volumen y la tonicidad de los líquidos corporales se mantengan dentro de los límites fisiológicos. A ello contribuyen fundamentalmente el agua, el sodio, el potasio, el calcio y el ion hidrógeno. El balance de sodio interviene directamente en la regulación del volumen, sobre todo del volumen del líquido extracelular en tanto que el equilibrio del agua regula la tonicidad, es decir, la osmolalidad de los líquidos corporales.

Fuentes y requerimientos de agua

En condiciones normales, la entrada de agua al organismo sólo tiene lugar por vía digestiva. Puede ingerirse como líquido (bebida), 1.200 a 1.500 ml/día, o como sólido (agua de los alimentos), 770 a 1.000 ml/día. Además, hay que tener en cuenta el «agua metabólica» (200 a 300 ml/día), producida durante el metabolismo de los principios inmediatos (tabla 2.1).

Tabla 2.1
INGESTION Y EXCRECION DE AGUA

Ingestión		Excreción	
Bebidas	1.200 ml	Orina	1.400 ml
Agua en alimentos	1.000 ml	Hecces	200 ml
Agua de oxidación	300 ml	Pérdida insensible*	900 ml
Total	2.500 ml		2.500 ml

* Vaporizada por la piel y los pulmones.

Los requerimientos diarios de agua varían en función de factores exógenos, del tipo de la actividad corporal, la cantidad necesaria de sales, el clima y los hábitos dietéticos, así como de factores endógenos tales como la actividad secretoria, las oxidaciones internas y la osmolalidad de los líquidos orgánicos. Como media, se requiere 1 ml de agua por caloría de alimento. El niño recién nacido necesita

150 ml por kilogramo de peso corporal; los lactantes (seis meses), 125 ml por kilogramo de peso, y los niños de un año, 100 ml por kilogramo de peso corporal.

Absorción del agua

El agua sigue al sodio a través del epitelio intestinal. La absorción de sodio a través de la mucosa intestinal crea un gradiente osmótico debido a la diferencia de concentración de este ion entre el interior (menos concentrado) y el exterior, espacio intercelular (más concentrado) de la célula epitelial, lo cual origina un movimiento de agua desde la luz intestinal al espacio intercelular.

Distribución del agua

Compartimientos

El agua se distribuye fundamentalmente en dos compartimientos, el intracelular y el extracelular. Dentro del primero hay un gran número de subcompartimientos separados y representados por los distintos orgánulos celulares. El plasma, el líquido intersticial y la linfa, el líquido del tejido conjuntivo denso, del cartílago y del hueso, y el líquido transcelular constituyen el compartimiento extracelular. Los últimos se forman gracias al transporte o la actividad secretoria de las células (glándulas salivales, líquido cefalorraquídeo, etc.). El tejido conjuntivo denso, el cartílago y el hueso no intercambian fácilmente líquido o electrolitos con el resto del agua corporal. El plasma, el líquido intersticial y la linfa pueden ser considerados como el volumen de líquido extracelular funcional. Estos tres subcompartimientos representan la mayor parte del fluido extracelular e intercambian agua y electrolitos fácilmente. El plasma representa aproximadamente el 20 por 100 del agua extracelular funcional. Así, en un hombre sano de 70 kg el agua corporal total alcanza aproximadamente 40 litros, de los cuales 25 son intracelulares (fig. 2.6).

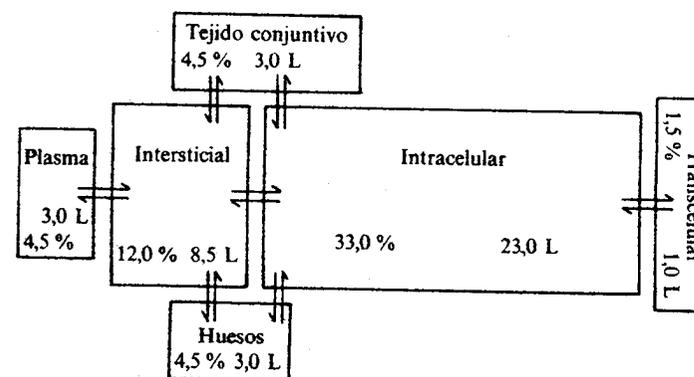


Figura 2.6. Distribución del agua en el organismo. Además de los compartimientos clásicos, están representados otros tres teóricamente comprendidos en aquéllos, pero cuya especial fisiología hace que tengan personalidad propia.

Composición del líquido de los distintos compartimientos

En cuanto a su composición, el líquido plasmático posee un 90 por 100 de agua, un 7 por 100 de proteínas plasmáticas y un 3 por 100 de solutos, principalmente NaCl, al cual se deben las tres cuartas partes de la presión osmótica. La composición del líquido intersticial es básicamente igual a la del líquido plasmático, pero con muy pocas proteínas. Esto supone una composición iónica levemente diferente debido al *equilibrio de Donnan*, pero se mantiene la igualdad entre la concentración de cationes y de aniones. Por último, la composición del líquido intracelular no es igual en todas las células y, en relación al líquido intersticial, posee una mayor concentración de potasio, magnesio, fosfato y proteínas (tabla 2.2).

Tabla 2.2
CONCENTRACIONES ELECTROLITICAS EN EL LIQUIDO
EXTRACELULAR E INTRACELULAR

	Plasma (mEq/l)	Líquido intersticial (mEq/l)	Líquido intracelular (mEq/l): músculo
Na ⁺	140,0	145,5	12
K ⁺	4,5	4,8	160
Ca ²⁺	5,0	2,8	—
Mg ²⁺	1,5	1,0	34
Cl ⁻	104,0	116,6	2
CO ₃ H ⁻	24,0	27,4	10
SO ₄ ²⁻	1,0	1,2	—
Fosfato	2,0	2,3	140
Proteínas	15,0	8,0	54
Otros aniones	5,0	5,6	—

Regulación de la transferencia de agua entre los compartimientos

El volumen de agua se mantiene bastante constante en el organismo, pero al mismo tiempo hay un movimiento continuo de un compartimiento a otro. Tanto la retención como la distribución de agua entre los distintos compartimientos se deben fundamentalmente a las sustancias disueltas en los líquidos corporales. El balance entre el líquido intersticial y el intracelular está regulado por el mantenimiento constante del equilibrio osmótico. La presión osmótica del fluido intracelular se debe a muchos iones polivalentes, entre los que destacan el Ca²⁺, el Mg²⁺, las proteínas y los fosfatos. Las sales de Na⁺ representan casi el total de solutos que contribuyen a la osmolalidad efectiva del líquido extracelular. Por tanto, en la mayoría de los casos, un aumento o una disminución de la concentración de sodio en el plasma puede equivaler a un aumento o una disminución de la osmolalidad efectiva del líquido extracelular que, a su vez, favorecerá el desplazamiento de agua hacia fuera o hacia dentro del compartimiento celular. La transferencia de líquido entre el compartimiento vascular y el intersticial ocurre a nivel de los capilares y está regido por el equilibrio entre los gradientes de *presión hidrostática* y de *presión oncótica plasmática*.

Medida de la distribución de agua corporal

El volumen total de agua del organismo, así como el de sus diferentes compartimientos y subcompartimientos puede calcularse. El volumen total se obtiene por

métodos indirectos o por análisis químico directo. Los primeros se basan en la administración de una cantidad conocida de una determinada sustancia (por ejemplo, el óxido de deuterio, el óxido de tritio y la antipirina), que se distribuye uniformemente en todos los líquidos corporales y difunde al interior celular. Luego, se calcula su volumen de distribución a partir de su concentración en una muestra obtenida del organismo. Las variaciones individuales encontradas obedecen al distinto contenido de grasa corporal. El volumen de agua del líquido extracelular podría medirse utilizando una sustancia que se distribuyera de un modo uniforme en todo él y no penetrara en las células, pero dicha sustancia ideal no se ha encontrado hasta ahora. El volumen del plasma se determina mediante la inyección intravenosa de azul de Evans, de eritrocitos marcados con ³²P o bien de albúmina marcada con ¹³¹I. El volumen del líquido intersticial y de linfa puede medirse utilizando manitol o inulina. Hay evidencias que sugieren que un 25 por 100 de la fase extracelular del tejido conjuntivo denso y del cartílago también establecen un equilibrio con el manitol o la inulina, por lo que debe corregirse el volumen calculado restando esta cantidad. El volumen de líquido intracelular se calcula por la diferencia entre el volumen total de agua corporal y el volumen del líquido extracelular.

Excreción del agua

La osmolalidad de los líquidos corporales se mantiene notablemente constante (alrededor de 290 mOsm/kg de agua) por medio del mecanismo de concentración y dilución renal, además del mecanismo de la sed. Aproximadamente se filtran 170 litros de agua al día. De este volumen se excretan menos de dos litros, o sea, un 1 por 100 del filtrado. En condiciones fisiológicas, la filtración glomerular renal no interviene en la regulación de la excreción de agua, proceso que se realiza principalmente en el túbulo de la nefrona. Cerca de dos terceras partes del agua filtrada se reabsorben isotónicamente en el túbulo proximal, y este proceso está acoplado a la reabsorción de sodio. El cloruro de sodio se reabsorbe en el segmento grueso ascendente del asa de Henle, que, sin embargo, se mantiene impermeable al agua. La extracción de soluto del filtrado en esta porción del túbulo hace que el líquido tubular se vuelva hipotónico, y el intersticio medular hipertónico al plasma.

La excreción del agua corporal también tiene lugar por vía digestiva (heces), y a través de la evaporación cutánea y la respiración.

Alteraciones del metabolismo hídrico

Depleción de volumen

Es más frecuente una depleción combinada de sodio y agua que el déficit aislado de cada uno de ellos. Las diferentes causas se exponen en la tabla 2.3. Los síntomas de una depleción de volumen no son específicos, y entre ellos cabe destacar la debilidad, el vértigo, las náuseas, el dolor de cabeza y la sed. Los signos clínicos son consecuencia del incremento de la actividad simpática debida a la disminución de volumen y se traducen en taquicardia y vasoconstricción periférica, que tienen como resultado frialdad y sequedad en las extremidades. Cuando la depleción de volumen es moderada, la presión sanguínea es normal si el paciente está acostado y puede producirse una hipotensión postural. Si la depleción es severa, hay hipotensión aun cuando el paciente esté acostado, y puede sobrevenir el shock.

Tabla 2.3
ALTERACIONES DEL METABOLISMO HIDRICO

<i>Depleción de volumen (depleción combinada de sodio y agua)</i>	<i>Exceso de volumen</i>
Pérdidas gastrointestinales Pérdidas renales Pérdidas cutáneas Paracentesis	Retención renal de agua y sal en respuesta a: <ul style="list-style-type: none"> • Reducción del volumen efectivo circulante • Alteraciones hormonales • Mal funcionamiento renal

Exceso de volumen

Consiste en un aumento del agua total corporal acompañada casi siempre, pero no en todas las circunstancias, por un incremento del sodio total del organismo. Las causas se citan en la tabla 2.3. Puede cursar con edema, dolor de cabeza, hipertensión y náuseas.

TEXTOS DE CONSULTA

- Arieff, A. I., y De Fronzo, R. A.: *Fluid electrolyte and acid-base disorders*, Churchill Livingstone, Nueva York, 1985.
- Busa, W. B.: «Mechanisms and consequences of pH-mediated cell regulation», *Ann. Rev. Physiol.*, 48:389-402, 1986.
- Davenport, H. W.: *The ABC of acid-base chemistry*, University of Chicago Press, Chicago, 1974.
- Engquist, A.: *Fluids, electrolytes, nutrition*, Raven Press, Nueva York, 1985.
- Fersht, A. R.: «The hydrogen bond in molecular recognition», *TIBS*, 12:301-304, 1987.
- Goldberger, E.: *A primer of water, electrolyte and acid-base syndromes*, Lea Febiger, Filadelfia, 1986.
- Häussinger, D.; Gerok, W., y Sies, H.: «Hepatic role in pH regulation: role of the inter-cellular glutamine cycle», *TIBS*, julio, 300-302, 1984.
- Hood, J., y Campbell: «Is pK OK?», *N. Engl. J. Med.*, 306:864, 1982.
- Masoro, E. J.: «An overview of hydrogen ion regulation», *JAMA*, 142:1019, 1982.
- Milligan, N., y Metheny, R. N.: *Fluid balance*, J. B. Lippincott Company, Filadelfia, 1984.
- Nuccitelli, R., y Deamer, D. W.: *Intracellular pH: Its measurement, regulation, and utilization in cellular functions*, Liss., 1982.
- Tanford, C.: «The hydrophobic effect and the organization matter», *Science*, 200:1012-1918, 1978.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Estructura y propiedades de los aminoácidos

JUAN CARLOS PRIETO

PROTEINAS: CONCEPTO Y PAPEL FUNCIONAL

Las proteínas constituyen uno de los grupos de moléculas de mayor trascendencia en los seres vivos (tabla 3.1). Por ejemplo, la mayoría de las reacciones químicas que tienen lugar en la célula son catalizadas por *enzimas*, todas ellas de naturaleza proteica. Estos biocatalizadores ejercen su función gracias a una estructura tridimensional perfectamente organizada que permite su acoplamiento estereoquímico con las moléculas que intervienen en la reacción correspondiente. La *estereoespecificidad* no es privativa de las enzimas; otras muchas proteínas no enzimáticas la exhiben también. Es el caso de la respuesta antigénica, en la que la inoculación de sustancias extrañas (antígenos) a un animal induce la síntesis de anticuerpos específicos, que son proteínas pertenecientes al grupo de las inmunoglobulinas.

Además de las funciones ya citadas de *biocatálisis* y *participación en mecanismos de defensa*, las proteínas tienen un papel primordial desde el punto de vista estructural. De hecho, todas las membranas celulares son fundamentalmente agregados de lípidos y proteínas con una organización determinada. Asimismo, las

Tabla 3.1
FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LAS PROTEÍNAS

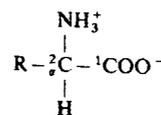
Función	Ejemplo
Biocatálisis	Enzimas
Mecanismos de defensa	Anticuerpos
Estructura	Colágeno (tejido conectivo)
Contracción	Actina y miosina (músculo esquelético)
Transporte	Hemoglobina
Almacenamiento	Ferritina
Actividad hormonal	Hormonas peptídicas
Neurotransmisión	Neuropéptidos
Reconocimiento	Receptores de hormonas y neurotransmisores
Mecanismos genéticos	Nucleoproteínas
Equilibrio hidroelectrolítico	Albúmina

proteínas son fundamentales en la estructura del hueso, el cartilago, la piel y otros tejidos conectivos en los que el colágeno es la proteína más abundante. Un caso similar lo constituye la disposición precisa de actina y miosina en la ordenada estructura del tejido muscular, donde ambas proteínas son protagonistas del *mecanismo de contracción*. Algunas proteínas están implicadas en *procesos de transporte*, como ocurre en el caso de la hemoglobina con respecto al oxígeno y al CO₂, o de los citocromos en el transporte de electrones. Pueden servir también para el *almacenamiento de moléculas o iones*, como es el caso, entre otras, de la ferritina. Otras proteínas actúan como *hormonas*, que son liberadas por glándulas específicas y actúan en tejidos distantes (o bien localmente, en el entorno donde han sido liberadas). Algunas proteínas presentes en el sistema nervioso participan en los mecanismos de la *neurotransmisión*. Pueden ejercer también funciones de *reconocimiento*, como ocurre en el caso de los receptores hormonales (de naturaleza glucoproteica) situados en la membrana plasmática o en el espacio intracelular, y que son capaces de discriminar selectivamente entre la múltiple información que accede a ellos. Finalmente, no hay que olvidar la participación de las proteínas en los *mecanismos genéticos* en tanto en cuanto forman parte de las nucleoproteínas, o en el mantenimiento del *balance hidroelectrolítico*, como ocurre con la albúmina. Así pues, las proteínas son quizá las macromoléculas más versátiles, responsables en gran parte de las capacidades metabólicas y de la morfología de los seres vivos. No en vano el término proteína deriva del griego *proteos*, que significa «primero», «fundamental». De hecho, constituyen el 50 por 100 o más del peso seco de las células.

Es asombroso que en una sola célula existan millares de proteínas con estructura y función diferentes. Sin embargo, resulta aún más sorprendente comprobar, cuando se estudia la composición de las proteínas, que todas están integradas por un reducido número de unidades, los *aminoácidos*, los cuales se encuentran unidos entre sí por enlaces covalentes (*enlaces peptídicos*), cuyo orden está predeterminado genéticamente. Aunque existen ciertas discrepancias en la literatura, el término *oligopéptido* se reserva para las moléculas que tienen de 2 a 20 aminoácidos; el de *polipéptido* para las que tienen de 20 a 50 y el de *proteína*, para las que superan esta última cifra. En el presente capítulo se dedicará precisamente una especial atención a las unidades que las integran, es decir, a los aminoácidos.

ESTRUCTURA DE LOS AMINOACIDOS

Desde el descubrimiento y caracterización, en 1806, del primer aminoácido, la *asparagina*, tuvieron que pasar más de ciento treinta años hasta 1938, en que le llegó el turno al vigésimo, la *treonina*, que cerró la lista de los aminoácidos que se encuentran habitualmente en las proteínas. Todos ellos son α -aminoácidos, puesto que poseen un *grupo carboxilo* y un *grupo amino* unidos a un mismo átomo de carbono (C₂), que se encuentra en posición α con relación al primer carbono (C₁), y se diferencian entre sí por el resto de la molécula o *cadena lateral R*, que puede ser un radical alquilo o arilo, o un grupo heterocíclico:



Los aminoácidos se denominan por nombres triviales o comunes, fruto del material donde se aislaron por primera vez (por ejemplo, la asparagina se descu-

brió en el espárrago) o de alguna propiedad característica (caso de la glicina, por su sabor dulce). Tales nombres han dado lugar a símbolos de tres letras, integrados por una mayúscula seguida por dos minúsculas, que los identifican. Sin embargo, la caracterización de la estructura primaria de proteínas, cada vez más complejas gracias a las técnicas modernas de secuenciación, ha hecho aconsejable la anotación de los aminoácidos por una sola letra mayúscula. Ambos sistemas de identificación aparecen reflejados en la tabla 3.2, junto a las denominaciones trivial y sistemática.

Tabla 3.2

DENOMINACION TRIVIAL, ABREVIADA Y SISTEMÁTICA DE LOS α -AMINOACIDOS

Trivial	3 letras	1 letra	Sistemática
Alanina	Ala	A	ác. 2-aminopropanoico
Arginina	Arg	R	ác. 2-amino-5-guanidinopentanoico
Asparagina	Asn	N	ác. 2-amino-3-carbamilpropanoico
Acido aspártico	Asp	D	ác. 2-aminobutanodioico
Cisteína	Cys	C	ác. 2-amino-3-mercaptopropanoico
Glutamina	Gln	Q	ác. 2-amino-4-carbamilbutanoico
Acido glutámico	Glu	E	ác. 2-aminopentanodioico
Glicina	Gly	G	ác. aminoetanoico
Histidina	His	H	ác. 2-amino-3-(1H-imidazol-4-il) propanoico
Isoleucina	Ile	I	ác. 2-amino-3-metilpentanoico
Leucina	Leu	L	ác. 2-amino-4-metilpentanoico
Lisina	Lys	K	ác. 2,6-diaminohexanoico
Metionina	Met	M	ác. 2-amino-4-(metiltio) butanoico
Fenilalanina	Phe	F	ác. 2-amino-3-fenilpropanoico
Prolina	Pro	P	ác. pirrolidin-2-carboxílico
Serina	Ser	S	ác. 2-amino-3-hidroxiopropanoico
Treonina	Thr	T	ác. 2-amino-3-hidroxi-butanoico
Triptófano	Trp	W	ác. 2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoico
Tirosina	Tyr	Y	ác. 2-amino-3-(4-hidroxifenil) propanoico
Valina	Val	V	ác. 2-amino-3-metilbutanoico

Asx representa a Asp y Asn indistintamente (o B a N y D).
Glx representa a Glu y Gln indistintamente (o Z a Q y E).

Clasificación de los aminoácidos

Entre las diferentes clasificaciones estructurales de los aminoácidos, quizá la más extendida es la que los agrupa en familias, atendiendo a las propiedades fisicoquímicas de su cadena lateral R. Según este criterio, se dividen en aminoácidos cuyo grupo R es *no polar hidrofóbico* (*glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano y metionina*) (fig. 3.1), y aquellos cuya cadena lateral R tiene naturaleza *polar* (fig. 3.2), que se dividen a su vez en tres clases: *R hidrófila neutra* (*serina, treonina, cisteína, asparagina, glutamina y tirosina*), *R hidrófila ácida* (*ácido aspártico y ácido glutámico*) y *R hidrófila básica* (*lisina, arginina e histidina*). Podrían agruparse también teniendo en cuenta otras características, por ejemplo, aminoácidos con grupo *R ramificado* (*valina, leucina e isoleucina*) o aminoácidos con grupo *R aromático* (*fenilalanina, tirosina, triptófano e histidina*). Obsérvese que uno de los 20 aminoácidos, la prolina, tiene naturaleza de *iminoácido*, por lo que constituye una excepción.

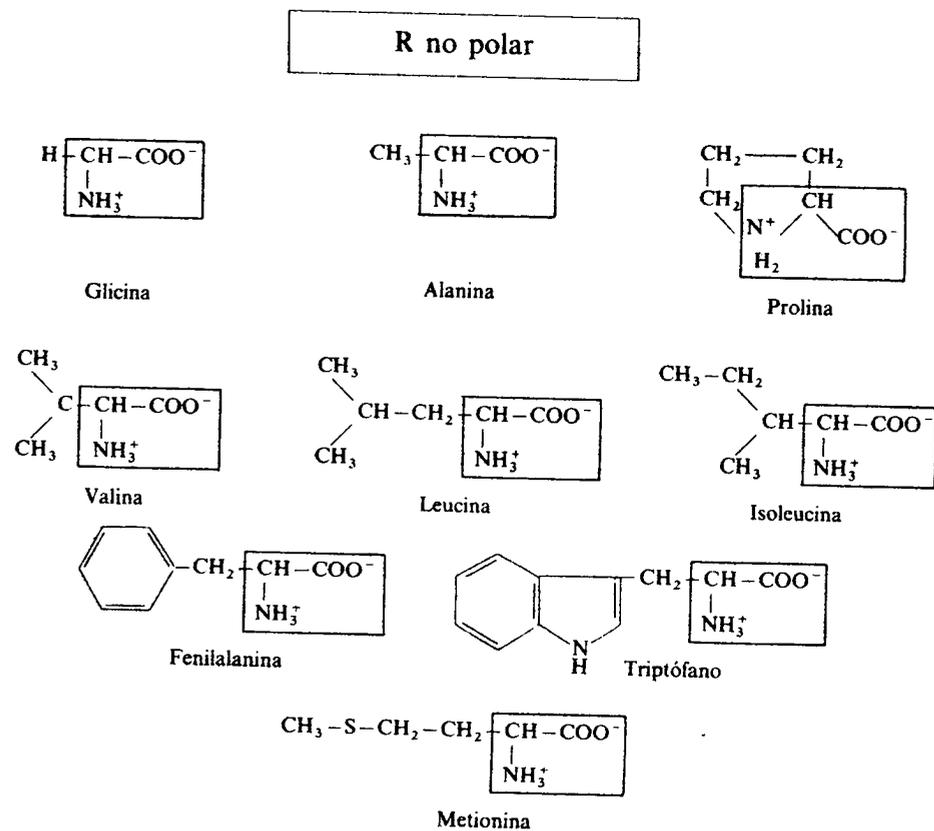


Figura 3.1. Aminoácidos con cadena lateral R no polar-hidrofóbica.

Cuando se hidroliza completamente una proteína (por ejemplo, mediante ácidos o bases fuertes a temperaturas elevadas, o por tratamiento enzimático con proteasas), se destruyen los enlaces peptídicos y se liberan los aminoácidos que la integran. Además de los 20 aminoácidos fundamentales ya descritos, es relativamente frecuente encontrar en las estructuras proteicas algunos derivados sustituidos, como la *hidroxiprolina* o la *hidroxilisina*, o dímeros oxidados, como la *cistina*. Tales aminoácidos modificados no son codificados por ningún triplete de bases de la clave genética, sino que son producto de transformaciones estructurales de las proteínas una vez que han sido sintetizadas sobre el molde de mRNA. Además, en la célula se encuentran multitud de moléculas con estructura de aminoácido que no forman parte de las proteínas y que desempeñan importantes papeles en el metabolismo intermediario, por ejemplo, como hormonas o como neurotransmisores. Algunos de éstos aparecen en la figura 3.3

Estereoisomería en los aminoácidos

Con excepción de la glicina, el átomo de carbono en posición α de todos los aminoácidos se encuentra unido a cuatro grupos diferentes, por lo que tiene carácter asimétrico. Esto hace que existan dos posibilidades de ordenamiento de los cuatro grupos alrededor del C asimétrico, dando lugar a dos isómeros *enantiomorfos* o *enantiómeros*, D y L, por comparación con el D- o el L-gliceraldehído (fig.

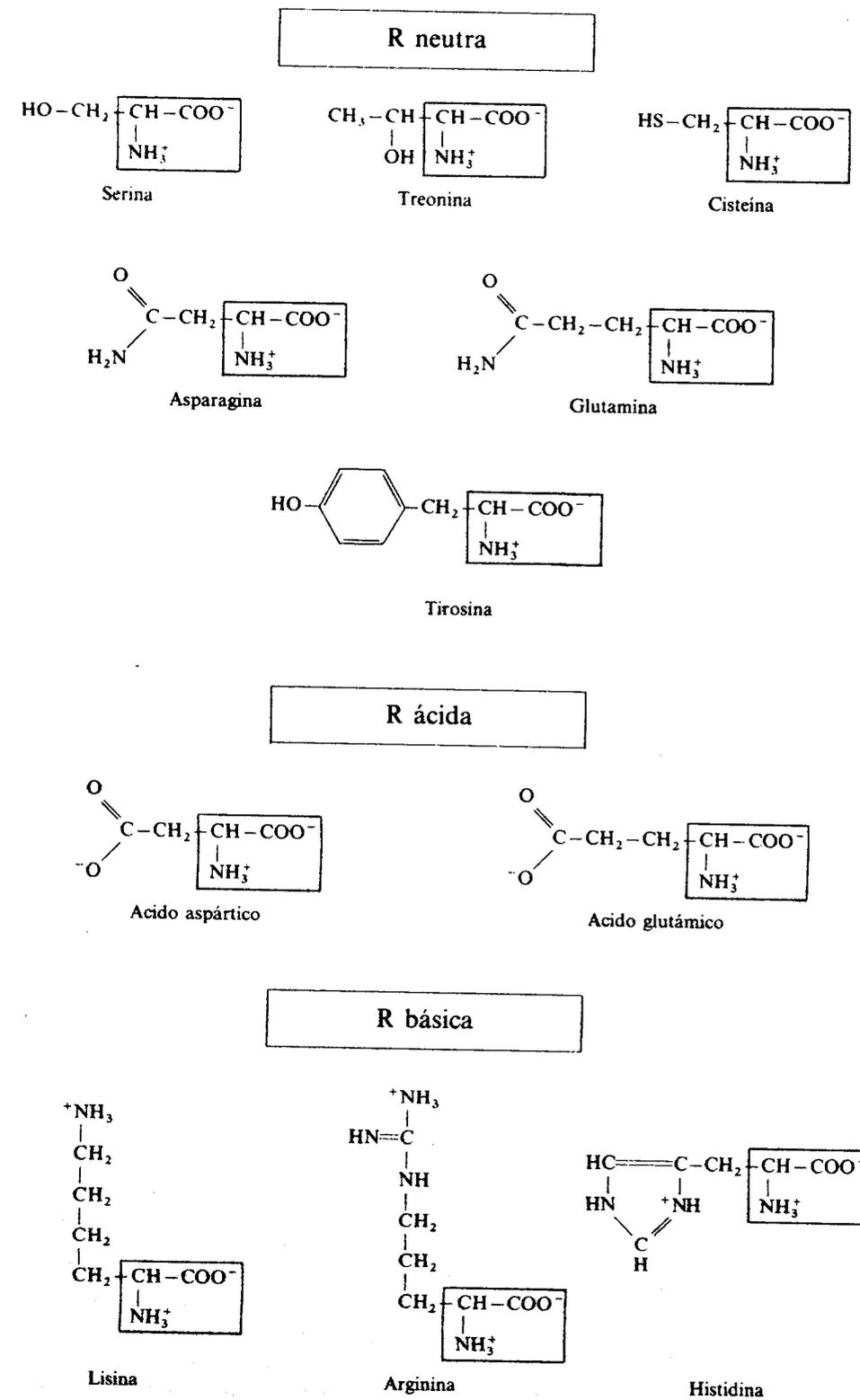


Figura 3.2. Aminoácidos con cadena lateral R polar-hidrófila.

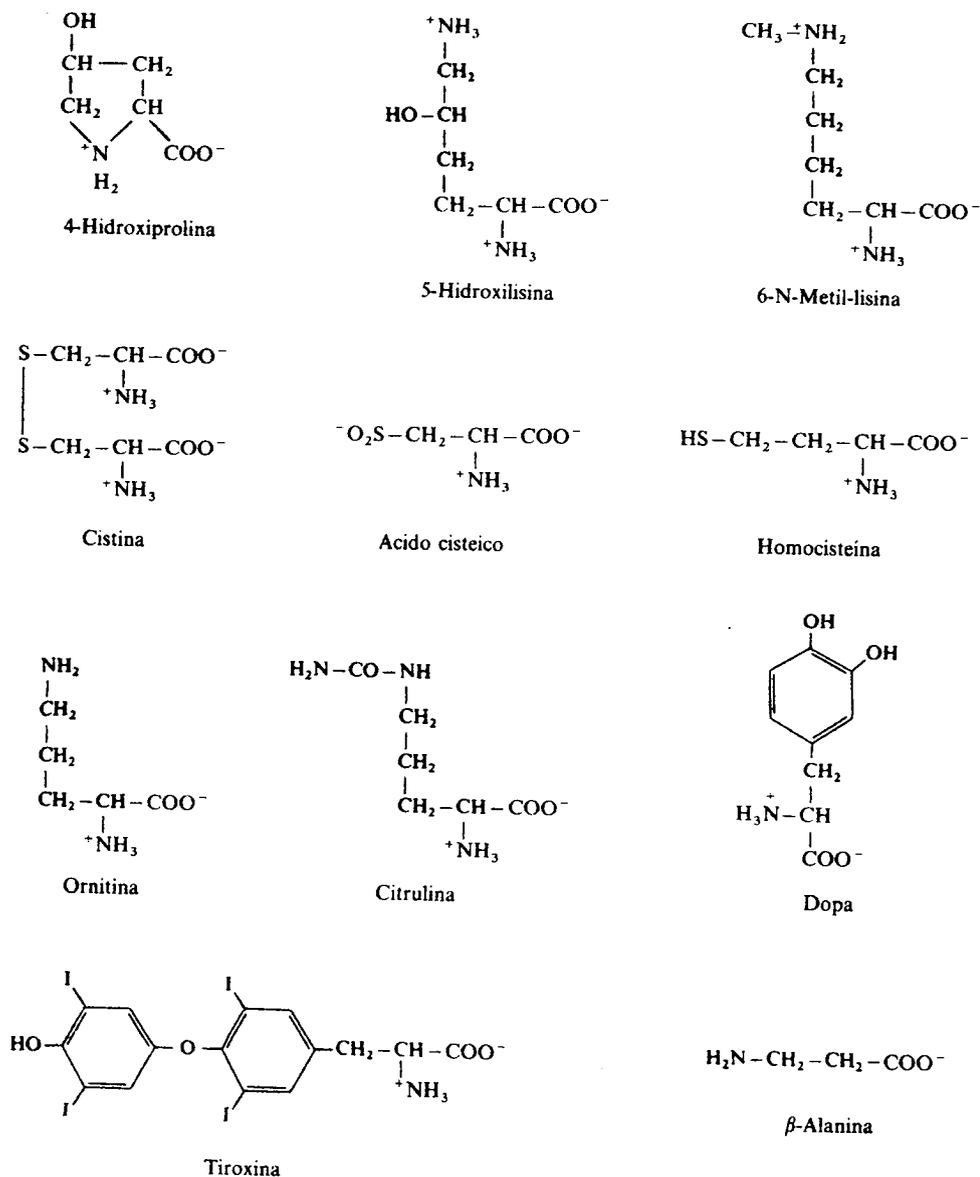


Figura 3.3. Aminoácidos «especiales» presentes en las proteínas y otras moléculas no proteicas con estructura de aminoácido.

3.4), siguiendo la convención de Fischer-Rosanoff. Estos estereoisómeros son imágenes especulares entre sí y no pueden superponerse. Las estructuras de los aminoácidos pueden representarse proyectando cada *centro quiral* en el plano del papel de modo que el C asimétrico aparezca en la intersección de dos líneas rectas que relacionan los grupos por parejas, siendo la vertical la que está unida a la cadena lateral R y al grupo carboxilo situado en la posición 1. De este modo, el C asimétrico se considera situado en el plano del papel, los demás átomos de la cadena principal por encima y los otros dos grupos hacia abajo. La figura 3.4 recoge las posibles representaciones de los enantiómeros D y L de los aminoácidos y su correspondencia con el gliceraldehído.

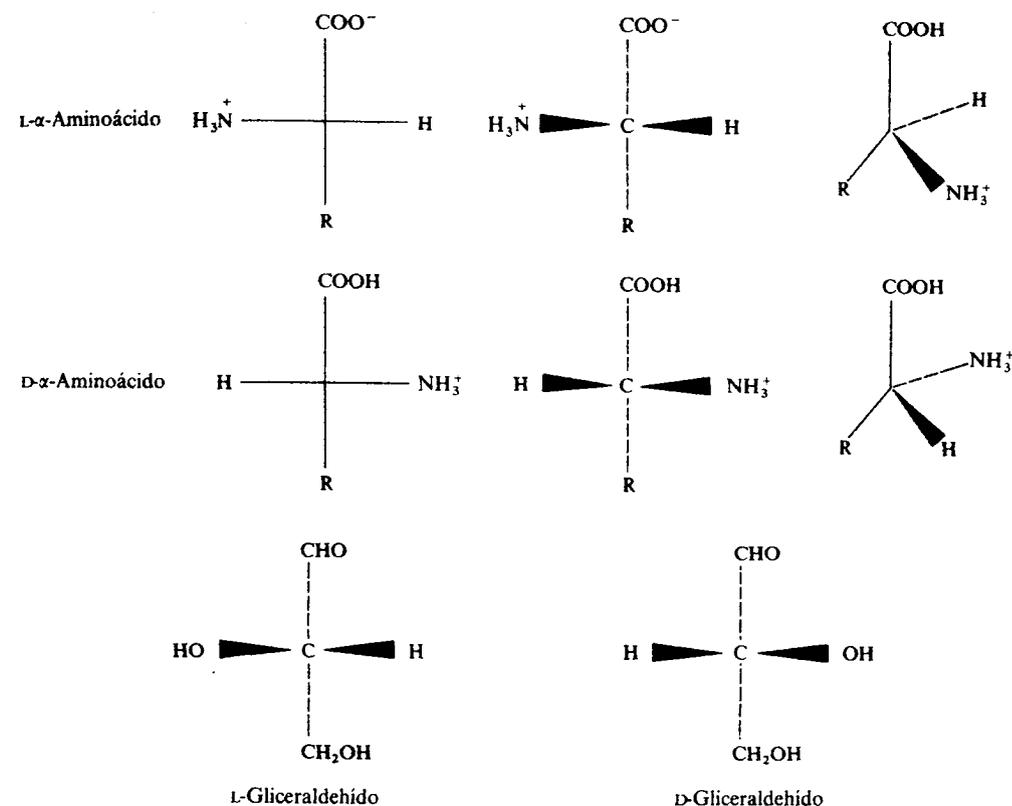


Figura 3.4. Enantiómeros D y L de los aminoácidos y su relación con el gliceraldehído.

Los aminoácidos presentes en las proteínas naturales corresponden siempre a la *configuración* L. De hecho, la célula posee enzimas estereoespecíficas que sintetizan precisamente los estereoisómeros L de los aminoácidos, gracias al ordenamiento asimétrico de sus sitios activos. El riñón de los animales tiene la capacidad de destruir D-aminoácidos que podrían ser utilizados en la síntesis de péptidos tóxicos. De todos modos, en las células existe una cierta cantidad de D-aminoácidos, aunque nunca formando parte de las proteínas.

La *estereoisomería* es la causa de que los aminoácidos presenten propiedades ópticas, pudiendo desviar el plano de la luz polarizada a derecha o izquierda (*dextrógiros* o *levógiros*, + o -). La denominación D o L se refiere únicamente a la configuración absoluta y no tiene nada que ver con el sentido de giro del plano de la luz polarizada. Así, por ejemplo, L-fenilalanina es levógira por presentar una rotación específica de $-34,5^\circ$, mientras que L-lisina es dextrógira con una rotación específica de $+13,5^\circ$. La rotación específica de un estereoisómero se expresa cuantitativamente por la desviación del plano de la luz polarizada (valorada mediante un polarímetro) provocada por una solución de la molécula pura a una concentración determinada en un tubo de medida (paso de luz) conocida; la medida se realiza normalmente a 25°C y con luz correspondiente a la línea D del espectro del sodio ($\lambda = 589\text{ nm}$):

$$[\alpha]_D^{25^\circ} = \frac{\text{Rotación observada (grados)}}{\text{Longitud del tubo (dm)} \times \text{concentración (g/ml)}}$$

Cuando se intenta sintetizar un aminoácido mediante reacciones químicas no biológicas, el producto carece de propiedades ópticas debido a que los estereoisómeros D y L se forman a la misma velocidad, por lo que se obtiene una mezcla equimolecular de ambos o *racemato*. Mediante técnicas fisicoquímicas es posible separar los dos isómeros ópticos, aunque con el transcurso del tiempo cada uno de ellos da lugar a una nueva *mezcla racémica*. Dicha transformación se produce en las mismas proteínas durante períodos de tiempo suficientemente largos, lo que sirve para calcular con relativa precisión la edad de fósiles de interés paleontológico. Así, se ha estimado en 10.000 años el período necesario para que, a 17 °C el cociente D/L alcance el valor 0,5, que permite fechar restos que contengan proteínas, procedentes fundamentalmente del hueso.

El número de estereoisómeros de cada aminoácido viene dado por el número de átomos de C asimétricos que posea. La glicina no tiene C asimétrico y, por tanto, no presenta estereoisómeros. Diecisiete de los 20 aminoácidos presentan dos *enantiómeros* porque su C_α es asimétrico. La treonina y la isoleucina tienen dos centros quirales, por lo que cada uno de ellos puede existir en cuatro configuraciones, o *diastereoisómeros* diferentes, cada uno con una actividad óptica característica. Como se muestra en la figura 3.5 para la treonina, en el caso de estos aminoácidos los prefijos D y L van seguidos o no de *alo* (del griego *allos*, que significa «otro») para poder denominar las cuatro estructuras.

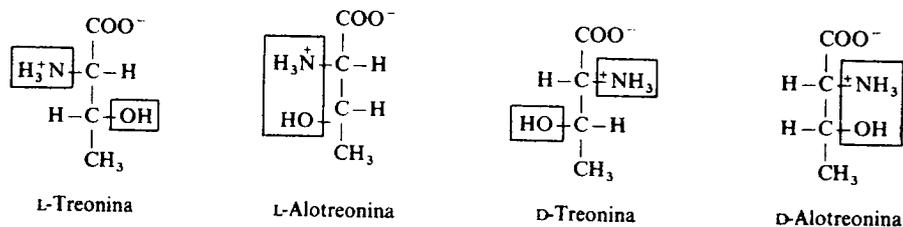


Figura 3.5. Diastereoisómeros de la treonina.

Las dificultades que surgen al intentar calificar familias de isómeros ópticos con dos o más centros quirales han dado lugar al establecimiento de un método más general de designación estereoquímica, el *sistema RS* de Cahn, Ingold y Prelog. Los diferentes grupos unidos a un átomo quiral se disponen en un orden de preferencia basado fundamentalmente en el número atómico:



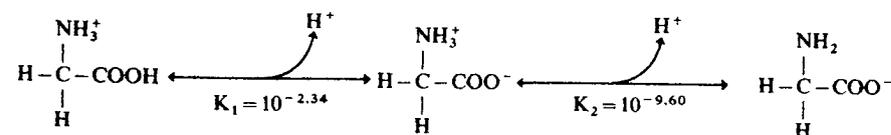
Si los tres primeros grupos aparecen ordenados de mayor a menor prioridad en el sentido de giro de las agujas del reloj, cuando se contemplan desde el lado contrario al cuarto grupo (generalmente H en los aminoácidos), el centro quiral es R, *rectus* en latín, y S, *sinister*, en el caso opuesto. La configuración L que posee el C_2 de los α -aminoácidos presentes en las proteínas corresponde siempre a S en el sistema RS, con la excepción de la L-cisteína, que es R porque el peso atómico del azufre es superior al del oxígeno. Tal como aparece en la figura 3.6, un aminoácido con dos centros quirales, como la L-treonina, sería (2S, 3R)-treonina en el sistema RS. De todos modos, el sistema DL sigue usándose de forma casi universal para denominar a los aminoácidos.



Figura 3.6. Configuración de la L-treonina según el sistema RS. En ambos carbonos, el cuarto grupo (H) se encuentra debajo del plano. La denominación correspondiente es (2S, 3R)-treonina.

COMPORTAMIENTO DE LOS AMINOACIDOS Y PROTEINAS COMO ELECTROLITOS

Los aminoácidos tienen carácter *anfótero*, ya que, debido a sus grupos ionizables, se comportan como ácidos o como bases en solución acuosa. Cuando se trata de aminoácidos con un grupo amino y uno carboxilo, ambos se encuentran ionizados en solución neutra, constituyendo un *ion dipolar* o *zwitterión* (término alemán, ion híbrido); lógicamente, no poseen carga eléctrica y, por tanto, no migran en un campo eléctrico. Por ejemplo, en el caso del α -aminoácido más sencillo, la glicina, el equilibrio de ionización corresponde a:



Donde la forma zwitterión puede actuar como ácido, al perder el H^+ el grupo nitrogenado, o como base, al combinarse el grupo carboxílico con un H^+ , adquiriendo, en consecuencia, una carga neta negativa o positiva, respectivamente. Los aminoácidos que, como la glicina, sólo tienen los dos grupos ionizables citados, α - NH_2 y α - $COOH$, se encuentran casi totalmente en forma zwitterión al pH fisiológico, 7,4. Se define el *punto isoeléctrico*, pI, de un aminoácido como el pH en el cual éste no tiene carga eléctrica neta. En el caso de los aminoácidos monoamino-monocarboxílicos corresponde a la expresión:

$$pI = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

Donde K_1 y K_2 son las constantes de equilibrio de las dos reacciones de ionización:

$$K_1 = \frac{[R-\text{COO}^-][H^+]}{[R-\text{COOH}]} \quad K_2 = \frac{[R-\text{NH}_2][H^+]}{[R-\text{NH}_3^+]}$$

El pI se alcanza cuando

$$[R-COOH] = [R-NH_2]$$

Es decir, cuando

$$[H^+] = \sqrt{K_1 K_2}$$

En el ejemplo citado de la glicina:

$$K_1 = 10^{-2.34} \quad K_2 = 10^{-9.60} \quad pI = \frac{1}{2} (2.34 + 9.60) = 5.97$$

Valor próximo al pH del plasma sanguíneo.

Si se determina la *curva de titulación* de los aminoácidos monoamino-monocarboxílicos (fig. 3.7 para el caso de la glicina) se observarán siempre dos tramos bien definidos. El primero de ellos corresponde a la transformación progresiva

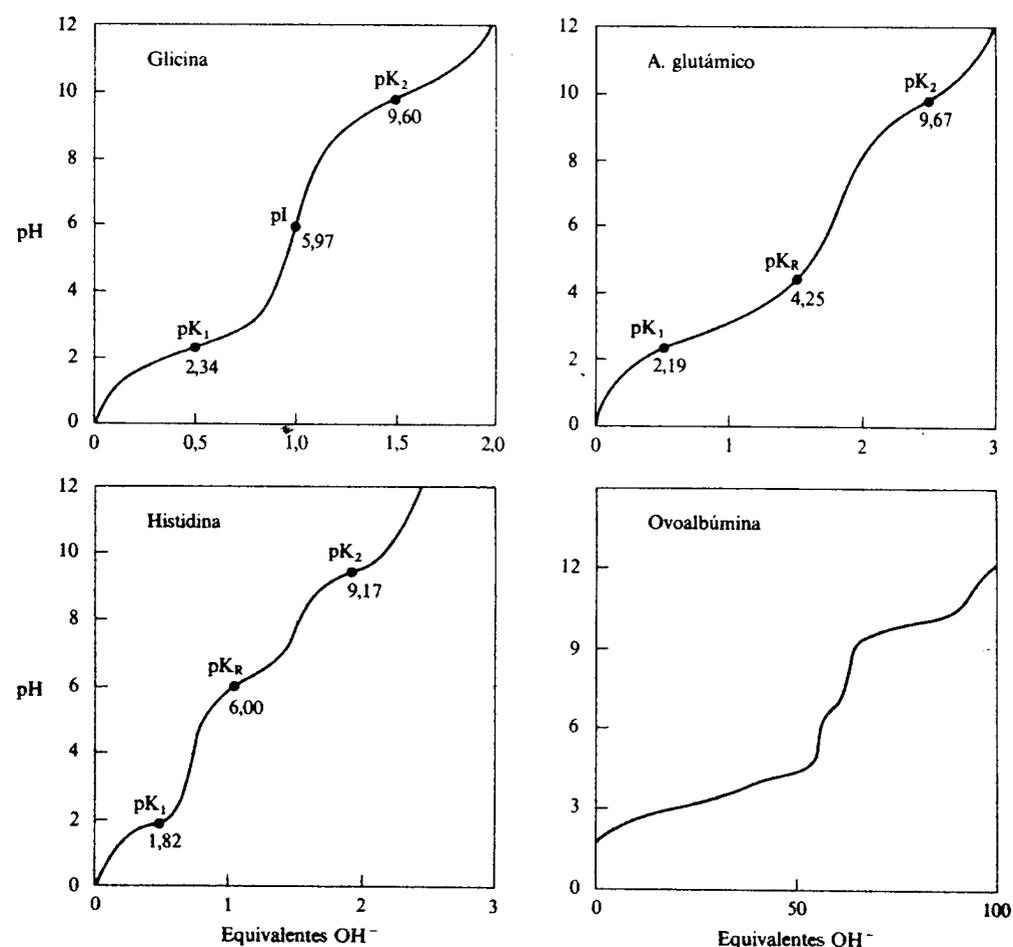


Figura 3.7. Curvas de titulación de glicina, ácido glutámico, histidina y ovoalbúmina.

de $^+H_3N-CH_2-COOH$ en $^+H_3N-CH_2-COO^-$, en presencia de concentraciones crecientes de NaOH, siendo ambas especies equimolares a pH = 2,34 (pK₁, grupo -COOH). A pH = 5,97 se alcanza un punto de inflexión en el que el aminoácido se encuentra prácticamente en su totalidad como zwitterión $^+H_3N-CH_2-COO^-$. Al aumentar aún más la concentración de NaOH comienza la transformación del ion dipolar en $H_2N-CH_2-COO^-$, alcanzando ambas especies la equimolaridad a un pH = 9,60 (pK₂, grupo $^+H_3N-$) y llegándose a una titulación casi completa a pH = 12.

Como se ilustra en la tabla 3.3, la glicina y demás aminoácidos con cadena lateral no ionizable tienen valores de pK₁ próximos a 2,5, y de pK₂ próximos a 9,5, por lo que pueden actuar como tampones en dos zonas del rango de pH (± 1 alrededor de cada valor de pK), y no sirven, por tanto, como tampones al pH fisiológico de la sangre y de los fluidos intracelulares en general. Precisamente, el pH fisiológico (7,4) es un valor relativamente cercano al pI de dichos aminoácidos, por lo que el pI es el punto de mínima solubilidad de aminoácidos y proteínas. Podría, pues, pensarse que estos aminoácidos deberían cristalizar en los tejidos; sin embargo, esto no ocurre por la distribución ordenada de cargas positivas y negativas que determina que los aminoácidos se comporten como potentes dipolos solubles en agua (aunque menos solubles que las formas iónicas correspondientes). Una excepción es la cistina (pI = 5,0), que en su forma zwitterión da lugar a una red cristalina muy estable. La [H⁺] en orina es frecuentemente superior a 10⁻⁶ M, con lo que el pH se acerca al pI de la cistina. A esto se debe que los cálculos presentes en el tracto urinario contengan con relativa frecuencia una alta proporción de cistina. El problema de estos cálculos es aún más grave en la *cistinuria*.

Un caso más complejo lo constituyen los aminoácidos con un grupo ionizable en su cadena lateral (ácidos monoamino dicarboxílicos como glutámico y aspártico, ácidos diamino monocarboxílicos como lisina, etc.). Como muestra la figura 3.7, para los casos del ácido glutámico y la histidina, las curvas de titulación ofrecen tres tramos, correspondientes a las tres etapas de ionización; pueden, por tanto, determinarse tres valores de pK que corresponden a los grupos α -amino, α -carboxilo y cadena lateral R. La tabla 3.3 recoge dichos valores. El pI se calcula por la semisuma del pK del grupo de la cadena lateral y del pK del grupo α con valor más próximo a aquél.

Tabla 3.3
VALORES DE pK PARA LOS GRUPOS IONIZABLES DE LOS AMINOACIDOS (A 25°C)

Aminoácido	pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₃ ⁺)	Aminoácido	pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₃ ⁺)	pK _R (R)
Glicina	2,34	9,60	A. aspártico	2,09	9,82	3,86
Alanina	2,35	9,69	A. glutámico	2,19	9,67	4,25
Prolina	1,95	10,64	Lisina	2,18	8,95	10,53
Valina	2,32	9,62	Arginina	2,17	9,04	12,48
Leucina	2,36	9,60	Histidina	1,82	9,17	6,00
Isoleucina	2,36	9,68	Cisteína	1,71	10,78	8,33
Fenilalanina	1,83	9,13	Tirosina	2,20	9,11	10,07
Triptófano	2,38	9,38				
Metionina	2,28	9,21				
Serina	2,21	9,15				
Treonina	2,09	9,10				
Asparagina	2,02	8,80				
Glutamina	2,17	9,13				

Por ejemplo, el ácido glutámico ($pK_1 = 2,19$, $pK_R = 4,25$, $pK_2 = 9,67$) tiene un $pI = \frac{1}{2}(2,19 + 4,25) = 3,22$.

Obsérvese que la histidina tiene un $pK_R = 6,0$, relativamente próximo al pH fisiológico, lo que supone que puede actuar como tampón en los fluidos corporales. Precisamente, la hemoglobina contiene una elevada proporción de histidina, poseyendo así un alto poder tampón en los hematíes que es de vital importancia en el transporte de O_2 y CO_2 por la sangre.

Las diferentes propiedades ácido-base de los aminoácidos son muy útiles en la determinación cuantitativa de estas moléculas en fluidos biológicos y en hidrolizados de proteínas, puesto que pueden separarse por su diferente carga eléctrica neta a un pH determinado, mediante técnicas tales como cromatografía de intercambio iónico o electroforesis. Este tipo de métodos se emplean con asiduidad en la tecnología de secuenciación de proteínas y clínica de los aminoácidos.

Sin duda, el comportamiento ácido-base de las proteínas es más difícil de interpretar que el de los aminoácidos aislados. Dado que el enlace peptídico supone el bloqueo covalente de los grupos α -amino y α -carboxilo, sólo quedan como grupos ionizables de este tipo los dos extremos de la molécula; sin embargo, deben considerarse también todos los grupos ionizables de las cadenas laterales. Todo ello lleva a curvas de titulación complicadas y, naturalmente, a un valor de pI para cada proteína.

Como ejemplo, en la figura 3.7 se presenta la curva de titulación de la ovoalbúmina (proteína de 45.000 daltons) calculada por aproximación a partir de sus 110 grupos ionizables (54 carboxilo, 20 amino, 7 imidazol de histidina, 15 guanidino de arginina, 5 sulfhidrilo y 9 hidroxifenólico). Ello supone una carga neta de 42^+ , lo que da un pI teórico = 4,1. El pI real de la ovoalbúmina es, sin embargo, 4,6. Esta discrepancia se debe, entre otros motivos, a que los pK de los grupos ionizables de los aminoácidos son algo diferentes según se considere la molécula aislada o formando parte de una proteína, puesto que en esta última el entorno de cargas del resto de la cadena altera a cada grupo particular en mayor o menor medida.

REACCIONES QUIMICAS DE LOS AMINOACIDOS

Los aminoácidos pueden experimentar reacciones químicas a tres niveles: grupo α -amino, grupo α -carboxilo y grupos activos de la cadena lateral. No es el objetivo de este capítulo revisar el gran número de reacciones posibles, que en muchos casos sirven como pruebas de identificación de aminoácidos. Sin embargo, se considerarán algunas reacciones importantes en la tecnología de identificación de aminoácidos, cuya aplicación en la secuencia de proteínas se estudiará con detalle más adelante.

1. Los α -aminoácidos experimentan un proceso de descarboxilación oxidativa cuando reaccionan con *ninhidrina* (hidrato de tricetohidrindeno), dando lugar por calentamiento a un producto de color azul o púrpura (excepto la prolina, que da un derivado amarillo), tal como se representa en la figura 3.8. Pueden detectarse así cantidades muy pequeñas de aminoácidos (del orden de $1 \mu g$) e incluso valorarse cuantitativamente por colorimetría. La reacción puede seguirse no sólo a través del color desarrollado, sino también midiendo la cantidad de CO_2 liberado.

2. Otra reacción importante de los aminoácidos es la que tiene lugar con *isotiocianato de fenilo* (fig. 3.9), dando lugar a una *feniltiohidantoína*. Tiene su

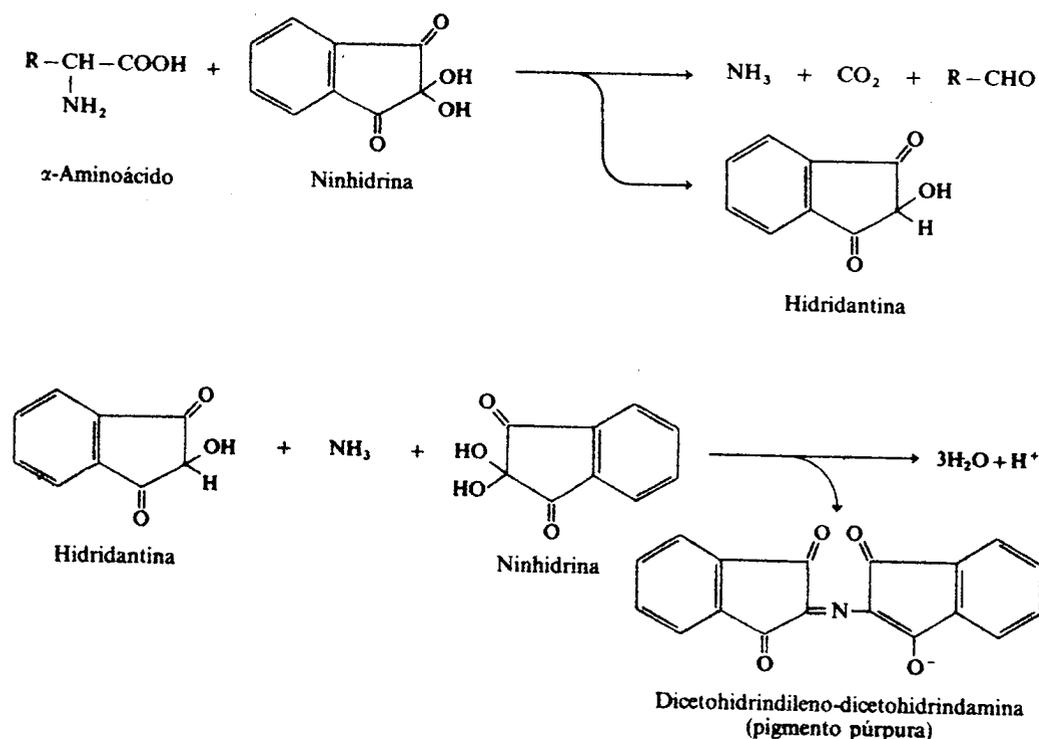


Figura 3.8. Reacción de los aminoácidos con ninhidrina.

aplicación en la *degradación de Edman*, método utilizado para identificar aminoácidos N-terminales en la secuenciación de proteínas.

3. La reacción con *1-fluor-2,4-dinitrobenzenceno* (reactivo de Sanger) se ha utilizado para identificar también aminoácidos N-terminales en las proteínas, aunque hoy está en desuso porque no puede repetirse secuencialmente. Los α -aminoácidos dan lugar, en su presencia y a pH ligeramente alcalino, a los correspondientes dinitrofenil derivados (fig. 3.10).

4. Mediante el uso de la fluorimetría pueden detectarse concentraciones muy pequeñas de aminoácidos. Así, por ejemplo, el *cloruro de dansilo* (cloruro de dimetilaminonaftaleno-5-sulfonilo) reacciona con los grupos amino libres dando un producto fluorescente (fig. 3.11) que puede valorarse con una sensibilidad mucho mayor que la de los dinitrofenil derivados que se han citado anteriormente.

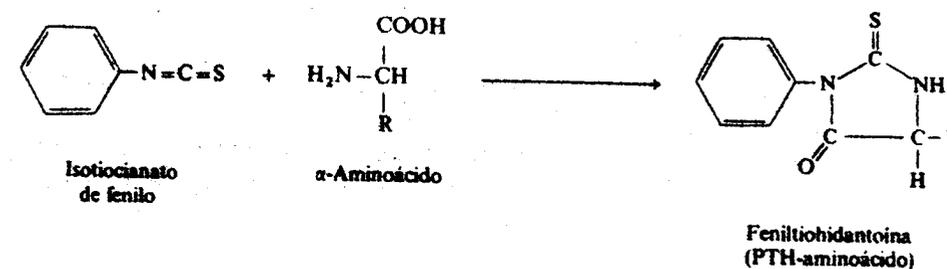


Figura 3.9. Reacción de los aminoácidos con isotiocianato de fenilo (reactivo de Edman).

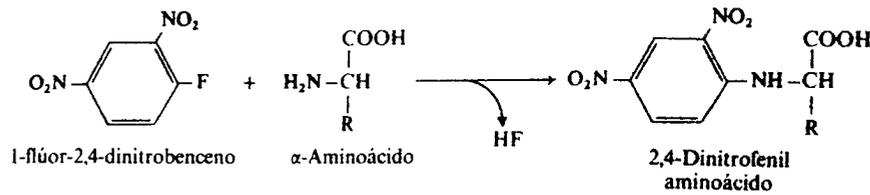


Figura 3.10. Reacción de los aminoácidos con 1-flúor-2,4-dinitrobenceno (reactivo de Sanger).

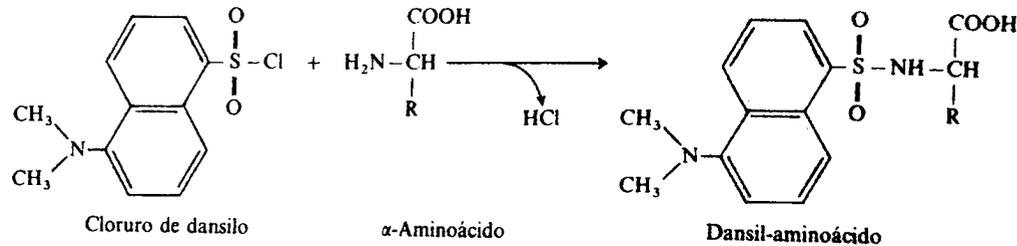


Figura 3.11. Reacción de los aminoácidos con cloruro de dansilo.

NIVELES NORMALES DE AMINOACIDOS EN LIQUIDOS BIOLÓGICOS

Los aminoácidos libres (que no forman parte de proteínas) se encuentran distribuidos en los distintos compartimientos del organismo de manera diferenciada. Así, por ejemplo, los aminoácidos *intraeritrocitarios* no mantienen un equilibrio de difusión simple con los correspondientes del plasma sanguíneo. Cuando estos últimos aumentan, pasa cierto tiempo hasta que se aprecia una respuesta similar en el interior del eritrocito. La concentración de aminoácidos en los leucocitos es superior a la de los eritrocitos. Puede afirmarse que, en general, la concentración de aminoácidos tisulares es 5-10 veces superior a la plasmática. De hecho, los aminoácidos tisulares pueden llegar a concentraciones anormalmente altas durante un ayuno prolongado, debido probablemente al catabolismo acelerado de las proteínas durante la situación de inanición.

Los aminoácidos del plasma sanguíneo proceden de la absorción intestinal de hidrolizados de proteínas, de la proteólisis tisular y de la biosíntesis *de novo*. Esta entrada continua de aminoácidos en la sangre se ve contrarrestada por su salida para participar en la biosíntesis proteica y en la de otros compuestos nitrogenados en los tejidos, así como por su degradación oxidativa para producir energía. Por tanto, la aminoacidemia o concentración de aminoácidos en plasma es el resultado del balance entre los flujos de entrada y salida.

Por término medio, la aminoacidemia normal oscila entre 35-65 mg/100 ml. Este valor puede modificarse por varias causas:

- Aumento en el período postprandial, durante las tres o cuatro horas posteriores a la ingesta de una dieta rica en proteínas.
- Disminución en recién nacidos y durante los primeros meses de vida, probablemente por una utilización incrementada debido a la rápida formación de tejidos que supone el crecimiento.
- Ligero aumento durante el ayuno prolongado, debido quizá a la utilización de proteínas tisulares para producir energía.
- Aumento en las enfermedades hepáticas que cursan con destrucción pro-

Tabla 3.4
RANGOS NORMALES DE CONCENTRACIONES DE LOS AMINOACIDOS
(Y ALGUNOS DE SUS DERIVADOS) EN PLASMA SANGUÍNEO HUMANO

Aminoácido	mg/100 ml	Aminoácido	mg/100 ml
Total	35-65	Leucina	1,0-5,2
Alanina	2,5-7,5	Lisina	1,4-5,8
Acido α -aminobutírico	0,1-0,3	Metionina	0,2-1,0
Acido aspártico	0,01-0,3	N ¹ -metilhistidina	0,1
Acido glutámico	0,4-4,4	N ³ -metilhistidina	0,1
Arginina	1,2-3,0	Ornitina	0,6-0,8
Asparagina	0,5-1,4	Prolina	1,5-5,7
Citrulina	0,5	Serina	0,3-2,0
Cistina	0,8-5,0	Taurina	0,2-0,8
Fenilalanina	0,7-4,0	Tirosina	0,8-2,5
Glicina	0,8-5,4	Treonina	0,9-3,6
Glutamina	4,5-10,0	Triptófano	0,4-3,0
Histidina	0,8-3,8	Valina	1,9-4,2
Isoleucina	0,7-4,2	N de aminoácidos	4,0-8,0

gresiva de este órgano, con la consiguiente deficiencia en la metabolización de aminoácidos.

e) Aumento en enfermedades renales tales como la nefritis glomerular crónica, por insuficiencia en su eliminación.

f) Modificación de las concentraciones plasmáticas de determinados aminoácidos debido a metabolopatías, muchas veces de carácter hereditario, como se estudiará con detalle en su momento. La tabla 3.4 recoge los intervalos normales de las concentraciones plasmáticas de los aminoácidos, correspondiendo los más altos a glutamina y alanina, y los más bajos a metionina y ácido aspártico. Por último, cabe destacar la independencia de la aminoacidemia con respecto al sexo.

Tabla 3.5
VALORES MEDIOS DE ELIMINACION DIARIA
DE AMINOACIDOS EN LA ORINA HUMANA
NORMAL (mg/24 HORAS)

Aminoácido	Total	Libre	Conjugado
Acido aspártico	165	2	163
Acido glutámico	351	36	315
Arginina	24	21	3
Cistina	—	88	—
Fenilalanina	23	16	7
Glicina	463	—	—
Histidina	203	188	15
Isoleucina	21	6	15
Leucina	21	10	11
Lisina	73	34	39
Metionina	9	8	1
Prolina	43	9	34
Serina	27	—	—
Tirosina	52	21	31
Treonina	54	24	30
Triptófano	41	25	16
Valina	20	5	15
Total	1.600	493	695

Los aminoácidos suponen solamente el 1-2 por 100 del nitrógeno total que se elimina por *orina*, ya que los túbulos renales constituyen un sistema de reabsorción bastante eficaz para ellos, aunque dependiendo de su estructura (por ejemplo, diariamente se elimina por orina doscientas veces más glicina que valina). Al contrario de lo que ocurre con la glucosa, el riñón no presenta un valor umbral para la *filtración glomerular* de aminoácidos, aumentando su eliminación cuando se incrementan las concentraciones plasmáticas correspondientes. Un aspecto importante de los aminoácidos presentes en la orina radica en que se encuentran, en parte, conjugados con otras moléculas (por ejemplo, glicina y ácido benzoico se eliminan en forma conjugada como ácido hipúrico). La fracción conjugada depende de cada aminoácido en particular, oscilando entre el 10 por 100 para arginina y el 99 por 100 para ácido aspártico. La tabla 3.5 ofrece los valores medios normales (mg/24 horas) de eliminación de aminoácidos en orina humana. Su valoración es interesante en enfermedades tales como *hepatopatías*, *infecciones agudas* o *diabetes mellitus*, en las que la frecuente hiperaminoacidemia se ve acompañada por una hiperaminoaciduria paralela. Del mismo modo, diversas enfermedades metabólicas congénitas dan lugar a una eliminación anormal de diferentes aminoácidos en la orina.

TEXTOS DE CONSULTA

- Anfinsen, C. B., Jr.; Edsall, J. T., y Richards, F. M.: *Advances in Protein Chemistry*, vols. 1-26, Academic Press, Nueva York, 1944-1972.
- Dickerson, R. E., y Geis, I.: *Proteins: Structure, Function and Evolution*, 2.ª ed., Benjamin/Cummings, California, 1983.
- IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN): «Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides», *Biochem. J.*, 219:345-373, 1984.
- Kaufman, S.: *Amino Acids in Health and Disease: New Perspectives*, Alan R. Liss, Nueva York, 1987.
- Neurath, H., y Hill, R. L.: *The Proteins*, 3.ª ed., vols. 1-4, Academic Press, Nueva York, 1975-1979.
- Schechter, A. N.; Dean, A., y Goldberger, R. F.: *Impact of Protein Chemistry on the Biomedical Sciences*, Academic Press, Orlando, 1984.

... como resto en el C α , es un aminoácido que incrementa la flexibilidad de la cadena proteica y permite el plegamiento de ésta sobre sí misma. Por esta razón es un aminoácido muy conservado en el proceso evolutivo. Por el

● **Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU**

● **Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)**

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Estructura de las proteínas

JOSÉ M. CUEZVA, JESÚS VÁZQUEZ
y FEDERICO MAYOR

El lenguaje de la vida se basa en el reconocimiento a escala molecular de distintas formas. El reconocimiento molecular, ilustrado por la clásica imagen de la llave y la cerradura, se ejerce mediante acoplamiento en el espacio de estructuras complementarias. La correspondencia conformacional entre la adenina y la timina y entre la citosina y la guanosina explica la reduplicación genética, la transcripción y la traducción o proteinogénesis. La correspondencia conformacional de las enzimas con sus sustratos y efectores, y de los receptores con sus agonistas y antagonistas da cuenta de todas las actividades celulares. En consecuencia, la disposición espacial de las proteínas es esencial para la interpretación de los acontecimientos fisiopatológicos.

CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS MONOMEROS

La secuencia definida de nucleótidos en los ácidos nucleicos determina, sobre la base del lenguaje universal del código genético, la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica. Desde el punto de vista estructural, esta secuencia de aminoácidos define un eje central, o esqueleto de las proteínas que resulta de la condensación de α -aminoácidos de la serie L por una unión de tipo amida que se repite sin ninguna variación. La diversidad informativa y funcional que existe entre las distintas proteínas viene impuesta por las cadenas laterales que definen a los distintos aminoácidos.

Desde el punto de vista evolutivo, cabe preguntarse por qué las proteínas están constituidas por α y no por β aminoácidos. La elección de los α -aminoácidos como monómeros estructurales de las proteínas se explica porque la presencia de otro carbono β con hibridación tetraédrica dentro del esqueleto proteico aumentaría excesivamente el contenido entrópico de la cadena e impediría el proceso de plegamiento espontáneo que tiene lugar durante o después de su síntesis en los ribosomas.

Entre las características estructurales de los monómeros cabe destacar las de la glicina, que, por tener H como resto en el $C\alpha$, es un aminoácido que incrementa la flexibilidad de la cadena proteica y permite el plegamiento de ésta sobre sí misma. Por esta razón es un aminoácido muy conservado en el proceso evolutivo. Por el

contrario, la prolina, α -iminoácido en el que el grupo R se encuentra enlazado tanto al $C\alpha$ como al grupo amino, es el aminoácido que más limitaciones estereoquímicas presenta, debido a que posee un único enlace con posibilidad de giro (ψ) y no es capaz de formar puentes de hidrógeno con el grupo $-NH-$. Por este motivo se encuentra casi siempre en zonas de *acodamientos* β y, por tanto, en la superficie de la proteína.

Los aminoácidos con ramificación en $C\beta$ (valina, leucina, isoleucina) contribuyen al plegamiento de la proteína al disminuir los grados de libertad de la cadena por impedimentos estéricos. La presencia en los aminoácidos fenilalanina, triptófano y tirosina de un grupo metileno entre el $C\alpha$ y el núcleo aromático impide los efectos estéricos de este grupo sobre el $C\alpha$, que forma parte del eje central de la proteína. Los aminoácidos serina, treonina, asparagina, glutamina y tirosina son importantes desde el punto de vista estructural por su capacidad para formar puentes de hidrógeno. La cisteína reúne la cualidad adicional de poder formar puentes disulfuro, única fuerza covalente implicada en el mantenimiento de la estructura de las proteínas.

Los aminoácidos con carga (aspártico, glutámico, lisina y arginina) se suelen encontrar en la superficie de la macromolécula, contribuyendo a la solubilidad de la misma en el medio acuoso. Junto con la histidina, dichos aminoácidos son los más frecuentes en los centros activos de las proteínas. La lisina y arginina sirven, además, de punto de reconocimiento en la proteína a distintas proteasas encargadas de su modificación, de su degradación o de ambos procesos.

Una de las propiedades más sobresalientes de los aminoácidos a la hora de formar la estructura de la proteína es la hidrofobicidad de sus cadenas laterales R. La hidrofobicidad de la cadena R de un aminoácido puede calcularse midiendo la variación de energía libre que comporta la transferencia del aminoácido desde agua a un disolvente orgánico, como el etanol o el dioxano, cuya polaridad es semejante a la del interior proteico. Esta magnitud termodinámica ($\Delta G_{\text{transferencia}}$)

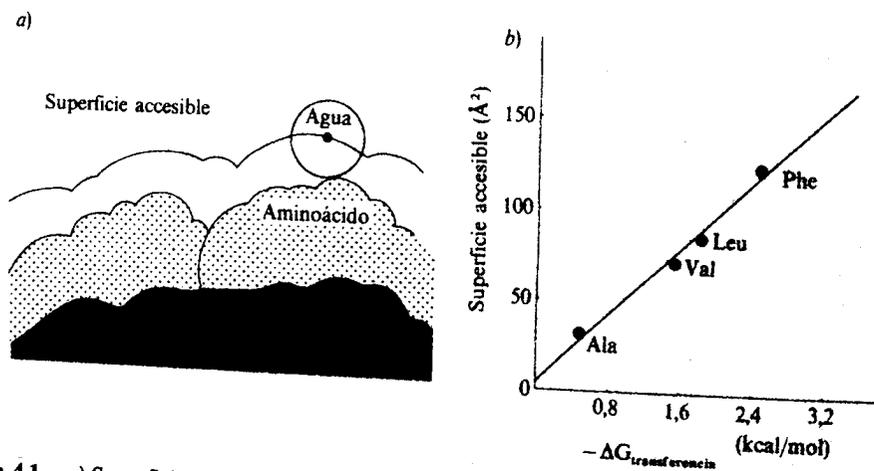


Figura 4.1. a) Superficie molecular accesible al agua. La superficie del aminoácido está definida por los radios de Van der Waals de los átomos de superficie (puntos). El interior del aminoácido se representa sombreado. Las moléculas de agua se consideran esferas de 1,4 Å de radio. La «superficie accesible» al agua se define como el área perimolecular de 1,4 Å de distancia, que describiría una molécula de agua al desplazarse sobre la envoltura de van der Waals de los átomos de superficie de la cadena lateral R del aminoácido. b) Relación lineal entre la variación de energía libre de transferencia del R de los aminoácidos desde el agua a un disolvente apolar con la superficie molecular accesible al agua.

es tanto más negativa cuanto mayor es la cadena alifática o aromática del aminoácido, existiendo una relación lineal entre esta magnitud y la denominada superficie molecular accesible al agua, que constituye un índice cuantitativo del tamaño de la cadena lateral R del aminoácido en cuestión (véase fig. 4.1).

Cada aminoácido tiene unas propiedades únicas y desempeña un determinado papel en una posición dada de la estructura proteica. Sin embargo, la permanente mutabilidad de los genes puede conducir al reemplazamiento de un aminoácido por otro en una misma proteína perteneciente a dos organismos de la misma especie. Este hecho puede no repercutir en la funcionalidad de las proteínas cuando existen analogías estructurales entre dichos aminoácidos. Según la frecuencia con que tienen lugar estas sustituciones, es posible definir cuatro grandes grupos que engloban aminoácidos semejantes entre sí:

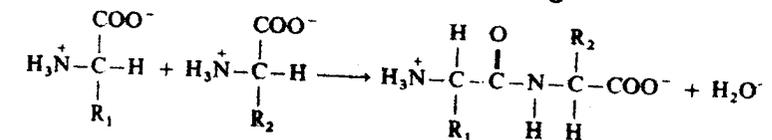
1. Aminoácidos aromáticos.
2. Aminoácidos con carga positiva.
3. Aminoácidos de cadena alifática larga.
4. Aminoácidos de cadena alifática corta.

Las características de estos grupos demuestran que, desde el punto de vista estructural, la propiedad más importante de un aminoácido es su «carácter general», ya sea la aromaticidad, la carga positiva o el tamaño de la cadena.

FORMACION DEL POLIMERO: EL ENLACE PEPTIDICO

Biosíntesis del enlace

Los polipéptidos y las proteínas se forman por condensación de aminoácidos en los ribosomas de las células. La polimerización se basa en la formación de enlaces amida entre el grupo α -amino de un aminoácido y el α -carboxilo de otro, con la consiguiente liberación de una molécula de agua:



El crecimiento de la cadena se realiza desde el extremo NH_3^+ terminal hacia el COO^- terminal.

La formación del enlace peptídico requiere la hidrólisis de cuatro enlaces ricos en energía procedentes del ATP y del GTP con una liberación de energía libre de ≈ 25 kcal/mol. Parte de esta energía se utiliza en la formación del enlace (≈ 5 kcal/mol), mientras el resto se emplea en la traducción del mRNA.

Resonancia, dimensiones y ángulos diédricos del enlace

La figura 4.2 describe las dimensiones del enlace peptídico elucidadas por Pauling mediante estudios de difracción de rayos X realizados en estructuras cristalinas de dipéptidos y tripéptidos. La distancia $C-N$ es un 10 por 100 más corta de la que habitualmente presenta este tipo de enlace, y la longitud del enlace $C=O$ es unos 0,02 Å mayor que la encontrada en aldehídos y cetonas típicos. Estas dos observaciones se explican por la estructura resonante del enlace peptídico, a la que contribuyen fundamentalmente las formas I y II (fig. 4.3).

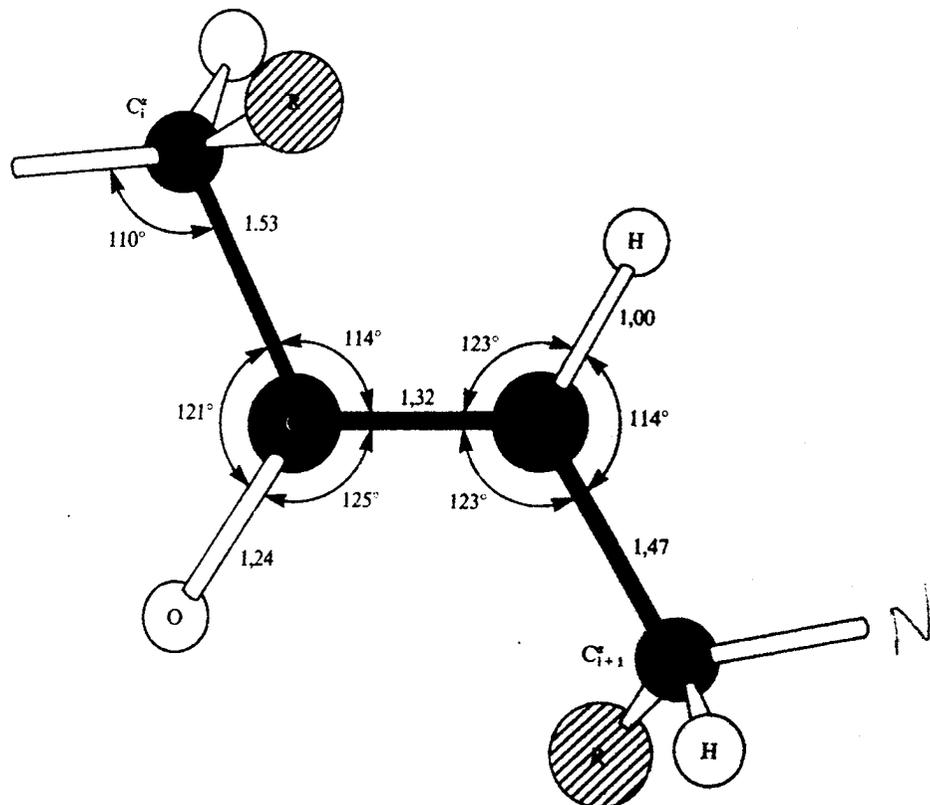


Figura 4.2. Dimensiones del enlace peptídico.

La estructura resonante I, cuyo enlace C-N es sencillo y de tipo σ , permite el giro alrededor de dicho enlace, pero la estructura resonante II, que contiene un enlace doble con electrones σ y π , impide la rotación del mismo. En la estructura que resulta de la hibridación entre las formas resonantes I y II, los electrones π están deslocalizados a lo largo de los enlaces C-O y C-N (fig. 4.4), y la rotación del enlace C-N está impedida. Por ello, los seis átomos de la figura 4.3 se hallan en el mismo plano.

De esta coplanaridad se desprende que las únicas libertades de giro se sitúan en los enlaces de los carbonos α , que así sirven de nexo de unión entre los distintos planos que componen el esqueleto de la proteína (fig. 4.5). Para cada uno de los $C\alpha$ se definen dos ángulos, ϕ (phi) y ψ (psi), que corresponden a la rotación de los enlaces $C\alpha_i-N_i$ y $C\alpha_i-C_i$, respectivamente. Si se conoce el valor de dichos ángulos para cada uno de los $C\alpha$, la disposición espacial de la cadena polipeptídica queda definida exactamente.

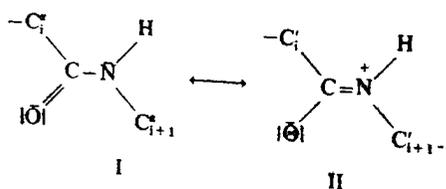


Figura 4.3. Estructura electrónica resonante del enlace peptídico.

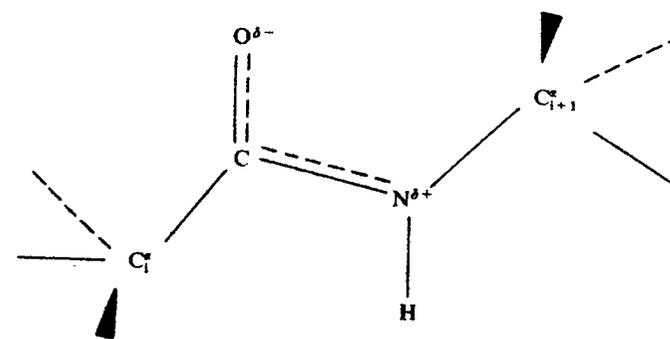


Figura 4.4. Estructura electrónica del enlace peptídico.

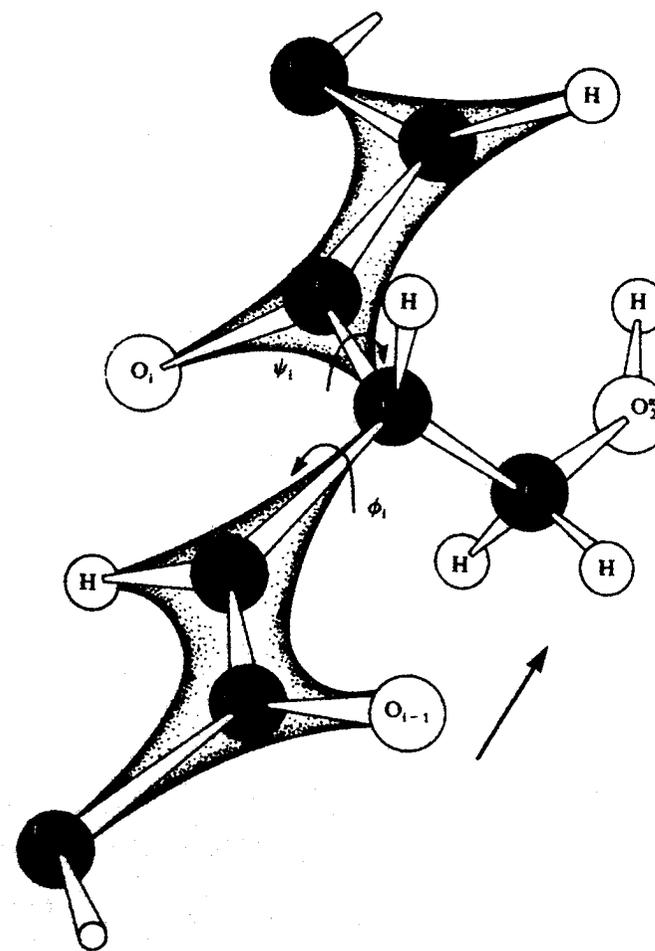


Figura 4.5. Ángulos diédricos ϕ y ψ . El valor cero de los ángulos se define (IUPAC-IUB, 1969; $\psi_i = 0^\circ$ para $C\alpha_i-N_i$ trans a C_i-O_i ; $\phi_i = 0^\circ$ para $C\alpha_i-C_i$ trans a N_i-H). En consecuencia, los dos planos de los enlaces peptídicos conectados por un $C\alpha$ son coplanares. El valor positivo del ángulo ϕ se establece, por convenio, cuando el giro del enlace $C\alpha_i-N_i$ se realiza en el sentido de giro de las agujas del reloj, estando el observador situado en C_i y mirando hacia el N_i . El valor positivo del ángulo ψ se establece cuando el giro del enlace $C\alpha_i-C_i$ se realiza en el sentido de giro de las agujas del reloj, estando el observador situado en $C\alpha_i$ y mirando hacia el C_i .

Configuración *trans* del enlace peptídico

La síntesis ribosómica de las cadenas peptídicas es estereoespecífica; produce sólo la configuración *trans* del enlace. Ello se debe a que los impedimentos estéricos entre los restos R de una cadena polipeptídica de configuración poli-*cis* sólo permitirían una conformación cuyos valores de ϕ y ψ se situarían en torno a -155° y $+105^\circ$, respectivamente. Sin embargo, se encuentran proteínas globulares con enlaces peptídicos *cis*, que se deben a una isomerización postransduccional a nivel de un único aminoácido, la prolina, en el que la barrera energética entre la configuración *cis* y *trans* es pequeña (≈ 2 kcal/mol). Este es el caso de la Pro-93 y la Pro-114 de la *ribonucleasa-S* Pro-168 de la *subtilisina* y de la Pro-116 de la nucleasa de *Staphylococcus*.

Impedimentos estéricos, conformación y plasticidad del enlace

El estudio de modelos moleculares sólidos de átomos hechos a escala de sus radios de Van der Waals ha permitido determinar qué valores de los ángulos ϕ y ψ están prohibidos a causa del impedimento estérico. Las representaciones gráficas de las regiones conformacionales permitidas se denominan representaciones de Ramachandran (fig. 4.6). De acuerdo con estos modelos, la conformación de la mayoría de los aminoácidos sólo existe en una pequeña región del espacio conformacional determinado por los ángulos ϕ y ψ , con la excepción de la glicina (fig. 4.6.a). Estas representaciones constituyen una buena aproximación a la conformación proteica observada experimentalmente, puesto que sólo un 5 por 100 de los aminoácidos con $C\beta$ adquieren conformaciones «prohibidas» (fig. 4.6.b). La comparación de las figuras 4.6.a y 4.6.b indica, por otro lado, que las conformaciones adoptadas con mayor frecuencia corresponden a la α -hélice y a la lámina β . Existe, además, una alta densidad de restos en una región teóricamente impedida por colisión de los átomos N_i y H_{i+1} ($\phi = 90^\circ$; $\psi = 0^\circ$). Este hecho demuestra una cierta plasticidad del enlace peptídico, pudiendo adoptarse conformaciones «prohibidas» cuando el impedimento estérico correspondiente se encuentra «relajado» (por ejemplo, mediante la formación de un puente de hidrógeno).

FUERZAS QUE DETERMINAN LA CONFORMACION ESPACIAL DE LAS PROTEINAS

Del estudio de los procesos de desnaturalización y renaturalización de las proteínas se desprenden dos conclusiones de gran importancia para el conocimiento de la conformación proteica. La primera es que su conformación espacial viene impuesta por la secuencia de los aminoácidos en la cadena. La segunda es que el proceso de plegamiento es energéticamente favorable, y que las fuerzas que lo gobiernan o controlan se encuentran circunscritas a la cadena polipeptídica y al medio acuoso en la que ésta se encuentra.

Fuerzas no covalentes que determinan la estructura proteica

Las fuerzas no covalentes son de una importancia trascendental para los seres vivos. No sólo constituyen las fuerzas que gobiernan mayoritariamente el proceso de plegamiento de las macromoléculas biológicas, tales como proteínas y ácidos

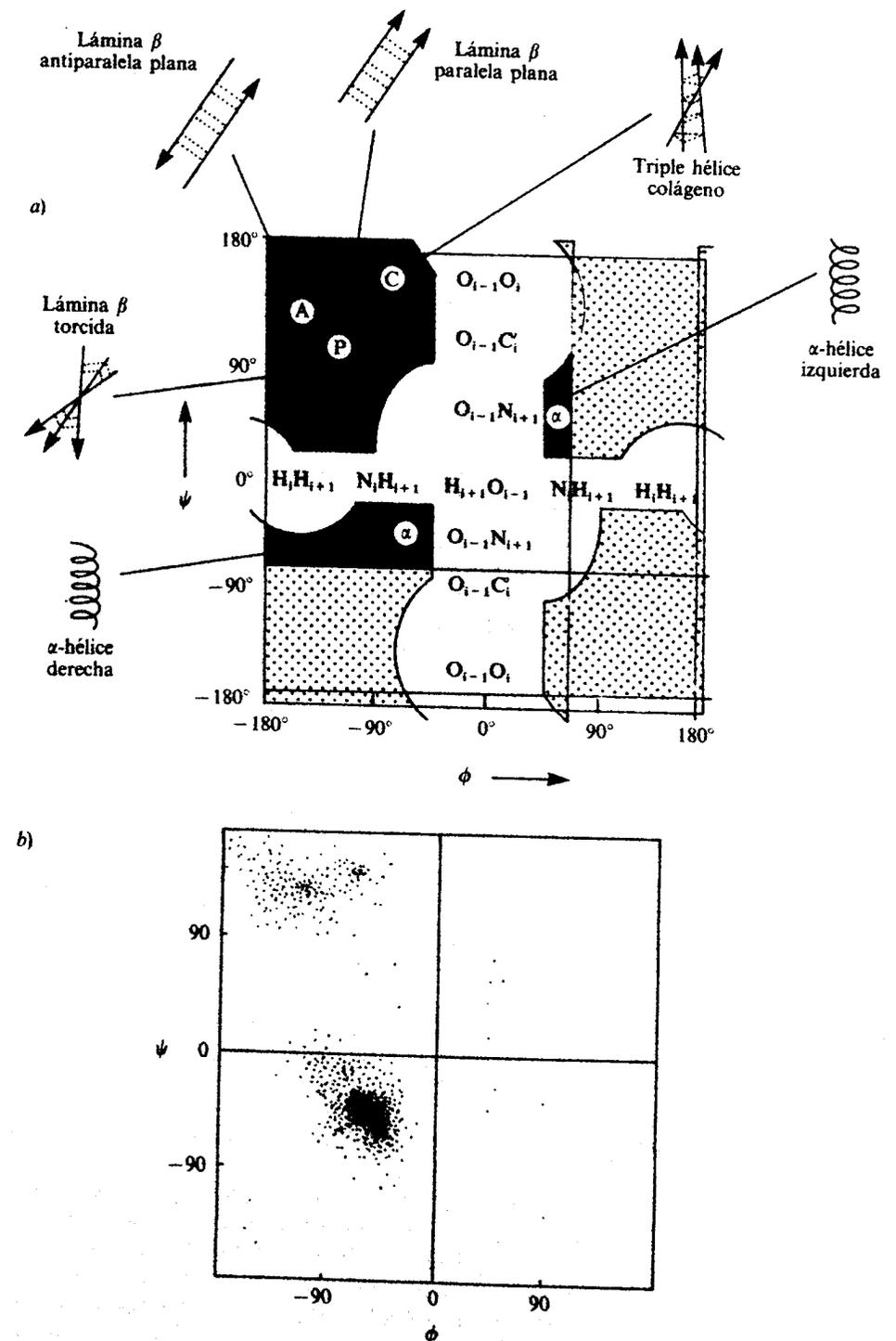


Figura 4.6. a) Representación de Ramachandran de las regiones conformacionales permitidas para los ángulos ϕ , ψ . Las regiones punteadas y sombreadas están permitidas para todo tipo de aminoácido. En los límites de la misma se indican los átomos que entrarían en contacto impidiendo esa conformación. La zona punteada representa las regiones conformacionales permitidas para la glicina. b) Valores experimentales de ϕ y ψ para 1.000 restos distintos de la glicina pertenecientes a ocho proteínas.

nucleicos, sino que también modulan el ensamblaje de las membranas y constituyen la expresión fisicoquímica del proceso de comunicación y reconocimiento molecular. Este tipo de fuerzas son de uno a tres órdenes de magnitud más débiles que las correspondientes al enlace covalente. Gran parte de la estabilidad de la conformación proteica viene impuesta, como veremos, por el entorno acuoso y se debe a fuerzas de naturaleza entrópica. La tabla 4.1 resume las cuatro fuerzas no covalentes de interés que concurren en el proceso de plegamiento de las proteínas.

Tabla 4.1

FUERZAS NO COVALENTES QUE DETERMINAN LA CONFORMACION PROTEICA

Tipo de fuerza	Tipo de interacción	Rango de interacción	Energía de interacción (kcal/mol)	$\Delta G_{transf.}$ agua \rightarrow etanol (kcal/mol)
Electrostática	carga-carga	1/R	-5	—
	carga-dipolo	1/R ²	—	—
	dipolo-dipolo	1/R ³	+0,3	—
Van der Waals	atractivas	1/R ⁶	-0,03	—
	repulsivas	1/R ¹²	—	—
P. de hidrógeno	en hielo	1/R ³	-4	—
	en proteínas	1/R ³	-3	—
Hidrofóbica o entrópica	R (fenilalanina)	—	—	-2,5
	R (triptófano)	—	—	-3,4
	R (tirosina)	—	—	-2,3

Fuerzas electrostáticas

Dentro de este grupo hay que considerar tres tipos de interacciones: carga-carga, carga-dipolo y dipolo-dipolo. Su magnitud relativa depende fundamentalmente de la distancia que separa los grupos que interaccionan (tabla 4.1). La magnitud de estas fuerzas también depende de la constante dieléctrica del medio, de forma que en el medio apolar del interior de la proteína la fuerza de atracción es mayor que en su superficie. Por lo general, las interacciones carga-carga entre las cadenas R de los aminoácidos no son tan importantes en el proceso de plegamiento como las interacciones carga-dipolo entre los restos R y las moléculas de agua. Por ello, las cargas de la proteína tienden a situarse en su superficie con objeto de estabilizar la macromolécula en el entorno acuoso.

Fuerzas de Van der Waals

Estas fuerzas dan lugar a dos tipos de interacciones: de atracción y de repulsión. Las primeras se deben a la interacción favorable entre los dipolos inducidos por fluctuaciones en la densidad de carga electrónica de dos átomos vecinos no enlazados. Las fuerzas de repulsión tienen lugar por la interacción desfavorable entre sus nubes electrónicas. Ambos tipos de fuerzas, a su vez, dependen considerablemente de la distancia que separa los grupos interaccionantes (Tabla 4.1).

Puentes de hidrógeno

La naturaleza de estas fuerzas puede suponerse fundamentalmente electrostática. El enlace de hidrógeno tiene lugar entre un hidrógeno unido a un átomo

muy electronegativo como el nitrógeno, y otro átomo de carácter también altamente electronegativo, como el oxígeno, debido a la interacción entre los dipolos formados (fig. 4.7). La energía de enlace del puente de hidrógeno es superior a la de las fuerzas de Van der Waals, pero todavía muy inferior a la del enlace covalente.

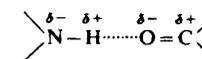


Figura 4.7. Alineación de los dos dipolos que constituyen el enlace por puente de hidrógeno.

La distancia entre átomos enlazados por puentes de hidrógeno en el interior de una proteína es un 10-25 por 100 mayor que la que existe entre dos moléculas de agua. Las limitaciones de tipo geométrico a la hora de formar estos enlaces entre dos grupos del esqueleto proteico impiden, por otro lado, que los dos dipolos se hallen perfectamente alineados, que es la situación de máxima energía de enlace. Estos dos factores explican las diferentes energías de enlace que se observan entre moléculas de agua y entre átomos enlazados por puentes de hidrógeno en el interior de una proteína (tabla 4.1).

Desde el punto de vista estructural, las proteínas siguen la estrategia de establecer el máximo número posible de puentes de hidrógeno intramoleculares entre los átomos componentes de sus enlaces peptídicos, y de mantener en su superficie el máximo número de grupos R con posibilidad de formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua.

Fuerzas entrópicas y plegamiento proteico

La conformación de una proteína y su estabilidad no dependen únicamente del equilibrio energético de las fuerzas intramoleculares de enlace. En términos generales, puede decirse que la transición entre una proteína arrollada al azar (desordenada y afuncional, *estado D*) y una proteína en configuración nativa (ordenada y funcional, *estado N*) tendrá lugar si la variación de energía libre de Gibbs ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S_{prot} - T\Delta S_{agua}$) del sistema proteína-medio acuoso es negativa. La formación de puentes de hidrógeno y las interacciones electrostáticas y de Van der Waals favorecen la transición $D \rightarrow N$ (ΔH es negativo). No obstante, el estado N, más ordenado, posee una menor entropía que el estado D, y este cambio entrópico desfavorable ($-T\Delta S_{prot}$ es positivo) tiende a compensar la aportación favorable de las fuerzas de enlace. El término que realmente rige el proceso es el cambio de entropía experimentado por las moléculas de agua al interaccionar con la proteína. La proteína arrollada al azar presenta una extensa superficie de contacto con el medio acuoso, quedando las moléculas de agua ordenadas alrededor de dicha interfase. Por ello, el contenido entrópico del agua en el estado D es considerablemente menor que en el estado N ($-T\Delta S_{agua}$ es muy negativo), y por ello ΔG es negativo.

En otras palabras, la proteína tiende a formar un núcleo hidrofóbico interior para minimizar el contacto con el medio acuoso exterior, favoreciéndose la transición $D \rightarrow N$. Estas fuerzas que gobiernan el proceso de plegamiento se denominan fuerzas hidrofóbicas o entrópicas.

La capacidad de ordenar las moléculas de agua y la interacción con las mismas dependen de la naturaleza de cada una de las cadenas laterales R. La magnitud de $\Delta G_{transferencia}$ que depende de su superficie molecular accesible al

agua, evalúa la tendencia de un resto a situarse en el interior hidrofóbico de la proteína. Así, este proceso es energéticamente muy desfavorable ($\Delta G_{\text{transferencia}} \approx 10$ kcal/mol) para los aminoácidos que poseen carga (aspártico, glutámico, lisina, arginina). Por ello, los restos de dichos aminoácidos tienden a «anclarse» en la superficie de la proteína, dirigiendo en cierta medida su proceso de plegamiento. En el caso de los grupos polares, su inclusión desfavorable en el interior de la proteína suele compensarse con la formación favorable de puentes de hidrógeno. De hecho, se ha comprobado que un 90 por 100 de los grupos polares internos se hallan formando enlaces de hidrógeno intramoleculares.

Fuerzas covalentes implicadas en la estructura de las proteínas

El único tipo de fuerza covalente implicado en la conformación de las proteínas es el *punteo disulfuro* (S-S) que se establece entre restos de cisteína de una misma cadena o bien entre cadenas proteicas distintas. Su formación *in vivo* es un proceso catalizado por una enzima de membrana que actúa con la cistamina oxidada como sustrato. Aunque los puentes disulfuro no están implicados en la dirección del proceso de plegamiento de la cadena polipeptídica, son a menudo esenciales para el mantenimiento de su estructura nativa. Con frecuencia, los puentes disulfuro aparecen próximos a los plegamientos β (fig. 4.21d, tipo IV). Por regla general, los restos de cisteína de las cadenas polipeptídicas se han conservado mucho en la evolución, tendiendo a mantenerse el número máximo posible de puentes disulfuro, lo que pone de manifiesto la importancia de los mismos en la estabilización de la estructura terciaria.

La abundancia de puentes disulfuro en proteínas como las hormonas peptídicas, las enzimas digestivas o las inmunoglobulinas, les confiere la estabilidad necesaria para que puedan ejercer su función en el medio extracelular. Además, los puentes disulfuro proporcionan a diversas proteínas, como las α -queratinas, muchas de sus propiedades elásticas características. Por el contrario, aquellas proteínas que no abandonan el medio celular suelen tener pocos puentes disulfuro, y normalmente éstos se encuentran más implicados en la función de la proteína que en el mantenimiento de su estructura nativa.

ELEMENTOS ESTRUCTURALES EN LA CONFORMACION DE LAS PROTEINAS

Para abordar el estudio de los elementos que definen la conformación proteica es necesario, como paso previo, establecer los distintos niveles de organización estructural en los que van a ser incluidos. Si bien durante la década pasada se consideraban cuatro niveles de organización estructural de las proteínas, los conocimientos actuales aconsejan introducir dos niveles adicionales. Los seis niveles a los que nos referimos son: *la estructura primaria*, que constituye la secuencia de aminoácidos; *la estructura secundaria*, que es la disposición regular del esqueleto polipeptídico (también llamada grupo lineal); *las estructuras supersecundarias*, que son agregados físicos preferenciales de estructuras secundarias; *los dominios estructurales*, que son partes de la proteína con regiones globulares bien diferenciadas; *la estructura terciaria*, que corresponde a la estructura tridimensional de la proteína globular y, finalmente, *la estructura cuaternaria o agregados proteicos*, que corresponde al nivel de máxima complejidad estructural y resulta de la asociación de proteínas globulares para formar agregados.

Como se ha descrito en el apartado anterior, el proceso de renaturalización demuestra que la secuencia de aminoácidos contiene toda la información relativa a la organización tridimensional de la proteína, lo que indica que los distintos niveles de organización estructural son dependientes unos de otros, y que los elementos que se encuentran a nivel más bajo de la jerarquía estructural determinan los de nivel superior.

Estructura primaria: la secuencia de aminoácidos

Como se ha dicho, la estructura primaria se refiere exclusivamente a la secuencia de aminoácidos que componen la proteína. Aunque esta estructura no hace referencia a su conformación espacial, toda la información referente a la proteína nativa se encuentra en ella y, en consecuencia, la elucidación de la secuencia es paso indispensable para concretar la base estructural de su función biológica.

El estudio comparativo de las secuencias de aminoácidos de diversas proteínas ha permitido profundizar considerablemente en el conocimiento de su estructura y funcionalidad. Así, por ejemplo, las semejanzas en la secuencia permiten la clasificación de las proteínas de acuerdo con sus propiedades y mecanismos de acción. Determinadas pautas en la secuencia de aminoácidos permiten, por otra parte, predecir la existencia de elementos estructurales concretos (α -hélices, láminas β , ...) en la estructura tridimensional de la proteína.

La determinación de la secuencia de aminoácidos se lleva a cabo de manera automatizada en los secuenciadores de proteínas. El procedimiento se basa en la *degradación de Edman*, en la que el extremo amino de la cadena es separado sin afectar al resto de la cadena polipeptídica. El aminoácido liberado se identifica por medio de cromatografía líquida de alta resolución, y el ciclo se repite sucesivamente. En la práctica, este método sólo es factible para polipéptidos de menos de 50 aminoácidos. Por ello, la proteína nativa se fracciona en polipéptidos pequeños mediante métodos químicos o enzimáticos, éstos se separan y se secuencian, y la secuencia total se reconstruye a partir de las secuencias parciales.

Otro método de extrema utilidad para la determinación de la estructura primaria de las proteínas consiste en determinar la secuencia de bases del DNA del gen que codifica dichas proteínas, o la de su correspondiente RNA mensajero (RNAm). No obstante, la secuencia obtenida no revela las modificaciones que las proteínas puedan sufrir postraduccionalmente.

Estructuras secundarias o grupos lineales

Se refieren a la disposición regular de determinadas zonas del esqueleto de la cadena polipeptídica sin considerar las cadenas laterales R de los aminoácidos. Este nivel estructural se encuentra estabilizado por puentes de hidrógeno entre los grupos amida y carbonilo del enlace peptídico. Si la regularidad es tal que sucesivas uniones peptídicas asumen orientaciones idénticas, esto es, los ángulos ϕ y ψ son los mismos para cada resto, el esqueleto de la cadena polipeptídica forma un grupo lineal o hélice. Los grupos lineales que se pueden encontrar dentro de la estructura secundaria de proteínas están definidos en la tabla 4.2.

Cada hélice queda definida por los tres parámetros siguientes: n , el número de restos por cada vuelta de hélice; d , la altura ganada por el paso de un resto al siguiente, y r , la distancia entre el $C\alpha$ y el eje de la hélice (fig. 4.8). Además, las hélices pueden tener dos sentidos de enrollamiento. En uno de ellos,

Tabla 4.2

GRUPOS LINEALES FORMADOS POR CADENAS POLIPEPTIDICAS

Grupo lineal	Frecuencia	Número de restos por vuelta de hélice (n)	Altura por cada resto (d)	Radio de la hélice (Å)
Lámina β paralela plana	Rara	$\pm 2,0$	3,2	1,1
Lámina β antiparalela plana	Rara	$\pm 2,0$	3,4	0,9
Lámina β paralela y antiparalela torcida	Abundante	-2,3	3,3	1,0
Hélice 3_{10}	Pequeños fragmentos	+3,0	2,0	1,0
α -hélice	Abundante	+3,6	1,5	2,3
Hélice del colágeno	En fibras	-3,3	2,9	1,6

El signo + o - corresponde a giros a derecha o izquierda de la hélice que se considera.

la hélice describe un giro en el sentido de las agujas del reloj a medida que avanza la cadena, denominándose *a derechas*. En el otro, correspondiente a la imagen especular del primero, la hélice describe un giro en el sentido contrario de las agujas del reloj, y se denomina *a izquierdas*.

 α -hélices

La α -hélice a derechas es la más abundante en las proteínas globulares. Su conformación es muy estable y corresponde a una posición central de una de las regiones permitidas del mapa $\phi - \psi$ (fig. 4.6). La α -hélice se encuentra estabilizada por la existencia de puentes de hidrógeno entre el grupo carbonilo y el grupo amida del enlace peptídico de los restos i e $i+4$, respectivamente (fig. 4.9). La

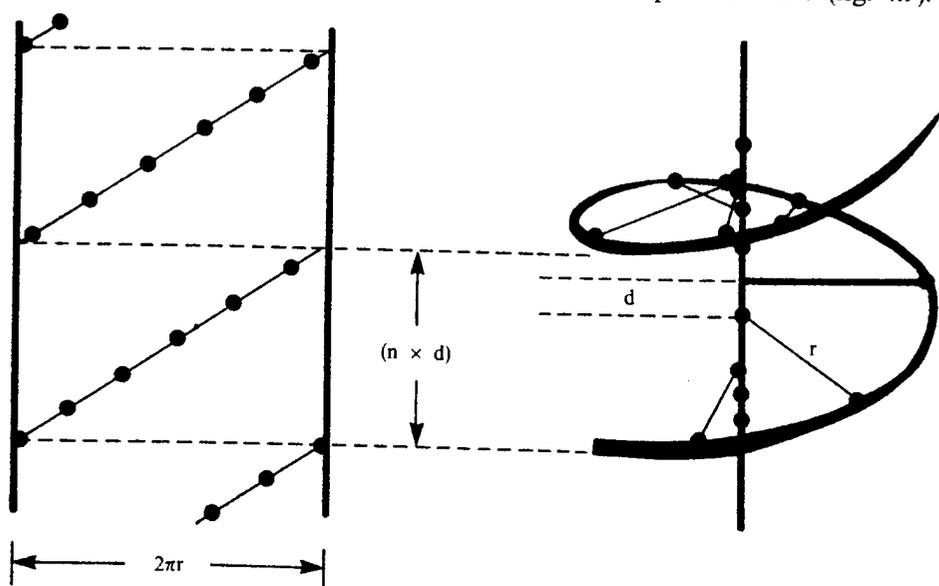


Figura 4.8. Parámetros que definen un grupo lineal o hélice y representación coaxial por proyección de los restos R del mismo. La representación coaxial permite ver el grado de empaquetamiento del grupo lineal.

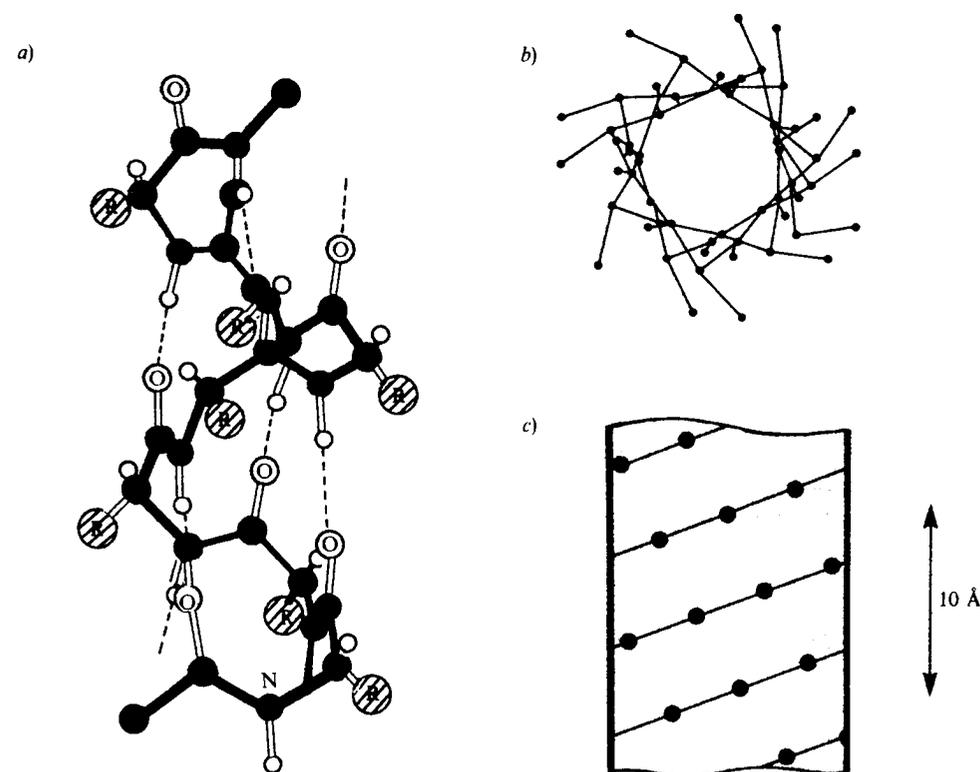


Figura 4.9. a) α -hélice. b) Vista transversal de la hélice. c) Representación coaxial de los restos R de la α -hélice.

estabilidad de la hélice se debe a que los dipolos que intervienen en la formación del puente de hidrógeno se encuentran prácticamente alineados, y a que el radio de la hélice permite atracciones de Van der Waals entre los átomos a través de su eje.

La frecuencia de aparición de α -hélices en proteínas globulares es muy alta, y la longitud más frecuente de la misma es de 17 Å, que supone aproximadamente 11 restos o, lo que es lo mismo, 3 vueltas de hélice. El plegamiento de las α -hélices sobre sí mismas, encontrado en muchas proteínas globulares, se logra por incorporación de prolinas en los puntos de plegamiento, lo que origina un empaquetamiento de α -hélices en un ángulo aproximado de 20° .

Una propiedad muy importante que se deriva de la regularidad conformacional de la α -hélice, y que es extensiva a otros grupos lineales, es la existencia de *cooperatividad* en el proceso de plegamiento. Esto es, una vez que se ha formado el primer paso de la hélice, la entrada de nuevos restos en este tipo de conformación se ve muy favorecida, porque el paso de hélice existente actúa como molde sobre el que se sigue construyendo la α -hélice.

Un ejemplo de proteínas que adoptan este tipo de estructura secundaria son las α -queratinas, constituyentes proteicos mayoritarios de pelos, escamas, cuernos, lana y uñas. En el caso de las α -queratinas del pelo y de la lana, se asocian α -hélices muy largas de 3 en 3, formando fibras. En muchos casos, este empaquetamiento se encuentra estabilizado por la formación de puentes disulfuro entre cisteínas pertenecientes a las distintas α -hélices que se asocian.

Hélices 3_{10}

Denominadas así porque contienen 3 restos por vuelta de hélice y 10 átomos encerrados en el anillo (fig. 4.10). Su estabilidad se debe a la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo carbonilo y el grupo amida del enlace peptídico de los restos i e $i+3$, respectivamente.

Su frecuencia es pequeña comparada con la de las α -hélices porque presentan un empaquetamiento azimutal de las cadenas laterales R (fig. 4.10b) menos favorable que el empaquetamiento alternante que se observa en las α -hélices (fig. 4.9c). Además, los puentes de hidrógeno en este tipo de estructura secundaria no se encuentran perfectamente alineados, con lo que su energía de enlace es menor. Se suele observar este tipo de estructura en las cercanías de los extremos amino y carboxilo de las α -hélices y, normalmente, no suelen tener más de un paso de hélice.

Tanto las α -hélices como las hélices 3_{10} tienen, desde el punto de vista del esqueleto polipeptídico, una imagen especular. Sin embargo, las interacciones de las cadenas laterales R impiden en ambos casos hélices a izquierdas, por lo que éstas no se encuentran en la naturaleza.

Hélice del colágeno

Se incluye en este apartado por ser una de las proteínas más abundantes de la naturaleza y por tener una estructura que no se encuentra en otras proteínas. La fibra de colágeno es una hélice a izquierdas que tiene como elemento del grupo lineal un triplete, es decir, los ángulos ϕ y ψ son idénticos cada tres restos. Al tener una altura entre restos muy grande (2,9 Å, tabla 4.2), las fibras individuales no son estables y se agregan de 3 en 3 para formar una superhélice con arrollamiento a

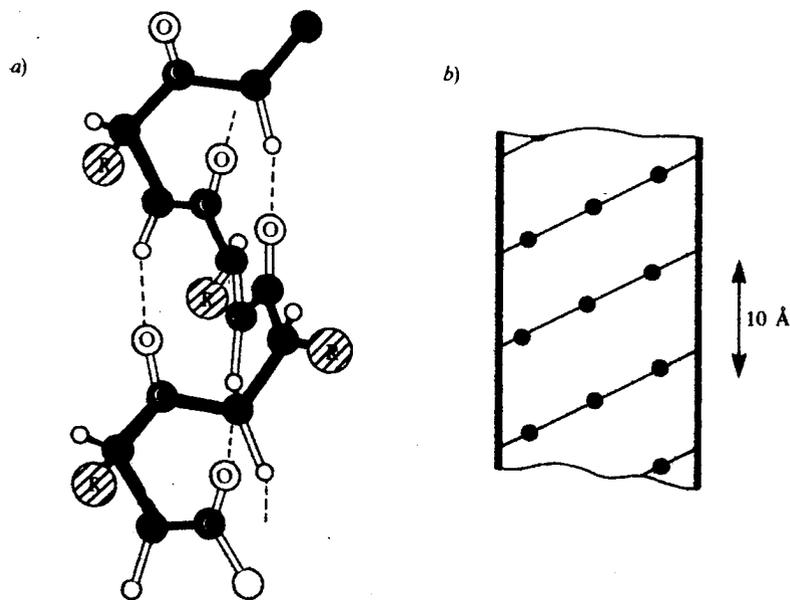


Figura 4.10. a) Hélice 3_{10} . b) Representación coaxial de los restos R de la hélice. Obsérvese el empaquetamiento azimutal de restos frente al de la figura 4.9c.

derechas. Esta agregación se favorece por la alta frecuencia de glicina en su secuencia polipeptídica. De hecho, la secuencia $(\text{gly-X-Y})_m$ supone el 96 por 100 del colágeno, siendo normalmente X e Y prolina e hidroxiprolina, respectivamente. En esta disposición el $\text{C}\alpha$ de cada glicina se dispone hacia el espacio situado entre las tres cadenas, lo que permite su aproximación al haber pocos impedimentos estéricos. La formación de tres puentes de hidrógeno intercatenarios entre los hidrógenos amídicos de los restos de glicina de una cadena y el oxígeno carbonílico, normalmente de la prolina, en posición X del triple (gly-X-Y) de otra cadena, estabiliza la superhélice (fig. 4.11). Además, las fibras se mantienen unidas por fuerzas de Van der Waals. Una vuelta de superhélice contiene 10 tripletes por cada fibra.

La presencia de 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina en la estructura primaria del colágeno es el resultado de la modificación postraduccional de restos de prolina y lisina de la proteína por la acción de las enzimas *prolil hidroxilasa* y *lisil hidroxilasa*, respectivamente. Estas enzimas requieren del ácido ascórbico (vitamina C). En situaciones de deficiencia en dicha vitamina, no se produce la hidroxilación de estos aminoácidos, lo que trae consigo un mal ensamblaje de las fibras de colágeno. El grupo hidroxilo de los restos de 4-hidroxiprolina participa, mediante la formación de puentes de hidrógeno intercatenarios, en el mantenimiento de la estructura de la superhélice. Por otro lado, el grupo hidroxilo de algunos restos de 5-hidroxilisina del colágeno se encuentra *glicosilados*, fundamentalmente por el disacárido α -D-glucosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactosa. La unión covalente entre el disacárido y el hidroxilo de la 5-hidroxilisina se realiza por un enlace β -glicosídico. La glicosilación del colágeno es también una modificación postraduccional de la proteína que se realiza por la acción sucesiva de dos enzimas, una *galactosil transferasa* y una *glucosil transferasa*.

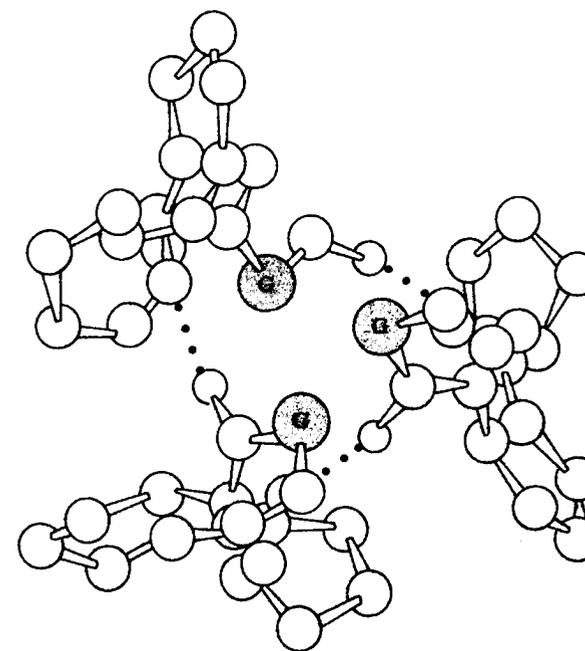


Figura 4.11. Vista transversal de la superhélice de colágeno. Obsérvese que el aminoácido glicina (G) aparece siempre en la parte más interna de la hélice.

La superhélice del colágeno, así como la asociación de superhélices que forman las fibras del colágeno, presentan, además, la particularidad de tener enlaces covalentes cruzados, lo que aumenta grandemente su resistencia y estabilidad. Estos enlaces se forman entre restos de lisina y de allisina de la secuencia. La allisina es el aldehído derivado que resulta de la oxidación postraduccional del grupo ϵ -amino de la lisina mediante la acción de la *lisil oxidasa*. La unión covalente por base de Schiff se establece entre el grupo carbonilo de la allisina y el ϵ -amino de otra lisina adyacente.

Lámina β

Otro tipo de estructura secundaria que pueden adoptar las cadenas polipeptídicas cuando se encuentran muy extendidas es el de *lámina β* . Este tipo de estructura permite la asociación de dos o más cadenas dispuestas una al lado de la otra, que logran su estabilidad mediante puentes de hidrógeno entre los grupos amida y carbonilo del enlace peptídico entre cadenas adyacentes. Cada cadena constituye un grupo lineal, es decir, todos los ángulos ϕ y ψ son idénticos (fig. 4.6), siendo un resto el elemento del grupo (tabla 4.2).

La figura 4.12 representa los dos tipos de lámina β que se observan en proteínas. Se denomina *lámina β paralela* cuando la polaridad de las cadenas polipeptídicas que se asocian en esta estructura es la misma, es decir, los extremos amino y carboxilo de cada cadena tienen el mismo sentido. La disposición de las cadenas puede ser alternante y entonces se denominan *láminas β antiparalelas*. En este tipo de estructura secundaria, los restos de los distintos aminoácidos de cada cadena polipeptídica quedan perpendiculares al plano que define la lámina de forma alternante por encima y por debajo de ésta.

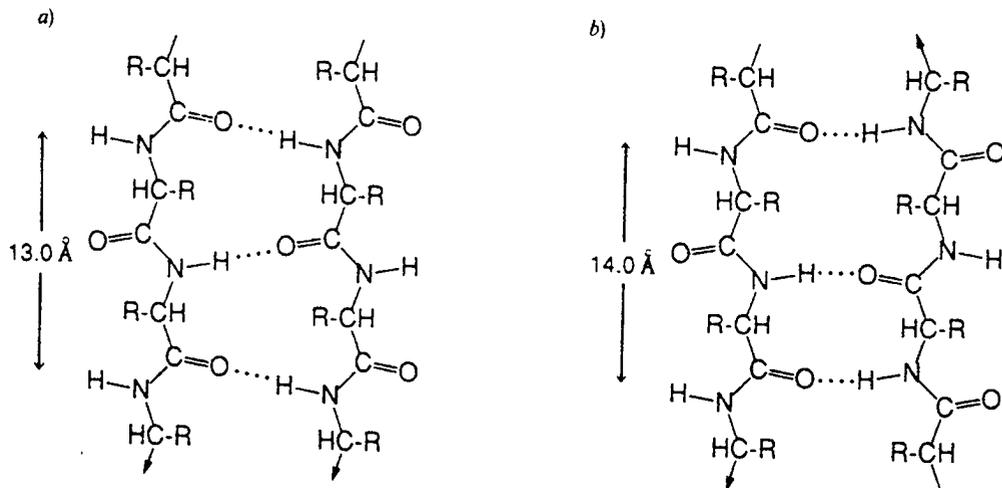


Figura 4.12. Estructuras en lámina β . a) Lámina β paralela. b) lámina β antiparalela. Las flechas indican el sentido amino \rightarrow carboxilo de cada cadena.

Las β -queratinas y la *fibroína* de la seda son dos ejemplos de proteínas fibrosas que adoptan la conformación de lámina β . La fibroína está formada por empaquetamientos de láminas β antiparalelas que pueden apilarse gracias a que la secuencia gly-ala-gly-ala-gly-ser... de sus cadenas dispone a los restos de glicina, poco voluminosos, a un lado de la lámina, permitiendo la aproximación de otra lámina por el lado en el que se encuentran los restos de los aminoácidos más voluminosos como alanina y serina.

Sin embargo, esta estructura secundaria no es exclusiva de proteínas fibrosas, y supone hasta un 15 por 100 de la estructura terciaria de una proteína globular. El número de restos más frecuente por cada grupo lineal es de 5-7, y el de grupos lineales que se asocian para formar una lámina no suele ser superior a 6.

La mayoría de las estructuras en lámina β no son exactamente planas (tabla 4.2). Presentan un giro a izquierdas cuando se las observa por el plano perpendicular al de la lámina (véase fig. 4.13), lo cual es el resultado de la disposición en un ángulo de 25° de los distintos grupos lineales que constituyen la lámina β .

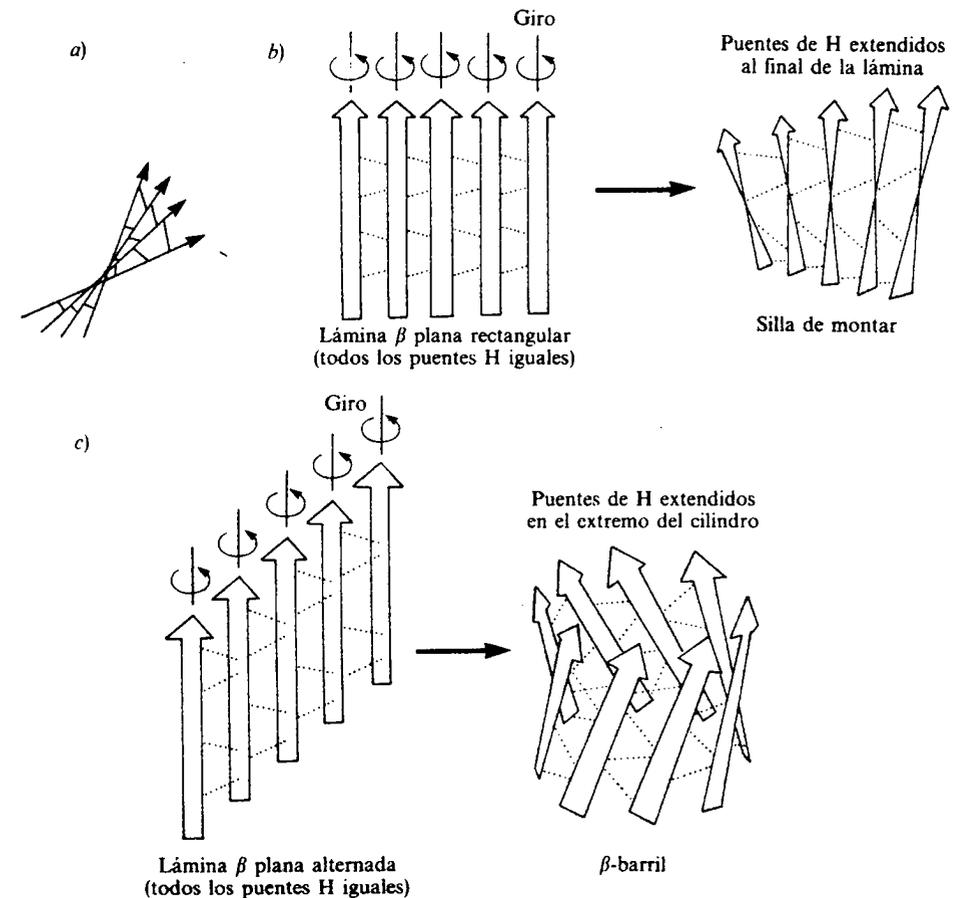


Figura 4.13. a) Torsión a izquierdas de la lámina β . b) Silla de montar. c) β -barril.

Esta disposición de las láminas β paralelas conduce a dos tipos de estructuras que se observan con frecuencia en el esqueleto de los dominios de muchas proteínas (fig. 4.20.b y c, fig. 4.21.b, tipo II). Son las denominadas *silla de montar* y β -barril (fig. 4.13). Puesto que cada grupo lineal presenta una torsión a derechas, mirando en el sentido de progresión del grupo, esta disposición de las láminas β paralelas resulta de la torsión de cada grupo lineal y del mantenimiento de un número adecuado de puentes de hidrógeno entre ellos (fig. 4.13). Así, en la *silla de montar*, la torsión de los grupos lineales que la integran impone que los puentes de hidrógeno entre los mismos se extiendan a los extremos de la lámina. Para el β -barril, los grupos lineales de la lámina β paralela se encuentran alternados y la formación del barril se logra con una extensión similar de los puentes de hidrógeno intercatenarios en el extremo del barril (fig. 4.13). Tanto la silla de montar como el β -barril determinan dos tipos distintos de plegamiento del dominio en el que se encuentran. Así, la silla de montar impone un doble arrollamiento de la cadena polipeptídica (fig. 4.21.b, tipo II) y el β -barril un arrollamiento sencillo (fig. 4.21.b, tipo II), puesto que en el núcleo del barril únicamente queda espacio para alojar a los restos de los aminoácidos que lo componen, impidiéndose el paso de la cadena polipeptídica por el centro del mismo.

Cuando se produce una agregación de láminas β antiparalelas, éstas suelen asociarse para formar un dominio de tipo III (fig. 4.21.c) en el que las conexiones entre los grupos lineales que componen cada lámina se hacen alternativamente de lámina β a lámina β , pasando por encima o por debajo del barril que forman (unión que se denomina en «llave griega») y no de forma consecutiva entre los grupos lineales de cada lámina.

Acodamientos β

La conformación espacial de las proteínas globulares requiere cambios en el sentido de progresión de su estructura secundaria con objeto de alcanzar el grado de empaquetamiento característico de su estructura nativa. Estos cambios de sentido se logran con los *acodamientos β* , que se realizan merced a la formación de un puente de hidrógeno entre el grupo carbonilo del aminoácido i y el grupo amida del aminoácido $i+3$ (fig. 4.14).

Hay tres tipos fundamentales de acodamientos β : el tipo I, que es el más frecuente (35 por 100) (fig. 4.14) y que constituye una hélice 3_{10} distorsionada; el tipo II (15 por 100) (fig. 4.14), en el que se hace necesaria la presencia de glicina en posición $i+2$ con objeto de evitar el impedimento estérico entre O_{i+1} y R_{i+2} ; y el tipo III (15 por 100), que es un tramo de hélice 3_{10} (fig. 4.10). La frecuencia de aparición de acodamientos que no se ajustan a estos tres tipos es del 25 por 100, teniendo las imágenes especulares del tipo I, II y III una frecuencia del 10 por 100.

Estructuras supersecundarias

El siguiente nivel de complejidad estructural en la conformación proteica lo constituyen los agregados físicos preferenciales de estructuras secundarias llamadas *estructuras supersecundarias*. Su alta frecuencia de aparición se debe a que son estructuras favorecidas por razones cinéticas durante el proceso de plegamiento, por razones energéticas en la proteína plegada, o por los dos tipos de motivos.

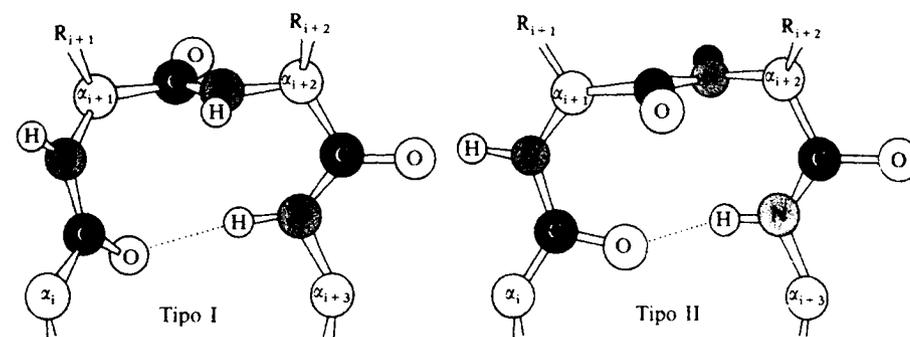


Figura 4.14. Tipos I y II de acodamientos β en la estructura proteica.

Doble espiral de α -hélices (*coiled-coil α -hélix*)

Esta estructura se encuentra en proteínas fibrosas con alto contenido en α -hélice (α -queratinas). Son dos α -hélices que se enrollan entre sí para dar una superhélice a izquierdas con una distancia de repetición de 140 Å. El ángulo entre los ejes de las dos hélices es de 10° y la unidad de repetición es un heptapéptido, puesto que cada siete aminoácidos se obtiene una posición equivalente en la superhélice (fig. 4.15).

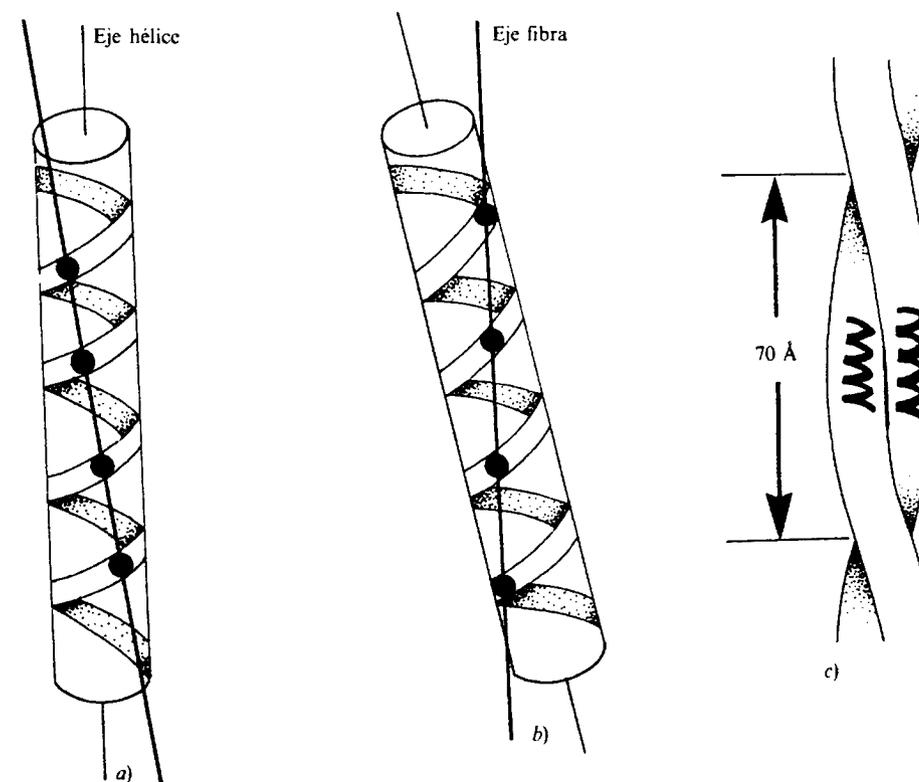


Figura 4.15. El empaquetamiento de dos hélices se logra (c) cuando las hélices que se asocian lo hacen con un ángulo $\approx 10^\circ$ (a y b).

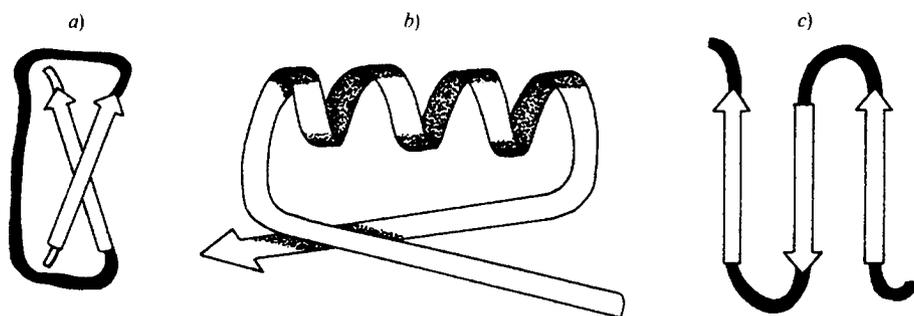


Figura 4.16. La unidad $\beta\xi\beta$. a) Unión a derechas entre dos láminas β paralelas ($\beta c\beta$). b) Unión a derechas $\beta\alpha\beta$. c) Meandros β .

Es una estructura energéticamente muy favorable porque permite un buen entramado de las cadenas laterales de los aminoácidos en contacto entre las dos hélices, aumentando su estabilidad de forma considerable por fuerzas de atracción de Van der Waals entre sus átomos. Si, además, los aminoácidos de contacto entre hélices son hidrofóbicos, la superhélice adquiere una estabilidad adicional a causa de las fuerzas entrópicas.

Unidad $\beta\xi\beta$

Es una estructura supersecundaria que define de forma genérica la estructura que resulta al unirse grupos lineales de lámina β paralelos por un segmento ξ . Si el segmento de conexión no es regular, se le denomina $\beta c\beta$; si es una α -hélice, $\beta\alpha\beta$, y si es otra lámina β , $\beta\beta\beta$ (fig. 4.16). Este último caso también se conoce como *meandros β* .

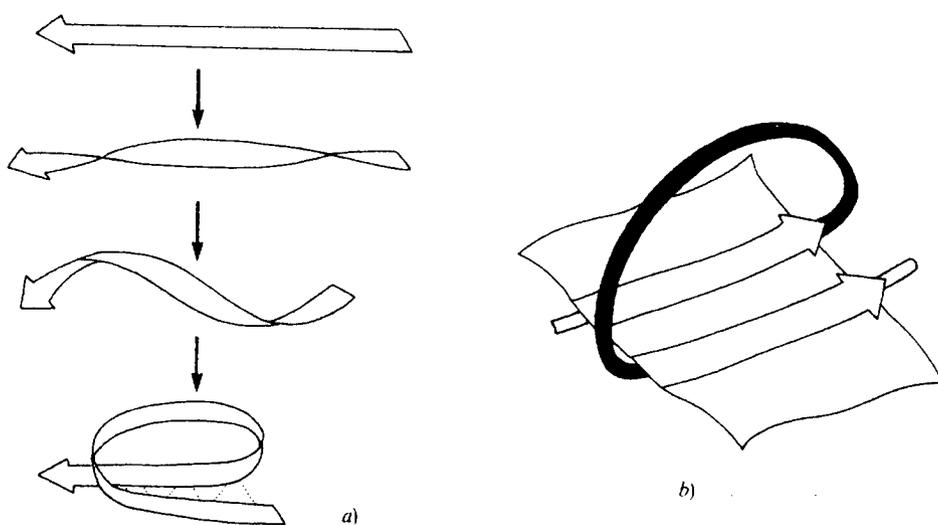


Figura 4.17. a) La conexión a derechas entre dos grupos lineales es el resultado de la torsión a derechas de las cadenas polipeptídicas. b) Unidad $\beta\xi\beta$ con cruce a derechas para dos láminas β paralelas.

Los estudios sobre la energía conformacional de estas cadenas polipeptídicas demuestran que dichas cadenas adoptan un cierto giro a derechas cuando se miran desde arriba a lo largo del eje del grupo lineal. Al estar constituidas por monómeros quirales, la conexión ξ entre dos láminas β paralelas es siempre a derechas (figs. 4.17 y 4.18), puesto que con este tipo de unión se relaja la torsión a derechas del propio grupo lineal de conexión (fig. 4.17).

La conexión de dos láminas β antiparalelas se logra mediante la denominada *unión de horquilla*, en la que el tramo de conexión se encuentra en el mismo lado del plano que la lámina β (fig. 4.18). Los *meandros β* resultan de la unión por horquilla de tres láminas β antiparalelas (fig. 4.16).

El *plegamiento de Rossmann* es un caso especial de la unidad $\beta\xi\beta$, pues consiste en dos unidades $\beta\alpha\beta$ adyacentes ($\beta\alpha\beta\alpha\beta$) (fig. 4.18). Su clasificación dentro de este epígrafe responde a características pedagógicas, por cuanto se le considera un dominio estructural independiente, que se encuentra en muchas enzimas con funciones y estructuras terciarias muy dispares. Este plegamiento consta de aproximadamente 70 aminoácidos y constituye el centro de unión del NAD^+ , el FMN y el AMP en distintas proteínas.

Dominios estructurales y funcionales

Los *dominios* son subregiones autónomas de la cadena polipeptídica en el sentido de que poseen todas las características de una proteína globular. Por ello, mediante proteólisis limitada pueden obtenerse subregiones o dominios de una proteína sin la pérdida de sus características funcionales. De hecho, se han obtenido dominios de enzimas de la biosíntesis de histidina cuya función se sigue realizando independientemente de que aquéllos se encuentren en la misma cadena polipeptídica, en distintas cadenas o estén separados.

La clasificación de los dominios en estructurales y funcionales es clara. Los dominios estructurales son entidades geométricas diferenciadas dentro del mapa de densidades electrónicas de una proteína globular que por sí mismos o en asociación con otros originan un dominio funcional. Este último es una región de la cadena polipeptídica autónoma desde el punto de vista funcional.

El hecho de que una proteína globular esté formada por distintos dominios estructurales, aproximadamente del mismo tamaño, y que dichos dominios aparezcan en proteínas de distinta naturaleza, induce a pensar que las proteínas se sintetizan sobre la base de un sistema que utiliza los dominios como módulos o

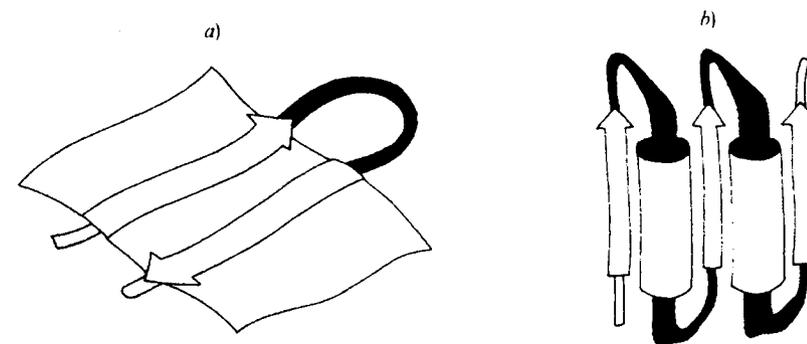


Figura 4.18. a) Unión en horquilla para dos láminas β antiparalelas. b) Plegamiento de Rossmann ($\beta\alpha\beta\alpha\beta$).

unidades básicas. En efecto, para algunos DNA de eucariotas, la subregión del gen estructural que codifica un dominio estructural o subregión de la cadena polipeptídica corresponde a un exón limitado de forma precisa por intrones.

El análisis de los mapas de densidades electrónicas de aquellas proteínas que contienen dominios estructurales bien diferenciados permite observar que aquellos restos de la cadena polipeptídica que se encuentran distantes entre sí en la estructura primaria también se hallan distantes desde el punto de vista geométrico, esto es, pertenecen a distinto dominio estructural. Esta propiedad de los restos de la cadena polipeptídica de tender a agregarse preferentemente con sus vecinos más próximos en la secuencia para construir un dominio estructural (propiedad que también se observa en el proceso de formación de las estructuras supersecundarias) se debe a que la barrera entrópica es menor cuanto más próximos se encuentren los restos que se van a asociar.

En virtud de esta propiedad de agregación, podría decirse que un dominio estructural lo constituyen aquellos segmentos de la cadena polipeptídica que se pliegan de forma independiente de otros segmentos. Es decir, constituyen la unidad básica de plegamiento de la cadena polipeptídica. Por regla general, un dominio estructural contiene 100-150 aminoácidos, lo que corresponde a un glóbulo de 25 Å de diámetro con un peso molecular ≤ 20.000 daltons. Por encima de este tamaño se puede considerar como un dominio funcional formado por más de un dominio estructural, y cuyo sitio activo está localizado en la interfase entre los dominios estructurales (fig. 4.19).

Los dominios estructurales de las proteínas globulares conocidas han sido clasificados atendiendo a la cantidad, tipo y disposición de estructura secundaria que presentan, a la topología de sus conexiones y al número de capas de la estructura del dominio. El número de capas es el número de veces que se encontraría la estructura proteica si se atravesase el dominio de parte a parte (fig. 4.20). Como las proteínas se pliegan formando un núcleo hidrofóbico, la estructura

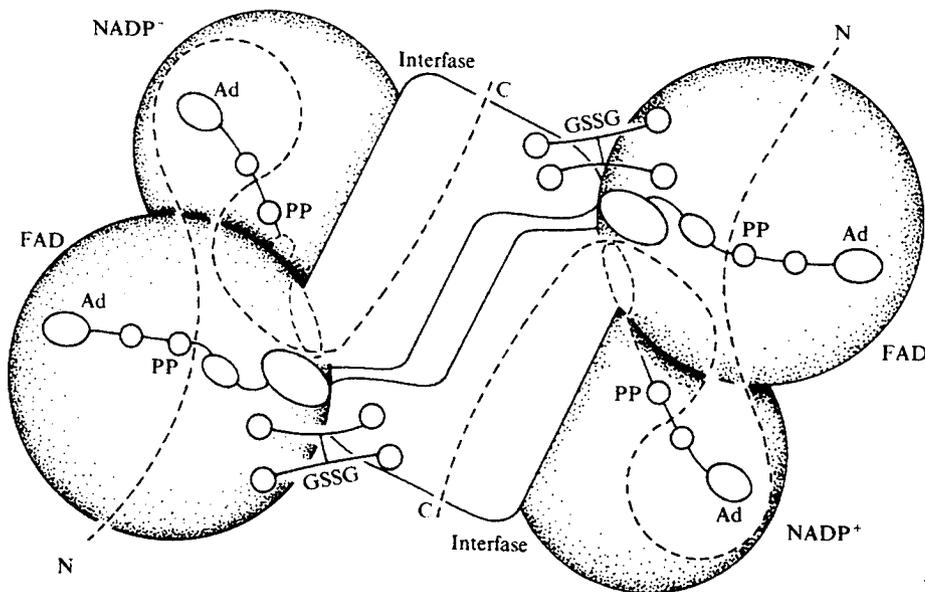


Figura 4.19. Representación esquemática de la *glutathione reductase* (dimérica). Cada subunidad consta de tres dominios. Las cadenas polipeptídicas se representan en trazo discontinuo. Cada sitio activo está constituido por cuatro dominios.

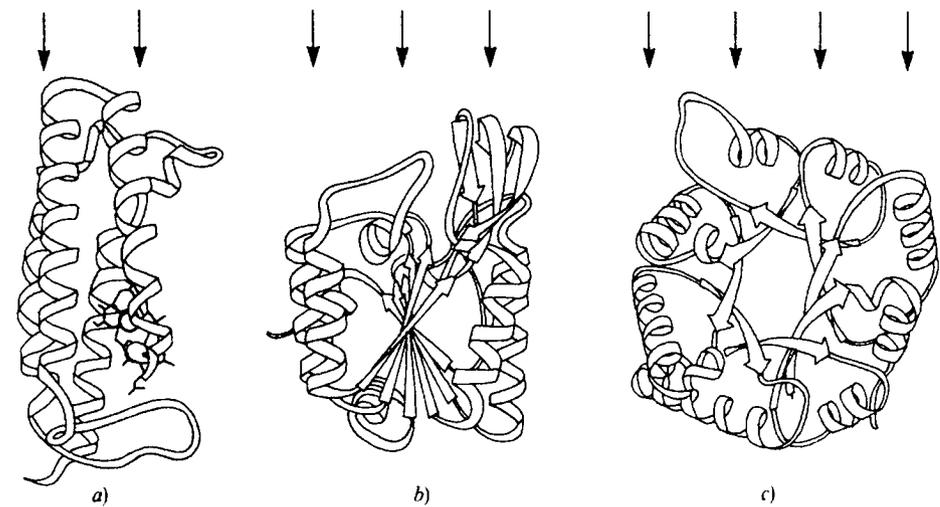


Figura 4.20. Número de capas de esqueleto polipeptídico en diversos tipos de dominios estructurales. a) Dos capas, *citocromo c*. b) Tres capas, dominio dos de la *fosfoglicerato quinasa*. c) Cuatro capas, *triosa fosfato isomerasa*.

estable más sencilla consiste en una cadena polipeptídica que envuelve más o menos uniformemente a un solo núcleo hidrofóbico. En este caso se trata de una estructura de dominio con dos capas. También existe cierta abundancia de dominios de tres y cuatro capas (fig. 4.20).

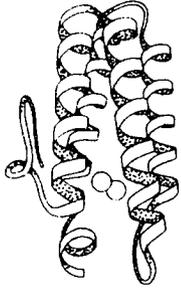
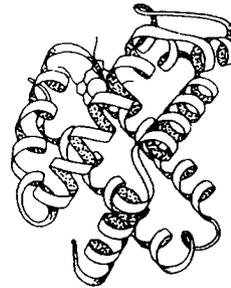
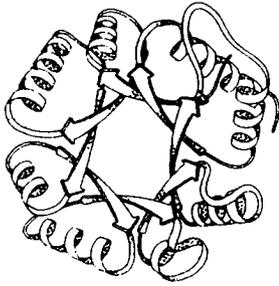
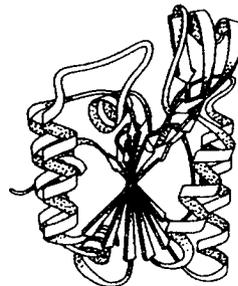
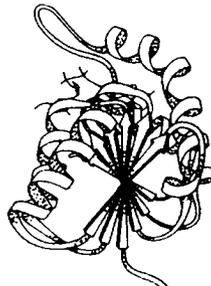
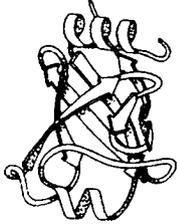
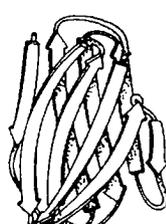
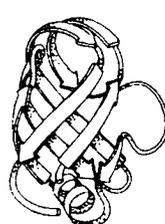
Se conocen aproximadamente 100 dominios, que se agrupan en cuatro grandes categorías, divididas, a su vez, en subgrupos. Las cuatro categorías de dominios son:

1. *Tipo I*, formados por α -hélices antiparalelas.
2. *Tipo II*, formados por α -hélices y láminas- β paralelas.
3. *Tipo III*, formados por láminas- β antiparalelas.
4. *Tipo IV*, dominios pequeños y ricos en puentes disulfuro o en metales.

La figura 4.21 recoge algunos ejemplos de los cuatro grupos de dominios estructurales. La convención gráfica adoptada para la representación de los dominios es la siguiente: las láminas β se muestran como flechas; las α -hélices, como cintas espiraladas, y las estructuras que no tienen grupo lineal asignado, como cuerdas. Los metales se indican como círculos, algunos grupos prostéticos con su correspondiente esqueleto atómico y los puentes disulfuro como rayos.

Proteínas globulares o estructura terciaria

La estructura terciaria es el nombre con que se designa al quinto nivel dentro de la jerarquía de la organización estructural de las proteínas, y corresponde a la estructura tridimensional resultante del plegamiento de una única cadena polipeptídica. Como ya se ha indicado en el apartado anterior, una proteína globular puede estar formada por uno o más dominios estructurales, puesto que una cadena polipeptídica comprende uno o más dominios funcionales, y cada dominio funcional, uno o más dominios estructurales. En algunos casos (*serina proteasas*, *inmunoglobulinas*), los dominios son tan parecidos que lo más probable es que se

a) Tipo I: α -antiparalelosMiohemeritina
(arriba-abajo)Citocromo b_{562}
(arriba-abajo)Hemoglobina (β)
(llave griega)b) Tipo II: α/β -paralelosDominio 1: Piruvato quinasa
(β -barriles paralelos
arrollamiento sencillo)Dominio 1: Lactato deshidrogenasa Dominio 2: Fosfoglicerato quinasa
(sillas de montar con arrollamiento doble)c) Tipo III: β -antiparalelosDominio 2: Papaina
(barril β arriba-abajo)Dominio 2: Piruvato quinasa Dominio V_L: Inmunoglobulina
(barriles β llave griega)

d) Tipo IV: Abundantes en puentes disulfuro o en metales

Fosfolipasa A_2

Insulina

Citocromo C_3

(puentes disulfuro)

(metales)

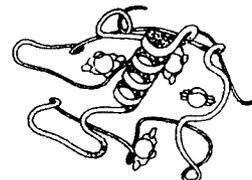
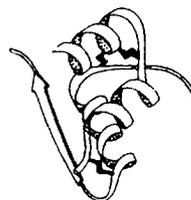
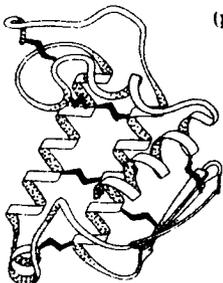


Figura 4.21. Tipos de dominios estructurales en las proteínas globulares.

hayan producido por duplicación génica. En la mayoría de las proteínas con más de un dominio estructural, el sitio activo se sitúa en la interfase localizada entre los dominios, región de la cadena polipeptídica en la que todos los dominios entran en contacto (fig. 4.19).

Los sustratos y cofactores se unen normalmente a distintos dominios dentro de la estructura globular (fig. 4.19). La localización de un dominio determinado dentro de una estructura terciaria depende de la función de la proteína. Así, el dominio de unión del NAD^+ , que siempre tiene la misma topología (fig. 4.22), se encuentra localizado en diferentes regiones en distintas proteínas. Por ejemplo, en el extremo N-terminal en tres deshidrogenasas y una quinasa; en el extremo C-terminal de cuatro deshidrogenasas, y en el medio de una fosforilasa. También estos datos parecen confirmar la duplicación del gen correspondiente y su ulterior transferencia a distintas zonas del genoma.

En el proceso de plegamiento, los dominios estructurales y las estructuras supersecundarias se forman independientemente en una primera etapa para agregarse después, de acuerdo con las reglas de simetría que operan en la formación de cristales, esto es, asumiendo el estado de mínima energía libre. Así se explica la simetría que existe entre los dominios de las inmunoglobulinas (fig. 4.21), la de estructuras supersecundarias como las unidades $\beta\alpha\beta\beta$ de las deshidrogenasas (fig. 4.21), las unidades $\beta\alpha\beta$ de la *triosa fosfato isomerasa* (fig. 4.20) y la *piruvato quinasa* (fig. 4.21) o la superestructura doble espiral de α -hélice de la *miohemeritina* (fig. 4.21.a).

Agregados de proteína globular o estructura cuaternaria

Estos agregados corresponden al nivel de máxima complejidad estructural de las proteínas globulares. Resultan de la asociación de proteínas con la misma o distinta conformación que se agregan para realizar funciones diversas. Así, existen proteínas que se asocian para formar estructuras geométricas determinadas (*microtúbulos*); otras forman cristales, con objeto de minimizar la presión osmótica intracelular; la formación de complejos multienzimáticos evita la dilución de intermediarios metabólicos, aumentando así la velocidad catalítica, y la asociación de monómeros en forma de proteínas oligoméricas introduce nuevas peculiarida-

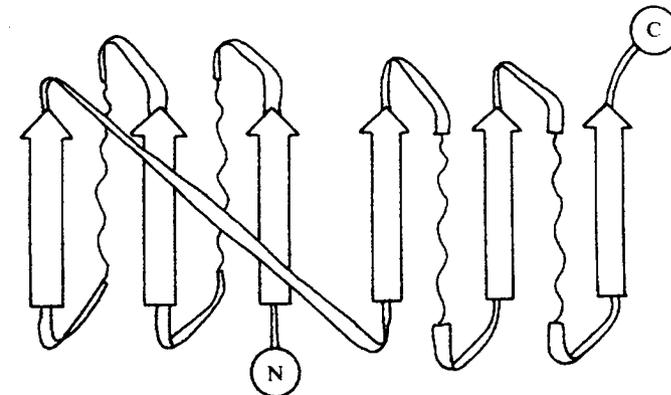


Figura 4.22. Dominio de unión del NAD^+ en deshidrogenasas. Las α -hélices se han representado como líneas quebradas. Compruébese que se trata de dos dominios de Rossmann unidos (fig. 4

des catalíticas al complejo, tales como la cooperatividad y otras formas de regulación enzimática.

Se pueden formar dos tipos de agregados: simétricos y asimétricos. Un ejemplo de *agregado asimétrico* lo constituye el ribosoma que, aunque contiene RNA, para realizar su función necesita de la agregación de muchas proteínas distintas. En general, la agregación de proteínas distintas conduce a agregados asimétricos.

Los *agregados simétricos* pueden ajustarse a tres tipos de simetría de grupo: espacial, lineal y puntual. La simetría de *grupo espacial* corresponde, por ejemplo, a la asociación de moléculas de insulina para formar los cristales en que se almacena en las células β pancreáticas. La simetría de *grupo lineal* se encuentra en los microtúbulos, en el virus del mosaico del tabaco y en algunos fagos filamentosos. La simetría de *grupo puntual* es la más corriente y resulta de la asociación de subunidades idénticas. Dentro de este tipo de simetría hay que distinguir otros dos subtipos: la *pseudosimetría* que se produce por agregación de subunidades casi idénticas, como es el caso de la hemoglobina (subunidades α y β), y la *cuasisimetría* cuando las subunidades que se agregan son idénticas, pero tienen distinta conformación, frecuente en el caso de los virus esféricos.

El tipo y número de contactos que se establecen entre las subunidades para la formación del oligómero determinan la fuerza de la interacción proteína-proteína. En general, cuantos más contactos tengan lugar, mayor es la energía de interacción. Las fuerzas que predominan en la interacción proteína-proteína son, por orden de cantidad e importancia, las fuerzas de Van der Waals, los puentes de hidrógeno y las fuerzas electrostáticas.

El proceso de agregación de monómeros implica que gran parte de sus superficies quedan resguardadas del medio polar. Por tanto, este proceso es, en líneas generales, similar al que se ha descrito para el plegamiento de las cadenas polipeptídicas, es decir, está gobernado por el aumento en entropía del sistema (oligómero + medio), donde las superficies de los monómeros quedan «escondidas» del medio polar para evitar un mayor ordenamiento de las moléculas de agua alrededor de los monómeros. De hecho, dos terceras partes de la superficie no expuesta al medio polar de los oligómeros corresponde a aminoácidos apolares.

La especificidad de la interacción proteína-proteína implica necesariamente complementariedad entre las dos superficies de contacto puesto que, sin ella, las moléculas de agua pueden acceder al «bolsillo» que se forma entre subunidades e impedir la asociación de los monómeros por disminución de la contribución entrópica del disolvente. Se requiere, además, la complementariedad necesaria entre aquellos grupos que pueden formar enlace de hidrógeno o puentes salinos, con objeto de que la energía de asociación entre los monómeros sea máxima.

El estudio de las variaciones de energía libre entre los estados conformacionales de los oligómeros por interacción con determinados ligandos puede ayudar a explicar muchos de los fenómenos de cooperatividad y regulación enzimática (caps. 6 y 7).

PROTEINAS DE MEMBRANA

De forma empírica y teniendo en cuenta la menor o mayor facilidad con que las proteínas se extraen de la membrana, han sido clasificadas en integrales (extraídas con detergentes) y periféricas (extraídas con soluciones salinas). Dentro de las proteínas integrales, aquellas que atraviesan la membrana y están expuestas al medio polar por ambos lados de la membrana se denominan

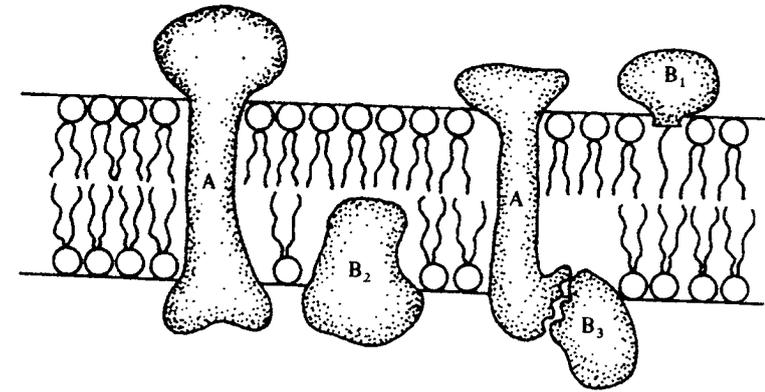


Figura 4.23. Proteínas de membranas biológicas: A, transmembrana; B₁, B₂ y B₃, de superficie; B₁ y B₂, asociadas por interacción covalente y no covalente con los lípidos de la membrana, respectivamente; B₃, asociada no covalentemente con otra proteína de la membrana.

proteínas *transmembrana*. Otras proteínas sólo se encuentran expuestas a un lado de la membrana, se denominan de *superficie*, y se hallan unidas por interacciones no covalentes con otras proteínas de la membrana o bien mediante unión covalente con ácidos grasos de la bicapa lipídica (fig. 4.23).

En el capítulo 38 se desarrolla ampliamente el tema de las proteínas de membrana, pero conviene señalar aquí sus principales características de conformación y plegamiento.

Hidrofobicidad y momento hidrofóbico

Desde el punto de vista de la conformación espacial de las proteínas de membrana y por el entorno hidrofóbico de ésta, se cree que las cadenas polipeptídicas que se encuentran en la membrana se disponen de forma preferente en dos tipos de estructura secundaria, la α -hélice y la lámina β . Esta disposición del esqueleto polipeptídico asegura el máximo número de puentes de hidrógeno entre los enlaces peptídicos que atraviesan la bicapa. La longitud de secuencia proteica necesaria para atravesar la membrana con un grupo lineal en α -hélice es de aproximadamente 21 restos y de 10-12 restos para el caso de una lámina β .

Ya se ha subrayado en este mismo capítulo que en la conformación final adoptada por la proteína los restos hidrofóbicos expuestos al medio polar son los mínimos posibles, mientras que los restos cargados quedan en la «superficie molecular». Para el caso particular de las proteínas de membrana, cuyo «entorno» es altamente hidrofóbico y, por tanto, bien distinto del medio polar al que nos hemos referido hasta ahora, la situación es claramente diferente y resulta fácil suponer que los segmentos de la proteína que atraviesan la membrana deben ser hidrofóbicos.

La secuenciación de genes que codifican para proteínas de membrana ha permitido desarrollar hipótesis que permiten predecir los tramos de la secuencia proteica que atraviesan la bicapa lipídica, así como otros aspectos sobre la estructura de las proteínas de membrana. Un punto clave de partida para todas estas hipótesis lo constituye el concepto de *hidrofobicidad* de las cadenas laterales R de los aminoácidos y el desarrollo de escalas de hidrofobicidad de éstos, que en última instancia vienen a definir su mayor o menor afinidad por fases hidrofóbicas.

Otro concepto imprescindible cuando se analiza la secuencia de aminoácidos de proteínas de membrana es el de *momento hidrofóbico*, que es una medida de la anfifilicidad o asimetría de hidrofobicidad de un segmento de una cadena polipeptídica. Desde que se conocen las primeras estructuras proteicas, mioglobina y hemoglobina, se ha observado que la mayor parte de las α -hélices son anfifílicas (anfipáticas), esto es, una cara de la α -hélice proyecta restos hidrofílicos mientras que la cara opuesta proyecta restos hidrofóbicos. El momento hidrofóbico (μ_H) de una secuencia periódica de aminoácidos N puede calcularse a partir de sus hidrofobicidades (H_n) empleando la siguiente ecuación:

$$\mu_H = \left\{ \left[\sum_{n=1}^N H_n \sin(\delta n) \right]^2 + \left[\sum_{n=1}^N H_n \cos(\delta n) \right]^2 \right\}^{1/2}$$

donde δ es el ángulo en el que los sucesivos restos son proyectados desde el esqueleto proteico cuando éste se mira a lo largo de su eje de simetría. Es decir, el momento hidrofóbico es la suma vectorial de las hidrofobicidades de cada uno de los aminoácidos que componen dicho segmento proteico. Para una α -hélice, δ tiene un valor de 100° . Cuando los restos hidrofílicos e hidrofóbicos se proyectan más o menos regularmente a un lado y otro de la hélice, el momento hidrofóbico es pequeño. Sin embargo, cuando los restos hidrofóbicos se disponen preferentemente a un lado de la hélice y los hidrofílicos al otro, el momento hidrofóbico es grande. Es decir, el momento hidrofóbico es una forma de cuantificar el grado de anfifilicidad de una hélice.

Las propiedades hidrofóbicas de una proteína pueden representarse en una gráfica en la que el eje de ordenadas es el momento hidrofóbico y el eje de abscisas representa la hidrofobicidad media (véase fig. 4.24). Por regla general se estudia la secuencia proteica de 11 en 11 aminoácidos, quedando representado el fragmento de 11 aminoácidos por un único punto en la gráfica.

Normalmente, las proteínas globulares se encuentran en la región marcada como «globular» en la figura 4.24, a valores medios de hidrofobicidad y de momento hidrofóbico. Aquellas proteínas de membrana que se sitúan en la superficie de la misma caen dentro de la región marcada como «superficie» (fig. 4.24) con altos valores de momento hidrofóbico, lo que viene a indicar su mayor carácter anfifílico y, por tanto, la doble capacidad de interactuar con el medio polar y con el entorno hidrofóbico de la membrana para su anclaje. Las posibles hélices para proteínas transmembrana quedan definidas en la región marcada como transmembrana (fig. 4.24), con altos valores de hidrofobicidad y bajos de momento hidrofóbico. Dentro de estas últimas aún se pueden distinguir dos casos, aquellas proteínas que atraviesan la membrana una vez (región *b* de la fig. 4.24) y que tienen mayor hidrofobicidad y menor momento hidrofóbico, y aquellas que atraviesan la membrana varias veces (región *a* de la fig. 4.24) que tienen mayor valor de momento hidrofóbico. Esta observación para proteínas transmembrana queda justificada por cuanto, cuando sólo existe una hélice atravesando la membrana, los restos que ésta expone al interior de la bicapa deben ser hidrofóbicos por la imposibilidad de formar puentes de hidrógeno con otras hélices adyacentes. Sin embargo, cuando la proteína atraviesa varias veces la membrana, las hélices anfifílicas (anfipáticas) pueden formar puentes de hidrógeno entre ellas y exponer las caras hidrofóbicas hacia la membrana.

En las proteínas eucarióticas de la membrana, el segmento transmembrana suele presentar una secuencia de 20-28 restos hidrofóbicos que carecen de histidina y

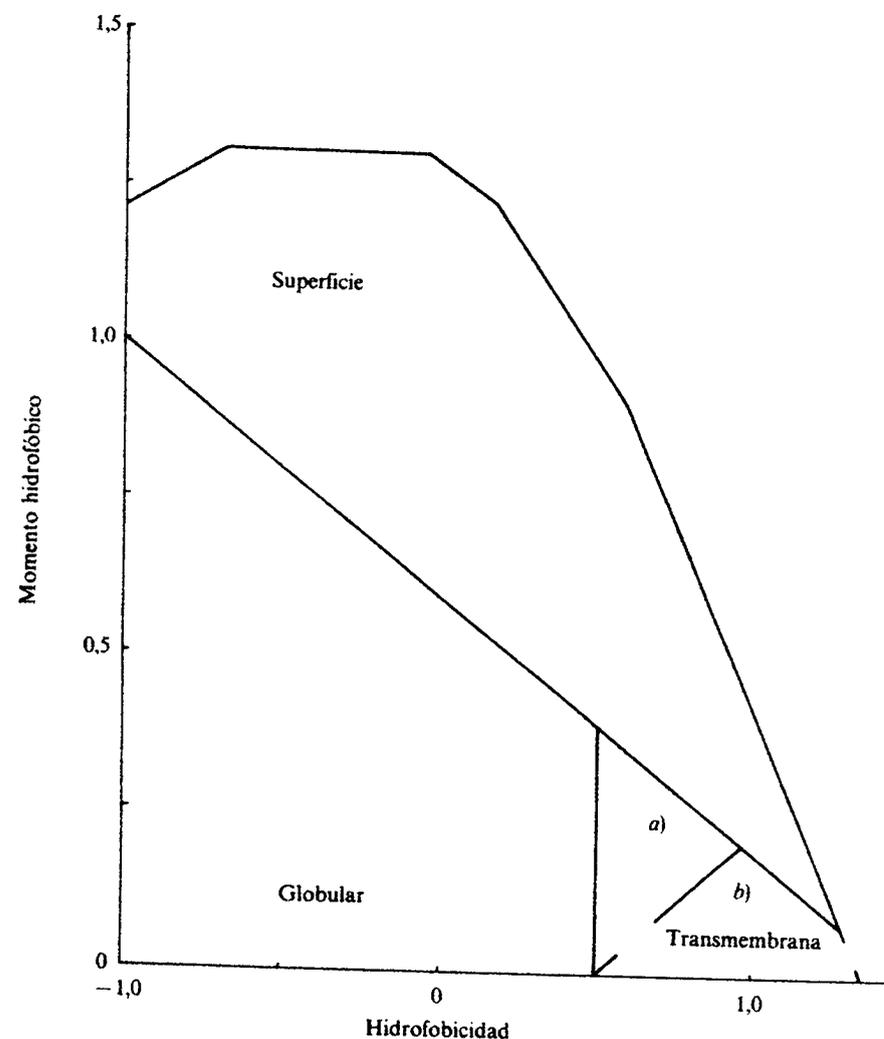


Figura 4.24. Representación gráfica del momento hidrofóbico frente a la hidrofobicidad. Dentro de las proteínas transmembrana, la región *a* corresponde a proteínas que atraviesan la bicapa una vez, también llamada región monomérica; la región *b* corresponde a proteínas que atraviesan la membrana varias veces, también llamada región multimérica.

prolina, flanqueada por aminoácidos cargados, como la lisina y la arginina (véase fig. 4.25). Estos aminoácidos cargados pueden interactuar con los fosfolípidos de la bicapa facilitando el anclaje de la proteína. La aparición de aminoácidos en la secuencia proteica como glicina, prolina, aspártico o serina (aminoácidos promotores de vuelta), seguida de otro segmento hidrofóbico flanqueado por aminoácidos cargados, nos permite inferir que dicha proteína atraviesa más de una vez la bicapa lipídica.

Modelos de proteínas de membrana

Un ejemplo conocido de proteína integral de superficie es el del citocromo b_5 (16.000 daltons), que se encuentra anclado en la membrana por un segmento hidrofóbico de 5.000 daltons, que aparentemente no la atraviesa de forma que los

Superficie celular		Citoplasma	Número restos en la bicapa
NH ₂ -E [⊖]	ITIIFGVMAGVIGTTILLISYGI	R [⊕] ...COOH	23
NH ₂ -D [⊖]	VILWFSFGASCFLLAIAVGLVFCIV	K [⊕] ...COOH	25
NH ₂ -K [⊕]	ISGGLGAFAIGAILVLVVVCIGL	R [⊕] ...COOH	24
NH ₂ -K [⊕]	SSIASFFFHIGLIIGLFLVL	R [⊕] ...COOH	20

← Membrana →

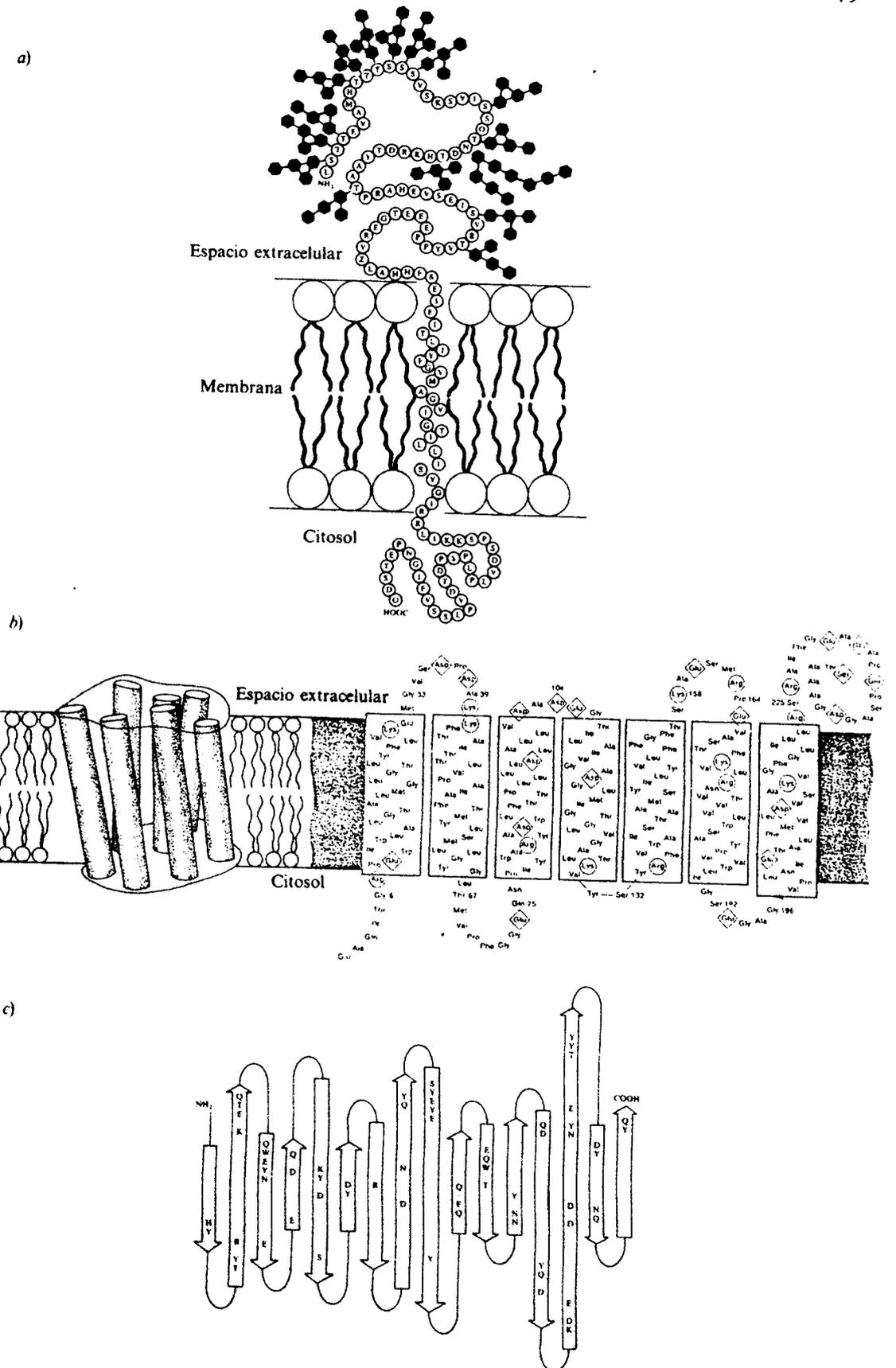
Figura 4.25. Secuencias de segmentos transmembrana para algunas proteínas eucarióticas. Obsérvense los aminoácidos cargados a ambos lados de la membrana.

extremos N y C-terminal de la proteína se encuentran en el mismo lado de la membrana, en la cara citosólica del retículo endoplasmático.

Dentro de las proteínas integrales que atraviesan la membrana vamos a ver tres ejemplos. La *glicoforina* (fig. 4.26.a) es una de las dos proteínas mayoritarias expuestas en la cara externa de los eritrocitos. Es una de las proteínas de membrana mejor caracterizadas. Tiene 131 aminoácidos y la mayor parte de su masa molecular (60 por 100) se encuentra fuera de la membrana, en la cara externa de la misma. En esta parte de la proteína se encuentran los 100 restos hidrogenados, fundamentalmente ácido siálico. El extremo hidrofílico C-terminal se sitúa en el lado citoplasmático de la membrana. Estas dos regiones de la proteína se encuentran unidas mediante un segmento transmembrana muy hidrofóbico, de 20 aminoácidos dispuestos en α -hélice, que sirve de anclaje para la proteína en la bicapa de la membrana del eritrocito.

La *bacteriorrodopsina* es una proteína transmembrana de 248 aminoácidos de la bacteria halófila *Halobacterium halobium*. Cada molécula contiene un cromóforo (el 11-cis retinal) que actúa como grupo prostético para la captura de fotones, idéntico al de la rodopsina que se describe en el capítulo 54. La excitación del cromóforo promueve un cambio conformacional en la proteína con la subsiguiente salida de 2H⁺ del interior de la bacteria, lo que genera un gradiente electroquímico de H⁺ a ambos lados de la membrana, que se emplea para la síntesis de ATP. Como se puede apreciar en la figura 4.26.b, esta proteína se encuentra dispuesta en la bicapa lipídica de la célula en siete tramos en α -hélice de aproximadamente 25 restos cada uno, quedando a un lado y otro de la bicapa cuatro segmentos no helicoidales que aproximadamente suponen un 20 por 100 de la proteína (\approx 70 restos). Para esta proteína se ha confirmado el carácter hidrofóbico de los aminoácidos de los segmentos transmembrana, así como el carácter polar de los aminoácidos de los segmentos no helicoidales de conexión. En concreto,

Figura 4.26. Proteínas de membrana. a) Glicoforina, los hexágonos representan los restos hidrogenados de la proteína. b) Bacteriorrodopsina. A la izquierda se encuentran representadas las siete α -hélices transmembrana en el plano de la membrana. A la derecha su secuencia aminoacídica, donde los restos cargados positiva y negativamente se encuentran incluidos en un círculo o en un rectángulo, respectivamente. c) Disposición antiparalela de los grupos lineales β de la porina en el plano de la membrana. Se han representado dentro del grupo lineal los restos que pueden actuar como dador o aceptor de puente de hidrógeno. Los tramos donde no existe indicación del aminoácido corresponden a restos hidrofóbicos.



más del 70 por 100 de los restos son de naturaleza hidrofóbica, tal y como cabe esperar por su disposición en la bicapa.

Los modelos de proteína de membrana que hemos visto hasta ahora se ajustan a α -hélices transmembrana con un alto contenido en aminoácidos hidrofóbicos. Sin embargo, no es éste el único grupo lineal que aparece en proteínas de membrana. En concreto, la *porina*, que se encuentra en la membrana externa de *E. coli* formando canales iónicos transmembrana, presenta dos terceras partes de su secuencia ordenada en láminas β antiparalelas (véase fig. 4.26.c) casi perpendiculares al plano de la bicapa y con una longitud para cada grupo lineal β que oscila entre 6 y 24 restos. Esta proteína presenta, además, la particularidad de tener un alto contenido en aminoácidos polares, que permiten la estabilización de la estructura en el interior de la bicapa porque forman una extensa red de puentes de hidrógeno intercatenarios. Los segmentos de conexión en contacto con el medio polar contienen el 60 por 100 del total de los restos cargados y polares de la proteína.

METODOLOGIA PARA LA DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DE LAS PROTEINAS

Los avances logrados en la comprensión de la organización estructural de las proteínas han sido posibles gracias al desarrollo de una serie de técnicas, y, en especial, a la combinación sinérgica de las mismas. En este apartado discutiremos brevemente las principales técnicas existentes en la actualidad.

Sin lugar a dudas, la técnica más poderosa, y la única capaz de resolver al detalle la localización espacial aproximada de la mayoría de los átomos que componen una proteína es la *cristalografía de difracción de rayos X*. Esta técnica, pese a su complejidad y a las enormes dificultades técnicas que conlleva, ha revolucionado nuestro conocimiento sobre la estructura y función de las proteínas. El método requiere la cristalización previa de la proteína, que se suele llevar a cabo en presencia de altas concentraciones de sulfato amónico u otra sal adecuada. La resolución que se puede alcanzar con esta técnica depende en gran parte de la calidad de los cristales obtenidos.

El método se basa en la difracción de un haz de rayos X muy monocromático por los electrones del cristal de una proteína. La geometría de la figura de difracción que se obtiene sobre una placa fotográfica resulta de la repetición periódica de la estructura electrónica de las macromoléculas situadas ordenadamente en el cristal. La estructura electrónica acostumbra a describirse por la función de distribución de densidades electrónicas. Una operación matemática denominada *transformada de Fourier*, efectuada sobre dicha función, genera la función de distribución de los rayos X dispersados. Por tanto, la estructura electrónica de la proteína podrá resolverse efectuando la transformada inversa de Fourier de dicha función de distribución de rayos X.

Como toda función ondulatoria, la función de distribución de rayos X puede descomponerse en dos partes: una de ellas describe la distribución de fases y la otra describe la distribución de intensidades. La figura de difracción obtenida sobre la placa fotográfica únicamente genera información sobre las intensidades de los rayos X dispersados. Por ello, la estructura se resuelve a partir de esta función de distribución de intensidades utilizando métodos indirectos.

La estrategia se basa, fundamentalmente, en las siguientes etapas:

1. Determinación del grupo espacial cristalográfico y de las dimensiones de la celdilla unidad del cristal.

2. Localización de la posición de algunos átomos componentes de la proteína.

3. Generación, con estos nuevos datos, de una distribución aproximada de las fases de la radiación difundida y, a partir de ésta, construcción de una distribución tentativa de densidades electrónicas.

4. Localización de la posición de otros átomos a partir de dicho mapa de densidades, y así sucesivamente.

5. Introducción de pequeñas variaciones en la posición de los átomos, ya que dicho mapa es aún aproximado, y determinación de cuál de las estructuras obtenidas se ajusta mejor a la información generada por la figura de difracción.

Las estructuras elucidadas por el análisis de la difracción de rayos X pueden servir de fundamento a modelos estructurales basados en la minimización de la energía conformacional de las proteínas, o como test decisivo a la hora de discernir entre diversas conformaciones probables. Los modelos estructurales, a su vez, pueden servir de orientación en el refinamiento final del cálculo de la estructura a partir de los datos de difracción de rayos X. En algunos casos, la combinación de ambas estrategias ha resultado de gran eficacia en la optimización de la estructura de diversas proteínas.

Esta técnica no determina de una manera absoluta la localización exacta de los átomos que componen la proteína. No obstante, y pese a su complejidad, constituye la técnica más poderosa de que se dispone en la actualidad, y, a una resolución intermedia, el detalle estructural obtenido iguala o supera el generado por otras técnicas, como las que comentaremos a continuación.

Existen otros métodos que es posible emplear cuando las muestras no pueden adquirir la estructura tridimensional periódica típica de un cristal. Por ejemplo, las moléculas muy alargadas o en estructuras helicoidales suelen formar fibras ordenadas, que pueden ser estudiadas por difracción de rayos X. Aunque la figura de difracción no contiene suficiente información para calcular la estructura en detalle, es posible obtener algunos datos valiosos tales como el paso de hélice o el número de restos por vuelta de hélice. La información obtenida puede también usarse para discernir entre diversos modelos estructurales.

Las muestras capaces de adquirir una pauta ordenada bidimensional, tales como cristales muy delgados o proteínas incluidas en membranas cristalizadas, se pueden estudiar por *microscopía electrónica analizada por síntesis de Fourier*. En este método se utiliza un haz de electrones para producir la figura de difracción, y puede, además, obtenerse una imagen directa de la red bidimensional. La distribución de fases de la radiación difundida puede estimarse a partir de la imagen directa, y la estructura de la red puede obtenerse, a alta resolución, mediante una transformación inversa de Fourier.

La *difusión de rayos X*, la *difusión de electrones* y la *difusión de luz* pueden utilizarse para estudiar muestras en disolución. La información generada por estos tres métodos se analiza utilizando las mismas ecuaciones fundamentales, y a partir de ella es posible obtener datos tales como el peso molecular, el tamaño medio y la forma de las moléculas. La difusión de electrones posee la ventaja fundamental de que los átomos de deuterio generan una pauta de difusión muy diferente a la de los átomos de hidrógeno. Por ello, la sustitución isotópica específica puede rendir información sobre determinados dominios estructurales de la proteína.

La *espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)* y la *espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (EPR)* se basan en la interacción del momento magnético de una partícula (un núcleo atómico con momento magnético no nulo, o un electrón desapareado) con un campo magnético aplicado exte-

riormente. Los momentos magnéticos se distribuyen mecanocuánticamente en niveles discretos de energía, y las transiciones entre dichos niveles dan lugar a un espectro de resonancia magnética de la misma manera que las transiciones electrónicas dan lugar a los espectros de absorción. La influencia del medio que rodea el átomo y las interacciones espín-espín entre átomos contiguos influyen en gran medida en el momento magnético de las partículas, de manera que las aportaciones de los átomos individuales pueden resolverse en el espectro de la molécula. Los tiempos de relajación de los determinados niveles de energía también influyen decisivamente en el espectro. Estos parámetros y la distribución de bandas del espectro son muy sensibles al entorno y al movimiento molecular, de manera que estas técnicas pueden resultar muy útiles para obtener información estructural y otros datos de tipo dinámico.

Otras técnicas se basan en el comportamiento hidrodinámico de las proteínas. La *ultracentrifugación* puede utilizarse para determinar la *velocidad de sedimentación* o para establecer un *gradiente de densidad en equilibrio*. Estas técnicas permiten obtener parámetros característicos de las proteínas hidratadas tales como el coeficiente de fricción translacional, la constante de difusión o la densidad. A partir de la *espectroscopia de polarización de fluorescencia* pueden obtenerse los coeficientes de fricción rotacionales. La *viscosimetría* sirve para determinar las viscosidades intrínsecas de las proteínas. Todos estos parámetros, a su vez, rinden información sobre el tamaño y la forma de las macromoléculas y su interacción con el medio acuoso que las rodea.

FUNCION Y DIVERSIFICACION PROTEICA

La gran diversidad de proteínas refleja el proceso evolutivo. Existen proteínas relacionadas estructural y funcionalmente y otras que, con estructura o función similar, realizan funciones o tienen estructuras dispares.

La secuencia de aminoácidos que constituye la cadena polipeptídica aporta una gran variedad de grupos funcionales que pueden participar en el proceso catalizado por la proteína. En su estructura tridimensional, las proteínas presentan unas regiones capaces de asociarse con metales o con otros compuestos de naturaleza no proteica, llamados *grupos prostéticos*, que son necesarios para la actividad catalítica. Las propiedades funcionales de un mismo grupo prostético pueden variar enormemente en virtud de las interacciones que establezca con la proteína a la que se encuentra asociado. Un ejemplo, de los muchos que pueden ponerse, lo constituye la interacción del *grupo hemo* (véase cap. 47) con la *mioglobina*, cuya función es captar oxígeno de forma reversible evitando su propia oxidación, y la interacción del mismo grupo hemo con el *citocromo c*, proteína de la membrana interna mitocondrial, cuya función es actuar de transportador de electrones en la cadena respiratoria (véase cap. 10). En cada caso, la función que realiza el grupo hemo está determinada por las interacciones que establece con la cadena polipeptídica a la que se encuentra asociado.

El mecanismo primario de la evolución de las proteínas es la *duplicación génica*, es decir, la aparición en una misma célula de dos o más ejemplares de un mismo gen. Uno de los ejemplares conservará su antigua función, con objeto de que la viabilidad celular no se vea comprometida. Si sufre mutaciones, sólo pueden afectarse aquellas posiciones de las que no depende la actividad funcional (mutaciones silenciosas). En el otro (o los otros) ejemplar(es) redundante(s) del gen original pueden producirse modificaciones que alteren los segmentos más relevantes funcionalmente. En algunos casos, las mutaciones darán lugar a una proteína

mejorada respecto de la actividad original, en cuyo caso será seleccionada, o a una proteína inactiva o dotada de una función enteramente distinta a la original. La comparación de las secuencias de los aminoácidos de la misma proteína en distintas especies permite comprobar la permanencia de los aminoácidos que son imprescindibles para determinar su conformación espacial. Sin embargo, a medida que nos alejamos en la escala evolutiva se observan mayores divergencias debido a que los aminoácidos de la proteína original han sido sustituidos por aminoácidos de características similares. Un ejemplo bien conocido lo constituye el *citocromo c*, que presenta 27 aminoácidos invariables a lo largo de todo el proceso evolutivo. Este tipo de estudios permite realizar una taxonomía de los organismos basada en el parentesco de sus proteínas pero, además, facilita la comprensión de las características químicas de las mismas.

Cuando se comparan proteínas dentro de una misma especie, se advierte que existen «familias» de moléculas emparentadas. Este es el caso de los seis polipéptidos que constituyen los monómeros de las distintas formas de hemoglobina y el polipéptido de la mioglobina. No sólo son *análogos* (desempeñan función similar), sino que también son *homólogos* (es decir, derivan del mismo antecesor) (figs. 4.27 y 4.28). Entre las enzimas, aquellas que catalizan reacciones similares, como deshidrogenasas o quinasas, poseen, a menudo, secuencias homólogas. Estos datos permiten establecer el árbol genealógico de las proteínas, y contribuyen a la mejor comprensión de la base molecular de su evolución. En efecto, en el estudio de los mapas de difracción de rayos X se observó que el plegamiento o *dominio de Rossmann* (fig. 4.18.b) estaba presente en proteínas con distinta conformación espacial y distinta función. La ubicuidad de este dominio llevó a Rossmann a proponer la hipótesis de que el dominio que se hallaba en todas estas proteínas era el «fantasma» de una proteína primitiva de tiempos precelulares que, por realizar una función tan importante como es la de unión a mononucleótidos, se incorporó a la secuencia de las protoenzimas. La asociación de genes de distintas protoenzimas y sucesivas duplicaciones génicas pudieron originar la extensa familia de las proteínas actuales. De hecho, en organismos eucariotas se ha podido establecer, para un grupo de seis proteínas de aparición reciente (10^9 años) (fig. 4.29), que uno de los dominios aparece disperso 18 veces en la secuencia de las mismas y que los segmentos de DNA que codifican dichos dominios corresponden a exones del DNA, flanqueados en cada caso y de forma precisa por intrones. Sin embargo, los genes procariotas carecen de intrones. Incluso en algunas proteínas eucariotas, los intrones no limitan los dominios de las mismas, lo que induce a pensar que el intercambio de exones en las proteínas mosaico de los vertebrados es una forma más desarrollada y compleja de los mecanismos de la evolución que, de manera más sofisticada, refleja los acontecimientos que pudieron suceder en las primeras formas de vida.

La mayoría de las mutaciones conducen a variantes polimórficas no aparentes

	α	β	γ	δ	ϵ
Mioglobina	38	36	36	37	34
α		64	59	63	55
β			107	136	110
γ				105	116
δ					106

Figura 4.27. Número de aminoácidos idénticos entre las secuencias de la mioglobina humana y las cadenas polipeptídicas α , β , γ , δ y ϵ de la hemoglobina.

Junto a otros tratamientos que intentan normalizar la situación fisiológica disminuyendo el sustrato o aportando el producto; administrando la proteína normal cuando su déficit puede compensarse en el sistema circulatorio o intentando, mediante terapia genética, incorporar el gen normal a través de un vector inocuo oportuno (plásmidos, etc.); existen dos procedimientos que intentan restablecer una conformación espacial que guarde mayores analogías con la estructura original plenamente activa: administración en grandes dosis de los grupos prostéticos y de los efectores, y de aquellas sustancias químicas que, uniéndose a los puntos adecuados de la estructura proteica, puedan repararla, devolviéndole una forma más eficaz. Según Perutz, serán numerosos los nuevos fármacos cuya estrategia terapéutica se basará en facilitar a modo de «lajas» la recuperación de las estructuras proteicas funcionalmente aptas. Hoy se conocen un gran número de modificaciones postraduccionales, que, debidamente controladas por las enzimas correspondientes, confieren a las proteínas sus estructuras terminales y sus capacidades distintivas. Son los «últimos retoques» antes del ejercicio de su papel bioquímico, que tienen una creciente significación fisiopatológica. Los fenómenos de glicosilación, metilación, hidroxilación, unión covalente de efectores diversos,

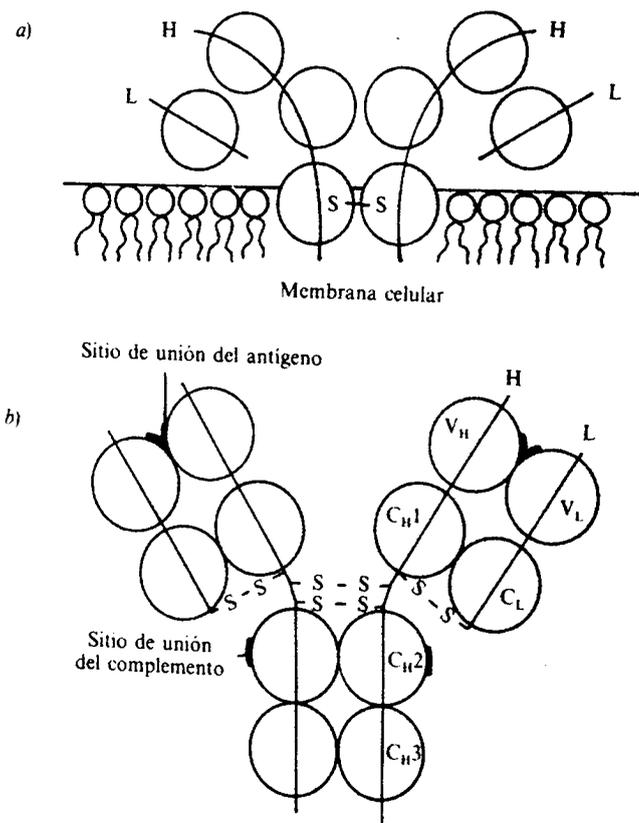


Figura 4.31. a) Antígeno de histocompatibilidad (proteína HL-A: antígeno del leucocito humano). La molécula es simétrica. Cada mitad contiene una cadena pesada H y una ligera L. La cadena ligera, que es un único dominio de Ig, también se denomina β_2 -microglobulina. Las dos cadenas H se encuentran unidas por un puente disulfuro localizado en la parte de la molécula incluida en la membrana. b) Inmunoglobulina G. La molécula es simétrica. Cada mitad contiene una cadena pesada H y una ligera L. Cada cadena se encuentra unida por al menos un puente disulfuro a otra cadena. En la figura se indica la denominación de los distintos dominios de las cadenas H y L.

fosforilación, adenilación o ADP-ribosilación, entre otros, son especialmente relevantes a este respecto.

Frente a las proteínas que muestran una considerable constancia en su composición, alterada únicamente por el ritmo normal de la mutación biológica, otras proteínas basan su funcionalidad, precisamente, en una extraordinaria variabilidad de la secuencia de alguno(s) de sus dominios. En efecto, la eficacia ofensiva o defensiva de muchas proteínas depende de la adopción de nuevas formas espaciales. Así, las inmunoglobulinas cumplen su función de neutralización antigénica gracias a la variabilidad de sus dominios de acoplamiento. Junto a unos segmentos proteicos idénticos, los anticuerpos (fig. 4.31) presentan unas zonas hipervariables en las que radica su actividad (cap. 49).

Como se subrayaba al principio de este capítulo, la comunicación inter e intracelular se basa en la complementariedad espacial, en las formas. El polimorfismo de las proteínas, que depende de las características genéticas y epigenéticas o microecológicas, constituye una de las claves esenciales en la interpretación de los procesos biológicos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Blake, C. C. F., y Johnson, L. N.: «Protein structure», *TIBS*, 147-151, abril 1984.
- Chothia, C.: «Principles that determine the structure of proteins», *Ann. Rev. Biochem.*, 53:537-572, 1984.
- Creighton, T. E.: *Proteins. Structures and Molecular Properties*, W. H. Freeman, Nueva York, 1984.
- Doolittle, R. F.: «Proteínas», *Investigación y Ciencia*, 111:54-64, 1985.
- Eisenberg, D.: «Three-dimensional structure of membrane and surface proteins», *Ann. Rev. Biochem.*, 53:595-623, 1984.
- Fersht, A. R.: «The Hydrogen Bond in Molecular Recognition», *TIBS*, 12:301-304, 1987.
- Iijima, H.; Dunbar, J. B., Jr., y Marshall, G. R.: «Calibration of effective Van der Waals Atomic Contact Radii for Proteins and Peptides», *Proteins*, 2:330-339, 1987.
- Krimm, S., y Bandekar, J.: «Vibrational Spectroscopy and Conformation of Peptides, Polypeptides, and Proteins», *Adv. Protein Chemistry*, 38:181-364, 1986.
- Lesk, A. M.: «Themes and contrasts in protein structures», *TIBS*, V-VII, junio 1984.
- Milner-White, E. J., y Poet, R.: «Loops, Bulges, Turns and Hairpins in Proteins», *TIBS*, 12:189-192, 1987.
- Pain, R.: «Protein Folding for Pleasure and for Profit», *TIBS*, 12:309-312, 1987.
- Paul, C., y Rosenbusch, J. P.: «Folding patterns of Porin and Bacteriorhodopsin», *EMBO J.*, 4:1593-1597, 1985.
- Richardson, J. S.: «The anatomy and taxonomy of protein structure», *Adv. Prot. Chem.*, 34:167-339, 1981.
- Rossmann, M. G., y Argos, P.: «Protein Folding», *Ann. Rev. Biochem.*, 50:497-532, 1981.
- Shulz, G. E., y Schirfmer, R. H.: *Principles of protein structure*, Springer-Verlag, Nueva York, 1979.
- Warren, G.: «Membrane Proteins: Structure and Assembly», *New Comprehensive Biochem.*, 6:215-257, 1981.
- Wüthrich, K., y Wagner, G.: «Internal dynamics of proteins», *TIBS*, 152-154, abril 1984.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Enzimas

EMILIO HERRERA

En un organismo vivo tienen lugar numerosas reacciones químicas, la mayoría de las cuales se encuentran funcionalmente interconectadas, constituyendo un sistema ordenado, intrínseco a la materia viva. Muchas de tales reacciones no pueden llevarse a cabo en las condiciones de pH y temperatura fisiológicas, por lo que necesitan de la presencia de *catalizadores específicos* de naturaleza proteica, las *enzimas*. Estas controlan la naturaleza de la reacción y la velocidad a la que se aproxima al equilibrio. Intervienen tanto en reacciones que requieren energía para llevarse a cabo, reacciones *endorgónicas*, como en las que desprenden energía, reacciones *exorgónicas*. El acoplamiento de dichas reacciones permite al organismo alcanzar una «compleja armonía» en la que, a pesar de su continua transformación, mantiene una composición «constante»; es decir, un *estado estacionario*.

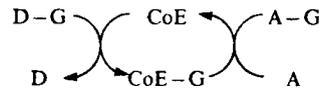
Las enzimas no difieren en cuanto a composición de aminoácidos del resto de proteínas. A su vez, su *acción catalítica* depende de la formación de enlaces o de interacciones moleculares semejantes a las establecidas en las reacciones orgánicas ordinarias entre aminoácidos y grupos prostéticos. Por ello, el estudio de las enzimas no es sino un caso particular del de las proteínas, cuya estructura ya hemos analizado en los capítulos anteriores.

Hay dos aspectos de la acción catalítica de las enzimas que conviene destacar: 1) al final de la reacción, la enzima mantiene su configuración inicial, y 2) la enzima no modifica la constante de equilibrio de una reacción ni las características termodinámicas del sistema, sino que hace que la reacción se aproxime más rápidamente al equilibrio. Es decir, afecta a la velocidad de reacción.

La *velocidad* de una reacción se define como la cantidad de material inicial, *sustrato*, transformado, o como la cantidad de compuesto final, *producto*, formado por unidad de tiempo. En una secuencia de reacciones, el producto de una de ellas puede constituir el sustrato de la siguiente, de forma que producto y sustrato llegan a confundirse, y reciben el nombre de *metabolitos intermedios*.

Como ya se ha mencionado, la enzima actúa como catalizador de la reacción «induciendo» un aumento de su velocidad. Ello ocurre por interacción entre sustrato y enzima; en primer lugar, el sustrato se une temporalmente a la enzima en el denominado *sitio de unión del sustrato*, constituido por unos cuantos aminoácidos. Así se consigue la aproximación que permite a los aminoácidos enzimáticos involucrados directamente en el proceso catalítico, y localizados en el *sitio catalítico*, interactuar con el sustrato en el lugar que va a ser transformado. La unión de la enzima con el sustrato puede ser covalente y suponer un cambio en la propia configuración estructural de la enzima, pero al final del proceso, cuando el

Se dan también casos en que la coenzima participa como un transportador intermediario en un sistema de reacciones, facilitando la transferencia del grupo correspondiente a un aceptor (A) último. En este caso, el esquema de la reacción sería:



Un ejemplo de este tipo de reacciones es el catalizado por las *transaminasas*, en que el fosfato de piridoxal (coenzima) participa en la transferencia del grupo amino de un aminoácido a un α -cetoácido (2-oxoácido).

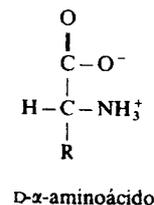
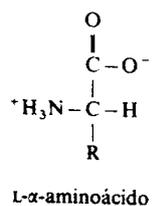
Todas las coenzimas son vitaminas hidrosolubles, cuyos aspectos estructurales y funcionales se describen en el capítulo 8, al que remitimos al lector para más información. Con el fin de simplificar la descripción de las enzimas y su cinética, en el presente capítulo se hará referencia a las coenzimas, considerándolas simplemente un segundo sustrato de la reacción.

SITIO CATALITICO Y ESPECIFICIDAD

La efectividad de la acción catalítica de una enzima radica en la capacidad de su estructura proteica para moldearse, lo que es posible de formas muy diversas. En la molécula enzimática existen «hendiduras» que constituyen los sitios activos, a través de los cuales difunden otras moléculas. Cuando una de estas moléculas (sustrato) reúne las características necesarias para su acoplamiento con la correspondiente hendidura (sitio de unión al sustrato), la proteína «se cierra» y coloca una serie de grupos químicos (cadenas laterales de los aminoácidos que constituyen el sitio catalítico) en la disposición geométrica adecuada para facilitar su interacción fisicoquímica (acción catalítica). Así pues, la unión del sustrato al sitio correspondiente de la molécula de enzima, desempeña un papel fundamental en la *especificidad enzimática*, ya que las cadenas laterales de los aminoácidos que constituyen dicho sitio sólo permiten el acoplamiento de compuestos con determinadas características estructurales.

La necesidad de esta interacción enzima-sustrato determina que una enzima sea capaz de catalizar únicamente la reacción de unos pocos sustratos, e incluso de uno solo; o en otros términos, sólo determinados compuestos pueden actuar como sustratos de una enzima. Esta especificidad es una característica fundamental de los sistemas biológicos, y constituye la clave para su control. De hecho, los cambios en la actividad de una enzima afectan a determinados compuestos o vías metabólicas, pero no a otros.

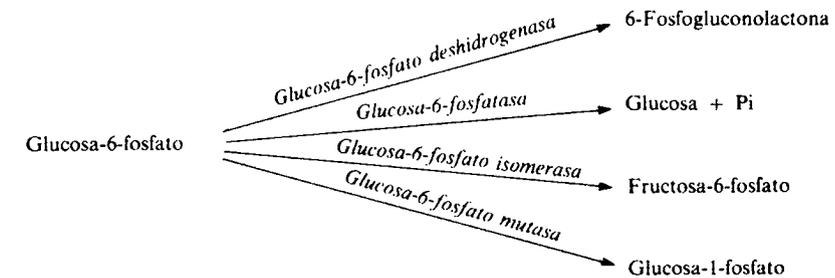
La especificidad enzimática puede referirse exclusivamente a la naturaleza del sustrato, en cuyo caso depende de la unión enzima-sustrato (E-S). En este caso, la enzima diferencia un compuesto de su isómero, como la forma L de la D de un mismo aminoácido:



En otros casos, la enzima diferencia un compuesto de otro con características estructurales muy semejantes. Un ejemplo es el caso de la *glucosa oxidasa*, que actúa sobre la D-glucosa pero no sobre la D-2-desoxiglucosa:



Existe también *especificidad de función*, que se refiere a que un mismo compuesto puede ser sustrato de varias enzimas, que lo modifican de distinta forma. En este caso la especificidad no depende de la unión E-S, sino de la acción catalítica de la enzima, es decir, de la interacción del sitio catalítico con el sustrato. Un ejemplo de la especificidad de función es el de las enzimas que transforman la glucosa 6-fosfato:



Asimetría de la unión enzima-sustrato

En la mayoría de los casos, el sustrato se une al sitio activo de la enzima de una forma asimétrica mediante un mínimo de tres puntos. Esto permite a la enzima diferenciar no sólo isómeros, sino entre dos átomos equivalentes dentro de una misma molécula simétrica. Puede explicarse este fenómeno considerando que la región de la enzima que une al sustrato es plana, aunque esto realmente es una excepción muy rara. En la figura 5.2 se muestra la molécula de un sustrato, el glicerol, que, a pesar de ser simétrica, puede ser presentada al sitio activo de la *glicerolquinasa*, enzima que lo transforma en L-glicerol-3-fosfato, como un átomo de carbono con 3 grupos distintos en el mismo plano. Si la interacción entre el sitio activo de la enzima y el sustrato se realiza de esta forma, resulta que la molécula del glicerol está siendo reconocida como asimétrica, a pesar de no serlo. Como consecuencia de ello, y debido a la diferencia entre los grupos -H y -OH del glicerol, la enzima sólo une a su sitio activo uno de los dos grupos hidroximetilos (-CH₂OH) de dicho sustrato, precisamente el de la posición 3. El resultado es que en la reacción catalizada por la *glicerolquinasa* se forma únicamente el

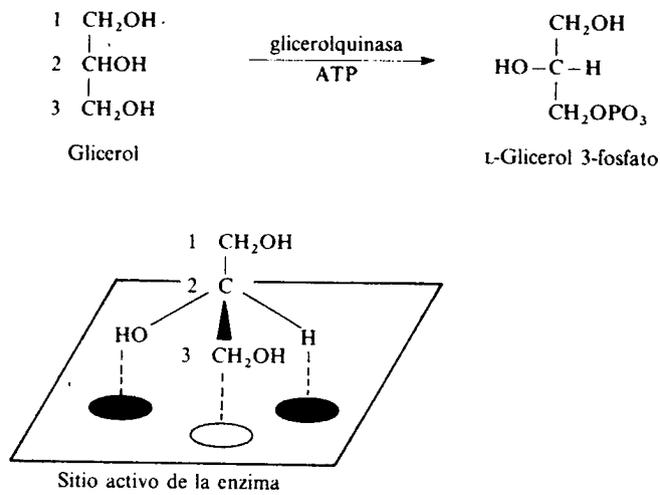


Figura 5.2. Representación de la reacción catalizada por la *glicerolquinasa* y de la unión asimétrica mediante tres puntos en un plano de su sustrato simétrico, el glicerol, al sitio activo de la enzima.

estereoisómero L-glicerol 3-fosfato. El mismo razonamiento puede utilizarse para explicar la transformación del piruvato, una molécula ópticamente inactiva, en L-lactato, y no en D,L-lactato, por acción de la *lactato deshidrogenasa*.

MECANISMO DE LA ACCION ENZIMATICA

Sitio catalítico y unión enzima-sustrato

El primer modelo de la acción catalítica de una enzima fue propuesto por Emil Fischer en 1894, quien consideró que se trataba de una interacción similar a la de una llave con su cerradura (fig. 5.3). En la actualidad este modelo está descartado, ya que supone una rigidez en el acoplamiento de la enzima con su sustrato, que no es compatible con la estructura flexible de las proteínas. A pesar de ello, el *modelo de la llave-cerradura* es aún útil para comprender algunas propiedades de las enzimas, tales como la unión secuencial de más de un sustrato o la cinética de saturación de la enzima frente a un sustrato.

En 1963, Koshland propuso una modificación del modelo de Fischer, denominado *modelo del ajuste inducido*, que fue recibido al principio con cierto escepticismo, pero que en la actualidad es ampliamente reconocido por contar con bastante apoyo experimental. Este modelo implica la flexibilidad del sitio catalítico, de

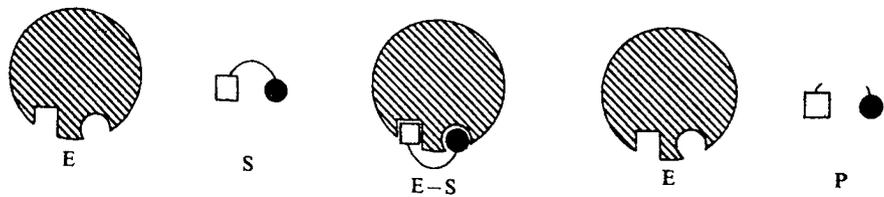


Figura 5.3. Representación de una reacción enzimática según el modelo de «llave-cerradura» propuesto por Fisher, donde E es la enzima, S, el sustrato, y P, el producto.

forma que el sustrato produce un cambio conformacional en la enzima. Dicho cambio permite que las cadenas laterales de determinados aminoácidos o de otros grupos de la molécula enzimática, o de los dos, adquieran la orientación espacial adecuada para la unión del sustrato, para llevar a cabo el proceso catalítico o para ambos procesos. En la figura 5.4 se representa esquemáticamente un ejemplo de este tipo de interacción. Las cadenas hidrofóbicas de aminoácidos del tipo de la fenilalanina (Phe), y los grupos cargados de los aminoácidos ácidos (por ejemplo, aspartato, Asp) participan en la unión del sustrato a la enzima, mientras que el grupo fosfórico de una fosfo-serina (P-Ser) y el hidroxilo de una treonina (Thr) participan en la acción catalítica. En ausencia de sustrato, los radicales de unión del sustrato y del sitio catalítico se encuentran distantes entre sí. Cuando aquél se aproxima a la enzima, induce un cambio conformacional en su estructura proteica, de modo que dichos radicales se colocan de la forma apropiada para permitir la unión del sustrato y la aproximación a éste de aminoácidos del sitio catalítico para llevar a cabo su función. Estos cambios espaciales modifican incluso la orientación de otras regiones de la molécula, y de ahí que dos aminoácidos que se encontraban distantes, lisina (Lys) y metionina (Met), se aproximen cuando el sustrato está unido a la enzima (fig. 5.4).

La secuencia de acontecimientos que tienen lugar en el ajuste inducido permite comprender también por qué compuestos análogos al sustrato pueden causar algunos cambios conformacionales en la enzima e incluso ocupar (o modificar) los sitios de unión del sustrato, impidiendo la acción catalítica de la enzima.

Grupos catalíticos

Las cadenas laterales de muchos aminoácidos proteicos constituyen factores catalíticos en las reacciones orgánicas ordinarias. A través del mismo mecanismo, dichos aminoácidos participan en la acción catalítica de las enzimas. Este es el caso de los aminoácidos cuyas cadenas laterales pueden ceder o aceptar protones [los radicales de histidina (His), lisina (Lys) y ácidos glutámico (Glu) y aspártico (Asp)], y que actúan de forma reversible como ácidos (capaces de ceder protones) o como bases (capaces de aceptar protones) (fig. 5.5).

Los radicales de otros aminoácidos pueden ceder electrones a grupos cuyos orbitales no están llenos, actuando como *nucleófilos*. Este es el caso de los aminoácidos con grupos hidroxilo o amino.

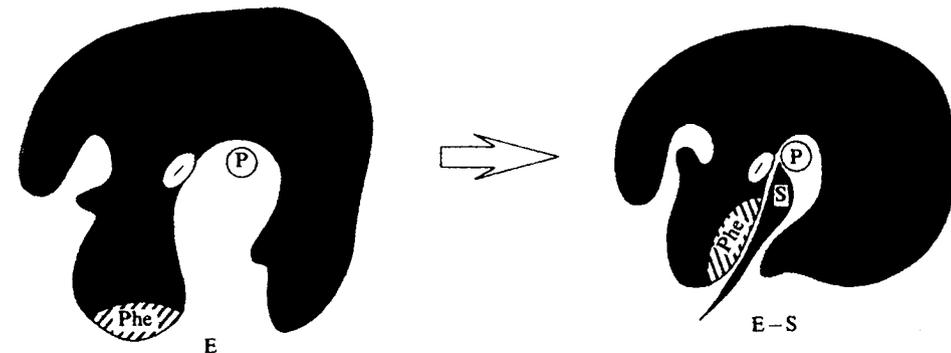


Figura 5.4. Representación del modelo de «ajuste inducido» propuesto por Koshland, que conlleva un cambio en la estructura de la enzima cuando el sustrato se une a ella.

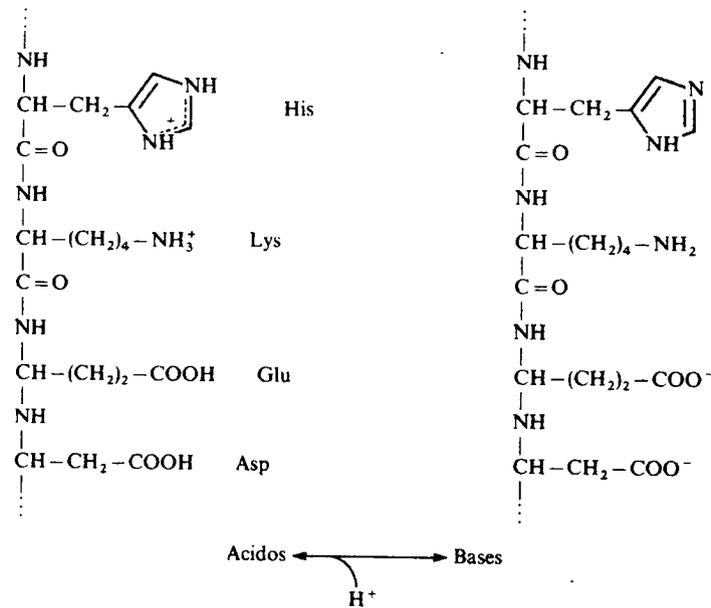


Figura 5.5. Intercambio reversible de protones en las cadenas laterales de algunos aminoácidos que actúan como *grupos catalíticos* en las moléculas de las enzimas.

Mecanismo general de la catálisis

La *efectividad catalítica* de las enzimas depende tanto de la capacidad de unión específica con el sustrato como de la presencia de grupos catalíticos. En una reacción ordinaria, un compuesto debe alcanzar una configuración energéticamente desfavorable para ser transformado. En otras palabras: un compuesto con un determinado nivel energético (*estado inicial*) debe alcanzar un nivel energético más alto (*estado de transición*), para ser transformado en un producto, con un nivel energético final (*estado final*), que normalmente es inferior al inicial (fig. 5.6). La formación del estado de transición representa una barrera energética (*energía de activación*), que debe ser aportada por el entorno para que la reacción tenga lugar. En la práctica, la energía de activación de las reacciones ordinarias se obtiene de un incremento de la temperatura o de un cambio de pH, entre otros factores.

En presencia de las enzimas, esta situación varía completamente. La unión de la enzima con el sustrato alcanza la mayor estabilidad cuando este último se encuentra en una forma intermedia de alta energía. Por consiguiente, la unión enzima-sustrato (E-S) llega a constituir el estado de transición, favoreciendo así que la reacción tenga lugar sin necesidad de un aporte energético ambiental. La energía de activación necesaria para alcanzar dicho estado de transición es, por tanto, inferior a la que se requeriría en caso de que no hubiera tenido lugar dicha unión enzima-sustrato (fig. 5.6). El complejo E-S tiene que atravesar una serie de barreras energéticas, que no son otra cosa que cambios conformacionales de la enzima a medida que tiene lugar su acción catalítica. La propia formación del producto y la adaptación de la enzima al mismo para su posterior difusión al medio conlleva la formación de un estado energético de transición. Estos cambios

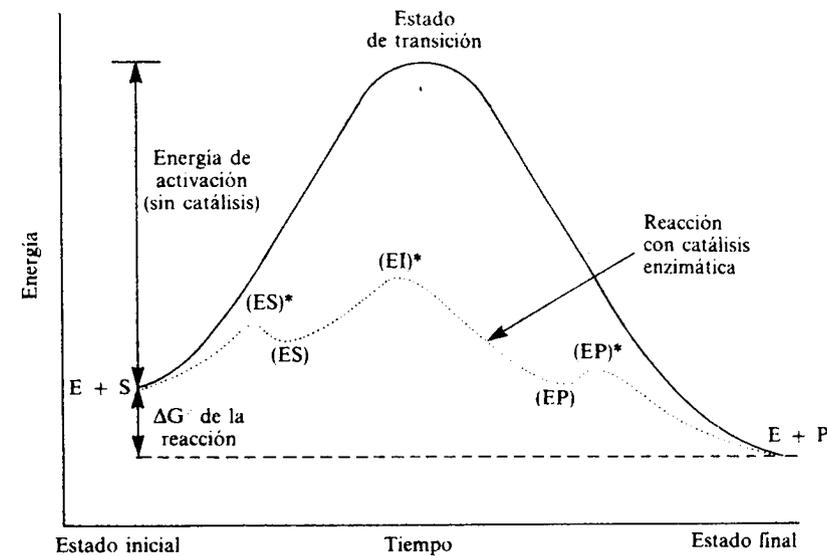


Figura 5.6. Cambios de energía libre de una reacción no-catalizada (línea de trazo grueso) y de la misma reacción con catálisis enzimática (línea de trazo fino). La diferencia de energía libre entre reactantes y productos es igual en ambas reacciones, pero la reacción catalizada por la enzima se realiza más fácilmente (e incluso a mayor velocidad) porque la energía de activación es menor. Se indican con asteriscos los estados de transición correspondientes a los complejos enzima-sustrato (E-S), enzima-compuesto intermedio (E-I) y enzima-producto (E-P).

se indican en la figura 5.6 por medio de asteriscos, aunque lógicamente ello supone una simplificación del proceso.

Cualquier reacción enzimática se lleva a cabo, por lo menos, a través de cinco etapas consecutivas:

- Reconocimiento de la enzima (E) por el sustrato (S).
- Formación del complejo enzima-sustrato (E-S).
- Transformación de este complejo en un complejo intermedio de transición (E-I)*, en el que se favorece la acción catalítica de la enzima.
- Formación del complejo enzima-producto (E-P).
- Disociación de este complejo en enzima y producto:



La energía del complejo EI* es superior a la de los complejos ES y EP, respectivamente, pero las correspondientes energías de activación que permiten convertir ES en EI y EI en EP son inferiores a la energía de activación de la misma reacción en ausencia de enzima (fig. 5.6).

Es importante tener en cuenta que la presencia de la enzima no modifica la energía del estado final de la reacción. Sin embargo, la acción catalítica de las enzimas presenta una serie de ventajas imprescindibles en las reacciones ocurridas en los seres vivos:

- La unión específica del sustrato a la enzima, además de reducir la reacción a unos cuantos compuestos, favorece la formación de un complejo que tiene una configuración más reactiva que la de sus componentes por separado.

2. Elimina la necesidad de colisión entre las dos o más moléculas que constituyen dicho complejo, favoreciendo, sin embargo, la disposición adecuada de la molécula del(de los) sustrato(s) para lograr su interacción con los grupos reactivos de las cadenas laterales de los aminoácidos del sitio catalítico.

3. Aporta los grupos de unión necesarios para la formación del(de los) producto(s).

Ejemplos de la acción catalítica de las enzimas

Las anteriores consideraciones no son suficientes para llegar a comprender el mecanismo de la acción enzimática. Vamos a describir dos ejemplos concretos de enzimas, cuya estructura y actividad catalítica es bien conocida, que servirán para clarificar el proceso.

1. *Ribonucleasa pancreática*. El número de esta enzima según la clasificación internacional de enzimas es el 3.1.27.5, y fue purificada por primera vez del páncreas bovino. Es una enzima de pequeño tamaño (124 aminoácidos), por lo que su estructura se conoce en detalle y su mecanismo de acción ha sido amplia-

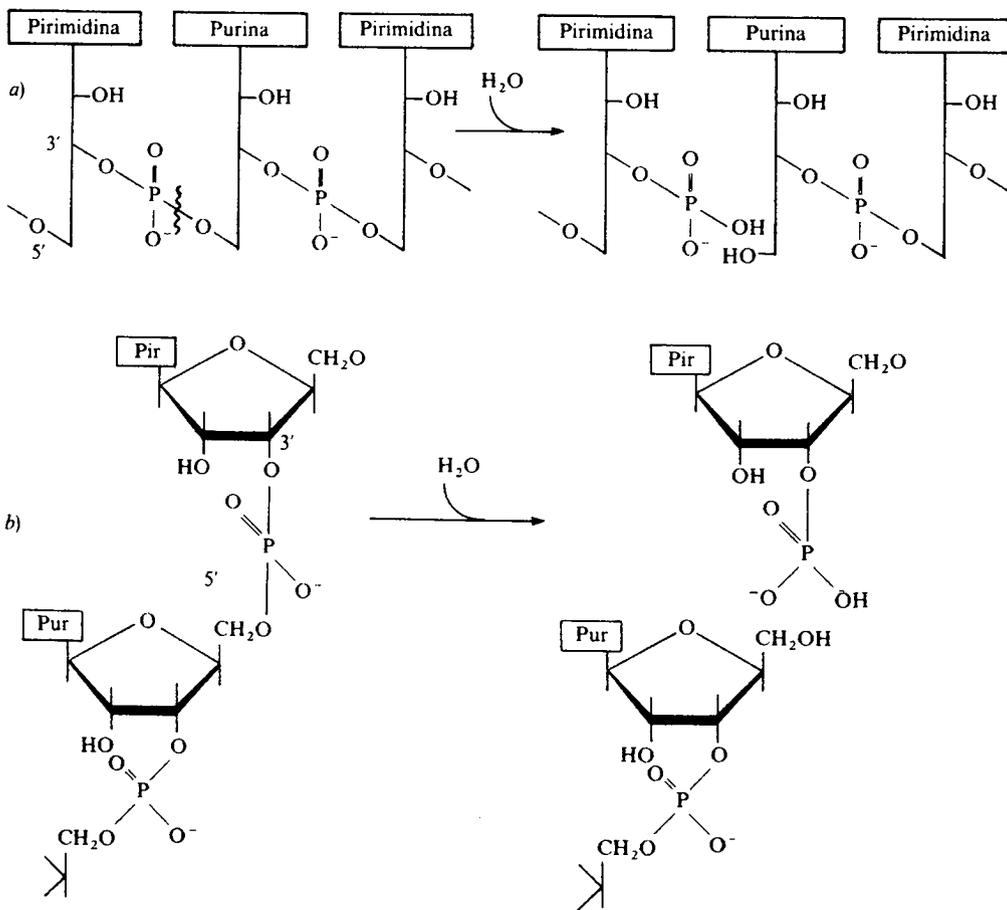


Figura 5.7. Efecto catalítico de la ribonucleasa sobre una molécula de ácido ribonucleico (RNA), representada en forma lineal, a), y espacial, b).

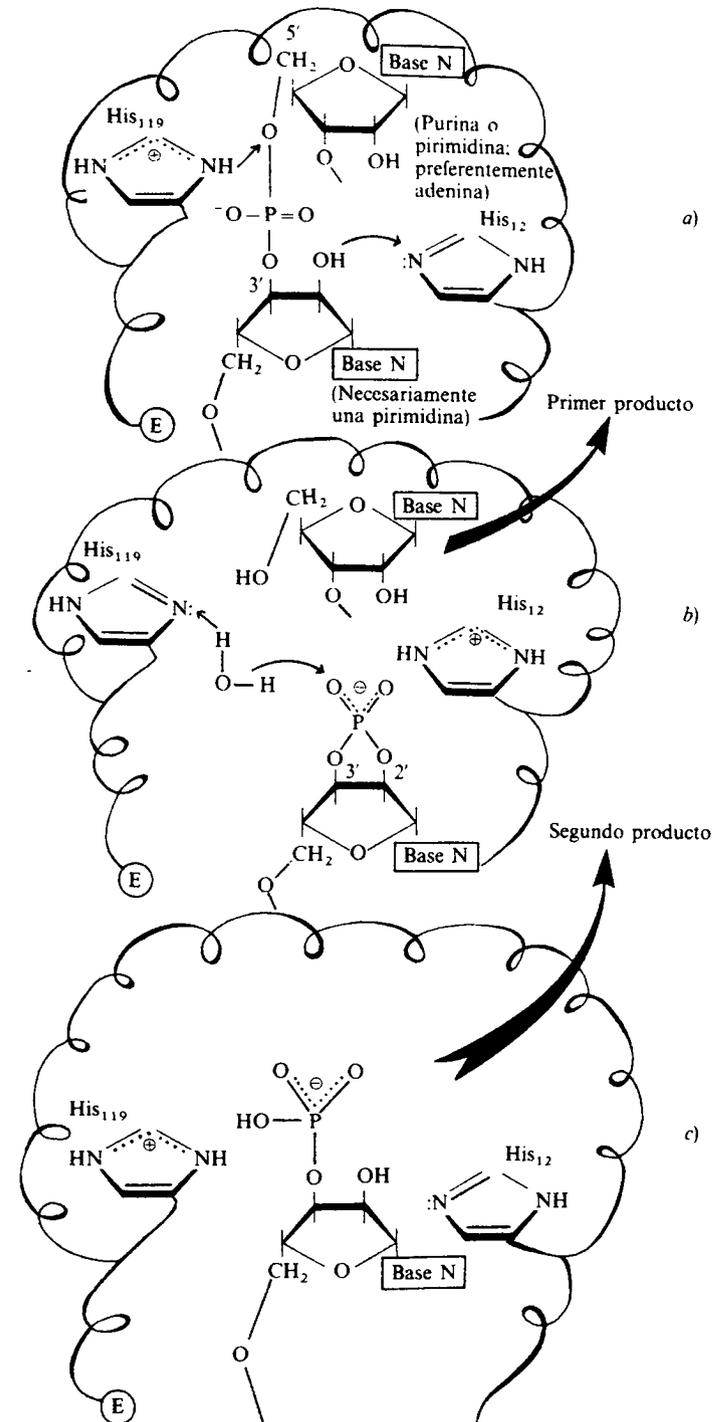


Figura 5.8. Pasos en la acción catalítica de la ribonucleasa pancreática. La especificidad de la enzima implica su acción hidrolítica sobre el éster 5'-fosfato de una parte del RNA en la que el grupo fosfato está, a su vez, unido al carbono 3' de un nucleótido de pirimidina (citidina o uridina). La unión 5' puede corresponder a cualquier nucleótido, pero la enzima es especialmente activa cuando dicho nucleótido corresponde a una adenosina.

mente estudiado, sirviendo incluso de modelo para el de otras enzimas. Se han identificado dos restos de histidina (His), que forman parte de su sitio catalítico (uno en la posición 12 y otro en la 119 de la estructura primaria de la enzima), si bien no puede excluirse la intervención de otros restos en el mecanismo catalítico. La *ribonucleasa* cataliza la hidrólisis de los enlaces 5'-3'-fosfodiéster de la molécula de RNA, formados entre un fosfato en posición 5' y un carbono en 3' de un nucleósido de pirimidina (citidina o uridina) (fig. 5.7).

Cuando el sustrato entra en la hendidura del sitio catalítico de la enzima (fig. 5.8), se aproxima a los dos aminoácidos histidina y se inicia un intercambio de protones. La His₁₂ gana un protón procedente del sustrato, mientras que la His₁₁₉ se lo cede (fig. 5.8.a). Este reajuste debilita la cadena del polinucleótido, que termina rompiéndose, dejando en libertad al primer producto de la reacción. El fragmento de RNA restante, que necesariamente debe contener un nucleósido pirimidínico, queda en forma de fosfodiéster 2',3'-cíclico. Las histidinas, que han cambiado de configuración durante este proceso, vuelven a su estado inicial al catalizar la rotura del intermediario cíclico mediante la incorporación de una molécula de agua (fig. 5.8.b). Esto se consigue sustituyendo el enlace establecido entre el grupo fosfórico y uno de los átomos de oxígeno de la ribosa (el oxígeno en posición 2') por el enlace con el oxígeno del hidroxilo de la molécula de agua. Queda así un protón libre, procedente de la molécula de agua, que es cedido a la His₁₁₉. Esta última tenía forma básica y, de esta manera, recupera su estado inicial, mientras que la His₁₂ también recupera su estado inicial al ceder al oxígeno en posición 2' de la ribosa el protón que había adquirido (fig. 5.8c). En consecuencia, se forma el segundo producto de la reacción, que difundirá del sitio catalítico, y se restablece la configuración enzimática inicial, que podrá actuar sobre una nueva molécula de sustrato.

2. *Serina proteasas*. Son un grupo de enzimas que reciben también el nombre general de *endopeptidasas* porque catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos internos de las moléculas de polipéptidos o proteínas. Además de su acción catalítica, todas ellas tienen en común la presencia de un aminoácido serina (Ser) en el sitio catalítico, cuyo grupo hidroxilo participa directamente en la reacción catalizada, formando un complejo acilado entre la enzima y una parte del sustrato. Las reacciones que participan en el proceso se resumen en la figura 5.9. La enzima y el sustrato se asocian para formar un complejo enzima-sustrato no-covalente, mediante fuerzas de atracción física. A continuación, el hidroxilo de la Ser₁₉₅ de la molécula de enzima reacciona con el sustrato, dando lugar a un complejo intermedio de tipo «tetraédrico», que es inestable y se colapsa para dar lugar a la forma acilada de la enzima, con liberación del primer producto de la reacción, que es un fragmento del sustrato con un grupo amino libre. La acil-enzima se hidroliza, dando lugar al complejo enzima-producto que, finalmente, libera el segundo producto de la reacción. Mediante estudios cristalográficos se ha podido conocer la estructura de la mayoría de los complejos intermedios del

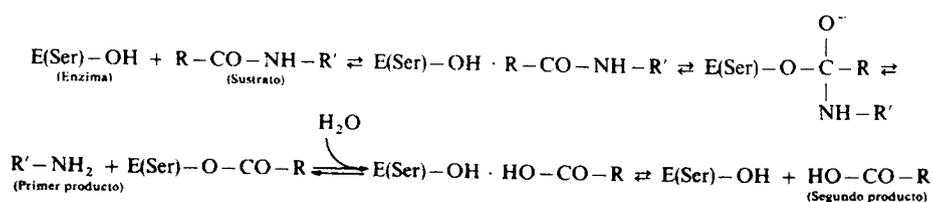


Figura 5.9. Etapas en la acción catalítica de una *serina proteasa* (enzima) en la hidrólisis del enlace peptídico de un polipéptido (sustrato).

proceso. En la figura 5.10 se muestran las estructuras de los sitios de unión a sus respectivos sustratos de dos enzimas de este tipo, la *quimotripsina* y la *elastasa*. En ella vemos que, además de la Ser₁₉₅, hay otros aminoácidos de la enzima que forman puentes hidrógeno con el sustrato. Las cadenas laterales de estos amino-

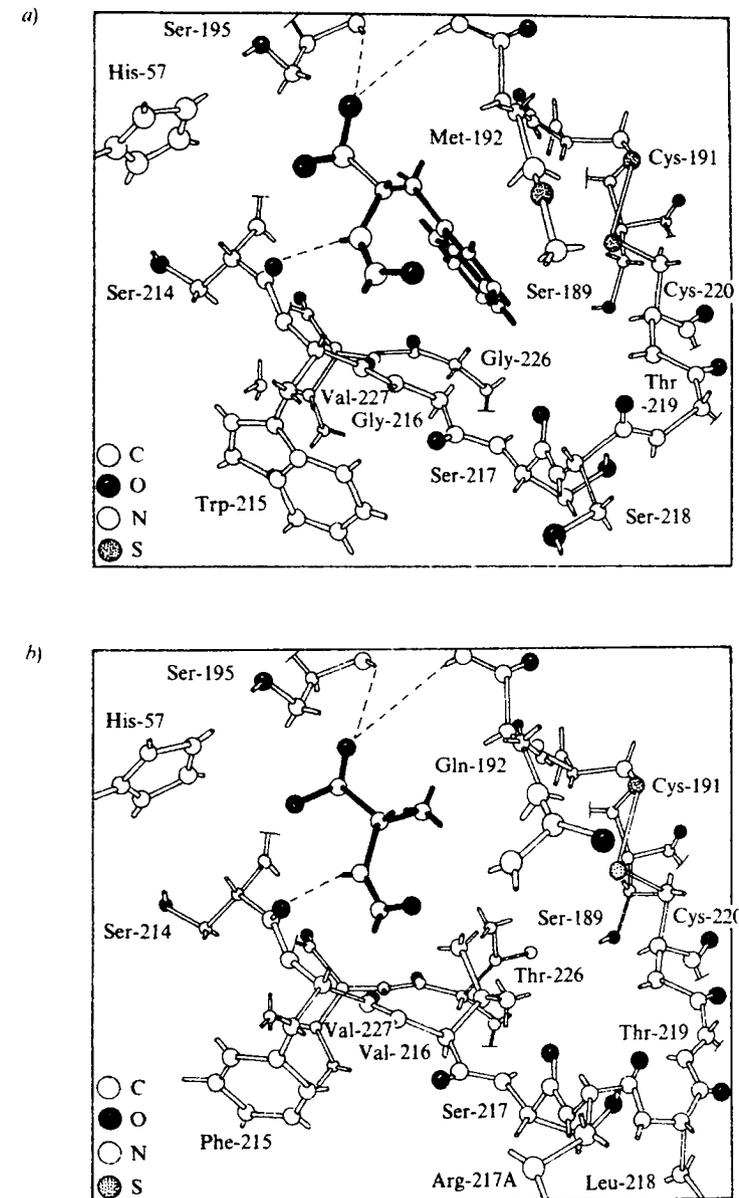


Figura 5.10. Comparación de la estructura de los sitios de unión de las enzimas con su sustrato en dos serina proteasas: a) la *quimotripsina* con el enlace peptídico del N-formil-L-triptófano, y b) la *elastasa* con un enlace peptídico de la N-formil-L-alanina. Además de apreciar la similitud de ambas estructuras enzimáticas, debe apreciarse que se forman puentes hidrógeno (líneas punteadas) entre el respectivo sustrato y la Ser₁₉₅, así como con otros aminoácidos que también participan en el proceso catalítico. (Tomado de A. Fersht: *Enzyme structure and mechanism*, W. H. Freeman and Co., Nueva York, 1985, pág. 20.)

ácidos intercambian protones con aquél, favoreciendo la acción nucleofílica del grupo hidroxilo de la Ser₁₉₅, que de esta forma cede más fácilmente su protón.

CLASIFICACION Y NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS

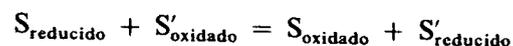
Hasta hace unos quince años, el nombre de las enzimas era establecido por su descubridor, y a veces era modificado posteriormente por otros investigadores. No existía más norma que el sufijo *asa* precedido del nombre del órgano de donde se había aislado (pancreas, del páncreas», del nombre del sustrato (proteasa, por actuar sobre proteínas), del tipo de reacción catalizada (hidrolasa, por catalizar la hidrólisis del sustrato) o del nombre del producto formado en la reacción catalizada por la enzima. Se llegó incluso a añadir el sufijo *asa* a nombres de fenómenos que no eran necesariamente catalizados por enzimas individuales (permeasa, replicasa, translocasa, reparasa, etc.).

Para evitar esta confusión, en 1956 la Unión Internacional de Bioquímica (IUB, International Union of Biochemistry) estableció un Comité de Nomenclatura, que ha desarrollado una nomenclatura sistematizada para todas las enzimas. Esta ha tardado en ser admitida universalmente, dado que estaba muy establecida la denominación común y trivial de muchas enzimas. Ello ha obligado a dicho Comité a revisar varias veces su propuesta; sus últimas recomendaciones se han publicado en 1984, y en ellas, al mismo tiempo que una clasificación sistemática de las enzimas, recomienda la utilización de un determinado nombre común, siempre que ello sea posible.

La IUB ha establecido un sistema por el que todas las enzimas se incluyen en seis clases. Cada una de ellas se subdivide en subclases, y éstas, a su vez, en sub-subclases. Cada clase, subclase y sub-subclase tiene asignado un número, y dentro de la última categoría, a cada enzima se le asigna también un número. De esta forma, todas las enzimas se identifican por un número de cuatro dígitos, así como un nombre sistemático que consta del nombre del(los) sustrato(s), seguido del tipo de reacción, terminado en *asa*. Así pues, cuatro dígitos corresponden a una enzima determinada, y su nombre sistemático permite identificar la reacción que cataliza. Por ejemplo, la enzima correspondiente al número 1.1.1.1 es la *alcohol:NAD⁺ óxido-reductasa*, ya que utiliza como sustrato un alcohol, como cosustrato (coenzima) el NAD⁺, y su acción catalítica es la oxidación del sustrato y la reducción del cosustrato. El nombre común recomendado por la propia IUB para esta enzima es *alcohol deshidrogenasa*, que se utiliza de forma generalizada a pesar de que es menos informativo que el sistemático. Lo mismo ocurre prácticamente con todas las enzimas, por lo que en la presente obra utilizaremos los nombres comunes recomendados por la IUB, si bien en algunos casos se acompañarán de su número o de su nombre sistemático, o de los dos, para una mejor identificación.

A continuación se presenta un resumen de las características específicas de las seis clases de enzimas reconocidas por la IUB, junto con los nombres de las subclases.

Clase 1. Oxido-reductasas. Son las enzimas que catalizan reacciones de óxido-reducción entre dos sustratos, S y S':



El sustrato que se oxida es un donador de hidrogeniones; el nombre sistemático de las enzimas de esta clase se construye como *donador:aceptor óxido-reducta-*

sa. El nombre recomendado por la IUB es el de *deshidrogenasas*, aunque puede utilizarse alternativamente el de *reductasas*. Alguna vez se denominan *oxidadas*, pero sólo cuando el aceptor es el oxígeno molecular.

Estas enzimas catalizan las óxido-reducciones de grupos CH–OH, CH–CH, C=O, CH–NH₂ y CH=NH, y en función de estos grupos se establecen las correspondientes subclases:

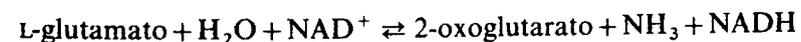
- 1.1. Actúan sobre grupos CH–OH como donadores de electrones.
- 1.2. Actúan sobre grupos aldehído u oxo como donadores de electrones.
- 1.3. Actúan sobre grupos CH–CH como donadores.
- 1.4. Actúan sobre grupos CH–NH₂ como donadores.
- 1.5. Actúan sobre grupos CH–NH como donadores.
- 1.6. Actúan sobre NADH o NADPH como donadores.
- 1.7. Actúan sobre compuestos nitrogenados como donadores.
- 1.8. Actúan sobre grupos sulfurados como donadores.
- 1.9. Actúan sobre grupos hemo como donadores.
- 1.10. Actúan sobre grupos difenoles y sustancias relacionadas como donadores.
- 1.11. Actúan sobre peróxido de hidrógeno como aceptor de electrones.
- 1.12. Actúan sobre hidrógeno como donador de electrones.
- 1.13. Actúan sobre donadores sencillos, con incorporación de oxígeno molecular (por ello se denominan oxigenasas).
- 1.14. Actúan sobre pares de donadores de electrones, con incorporación de oxígeno molecular.
- 1.15. Actúan sobre radicales superóxidos como aceptores de electrones.
- 1.16. Oxidan iones metálicos.
- 1.17. Actúan sobre grupos –CH₂–.
- 1.18. Actúan sobre ferredoxina reducida como donadora de electrones.
- 1.19. Actúan sobre flavodoxina reducida como donadora de electrones.
- 1.97. Subclase formada por otras óxido-reductasas no incluidas en las anteriores.

Algunos ejemplos de esta clase de enzimas son:

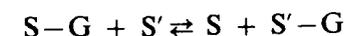
- 1.1.1.6. *Glicerol:NAD⁺ óxido-reductasa* (nombre recomendado por la IUB: *glicerol deshidrogenasa*). Cataliza la siguiente reacción:



- 1.4.1.2. *L-glutamato:NAD⁺ óxido-reductasa* (nombre recomendado: *glutamato deshidrogenasa*):



Clase 2. Transferasas. Son enzimas que transfieren un grupo (G) diferente del hidrógeno de un sustrato (S) a otro (S'):



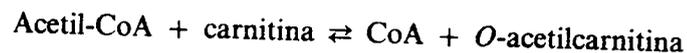
Los grupos transferidos son muy diversos y, de acuerdo con ellos, se han establecido las correspondientes subclases:

- 2.1. Transfieren grupos de un carbono.
- 2.2. Transfieren residuos de aldehídos o cetonas.

- 2.3. Transfieren grupos acilos (por ello reciben el nombre de aciltransferasas).
- 2.4. Transfieren grupos glucosílicos (se denominan glucosil transferasas).
- 2.5. Transfieren grupos alquilo o arilos.
- 2.6. Transfieren grupos nitrogenados.
- 2.7. Transfieren grupos que contienen fósforo.
- 2.8. Transfieren grupos que contienen azufre.

Son ejemplos de esta clase las siguientes enzimas:

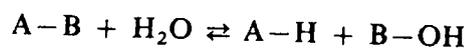
- 2.3.1.7. *Acetil-CoA:Carnitina O-acetil transferasa* (nombre recomendado: *carnitina acetil transferasa*):



- 2.7.1.1. *ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa* (nombre recomendado: *hexoquinasa*):



Clase 3. Hidrolasas. Estas enzimas catalizan la ruptura hidrolítica de uniones C-O, C-N, C-C, anhídridos fosfóricos, etc.:

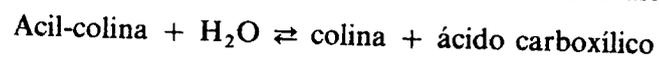


Las subclases de las hidrolasas son:

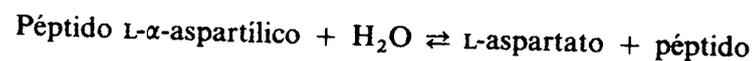
- 3.1. Actúan sobre enlaces ésteres.
- 3.2. Glucosidasas (hidrolizan enlaces glucosídicos).
- 3.3. Actúan sobre enlaces éter.
- 3.4. Actúan sobre enlaces peptídicos (péptidos hidrolasas).
- 3.5. Actúan sobre enlaces C-N distintos de los peptídicos.
- 3.6. Actúan sobre anhídridos de ácidos.
- 3.7. Actúan sobre enlaces C-C.
- 3.8. Actúan sobre enlaces de haluros.
- 3.9. Actúan sobre enlaces P-N.
- 3.10. Actúan sobre enlaces S-N.
- 3.11. Actúan sobre enlaces C-P.

Como ejemplos de esta clase tenemos:

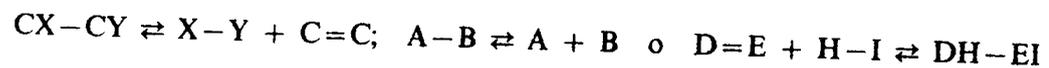
- 3.1.1.8. *Acilcolina acilhidrolasa* (nombre recomendado: *colinesterasa*):



- 3.4.11.7. *L- α -aspartil (L- α -glutamil)-péptido hidrolasa* (nombre recomendado: *aminopeptidasa A*):



Clase 4. Liasas. Son enzimas que catalizan la liberación de grupos de los enlaces C-C, C-O, C-N o similares del sustrato, dando lugar a la formación de dobles enlaces, sin la participación de hidrólisis u oxidación. De forma inversa, también catalizan la inclusión de grupos a los dobles enlaces:

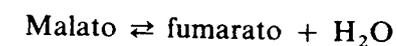


Las subclases son:

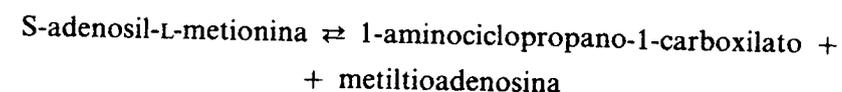
- 4.1. Liasas de enlaces C-C.
- 4.2. Liasas de enlaces C-O.
- 4.3. Liasas de enlaces C-N.
- 4.4. Liasas de enlaces C-S.
- 4.5. Liasas de enlaces C-Haluro.
- 4.6. Liasas de enlaces P-O.
- 4.99. Otras liasas no incluidas en las anteriores subclases.

Como ejemplos de esta clase tenemos:

- 4.2.1.2. *Malato hidrolasa* (nombre recomendado: *fumarato hidratasa* o *fumarasa*):



- 4.4.1.14. *S-adenosil-L-metionina metiltioadenosina liasa* (nombre recomendado: *1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa*):

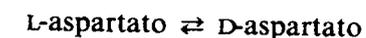


Clase 5. Isomerasas. Estas enzimas catalizan cambios geométricos, ópticos o estructurales (isómeros de posición) de una molécula. De acuerdo con el tipo de isomería que catalizan, pueden denominarse *racemasas*, *epimerasas*, *cis-trans-isomerasas*, *tautomerasas*, *mutasas* o *ciclo-isomerasas*. Las subclases son:

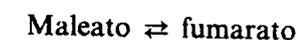
- 5.1. Racemasas y epimerasas.
- 5.2. Cis-trans-isomerasas.
- 5.3. Oxidorreductasas intramoleculares.
- 5.4. Transferasas intramoleculares.
- 5.5. Liasas intramoleculares.
- 5.99. Otras isomerasas (constituye una subclase de miscelánea).

Como ejemplos tenemos:

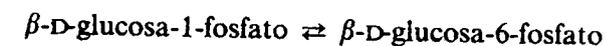
- 5.1.1.13. *Aspartato racemasa* (con el mismo nombre recomendado: *aspartato racemasa*), que cataliza la transformación:



- 5.2.1.1. *Maleato cis-trans-isomerasa* (nombre recomendado: *maleato isomerasa*):



- 5.4.2.6. *β -L-glucosa-1,6-fosfomutasa* (nombre recomendado: *β -fosfoglucomutasa*):



Clase 6. Ligasas. Catalizan la unión de dos moléculas, acoplada a la hidrólisis de un enlace pirofosfato perteneciente a una molécula de ATP o a un

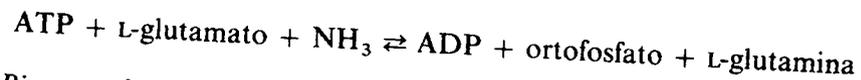
compuesto similar. Normalmente, en el proceso se forma (o se hidroliza) un enlace rico en energía. En esta clase se incluyen las denominadas *sintetasas*, pero en muchos casos este nombre ha sido mal aplicado a enzimas que catalizan reacciones distintas de las ligasas, como son las de síntesis que no conllevan hidrólisis de un enlace fosfórico rico en energía (por ejemplo, la *glucógeno sintetasa*). Para evitar esta confusión, a dichas enzimas se les conoce con el nombre de *sintasas*. El tema es aún confuso, ya que, aunque en la nomenclatura de la IUB la mayoría de las sintetasas se incluyen en la clase 4 (lietasas) y las sintetasas en la de las ligasas, hay algunas, como la propia *glucógeno sintasa*, que pertenece a la clase 2 (transferasas): 2.4.1.11. Para evitar esta confusión, el Comité de Nomenclatura de la IUB propuso en 1983 reemplazar el uso de *sintetasa* por el de *X-Y ligasa*, y en caso de que algún autor continúe con la anterior denominación, ésta debe estar restringida a las enzimas de la clase 6 (ligasas).

En esta clase se incluyen las siguientes subclases:

- 6.1. Forman enlaces C-O.
- 6.2. Forman enlaces C-S.
- 6.3. Forman enlaces C-N.
- 6.4. Forman enlaces C-C.
- 6.5. Forman enlaces de ésteres fosfóricos.

Como ejemplos pueden citarse:

- 6.3.1.2. *L-glutamato:amonió ligasa* (nombre recomendado: *glutamato-amonió ligasa*):



- 6.4.1.1. *Piruvato:dióxido de carbono ligasa* (nombre recomendado: *piruvato carboxilasa*):



ISOENZIMAS

Muchas enzimas están distribuidas ampliamente entre las distintas células del organismo y, aunque catalizan las mismas reacciones químicas específicas, suelen presentar características físicas, bioquímicas e inmunológicas distintas, dependiendo de su procedencia. De hecho, aunque la estructura del sitio activo de enzimas con la misma especificidad sea igual (o muy similar) de unas a otras, no son proteínas idénticas, sino que, dependiendo de su origen, es probable que la secuencia de aminoácidos de fragmentos de sus cadenas peptídicas difieran considerablemente. A estas variantes de enzimas que realizan la misma acción catalítica, pero que presentan diferentes formas moleculares dentro de una misma especie, se les denomina *isoenzimas* o *isozimas*.

En algunos casos, dichas isoenzimas se deben a la modificación por factores que cambian la carga iónica o la conformación de enzimas codificadas por un mismo gen, dependiendo de la célula de procedencia. No obstante, pueden formarse también a partir de más de un gen. Este es el caso, por ejemplo, de la *lactato deshidrogenasa* (LDH), que se sintetiza a partir de dos genes individuales distintos, que dan lugar a polipéptidos con diferencias estructurales importantes, pero con la misma actividad catalítica. En este caso, la enzima se configura como un

tetrámero formado por dos subunidades distintas. Una de estas subunidades polipeptídicas se encuentra preferentemente en el corazón (la denominada subunidad H, por el nombre inglés de corazón), mientras que la otra se encuentra en músculo (subunidad M). Sólo la molécula tetramérica de la LDH es activa, y dichas subunidades (protómeros) pueden aparecer combinadas de cinco formas distintas, dependiendo del tejido de que se trate:

HHHH	(LDH-1, o isoenzima del corazón)
HHHM	(LDH-2)
HHMM	(LDH-3)
HMMM	(LDH-4)
MMMM	(LDH-5, o isoenzima del músculo)

Además de su distinta distribución entre los tejidos y sus diferencias estructurales, y aunque las dos subunidades catalizan la reducción reversible del piruvato a lactato, presentan también características funcionales distintas. Así, la LDH-5 (de músculo esquelético) tiene una alta efectividad catalítica sobre el piruvato, favoreciendo así la conversión del que se produce en la glucólisis anaerobia a lactato. Sin embargo, la LDH-1 (de corazón) es de menos afinidad sobre el mismo sustrato, e incluso es inhibida por un exceso del propio piruvato. De esta forma el músculo cardíaco, que tiene metabolismo aerobio activo, canaliza el piruvato formado a partir de glucosa hacia su oxidación completa a CO_2 y H_2O , en vez de hacia la formación de lactato.

Además de su importancia funcional en el metabolismo de determinados tejidos, las isoenzimas son también importantes en el diagnóstico clínico diferencial. Su distribución en tejidos específicos permite diagnosticar el daño de los mismos cuando aparecen en sangre. Este tema se tratará con más detalle en el capítulo 7; aquí nos limitaremos a indicar que, precisamente por sus diferencias estructurales y funcionales, resulta fácil identificarlas y analizarlas. Al poseer distinta carga, las isoenzimas migran a diferente velocidad en un determinado campo eléctrico, por lo que se separan con facilidad por electroforesis. Asimismo, pueden identificarse por su diferente estabilidad al calor, resistencia a agentes químicos o afinidad a los sustratos, las coenzimas o ambos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bernhard, S. A.: *Estructura y función de las enzimas*, H. Blume Edit., Madrid, 1977.
- Boyer, P. D. (ed.): *The enzymes* (vol. I-XIX), Academic Press, Nueva York y Londres, 1970-1990.
- Bergmeyer, H. U.: *Methods of enzymatic analysis* (vol. I-XII), Verlag Chemie, Weinheim, 1983-1986.
- Enzyme Nomenclature, International Union of Biochemistry, Academic Press, Inc., Nueva York y Londres, 1984.
- Fersht, A.: *Enzyme structure and mechanism*, W. H. Freeman and Co., Nueva York, 1985.
- Koshland, D. E.: «Protein shape and biological control», *Scientific American*, 229:52-64, 1973.
- Koshland, D. E.; Nemethy, G., y Eilmer, D.: «Comparison of experimental binding data and theoretical models in protein containing subunits», *Biochemistry*, 5:365-385, 1966.
- Srere, P. A.: «Why are enzymes so big?», *TIBS*, septiembre, págs. 387-390, 1984.
- Tsou, C.: «Location of the active sites in some enzymes, in limited and flexible molecular regions», *TIBS*, octubre, págs. 427-429, 1986.
- Walsh, Ch.: *Enzymatic reactions mechanisms*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1979.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Cinética enzimática

EMILIO HERRERA

La *cinética de una reacción química* estudia la velocidad del cambio del estado inicial de los reactantes y productos a su estado final, y los factores que la modifican. Dado que las enzimas afectan la velocidad de las reacciones químicas, la aplicación de los principios básicos de la cinética a las reacciones catalizadas por enzimas constituye la *cinética enzimática*. La *velocidad* de una reacción puede definirse como el cambio de la concentración de sustrato o de producto por unidad de tiempo, mientras que la *tasa* es el cambio cuantitativo total (moléculas o gramos) por unidad de tiempo. Estos dos términos son diferentes, pero los bioquímicos los utilizamos de forma indistinta.

Hay muchos factores que afectan la velocidad de una reacción enzimática; entre ellos cabe destacar los siguientes: la concentración de la enzima, la del sustrato, la del complejo enzima-sustrato, la del producto y la de los activadores e inhibidores, la fuerza iónica del medio, el pH y la temperatura. Para estudiar la cinética de una enzima, los distintos componentes de la reacción se añaden a un recipiente (cubeta de reacción) en cantidad suficiente, y se establecen las condiciones óptimas de temperatura (mediante un termostato) y de pH (mediante la adición de una solución amortiguadora). Sin embargo, el factor que se desea estudiar se mantiene como variable, y los cambios en el mismo repercutirán en la velocidad de la reacción. De esta forma es posible conocer en qué medida dicho factor afecta a la reacción y establecer las correspondientes relaciones. Por ejemplo, si se quiere determinar la actividad catalítica de una enzima, se ponen en la cubeta de reacción todos los factores que participan en ella (sustrato, cosustrato, coenzima, etc.) en exceso, a excepción de la enzima. La adición de una cierta cantidad de ésta hará que la reacción se desarrolle a determinada velocidad, que dependerá precisamente de la actividad de la enzima, ya que es el único factor limitante del proceso. De igual forma podemos hallar la concentración de un determinado sustrato en una «muestra problema»; para ello colocamos la enzima y todos los demás factores en exceso, a excepción del sustrato. La adición del «problema» a la cubeta de reacción dará una velocidad que es función de la concentración del sustrato en dicha «muestra problema». De esta forma, manteniendo constantes todos los componentes y factores que afectan la velocidad de la reacción, y manteniendo variable el componente o factor que deseamos evaluar, se consigue estudiar los principios de la cinética enzimática y aplicarlos no sólo a la

bioquímica básica, sino también al diagnóstico clínico y al uso de las enzimas como reactivos insustituibles de laboratorio (véase capítulo 7).

Para comprender los aspectos fundamentales de la cinética enzimática hay que revisar algunos conceptos básicos, que se comentan a continuación.

VELOCIDAD DE LA REACCION Y FACTORES QUE LA AFECTAN

Velocidad de la reacción

La velocidad (v) de una reacción enzimática ($S \rightarrow P$) viene dada por el cambio en la concentración del sustrato $[S]$ o del producto $[P]$ en función del tiempo. Si colocamos en una cubeta todos los componentes iniciales de una reacción y vamos aumentando la concentración de sustrato ($S_1 < S_2 < S_3 < S_4$), al representar gráficamente la aparición del(de los) producto(s) obtendremos curvas como las que se muestran en la figura 6.1, en la que hay varios aspectos interesantes: por un lado, se observa que la cantidad de producto (P) formado en función del tiempo aumenta progresivamente a medida que se eleva la concentración de sustrato. Durante los primeros instantes, la velocidad de la reacción permanece constante (las líneas son rectas); es la *velocidad inicial de la reacción* que, en la gráfica, corresponde cuantitativamente a la pendiente del fragmento rectilíneo de cada línea, y que aumenta a medida que se eleva la concentración de sustrato. Es decir, la velocidad inicial de una reacción enzimática es proporcional a la concentración del sustrato.

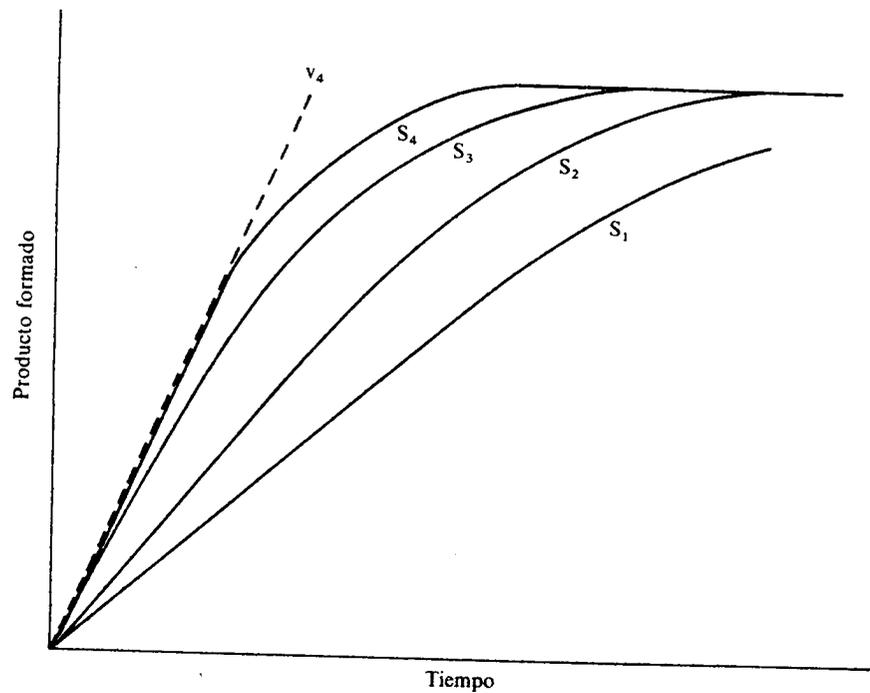


Figura 6.1. Formación del producto en función del tiempo en una reacción enzimática que se lleva a cabo con concentraciones crecientes de sustrato ($S_1 < S_2 < S_3 < S_4$). La velocidad inicial de la reacción corresponde a la pendiente de la parte recta de cada línea, y en la gráfica se ha representado el correspondiente a S_4 (v_4).

Por otro lado, también se observa que, a partir de un determinado momento, ya no aumenta la cantidad de producto formado; es decir, la velocidad de la reacción disminuye a partir de un cierto momento, llegando a igualarse a cero. En este punto se dice que la reacción ha alcanzado el *equilibrio*. Puesto que la velocidad de la reacción es mayor cuanto más elevada es la concentración de sustrato, dicho equilibrio se alcanza antes con concentraciones de sustrato altas que con concentraciones bajas.

Matemáticamente, la velocidad de la reacción se expresa como

$$v = \frac{-d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

que no es sino la variación de la concentración del(de los) sustrato(s) o del(de los) producto(s) por unidad de tiempo.

FACTORES QUE AFECTAN A LA VELOCIDAD DE REACCION

Efecto de la temperatura

Dentro de un determinado margen, la velocidad de las reacciones enzimáticas aumenta al elevarse la temperatura. Se denomina *coeficiente de temperatura*, Q_{10} , al incremento producido en dicha velocidad al aumentar la temperatura 10°C , y

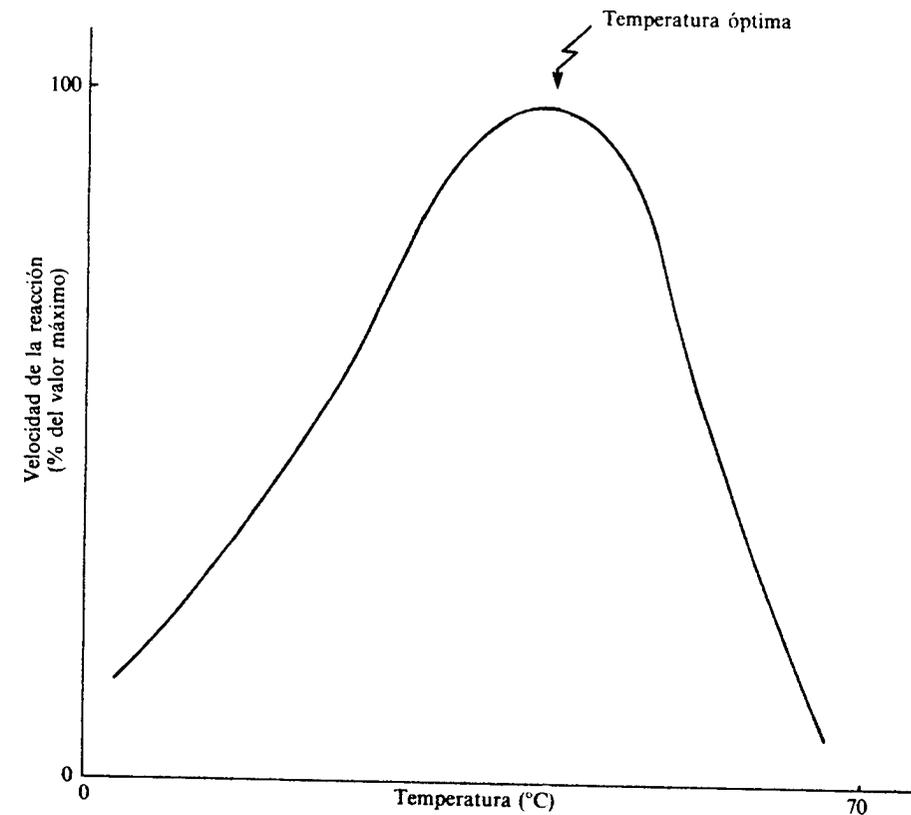


Figura 6.2. Efecto de la temperatura sobre la velocidad de una reacción enzimática.

se expresa como la relación de las velocidades a cada una de las *temperaturas* (por ejemplo, velocidad de la reacción a 30 °C/velocidad a 20 °C):

$$Q_{10} = \frac{\text{Velocidad de la reacción a } 30\text{ }^{\circ}\text{C}}{\text{Velocidad de la reacción a } 20\text{ }^{\circ}\text{C}}$$

En la figura 6.2, en la que se representa la velocidad de una reacción enzimática frente a la temperatura, se observa que el incremento de la velocidad en respuesta a la temperatura llega a un límite por encima del cual se produce un rápido descenso. La temperatura a la que se alcanza ese valor máximo se denomina *temperatura óptima*, y suele corresponder a un valor similar o superior al del interior de la célula, donde se encuentra la enzima. En las enzimas de algunos microorganismos las temperaturas óptimas llegan a alcanzar valores próximos a 100 °C.

La aceleración de la reacción producida por incrementos de temperatura que no superan la temperatura óptima resulta del aumento de la *energía cinética* de las partículas que reaccionan. De hecho, puesto que en la acción enzimática se requiere el «choque efectivo» de las moléculas de sustrato con las de enzima, un aumento de dicha energía cinética supone también un aumento del movimiento de las moléculas, lo que facilita la efectividad del «choque». A temperaturas más elevadas, la energía cinética de la molécula de enzima aumenta tanto que llega a exceder la barrera energética que mantiene su estructura catalíticamente activa. La enzima pierde su estructura terciaria y secundaria (es decir, se desnaturaliza), y su actividad catalítica desaparece irreversiblemente.

Efecto del pH

Como se aprecia en la figura 6.3, la representación del cambio de pH del medio frente a la velocidad de la reacción enzimática produce una gráfica semejante a la de la temperatura. Pequeños cambios en el pH influyen sobre la situación iónica de la enzima y del sustrato; existe también un *pH óptimo*, que corresponde al que facilita una máxima eficacia en la interacción entre ambas moléculas. La forma acampanada de la figura se debe, en primer lugar, a que a valores muy bajos o muy altos de pH la enzima se desnaturaliza, como le ocurre a cualquier proteína (capítulo 4). En segundo lugar, a que un cambio de pH afecta a la carga de la molécula de la enzima, del sustrato, o de los dos, modificando el proceso de catálisis, la eficacia de unión del sustrato a la enzima o ambos procesos. En consecuencia, un cambio de pH hace que aumente o disminuya la eficiencia catalítica de la enzima y, por tanto, la velocidad de la reacción.

Veamos un ejemplo que facilite la comprensión de este efecto. Consideremos que la máxima interacción entre una enzima determinada y su sustrato se produce cuando la primera tiene una carga global negativa (E^-) y el segundo carga positiva (SH^+). Si el pH es bajo, la enzima se comporta como una base: $E^- + H^+ \rightarrow EH$, perdiendo así su capacidad para interactuar con el sustrato. Si el pH es alto, el sustrato se comporta como un ácido: $SH^+ \rightarrow S + H^+$, pierde su carga positiva y, en consecuencia, disminuye también su unión a la enzima. Por tanto, existe sólo un margen de pH (correspondiente al interior de la campana en la fig. 6.3) en el que la enzima y el sustrato poseen un estado iónico adecuado para interactuar, y la interacción óptima corresponde precisamente al pH del punto más alto de la gráfica (fig. 6.3).

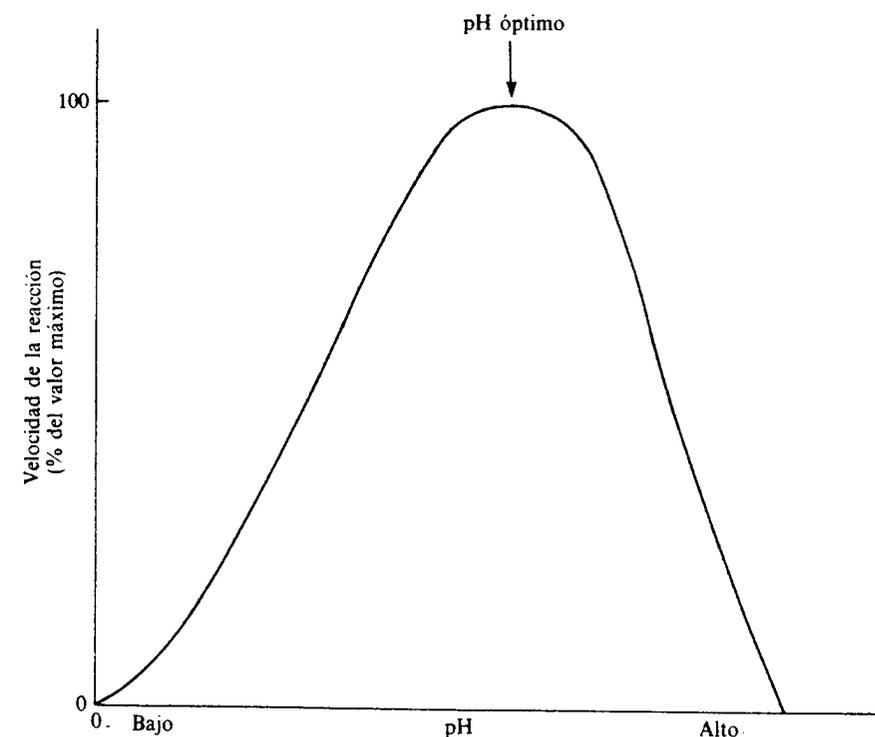
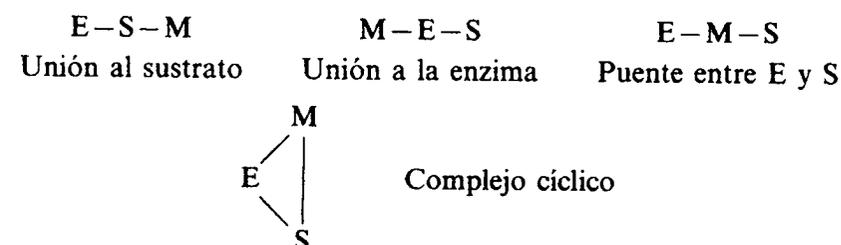


Figura 6.3. Efecto del pH sobre la velocidad de una reacción enzimática.

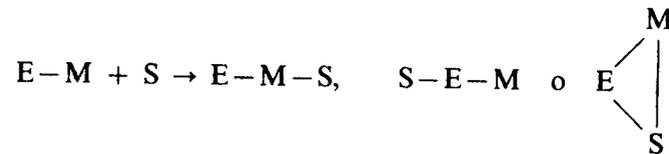
Por otro lado, para mantener la estructura terciaria y cuaternaria de la molécula de enzima, es frecuente que zonas diferentes del sitio catalítico, e incluso alejadas de él, requieran una determinada carga. Un cambio de ésta, producido por una variación del pH, puede modificar dicha estructura, ocasionando pérdida de la actividad enzimática.

Papel de los iones metálicos

Muchas enzimas poseen un ion metálico en su estructura, que necesitan para ser activas. Cuando el ion metálico permanece unido a la enzima tras su purificación, ésta se denomina *metaloenzima*; si la unión del metal es más débil, pero la enzima es inactiva en su ausencia, se denomina *enzima activada por metal*. En los dos casos, el ion metálico puede participar en el proceso catalítico formando un complejo ternario (enzima (E), ion metálico (M) y sustrato (S)), según una de las cuatro posibilidades siguientes:



Estas cuatro posibilidades sólo existen en realidad en el caso de las enzimas activadas por metales; en el caso de las metaloenzimas no es posible el complejo E-S-M, pues el complejo ternario tiene que formarse necesariamente por la combinación del sustrato con el complejo binario E-M:



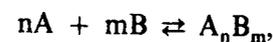
Una misma enzima puede formar uno de estos complejos con un sustrato determinado y un complejo diferente con otro sustrato. En cualquier caso, los iones metálicos, debido a sus características fisicoquímicas, pueden participar en la actividad enzimática a través de cualquiera de los mecanismos conocidos de *aceleración de la velocidad* de las reacciones químicas: catálisis ácido-base, catálisis covalente, facilitación de la aproximación de las moléculas que reaccionan o inducción de la configuración molecular adecuada en la estructura de la enzima o del sustrato.

EQUILIBRIO DE LAS REACCIONES ENZIMATICAS

Efecto de la concentración de los reactantes sobre la velocidad de la reacción y constante de equilibrio

En cualquier reacción química, al aumentar la concentración de los reactantes aumenta la frecuencia de colisión entre sus moléculas y, por tanto, la velocidad de la reacción. Así, para la reacción $A + B \rightarrow AB$, al multiplicar por dos la concentración de uno de los reactantes (A o B), se duplica la velocidad de la reacción. A su vez, la duplicación de los dos reactantes aumentará en cuatro veces la probabilidad de colisión entre ellos (y, por tanto, la velocidad de la reacción). Este principio es general para todas las reacciones químicas, y en consecuencia, también para las catalizadas por enzimas, y puede enunciarse como sigue: *la velocidad de una reacción es proporcional a las concentraciones de las moléculas que reaccionan*. Para la reacción $A + B \rightarrow AB$, la velocidad (v) es proporcional al producto de las concentraciones de A y B ($v \propto [A][B]$). Para la reacción $A + 2B \rightarrow A + B_2$, $v \propto [A][B]^2$, y en general para cualquier reacción con n moléculas del reactante A y m del B: $nA + mB \rightarrow A_nB_m$, $v \propto [A]^n[B]^m$.

Otro concepto importante es la *reversibilidad* de las reacciones químicas. La velocidad hacia uno u otro sentido depende no sólo de las concentraciones respectivas de los reactantes, sino también de una constante que es característica para cada dirección de la reacción, y que no es sino la expresión de la afinidad mutua de dichos reactantes. Teniendo en cuenta esta constante, puede sustituirse el signo de proporcionalidad por el de igualdad en la expresión de la velocidad. Así, para la reacción



la velocidad hacia la derecha (v_d) será: $v_d = k_d[A]^n[B]^m$, y la velocidad hacia la izquierda $v_i = k_i[A_nB_m]$, donde k_d y k_i son las correspondientes constantes de la reacción hacia la derecha y hacia la izquierda.

Cuando la velocidad en las dos direcciones es idéntica, el sistema alcanza el equilibrio. Es decir, en el equilibrio: $v_d = v_i$, lo cual significa que

$$k_d[A]^n[B]^m = k_i[A_nB_m]$$

y, despejando:

$$\frac{k_d}{k_i} = \frac{[A_nB_m]}{[A]^n[B]^m} = K_{eq}$$

La K_{eq} se denomina *constante de equilibrio* y, como veremos más adelante, desempeña un papel importante en la cinética de las reacciones enzimáticas. Aunque resulte obvio, es importante destacar que dicha constante de equilibrio «es constante» para una determinada reacción. Cuando su valor es superior a la unidad indica que, en el equilibrio, la concentración de los reactantes del segundo término de la reacción (lo que normalmente denominamos productos) es superior a la de los del primer término (sustratos). En este caso decimos que en el equilibrio la reacción está «desplazada a la derecha». Y, a la inversa, cuando el valor de K_{eq} es inferior a la unidad estamos ante una reacción que en el equilibrio «está desplazada a la izquierda»; por último, cuando K_{eq} tiene un valor próximo a la unidad, se dice que la reacción está «próxima al equilibrio».

Para comprender la cinética de las reacciones químicas es importante tener en cuenta dos conceptos fundamentales que se derivan de la constante de equilibrio: 1) el equilibrio es un «estado dinámico». Esto significa que cuando una reacción llega al equilibrio, a pesar de no observarse un cambio neto en las concentraciones de los sustratos o de los productos, está produciéndose una continua transformación de unos en otros; y 2) la constante de equilibrio tiene un valor numérico que viene dado por la relación de las concentraciones de los productos y los sustratos en el equilibrio.

Relación entre la constante de equilibrio y el cambio de energía libre en una reacción

El desplazamiento a la derecha o a la izquierda de una reacción química, y su propia velocidad, dependen no sólo de las concentraciones de los reactantes (sustratos y productos), sino también del cambio de energía libre (ΔG) que ocurre durante la reacción. Según la segunda ley de la termodinámica, son reacciones espontáneas aquellas que cuando se realizan en condiciones adecuadas producen trabajo. Es decir, cuando el valor de ΔG es negativo, la reacción tiene lugar de forma espontánea, mientras que si es positivo, aquella no se produce. En este último caso, la reacción ocurrirá en sentido inverso, que es en el que ΔG es negativo. Si ΔG es igual a cero, la reacción no se produce hacia ninguno de los dos sentidos, lo cual significa que está en estado de equilibrio.

En una reacción muy simple, $A \rightleftharpoons B$, cualquier incremento en la concentración del sustrato A produce un desplazamiento de la reacción hacia la derecha, hasta que se establece un nuevo equilibrio. De igual forma, un incremento en la concentración del compuesto B dará lugar a un desplazamiento hacia la izquierda, hasta llegar al equilibrio. Como hemos visto antes, el valor de ΔG de una reacción determina la dirección en que ésta ocurre; resulta obvio, por tanto, que dicho

valor depende a su vez de las concentraciones de los reactantes y los productos. La ecuación que relaciona estos parámetros es:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

donde R es la constante de los gases, T la temperatura absoluta, ΔG° es el cambio de energía estándar y [B] y [A] la concentración de los productos y los sustratos de la reacción. A una temperatura determinada, el cambio de energía libre, ΔG° , es constante para cada reacción, y su valor depende precisamente de la constante de equilibrio de la reacción:

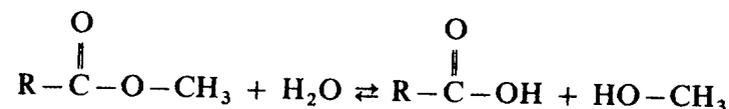
$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

De la ecuación anterior se deduce que ΔG° es el cambio de energía producido en la reacción cuando los sustratos y los productos se encuentran en condiciones estándar; es decir, cuando sus respectivas concentraciones son 1 molar, y el valor de $RT \ln [B]/[A]$ se hace igual a cero.

Así pues, el signo y el valor de ΔG y, en consecuencia, la dirección de la reacción dependen de la concentración de los sustratos y de los productos y del valor de la constante ΔG° , la cual es, a su vez, una función de la constante de equilibrio (K_{eq}). Conviene recordar también que, si bien la constante de equilibrio (y el ΔG°) de una reacción determina la dirección en la que ésta se realiza espontáneamente (es decir, los estados inicial y final de la misma), no indica nada, sin embargo, sobre la velocidad a que tiene lugar la reacción, que depende de la magnitud de la barrera energética que debe superar (energía de activación: véase cap. 5). Ya vimos que las enzimas logran disminuir esta energía de activación (y, por tanto, aumentar la velocidad de la reacción), fundamentalmente aumentando la concentración de los reactantes en el sitio catalítico, y favoreciendo así la formación de estados de transición que suponen una barrera energética menor.

ORDEN DE LAS REACCIONES Y ACTIVIDAD ENZIMATICA

El *orden* de una reacción es un término que se utiliza para definir ésta en función de los factores que determinan su velocidad. En la ecuación que representa la velocidad de la reacción, el orden se determina sumando los exponentes de la concentración de las sustancias reaccionantes. Así, para la reacción $A \rightarrow B$, la velocidad es $v = k[A]^1$, y se trata de una reacción de *primer orden*. En el caso de la reacción $A + B \rightarrow C$, la velocidad es $v = k[A]^1[B]^1$, y se trata de una reacción de *segundo orden*. Debe tenerse en cuenta que el orden de una reacción es independiente de su estequiometría, y de hecho las expresiones $v = k[A][B]^2$ y $v = k[A]^2[B]$ corresponden a una reacción de *tercer orden*, aunque las proporciones de los sustratos A y B difieran en uno y otro caso. Hay reacciones de segundo orden en las que uno de los dos sustratos es muy abundante, por lo que la velocidad de la reacción depende sólo del otro. Este es, por ejemplo, el caso de las reacciones en que participa el agua, como, por ejemplo, la hidrólisis de un enlace éster:



Estas reacciones se comportan como si fueran de primer orden y, en consecuencia, su velocidad aumenta progresivamente a medida que se eleva la concentración del factor del cual depende (en nuestro caso, el sustrato). Gráficamente, la relación entre la velocidad y el sustrato en este tipo de reacción es hiperbólica (fig. 6.4). Ello se debe a que, si se mantiene fija la concentración de enzima, y se va aumentando la concentración de sustrato, se alcanza un valor de velocidad en que la cantidad de enzima se hace limitante. A dicha velocidad se le denomina *velocidad máxima* ($V_{m\acute{a}x}$); trataremos de ella más adelante.

Existen también *reacciones de orden cero*, en las que $v = k_0$, o sea, en las que la velocidad es independiente de la concentración de los sustratos; es decir, reacciones en las que la adición de más sustrato no modifica la velocidad de su transformación en producto. En este caso, la velocidad de desaparición del sustrato o de formación del producto es constante, independientemente de sus concentraciones respectivas. En estas condiciones, la cantidad de sustrato que se transforma (o la cantidad de producto que aparece) varía de modo lineal con el tiempo (fig. 6.5); la pendiente de la recta correspondiente representa la *actividad de la enzima* que cataliza la reacción.

La actividad de la enzima se expresa en unidades (U), que corresponden a los micromoles (μ moles) de sustrato transformados en producto por minuto, en las condiciones específicas del ensayo. Cuando se expresa en función de la cantidad de proteínas, se denomina *actividad específica* de la enzima, y corresponde a los μ moles de sustrato transformados/min/mg de proteína, o a unidades/mg de proteína. Esta cantidad de proteína no corresponde específicamente a la enzima, sino a todas las proteínas presentes en la muestra. Cuando se trata de enzimas purificadas, se utilizan las expresiones *constante catalítica*, *actividad molecular* o *número de recambio*, que se refieren a las unidades de actividad por molécula de enzima. En los casos en que la enzima tiene más de un sitio catalítico, la constante catalítica se expresa en función de una subunidad de la enzima y no de la molécula proteica

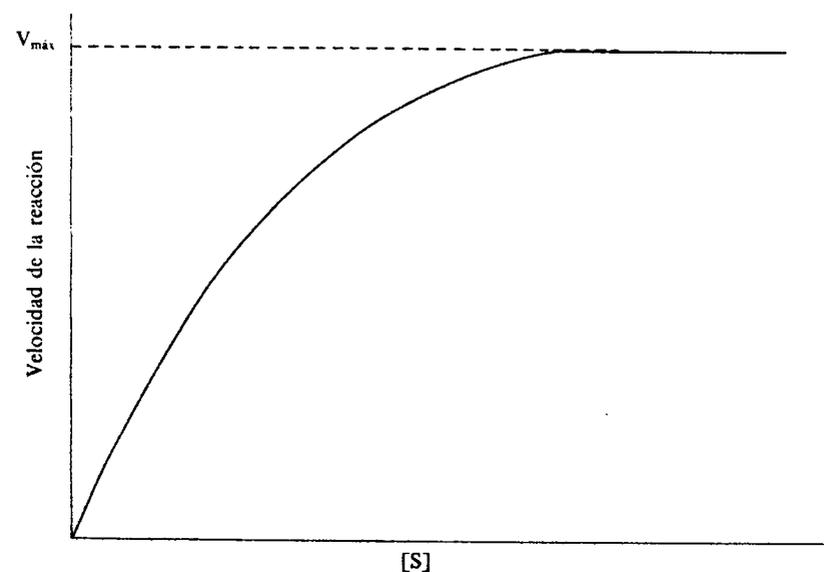


Figura 6.4. Relación entre la concentración del sustrato [S] y la velocidad de una reacción enzimática. A concentración constante de enzima, valores altos de [S] llegan a saturar el proceso, de forma que se alcanza la velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$).

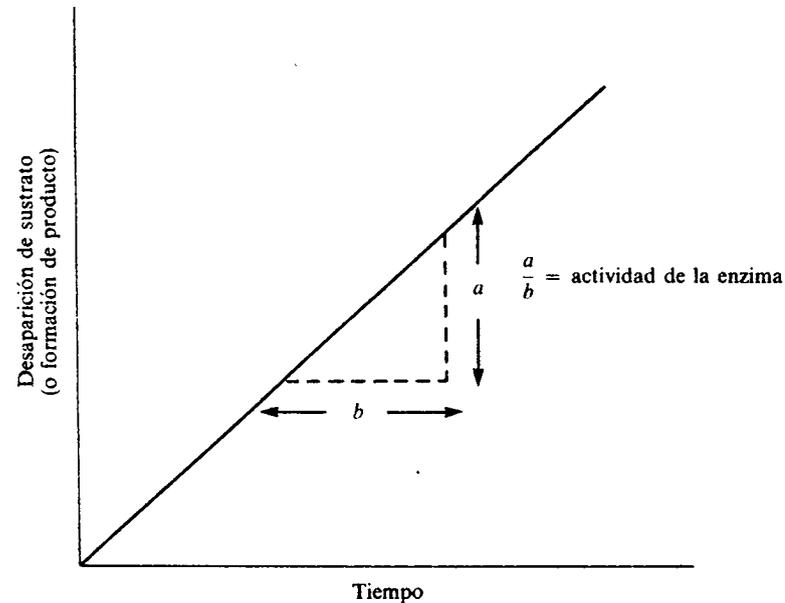


Figura 6.5. Desaparición del sustrato o formación del producto en función del tiempo, en una reacción enzimática de orden cero. La pendiente de la recta corresponde a la actividad de la enzima.

completa. Para adaptar mejor la terminología enzimática a la de la cinética química, la IUB ha propuesto la utilización de una nueva unidad enzimática, el *katal* (kat), que corresponde a la transformación de 1 mol de sustrato/segundo. El valor de 1 kat es muy superior al de una unidad, pero existen subunidades menores: el milikatal (mkat), que corresponde a 1×10^{-3} katal, el μ katal (μ kat), que corresponde a 1×10^{-6} katal, y así sucesivamente.

Relación entre las concentraciones de enzima y la velocidad de la reacción

Si se añaden cantidades crecientes de enzima a una cubeta de reacción en la que se han establecido las condiciones óptimas de pH y temperatura y en la que hay cantidad suficiente de sustratos y cosustratos, se observa que la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la cantidad de enzima, estableciéndose una relación lineal entre ambos parámetros. Consideremos ahora que en la cubeta se encuentran todos los ingredientes necesarios para la reacción menos la enzima. Cuando se añade una determinada cantidad de enzima se inicia la transformación del sustrato en producto, pero no hay todavía moléculas de producto que puedan convertirse en sustrato, en la dirección inversa. En este momento, la reacción transcurre a una *velocidad inicial*, que es directamente proporcional a la concentración de enzima. De hecho, si se representa la aparición del producto en función del tiempo, a distintas concentraciones de enzima (fig. 6.6), las velocidades iniciales vienen dadas por las pendientes de la zona recta de cada línea. Se observa que la velocidad aumenta progresivamente a medida que se incrementa la concentración de la enzima. En todos los casos llega un momento en que se alcanza el equilibrio; es decir, en un determinado tiempo deja de aumentar la concentración de producto formado. Este equilibrio se alcanza antes cuanto mayor sea la cantidad de

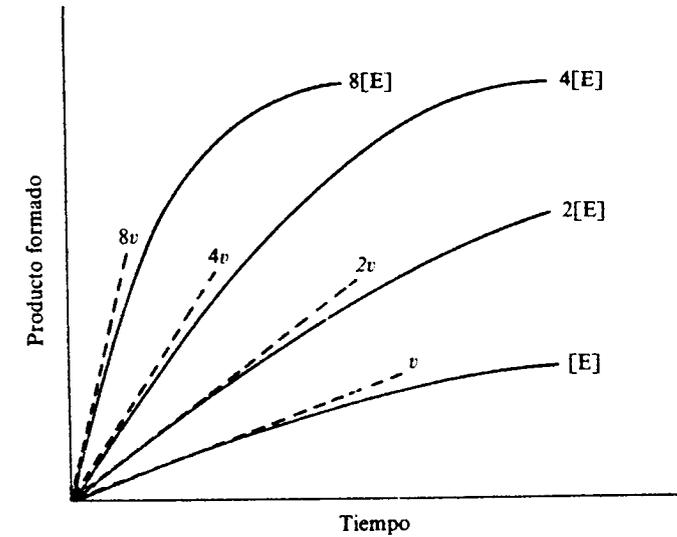
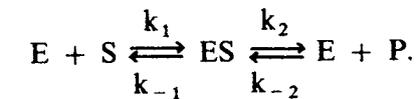
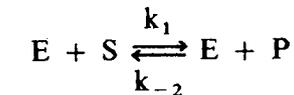


Figura 6.6. Formación del producto en función del tiempo en una reacción enzimática en la que, manteniendo constante la concentración de sustrato, se va duplicando la de enzima [E]. Se observa que las velocidades iniciales (v) varían de igual forma que la concentración de enzima, y que el equilibrio de la reacción (momento en que no sigue formándose más producto) se alcanza antes cuanto mayor sea la cantidad de enzima presente.

enzima. La interpretación de este comportamiento es la siguiente: al principio de la reacción, la enzima (E) forma un complejo con el sustrato (S), que después se descompone rindiendo el producto (P) formado, y dejando la enzima libre. Las dos etapas de este proceso son reversibles:



Sin embargo, esta reacción puede representarse globalmente como



Puesto que el complejo ES es normalmente muy pequeño y los valores de k_{-1} y k_2 son prácticamente iguales, pero de signo opuesto, resulta que:

$$v_1 = k_1[E][S] \quad \text{y} \quad v_{-2} = k_{-2}[E][P]$$

De esta forma, la constante de equilibrio global es:

$$K_{eq} = \frac{[E][P]}{[E][S]} = \frac{[P]}{[S]}$$

es decir, que la concentración de la enzima no afecta al valor de la constante de equilibrio de la reacción; concepto éste muy importante, pues indica que la

constante de equilibrio de una reacción es igual tanto si ésta se realiza mediante catálisis enzimática como si no. Es decir, las enzimas influyen sobre el curso de la reacción, pero no modifican las concentraciones finales de las sustancias reaccionantes cuando se llega al equilibrio, que dependen de los valores de K_{eq} y de ΔG° .

CONCENTRACION DEL SUSTRATO

Relación entre la velocidad de la reacción y concentración del sustrato

Siguiendo con el planteamiento anterior, consideremos una cubeta de reacción donde se han añadido todos los componentes de una reacción enzimática a excepción del sustrato, y donde el pH y la temperatura son óptimos. Al añadir cantidades progresivamente mayores de sustrato, se observa que la velocidad inicial de la reacción (es decir, la velocidad medida a tiempos cortos, cuando ha sido transformada muy poca cantidad de sustrato) aumenta hasta un valor máximo, que corresponde a la *velocidad máxima*, $V_{m\acute{a}x}$ (fig. 6.7). Este valor se alcanza cuando la enzima se ha saturado de sustrato; es decir, cuando la cantidad de sustrato supera la de enzima, y los sitios catalíticos de todas las moléculas enzimáticas están ocupados por moléculas de sustrato. Realmente, la relación entre enzima y sustrato no llega a ser equimolecular, y se necesitan muchas más moléculas de sustrato que de enzima para que ésta se sature. Ello no se debe sólo a la difícil asequibilidad del sitio activo de la enzima para las moléculas de sustrato (por lo que es necesario que haya abundancia de éstas para garantizar el choque efectivo de las moléculas), sino a que la constante de equilibrio de la formación del complejo ES ($E + S \rightleftharpoons ES$) no es infinitamente alta.

Resumiendo, en la gráfica que representa la relación entre concentración de

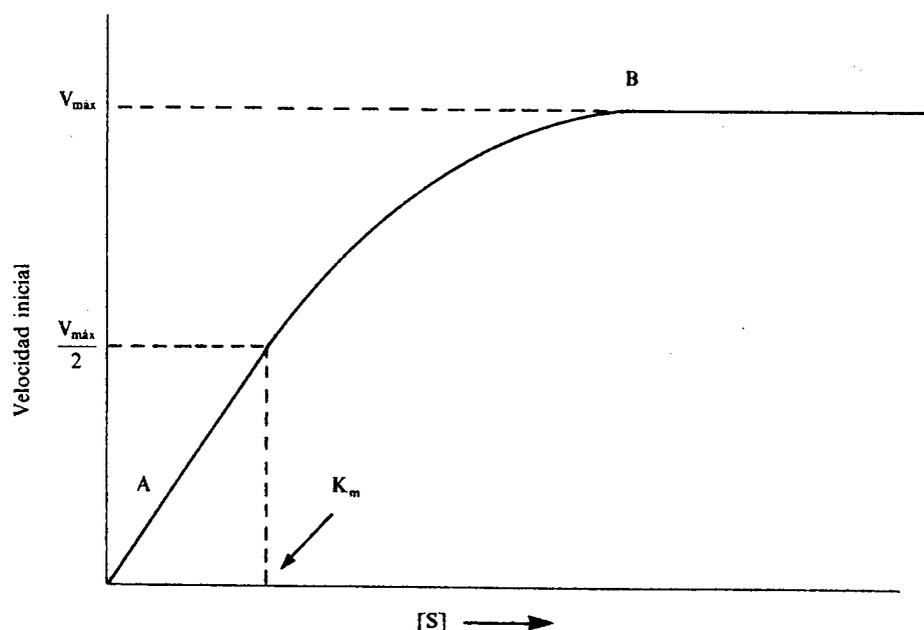


Figura 6.7. Efecto de la concentración del sustrato $[S]$ sobre la velocidad inicial en una reacción enzimática.

sustrato y velocidad de la reacción (fig. 6.7) existen dos zonas claramente diferenciadas:

1. A concentraciones bajas de sustrato (zona «A»), cuando la velocidad de la reacción depende de su concentración (aumenta o disminuye en función de incrementos o decrementos de la concentración de sustrato), las variaciones de ésta inducen modificaciones en el mismo sentido de la cantidad de enzima asociada al sustrato. Es decir, en esta zona, la concentración del complejo ES y, consecuentemente, la velocidad de la reacción, dependen de la concentración de sustrato.

2. Cuando la concentración de sustrato es alta y la velocidad de la reacción ha alcanzado el valor $V_{m\acute{a}x}$ (zona «B»), prácticamente toda la enzima se encuentra unida al sustrato. En esta zona, aunque se produzca un aumento de la concentración de sustrato y, por tanto, de la frecuencia de sus colisiones con las moléculas de enzima, no hay cambio alguno en la velocidad de la reacción, ya que no quedan moléculas de enzima libre.

Con fines didácticos, en este capítulo se considera que las reacciones enzimáticas transcurren con la intervención de un solo sustrato y la formación de un único producto, lo que, sin embargo, no constituye sino una excepción, dado que en la mayoría de los procesos enzimáticos reaccionan dos o más sustratos y aparece también más de un producto. No obstante, todos los planteamientos aquí utilizados siguen siendo válidos, ya que los estudios cinéticos se realizan manteniendo sólo uno de los componentes del proceso como factor limitante y, en consecuencia, como si hubiera un único sustrato.

ECUACION DE MICHAELIS-MENTEN

En cinética enzimática, al igual que en cinética química, la velocidad de las reacciones se expresa en función de la variación de la concentración del sustrato. Por ello, la ecuación que defina a una reacción enzimática debe relacionar estos dos parámetros. En 1903, Henri propuso una ecuación para la velocidad de las reacciones, que fue modificada en 1913 por Michaelis y Menten, y completada finalmente por Briggs y Haldane en 1925. A pesar de la participación de todos estos autores, la ecuación se conoce como *ecuación de Michaelis-Menten*, y se basa en tres suposiciones. La primera, que el complejo ES se encuentra en estado estacionario. Es decir, que en el transcurso de la reacción, la concentración de dicho complejo permanece constante a pesar de que, precisamente a través de él, muchas moléculas de sustrato estén siendo convertidas en producto. De hecho, como se muestra en la figura 6.8, mientras que, en el transcurso de la reacción, las concentraciones de sustrato y producto disminuyen y aumentan, respectivamente, la concentración del complejo ES, una vez formado, permanece prácticamente constante; es decir, puede considerarse que $d[ES]/dt = 0$, siendo t el tiempo. La segunda suposición es que bajo condiciones de saturación, toda la enzima interviene en la formación del complejo ES. En realidad, en la etapa de máxima formación de producto, el valor de $[E]$ es muy bajo (fig. 6.8). Y la tercera suposición es que cuando toda la enzima se encuentra en forma de complejo ES, la velocidad de la reacción (es decir, la de formación del producto), es la máxima posible ($V_{m\acute{a}x}$).

Bajo estas consideraciones se deriva la ecuación de Michaelis-Menten como sigue. Al poco de iniciarse una reacción enzimática, el número de moléculas de producto formadas es muy escaso y, por ello, muy poco probable que se transfor-

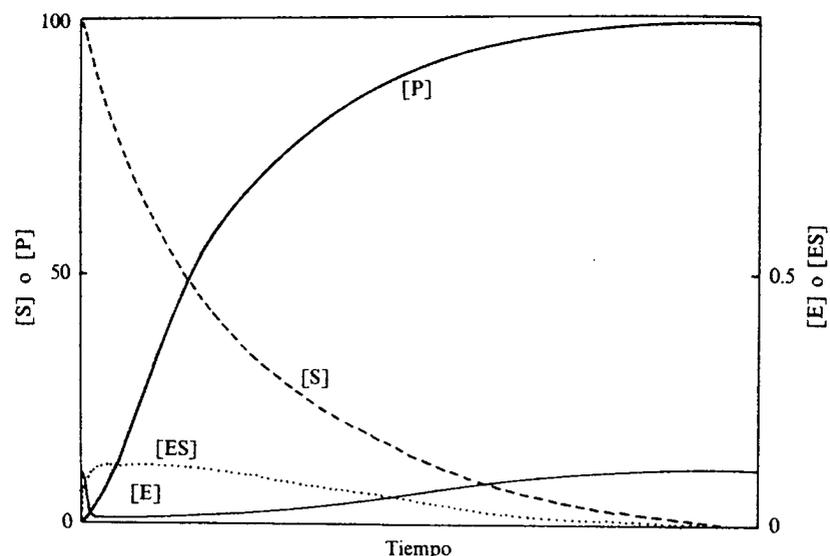
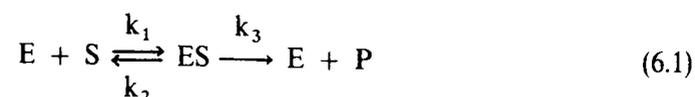


Figura 6.8. Cambio de concentración de los componentes de un sistema enzimático durante el transcurso de una reacción. Apréciase la distinta magnitud de las concentraciones de sustrato [S] o producto [P], con relación a las de enzima libre [E] o a las del complejo [ES].

men en sustrato. En consecuencia, esta etapa, que corresponde precisamente a la de la velocidad inicial de la reacción, puede escribirse como



es decir, se considera irreversible la etapa de formación de producto. La velocidad de esta reacción vendrá dada por la de formación del producto (P), o sea, $v = k_3[ES]$. A partir de la ecuación (6.1) pueden deducirse también la velocidad de formación y de disociación del complejo ES, que serán: $v_1 = k_1[S][E]$ para su formación y $v_2 = k_2[ES]$ para su disociación, considerando siempre irreversible la etapa de formación de producto.

En un momento dado, el cambio de concentración del complejo [ES] es $d[ES]/dt$, que no es otra cosa que la diferencia entre su velocidad de formación a partir de E y S (v_1) y su velocidad de disociación en E + P y en E + S (v y v_2), por tanto:

$$\frac{d[ES]}{dt} = (v_1) - (v_2) + (v)$$

Dado que desde un principio hemos considerado que el cambio de [ES] con el tiempo es 0, si sustituimos las velocidades por sus respectivos valores e igualamos a 0, resulta que:

$$0 = k_1[E][S] - k_2[ES] - k_3[ES] \quad (6.2)$$

Por otro lado, la concentración total de enzima $[E_t]$ es igual a la cantidad de enzima libre [E] más la que está formando complejo con el sustrato [ES]; es decir:

$$[E_t] = [E] + [ES]$$

o, lo que es igual,

$$[E] = [E_t] - [ES]$$

Sustituyendo este valor de [E] en la ecuación (6.2), queda:

$$0 = k_1([E_t] - [ES])[S] - k_2[ES] - k_3[ES]$$

Al despejar el factor común y pasar los términos con distinto signo al otro miembro, resulta

$$k_1[E_t][S] = k_1[ES][S] + k_2[ES] + k_3[ES]$$

y haciendo ahora factor común a [ES]:

$$k_1[E_t][S] = [ES](k_1[S] + k_2 + k_3)$$

de donde

$$[ES] = \frac{k_1[E_t][S]}{k_1[S] + k_2 + k_3}$$

y al dividir numerador y denominador por k_1 , se obtiene

$$ES = \frac{[E_t][S]}{[S] + \frac{k_2 + k_3}{k_1}} \quad (6.3)$$

El factor $k_2 + k_3/k_1$ está constituido únicamente por constantes, por lo que corresponde también a una constante que recibe el nombre de K_m , o *constante de Michaelis-Menten*. Así, la ecuación (6.3) puede escribirse:

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + K_m} \quad (6.4)$$

Dado que, como hemos indicado antes, la velocidad de la reacción es la de formación del producto, cuyo valor es $v = k_3[ES]$, de la ecuación (6.4) podemos derivar la siguiente:

$$v = \frac{k_3[E_t][S]}{[S] + K_m} \quad (6.5)$$

También hemos indicado antes que cuando la concentración del sustrato es muy alta, la velocidad de la reacción es máxima ($V_{m\acute{a}x}$). Es decir, si hacemos en la ecuación (6.5) [S] mucho mayor que K_m (es decir, si $[S] \gg K_m$), el valor de esta constante queda prácticamente anulado (se hace 0), en cuyo caso $v = V_{m\acute{a}x}$. Así:

$$V_{m\acute{a}x} = \frac{k_3[E_t][S]}{[S] + 0}, \text{ o sea, } V_{m\acute{a}x} = k_3[E_t]$$

Al sustituir $k_3[E_t]$ por $V_{m\acute{a}x}$ en la ecuaci3n (6.5) resulta:

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S] + K_m}$$

que es la *ecuaci3n de Michaelis-Menten*. Esta ecuaci3n corresponde a la de una hip3rbola ($y = a \cdot x/b + x$, donde las variables y y x son v y $[S]$, y las constantes a y b son $V_{m\acute{a}x}$ y K_m , respectivamente), y se ajusta a la representaci3n gr3fica de la velocidad inicial de la reacci3n frente a la concentraci3n de sustrato (fig. 6.7).

Evaluaci3n de la ecuaci3n de Michaelis-Menten y significado de la K_m

Adem3s de ajustarse a la representaci3n gr3fica de la relaci3n velocidad-concentraci3n de sustrato, de la ecuaci3n de Michaelis-Menten se derivan datos importantes bajo los siguientes supuestos:

1. Si consideramos que la concentraci3n del sustrato es igual al valor de K_m (es decir, $K_m = [S]$), dicha ecuaci3n se convertir3 en:

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S] + [S]} = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{2[S]} = \frac{V_{m\acute{a}x}}{2}$$

Esta expresi3n nos define el valor num3rico de K_m , que es igual al valor de la concentraci3n de sustrato cuando la velocidad inicial de la reacci3n es la mitad de la velocidad m3xima. En consecuencia, es posible determinar experimentalmente el valor de K_m mediante la representaci3n gr3fica de la cin3tica de una enzima (fig. 6.7): si se conoce la $V_{m\acute{a}x}$, puede determinarse en la gr3fica la concentraci3n de sustrato que corresponde a la mitad de ese valor ($1/2V_{m\acute{a}x}$), que, a su vez, corresponde al valor de la K_m .

2. Si consideramos que la concentraci3n del sustrato ($[S]$) es muy inferior al valor de K_m , entonces puede despreciarse el valor de $[S]$ en el denominador de la ecuaci3n de Michaelis-Menten,

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S] + K_m} \approx \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{K_m} = [S] \frac{V_{m\acute{a}x}}{K_m}$$

Puesto que $V_{m\acute{a}x}$ y K_m son dos constantes, dicha ecuaci3n indica que, bajo estas condiciones, la velocidad inicial de la reacci3n es directamente proporcional a la concentraci3n del sustrato. En la figura 6.7 vemos que, efectivamente, en la parte de la gr3fica que corresponde a valores de sustrato muy por debajo de la K_m , la l3nea es pr3cticamente recta (zona A); es decir, la velocidad de la reacci3n depende directamente de la concentraci3n del sustrato.

3. Por el contrario, y como ya se ha comentado antes, cuando la concentraci3n del sustrato es mucho m3s alta que el valor de K_m , puede considerarse 3sta igual a 0 en el denominador de la ecuaci3n de Michaelis-Menten; por tanto,

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S] + K_m} \approx \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S]} = V_{m\acute{a}x}$$

Efectivamente, en la figura 6.7 vemos que cuando el valor de $[S]$ es muy alto, la velocidad inicial de la reacci3n es la $V_{m\acute{a}x}$.

Linearizaci3n de la ecuaci3n de Michaelis-Menten

La representaci3n gr3fica de las velocidades iniciales de una reacci3n enzim3tica frente a las concentraciones de sustrato requiere de muchos puntos, por tratarse de una curva, y esto dificulta la determinaci3n de la $V_{m\acute{a}x}$ y de la K_m con precisi3n. A su vez, muchas enzimas requieren concentraciones muy altas de sustrato para alcanzar la $V_{m\acute{a}x}$. Todo ello ha llevado a la transformaci3n de la ecuaci3n de Michaelis-Menten en la de una recta ($y = a + bx$). Se han propuesto varias formas de lograr esta linearizaci3n; de entre ellas, hemos seleccionado tres de las m3s utilizadas, que fueron propuestas en principio por *Wolf*, pero que se conocen, respectivamente, como ecuaci3n de *Lineweaver* y *Burk*, de *Hofstee* y del propio *Wolf*.

La ecuaci3n de *Lineweaver* y *Burk* se obtiene invirtiendo la ecuaci3n de Michaelis-Menten:

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S] + K_m} ; \frac{1}{v} = \frac{[S] + K_m}{V_{m\acute{a}x}[S]} = \frac{[S]}{V_{m\acute{a}x}[S]} + \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}[S]}$$

De aqu3 resulta:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} + \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

que ya es la ecuaci3n de una recta, donde las variables son $1/v$ (correspondiente a la y) y $1/[S]$ (que corresponde a la x), y las constantes $1/V_{m\acute{a}x}$ (a u ordenada en el origen) y $K_m/V_{m\acute{a}x}$ (b o pendiente).

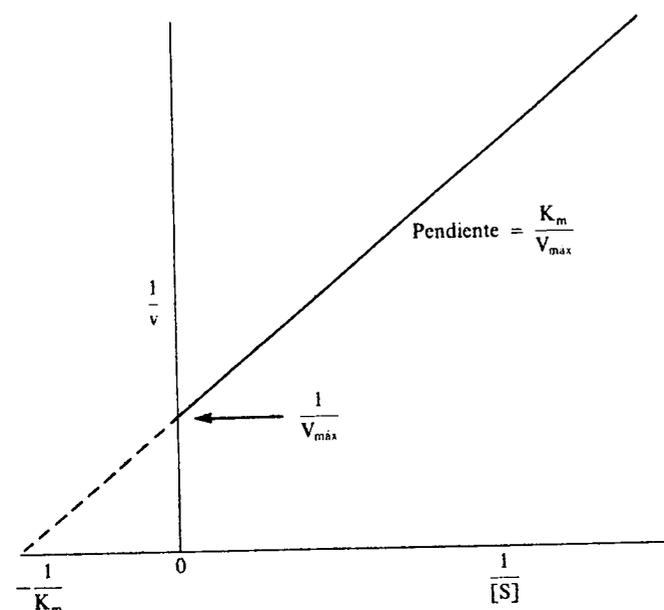


Figura 6.9. Representaci3n gr3fica de Lineweaver y Burk.

Así, representando los recíprocos de v y $[S]$ se obtiene la gráfica de la figura 6.9. Al ser una recta, es posible trazarla con bastante precisión disponiendo sólo de unas cuantas concentraciones de sustrato y de las respectivas velocidades iniciales de la reacción. A su vez, los valores de $V_{\text{máx}}$ y de K_m corresponden, respectivamente, a los puntos de intersección de la recta con los ejes de ordenadas y de abscisas.

En el caso de la $V_{\text{máx}}$, al igualar la abscisa a cero ($1/[S] = 0$, o lo que es igual, considerando que el valor de $[S]$ es infinito), de la ecuación de Lineweaver y Burk resulta que

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{V_{\text{máx}} \cdot 0}; \text{ es decir: } \frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\text{máx}}}$$

Lo que indica que el valor de $1/v$ en el punto en que la recta corta al eje de ordenadas es igual a $1/V_{\text{máx}}$ (fig. 6.9). A su vez, en el caso de la K_m , si igualamos a cero la ordenada ($1/v = 0$), resulta que

$$0 = \frac{1}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{V_{\text{máx}} \cdot [S]}$$

Lo que es igual a

$$-\frac{1}{V_{\text{máx}}} = \frac{K_m}{V_{\text{máx}} \cdot [S]}$$

Es decir, que $-1/K_m = 1/[S]$, y ello indica que el valor de $1/[S]$ en el punto en que la recta corta al eje de abscisas es igual a $-1/K_m$. A su vez, siendo la ecuación de Lineweaver y Burk la de una recta, su pendiente (constante b de la recta) es el valor de $K_m/V_{\text{máx}}$. Así pues, si por cualquiera de los procedimientos anteriores logramos conocer el valor de $V_{\text{máx}}$ o de K_m , la otra constante se deduce del valor de la pendiente de la recta.

En la práctica se utiliza con bastante frecuencia la representación de los dobles inversos de Lineweaver y Burk para determinar la $V_{\text{máx}}$ y la K_m . Sin embargo, presenta el inconveniente de que, experimentalmente, cuanto más baja es la concentración de sustrato, más inexacta es la medida de la velocidad inicial de la reacción. Estos valores son precisamente los que más afectan al trazado de la recta, ya que sus respectivos valores inversos son los más altos. Es decir, cuanto más bajo es $[S]$ (y, en consecuencia, también lo será v), más altos son $1/[S]$ y $1/v$, que influyen más en el trazado de la recta (y particularmente en su pendiente) que valores bajos de $1/[S]$ y $1/v$, los cuales corresponden, a su vez, a cantidades altas de $[S]$ y v , fácilmente medibles en el laboratorio. Esto llevó a Hofstee a proponer otra forma de linearizar la ecuación de Michaelis-Menten:

$$v = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{[S] + K_m}$$

dividiendo numerador y denominador por $[S]$, resulta

$$v = \frac{V_{\text{máx}}}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$$

y, por tanto,

$$v \left(1 + \frac{K_m}{[S]} \right) = V_{\text{máx}} \quad \text{y} \quad v + K_m \frac{v}{[S]} = V_{\text{máx}} \quad \text{o} \quad \boxed{v = V_{\text{máx}} - K_m \frac{v}{[S]}}$$

que es la *ecuación de Hofstee*, correspondiente a la de una recta ($y = a + b \cdot x$), donde v y $v/[S]$ son las variables, y $V_{\text{máx}}$ y $-K_m$ las constantes. Se representa de la forma indicada en la figura 6.10, donde $V_{\text{máx}}$ es la ordenada en el origen y $-K_m$ la pendiente. A su vez, cuando $v = 0$ (es decir, cuando la recta corta al eje de abscisas),

$$0 = V_{\text{máx}} - K_m \frac{v}{[S]}$$

y, por tanto,

$$K_m \cdot \frac{v}{[S]} = V_{\text{máx}}$$

o lo que es igual,

$$\frac{v}{[S]} = \frac{V_{\text{máx}}}{K_m}$$

Es decir, el valor de $v/[S]$ en dicho punto corresponde al de $V_{\text{máx}}/K_m$. La *ecuación de Woolf* se deriva de la de Lineweaver y Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{V_{\text{máx}}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

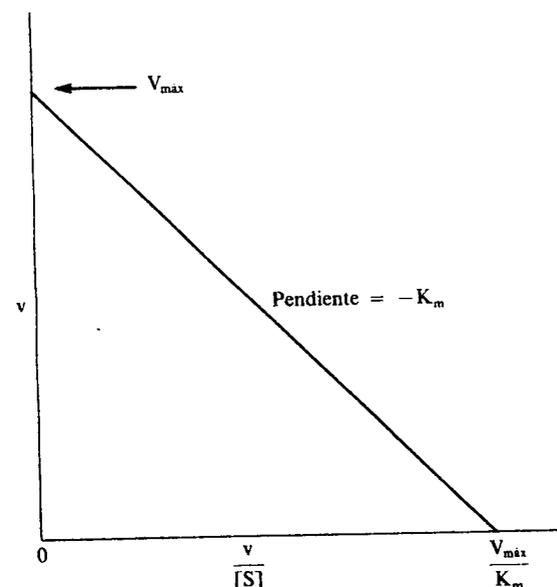


Figura 6.10. Representación gráfica de Hofstee.

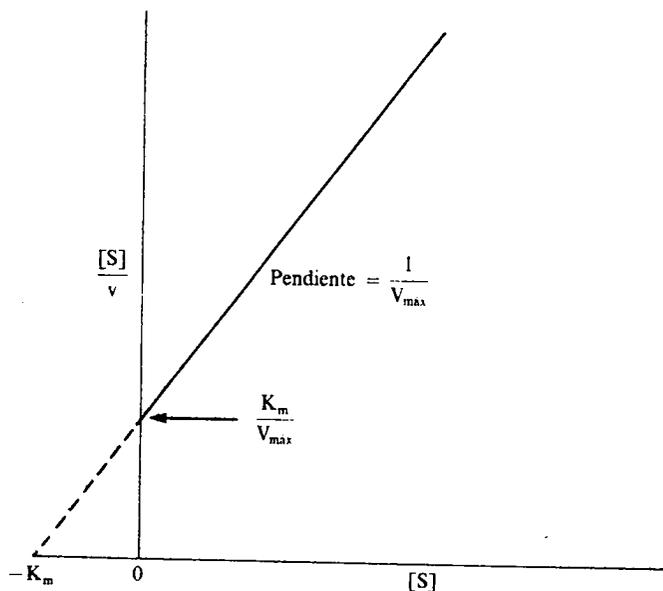


Figura 6.11. Representación gráfica de Woolf.

multiplicando por [S]:

$$\frac{[S]}{v} = \frac{[S]}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{V_{\text{máx}}}$$

o lo que es igual,

$$\frac{[S]}{v} = \frac{K_m}{V_{\text{máx}}} + \frac{1}{V_{\text{máx}}} [S]$$

que es ya la ecuación de una recta ($y = a + b \cdot x$), cuya representación gráfica se muestra en la figura 6.11.

INHIBICIÓN ENZIMÁTICA

La presencia de ciertas moléculas en una reacción enzimática puede disminuir la velocidad de la reacción al interferir con la formación del complejo enzima-sustrato, con su disociación o con ambos procesos. Estas moléculas se denominan *inhibidores*, y afectan la cinética de la reacción de muy diversa manera. Aquí vamos a revisar los tres ejemplos más simples y frecuentes de inhibición: competitiva, no-competitiva y acompetitiva, así como un tipo de inhibición particular que en algunos casos llega a ejercer el propio sustrato (inhibición por sustrato).

Inhibición competitiva

Este tipo de inhibición se caracteriza porque la estructura del inhibidor (I) es normalmente muy semejante a la del sustrato (fig. 6.12). Por ello, se une a la

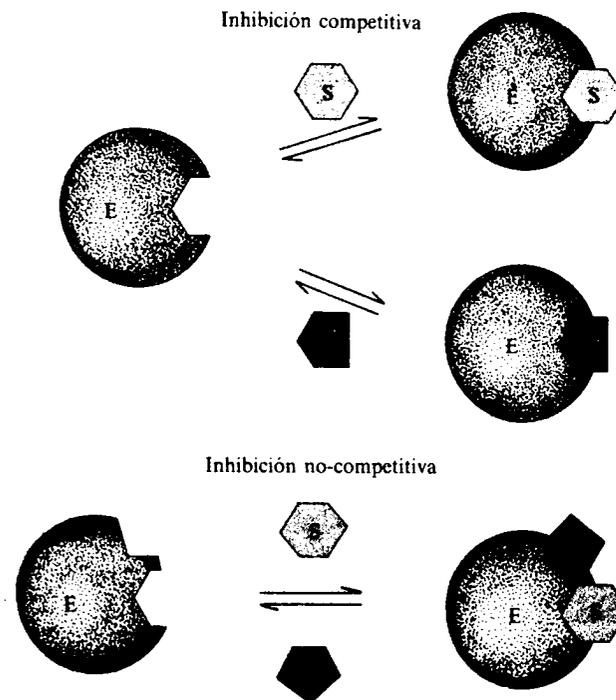
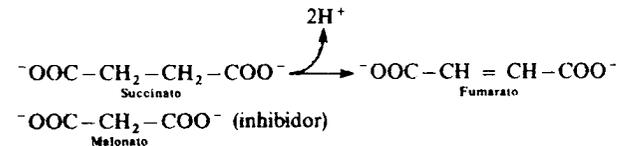
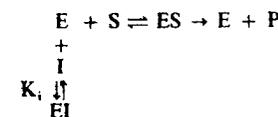


Figura 6.12. Esquema diferencial de las inhibiciones competitiva y no-competitiva. En la inhibición competitiva, el inhibidor [I] y el sustrato [S] compiten por el mismo sitio de unión a la enzima [E], mientras que en la no-competitiva inhibidor y sustrato se unen simultáneamente a la enzima.

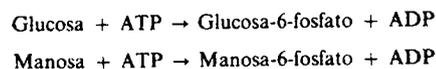
enzima en el sitio de unión del sustrato, dando lugar a un complejo E-I, en vez del complejo E-S. Realmente, cuando se encuentran presentes tanto el sustrato como el inhibidor, los dos compiten por el mismo sitio de unión en la molécula de enzima (fig. 6.12). Un caso típico de esta inhibición es el producido por el malonato sobre la *succinato deshidrogenasa*. Esta enzima cataliza la oxidación de la molécula de succinato en fumarato, con pérdida de dos hidrogeniones:



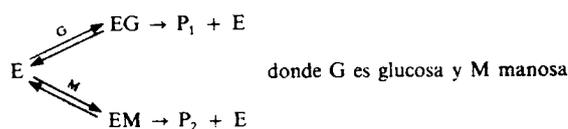
El malonato (I) tiene una estructura química similar al succinato, por lo que puede unirse al sitio catalítico de la enzima formando el complejo E-I, y desplazando al succinato. Puesto que no hay posibilidad de eliminar dos átomos de hidrógeno de su molécula, ya que quedarían valencias del carbono sin saturar, la única reacción posible de dicho complejo es volver a disociarse en enzima libre e inhibidor. De esta forma, en conjunto, se establecen las siguientes ecuaciones de equilibrio, con sus constantes respectivas:



La inhibición competitiva puede darse también entre dos sustratos de una misma enzima, de forma que el exceso de uno desplaza al otro de su posible unión a la enzima, y viceversa. Este es, por ejemplo, el caso de la glucosa y la manosa para la *glucoquinasa*. La misma enzima cataliza la fosforilación de ambas hexosas:



La efectividad catalítica de la enzima para cada uno de sus sustratos depende de su respectiva K_m , pero la presencia de los dos hace que disminuya dicha efectividad (es decir, que aumente aparentemente el valor de la K_m para cada uno de estos sustratos); y este efecto sobre uno y otro depende a su vez de sus concentraciones respectivas. El fenómeno puede esquematizarse así:



Tanto el primer ejemplo como el segundo presentan las mismas características cinéticas, ya que en el caso de la *glucoquinasa*, la glucosa actúa como inhibidor de la acción de la enzima sobre la manosa, y al revés. Al considerar las características cinéticas que definen la inhibición competitiva, hay que tener en cuenta que el inhibidor (I) está compitiendo con el sustrato, de forma que en la reacción normal de Michaelis-Menten



la enzima libre también se une de forma reversible al inhibidor



por lo que se produce una disminución de la cantidad de moléculas de enzima libres para formar complejo con S.

La *constante de disociación* de la ecuación de unión de E e I es

$$K_i = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]}$$

Esto hace que aumente la K_m de la enzima a un «valor de K aparente» (K_{ap}) que es

$$K_{ap} = K_m \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_i} \right)$$

donde [I] es la concentración del inhibidor y K_i la *constante de inhibición* antes definida. Así pues, en presencia de I, la ecuación de Michaelis-Menten de la enzima se transforma en

$$v = \frac{V_{\text{máx}}[\text{S}]}{[\text{S}] + K_m \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_i} \right)}$$

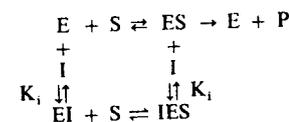
o en la forma linearizada de Lineweaver y Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_m}{V_{\text{máx}}} \cdot \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_i} \right) \cdot \frac{1}{[\text{S}]}$$

y se representa gráficamente como se indica en la figura 6.13, en la que se observa que no hay modificación del valor de la $V_{\text{máx}}$, mientras que si se produce un aumento del «valor aparente» de la K_m . Esto hace que en la representación de los dobles recíprocos aumente la pendiente de la recta y disminuya el punto en que corta al eje de abscisas, a medida que aumenta la concentración del inhibidor.

Inhibición no-competitiva

Como su nombre indica, en este tipo de inhibición no hay competitividad entre el sustrato y el inhibidor, que no suele tener relación estructural con el sustrato, y que se une a la enzima en un sitio distinto (fig. 6.12). Por ello, el inhibidor puede unirse tanto a la enzima libre: $\text{E} + \text{I} \rightleftharpoons \text{EI}$, como al complejo enzima-sustrato: $\text{ES} + \text{I} \rightleftharpoons \text{IES}$. El complejo IES no puede transformarse en $\text{IE} + \text{P}$ (producto), sino que ha de disociarse de nuevo en $\text{I} + \text{ES}$, y este último complejo rendirá el producto, P. El proceso puede resumirse de la siguiente manera:



Así pues, en presencia del inhibidor, la formación de P se realiza más lentamente y, de hecho, en la inhibición no competitiva disminuye la velocidad máxima que puede alcanzar una determinada cantidad de enzima, mientras que el valor de su K_m permanece inalterado. La disminución del valor de $V_{\text{máx}}$ es proporcional al

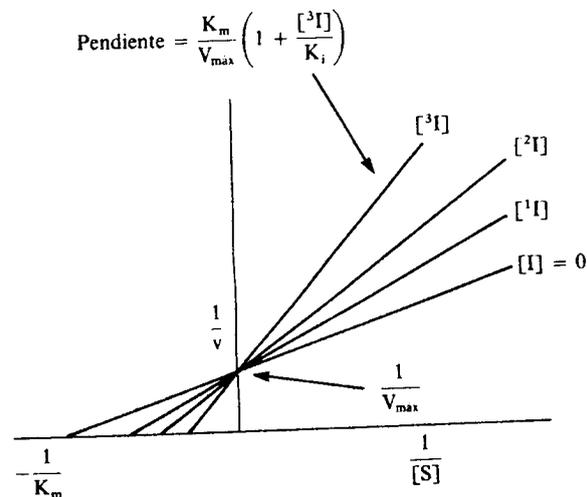


Figura 6.13. Inhibición competitiva: representación de Lineweaver y Burk de la cinética de una enzima en ausencia ([I] = 0) o en presencia de concentraciones crecientes de inhibidor ($^1\text{I} < ^2\text{I} > ^3\text{I}$).

factor $(1 + [I]/K_i)$, donde, al igual que comentamos para la inhibición competitiva, $[I]$ es la concentración del inhibidor y K_i la constante de disociación de su reacción de acoplamiento con la enzima; $E + I \rightleftharpoons EI$, de donde

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Así pues, dado que la $V_{m\acute{a}x}$ aparente es igual a

$$\frac{V_{m\acute{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

la ecuación de Michaelis-Menten en presencia de inhibidor no-competitivo se transforma en:

$$v = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{[S]\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + K_m\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

y realmente, cuando $[I] = 0$ la velocidad inicial (v) se convierte en la de la reacción no inhibida.

En el caso de la ecuación de Lineweaver y Burk, en presencia de inhibidor resulta

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \cdot \frac{1}{[S]}$$

de donde se deriva que cuando $1/v=0$, $1/[S] = -1/K_m$, tanto en presencia como en ausencia de inhibidor. La representación gráfica de los dobles recíprocos en las enzimas sometidas a este tipo de inhibición se presenta en la figura 6.14. Vemos cómo la pendiente de la recta aumenta a medida que lo hace la concentración del inhibidor, ya que al disminuir el valor de $V_{m\acute{a}x}$, la ordenada en el origen ($1/V_{m\acute{a}x}$) se va haciendo mayor. A su vez, todas las rectas cortan al eje de abscisas en el mismo punto, dada la constancia en el valor de $1/K_m$.

En el caso de la representación de Hofstee las rectas que resultan son paralelas, ya que las pendientes ($-K_m$) son iguales en ausencia y en presencia del inhibidor, mientras que la ordenada en el origen ($V_{m\acute{a}x}$) es progresivamente inferior a medida que aumenta la concentración del inhibidor.

Inhibición acompetitiva

Es también reversible y, como su nombre indica, no es competitiva ni no-competitiva. En este tipo de inhibición, el inhibidor se une sólo al complejo enzima-sustrato formando un complejo terminal (que no transforma al sustrato en producto). El conjunto de reacciones de equilibrio que se establecen es:

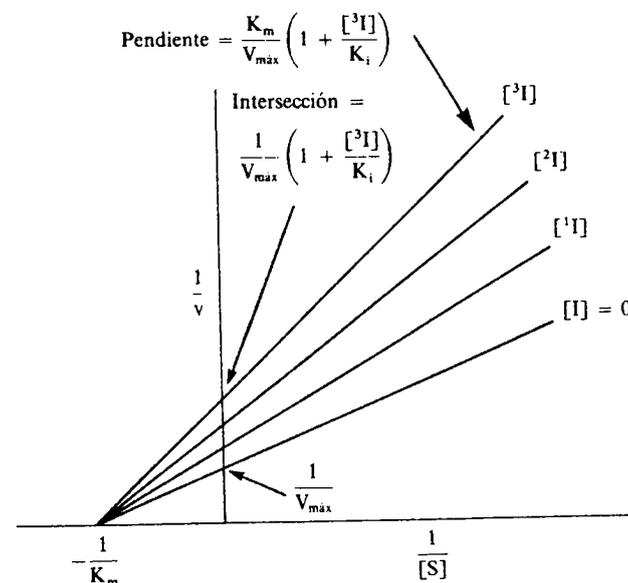
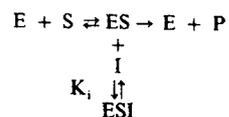


Figura 6.14. Inhibición no-competitiva: representación de Lineweaver y Burk de la cinética de una enzima en ausencia ($[I] = 0$) o en presencia de concentraciones crecientes de inhibidor ($^1I < ^2I > ^3I$).

En este caso, la presencia de inhibidor hace que se alteren tanto la $V_{m\acute{a}x}$ como la K_m , de forma que sus respectivos valores aparentes son:

$$V_{m\acute{a}x\ ap} = \frac{V_{m\acute{a}x}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)} \quad \text{y} \quad K_{ap} = \frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

Por ello, la ecuación de Lineweaver y Burk se transforma en:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

Su representación gráfica se muestra en la figura 6.15, en la que las pendientes de todas las líneas son iguales ($K_m/V_{m\acute{a}x}$), mientras que el valor de sus respectivas intersecciones en abscisas y ordenadas aumenta al elevarse el valor de $[I]$. Las intersecciones de estas líneas en el eje de ordenadas corresponden a la ecuación:

$$y \text{ (intersección)} = \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

y su representación gráfica es la indicada en la figura 6.16, de la que se obtiene el valor de K_i , ya que la intersección de esta recta con el eje de abscisas $\left(\frac{1}{[S]}\right)$ corresponde al valor de $-\frac{1}{K_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$.

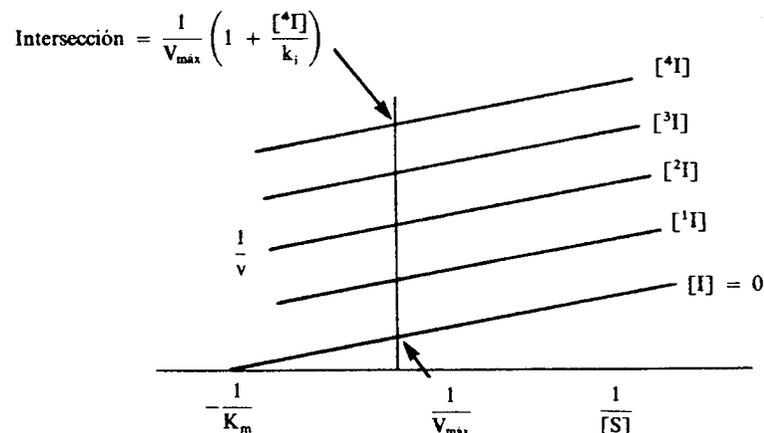


Figura 6.15. Inhibición acompetitiva: representación gráfica de Lineweaver y Burk de la cinética de una enzima en ausencia ([I] = 0) o en presencia de concentraciones crecientes de inhibidor ($^1I < ^2I < ^3I < ^4I$).

Inhibición por sustrato

Existen enzimas que llegan a inhibirse por concentraciones altas del propio sustrato. La relación entre velocidades iniciales y concentración del sustrato se muestra en la figura 6.17, y la representación de los dobles inversos de esta cinética (representación de Lineweaver y Burk) no da lugar a una línea recta (fig. 6.17).

El proceso es complejo, y hay casos, como el de la *hexoquinasa* de cerebro, que cataliza la siguiente reacción:

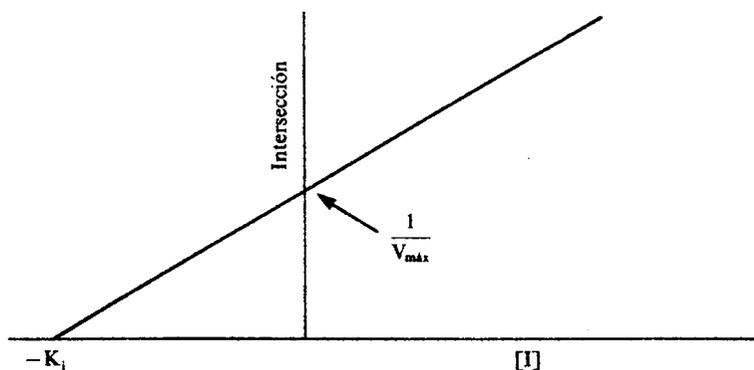


Figura 6.16. Inhibición acompetitiva: representación gráfica de las intersecciones de las rectas de los dobles recíprocos con el eje de ordenadas (fig. 6.15) frente a distintas concentraciones del inhibidor [I], para la determinación del valor de K_i .

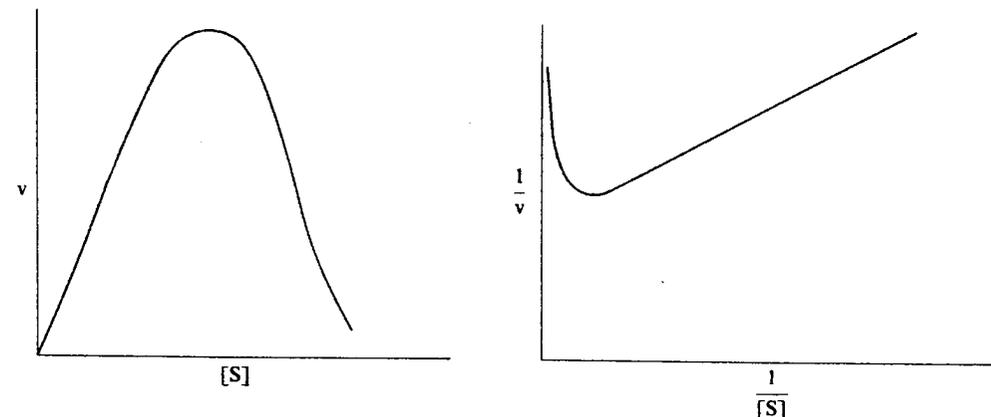
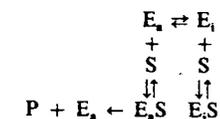


Figura 6.17. Inhibición por el sustrato: representación gráfica de la cinética directa (velocidad frente a concentración del sustrato) y de los dobles recíprocos.

en las que la enzima es incluso inhibible por uno de sus sustratos. En este caso, la enzima resulta inhibida por la glucosa-6-fosfato sólo cuando aquélla se encuentra libre en el citoplasma, pero no cuando está unida a la pared externa de la mitocondria. El mecanismo por el que se produce este tipo de inhibición no se conoce, pero se han propuesto dos hipótesis. Una de ellas supone que la enzima tiene dos sitios distintos de unión para el sustrato, uno correspondiente al sitio catalítico y otro al de inhibición. El primero es más asequible que el segundo, de forma que a concentraciones bajas de sustrato, éste se une sólo al sitio catalítico, pero a medida que aumenta su concentración va encontrando también el sitio de inhibición (y uniéndose a él), modificando así la configuración de la molécula de enzima y haciendo que se inhiba. La segunda hipótesis supone que la enzima puede tener dos configuraciones, una activa (E_a) y otra inactiva (E_i), que son reversibles entre sí. El sustrato es capaz de unirse indistintamente a una u otra forma de la enzima, pero sólo es transformado en producto cuando se encuentra unido a la configuración E_a . De forma esquemática, las reacciones de equilibrio correspondientes serían:



CINETICA SIGMOIDE

En el caso de algunas enzimas, la representación gráfica de los cambios de velocidad inicial de la reacción que catalizan frente a los de la concentración del sustrato no es de tipo hiperbólico, de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten, sino sigmoide (fig. 6.18), como el de la unión del oxígeno a la hemoglobina (cap. 47). Esta relación indica la unión del sustrato a distintas subunidades de la proteína que interactúan entre sí (cooperan), por lo que el proceso se denomina *cooperatividad*. Las *enzimas alostéricas* presentan este tipo de cinética, y de ellas trataremos en el capítulo 7. La ecuación que se aplica a estas reacciones de cinética sigmoidea es:

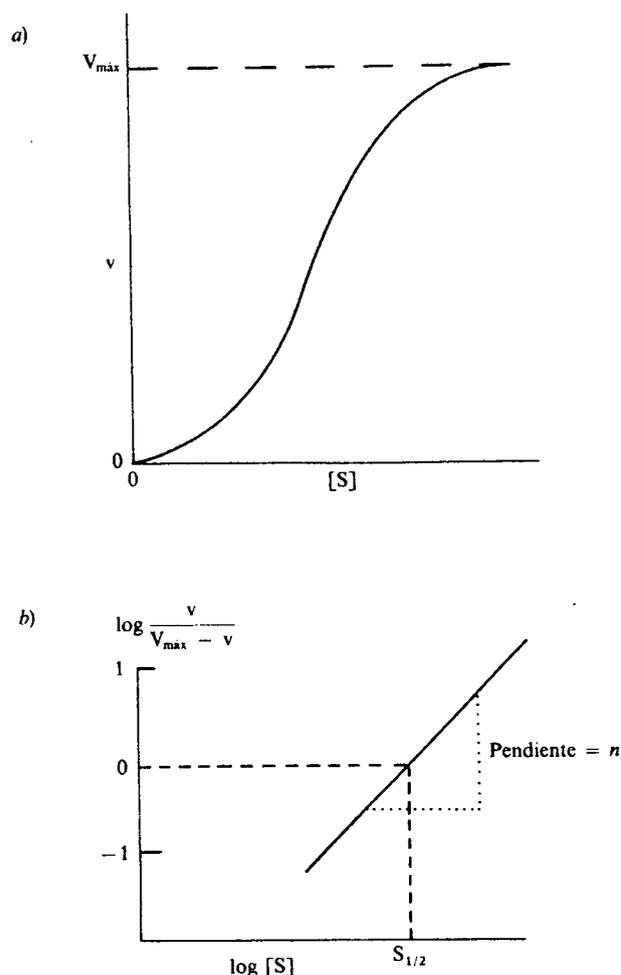


Figura 6.18. Cinética sigmoidea de saturación frente a la concentración de sustrato (a), y su linealización mediante la ecuación de Hill (b) para la determinación de la concentración de sustrato que corresponde a una velocidad inicial igual a la mitad de $V_{máx}$ ($S_{1/2}$).

$$v = \frac{[S]^n \cdot V_{máx}}{[S]^n + K'}$$

que se denomina *ecuación de Hill*, y puede ser reordenada a

$$\frac{v}{V_{máx} - v} = \frac{[S]^n}{K'}$$

o lo que es igual,

$$\log \frac{v}{V_{máx} - v} = n \log [S] - \log K'$$

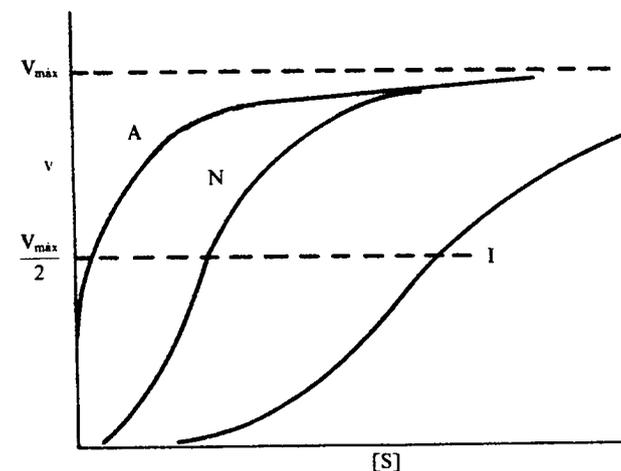


Figura 6.19. Cinética de saturación de una enzima, representando velocidad frente a sustrato. En condiciones normales de ensayo (N), la cinética es de tipo sigmoideo. (A) en presencia de altas concentraciones de un activador; (I) en presencia de altas concentraciones de un inhibidor.

que ya corresponde a la ecuación de una recta, donde n es su pendiente y $-\log K'$ su ordenada en el origen (fig. 6.18). El parámetro n es empírico, y se denomina *coeficiente de Hill*, que depende del número de sitios de unión de la molécula de enzima para el sustrato, y del número y tipo de interacciones de tales sitios. Cuando $n = 1$, los sitios de unión actúan independientemente unos de otros, y de hecho, la ecuación de Hill se transforma en la de Michaelis-Menten. Cuando $n > 1$, significa que hay cooperatividad entre los sitios de unión, de forma que cuanto más alto sea el valor de n más intensa es la cooperatividad, y la curva es más «sigmoidea». Cuando $n < 1$, se dice que los sitios de unión presentan cooperatividad negativa.

La constante K' es compleja, y su valor es $K' = [S_{1/2}]^n$, donde $[S_{1/2}]$ es la concentración del sustrato, que corresponde a $v = 1/2V_{máx}$. De nuevo aquí vemos que cuando $n = 1$, K' se convierte en la K_m de la ecuación de Michaelis-Menten.

Como veremos en el capítulo 7, la mayoría de estas enzimas alostéricas pueden ser activadas o inhibidas por acción de *efectores positivos o negativos*. El valor de K' varía ante la presencia de diferentes concentraciones de dichos efectores. Los efectores positivos (*activadores*) reducen el valor de ($S_{1/2}$) y la cooperatividad, haciendo que la enzima presente una cinética típica de Michaelis-Menten (fig. 6.7). Lo opuesto ocurre en el caso de los efectores negativos (*inhibidores*) (fig. 6.19), que aumentan el carácter sigmoideo de la curva.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bergmeyer, H. U.: *Methods of enzymatic analysis*, vol. 1, Verlag Chemie, Weinheim y Nueva York, 1983.
- Briggs, G. E., y Haldane, G. B. S.: «A note on the kinetics of enzyme action», *Biochem. J.*, 19:338-339, 1925.
- Cornish-Bowden, A.: *Fundamentals of enzyme kinetics*, Butterworths, Londres y Boston, 1979.
- Christensen, H. N., y Palmer, G. A.: *Enzyme kinetics*, W. B. Saunders Co., Filadelfia y Londres, 1967.

- Dewar, M. J. S.: «New ideas about enzyme reactions», *Enzyme*, 36:8-20, 1986.
- Fersht, A.: *Enzyme structure and mechanism*, W. H. Freeman and Co., Nueva York, 1985.
- Montgomery, R., y Swenson, Ch. A.: *Quantitative problems in the biochemical sciences*, W. H. Freeman and Co., San Francisco, 1976.
- Wharton, C. W.: «Some recent advances in enzyme kinetics», *Biochem. Soc. Transact.*, 11:817-825, 1983.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

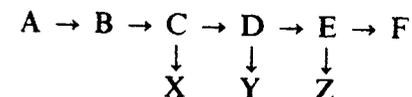
Fundación Universitaria San Pablo-CEU



Control de la actividad enzimática. Enzimología clínica

EMILIO HERRERA

El tubo de ensayo es un sistema cerrado en el que las enzimas purificadas utilizan el sustrato que se les ofrece y acumulan el producto de la reacción que catalizan. En el interior de la célula, sin embargo, la disponibilidad de sustrato y cosustratos de una enzima varía en función de diferentes factores, que muchas veces son independientes de la propia reacción (captación por la membrana celular, transformación por la acción de otras reacciones enzimáticas, compartimentación intracelular, etc.). Por otro lado, los productos de la reacción no se acumulan en la célula, sino que generalmente son utilizados como sustratos de otra enzima, cuyos productos son a su vez sustratos de otra, y así sucesivamente, hasta que se forman moléculas de gran tamaño (glucógeno, proteínas o lípidos complejos), que se acumulan, o moléculas pequeñas (CO_2 , agua, urea, etc.), que acaban por ser eliminadas al exterior en forma de productos de desecho. Este intercambio continuo de productos intermedios puede presentar ramificaciones. Se denomina *via metabólica* a la secuencia de reacciones que ocurren entre dos puntos definidos de una rama. Así, por ejemplo, en la secuencia



las reacciones comprendidas entre $A \rightarrow X$, $A \rightarrow Y$, $A \rightarrow Z$ y $A \rightarrow F$ constituyen cuatro vías metabólicas diferentes.

En cierta medida, todas las reacciones catalizadas por enzimas son reversibles, pero la configuración secuencial de las vías metabólicas hace que en las células vivas el *flujo del metabolismo* sea irreversible y permanentemente dinámico. Esta es una característica inherente a la vida y, de hecho, sólo se consigue el «verdadero equilibrio metabólico» cuando la célula muere. Dicha característica es extrapolable al organismo vivo completo, cuyo metabolismo está constituido por una complicada red de *vías de síntesis (anabólicas)* y de *degradación (catabólicas)*, controladas de tal forma que la composición del medio interno permanece «fija», lográndose el llamado *estado estacionario* (fig. 7.1), que corresponde al concepto de *homeostasis*, propuesto por Claude Bernard a finales del siglo pasado.

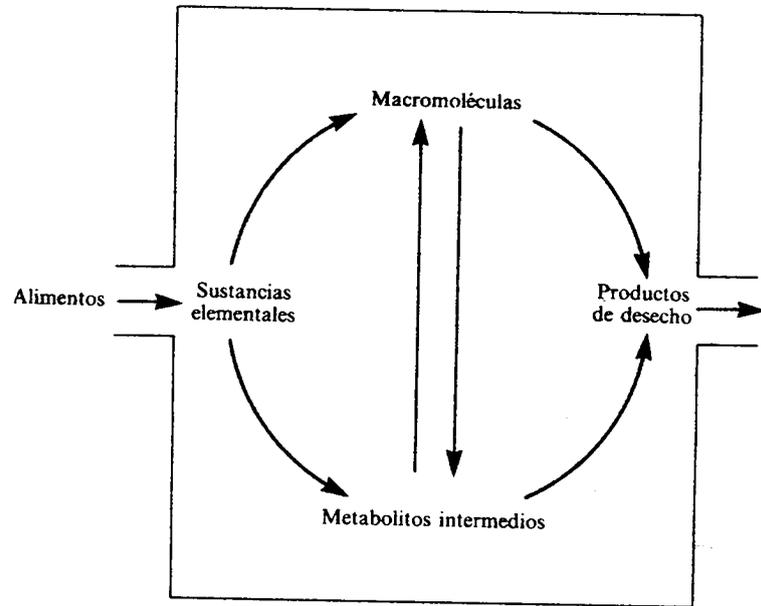


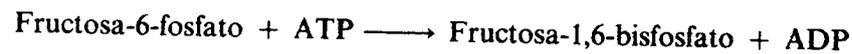
Figura 7.1. El metabolismo es un sistema abierto, con continuo intercambio de moléculas. A pesar de ello, la composición del medio interno de los seres vivos permanece prácticamente constante, y este *estado estacionario* se consigue a expensas del control de la actividad de las enzimas que catalizan dicho intercambio.

La coordinación del conjunto de las vías metabólicas y de sus relaciones con los factores externos (transporte de metabolitos, temperatura, etc.), es imprescindible para el mantenimiento de la homeostasis, no sólo a nivel celular, sino a cualquier otro nivel de organización (tejido, órgano e incluso organismo vivo completo). Deben coordinarse gran diversidad de funciones y, en consecuencia, no existe un mecanismo único de control. Los organismos poseen mecanismos muy diversos para regular su metabolismo y, en muchos casos, entidades diferentes (especies distintas, órganos, tejidos e incluso células), utilizan distintos procedimientos para controlar determinadas funciones. Pero, independientemente del nivel de organización, la regulación enzimática desempeña un papel fundamental en el control de todos los procesos metabólicos.

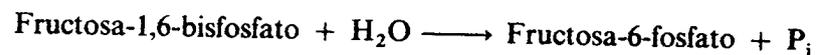
Necesidad de control de la actividad enzimática

La célula necesita modular en muchas ocasiones la actividad de determinadas enzimas, superando incluso las propias posibilidades cinéticas de éstas. Esta necesidad se pone claramente de manifiesto en ejemplos concretos:

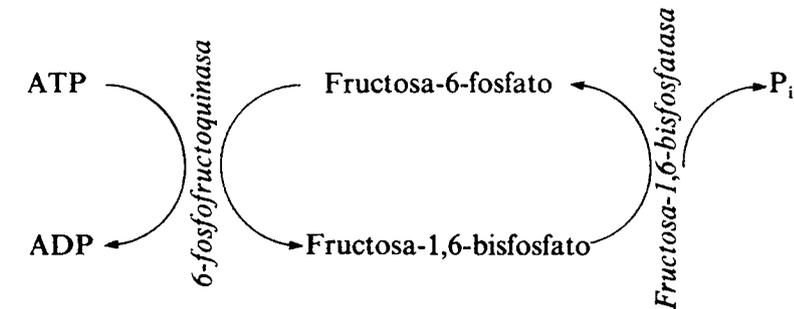
1. La *6-fosfofructoquinasa* cataliza la reacción:



Esta reacción forma parte de la *glucólisis*, y es prácticamente irreversible (cap. 16). En la *gluconeogénesis* (cap. 17) existe otra reacción, que es inversa a la anterior, catalizada por la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*:



Las dos reacciones tienen lugar en el mismo espacio extramitocondrial de la célula, por lo que si funcionaran de forma simultánea y descontrolada, se produciría una continua interconversión de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato y viceversa. A su vez, esto implicaría la hidrólisis del ATP y, por tanto, una pérdida ininterrumpida de energía para la célula, que la llevaría irremediablemente a la muerte:



Este tipo de interconversión de metabolitos en una vía es frecuente en la célula, y se denomina *ciclo futile*, o con más precisión, *ciclo de sustratos*. El control de este tipo de ciclo ha de ser muy estricto, para lograr que una de sus enzimas sea activa cuando otra esté inhibida, y viceversa.

2. La velocidad de la actividad catalítica de una enzima depende de la concentración de su sustrato (cap. 6), lo cual supone ya un control del proceso. Sin embargo, en la célula, muchas veces este control no es suficiente. Así, para una enzima cuya cinética sigue la ecuación de Michaelis-Menten (cap. 6):

$$v = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{[S] + K_m}$$

se observa, con la simple aplicación de esta fórmula, que cuando la concentración del sustrato $[S]$ es nueve veces inferior a la K_m ($[S] = K_m/9$), la velocidad de la reacción será

$$v = \frac{V_{\text{máx}} \frac{K_m}{9}}{\frac{K_m}{9} + K_m}$$

o, lo que es lo mismo, $v = 0,1 \times V_{\text{máx}}$. Para que la velocidad aumente nueve veces (es decir, para que $v = 0,9 \times V_{\text{máx}}$), el valor de $[S]$ tendría que ser $9 \times K_m$, o sea, la concentración del sustrato tendría que pasar de ser $K_m/9$ a $9 \times K_m$, lo que supone un aumento de 81 veces. Desde el punto de vista fisiológico, este es un cambio enorme y, muchas veces, fuera de las posibilidades de la propia célula. Normalmente, la concentración de los metabolitos intermedios de una vía varía muy poco (la célula tiende a mantener su estado estacionario) y, sin embargo, la velocidad de las reacciones que en ella participan ha de cambiar drásticamente (en muchos casos, incluso más que el paso de $0,1 \times V_{\text{máx}}$ a $0,9 \times V_{\text{máx}}$, antes considerado). Es evidente, por tanto, que este requerimiento supera con creces las posibilidades de las propias características cinéticas de la mayoría de las enzimas, obligando al establecimiento de otros sistemas de control.

3. En determinados casos, el control de la actividad de las enzimas ha de realizarse a distancia, lo que obliga a establecer también mecanismos distintos de

aquellos derivados directamente de la propia reacción enzimática. Un ejemplo de ello lo tenemos también en la *6-fosfofructoquinasa*. Como se ha indicado antes (apartado 1), uno de los sustratos de esta enzima glucolítica es el ATP que, sin embargo, es también producto final de la propia glucólisis. Es decir, el ATP es al mismo tiempo sustrato y producto de esta vía; la inhibición por acumulación del ADP, producto inmediato de la acción catalítica de la *6-fosfofructoquinasa* sobre el ATP, llegaría a hacer que la glucólisis dejara de funcionar. Esto ha obligado a la célula a inhibir la *6-fosfofructoquinasa* por uno de los productos finales de la glucólisis: precisamente el ATP, a pesar de ser también sustrato de la enzima.

Estos ejemplos constituyen solamente una muestra de la necesidad que tiene la célula de poseer un fino y estricto control de la actividad enzimática. El conocimiento de dicho control en el hombre es fundamental para comprender la base molecular de las enfermedades metabólicas y establecer con ello una adecuada terapia. En la mayoría de los casos tenemos que extrapolar los resultados obtenidos en bacterias, ya que los estudios sobre este tema realizados en mamíferos son todavía escasos. De todas maneras, el conocimiento de la regulación metabólica en bacterias ha permitido establecer las bases conceptuales para llegar a comprender los mecanismos que pueden participar en el hombre.

Reacción limitante

La regulación enzimática del metabolismo se realiza mediante la «modulación» de reacciones clave en los puntos comunes de las confluencias de distintas vías metabólicas. Lógicamente, esta modulación se ve influenciada por los aspectos termodinámicos que condicionan una reacción dada, pero el control principal de la misma se realiza mediante la actividad y concentración de las enzimas que catalizan dichas reacciones clave.

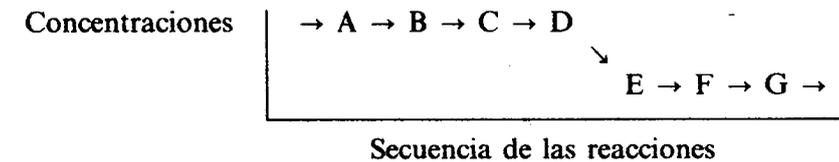
En la regulación metabólica se da con frecuencia el caso de que una sola reacción de una vía metabólica puede gobernar el funcionamiento de toda la secuencia de reacciones que en ella participan. A este tipo de reacciones se las denomina *reacciones limitantes* o *reacciones más importantes de la vía*, ya que el término no puede ser absoluto, dado que hay vías en las que son varias las reacciones que comparten el control.

En una vía metabólica:



supongamos que el compuesto A es el producto de otra reacción o serie de reacciones, y que su concentración se mantiene constante gracias al equilibrio entre su formación y su utilización. Podemos imaginar también que el último producto de la secuencia, G, se está sintetizando continuamente y degradando en un proceso posterior, de forma que su concentración es también constante. Consideremos, asimismo, que todas las reacciones de la secuencia tienen igual constante de equilibrio, y que todas las enzimas que participan tienen iguales constantes cinéticas ($V_{m\acute{a}x}$ y K_m), a excepción de la enzima que cataliza el paso $D \rightarrow E$, que tiene una $V_{m\acute{a}x}$ inferior a las demás. A medida que desaparece el producto G, disminuirá el F, lo que forzará a un aumento de la transformación de E en F. Por el mismo motivo, habrá una disminución del compuesto E, que a su vez inducirá una aceleración del paso D a E. Puesto que la enzima que cataliza esta reacción tiene una $V_{m\acute{a}x}$ menor, esta aceleración será también menor que en las otras

reacciones y, en consecuencia, habrá una disminución de la concentración de E, que repercutirá en las concentraciones de los productos F y G. Los productos de las reacciones anteriores a la $D \rightarrow E$ se mantendrán en las concentraciones iniciales, ya que las reacciones en que participan están catalizadas por enzimas más activas, que permiten una transformación del correspondiente sustrato a producto a la misma velocidad a la que éstos se están consumiendo. Como consecuencia, la reacción $D \rightarrow E$ constituye la reacción limitante de la vía, y será la única de la secuencia en la que la concentración del sustrato será considerablemente superior a la del producto:



En realidad, raras veces la K_m y la $V_{m\acute{a}x}$ de las reacciones de una vía metabólica coinciden, como hemos indicado en el ejemplo anterior. En este caso, la reacción limitante de la secuencia será la que se encuentre más desplazada del equilibrio.

Dada la repercusión que tiene la regulación de una enzima que participa en una reacción limitante para la velocidad de toda la secuencia de reacciones que constituyen una vía metabólica, se comprende fácilmente que la célula haya logrado mecanismos muy diversos y eficaces para el control, precisamente, de las enzimas que catalizan este tipo de reacciones.

REGULACION ENZIMATICA POR CAMBIO EN EL NUMERO DE MOLECULAS

La actividad de una enzima depende, en primera instancia, de su cantidad; es decir, de su concentración o número de moléculas de enzima presentes. La concentración de una enzima viene determinada por la velocidad de su síntesis y la de su degradación:



Así, la cantidad de enzima aumentará al incrementarse la actividad de su síntesis, al inhibirse la de su degradación, o cuando se producen ambos procesos a la vez. Por el contrario, la cantidad de la enzima disminuirá como consecuencia de una inhibición de su síntesis, de un incremento de su degradación o de ambos.

El mecanismo de regulación de la síntesis enzimática es relativamente bien conocido y no es más que el de la síntesis de proteínas. Su fundamento es el de la regulación de la expresión genética, por lo que su estudio ha de posponerse a capítulos posteriores de este libro (cap. 37). A diferencia de la síntesis, el proceso de la degradación enzimática no se conoce bien. Implica la hidrólisis por enzimas proteolíticas, pero sabemos poco de la forma en que es regulada. Requiere ATP y

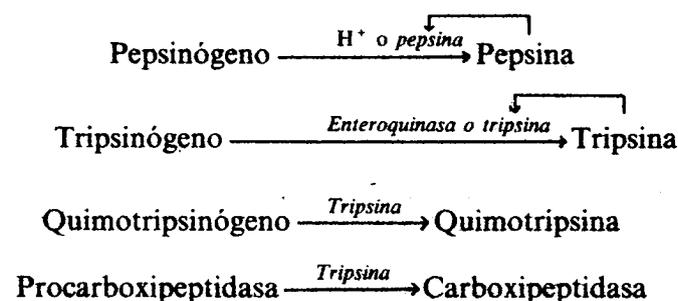
depende de la conformación de la enzima que ha de ser degradada, que, a su vez, varía con la presencia o ausencia de sustratos, coenzimas o iones metálicos, por lo que estos factores modifican la susceptibilidad de la enzima a ser degradada.

Recientemente se ha descubierto en células eucarióticas la presencia de una proteína de 76 aminoácidos, denominada *ubiquitina*, que parece desempeñar un papel importante en el control de la proteólisis. Su unión covalente a proteínas reguladoras de vida corta (entre las que se encuentran determinadas enzimas), constituye una señal para que éstas sean degradadas de forma selectiva por proteinasas específicas.

Proenzimas

Algunas enzimas se sintetizan en una forma catalíticamente inactiva, llamada *proenzima*. Para pasar a la forma activa, la proenzima debe sufrir una *proteólisis* parcial, en la que pierde un fragmento de su molécula y varía su conformación, de tal manera que pone de manifiesto (u organiza) su sitio catalítico. Esto constituye un mecanismo de control de la actividad enzimática, que es típico de las *enzimas* digestivas y de las que participan en la coagulación de la sangre.

La conversión de proenzimas en enzimas activas es catalizada por enzimas proteolíticas o por iones H^+ :



En algunas ocasiones, el proceso de proteólisis es autocatalítico, como en el caso de la *pepsina* y la *tripsina*, las cuales al tiempo que se forman a partir de sus proenzimas correspondientes, catalizan su propia formación.

Desde el punto de vista del mecanismo de control de la actividad enzimática, la síntesis de precursores inactivos de las enzimas permite disponer inmediatamente de una enzima activa en respuesta a las demandas fisiológicas.

REGULACION DE LA EFICIENCIA CATALITICA DE LAS ENZIMAS

Las enzimas pueden variar su actividad aumentando o disminuyendo su eficiencia catalítica, sin necesidad de que se modifique su cantidad; es decir, sin que se requieran cambios en la velocidad de su síntesis o degradación.

Disponibilidad de sustrato y cofactores

La forma más sencilla de modificar la actividad de una enzima sin variar su concentración es cambiando la disponibilidad de los componentes de su acción

catalítica. En condiciones fisiológicas, la célula utiliza frecuentemente este mecanismo de control. De hecho, las enzimas suelen actuar por debajo de su V_{\max} con relación al sustrato y los cosustratos, lo cual supone que la velocidad de la reacción va a ser modificada por cambios en las concentraciones de aquéllos.

Conviene tener en cuenta que las concentraciones que afectan la actividad de una enzima no tienen que ser necesariamente las que nosotros medimos en un extracto del tejido. *In vivo* hay factores que pueden modificar la disponibilidad del sustrato o cosustrato de una enzima sin alterar su concentración aparente. Vamos a revisar algunos casos concretos.

Compartimentación enzimática. En las células eucarióticas existen compartimientos celulares, y puede darse el caso de que la enzima se encuentre en un lugar inaccesible para el sustrato, de que la apoenzima esté separada de la coenzima, o de que los efectores lo estén de la enzima. La localización de vías metabólicas específicas en el citoplasma o en orgánulos subcelulares hace que el control de éstos se realice de forma independiente, aunque en muchos casos participen metabolitos intermedios, coenzimas y/o efectores comunes. Puesto que las membranas que separan tales compartimientos intracelulares muchas veces no son permeables a alguno o a varios de estos factores, su traslado de un lado a otro de la célula (y, por tanto, la posibilidad de que participe(n) en determinada vía metabólica) representa una forma de regulación del metabolismo.

Existen acoplamientos entre procesos metabólicos que se llevan a cabo en compartimientos intracelulares distintos, dándose el caso frecuente de que metabolitos formados en un compartimiento son sustratos o participan en vías metabólicas localizadas en otro. El paso de los metabolitos de un compartimiento a otro se realiza por mecanismos más o menos complejos, entre los que se incluyen los conocidos sistemas de transporte a través de membranas (permeabilidad, difusión facilitada, transporte activo; véase cap. 39) o las vías alternativas conocidas como *sistemas de lanzadera*.

El sistema de lanzadera permite la transformación del metabolito en una forma permeable a la membrana del compartimiento. De esta manera puede atravesarla, volviendo a su forma original al otro lado de la membrana. La interconversión del compuesto requiere, a su vez, de una determinada actividad catalítica en ambos compartimientos, cuyo control participará de forma activa en la regulación del traslado correspondiente.

A través de todo el metabolismo nos encontraremos con diversos casos de estos sistemas de lanzadera; aquí vamos a citar solamente uno de ellos, como ejemplo característico de su funcionamiento. El NADH formado en el espacio extramitocondrial, por ejemplo, durante la glucólisis, no puede ser oxidado directamente en la *cadena respiratoria*, ya que ésta tiene lugar dentro de la mitocondria. Se establece una lanzadera en la que el NADH es utilizado como coenzima reductora de deshidrogenasas de sustratos capaces de atravesar la membrana mitocondrial (fig. 7.2). Estos sustratos reducidos ceden de nuevo los grupos H^+ al NAD^+ dentro de la mitocondria, mediante reacciones de oxidorreducción catalizadas por deshidrogenasas mitocondriales iguales o distintas a las anteriores. Una vez oxidados, vuelven a atravesar la membrana de la mitocondria, para ser utilizados de nuevo como aceptores de hidrogeniones procedentes de la oxidación del NADH extramitocondrial.

Debido a la importancia estratégica del acoplamiento de las funciones intra y extramitocondriales, las enzimas que catalizan este tipo de derivaciones metabólicas representan un papel fundamental en el control del metabolismo general de la célula.

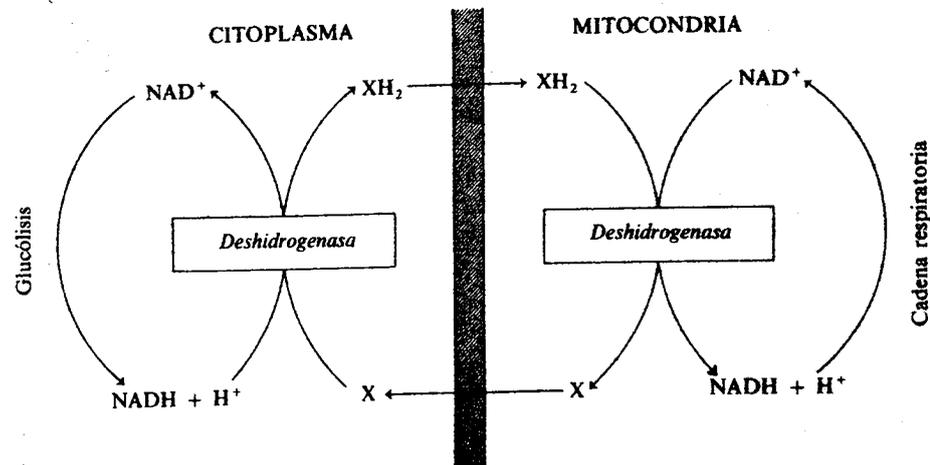


Figura 7.2. La compartimentación celular obliga a utilizar el sistema de lanzadera que, como las del NADH, permiten el paso del potencial reductor (H^+) derivado de la *glucólisis* al interior de la mitocondria para nutrir la *cadena respiratoria*, a expensas del intercambio de metabolitos en su forma reducida (XH_2) y oxidada (X). Este sistema actúa también para el intercambio de otros compuestos entre los compartimientos intracelulares, llegando a constituir vías metabólicas alternativas, que juegan un importante papel regulador al controlar la disponibilidad de sustratos o cosustratos a sus respectivas enzimas.

Asociaciones multienzimáticas

Una de las normas que rigen la evolución de los seres vivos es la selección natural y/o genética de aquellos individuos que, en sus procesos metabólicos, logran sistemas de máximo rendimiento energético. Con este último objetivo, la mayoría de los organismos, procariotas y eucariotas, han logrado organizar las diferentes enzimas que participan en una misma vía metabólica en una «asociación», que puede ser de naturaleza diversa: a) agregado o complejo multienzimático, en el que varias enzimas se agrupan para constituir un complejo único; b) enzimas unidas a membranas, y ordenadas en función de su participación en la vía; c) enzimas multifuncionales o conjugados multienzimáticos, que son moléculas de enzimas asociadas de forma covalente. La existencia de esta diversidad de asociaciones ha dado lugar a problemas de nomenclatura, pero en cualquier caso, e independientemente de la naturaleza física de la asociación, suponen una gran ventaja para las actividades catalíticas individuales en las que participan. Estas asociaciones aportan la adecuada disposición de las enzimas de una vía metabólica, y con ello, una serie de ventajas para su control:

— Como se observa en la figura 7.3, las enzimas de una asociación multienzimática pueden variar su conformación y, por tanto, sus propiedades catalíticas, en respuesta a la unión de un efector único (activador o inhibidor) a un solo sitio de la molécula. El resultado es que por acción de un solo efector se llega a modificar la capacidad catalítica de cada enzima de la secuencia, aumentándola o disminuyéndola.

— La agrupación o compactación de una vía metabólica facilita una considerable reducción del tiempo de transición y del gasto energético correspondiente, al disminuir la difusión de los metabolitos intermedios. Como se observa en la figura 7.4.a, en una vía en la que las enzimas no se encuentran asociadas, el producto B

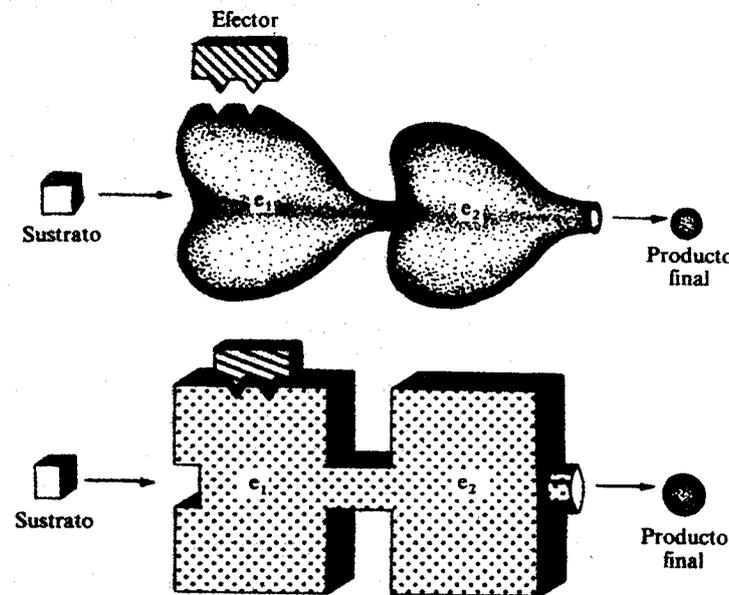


Figura 7.3. Cambio conformacional coordinado, inducido a una asociación multienzimática por un efector único (activador o inhibidor), al actuar éste sobre el sitio correspondiente de una de las enzimas que lo forman.

formado en la primera reacción difunde al medio, de donde ha de ser recaptado para su acoplamiento al sitio activo de la segunda enzima (e_2); esto supone un considerable gasto de tiempo, energía y, en muchos casos, de parte del propio metabolito intermedio, con la consiguiente disminución del rendimiento de la vía. Estos inconvenientes se subsanan cuando existe una asociación multienzimática

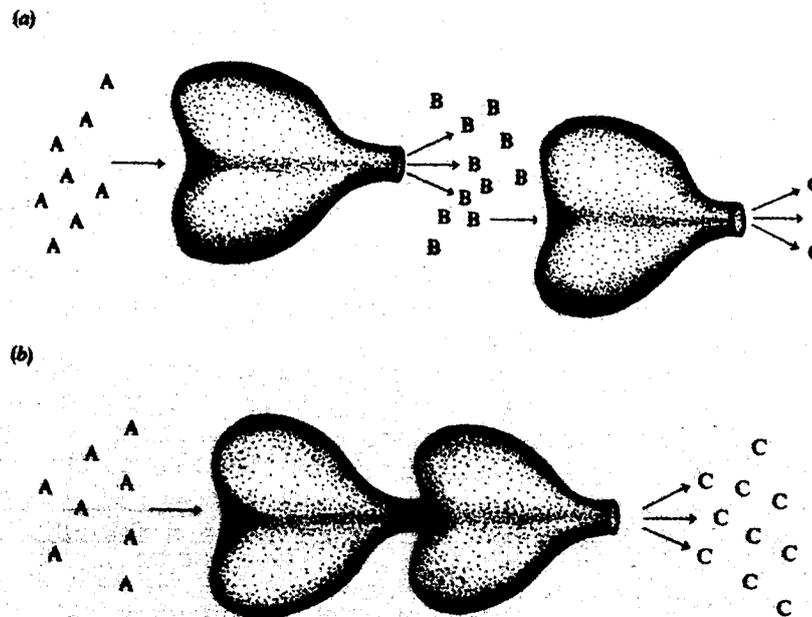


Figura 7.4. Comparación del rendimiento de una vía metabólica de dos reacciones enzimáticas, cuando las enzimas se encuentran separadas entre sí (a) o formando una asociación (b).

(fig. 7.4.b), en la que el metabolito intermedio B del complejo e_1e_2 no se libera al medio, consiguiéndose un máximo aprovechamiento de la vía.

Concentraciones efectivas de sustratos y cofactores

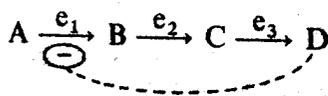
La compartimentación intracelular y las asociaciones multienzimáticas son solamente dos de los ejemplos de la falta de relación entre la concentración total de los sustratos y cofactores existentes en un tejido, y su papel real con respecto a la actividad de las enzimas que actúan sobre ellos, que viene determinado por sus *concentraciones efectivas*. Otro ejemplo es la discrepancia que suele existir entre la concentración total y la libre de un metabolito, de una coenzima o incluso de un catión. Son frecuentes los casos en los que estos factores se encuentran unidos, dentro de la célula, a macromoléculas (principalmente proteínas), por lo que la concentración efectiva de los mismos es muy inferior a la total. Al extrapolar la cinética de una enzima a la célula viva debe tenerse en cuenta que de las concentraciones de sustrato y cofactores, solamente participan en dicha cinética los correspondientes a su «forma libre» y accesible a la enzima. Esto es importante, y su olvido ha llevado a frecuentes errores de interpretación. De hecho, con los métodos disponibles en la actualidad, todavía es prácticamente imposible determinar la disponibilidad real de sustratos y cofactores de una enzima *in vivo*, y es necesario el conocimiento de esta limitación para establecer las adecuadas aproximaciones al control de la actividad enzimática en el organismo completo.

Regulación «feed-back» y alosterismo

En 1940, Dische observó, en preparaciones de eritrocitos, que la fosforilación de la glucosa, primera reacción de la glucólisis, era inhibida por los ácidos mono y difosfoglicéricos, es decir, por productos de la misma vía. El descubrimiento de que el producto de una vía metabólica puede actuar como inhibidor de la primera enzima de la misma, ha sido más tarde ampliamente reconocido para otras vías. El fenómeno implica que la acumulación del producto final inhibe su propia síntesis, y utilizando terminología mecánica, se le conoce con el nombre inglés de *inhibición feed-back*.

El hecho de que el producto final de una vía sea normalmente muy diferente al sustrato llevó a Gerhart y Pardee, en 1962, a sugerir que dicho producto (inhibidor) se liga a un sitio distinto del sitio activo de la enzima. Este sitio corresponde a una región específica de la enzima, que se denomina *sitio regulador*. Cada uno de estos sitios (el activo y el regulador) puede ser considerado como *alostérico* (del griego *αλλο*, otro) con relación al otro. Los aspectos cinéticos de las enzimas alostéricas ya han sido descritos en el capítulo 6, y aquí vamos a revisar solamente su papel regulador en las vías metabólicas.

La regulación *feed-back* en una vía metabólica lineal no presenta dificultad conceptual. La inhibición de la actividad de una de las primeras enzimas de la vía (e_1) por el producto final de la misma (D) implica la capacidad de éste para unirse al lado regulador de e_1 , actuando como un *efector alostérico negativo* o *inhibidor feed-back*. Por tanto, la *inhibición feed-back* regula la síntesis del producto de la vía (D), el cual se liga a la enzima correspondiente en el sitio *alostérico*, que normalmente está alejado del *sitio catalítico* (o *activo*).



Existen algunas generalidades sobre la inhibición *feed-back*:

1. Es especialmente frecuente en las vías biosintéticas.
2. El inhibidor *feed-back* es normalmente una molécula pequeña, precursora de una macromolécula (como un aminoácido, para las proteínas, o nucleótido, para los ácidos nucleicos).
3. La regulación *feed-back* tiene lugar normalmente en la (o las) enzima(s) que cataliza(n) la(s) reacción(es) limitante(s) de una vía, y particularmente en las primeras, que son funcionalmente irreversibles.

Muchos de los procesos metabólicos son vías ramificadas. Si sólo funciona un control *feed-back*, el acúmulo del producto de una de las ramificaciones (por ejemplo, el producto E, fig. 7.5) inhibirá no solamente su propia síntesis, sino también la de los productos de otras ramificaciones (por ejemplo, la del producto G, fig. 7.5). Para evitar esto, han surgido diversos dispositivos de control. Uno de ellos supone la existencia de diversas formas de la enzima (isoenzimas) que controlan el primer paso de la vía. Cada una de estas formas (e_1 y e'_1 , fig. 7.5a) es inhibida por uno de los productos finales (E y G, fig. 7.5a), y la situación resulta ser equivalente a un sistema simple de control *feed-back* de una vía lineal. Esos productos, E y G, pueden inhibir también a otras enzimas (e_3 y e_5 , fig. 7.5a), localizadas precisamente en la ramificación, facilitando así un control independiente de las dos ramificaciones. Este tipo de control recibe el nombre de *regulación lineal simple*.

Otro tipo de sistema de control implica que los productos finales E o G, no tienen efecto sobre la enzima e_1 , sino que inhiben a las enzimas e_3 y e_5 , respectivamente (fig. 7.5b). La enzima e_1 es inhibida por un intermediario C y, por ejemplo, si se acumula el producto G, queda bloqueada la conversión de C en F, canalizándose todo el compuesto C hacia la síntesis de E. Esto se mantiene hasta que el acúmulo de E llega a inhibir a la enzima e_3 , dando lugar al acúmulo de C y, por tanto, a la inhibición de la primera enzima de la vía (e_1) y a toda la secuencia (fig. 7.5b). Este tipo de control se ha denominado *control feed-back secuencial*. Una variación de él la constituye la denominada *inhibición feed-back concertada* (fig. 7.5c), en la cual los productos E y G inhiben a las enzimas e_3 y e_5 , respectivamente, y la inhibición de la primera enzima de la vía (e_1) se logra solamente cuando los dos productos finales están presentes simultáneamente. Otras variaciones de estos sistemas consisten en que el compuesto E o G sólo inhibe a la primera enzima (e_1), pero de forma parcial. El efecto inhibitorio de E y G puede ser aditivo (*sistema acumulativo de inhibición feed-back*) o más que aditivo (*sistema sinérgico de inhibición feed-back*).

Estos sistemas de control se han descrito ya para numerosos microorganismos, (*Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Rhodospseudomonas capsulata*, *Rhodospseudomonas sphaerodes*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus polymixa*), y dada su gran eficacia reguladora, cabe pensar que estén también presentes en organismos superiores.

Regulación por interacción de subunidades y enzimas alostéricas

La estructura proteica de una enzima puede verse afectada por un compuesto que se une a ella, repercutiendo a su vez en la estructura del sitio activo y, por tanto, en una mayor o menor *afinidad* por el sustrato. El resultado de este fenómeno será una estimulación o una inhibición de la actividad de la enzima. Las enzimas que modifican su actividad de esta forma se denominan *alostéricas*, y están constituidas por subunidades simétricas que interactúan (o cooperan) entre

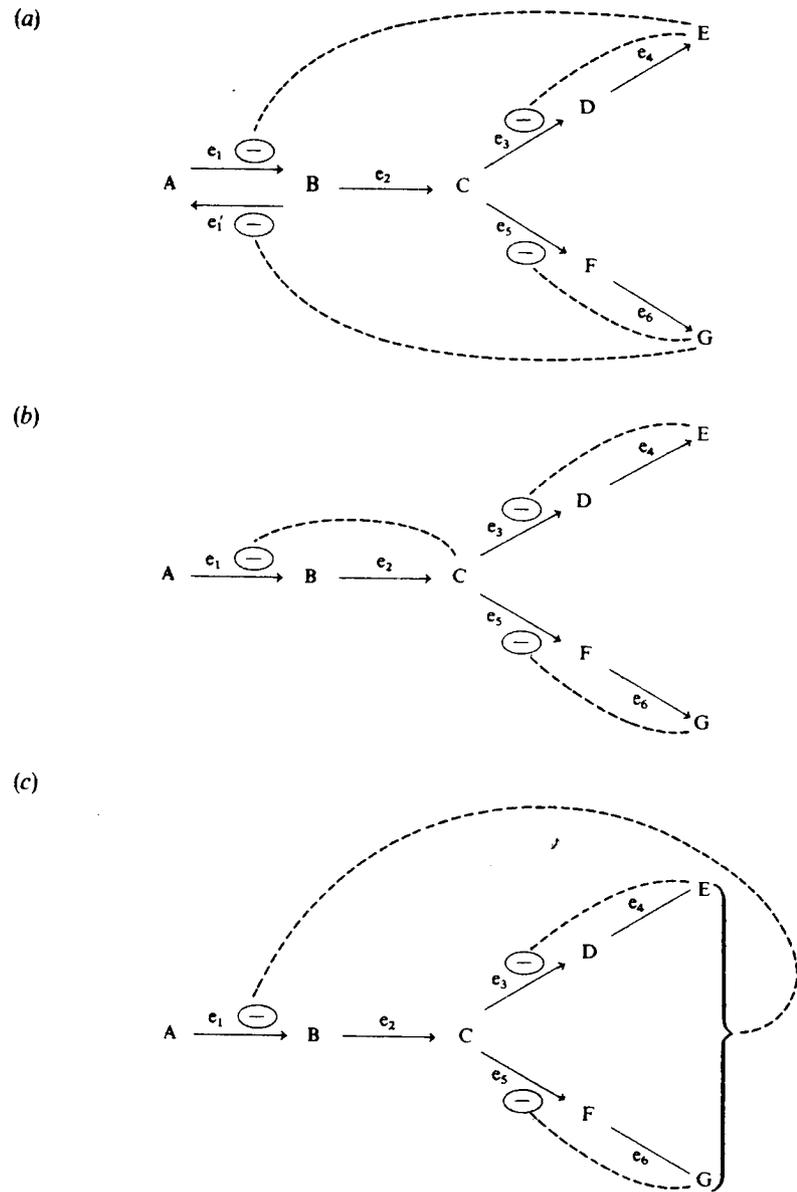


Figura 7.5. Formas de control *feed-back* en las vías metabólicas ramificadas. (a) *Regulación lineal simple*. (b) *Control feed-back secuencial*. (c) *Control feed-back concertado*, donde pueden establecerse sistemas acumulativos o sinérgicos de inhibición.

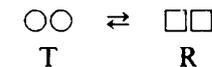
sí para facilitar o disminuir la asequibilidad de sus respectivos sitios activos a las moléculas del sustrato. Esta *cooperatividad* de algunas enzimas es similar a la que ejerce la hemoglobina con relación al oxígeno (cap. 47) y, de hecho, se ha utilizado la cinética sigmoidea de la unión del oxígeno a la hemoglobina como modelo para comprender los fenómenos que tienen lugar en la cooperatividad enzimática (cap. 6).

Modelos para explicar la cooperatividad

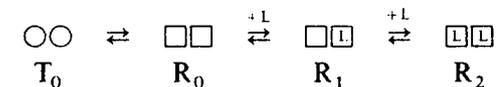
En 1965, Monod, Wyman y Changeux propusieron un modelo para explicar el comportamiento de las proteínas y enzimas alostéricas, que se conoce como *modelo concertado*, y se basa en cuatro suposiciones:

1. Estas moléculas son oligómeros, en los que las subunidades ocupan posiciones equivalentes entre sí, y presentan como mínimo un eje de simetría.
2. La conformación estructural de cada subunidad depende de su interacción con las otras.
3. Existen dos estados conformacionales del oligómero, R («relajado») y T («tenso»), con diferente afinidad por un determinado compuesto que se une a la molécula, denominado *ligando*.
4. Cuando la conformación de la proteína pasa de la forma R a la T (o viceversa), se mantiene la simetría de la molécula oligomérica.

Si las conformaciones T y R de las subunidades del oligómero se representan, respectivamente, por círculos y cuadrados, el equilibrio para el caso de una enzima alostérica con estructura dimérica, según los puntos 3 y 4 anteriores, sería el siguiente:

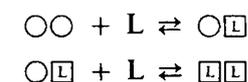


En este modelo no se conciben formas híbridas del tipo $\bigcirc\square$, ya que en ellas se pierde la simetría del oligómero. Esto supone que todas las subunidades cambian de configuración de una manera «concertada», de ahí el nombre del modelo. Ello implica, a su vez, que la eficacia de unión de un ligando (por ejemplo, el compuesto L) a la proteína depende de la configuración de ésta, y que el equilibrio se desplaza de la forma T a la R en función de la concentración de aquél:



La unión del ligando a una subunidad induce la transición concertada de las demás; o lo que es lo mismo, en presencia de determinada cantidad de ligando, todas las subunidades adquieren la configuración de mayor afinidad por él. A este fenómeno se le denomina *cooperatividad positiva*.

Posteriormente (en 1966), Koshland, Némethy y Filmer propusieron una modificación del modelo concertado, según la cual la unión de un ligando a una subunidad de la proteína oligomérica modifica la configuración de dicha subunidad, que, a su vez, induce un cambio en su interacción con las subunidades contiguas. En el caso de una proteína dimérica, se establecerían los siguientes equilibrios tras la unión del ligando L:



Este modelo se conoce como *secuencial asimétrico*, y se diferencia del anterior en dos aspectos:

1. En ausencia de ligando, la proteína se encuentra en un determinado estado conformacional, y no en un equilibrio de dos conformaciones diferentes.

2. El cambio conformacional de la proteína se realiza de forma «secuencial». Es decir, las subunidades cambian de conformación secuencialmente en función de la unión del ligando, y no de forma concertada, como proponía el primer modelo.

Así pues, en el caso del modelo secuencial asimétrico, la interacción entre las proteínas y el ligando podría representarse globalmente:



A diferencia del modelo concertado, el modelo secuencial asimétrico permite explicar el hecho de que la interacción entre las subunidades pueda ser positiva (*cooperación positiva*) o negativa (*cooperación negativa*), como parece ocurrir en realidad. Esto significa que la unión de una segunda molécula de ligando a la proteína puede ser más favorable (*cooperatividad positiva*) o menos (*cooperatividad negativa*) que la de la primera.

Teniendo en cuenta los datos experimentales, en la actualidad se considera que los dos modelos son compatibles con uno más general que implica un conjunto de reacciones reversibles, con sus respectivas constantes de equilibrio, y que se representa de forma esquemática en la figura 7.6. Puesto que la concentración de la proteína (en nuestro caso, la enzima) permanece constante, el desplazamiento de estas reacciones hacia una u otra configuración depende de la concentración del(los) ligando(s).

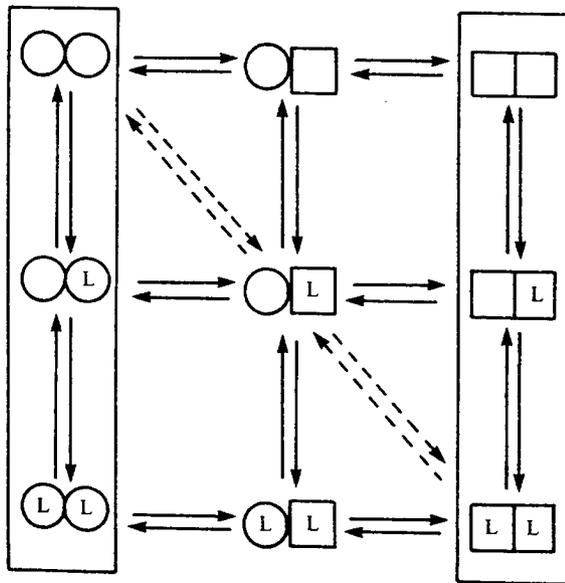


Figura 7.6. Modelo general de los equilibrios que se producen en la unión de un ligando (L) a una proteína (enzima) alostérica.

No es objetivo de esta obra profundizar más en los mecanismos moleculares y cinéticos que participan en estas interacciones. Sin embargo, desempeñan un papel importante en el control de las vías metabólicas, por lo que a continuación se exponen básicamente los aspectos que consideramos más interesantes para llegar a comprender las implicaciones funcionales de las mismas.

Cinética homotrópica

Entre los compuestos que pueden afectar la estructura de una enzima alostérica formada por varias subunidades que interactúan cooperativamente se encuentra su propio sustrato, que actúa como ligando. Cuando dichas subunidades son idénticas entre sí, cada una con su sitio catalítico, la relación entre la concentración del sustrato y la velocidad de la reacción presenta una cinética *homotrópica*. En ella, la unión de una molécula de sustrato a uno de los sitios catalíticos modifica la estructura de la enzima, aumentando la afinidad de los otros sitios por el sustrato. En este caso se habla de *cooperatividad positiva*, y la cinética de la enzima en respuesta a cambios en la concentración del sustrato es sigmoidea (cap. 6, fig. 6.18). La enzima no comienza a catalizar eficazmente la reacción hasta que no hay suficiente sustrato para que todos sus sitios activos resulten accesibles a mayor cantidad de sustrato. La modificación de la configuración enzimática es reversible, y el equilibrio se desplazará a una forma *más o menos activa* de la enzima, en función de la concentración del sustrato.

Supongamos el caso de una enzima tetramérica que cumple estas características y sus posibles configuraciones (fig. 7.7). Cuando la enzima está en su «forma inactiva» y hay una determinada cantidad de sustrato, es posible que éste llegue a acoplarse al sitio catalítico de alguna de las subunidades, con su correspondiente cambio de configuración; debido a la cooperatividad, este cambio representa una modificación en el mismo sentido del resto de las subunidades, lo que hace que toda la enzima pase a una forma de plena efectividad catalítica (activa).

Este tipo de regulación permite a la célula llevar a cabo una reacción enzimática únicamente cuando la concentración del sustrato ha alcanzado un determinado valor (bastante por encima de cero), por debajo del cual la enzima implicada permanece prácticamente inactiva.

Esto tiene importantes repercusiones fisiológicas, ya que evita la depleción de sustrato cuando su transformación puede ser catalizada por diversas enzimas o cuando la reacción es prácticamente irreversible.

La cooperatividad puede ser también *negativa*, en cuyo caso la unión de una molécula de sustrato disminuye la afinidad de la enzima por nuevas moléculas. Resulta fácil distinguir las enzimas no cooperativas de las que presentan cooperatividad positiva o negativa, debido a sus distintas características cinéticas (fig. 7.8).

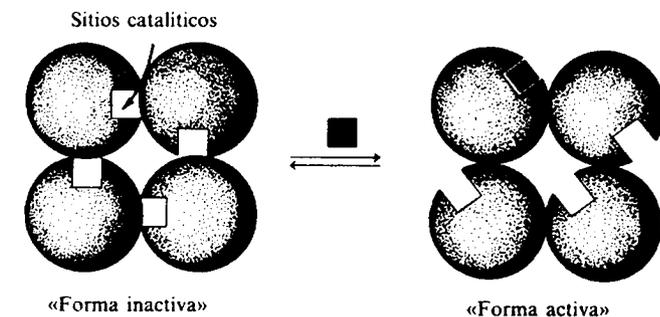


Figura 7.7. La *cooperación positiva* entre las subunidades de una enzima y su correspondiente sustrato (S) permite que, en presencia de determinada concentración de éste, cambie la configuración de alguna de las subunidades. Esto repercute en un cambio similar en las otras, haciendo que la enzima pase a su «forma activa». El proceso es reversible, y una disminución de la concentración del sustrato por debajo de un determinado nivel hace que el equilibrio se desplace a la «forma inactiva» de la enzima.

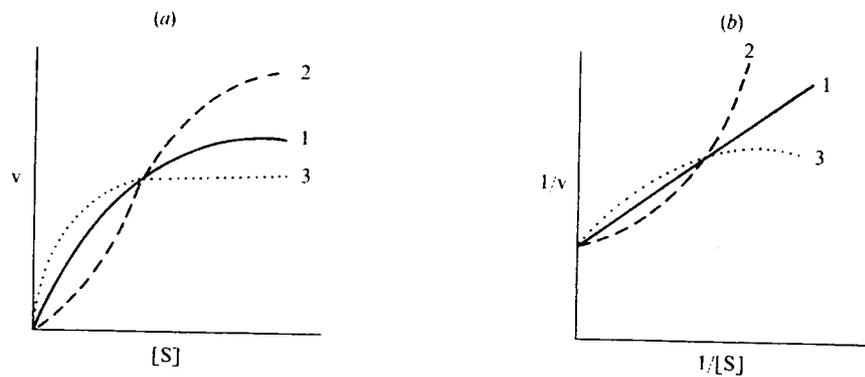


Figura 7.8. Características cinéticas de enzimas que no muestran cooperatividad (1), con cooperatividad positiva (2) o con cooperatividad negativa (3), según las representaciones de Michaelis-Menten (a) y de Lineweaver-Burk (b).

Cinética heterotrópica

Hay enzimas alostéricas que, presentando interacción cooperativa entre sus subunidades, pueden ser reguladas por ligandos distintos del sustrato, denominados *efectores*. Estos efectores pueden activar (*activador*) o inhibir (*inhibidor*) a la enzima, y precisamente los inhibidores feed-back citados anteriormente constituyen un ejemplo del último caso.

La unión del efector al sitio regulador (también denominado *sitio alostérico*) es específica, y viene acompañada por un cambio conformacional de la enzima, que produce bien una mayor afinidad por el sustrato (en caso de que el efector sea un *activador alostérico*) o bien una menor afinidad (cuando el efector sea un *inhibidor alostérico*).

Así pues, los cambios conformacionales de este tipo de enzimas son causados por variación en la concentración de sus efectores o del sustrato. Tales cambios se reflejan en la efectividad catalítica de la enzima y, por consiguiente, en su cinética, como ya se comentó en el capítulo 6. Así, en ausencia de efectores, la cinética de la enzima con relación al sustrato es de tipo sigmoidea, igual a la homotrópica comentada en el apartado anterior. Sin embargo, en presencia de un efector se produce normalmente un cambio aparente de la K_m para el sustrato, sin variación de la $V_{máx}$, aunque hay casos en los que ocurre lo contrario.

En presencia de un efector que activa a la enzima, su cinética se desplaza hacia la izquierda (fig. 7.9), pudiendo llegar a convertirse en hiperbólica. Así pues, la presencia del activador (modulador +) aumenta la asequibilidad de la enzima al sustrato, de tal forma que se necesita menor cantidad de éste para incrementar la velocidad de la reacción; es decir, se produce una disminución de la $K_{m\text{ aparente}}$ de la enzima. En presencia de un inhibidor (modulador -), el desplazamiento de la cinética se realiza hacia la derecha, haciéndose más sigmoidea (fig. 7.9). Esto significa que se requiere una mayor concentración del sustrato para alcanzar la $V_{máx}$, o lo que es igual, que se ha producido un aumento de la $K_{m\text{ aparente}}$.

Los cambios configuracionales que tienen lugar en las enzimas alostéricas de cinética heterotrópica son reversibles (fig. 7.10), como lo eran los de las que tienen cinética homotrópica (fig. 7.7). La diferencia entre ambos está en que, mientras en la cinética homotrópica era solamente la concentración del sustrato la que modificaba el equilibrio entre las formas activa e inactiva de la enzima, en la heterotrópica

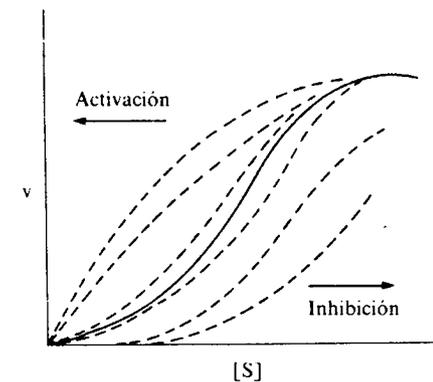


Figura 7.9. La presencia de *efectores heterotrópicos* (distintos al sustrato) hace que la cinética sigmoidea de las enzimas que presentan cooperatividad se desplace hacia la izquierda (activación) o la derecha (inhibición), en función de la concentración del activador o del inhibidor, produciendo una disminución o un incremento de la $K_{m\text{ aparente}}$ de la enzima.

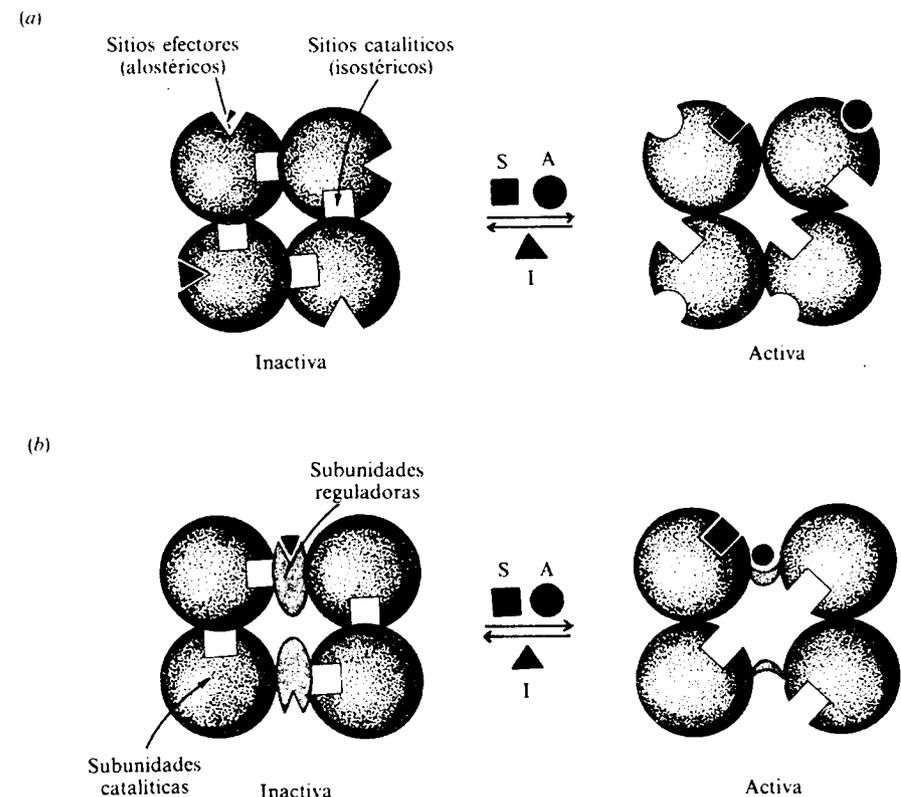


Figura 7.10. En las enzimas con *cinética heterotrópica*, el equilibrio de los cambios de configuración puede desplazarse a la forma activa por la presencia de determinadas concentraciones de sustrato (S) o de activador (A), o a la forma inactiva por la presencia de inhibidor (I). En algunas de estas enzimas (a), los sitios efectores y catalíticos se encuentran en las mismas subunidades, pero en otras (b) se encuentran en subunidades distintas. En este caso, las subunidades que poseen los sitios catalíticos se denominan *subunidades catalíticas*, y las que poseen sitios efectores, *subunidades reguladoras*.

ca los efectores también lo modifican (fig. 7.10.a). De hecho, la concentración relativa de sustrato, de activadores y de inhibidores, determina la dirección y el grado de desplazamiento del equilibrio, haciendo que la enzima pase a su forma activa o inactiva. En determinaciones cinéticas de homogenizados de tejidos se puede dar incluso el caso de que una enzima muestre características cinéticas hiperbólicas, a pesar de ser alostérica, debido a la presencia en la preparación de suficiente cantidad de activador, que hace que toda la enzima aparezca en su forma más reactiva. Esto explica por qué algunas enzimas no han podido ser reconocidas como alostéricas hasta no haber sido purificadas, y estudiada su cinética en ausencia de efectores.

La unión del efector a la enzima no tiene que realizarse necesariamente en la misma subunidad en que se encuentra el sitio activo. De hecho, ya se han descrito muchas enzimas alostéricas en las que la función reguladora (donde se encuentra el sitio alostérico) está localizada en subunidades distintas de aquellas donde se encuentra la función catalítica. Dichas enzimas están constituidas por agregados de subunidades simétricas, como todas las demás enzimas alostéricas, pero presentan una diferencia estructural entre las subunidades reguladoras y catalíticas (fig. 7.10.b).

Consecuencias fisiológicas de la cooperatividad

La respuesta sigmoidea de la actividad enzimática frente a cambios en las concentraciones de sustrato y/o de efectores alostéricos constituye una ventaja evolutiva, alcanzada tanto por bacterias como por organismos superiores, incluidos los mamíferos. De hecho, la base de la selección natural de las enzimas parece ser el efecto de la cooperatividad, más que el mecanismo por el que éste se ha conseguido. Ello es compatible con que las enzimas reguladoras no utilicen mecanismos comunes de funcionamiento.

La cinética sigmoidea supone la existencia de un umbral de activación, por debajo del cual la enzima es prácticamente insensible a pequeñas variaciones en la

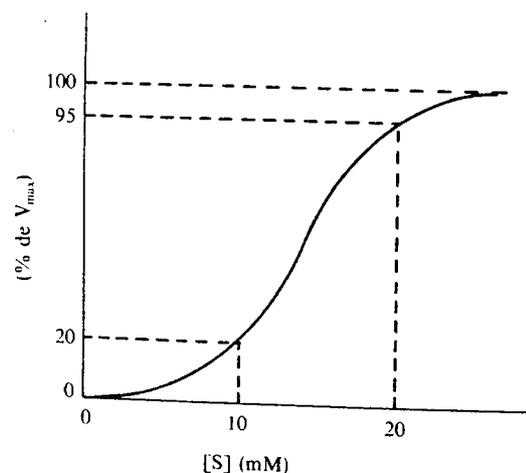


Figura 7.11. Aproximación semicuantitativa de la repercusión que tienen pequeños cambios en la concentración del sustrato (S), a partir de determinado valor (de 10 a 20 mM), en la velocidad de la reacción catalizada por una enzima alostérica (paso del 20 al 95 por 100 del valor de $V_{máx}$), en comparación con las pequeñas variaciones producidas por debajo de ese valor (de 0 a 10 mM).

concentración del sustrato o de los efectores, mientras que, por encima de él, pequeños cambios en la concentración producen efectos muy drásticos en la actividad de la enzima. En la figura 7.11 vemos cómo un aumento en la concentración del sustrato de 0 a 10 mM supone un aumento de la velocidad de la reacción enzimática del 0 a 20 por 100, mientras que si pasamos de 10 a 20 mM, la velocidad de la reacción llega al 95 por 100 de la $V_{máx}$. Estos valores varían en presencia de los correspondientes efectores de activación e inhibición, lográndose así un máximo control de la actividad catalítica de la enzima a expensas de pequeños cambios en la concentración intracelular de metabolitos (sustratos y efectores), sin necesidad de modificar la concentración de la enzima.

Modificación covalente

En algunas enzimas, la regulación de tipo alostérico está potenciada, y a veces superada, por la modificación estructural reversible de la enzima, mediante la unión covalente de un grupo fosfato (principalmente en mamíferos) o de un nucleótido (principalmente en bacterias). Con frecuencia, la modificación estructural supone la esterificación de terminales hidroxilos de los aminoácidos serina, treonina o tirosina, pertenecientes a la molécula de la enzima, con el fosfato procedente de la hidrólisis de ATP, por lo que es un proceso dependiente de la energía metabólica. Puesto que estas uniones covalentes implican un cambio en la efectividad catalítica de la enzima, que recupera su valor inicial cuando se produce la hidrólisis de dicha unión, las enzimas correspondientes se denominan genéricamente *enzimas interconvertibles*.

Las enzimas interconvertibles presentan dos estados de actividad, que corresponden a sus formas fosforilada y desfosforilada (o adenilada y desadenilada, en caso de que la unión covalente se realice con adenín-nucleótidos). Estas dos formas presentan características cinéticas distintas, e incluso pueden variar en su forma de regulación. Así, puede ocurrir que la forma fosforilada sea la activa o la inactiva, la regulable o no regulable por efectores alostéricos, etc., mientras que la forma desfosforilada presenta características opuestas.

La fosforilación y desfosforilación de las enzimas interconvertibles es catalizada por *proteína quinasa* y *proteína fosfatasa*, respectivamente (fig. 7.12), que poseen su propio sistema de control. Hay proteína quinasa que también son enzimas interconvertibles, existiendo a su vez proteína quinasa-quinasa, que catalizan la interconversión de estas proteínas. En el caso de las proteína fosfata-

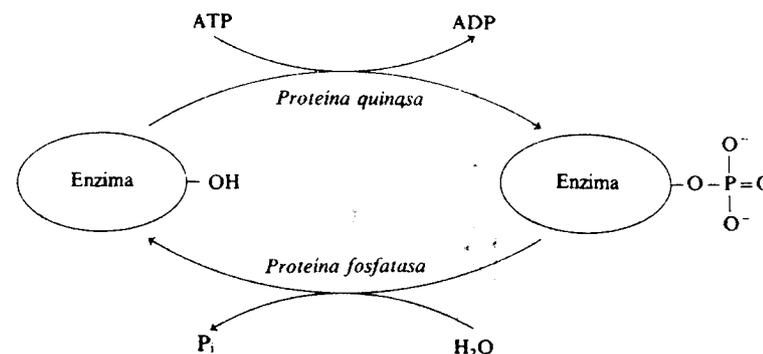


Figura 7.12. Modificación covalente de una enzima reguladora por la fosforilación y desfosforilación del hidroxilo de un residuo serina, treonina o tirosina de su estructura.

sas, no está claro que existan formas interconvertibles, pero su actividad también es regulable.

En muchos casos, la actividad de las proteína quinasa y las proteína fosfatasa es regulada por hormonas y neurotransmisores, estableciéndose un sistema de *control en cascada*, del que se encuentran diversos ejemplos en puntos clave del metabolismo, y cuyo principal representante es el que modula la síntesis y degradación del glucógeno (cap. 19).

El mecanismo por el que se lleva a cabo la regulación de las enzimas interconvertibles no está aún bien establecido. Probablemente tiene lugar mediante la configuración de formas más o menos estables, dependientes del grado de fosforilación. En la figura 7.13 se presenta un ejemplo hipotético de este mecanismo, en el que una enzima tetramérica existe predominantemente en dos posibles configuraciones interconvertibles. Debido al equilibrio de la transformación entre estas dos configuraciones, una de ellas está más favorecida, pero ambas pueden ser fosforiladas por la transferencia de grupos fosfato derivados de la hidrólisis de moléculas de ATP, catalizada por una proteína quinasa. La incorporación de los fosfatos hace que varíe el equilibrio entre las dos configuraciones de la enzima, de tal manera que ahora queda favorecida la forma fosforilada. La hidrólisis de los fosfatos, por acción de la proteína fosfatasa, revierte de nuevo el equilibrio de las configuraciones a su situación inicial, quedando otra vez favorecida la forma desfosforilada. En este conjunto de intercambios, cualquiera de las formas puede representar la configuración «más reactiva» de la enzima, mientras que la otra será la «menos reactiva». El conjunto constituye un equilibrio, que puede modificarse por cambios en las actividades de la proteína quinasa o la proteína fosfatasa,

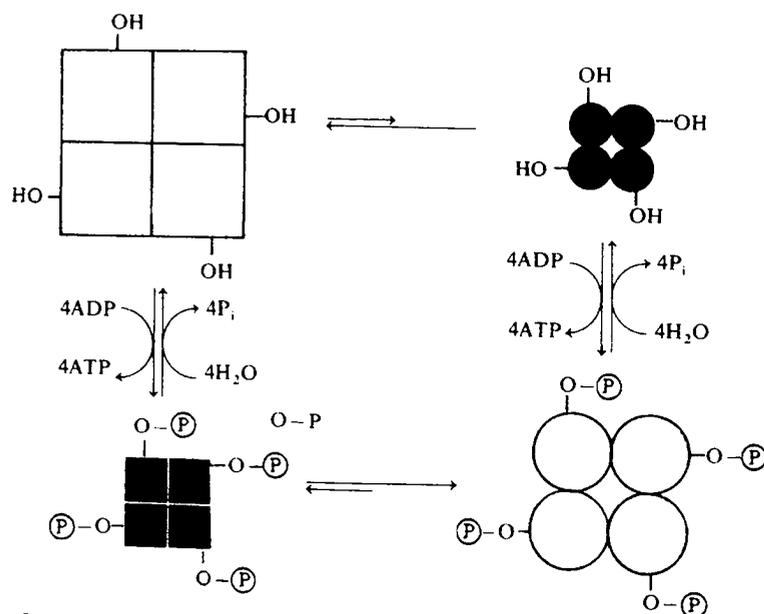


Figura 7.13. Las enzimas interconvertibles se regulan por fosforilación y desfosforilación, probablemente mediante la estabilización de una forma menos favorable. En la figura, la concentración de una determinada forma de la enzima se representa por el tamaño. La fosforilación o desfosforilación de la enzima produce un cambio en el equilibrio de las dos conformaciones de la misma, haciendo que se llegue a estabilizar (y acumular) una forma que antes era menos favorable (y se encontraba en menor proporción). Esta interconversión hace que la enzima pase de una forma activa a otra inactiva, o de una forma regulable a otra no regulable, en función de su grado de fosforilación. Hay casos en los que la enzima fosforilada es la forma activa, pero también los hay en que es a la inversa.

o en la disponibilidad de ATP. Esto, junto a las propias características cinéticas y alostéricas de cada una de las formas de la enzima, permite un máximo control de su efectividad catalítica.

ENZIMOLOGIA CLINICA

Enzimas en diagnóstico clínico

La función principal de un laboratorio clínico es investigar y cuantificar analíticamente las alteraciones bioquímicas que existen en el individuo enfermo. Una parte importante de esta función corresponde al ensayo de enzimas en líquidos o fluidos biológicos extracelulares (plasma y suero, orina, jugo gástrico, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico y líquido sinovial) y en células sanguíneas.

Todas las enzimas se sintetizan intracelularmente, y la mayoría de ellas realizan sus funciones catalíticas dentro de las mismas células donde se han formado. Sin embargo, algunas son segregadas en forma inactiva y, después de ser activadas, actúan en el espacio extracelular. Este es el caso de las enzimas del tracto gastrointestinal, algunas de las cuales pasan a la sangre (por ejemplo, la *amilasa pancreática*), de la *lipoproteína lipasa* del endotelio vascular o de las enzimas que participan en los procesos de coagulación. En analítica clínica tienen especial importancia las enzimas que se encuentran normalmente dentro de las células, y que en condiciones fisiológicas presentan una baja actividad en plasma o en suero. En condiciones patológicas se detectan cambios importantes en las actividades plasmáticas de algunas de ellas, de las que es posible inferir el daño existente en los tejidos corporales de donde proceden. En consecuencia, es importante conocer los factores que determinan el «escape» a la circulación de ciertas enzimas desde sus lugares de origen, así como la forma en que son eliminadas de aquélla. Esto permite interpretar correctamente los cambios de su actividad plasmática y relacionarlos con la situación patológica que corresponda.

Factores que afectan la actividad de enzimas en plasma o suero

El nivel de una enzima en plasma se pone de manifiesto por su actividad, que resulta del equilibrio entre la velocidad con que sale de la(s) célula(s) de origen y la velocidad con que es inactivada en la circulación o es eliminada de ella. Vamos a revisar los principales factores que participan en estos procesos:

a) *Entrada de enzimas a la circulación por daño en la membrana plasmática.* El factor que afecta en mayor medida a los niveles enzimáticos detectados en plasma o suero es la velocidad de salida de las enzimas a la circulación, que depende a su vez de dos procesos distintos: la salida propiamente dicha de la enzima al exterior celular y los cambios en la producción enzimática (por incremento de su síntesis, en determinado tipo de células, o por incremento de la proliferación celular).

Las enzimas se encuentran en el interior de las células protegidas por la membrana plasmática, pero existen situaciones (por ejemplo, una reducción brusca de las disponibilidades energéticas) o factores (un traumatismo, una infección vírica, agentes químicos o incluso la propia muerte celular), que deterioran dicha membrana y permiten la liberación al espacio extracelular de moléculas que en

condiciones normales no son capaces de atravesarla, como las enzimas. Un ejemplo de esta situación lo constituye el hígado, cuyas células son especialmente sensibles a la hipoxia producida como consecuencia de la disminución del flujo cardíaco, aumentando así el nivel de enzimas hepáticas en sangre. Otro ejemplo lo constituye el músculo esquelético, en el que el «escape» de enzimas celulares ocurre en situaciones tales como hipotermia, infección, inflamación o cambios degenerativos (distrofias), entre otras.

Cabe indicar también que debido a la alta concentración de las enzimas en el interior celular y a la gran sensibilidad con que pueden ser cuantificadas por sus características catalíticas, un incremento de su actividad en plasma constituye un método enormemente sensible para detectar un pequeño daño celular, e incluso a veces para localizar el tejido lesionado.

b) *Cambios en la producción enzimática.* A pesar de que las enzimas son intracelulares, existe un intercambio permanente de células (muerte de unas y formación de otras) y «escapes» de enzimas de células sanas, que dan lugar a la continua liberación de pequeñas cantidades de enzimas a la sangre, incluso en condiciones de normalidad. Dicha liberación puede estar disminuida por un defecto genético de la síntesis enzimática o por una disminución patológica de su formación. Tales disminuciones son poco frecuentes y difíciles de detectar. Se dan también cambios en sentido inverso, es decir, incrementos en la producción enzimática, los cuales tienen un mayor interés diagnóstico. Por ejemplo, en determinadas enfermedades óseas, el incremento en el número y la actividad de osteoblastos productores de *fosfatasa alcalina* da lugar a un aumento de la actividad de esta enzima en suero. Hay situaciones en las que el incremento de la producción enzimática y su consiguiente salida a la circulación es el reflejo directo de la inducción de su síntesis; éste es el caso de la elevación en suero de la *glutamil transferasa* tras la ingestión de barbitúricos o de alcohol, o el de la producción de *fosfatasa alcalina* por el hígado tras la obstrucción biliar.

En otros casos, la mayor producción de una determinada enzima es el reflejo de la proliferación celular y no el resultado de una mayor síntesis. Esto ocurre en los tumores malignos, como en el cáncer de próstata, en el que aumenta la actividad plasmática de la isoenzima prostática de la *fosfatasa ácida*, a pesar de estar disminuida su producción celular.

c) *Aclaramiento o liberación de enzimas de la circulación.* Poco se sabe de la forma en que las enzimas salen de la circulación. Además, en la mayoría de los casos su tamaño molecular les impide atravesar el glomérulo renal para ser eliminadas por la orina. Hay, sin embargo, alguna excepción, como la de la *amilasa*, cuyo incremento en sangre en la pancreatitis aguda se acompaña de su aparición en orina. Se cree que en la mayoría de los casos las enzimas se eliminan de la circulación a través de las células del sistema retículo endotelial después de ser inactivadas en el propio plasma. La vida media de una enzima en plasma puede variar de unas horas a varios días, y lógicamente éste es un factor importante que debe tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados analíticos correspondientes.

Selección del ensayo enzimático para el diagnóstico

Para decidir qué enzima debe medirse en el plasma a efectos de un diagnóstico o pronóstico, deben considerarse varios factores. El primero es la distribución tisular de las enzimas, ya que su concentración varía de unos tejidos a otros.

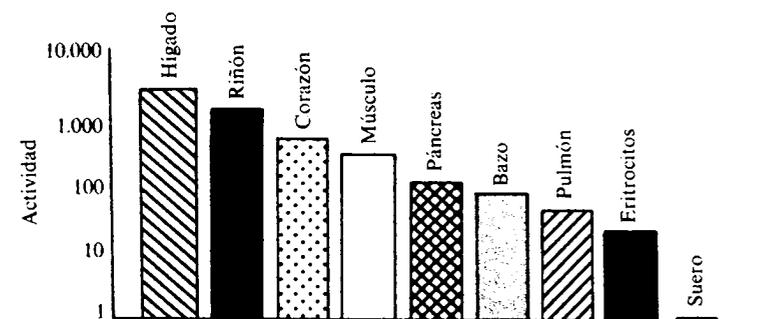


Figura 7.14. Distribución de la actividad de *alanina aminotransferasa* en distintos tejidos y suero en el hombre.

Como ejemplo, consideremos la distribución de la *alanina aminotransferasa* (fig. 7.14), también conocida como *ALT* o *GPT*. Puesto que su concentración en el hígado es mayor que en el resto de tejidos, los cambios de su actividad plasmática reflejarán la función de aquél. El criterio, sin embargo, no es absoluto, ya que esta enzima, como todas, se encuentra además en otros tejidos, cuyo daño o alteración

Tabla 7.1
ENZIMAS UTILIZADAS MAS FRECUENTEMENTE EN DIAGNOSTICO CLINICO

Enzima	Fuentes principales	Aplicaciones clínicas
<i>Fosfatasa ácida</i> (3.1.3.2; ACP)	Próstata, eritrocitos	Carcinoma de próstata
<i>Alanina aminotransferasa</i> (2.6.1.2; ALT, GPT)	Hígado, músculo, corazón	Enfermedades hepáticas
<i>Aldolasa</i> (4.1.2.13; ALS)	Músculo, corazón	Enfermedades musculares
<i>Fosfatasa alcalina</i> (3.1.3.1; ALP)	Hígado, hueso, intestino, placenta, riñón	Enfermedades óseas y hepatobiliares
<i>Amilasa</i> (3.2.1.1)	Glándulas salivales, páncreas, ovarios	Enfermedades pancreáticas
<i>Aspartato aminotransferasa</i> (2.6.1.1; AST; GOT)	Hígado, músculo, corazón, riñón, eritrocitos	Infarto de miocardio, enfermedades hepáticas y musculares
<i>Colinesterasa</i> (3.1.1.8)	Hígado	Enfermedades del parénquima hepático, intoxicaciones
<i>Creatina quinasa</i> (2.7.3.2; CPK, CK)	Músculo, cerebro, corazón, músculo liso	Infarto de miocardio, enfermedades musculares
<i>Glutamato deshidrogenasa</i> (1.4.1.2; GDH)	Hígado	Enfermedades del parénquima hepático
γ - <i>Glutamilttransferasa</i> (2.3.2.2; γ -GT; GGT)	Hígado, riñón	Enfermedades hepatobiliares, alcoholismo
<i>Lactato deshidrogenasa</i> (1.1.1.27; LDH; LD)	Corazón, hígado, músculo, eritrocitos, plaquetas, nódulos linfáticos	Infarto de miocardio, hemólisis, enfermedades del parénquima hepático
<i>5'-Nucleotidasa</i> (3.1.3.5; NTP; 5'NT)	Tracto hepatobiliar	Enfermedades hepatobiliares
<i>Sorbitol deshidrogenasa</i> (1.1.1.14; SDH)	Hígado	Enfermedades del parénquima hepático
<i>Tripsina</i> (3.4.21.4)	Páncreas	Enfermedades del páncreas

(Tomado de Tietz, 1987.)

funcional podría también afectar sus niveles plasmáticos. De cualquier forma, hay una serie de enzimas que son muy útiles para el diagnóstico clínico. En la tabla 7.1 se resumen todas ellas y se especifican los tejidos donde se encuentran en mayor proporción, así como sus aplicaciones diagnósticas.

Existen otros criterios que conviene tener en cuenta para utilizar una enzima en el diagnóstico clínico. Por ejemplo, hay enzimas que resultan inactivadas cuando entran en el compartimiento vascular, por lo que no es posible detectarlas. Este es el caso de la *isocitrato deshidrogenasa*, que es especialmente abundante en corazón y que se libera en la circulación en el infarto de miocardio. Un caso diferente es el de la *ornitina carbamiltransferasa*, enzima del ciclo de la urea, que se encuentra casi exclusivamente en hígado, por lo que su presencia en sangre sería teóricamente un marcador específico del daño hepático, pero que no se utiliza todavía de forma general en enzimología clínica debido a la complejidad de su ensayo. Otro aspecto importante en cuanto a la selección de una determinada enzima con fines diagnósticos es su vida media en sangre; es decir, el tiempo que tarda en desaparecer el 50 por 100 de su actividad de la circulación ($t_{1/2}$). Una enzima con una vida media en sangre muy corta (por ejemplo, inferior a seis horas) tiene un bajo valor diagnóstico. Se dan casos en que diferencias en la vida media de enzimas que se liberan a la sangre como resultado de un daño en determinado tejido son útiles no sólo para el diagnóstico, sino para determinar la eficacia de un tratamiento. Este es el caso, por ejemplo, del cambio de las actividades *creatina quinasa (CK)* y *lactato deshidrogenasa (LDH)* en suero tras un infarto de miocardio, cuyas distintas vidas medias permiten estudiar la evolución del proceso (fig. 7.15).

En la actualidad, el estudio de determinadas isoenzimas permite conocer mejor la relación entre las enzimas de los fluidos biológicos y determinadas situaciones patológicas. Como se indicó en el capítulo 6, las isoenzimas son las distintas formas

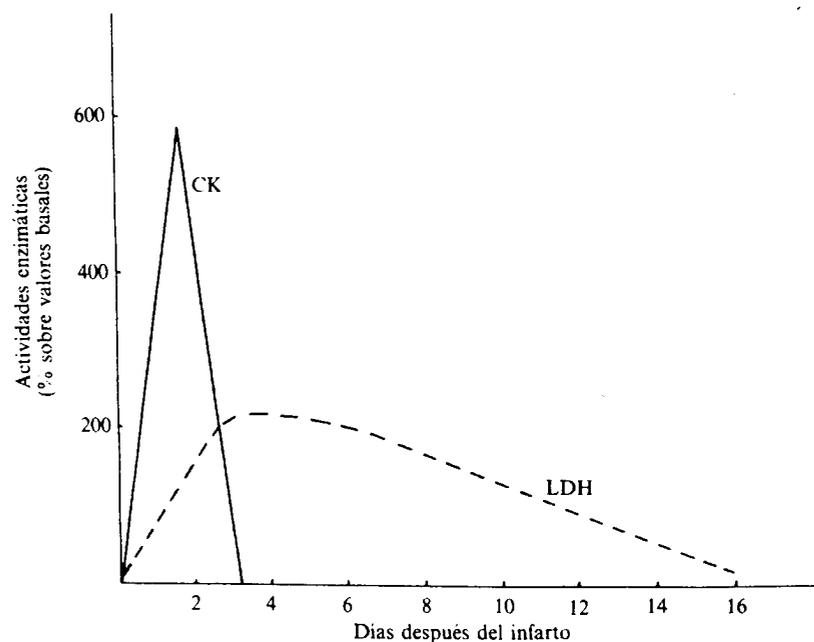


Figura 7.15. Cambios de actividades de *creatina quinasa (CK)* y *lactato deshidrogenasa (LDH)* en suero tras un infarto de miocardio.

moleculares de una enzima, que se diferencian entre sí por sus propiedades fisicoquímicas, inmunológicas y bioquímicas. Esto posibilita una fácil identificación por métodos sencillos, como la separación electroforética o cromatográfica, las características cinéticas (valor de la K_m , respuesta a inhibidores, pH y temperaturas óptimas), y la estabilidad a la temperatura, entre otros. La identificación de isoenzimas en plasma tiene un papel importante en el diagnóstico diferencial, aunque desgraciadamente hasta la fecha sólo unas cuantas enzimas han podido resolverse en sus isoenzimas individuales, y de ellas sólo algunas han mostrado una clara especificidad en su distribución tisular. Cabe destacar las isoenzimas de la *lactato deshidrogenasa*, cuya distribución en corazón es claramente distinta a la del hígado (fig. 7.16). En eritrocitos y riñón su distribución es similar a la del corazón, mientras que en músculo esquelético lo es a la del hígado; en el resto de tejidos (pulmón, adrenales, bazo, etc.) presentan un tercer tipo de distribución característica. El incremento en suero de un determinado patrón electroforético de estas isoenzimas permite identificar el tejido de procedencia, dentro de los límites impuestos por los tres tipos de distribución. Este procedimiento es utilizado con éxito en el diagnóstico del infarto de miocardio.

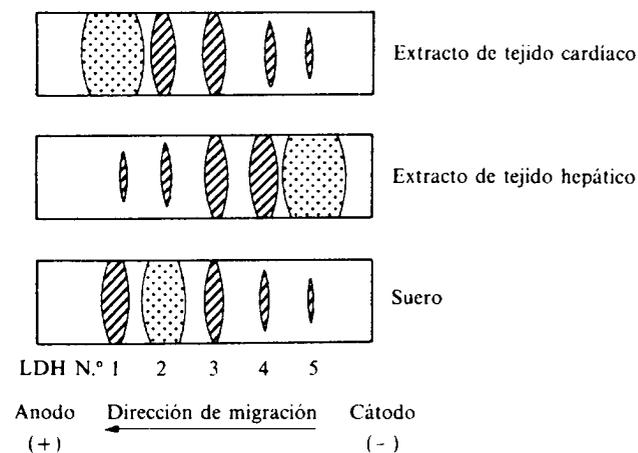


Figura 7.16. Ejemplos del patrón de las isoenzimas de *lactato deshidrogenasa (LDH)*, separadas por electroforesis en acetato de celulosa.

Enzimas como reactivos en el laboratorio clínico

La disponibilidad de enzimas puras a un precio razonable y las características particulares de su actividad catalítica han convertido a determinadas enzimas en reactivos de enorme valor para el laboratorio de análisis. De estas características cabe destacar dos que son de especial importancia: 1) la alta velocidad de la catálisis enzimática, que permite la rápida determinación de muestras biológicas, y 2) su especificidad, que facilita la detección y cuantificación de pequeñas concentraciones de un metabolito, un activador o un inhibidor, en preparaciones crudas y condiciones suaves.

Puede determinarse enzimáticamente la concentración de un compuesto en una mezcla (por ejemplo, glucosa, lactato o glicerol en plasma o en un extracto de tejido) cuando se dispone de una enzima específica capaz de transformarlo rápidamente en un producto. En función de las características físicas de la molécula

la y de los sistemas de detección disponibles, se han establecido diversas metodologías para cuantificar dicha transformación:

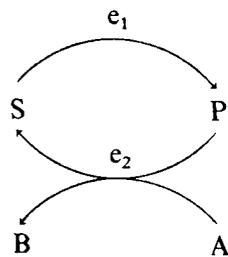
1. *Ensayos con cambio total o punto final.* Cuando la enzima cataliza una reacción prácticamente irreversible, todo el sustrato (S) es transformado a producto (P); $S \rightarrow P$. Si los dos difieren en sus propiedades físicas (por ejemplo, en el grado de absorción de determinado tipo de luz, en el pH, etc.), sin interferencia de otros compuestos de la mezcla, el cambio de S a P puede ser cuantificado. Un procedimiento similar se sigue cuando la reacción requiere de una coenzima, cuyo cambio puede ser medible. En este caso, a la mezcla de reacción se le aporta una cantidad en exceso de la coenzima, de forma que el único factor limitante sea la concentración de S. La cantidad total de coenzima que se transforma en la reacción sirve para determinar directamente la concentración de S.

2. *Ensayos cinéticos.* La concentración de un compuesto puede determinarse por la velocidad de su transformación en una reacción enzimática. En la ecuación de Michaelis-Menten, cuando el valor de [S] es muy inferior a la K_m , la velocidad de la reacción es

$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m}$$

O lo que es igual, se hace de primer orden y directamente proporcional a la concentración de S.

3. *Ensayos catalíticos.* En las condiciones anteriores (cuando $S \ll K_m$), el cambio que se produce en la reacción puede ser muy pequeño y difícilmente medible. Es posible evitar este problema regenerando el sustrato mediante una segunda reacción enzimática acoplada a ella:



La medida de la velocidad puede facilitarse si la segunda enzima requiere de un cofactor (A), cuya transformación en B sea fácilmente medible. La velocidad de dicha transformación será proporcional a P, el cual depende a su vez de S. Puesto que S está reciclando constantemente, la velocidad (y la concentración de S) está siendo amplificada por la continua conversión de A en B.

4. *Inmunoensayo enzimático.* El fundamento de este método es similar al del radioinmunoensayo, basado en el principio de la unión competitiva, y utiliza la selectividad y sensibilidad de la respuesta del antígeno y el anticuerpo. En la práctica, el suero problema se hace reaccionar con anticuerpos específicos contra las moléculas que se van a analizar (fig. 7.17). Estas moléculas tienen varios determinantes antigénicos, por lo que, en una segunda incubación, se hacen reaccionar con nuevos anticuerpos marcados con determinada enzima de fácil ensayo (por ejemplo, la *glucosa oxidasa*). De esta forma, los segundos anticuerpos se ligan a las moléculas que deben analizarse, las cuales se encuentran unidas a su

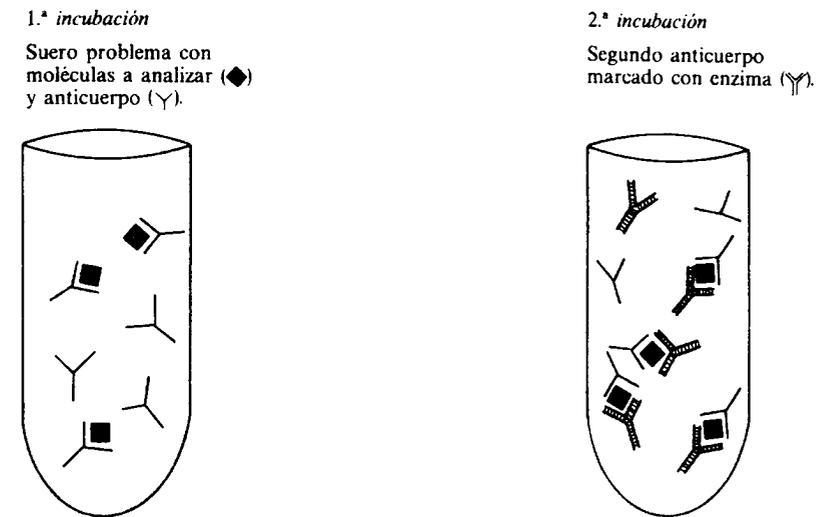


Figura 7.17. Descripción esquemática de un inmunoensayo enzimático, con utilización de dos anticuerpos, de los que el segundo se encuentra asociado («marcado») con una enzima de fácil determinación (por ejemplo, la *glucosa oxidasa*). El acoplamiento de este segundo anticuerpo con las moléculas a analizar, unidas a su vez al primer anticuerpo, hace que precipiten. Así, la actividad de la enzima en el precipitado será función de la concentración de dichas moléculas en el suero problema.

vez a los primeros anticuerpos, llegando a precipitar. La actividad de la enzima presente en el precipitado será función del número de moléculas problema unidas a los anticuerpos, por lo que el análisis de dicha actividad permite calcular la concentración de esas moléculas en el suero.

En los últimos años se han comercializado las llamadas *enzimas inmovilizadas*, que son enzimas ligadas químicamente a sustancias adsorbentes, tales como celulosa microcristalina, dietilaminoetil celulosa, carboximetil celulosa o agarosa. La enzima queda unida a la matriz insoluble formando bien partículas sueltas que se compactan en una columna de filtración, bien la superficie de una membrana o bien la superficie interna de un recipiente (por ejemplo, un tubo), que entra en contacto con la solución que contiene el sustrato. Esta solución se hace pasar a través de la preparación de la enzima insoluble, o se coloca sobre ella, y el producto formado se recoge para su posterior procesamiento o detección, mientras que la enzima puede ser reutilizada para reaccionar con más sustrato. Estas enzimas inmovilizadas son de gran aplicación en análisis de series de muestras o en sistemas de flujo continuo, como el que se esquematiza en la figura 7.18. De

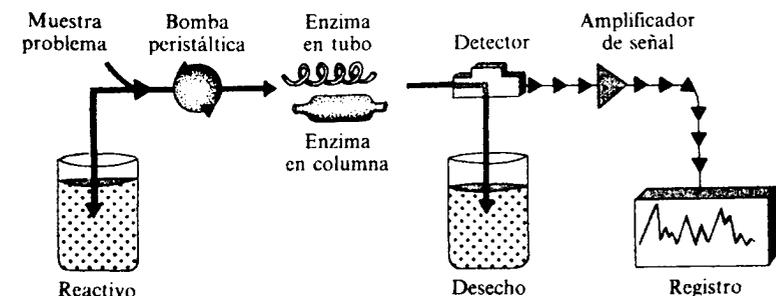


Figura 7.18. Esquema de un sistema automático de análisis, con utilización de una enzima inmovilizada en tubo o en columna.

todas maneras, todavía no se han aprovechado todas las ventajas y posibilidades que ofrecen las enzimas inmovilizadas, y es de prever que en el futuro adquieran una más amplia difusión e importancia como reactivos de gran utilidad en el análisis clínico, principalmente en los sistemas automáticos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bergmeyer, H. U.: *Methods of Enzymatic Analysis*, 3.^a ed., vol. 1, Fundamentals, Verlag Chemie, Weinheim, Basilea, 1983.
- Cohen, P.: *Control of Enzyme Activity*, en *Outline Studies in Biology*, Chapman and Hall, Londres, 1976.
- Cohen, P.: «The structure and regulation of protein phosphatases. *Ann. Rev. Biochem.*, 58:453-508, 1989.
- Denton, R. M., y Pogson, C. I.: *Regulación metabólica*, en *Cuadernos de Biología*, Ed. Omega, Barcelona, 1979.
- Dische, Z.: «The discovery of feed-back inhibition», *TIBS-December*, N269-N270, 1976.
- Fersht, A.: *Enzyme Structure and Mechanism*, W. H. Freeman and Co., Nueva York, 1985.
- Foster, R. L.: *The Nature of Enzymology*, Croom Helm, Londres, 1980.
- Gaertner, F. H.: «Unique catalytic properties of enzyme clusters», *TIBS-March*, 63-65, 1978.
- Hammes, G. G.: *Enzyme catalysis and regulation*, volumen de la serie *Molecular Biology*, B. Horecker, N. D. Kaplan, J. Marmur y H. A. Scheraga (eds.), Academic Press Inc., Nueva York, 1982.
- Keech, D. B., y Wallace, J. C.: «How significant is homotropic co-operativity in terms of metabolic regulation?», *TIBS-July*, 182-184, 1981.
- Keleti, T., y Welch, G. R.: «The evolution of enzyme kinetic power», *Biochem. J.*, 223:299-303, 1984.
- Koshland, Jr., D. E.: «Control of enzyme activity and metabolic pathways», *TIBS-April*, 155-159, 1984.
- Krebs, E. G., y Beavo, J. A.: «Phosphorylation-dephosphorylation of enzymes», *Ann. Rev. Biochem.*, 48:923-959, 1979.
- Lipscomb, W. N.: «Structure and catalysis of enzymes», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:17-34, 1983.
- Mosbach, K.: «Immobilized enzymes», *TIBS-January*, 1-3, 1980.
- Ochs, R. S.; Hanson, R. W., y Hall, J.: *Metabolic Regulation*, Elsevier Science Publ., Amsterdam, Nueva York y Oxford, 1985.
- Price, N. C., y Stevens, L.: *Fundamentals of Enzymology*, Oxford University Press, Oxford y Nueva York, 1982.
- Richard, J.: *Enzyme flexibility as a molecular basis for metabolic control*, en *The Biochemistry of Plants*, vol. 2, Academic Press, Nueva York, págs. 31-80, 1980.
- Schöle, J.: «Theory of metabolic regulation including hormonal effects in the molecular level», *J. Theor. Biol.*, 96:579-615, 1982.
- Sols, A.: «Multimodulation of enzyme activity», *Current Topics in Cellular Regulation*, 19:77-101, 1981.
- Taylor, S. S., Buechler, J. A., y Yonemoto, W.: «cAMP-dependent protein kinase: framework for a diverse family of regulatory enzymes», *Ann. Rev. Biochem.*, 59, 971-1006, 1990.
- Tietz, N. W.: *Fundamentals of Clinical Chemistry*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1987.
- Tietz, N. W.: *Study Guide to Clinical Chemistry*, Hanley & Belfus, Inc., Filadelfia, 1987.
- Walsh, C. T.: «Suicide substrates, mechanism-based enzyme inactivators: recent developments», *Ann. Rev. Biochem.*, 53:493-536, 1984.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Vitaminas hidrosolubles y coenzimas

FRANCISCO CASTILLO y JACOBO CÁRDENAS

Las vitaminas son sustancias orgánicas presentes en los alimentos naturales que no pueden ser sintetizadas por el organismo humano en cantidades adecuadas y que se requieren, en pequeñas cantidades, para el mantenimiento de las funciones metabólicas de la mayoría de las células animales.

Muchas enzimas necesitan un cofactor orgánico (coenzima) o inorgánico (iones metálicos) para llevar a cabo su función catalítica (cap. 5). Muchas de estas coenzimas derivan de las vitaminas.

En ciertos casos, los límites de requerimiento que permiten clasificar a un nutriente en alimento esencial, vitamina o elemento traza, son variables, y no existen criterios unánimes respecto a los mismos. Algunos autores consideran vitaminas a los ácidos grasos esenciales (vitamina F), así como a los aminoácidos esenciales, mientras que otros opinan que el hierro no debería considerarse elemento traza, dado su requerimiento diario de unos 10 mg. Aquí vamos a considerar como vitaminas las trece sustancias que se recogen en la tabla 8.1.

El nombre de *vitamina* fue propuesto por C. Funk en 1912 para la amina que prevenía el *beriberi*, deficiencia nutricional típica de las regiones cuya dieta básica consistía en arroz descascarillado.

Casi todas las vitaminas que se conocen se encuentran en las células de los animales y en la mayoría de las plantas y microorganismos, pero no todas son necesarias en la dieta de las diferentes especies animales, como ocurre con la vitamina C.

Las vitaminas se dividen en dos clases, hidrosolubles y liposolubles (tabla 8.1). Entre las hidrosolubles están la tiamina (B_1), la riboflavina (B_2), los ácidos nicotínico (PP), pantoténico (B_5), fólico (B_c) y ascórbico (C), la piridoxina (B_6), la cobalamina (B_{12}) y la biotina (H). Las vitaminas A, D, E y K son liposolubles.

Las formas coenzimáticas de las vitaminas participan catalíticamente en multitud de procesos metabólicos (fig. 8.2), y la carencia o deficiencia de alguna de ellas puede afectar de forma considerable al metabolismo, deteniendo procesos de reproducción y crecimiento o aumentando la susceptibilidad a las infecciones (*enfermedades carenciales o avitaminosis*). En las tablas 8.3 y 8.4 se recogen, respectivamente, los requerimientos medios diarios de un adulto joven, así como las enfermedades carenciales más significativas y el contenido en vitaminas de diversos alimentos de origen vegetal y animal.

Tabla 8.1
FORMAS ACTIVAS DE LAS VITAMINAS Y PRINCIPALES
PREPARADOS COMERCIALES

Tipo de vitamina	Fuentes naturales	Formas activas	Preparados comerciales más frecuentes
Vitamina A	Aceite de hígado de peces	Retinol, retinal, ácido retinoico, 3-deshidrorretinol (A ₂)	Acetato de vitamina A Palmitato de vitamina A Acido vitamina A
Provitamina A	Zanahoria, aceite de palma	α, β y γ-caroteno β-apocarotenoide Criptoxantina Equineno	β-caroteno β-apo-8'-carotenal Ester del ácido β-apo-8'-carotenoico
Vitamina D	Aceite de hígado de peces, levaduras	Ergocalciferol Colecalciferol	Vitamina D ₂ Vitamina D ₃
Vitamina E	Aceite de germen de trigo	α, β, γ y δ-tocoferol α, β, γ y δ-tocotrienol	[D] y [DL]-α-tocoferol Acetato de [D] y [DL]-α-tocoferol
Vitamina K	Alfalfa	Filoquinona (K ₁) Menaquinona (K ₂) Menadiona	Vitamina K ₁ Menadiona Ester de menadiol
Ac. pantoténico (vit. B ₅)	Hígado	Acido pantoténico Panteteína	Pantotenato cálcico Pantotenato sódico Pantenol
Biotina (vit. B ₈)	Hígado	D-biotina	D-biotina
Vitamina B ₁	Salvado de arroz	Tiamina y sales de tiamina Pirofosfato de tiamina (Cocarboxilasa)	Dihidroclorhidrato de tiamina Monohidrato de tiamina Pirofosfato de tiamina (Cocarboxilasa)
Vitamina B ₆	Salvado de arroz	Piridoxina Piridoxal Piridoxal-5'-fosfato (Codescarboxilasa)	Clorhidrato de piridoxina Piridoxal-5'-fosfato (Codescarboxilasa)
Vitamina B ₁₂	Hígado, fermentación bacteriana	Cianocobalamina Hidroxicobalamina	Cianocobalamina Hidroxicobalamina
Ac. fólico	Hígado	Ac. fólico Ac. fólico conjugado	Ac. fólico
Vitamina PP (vit. B ₃)	Hígado	Nicotinamida Ac. nicotínico	Nicotinamida Ac. nicotínico
Vitamina B ₂	Clara de huevo	Riboflavina Fosforriboflavina	Riboflavina Riboflavin fosfato sódico
Vitamina C	Riñones de buey, limón	Ac. ascórbico Ac. deshidro-ascórbico	Ac. ascórbico Ascorbato sódico Ascorbato cálcico

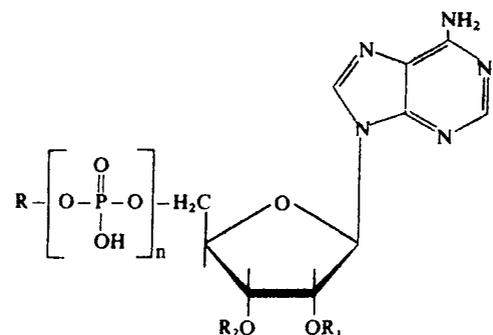
Tabla 8.2
VITAMINAS HIDROSOLUBLES Y COENZIMAS DERIVADAS

Vitamina	Coenzima	Función bioquímica*
Ac. pantoténico (B ₅)	CoA (HSCoA)	Transferencia de grupos acilos (β-oxidación de ácidos grasos, degradación de acetil CoA en el ciclo de Krebs, etc.)
Biotina (H)	Biocitina	Transferencia de grupos carboxilos (piruvato carboxilasa, acetil CoA carboxilasa, etc.)
Tiamina (B ₁)	Pirofosfato de tiamina (TPP)	Transferencia de grupos aldehído por descarboxilación oxidativa (piruvato deshidrogenasa, 2-oxoglutarato deshidrogenasa, etc.)
Piridoxina (B ₆)	Fosfato de piridoxal	Transferencia de grupos amino, descarboxilación (transaminasas, biosíntesis de aminas biógenas, etc.)
Cobalamina (B ₁₂)	5'-adenosil cobalamina Metil cobalamina	Desplazamiento de grupos alquilos (metil-malonil-CoA mutasa, degradación de treonina, valina, isoleucina, metionina)
Ac. fólico (Bc)	Ac. tetrahidrofólico (FH ₄)	Transferencia de grupos monocarbonados (C ₂ , C ₈ de las purinas, grupo -CH ₃ de timina, degradación de glicina e histidina)
Ac. nicotínico (B ₃ ó PP)	Nicotinamida adeninodinucleótido (NAD ⁺) Nicotinamida adeninodinucleótido fosfato (NADP ⁺)	Transferencia de hidrógenos (electrones)
Riboflavina (B ₂)	Flavin mononucleótido (FMN) Flavin adeninodinucleótido (FAD)	Transferencia de hidrógenos (electrones) (Complejo I de la Cadena Respiratoria) Transferencia de hidrógeno (electrones) (Complejo II de la Cadena Respiratoria)
Ac. ascórbico (C)	Ac. ascórbico	Transferencia de hidrógenos (hidroxilación, por ejemplo: prolilhidroxilasa, dopamina-β-hidroxilasa, etc.)

* Se señalan algunas funciones bioquímicas de las coenzimas en células animales.
El término piridoxina comprende las formas piridoxol (alcohol), piridoxal (aldehído) y piridoxamina (amina).

El abuso de vitaminas o *hipervitaminosis* puede producir, sobre todo en el caso de las liposolubles, trastornos importantes. Por otro lado, y en contra de la también creencia generalizada, altas dosis de vitaminas hidrosolubles pueden también resultar perjudiciales por toxicidad directa, establecimiento de estados de dependencia, enmascaramiento de enfermedades concurrentes, interacción con fármacos u otras vitaminas y asociación con altas dosis de vitaminas liposolubles. En la tabla 8.5 se muestran algunos de estos efectos tóxicos.

La nomenclatura actual de las vitaminas se basa en su estructura química y en su función particular, siguiendo las normas de la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), la IUB (*International Union of Biochemistry*) y la IUNS (*International Union of Nutritional Societies*).



Coenzima	R	R ₁	R ₂	n
S-adenosilmetionina	Metionina*	H	H	0
AMPc	H	H	HPO ₃	
AMP	H	H	H	1
ADP	H	H	H	2
ATP	H	H	H	3
NAD ⁺	Nicotinamida ribonucleósido	H	H	2
NADP ⁺	Nicotinamida ribonucleósido	HPO ₃	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
CoA	Pantoteina	H	HPO ₃	2

* Sustituye al grupo fosfato (n=0)

Figura 8.2. Coenzimas derivadas del AMP.

Las coenzimas vitamínicas y las vitaminas de las que derivan se recogen en la tabla 8.2.

COENZIMAS DE TRANSPORTE DE GRUPO

Grupos acilo: ácido pantoténico y coenzima A

El ácido pantoténico fue descubierto por Williams en 1931 como factor de crecimiento de la levadura. Lo denominó pantoténico (del griego «en todas partes») por su abundancia en todos los tejidos. En 1940 fue sintetizado y su estructura química determinada por Stiller y col. y Williams y Major. Su papel metabólico se comprendió en 1945, a raíz del descubrimiento de la coenzima A por Lipmann y la identificación de la vitamina como uno de sus componentes.

Tabla 8.4
CONTENIDO EN VITAMINAS DE DIVERSOS ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL Y ANIMAL

Alimento	Vitaminas que contiene	Alimento	Vitaminas que contiene
Aceitunas	E	Bacon	B ₁ , B ₁₂
Alcachofas hervidas	C ₁ , B ₁ , B ₂ , B _c , A	Buey a la plancha o estofado	A, PP
Alubias hervidas	B ₁ , H, PP, B ₅	Callos	A, B ₁ , B ₁₂ , B _c , PP
Apio crudo	B ₁ , B ₂ , B _c	Cerdo a la plancha	B ₁ , B ₂
Berros crudos	A, C, B ₁ , B ₂ , B _c	Cordero a la parrilla	A, B _c , B ₁ , B ₁₂ , PP
Col cruda	C	Higado de cerdo	A, D, E, B _c , B ₂ , B ₁₂ , PP, H, B ₅
Coles de Bruselas hervidas	C, B _c , B ₂ , A, K	Jamón	B ₁ , B ₁₂
Espárragos hervidos	C, B ₁ , B ₂ , B _c , A	Pollo asado	A, B _c , B ₁ , B ₁₂ , PP
Espinacas hervidas	A, K, B ₁ , B ₂ , B _c	Sesos fritos	A, B _c , B ₁ , B ₁₂ , PP
Garbanzos hervidos	B ₁ , PP, H, E	Arenques	A, B ₁ , B ₂ , D, E, K
Guisantes crudos	B ₁ , PP, H, B ₂ , B ₅	Atún enlatado	B ₁ , B ₁₂
Lechuga cruda	A, C, B ₁ , B ₂ , B _c	Bacalao al vapor	B ₁ , B ₁₂
Judías verdes hervidas	B ₁ , H, PP, B ₅	Besugo al horno	B ₁ , B ₁₂
Patatas fritas	C	Boquerones fritos	B ₁ , B ₁₂
Puré de patatas	C	Caballa enlatada	A, B ₁ , B ₁₂ , D, E, K
Pimiento asado	B ₁ , B ₂ , B _c , B ₅ , C	Mariscos	PP
Tomate crudo	A, C	Lenguado al horno	B ₁ , B ₁₂
Frutas diversas	C	Mejillones	PP
Arroz blanco hervido	PP, B _c , B ₁	Pescado frito	B ₁ , B ₁₂
Harina de trigo	PP, B _c , B ₁ , E	Pulpo	PP
		Sardinias en aceite	A, D, E, K
		Leche humana	A, D, B ₁ , B ₂
		Leche de vaca completa	A, D, B ₁ , B ₂ , PP
		Mantequilla	A, D
		Queso manchego	A, D, B ₂
		Queso Roquefort	A, PP
		Requesón	A, PP
		Yogur natural o desnatado	B ₁ , B ₂
		Huevo de gallina cocido	A, D, E, B ₁ , B ₂ , B ₅

Tabla 8.5
DESORDENES AGRAVADOS POR DOSIS ALTAS DE VITAMINAS HIDROSOLUBLES

Desorden	Vitamina	Mecanismo/efecto
Asma	PP	Liberación de histamina
Diabetes mellitus	PP	Hiperglucemia
Úlcera péptica	C	Glucosuria falsa
Enfermedad hepática	PP	Liberación de histamina
	PP	Liberación de enzimas hepáticas
		Ictericia colestática
Gota	PP	Necrosis masiva
		Uricidemia
Nefrolitiasis	C	Artritis aguda
	C	Agente uricosúrico
Deficiencia en G-6-P	C	Oxaluria
Anemia megaloblástica	B _c	Lisis de eritrocitos
	C	Enmascara la deficiencia en B ₁₂
Anemia sideroblástica	C	Disminuye la absorción de B ₁₂
Colitis	C, B _c , PP	Aumento de la absorción de hierro
Enfermedad cardíaca	PP	Diarrea
Enfermedades de la piel	PP	Arritmias
Desórdenes del SNC	B ₆	Causa <i>acanthosis nigricans</i>
	B ₁	Convulsiones
	B ₂	Irritabilidad
	B ₆	Insomnio
Escorbuto	C	Rebrote de la deficiencia
Parkinson	B ₆	Antagoniza L-dopa
Neuropatía sensorial	B ₆	Destruye las raíces dorsales

G-6-P: glucosa 6-fosfato.

Tabla 8.6
CLASIFICACION FUNCIONAL DE LAS COENZIMAS

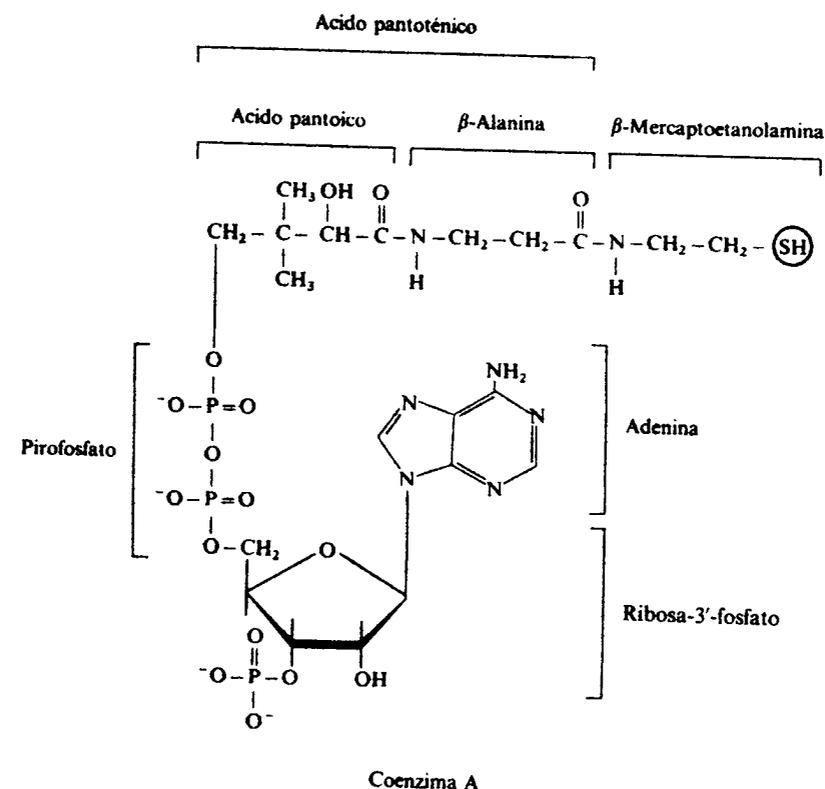
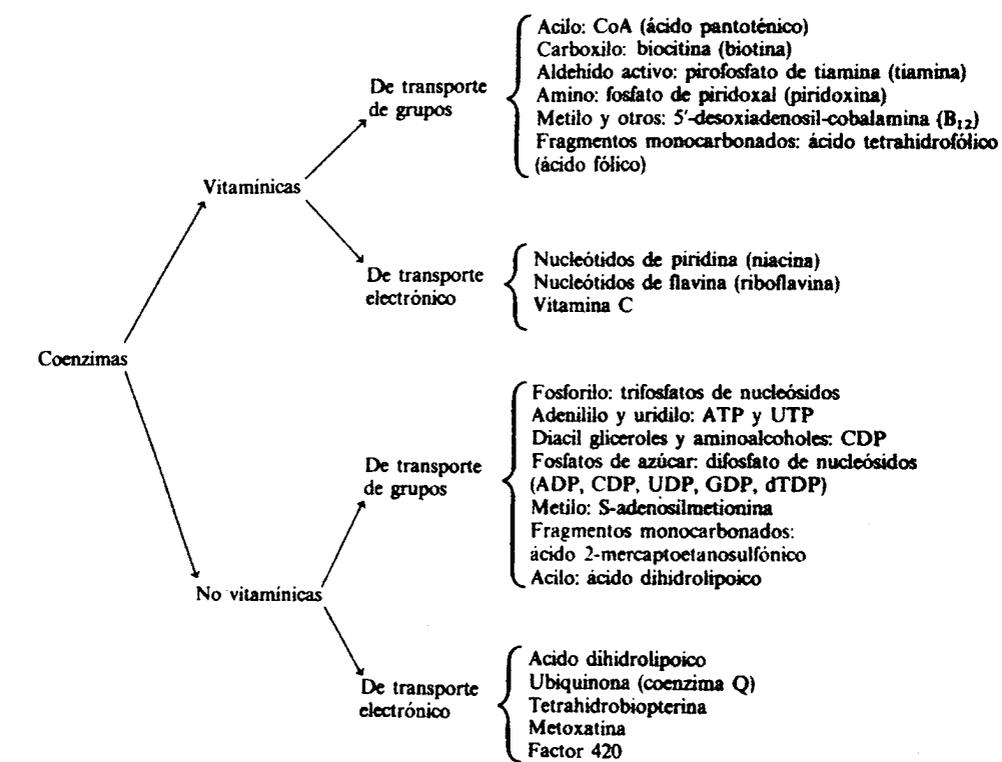


Figura 8.3. Estructura de la coenzima A.

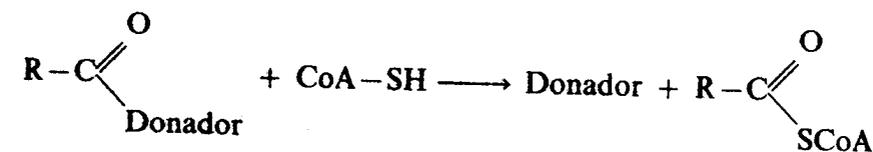
Químicamente, el ácido pantoténico es la D(+)-N-(2,4-dihidroxi-3,3-dimetilbutiril)- β -alanina. Consiste en ácido pantoico unido mediante un enlace peptídico a la β -alanina (fig. 8.3). Es un material blanco que cristaliza con dificultad y su forma comercial es la sal cálcica. Se le denomina también vitamina B₅, vitamina antidermatosis y pantoil- β -alanina. El isómero natural es el D, mientras que la forma L carece de actividad biológica e inhibe a la forma D en ratas y ratones. El análogo más activo es el alcohol pantotenol, que en el hombre se oxida a la forma ácida. Abunda en los alimentos, especialmente en tejidos animales, cereales de grano y legumbres.

En los seres humanos, la condición de «pie ardiente» de algunos prisioneros durante la Segunda Guerra Mundial se ha asociado a la deficiencia de ácido pantoténico que, por lo general, va acompañada de deficiencia de otras vitaminas del complejo B. En las ratas se han atribuido a esta deficiencia neurosis y hemorragias de las glándulas adrenales, acromotriquia, alopecia, úlceras de duodeno, atrofia de tubos seminíferos, dermatitis, anorexia y retraso del crecimiento.

En el hombre, la vitamina se absorbe fácilmente a través de la mucosa intestinal, quedando atrapada con rapidez por fosforilación e iniciándose así la ruta de conversión de la vitamina en la coenzima A (A por acetilo). La etapa 1, catalizada por una quinasa, determina la velocidad global (fig. 8.4). Esta secuencia de reacciones tiene lugar en todos los tejidos. En el SNC, el ácido pantoténico entra a través de sistemas de transporte mediado y tiene un recambio muy bajo, por lo que es difícil inducir allí una deficiencia.

La coenzima A posee un grupo tiol que actúa en la transferencia de grupos acilo en la β -oxidación y síntesis de ácidos grasos, en reacciones de acetilación (o transferencia de dos carbonos), en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos, y en reacciones de descarboxilación oxidativa, biosíntesis de acetilcolina, esteroides, triacilglicéridos, fosfolípidos y ácido ascórbico.

La coenzima A es necesaria en las reacciones metabólicas en las que tiene lugar la activación de un grupo carboxilato, que comienza con la formación de un derivado S-acilo, un tioéster cuyo potencial de transferencia de grupo es similar al del ATP:



La formación de este compuesto requiere una fuente de energía que puede ser la oxidación del compuesto donador en el curso de la reacción o una reacción exórgónica acoplada con ATP como sustrato.

El tioéster sintetizado es la forma activa del sustrato de la reacción que puede seguir su transformación a través de las diferentes rutas metabólicas.

El ácido pantoténico es también un componente importante del grupo prostético de la proteína transportadora de acilo (ACP) del complejo ácido graso sintasa. La ACP tiene un residuo 4'-fosforilpantoteína unido covalentemente al grupo hidroxilo de un residuo de serina de la cadena peptídica (fig. 8.5). El grupo

232-233 °C, descomponiéndose. Es estable al calor y no se descompone por tratamiento ácido o básico, aunque se inactiva por H₂O₂ y aceites y grasas rancias.

Químicamente es un derivado bicíclico de la urea con azufre en un anillo tiofeno y un anillo imidazol fundidos, el ácido D(+)-β-hexahidro-2-oxo-1-H-tieno-3,4-imidazol-4-valérico. Su molécula contiene tres centros quirales (asimétricos), lo que determina la aparición de ocho formas estereoisoméricas [cuatro diastereoisómeros, cada uno con un par de enantiómeros (±)]. La forma natural, dextrorrotatoria, tiene la configuración que se muestra en la figura 8.6.

Se encuentra en los alimentos junto con otros miembros del complejo vitamínico B, especialmente en levadura, hígado, riñón y otras vísceras, carne de pollo, huevos, guisantes, cacao y cereales. En estos últimos, durante la germinación, se produce un aumento en la concentración de biotina. En general no se encuentra libre en los alimentos, sino que se libera en el intestino mediante hidrólisis enzimática. Un 77 por 100 de la biotina presente en la carne permanece activa después de cocinar los alimentos. La dieta suministra diariamente de 4 a 170 μg de biotina que se absorbe en el tracto intestinal por un sistema de transporte activo, próximo al píloro, dependiente de Na⁺ y con una K_m de 1 mM. En el intestino, no sólo se libera la biotina procedente de los alimentos, sino que también ocurre su síntesis por *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis* y *Bacillus mesentericus*, por lo que no es fácil que se produzca una deficiencia de la vitamina por su simple retirada de la dieta. Una vez absorbida, la biotina es transportada por la sangre, unida a la albúmina y a α y β-globulinas. Los sistemas de captación de biotina por las células son bastante eficaces (por ejemplo, los hepatocitos de rata, con una K_m de 0,1 μM).

Función bioquímica

La función bioquímica de la biotina es la de actuar de grupo prostético en las reacciones de transferencia de CO₂ mediadas por las carboxilasas. Forma una amida con el grupo ε-amino de un residuo específico de lisina de la enzima, la *biotinil-lisina*, conjunto molecular de anillo y brazo flexible de 1,6 nm de longitud.

La proteólisis de las enzimas dependientes de *biotina* libera biocitina en el intestino. A su vez, la *biocitinas* libera biotina y lisina en el hígado y en la sangre. En mamíferos, la cadena lateral de la biotina sufre una β-oxidación, dando dos moléculas de acetil coenzima (Acetil-CoA). No se conoce el destino metabólico del anillo, aunque se conocen los productos finales CO₂, NH₄⁺ y SO₄²⁻.

Las enzimas dependientes de biotina son las carboxilasas de células animales (*piruvato carboxilasa*, *acetil-CoA carboxilasa*, *β-metilcrotonil-CoA carboxilasa* y *propionil-CoA carboxilasa*) y las transcarboxilasas de microorganismos (tablas 8.7 y 8.8). Estas últimas desempeñan un papel importante en las fermentaciones bacterianas. Las carboxilaciones dependientes de la biotina transcurren en varias etapas:

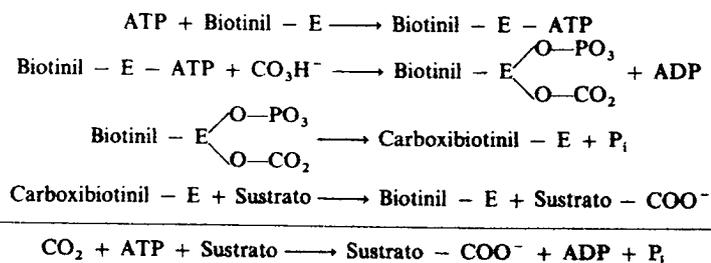


Tabla 8.7
ENZIMAS DEPENDIENTES DE BIOTINA

<i>Carboxilasas</i>	
Piruvato carboxilasa	
Propionil-CoA carboxilasa	
β-metil-crotonil-CoA carboxilasa	
Acetil-CoA carboxilasa	
Geranil-CoA carboxilasa	
Aminocarboxilasa	
<i>Transcarboxilasas</i>	
Metilmalonil-CoA: piruvato carboxil transferasa	
<i>Descarboxilasas</i>	
Metilmalonil-CoA descarboxilasa	
Oxaloacetato descarboxilasa	

La carboxibiotinil-enzima es muy inestable y posee un alto potencial de transferencia del grupo carboxilo. Las carboxilaciones requieren diversos activadores alostéricos y, en muchos casos, suelen estar acopladas a reacciones posteriores que transcurren con liberación de CO₂, lo que determina un proceso global muy exergónico.

Deficiencia de biotina

La deficiencia de biotina, además de a las carboxilaciones, afecta indirectamente a la síntesis de proteínas, la utilización de glucosa, a la síntesis de glucógeno, a la síntesis de ácido ascórbico (en ratas), a la síntesis de ácidos dicarboxílicos, purinas y citrulina, así como a la fosforilación oxidativa.

La deficiencia de biotina, inducida por dietas con alto contenido en clara de huevo crudo o por administración de ciertas sulfonamidas, produce en la rata dermatitis eritematosas, escamosas y seborreicas, detención del crecimiento, una atrofia de pelo típica alrededor de los ojos (alopecia «ojo de gafa»), granulocitopenia, leucopenia y anemia, hialinización y necrosis de los músculos voluntarios, y esclerosis y calcificación de los vasos sanguíneos.

En pollos, se ha observado dermatitis y perosis. En el hombre, dermatitis maculoescamosa en las extremidades, fuerte lasitud, dolores musculares, hiper-

Tabla 8.8
REACCIONES CATALIZADAS POR LAS CARBOXILASAS DE MAMIFEROS DEPENDIENTES DE BIOTINA

Enzima	Reacción	Localización	Ruta metabólica
<i>Piruvato carboxilasa</i>	Piruvato → Oxalato	Mitocondrias	Paso inicial de la gluconeogénesis Papel anaplerótico en el TCA
<i>Propionil-CoA carboxilasa</i>	Propionil-CoA → S-metilmalonil-CoA	Mitocondrias	Catabolismo de Met, Thre. Ieu y Val
<i>β-metilcrotonil-CoA carboxilasa</i>	β-metilcrotonil-CoA → β-metilglutaconil-CoA	Mitocondrias	Catabolismo de Leu
<i>Acetil-CoA carboxilasa</i>	Acetil-CoA → Malonil-CoA	Citoplasma	Paso inicial de la biosíntesis de ácidos grasos

TAC: ciclo de Krebs o de los ácidos tricarboxílicos.

estesia, anorexia, náuseas e insomnio. Afecta al SNC y al sistema inmune debido a que las actividades *propionil-CoA carboxilasa* y *acetil-CoA carboxilasa* son esenciales para el funcionamiento de las células T y B.

La *avidina* es una glicoproteína de 68.000 daltons presente en la clara de huevo, con cuatro subunidades idénticas, cada una de las cuales se une a la biotina con una alta afinidad ($K_D = 10^{-15}$ M) en un proceso que tiene lugar en un amplio rango de pH pero que es sensible al calentamiento o a la irradiación. El complejo *avidina-biotina* no se degrada en el tracto gastrointestinal, lo que explica los efectos nocivos de la dieta de huevos crudos en animales. La *avidina* se une también fuertemente a las biotinil-enzimas inactivándolas totalmente.

Entre los isómeros de la biotina sólo la D(+)-biotina es activa. El D-biotinol es tan efectivo como la biotina para contrarrestar los efectos de la clara de huevo en las ratas. La *oxibiotina* puede reemplazar parcialmente a la biotina en la nutrición

de algunos animales y bacterias. La *destiobiotina* y la *biotina sulfóxido* ($\text{S}=\text{O}$),

procedente de la oxidación suave de la biotina, son inactivas en animales, aunque las dos tienen actividad en los microorganismos. Ciertos homólogos de la biotina, obtenidos por acortamiento o alargamiento de la cadena lateral (por ejemplo, *norbiotina* y *homobiotina*), son antagonistas potentes de la biotina en algunos microorganismos. Otros antagonistas descritos son la α -deshidrobiotina y la *biotín sulfona* que se obtiene por oxidación fuerte de la biotina. Estos antagonistas posiblemente interfieren con las reacciones de síntesis de la biotinil-enzima, catalizada por la *holocarboxilasa sintetasa*, mediante una reacción en dos fases que requiere ATP y Mg^{2+} . Esta enzima presenta una alta afinidad por el ATP ($K_m = 0,2$ mM) y sobre todo por la biotina ($K_m = 8 \times 10^{-9}$ M).

Grupos aldehído activos: tiamina (vitamina B₁) y pirofosfato de tiamina

En 1893, un médico holandés llamado C. Eijkman, que trabajaba en Java, observó un estrecho paralelismo entre la parálisis de pollos criados con una dieta de arroz descascarillado y los síntomas del *beriberi* en humanos. En 1901, Grinjin concluyó que el *beriberi* y la polineuritis aviar procedían de la ausencia de uno o más factores nutricionales en el salvado del arroz. En 1911, Funk concentró un factor de la cáscara de arroz capaz de curar la polineuritis experimental en palomas. En 1926, Jansen y Donath obtuvieron el factor antineurítico cuya estructura química fue establecida en 1936 por Williams y col., y por Todd y Bergel en 1937.

En 1926, Smith y Hendrick demostraron que la vitamina B consistía en un factor termoestable al que llamaron vitamina B₁. El nombre de *aneurina* se refirió originalmente a su capacidad de curar o prevenir la polineuritis aviar. En 1960 se propuso y aceptó oficialmente el nombre de *tiamina*, derivado de su estructura química. Otros nombres de esta vitamina son *oryzamina* (del latín *Oryza sativa*, arroz) y *vitamina antiberiberi*.

Función bioquímica

Químicamente, es el 3-(4-amino-2-metilpirimidil-5-metil-4-metil-5-(β -hidroxietil)-tiazol. Su estructura, así como la de su derivado biológicamente activo, el pirofosfato de tiamina, se muestra en la figura 8.7. Participa en reacciones de descarboxi-

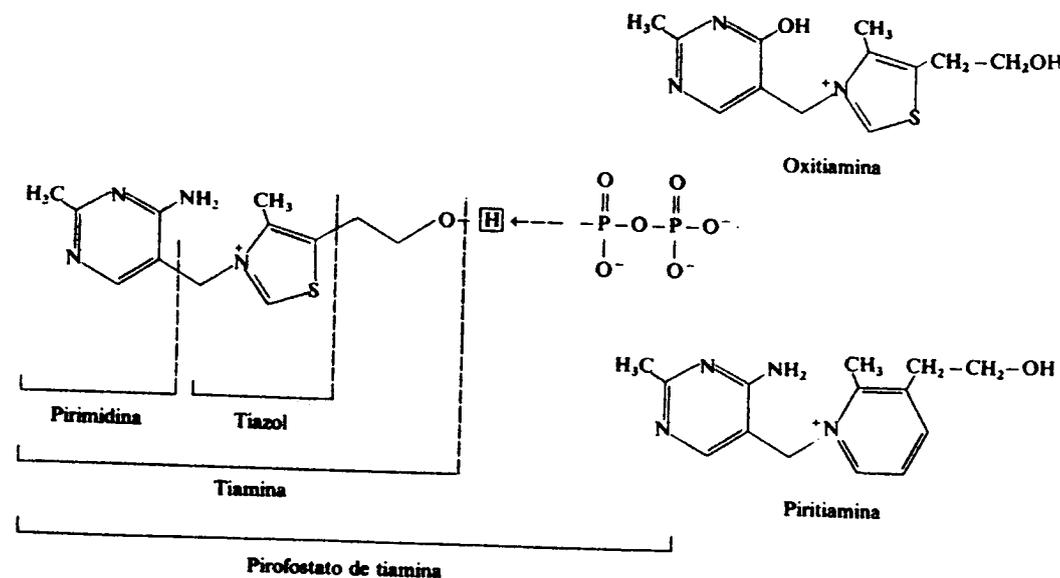


Figura 8.7. Estructura de la tiamina, derivados coenzimáticos y antagonistas.

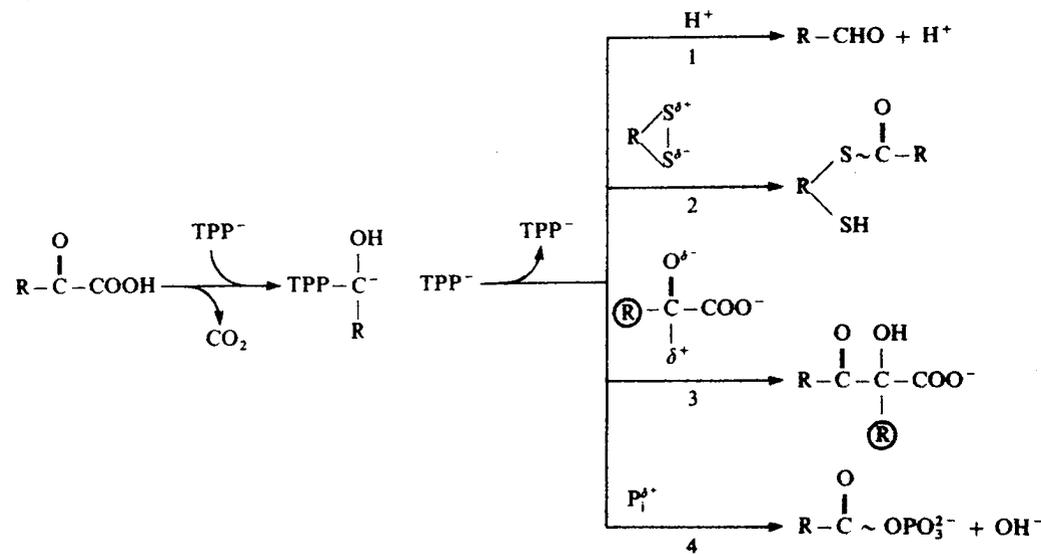
lación de 2-oxoácidos y en la transcetolación y fosforilación de α -hidroxicetonas (fig. 8.8.a). El mecanismo de reacción fue dilucidado a raíz de los experimentos de R. Breslow en los que se demostró que el H^+ del C₂ del anillo tiazólico se intercambiaba rápidamente con deuterio. La base del mecanismo es la formación de un carbanión, o iluro, estabilizado posteriormente por resonancia (fig. 8.8.b): el carbanión reacciona con 2-oxoácidos o 2-oxoalcoholes por adición al grupo carbonilo.

La tiamina se descompone por acción de la luz ultravioleta (< 290 nm) y por calentamiento en medio acuoso. La velocidad de descomposición aumenta con el pH; el cobre, presente con frecuencia en los utensilios de cocina, cataliza su descomposición. En ausencia de agua, la tiamina es estable al calentamiento durante veinticuatro horas o periodos más largos. Las formas comerciales más frecuentes son el clorhidrato y el mononitrato de tiamina, solubles en agua y no en solventes orgánicos.

Algunos derivados de la tiamina presentan una respuesta más rápida y pronunciada, por estar regulado su transporte intestinal de manera diferente a como lo está el de la propia tiamina. Esta se absorbe en la mucosa intestinal por un proceso de transporte activo seguido de atrapamiento de la vitamina por fosforilación, paso limitante de la velocidad del mismo (fig. 8.9). El hígado y el riñón pueden desfosforilar al pirofosfato de tiamina (TPP), liberándolo al torrente circulatorio.

Las fuentes más ricas en tiamina son los cereales, la levadura, la carne de cerdo y las legumbres. Sin embargo, la mayor parte de la tiamina de los cereales se pierde en la molienda cuando se prepara la harina blanca, ya que casi toda la vitamina se encuentra en el *scutellum* (envuelta del germen entre el embrión y el endospermo). En algunos países se añade tiamina a la harina blanca para compensar estas pérdidas. Las nueces y los huevos son buenas fuentes de vitamina, pero no así la leche de vaca esterilizada o pasteurizada. Al hervir los alimentos a 100°C en condiciones neutras o ácidas, las pérdidas de tiamina no son muy grandes, pero a altas temperaturas en condiciones alcalinas aumenta la velocidad de descompo-

a) Descarboxilación de 2-oxoácidos



Transcetolación y fosforilación de β-hidroxicetonas:

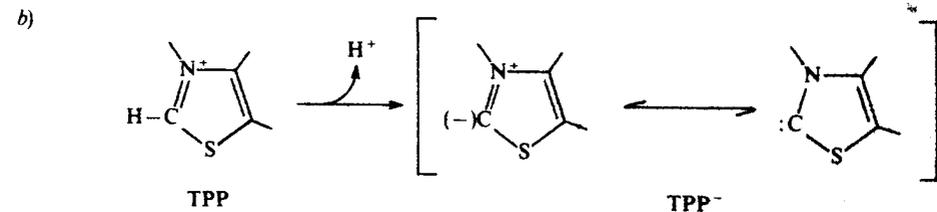
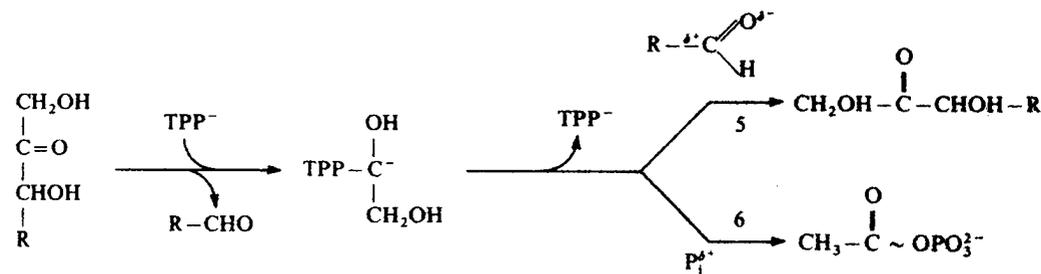


Figura 8.8. a) Reacciones en que interviene el pirofosfato de tiamina (TPP) como coenzima. 1, piruvato descarboxilasa; 2, complejos de las deshidrogenasas del piruvato, 2-oxoglutarato y 2-oxoácidos ramificados; 3, acetolactato sintasa; 4, piruvato oxidasa; 5, transcetolasas; 6, fosfoacetolasa. Una reacción similar a la 3, pero con glioxilato como sustrato en lugar de piruvato y que conduce a la formación de semialdehído tartrónico requiere también TPP y forma parte del ciclo de los ácidos dicarboxílicos. Este ciclo opera en bacterias capaces de oxidar totalmente el glioxilato a CO₂ gracias a la glioxilato carboligasa, una enzima dependiente de TPP. b) Reacción de formación del iluro dipolar (TPP⁻) y estabilización del mismo por resonancia.

sición. Las pérdidas medias en legumbres hervidas son del 25 por 100, y durante la panificación la levadura pierde un 20 por 100. Ciertos procesos de fermentación bacteriana pueden producir deficiencia en tiamina en los alimentos y en el tracto gastrointestinal.

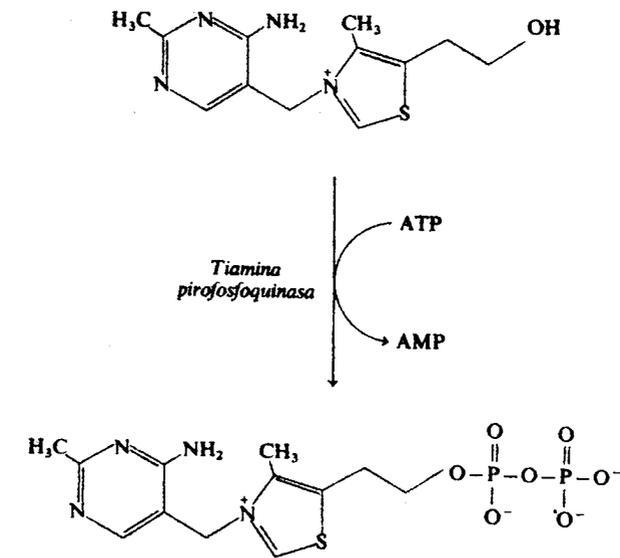


Figura 8.9. Síntesis del pirofosfato de tiamina en hígado.

La dosis máxima oral de la vitamina que se absorbe es limitada (2-5 mg), excretándose en las heces el exceso o descomponiéndose por degradación bacteriana en el intestino delgado.

El organismo humano es incapaz de almacenar tiamina. La cantidad total de la vitamina en un sujeto sano es de 25 mg, y los tejidos más ricos son el músculo cardíaco (2-3 μg/g), el cerebro, hígado y riñón (1 μg/g), y músculo esquelético (0,5 μg/g). Se conoce poco acerca de los 20 metabolitos derivados de la tiamina que se han encontrado en la orina humana.

Deficiencia en tiamina

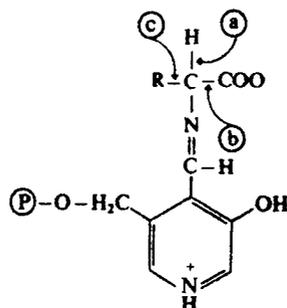
La deficiencia natural (dieta de arroz y cereales descascarillados), producida por antagonistas como la pirritiamina y la oxitiamina (fig. 8.7), o por tiaminasas presentes en los alimentos (pescado crudo fermentado, helechos y otros vegetales), produce en los animales beriberi, polineuritis, desequilibrios en la actividad nerviosa y en la coordinación de los movimientos, convulsiones, parálisis muscular, bradicardia, lesiones del miocardio, retraso del crecimiento, edema y acumulación de piruvato en la sangre y los tejidos.

En el hombre, el mal funcionamiento de ciertas enzimas dependientes de tiamina (piruvato y 2-oxoglutarato deshidrogenasas, transcetolasa, enzimas claves en la oxidación de carbohidratos y ácidos grasos) origina el beriberi, enfermedad de la que se han descrito hasta 5 formas clínicamente diferentes (beriberi seco y húmedo, beriberi agudo pernicioso, beriberi mixto, etc.). Todas ellas van acompañadas de anorexia y pueden acabar con fallos cardíacos fatales. La ingestión crónica de alcohol disminuye la absorción intestinal de la tiamina, impide su almacenamiento por el hígado cirrótico e inhibe la pirofosforilasa hepática. Una de las formas de beriberi agudo en el hombre es el síndrome de Wernicke-Korsakoff, desorden neuropsíquico acusado, debido a la falta de tiamina en la dieta de las personas deficientes. Se caracteriza por una parálisis en el movimiento de los ojos, posturas y movimientos anormales, y una notable disminución del

El mecanismo de acción del PLP parece consistir en la formación de una aldimina (base de Schiff entre el aminoácido sustrato y el grupo aldehído del PLP) con eliminación de una molécula de agua. El N del anillo de piridina actúa como sumidero de electrones, formándose carbaniones que se estabilizan al proporcionar el anillo una extensa deslocalización de carga, lo que explica la alta eficacia del PLP como catalizador. Posteriormente se forma una imina, producto que se hidroliza. El tipo de imina producido determina la especificidad de la apoenzima,

Tabla 8.9

CLASIFICACION DE LAS ENZIMAS DEPENDIENTES DE PLP
SEGUN LA NATURALEZA DEL ENLACE DEBILITADO EN LA REACCION

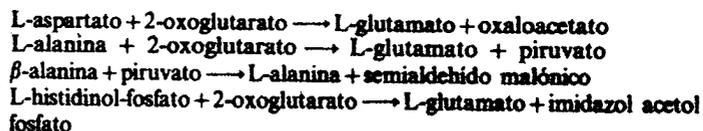


I) Enzimas que debilitan el enlace -C-H (marcado en la figura con (a))

A) Racemasas
L-alanina

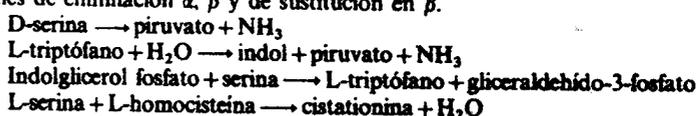


B) Transaminasas
L-aspartato
L-alanina
 β -alanina: piruvato
Histidinol fosfato



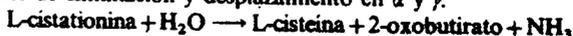
C) Enzimas que catalizan reacciones de eliminación α , β y de sustitución en β .

D-serina deshidratasa
Triptofanasa
Triptófano sintetasa
Cistationina sintetasa



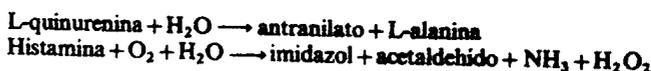
D) Enzimas que catalizan reacciones de eliminación y desplazamiento en α y γ .

Cistationasa (animal)



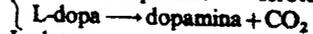
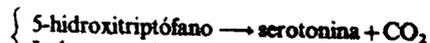
E) Enzimas misceláneas

Quinureninasa
Amino oxidasa

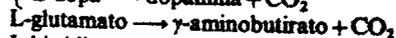


II) Enzimas que debilitan el enlace -C-C-: descarboxilasas (marcado con (b))

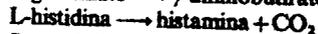
L-dopa descarboxilasa



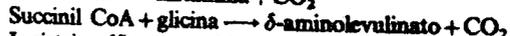
Glutamato descarboxilasa



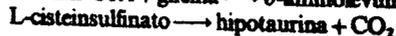
Histina descarboxilasa



δ -aminolevulinato sintetasa



Cisteinsulfinato descarboxilasa

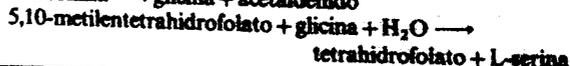


III) Enzimas que debilitan el enlace -C-C-: aldolasas (marcado con (c))

Treonina aldolasa



Serina hidroximetiltransferasa



que cataliza así reacciones de racemización, descarboxilación, desaminación y otras reacciones en la cadena lateral del aminoácido sustrato (tabla 8.9).

Deficiencia de vitamina B₆

Entre las anomalías observadas en animales por deficiencia severa de vitamina B₆ pueden citarse: dermatitis tipo acrodinia (dermatitis simétrica hiperqueratósica que afecta primero a las garras y luego a las puntas de las orejas y la nariz, que se hinchan, enrojecen y se vuelven edematosas), metabolismo anormal de los lípidos, degeneración de la mielina (disminución de fosfolípidos y ésteres de esteroides en hígado, reducción de la concentración total de ácido palmítico, elevación del colesterol sérico), disminución de la concentración de la hormona del crecimiento en la hipófisis (por alteración de la síntesis de dopamina), anemia hipocrómica microcítica (por disminución de la concentración de γ -levulinato sintasa), convulsiones epileptiformes, hiperexcitabilidad (por disminución de la concentración de ácido γ -aminobutírico, GABA, al no funcionar normalmente la *glutamato descarboxilasa*), oxaluria (por desequilibrios en la transformación de la glicina), homocistinuria (por actividad reducida de la *cistationina sintetasa*) y aciduria xanturénica (por disminución de la actividad quinureninasa).

La enfermedad vascular está correlacionada con la deficiencia en vitamina B₆ debido a que el PLP interviene en el metabolismo de los aminoácidos azufrados (en la degradación de la metionina se produce homocisteína que, a elevadas concentraciones en el plasma, favorece la aterosclerosis) y de la lisina (la *lisina oxidasa* requiere PLP y participa en el entrecruzamiento del colágeno y la elastina). También existe una conexión, cuya base molecular no es bien conocida, entre el PLP y el metabolismo del colesterol.

Entre los compuestos estructuralmente similares a la vitamina B₆, el derivado 2-etilo es totalmente activo, el 2-isopropilo tiene una actividad intermedia y el 2-n-propilo es inactivo. Antagonistas de esta vitamina son la toxopirimidina, la 1-amino-D-prolina y el tuberculostático isoniazida. El mecanismo de acción de este último se recoge en la figura 8.12. La hidrazona producida es inactiva, y la correspondiente deficiencia en la vitamina se traduce en una dermatitis pelagroide reversible por bloqueo de la quinureninasa de la ruta de síntesis de nicotinamida a partir del triptófano (fig. 8.13). En la misma ruta compiten por la B₆ los esteroides estrogénicos usados como contraceptivos orales, los cuales aumentan la actividad de la *triptófano oxigenasa* que, al elevar la concentración de ácido xanturénico, sobreinduce la *quinureninasa*, descompensando la ruta del triptófano a nicotinamida o la de su oxidación total y provocando deficiencia en B₆. La depresión psicológica asociada con esta deficiencia puede deberse a la disminución de triptófano asequible para la síntesis de serotonina en el cerebro o de dopamina o GABA, importantes neurotransmisores. La aparición de diabetes durante la gesta-

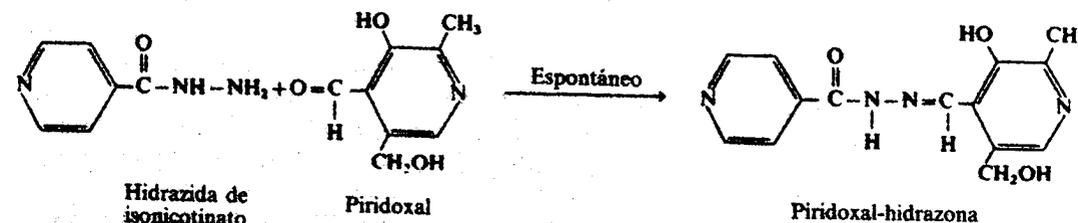


Figura 8.12. Formación de la hidrazona de piridoxal a partir de piridoxal e isoniazida.

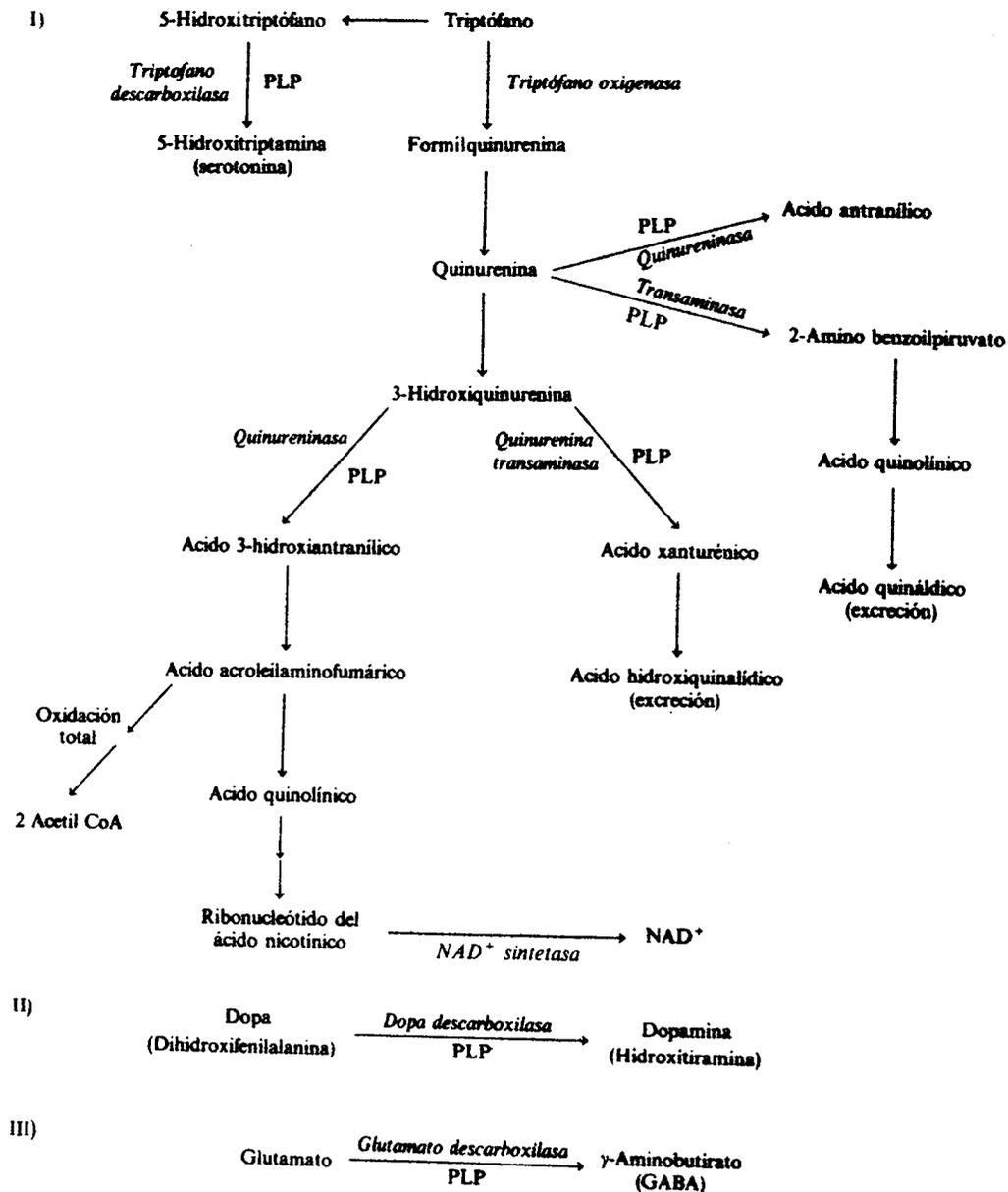


Figura 8.13. Participación del fosfato de piridoxal (PLP) en el metabolismo del triptófano y biosíntesis de neurotransmisores.

ción se ha relacionado con una deficiencia en B₆, que determinaría un bajo nivel de dopamina sintetizada por una descarboxilasa dependiente de PLP y que participa en la regulación de la insulina. El efecto de la dihidroxifenilalanina (DOPA) en el tratamiento del Parkinson puede disminuir por adición de B₆, al formarse un compuesto estable e inactivo. Asimismo, las dietas con alto contenido en triptófano o metionina requieren elevadas dosis de B₆. Todas estas relaciones se ilustran en la figura 8.13.

La hipervitaminosis de B₆ produce en animales convulsiones y encefalogramas de etiología no clara. Una razón puede ser la sobreproducción de dopamina a

partir de L-dopa que, al contrario que ésta, no puede atravesar la barrera hematoencefálica.

Grupos metilo y otros: cianocobalamina y 5'-desoxiadenosil-cobalamina

En 1926, Minor y Murphy descubrieron que el hígado fresco curaba la anemia perniciosa. Hasta 1948 no se pudo aislar en forma cristalina el factor hepático al que los grupos de Smith en Inglaterra y Ricks y Folkers en EE.UU. llamaron *vitamina B₁₂*. Ahora se considera que esta vitamina corresponde al denominado «factor extrínseco» de Castle. Por combinación de métodos químicos (Folkers, Smith y Tood) y de difracción de rayos X (Hodgkin y col.) fue posible dilucidar en 1972 la estructura de esta vitamina, que corresponde a una cobalamina.

Las cobalaminas pertenecen a un grupo de sustancias químicas denominadas corrinoides, que consisten en un núcleo de corrina formado por cuatro anillos fundidos de pirrolina y un átomo de cobalto coordinado con cuatro nitrógenos (fig. 8.14). El núcleo de corrina modificado se llama ácido cobirínico.

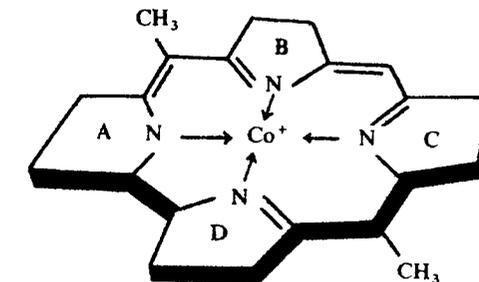


Figura 8.14. Estructura del anillo de corrina de la vitamina B₁₂.

En bacterias, existen muchos compuestos naturales relacionados con los corrinoides. En mamíferos, se encuentran muchos análogos, tipo cobalamina, compuestos en los que los grupos -OH de los carboxilos laterales están sustituidos por grupos -NH₂, y el -OH del grupo -CH₂OH del anillo pirrolínico D está esterificado con el ácido α-D-ribofuranosa-3-fosfórico.

Estructura

La vitamina B₁₂, como otras cobamidas, posee un nucleótido formado por ribosa, fosfato y una base, el 5,6-dimetilbenzimidazol. Las cobamidas con este nucleótido particular se denominan cobalaminas (fig. 8.15).

Se conocen varias cobalaminas que difieren en el sexto ligando del átomo de cobalto, dos de las cuales tienen funciones coenzimáticas, la *desoxiadenosilcobalamina* y la *metilcobalamina*.

La vitamina B₁₂ es relativamente estable. El núcleo de corrina es resistente a ácidos y álcalis fuertes, aunque en medio ácido los grupos -NH₂ de las cadenas laterales se hidrolizan, produciéndose los ácidos carboxílicos correspondientes.

En la *cianocobalamina*, cuatro de las posiciones de coordinación del átomo de cobalto están ocupadas por pares de electrones de los N pirrolínicos, mientras las otras dos posiciones, denominadas posiciones de ligandos axiales α y β, están

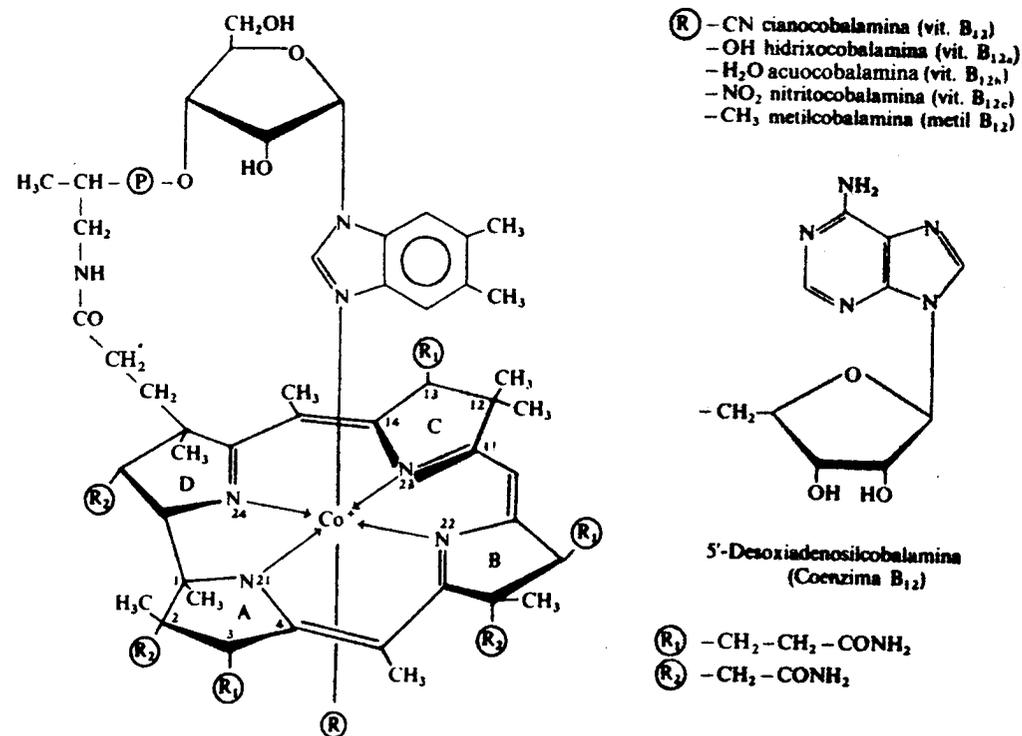


Figura 8.15. Vitamina B₁₂ y derivados coenzimáticos.

ocupadas por el par de electrones de un N del benzimidazol y del ion cianuro, respectivamente. En la *metilcobalamina* y la *adenosilcobalamina*, la posición α está ocupada, respectivamente, por los grupos metilo y adenosilo, mientras que en la *hidroxocobalamina* lo está por un grupo -OH y la *acuocobalamina* está monohidratada. El cobalto puede estar como catión mono, di y trivalente con 8, 7 y 6 electrones disponibles para la coordinación. En el complejo final pueden existir 2, 1 ó 0 ligandos axiales, de forma que el compuesto sea hexa, penta o tetracoordinado. La cianocobalamina es un compuesto hexacoordinado con Co^{3+} , sin carga en solución neutra, por las cargas negativas existentes en el núcleo de corrina, en el fosfato del nucleótido y en el ion. Por reducción, la cobalamina (III) da lugar a las formas de cobalamina II y I, antiguamente llamadas vitamina B_{12r} y B_{12s}. La cobalamina (II) en solución se convierte en cobalamina (III) (acuocobalamina) por acción del oxígeno del aire. La cobalamina (III) se denominaba anteriormente vitamina B_{12a}.

Las cobalaminas son muy sensibles a la acción de la luz. Por fotólisis, la cobalamina III se convierte en cobalamina II, sólo estable en condiciones anaeróbicas. Los metil y adenosil derivados son especialmente sensibles a la acción de la luz. Cada una de estas especies posee un espectro de absorción característico en la zona visible. La cianocobalamina cristaliza en cristales rojo oscuro, solubles en agua y en alcoholes de cadena corta y poco solubles en disolventes orgánicos. Su espectro de absorción tiene máximos a 278, 361 y 550 nm en solución acuosa, es estable en solución a pH entre 4 y 7, y resiste el calentamiento hasta los 120 °C. Por acción de la luz se transforma en acuocobalamina.

La cianocobalamina (5,6-dimetilbenzimidazol cianocobalamina) es un artefacto del aislamiento de la vitamina B₁₂. Sin embargo, una tercera parte de las

personas sanas poseen pequeñas cantidades de cianocobalamina en su sangre (un 20 por 100 de la B₁₂ total en plasma). Aunque el humo del tabaco es una fuente de cianuro, también los no fumadores tienen pequeñas cantidades de cianocobalamina en los eritrocitos, pero no en el hígado o en el riñón, órganos principales de almacenamiento de vitamina B₁₂. La cianocobalamina, como tal, no juega papel fisiológico alguno ni parece responsable de ninguna enfermedad humana. Ciertas poblaciones del Tercer Mundo que utilizan mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), vegetal con un alto contenido en cianuro, como base de su dieta, tienen una alta concentración de sulfocianuro (SCN^-) en la sangre y concentraciones más altas de cianocobalamina en el plasma. La alta incidencia de enfermedades nerviosas en estas poblaciones puede deberse al alto contenido de cianuro en su dieta, pero no hay pruebas de que el cianuro actúe inmovilizando la vitamina B₁₂ como cianocobalamina.

La hidroxocobalamina se encuentra en el plasma de las personas normales, constituyendo el 25 por 100 de la vitamina B₁₂ presente en los eritrocitos. Proporciones similares se encuentran en el hígado y otros órganos. Probablemente juega un papel bioquímico en la interconversión de los análogos de la vitamina B₁₂ en el cuerpo. Cuando se usa con fines terapéuticos es preferible a la cianocobalamina, por su superior retención después de inyección parenteral.

La 5'-desoxiadenosilcobalamina, aunque presente en cantidades relativamente pequeñas en el plasma, es la forma predominante en todos los tejidos, incluidos los eritrocitos, el hígado o el riñón. Constituyen el 70 por 100 de la vitamina B₁₂ del hígado.

El tercer análogo de la vitamina B₁₂ importante en el metabolismo de los mamíferos es la metilcobalamina, compuesto que constituye entre el 60 y el 80 por 100 del total de la vitamina presente en el plasma, del 1 al 5 por 100 en el hígado y cantidades algo superiores en el bazo y los riñones.

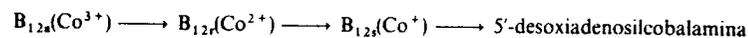
Otros análogos diferentes de la vitamina B₁₂ (diferentes sustituyentes en el anillo de corrina, diferentes nucleótidos) se han encontrado en las bacterias intestinales de ciertos rumiantes y en algunas bacterias fermentativas de aguas fecales (por ejemplo, la pseudovitamina B₁₂ de *Clostridium tetanomorphum*, que contiene adenina en vez del dimetilbenzimidazol en la 5.ª posición de coordinación y su derivado con actividad coenzimática tienen además 5'-desoxiadenosina en la 6.ª posición de coordinación del cobalto). Otra coenzima de la cobamida posee en la 5.ª posición un benzimidazol desmetilado y en la 6.ª la 5'-desoxiadenosina.

La vitamina B₁₂ ha recibido, entre otros nombres, los de factor antianemia pernicioso, factor proteico animal, factor extrínseco y zooferina. No puede ser sintetizada por plantas ni animales, sino por algunas especies de bacterias. La única fuente natural de cobalamina son los microorganismos del suelo, el agua o el intestino de los animales. A diferencia de otras vitaminas, las plantas no contienen vitamina B₁₂, siendo los productos animales la fuente principal en la dieta. Los vegetarianos estrictos pueden obtener suficiente cantidad de cobalamina a partir de los microorganismos de los nódulos de las raíces de leguminosas y del agua del grifo. En el colon humano puede tener lugar la síntesis de la vitamina, pero no es absorbida, excretándose en las heces unos 3-6 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Las deficiencias en vitamina B₁₂ son raras, habiéndose dado casos únicamente en vegetarianos estrictos, ya que su fuente principal son las vísceras de rumiantes, como el hígado y riñón.

El átomo de cobalto en la cobalamina tiene un estado de oxidación +1, +2 ó +3. En la hidroxocobalamina, el metal está como Co^{3+} , la vitamina se suele llamar B_{12a}Co³⁺ y es de color rojo. Esta forma se reduce mediante NADH y una *flavoproteína oxidorreductasa* a la forma B_{12r}Co²⁺, de color naranja, que por una

reacción similar se reduce a B_{12},Co^{3+} , de color gris verdoso. Esta última es el sustrato de la reacción enzimática final que convierte la vitamina B_{12} en la 5'-desoxiadenosilcobalamina:



Función bioquímica

Las coenzimas derivadas de la vitamina B_{12} participan en una gran variedad de reacciones, en especial en el metabolismo bacteriano (tabla 8.10). La mayor parte de estas reacciones dependen de la 5'-adenosilcobalamina y siguen el esquema de la figura 8.16, donde X, unido a grupos C-C o C-N, se transfiere a un átomo de C adyacente, sustituyendo a un átomo de H que se transfiere, mediante la coenzima B_{12} , al C que estaba unido a X. El mecanismo de reacción implica la disociación homolítica enzimática del enlace C-Co de la coenzima B_{12} , que genera cobalamina y un radical 5'-desoxiadenosilo ($Ad-CH_2$) (fase 1), la captación de un H del sustrato, que origina un radical en éste (fase 2), la reorganización del radical en el sustrato (fase 3) y la regeneración del radical adenosilo (fase 4). Tan sólo en el caso de la *ribonucleótido reductasa*, la transferencia de H es intermolecular. El resto de las reacciones son fundamentalmente transferencias de grupos metilo mediante la metilcobalamina.

En los tejidos animales sólo se conocen dos reacciones en las que participan coenzimas de la vitamina B_{12} . Las dos formas coenzimáticas que actúan en estas dos reacciones en los mamíferos son la metilcobalamina y la 5'-desoxiadenosilcobalamina (fig. 8.17a y b). En las bacterias se ha demostrado el papel de la metilcobalamina en la metanogénesis y en la fermentación acética, sobre todo en la síntesis de unidades dicarbonadas a partir de CO_2 (fig. 8.17c).

En el hombre, la vitamina B_{12} se absorbe en el íleon, después de su liberación de las proteínas de la dieta por la *pepsina* y de su unión con un factor R que impide la utilización de la cobalamina por las bacterias intestinales. Las proteasas pancreáticas liberan la vitamina del complejo cobalamina-R en presencia de una glicoproteína de 60.000 daltons que contiene neuraminato y es segregada por la mucosa

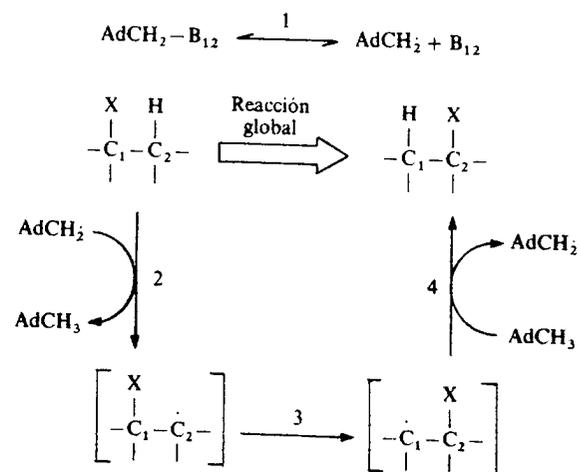
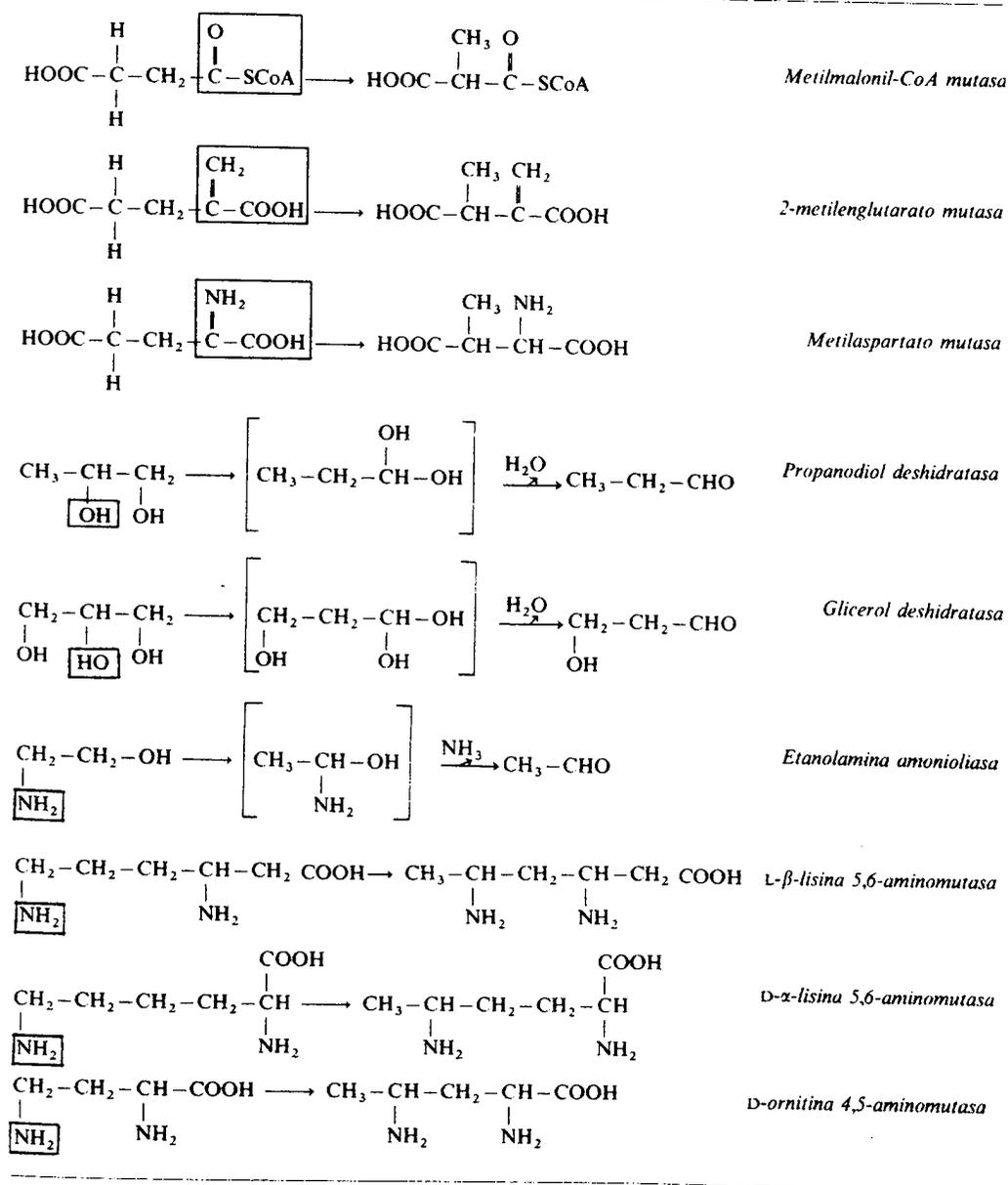


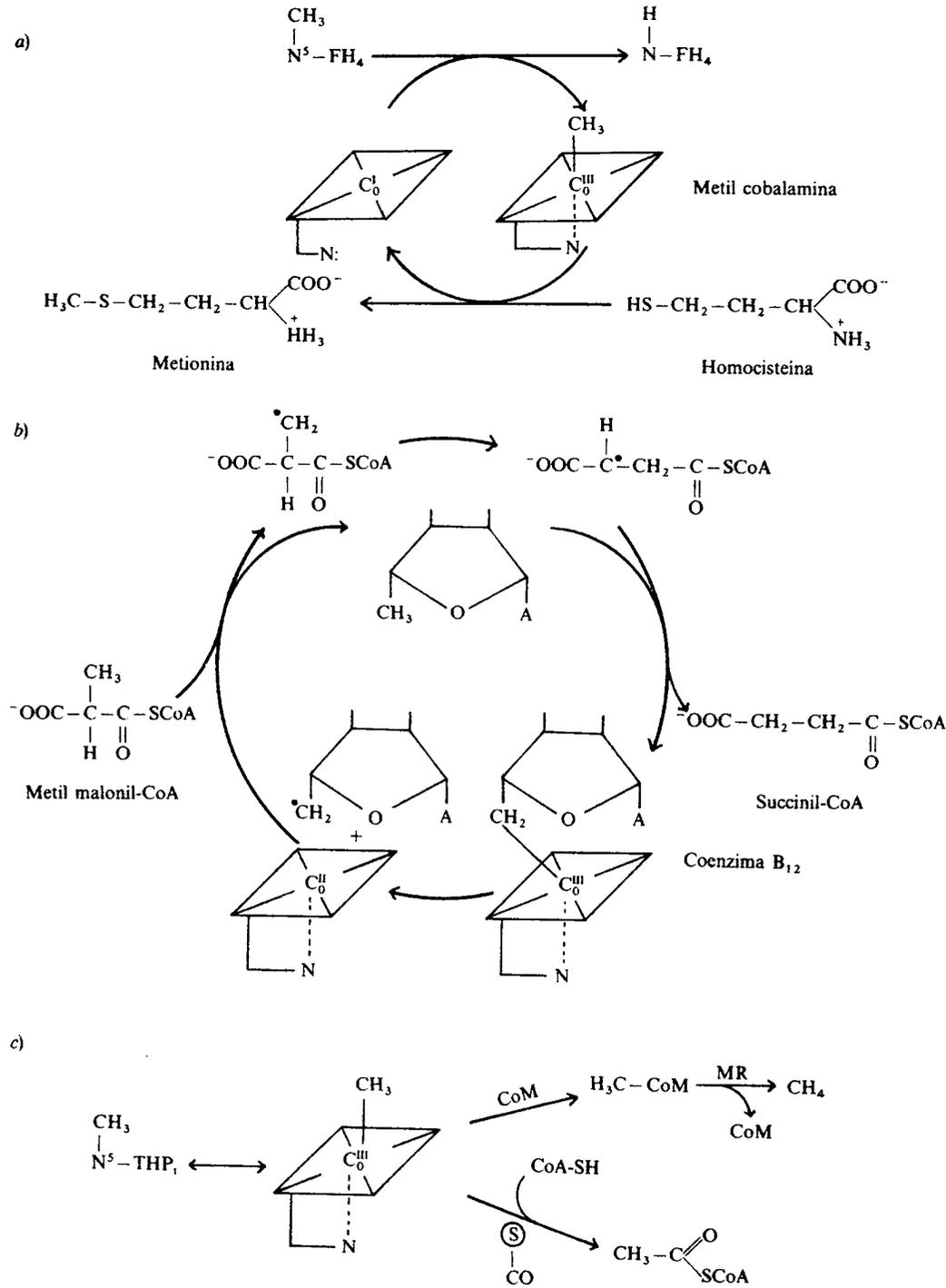
Figura 8.16. Mecanismo de reacción de la coenzima B_{12} en las reacciones de reordenación. $AdCH_2-B_{12}$: 5'-desoxiadenosilcobalamina.

Tabla 8.10
REORDENACIONES DEPENDIENTES DE LA COENZIMA B_{12}



gástrica. La formación de un complejo entre la cobalamina y esta proteína, denominada *factor intrínseco*, es esencial para la absorción ileal. Esta última está determinada por un receptor específico, una proteína de 220.000 daltons, situada en las depresiones del borde en cepillo de las células intestinales. La unión con el receptor tiene lugar a pH neutro y en presencia de Ca^{2+} , y determina la entrada del complejo y el posterior paso a la sangre de la vitamina (fig. 8.18).

El almacenamiento de la vitamina B_{12} se lleva a cabo en el hígado mediante su unión con la *transcobalamina I*, una proteína fijadora que se secreta en la bilis y



Reacciones en que intervienen derivados de la vitamina B₁₂ como metilcobalamina (a y c) y coenzima B₁₂ (b)
 FH₄: Tetrahidrofolato THP: Tetrahydropterina
 A: Adenosina S-CO: Sintetasa portadora de carbonilo
 CoM: Coenzima M MR: Metil reductasa

Figura 8.17. a) Metilación de homocisteína a metionina. b) Reacción de la metilmalonil mutasa. c) Biosíntesis de metano y acetil-CoA en los metanógenos.

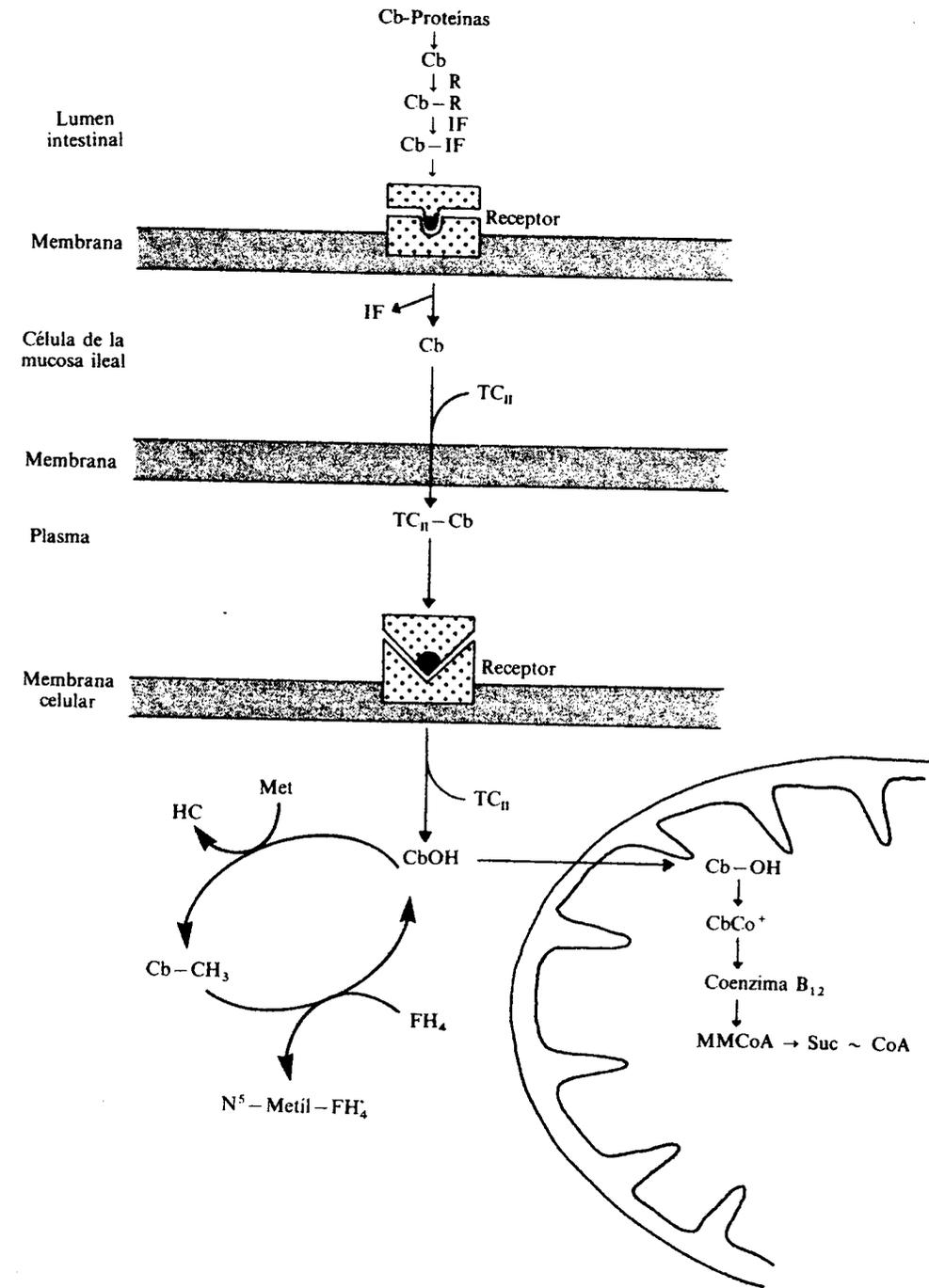


Figura 8.18. Captación y compartimentación intracelular de la cobalamina y coenzimas derivadas. Cb: cobalamina; R: proteína receptora; IF: factor intrínseco; TC: transcobalamina; CbCH₃: metilcobalamina; CbOH: hidroxicobalamina; Met: metionina; HC: homocisteína; FH₄: tetrahidrofolato; MMCoA: metilmalonil CoA; SucCoA: succinil CoA.

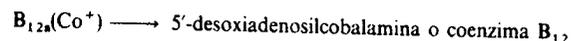
participa en la circulación enterohepática. En sangre, la vitamina B₁₂ se transporta mediante su unión a la *transcobalamina II*, y penetra en las células mediante la unión de este complejo con un receptor de 50.000 daltons, muy similar a la transcobalamina en peso molecular y composición de aminoácidos. La absorción hepática de cobalamina requiere la *proteína R* o *transcobalamina III*.

Deficiencia en vitamina B₁₂

La vitamina B₁₂ es un nutriente esencial para todas las células. Su deficiencia produce retraso en el crecimiento. Junto con los derivados del ácido fólico, es necesaria para la síntesis de ADN, por lo que una carencia absoluta incide negativamente en la maduración del núcleo y en la división celular. Así, en estados anormales se ha observado una proliferación anormal de las células eritroblásticas de la médula ósea, formación de megaloblastos, liberación de macrocitos a la circulación periférica y otros efectos patológicos.

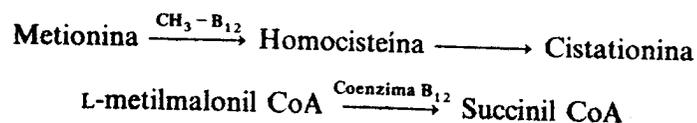
La deficiencia en vitamina B₁₂ puede deberse a defectos en la entrada de la vitamina en el organismo (niños nacidos de madres deficientes en vitamina B₁₂ y amamantados por ellas, malabsorción de la vitamina por defecto del factor intrínseco, transporte defectuoso por el enterocito), a deficiencia congénita de transcobalamina II y a deficiencia congénita del factor R. Los errores congénitos en la utilización de la vitamina B₁₂ se han definido mediante las mutaciones A y B (síntesis anormal de 5'-desoxiadenosilcobalamina), C y D (acumulación intracelular defectuosa de cobalamina), E (síntesis intracelular de metionina) y F (transporte defectuoso de cobalamina desde los endosomas al citoplasma celular).

El ácido metilmalónico se excreta en pequeñas cantidades (< 5 mg/día) en los individuos sanos, pero en los pacientes con anemia perniciosa puede llegar hasta 1 g. Esta enfermedad se debe a una deficiencia en el factor intrínseco, lo que produce un fallo en la absorción de cobalamina necesaria para la conversión enzimática de metilmalonil-CoA. La enfermedad se trata mediante inyección intramuscular de cobalamina a intervalos de un mes. Otros pacientes con aciduria metilmalónica carecen congénitamente de la transferasa que cataliza la síntesis de 5'-desoxiadenosilcobalamina:



o simplemente carecen de alguna de las enzimas que permiten la metabolización del metilmalonil CoA, como la *metilmalonil-CoA mutasa*. Esta forma de aciduria metilmalónica suele ser letal y no responde a la administración masiva de cobalamina.

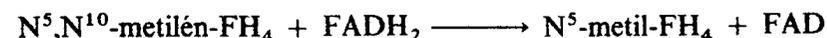
El síntoma más característico de la deficiencia de B₁₂ en humanos es el desarrollo de una anemia macrocítica acompañada o no de lesiones características en el sistema nervioso. Algunos síntomas de deficiencia de B₁₂ aparecen en casos de gastritis atrófica, de gastrectomías y en pacientes con anomalías anatómicas en el intestino delgado. En algunos casos raros se ha encontrado aciduria metilmalónica junto con homocisteinuria por incapacidad congénita de sintetizar las dos coenzimas de la vitamina B₁₂:



La deficiencia de B₁₂ o ácido fólico (ácido tetrahidrofólico, FH₄) origina en el hombre *anemia megaloblástica* que se caracteriza por un aumento de tamaño y un retraso en la síntesis del ADN en células en proliferación. En ausencia de la vitamina B₁₂ se bloquea la reacción de la *metiltetrahidrofolato homocisteína metiltransferasa*



responsable, junto con la *metilentetrahidrofolato reductasa*:



del control de la concentración intracelular de metil-FH₄. Si el FH₄ se acumula en su forma metilada, desciende la concentración de sus derivados formilados y metilénicos, se bloquea, en consecuencia, la síntesis de bases púricas y pirimidínicas, y se produce la anemia megaloblástica (hipótesis del atrapamiento del folato). Una deficiencia de B₁₂ equivale así a una deficiencia de folato (véase el siguiente apartado de este capítulo).

Altas dosis de ácido fólico pueden enmascarar una situación de anemia megaloblástica debida a una deficiencia en vitamina B₁₂. Por otra parte, la hipervitaminosis B₁₂ produce policitemia (aumento de la masa total de eritrocitos). El 5,6-diclorobenzimidazol es un antimetabolito de la vitamina B₁₂.

Fragmentos monocarbonados: ácido fólico y ácido tetrahidropterilglutámico

Los folatos son un grupo de compuestos sintetizados por plantas y bacterias, componentes esenciales de la dieta de los animales y el hombre.

La estructura del compuesto parental de la serie, el *ácido fólico*, se muestra en la figura 8.19. Químicamente, es el ácido N-[4-[(2-amino-4-hidroxi-6-pteridil)-

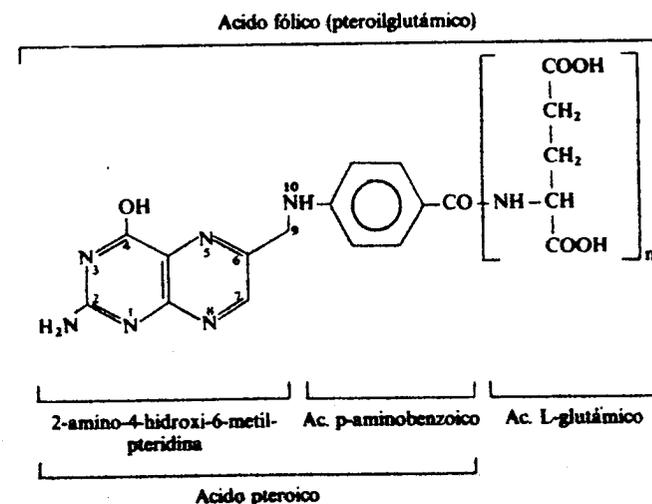


Figura 8.19. Estructura del ácido fólico.

metil]-amino)-benzoil]-glutámico, o ácido pteroilglutámico. El doble anillo fundido es una pteridina sustituida que forma parte de compuestos aislados de las alas (del griego «pteron») de ciertas mariposas.

El descubrimiento del ácido fólico arranca de las observaciones de Wills en la India, en 1930 y 1931, acerca del efecto curativo de la administración de extractos de levaduras o de hígado a mujeres embarazadas con *anemia macrocítica tropical* (caracterizada por una reducción del número y un aumento del tamaño de los eritrocitos), observaciones repetidas en 1935 en monos con anemia macrocítica, así como en los experimentos de Day, en el mismo año, con monos afectados de citopenia nutricional. Pronto se le reconoció como un factor de crecimiento para los pollos (vitamina B₉) y para ciertas bacterias como *Lactobacillus casei* y *Streptococcus faecalis*. Fue aislado en 1940 a partir de la levadura (Snell y Peterson), en 1941 a partir de las hojas de espinaca (Mitchell, Snell y Williams), y en 1943 del extracto de hígado (Pfiffner y col. y Stockstadt). Su estructura se determinó por degradación y síntesis en 1948 (grupo de investigadores de la American Cyanamid Co.). Por la misma época se aislaron dos ácidos pteroilglutámicos con tres (1948) y siete residuos de glutamato (1945 y 1946) que, por hidrólisis enzimática, producen el compuesto monoglutámico.

La hoja de espinaca es una fuente excelente de ácido fólico (de ahí el nombre de ácido fólico, del latín *folium*, hoja). Otros nombres de esta vitamina son los de folacina, vitamina M, vitamina B₉, factor *Lactobacillus casei*, vitamina B₁₀ o B₁₁, factor eluato, factor U y factor R. Es un polvo cristalino amarillo o amarillo anaranjado, soluble en álcalis y ácidos diluidos, muy poco soluble en agua fría e insoluble en alcohol, acetona, éter y cloroformo. Tiene un espectro de absorción característico dependiente del pH, con un máximo en la zona ultravioleta. Es estable al calor y al aire en soluciones neutras o alcalinas, e inestable en medio ácido. Es muy sensible a la luz, sobre todo a la ultravioleta.

Parte esencial de la molécula de ácido fólico es el ácido *p-aminobenzoico* (PABA). Las células animales no pueden sintetizar PABA ni fijar el primer residuo de glutámico al ácido pterico, por lo que requieren ácido fólico en la alimentación. La deficiencia en folato es probablemente la deficiencia vitamínica más frecuente en EE.UU.

En los mamíferos se encuentran derivados con tres, cuatro, cinco, seis y siete residuos de glutamato, mientras que en las plantas predomina un conjugado heptaglutarámico unido a una proteína por el γ -carboxilo. En el hígado predomina el conjugado proteína-pteroil pentaglutarámico. Estas proteínas conjugadas son hidrolizadas por hidrolasas intestinales específicas que liberan pteroilglutamato, el cual se hidroliza a pteroilmonoglutarato por acción de otras hidrolasas intestinales, las *conjugasas*. El pteroilmonoglutarato se absorbe en la circulación mesentérica. La absorción se dificulta en presencia de ciertos inhibidores de las *conjugasas*, lo que probablemente se traduce en las deficiencias de folato observadas tras la administración de barbitúricos y contraceptivos orales.

Una fracción importante del pteroilmonoglutarato absorbido se reduce, en dos pasos enzimáticos, a tetrahidrofolato (FH₄) por una *NADPH-dihidrofolato reductasa* (fig. 8.20). El FH₄ es metilado a N⁵-metil-FH₄ en las propias células intestinales como parte del proceso de absorción. La reducción origina un nuevo centro quiral en C₆. La forma enzimáticamente activa del FH₄ tiene rotación óptica negativa a 589 nm y se designa (-) FH₄ o (1) FH₄.

El folato absorbido es transportado, unido a proteínas solubles que presentan alta afinidad por él. En el suero y la leche existe una fracción particulada de alto peso molecular relacionada con el transporte de folato y que posiblemente interviene en el proceso secretor de folato en la leche.

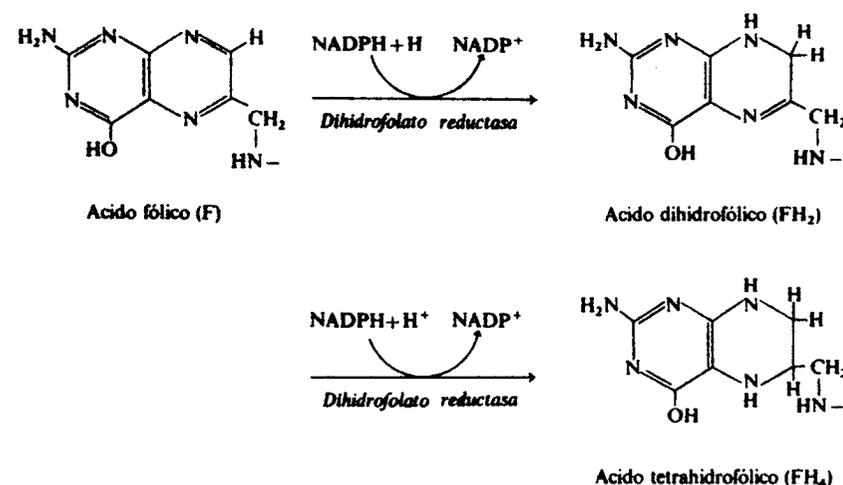


Figura 8.20. Reducción del ácido fólico a dihidrofólico (FH₂) y tetrahidrofólico (FH₄).

Función bioquímica

El FH₄ actúa como coenzima transportadora de fragmentos monocarbonados en diferentes estados redox (fig. 8.21), todos metabólicamente interconvertibles. En la figura 8.22 se recoge un esquema amplio de las reacciones en que intervienen derivados del FH₄. El N⁵-metil-FH₄ es la forma predominante en que el folato es transportado en la sangre y en la que se encuentra en el hígado de los mamíferos (tabla 7.11). Su grupo metilo puede transferirse a la 5'-desoxiadensilcobalamina dando metilcobalamina, compuesto donador de grupos metilo en la síntesis de metionina. En las bacterias, las coenzimas de folato intervienen en la generación de grupos metilos para la síntesis de unidades dicarbonadas a partir de CO₂ (metanógenos y bacterias acéticas).

Forma coenzimática del FH ₄	Fragmento monocarbonado	Estado de oxidación del carbono
N ⁵ -formil-FH ₄	-CHO	+2 (formato)
N ¹⁰ -formil-FH ₄	-CHO	+2 (formato)
N ⁵ -formimino-FH ₄	-CH=NH	+2 (formato)
N ⁵ , N ¹⁰ -metenil-FH ₄	$\geq\text{C}-\text{H}$	+2 (formato)
N ⁵ , N ¹⁰ -metilen-FH ₄	>CH_2	0 (formaldehído)
N ⁵ -hidroximetil-FH ₄	-CH ₂ OH	0 (formaldehído)
N ⁵ -metil-FH ₄	-CH ₃	-2 (metanol)

Figura 8.21. Fragmentos monocarbonados transportados por el FH₄.

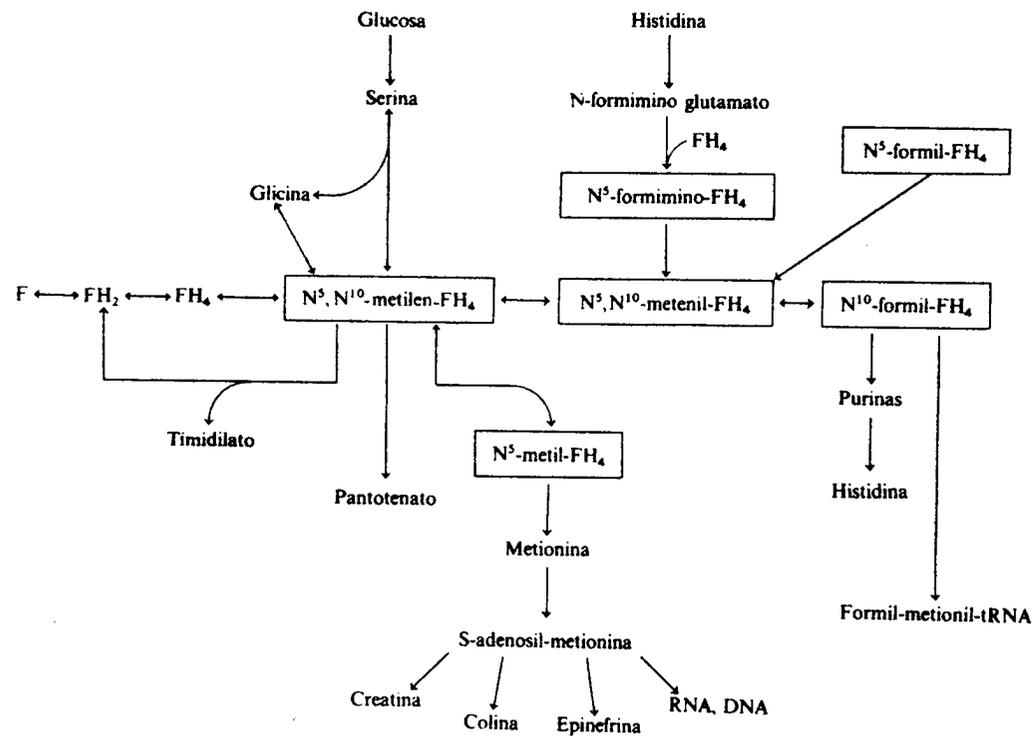


Figura 8.22. Reacciones más importantes de los derivados del FH₄.

Las coenzimas de folato participan en reacciones necesarias para la síntesis de purinas y del timidilato del ADN, lo que explica el papel fundamental del ácido fólico en el crecimiento y reproducción celulares. Una deficiencia de esta vitamina se traduce en displasia megaloblástica de células de la médula ósea y del tracto gastrointestinal, lo que acarrea anemia macrocítica. Los derivados del folato son necesarios para el desarrollo completo de las células de la sangre.

Como se vio antes, existe una estrecha interrelación entre el metabolismo del folato y el de la cobalamina, apareciendo la anemia megaloblástica cuando una de las dos vitaminas está ausente. Sin embargo, a veces es difícil una distinción clínica entre los dos estados de deficiencia. Los enfermos con anemias debidas a la

Tabla 8.11
DISTRIBUCION DE LOS PRINCIPALES DERIVADOS DEL ACIDO TETRAHIDROFOLICO EN VARIOS TIPOS DE CELULAS

Fuente	Distribución (%)			
	N ¹⁰ -formil-FH ₄	N ⁵ -metil-FH ₄	FH ₄	Otros
Higado mono	20-40	60-80	—	—
Higado de rata	20	60	20	—
Higado de ave	23	77	—	—
Levadura	77	20	—	—
<i>S. faecalis</i>	45	0	25	30
<i>L. caesi</i>	10	26	40	24

carencia de ácido fólico responderán positivamente a la administración de 300-500 µg de folato que, sin embargo, no revertirá los estados de anemia perniciosa debida a la deficiencia de B₁₂. Cuando se aumenta la histidina en la dieta, se observa formiminoglutamaturia en los casos de deficiencia de folato, de B₁₂ y de hierro, o en los casos de neoplasias o embarazo. Estas relaciones metabólicas entre el ácido fólico y la vitamina B₁₂ se ilustran en la figura 8.23. Las reacciones de atrapamiento del folato constituyen una respuesta a la deficiencia de metionina, si se tiene en cuenta la inhibición de la metilén-FH₄ reductasa por S-adenosilmetionina (SAM) y de la N⁵-metiltransferasa por metil-FH₄. Así se asegura una adecuada concentración de SAM. Por otra parte, la sarcosina, formada en el citoplasma por la N⁵-metiltransferasa, pasa a la mitocondria donde se incorpora a la ruta de conversión de colina en glicina. En presencia de FH₄, los grupos metilo de aquella se transfieren uno a la homocisteína, para dar metionina, y dos al FH₄, para dar metilén-FH₄. En ausencia de FH₄ se produce HCHO.

Algunos antagonistas del ácido fólico, sobre todo la *aminopterina* (ác. 4-amino fólico) y la *ametopterina* o *metotrexato* (ác. 4-amino-10-metil fólico) se están utilizando con notable éxito con fines terapéuticos. En los animales, el efecto inhibidor de la aminopterina no es revertido por el ácido fólico, sino por el ácido folínico o leucovorina (N⁵-formil-FH₄) o por el ácido N⁵-metil-FH₄. Estos antimetabolitos actúan sobre la *dihidrofolato reductasa* durante la síntesis del ADN impidiendo la división celular. Por esta razón, dichas sustancias se han utilizado para combatir distintos tipos de cáncer (por ejemplo, la leucemia en los niños) que experimentan una remisión temporal después del tratamiento. Grandes dosis de ametopterina pueden amenazar también a los tejidos normales, por lo que en tales circunstancias sin efecto se revierte administrando leucovorina. En la figura 8.24 se muestra el mecanismo de acción de estos antimetabolitos, así como sus estructuras.

La reacción de la *timidilato sintasa* resulta inhibida irreversiblemente mediante el fluorodesoxiuridilato (F-dUMP), procedente de la transformación *in vivo* del fluorouracilo. La enzima se une mediante un grupo -SH al C₆ del F-dUMP, y el N⁵,N¹⁰-metilén-FH₄ se enlaza al C₅ de este compuesto, resultando un intermediario que bloquea la reacción (fig. 8.24).

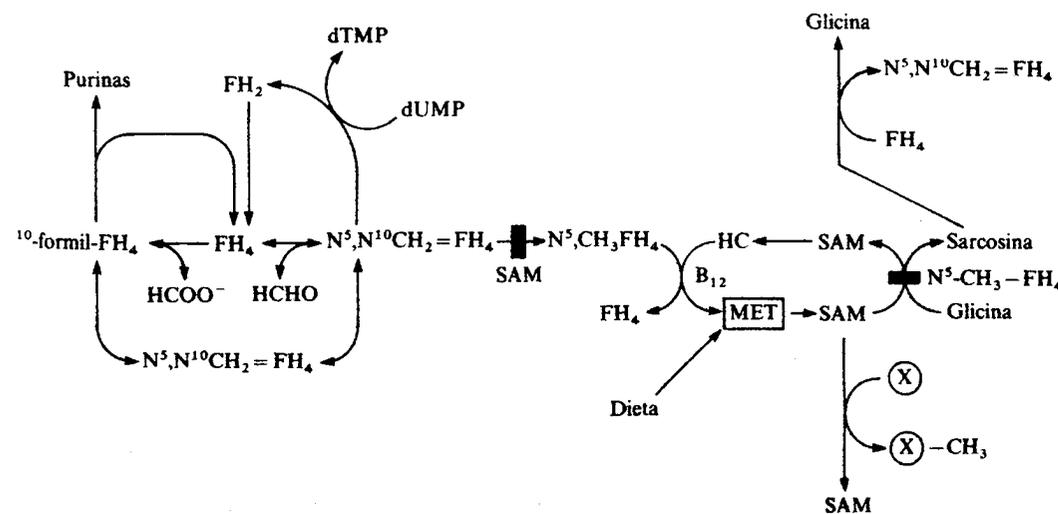


Figura 8.23. Interrelaciones metabólicas entre el ácido fólico y la vitamina B₁₂. FH₂: dihidrofolato; FH₄: tetrahidrofolato; N⁵-formil-FH₄: formiltetrahidrofolato; N⁵,N¹⁰CH₂=FH₄: N⁵,N¹⁰-metilén-tetrahidrofolato; SAM: S-adenosilmetionina; SAH: S-adenosilhomocisteina; HC: homocisteina; X: aceptor de metilo.

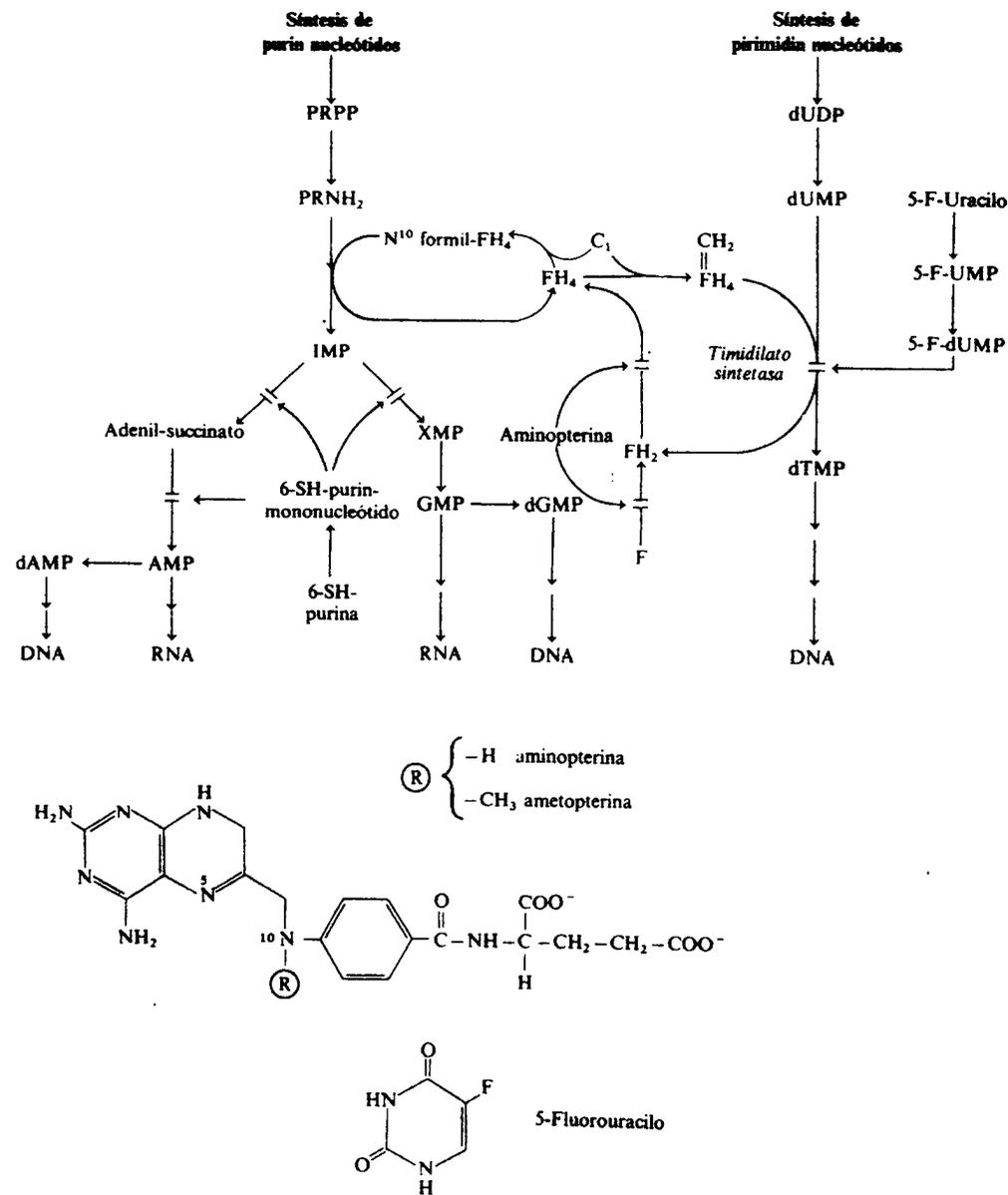


Figura 8.24. Antimetabolitos del FH₄ y mecanismo de acción PRPP; fosforribosil pirofosfato. PRNH₂: fosforribosil amina; FH₂: dihidrofolato; FH₄: tetrahydrofolato; CH₂=FH₄: N⁵,N¹⁰-metilén-FH₄.

Se bloquea también la síntesis del dTMP, inhibiendo la regeneración del FH₄. La aminopterina y la ametopterina son inhibidores muy potentes ($K_i < 1 \text{ nM}$) de la *FH₂-reductasa*.

Algunos errores congénitos del metabolismo del folato son la imposibilidad de absorber folato por el tracto gastrointestinal (retraso mental, convulsiones, movimientos atetóticos de las extremidades superiores, anemia megaloblástica) y la deficiencia de *FH₂ reductasa* (anemia megaloblástica severa), de *N⁵,N¹⁰-metilén-FH₄-reductasa*, *N⁵,N¹⁰-metilén-FH₄-ciclohidrolasa*, *N⁵-metil-FH₄*, *homocisteína*

metiltransferasa y *glutamato formiminotransferasa*. Ciertas drogas, como la sal azosulfapiridina, producen malabsorción de folato. Los antiepilépticos compiten con el metabolismo del ácido fólico o aumentan sus requerimientos.

En algunos casos de abuso de esta vitamina se ha observado obstrucción de los túbulos renales.

COENZIMAS DE TRANSPORTE ELECTRONICO

Vitamina B₃ y nucleótidos de piridina

El ácido nicotínico (*niacina*) y su amida, la *nicotinamida*, son derivados no tóxicos del alcaloide nicotina, específicos para el tratamiento de la pelagra. Esta enfermedad fue descrita por el médico español Casal en 1735 y bautizada por el italiano Frapolli en 1771 con el nombre de pelagra (*pelle* = piel, *agra* = áspera), con el que describía el sintoma más característico de esta dermatitis. Entre 1915 y 1920, Goldberger asoció la enfermedad con una deficiencia de un factor nutritivo que Elvehjem y Woolley identificaron en 1937 como el ácido nicotínico. Paralelamente, y en una investigación independiente, Von Euler en Suecia aisló, en 1933, el cofactor dializable y termostable descrito por Harden y Young en 1907 como necesario para la fermentación alcohólica del azúcar por las levaduras, al que se llamó *cozimasa* o *coenzima I*. En 1934, Warburg y Christian aislaron otra coenzima muy relacionada con la anterior a la que llamaron *coenzima II*. Poco tiempo después encontraron que la nicotinamida era un componente de ambas coenzimas, lo que permitió la identificación del ácido nicotínico como el factor preventivo de la pelagra (factor PP de Goldberger) en 1937.

La estructura de estas vitaminas, ácido nicotínico y nicotinamida, se muestra en la figura 8.25. Químicamente, el ácido nicotínico es el ácido piridín-3-carboxílico, también conocido con los nombres de niacina, factor antilengua negra (por prevenir la aparición de dermatitis conocida como lengua negra en los perros) y factor preventivo de la pelagra. La nicotinamida es la amida de este ácido y se llama también niacinamida, vitamina PP y vitamina B₃. Ambas sustancias son cristales blancos, solubles en agua y alcohol, muy poco solubles en éter e insolubles en los aceites. Son estables a la luz y el calor, y resisten las oxidaciones.

Las principales fuentes de niacina son las proteínas que contienen triptófano (carne) y los alimentos con ácido nicotínico (granos sin refinar, cereales, levadura, leche, vegetales con hojas, hígado, carne de pollo). El maíz es muy pobre en triptófano y niacina. Por cada 60 mg de triptófano sólo se puede sintetizar 1 mg de ácido nicotínico en condiciones óptimas.

El ácido nicotínico se absorbe en el intestino como nicotinato y su rápida metabolización determina su atrapamiento intracelular. Se excreta como derivado metilado (fig. 8.25) y conjugado con glicina, mediante reacciones que tienen lugar en el hígado.

La nicotinamida es el constituyente principal de las coenzimas denominadas dinucleótidos de adenina y nicotinamida (NAD⁺) y su correspondiente fosfato en el 2'-OH de la adenosina (NADP⁺), antiguamente denominadas DPN y TNP (difosfo y trifosfopiridín nucleótido, respectivamente) (fig. 8.26).

Las plantas y la mayoría de los animales pueden sintetizar NAD⁺ a partir del triptófano, siempre que el organismo no tenga carencia de vitamina B₆. Esta ruta es apreciable en los microorganismos. El ácido nicotínico ingerido es absorbido como nicotinato y, por acción de la *nicotinato ribonucleótido fosforilasa*, se incor-

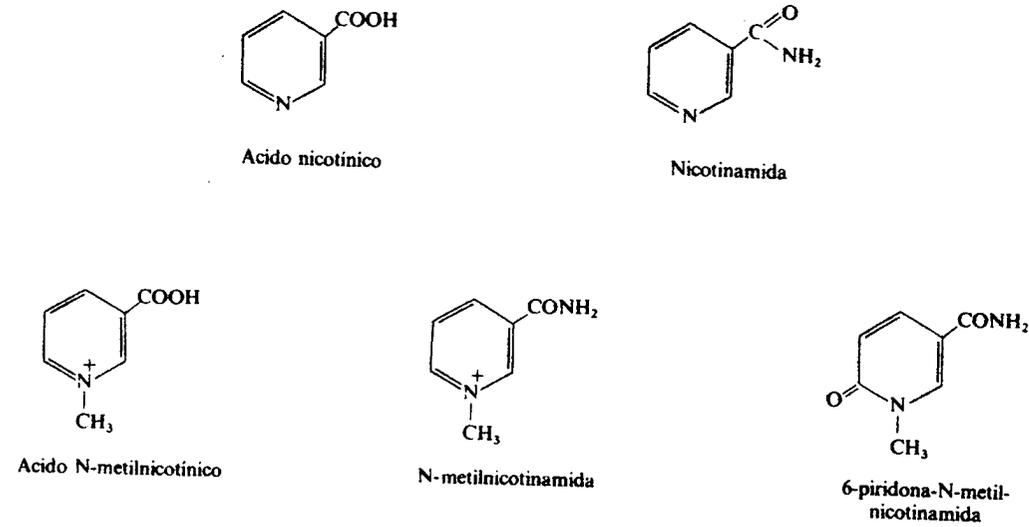


Figura 8.25. Estructura del ácido nicotínico, nicotinamida y productos de excreción.

para a la ruta de síntesis del NAD(P)⁺. La secuencia completa de enzimas se encuentra principalmente en el hígado (fig. 8.27). La enzima clave en la regulación del proceso es la *triptófano oxigenasa* que resulta inhibida *in vivo* por NAD(P)⁺ y NADH(P)H. Solamente se producen cantidades apreciables de NAD(P)⁺ si la concentración de triptófano es elevada, ya que la ruta principal conduce a acetil-CoA (fig. 8.27). La deficiencia de vitamina B₃ origina la excreción en orina de los metabolitos derivados ácido quináldico y ácido hidroxiquinaldico (fig. 8.27). En

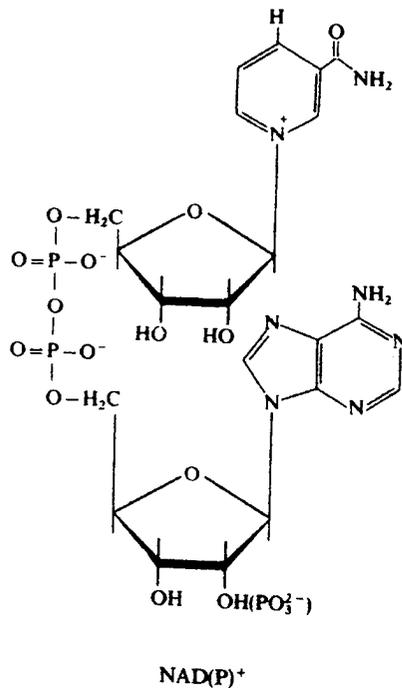


Figura 8.26. Estructura del NAD⁺ y NAD(P)⁺.

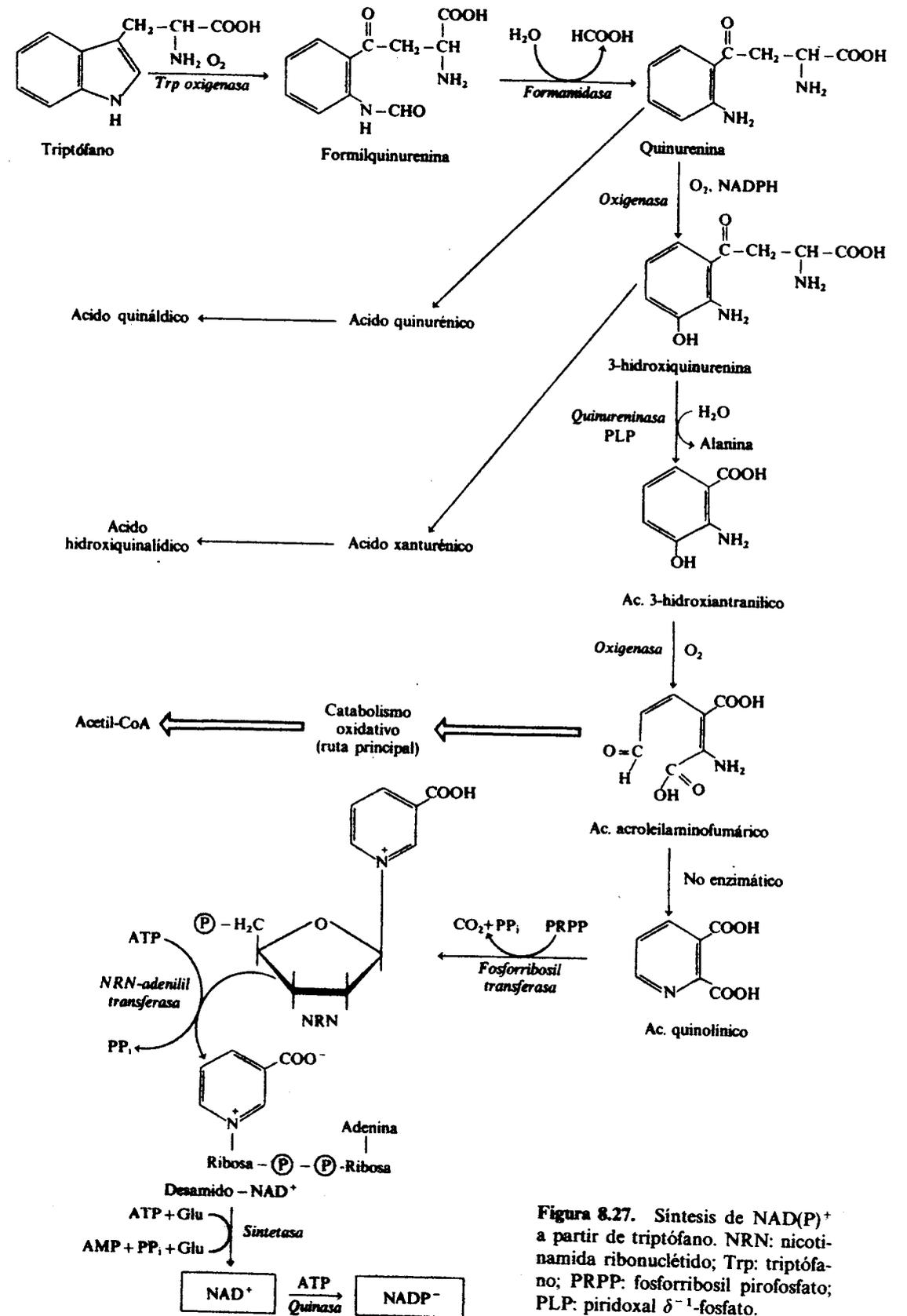


Figura 8.27. Síntesis de NAD(P)⁺ a partir de triptófano. NRN: nicotinamida ribonucleótido; Trp: triptófano; PRPP: fosforribosil pirofosfato; PLP: piridoxal δ⁻¹-fosfato.

los diabéticos se han observado perturbaciones en la ruta triptófano-niacina, por lo que su requerimiento de triptófano en la dieta de estos pacientes es más estricto. Algunos tejidos, como el riñón, son capaces de convertir directamente la nicotinamida en NAD^+ sin pasar por el ácido nicotínico.

Función bioquímica

El NAD^+ y el NAD(P)^+ actúan en reacciones enzimáticas de oxidorreducción, como transportadores de 2 electrones y un protón, equivalentes a un ion hidruro (H^-), desde el sustrato oxidable correspondiente con liberación al medio de un H^+ en el curso de la reacción. La porción que interviene en la reacción redox es el anillo de nicotinamida, cuyo átomo C_4 es un centro proquiral, ya que sus dos H no son equivalentes: el H situado por delante del plano del anillo quinoide se denomina pro-R(H_A) y el de detrás, pro-S(H_B) (fig. 8.28).

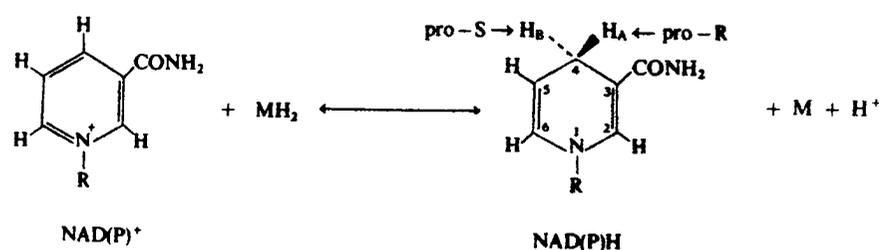


Figura 8.28. Centro proquiral del anillo de nicotinamida.

Las *deshidrogenasas* que utilizan estas coenzimas son de dos clases, A(R) y B(S), según qué hidrógeno distingan entre los dos tipos de H en el curso de la reacción (tabla 8.12). Esta especificidad se debe a que dichas enzimas son moléculas asimétricas que forman complejos altamente estereoselectivos con sus sustratos, incluidos aquellos con planos de simetría, o moléculas planas. En la figura 8.29 se ilustra esta propiedad mediante interacciones específicas de unión que determinan una transferencia estereoespecífica de H entre el acetaldehído y el NADH.

El NAD^+ y el NAD(P)^+ actúan en reacciones enzimáticas de oxidorreducción configuración extendida, no compacta, mediante interacciones débiles con algunos aminoácidos de la proteína (fig. 8.30). La porción proteica de cada deshidrogenasa que se une con la coenzima suele plegarse de forma semejante en las más de 250 deshidrogenasas dependientes de NAD^+ o NAD(P)^+ .

El término coenzima no es muy apropiado cuando se aplica a los nucleótidos de piridina, ya que las K_m son ligeramente más bajas para ellos que para los sustratos de las reacciones catalizadas por las deshidrogenasas, en las que se consumen cantidades equivalentes de sustrato y nucleótido. Por consiguiente, deben considerarse más bien como cosustratos. De hecho, pueden dissociarse de una enzima en una forma y ser convertidos a la otra forma por otra enzima, facilitando así la reducción u oxidación de un metabolito por otro:

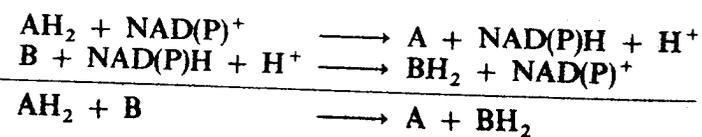


Tabla 8.12
ESTEREOESPECIFICIDAD DE ALGUNAS DESHIDROGENASAS DEPENDIENTES DE PIRIDINNUCLEOTIDOS

Sustrato	Coenzima	Fuente	Clase
Isocitrato	NADP^+	Corazón	A R
Etanol	NAD^+	Levadura	A R
Lactato	NAD^+	Corazón	A R
Malato	NAD^+	Corazón	A R
NADP^+	NAD^+	Corazón (mitocondria)	A R
Glucosa	NAD^+	Hígado	B S
Glucosa-6-fosfato	NADP^+	Levadura	B S
Glutamato	NAD(P)^+	Hígado	B S
Glutation	NADP^+	Levadura	B S
Gliceraldehído-3-fosfato	NAD^+	Todos los tejidos animales	B S
3- α -hidroxiesteroides	NAD^+	Hígado	B S
17- β -hidroxiesteroides	NAD(P)^+	Hígado	B S
6-fosfogluconato	NADP^+	Hígado	B S
Gliceraldehído-3-fosfato	NAD^+	Levadura (músculo)	B S
UDP-glucosa deshidrogenasa	NAD^+	Hígado	B S

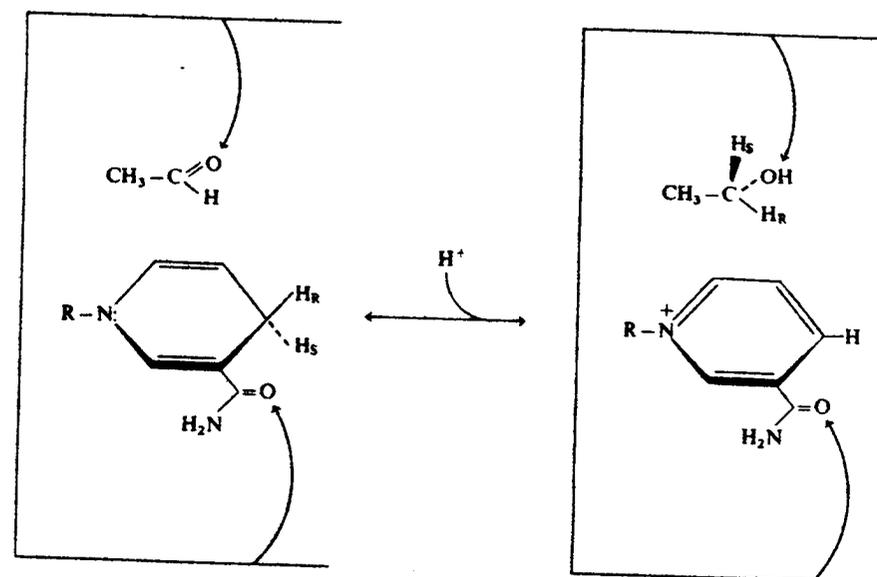


Figura 8.29. Estereoespecificidad de la transferencia de hidrógeno en las coenzimas de nicotinamida. Las flechas representan interacciones hipotéticas de unión enzima-sustrato. Los H_R y H_S del centro proquiral de C_4 del anillo de nicotinamida corresponden a los H_A y H_B de las clases de deshidrogenasas descritas en el texto.

Casos de reacciones así acopladas son frecuentes en la glucólisis y otras rutas metabólicas que se estudiarán más adelante.

Las formas reducidas de estas coenzimas absorben fuertemente la luz a 340 nm, propiedad que se aprovecha para el análisis de las reacciones catalizadas por las deshidrogenasas (fig. 8.31). Además, emiten fluorescencia cuando se excitan con luz de 340 nm, con un máximo de emisión a 465 nm. Al unirse los dinucleótidos a las deshidrogenasas se produce un desplazamiento del máximo de absorción a 330-335 nm y del máximo de emisión de fluorescencia a 440 nm. En solución

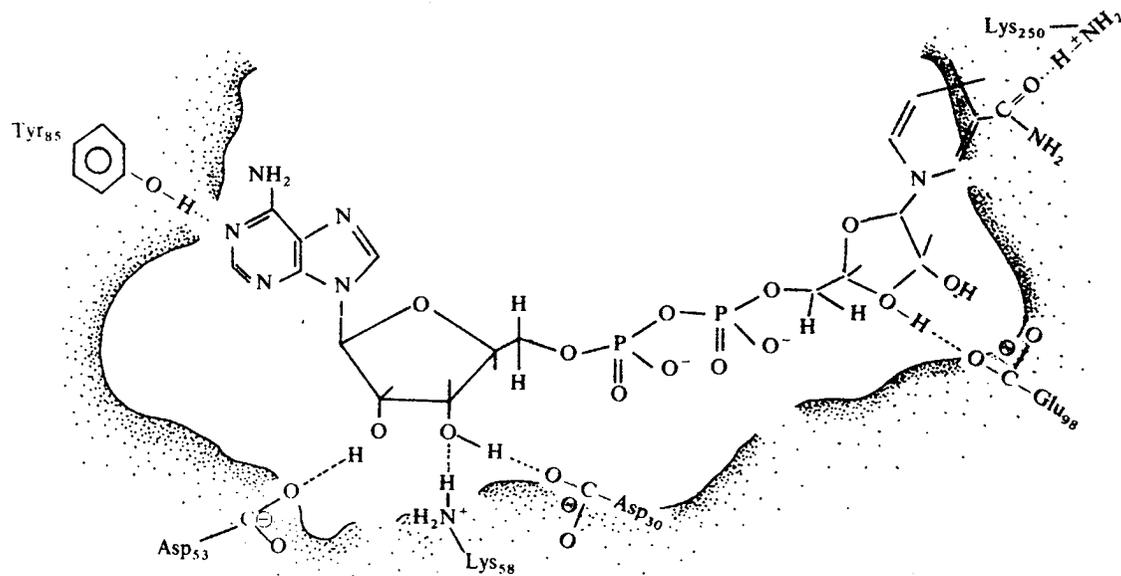


Figura 8.30. Configuración extendida del NAD^+ en el sitio activo de las deshidrogenasas.

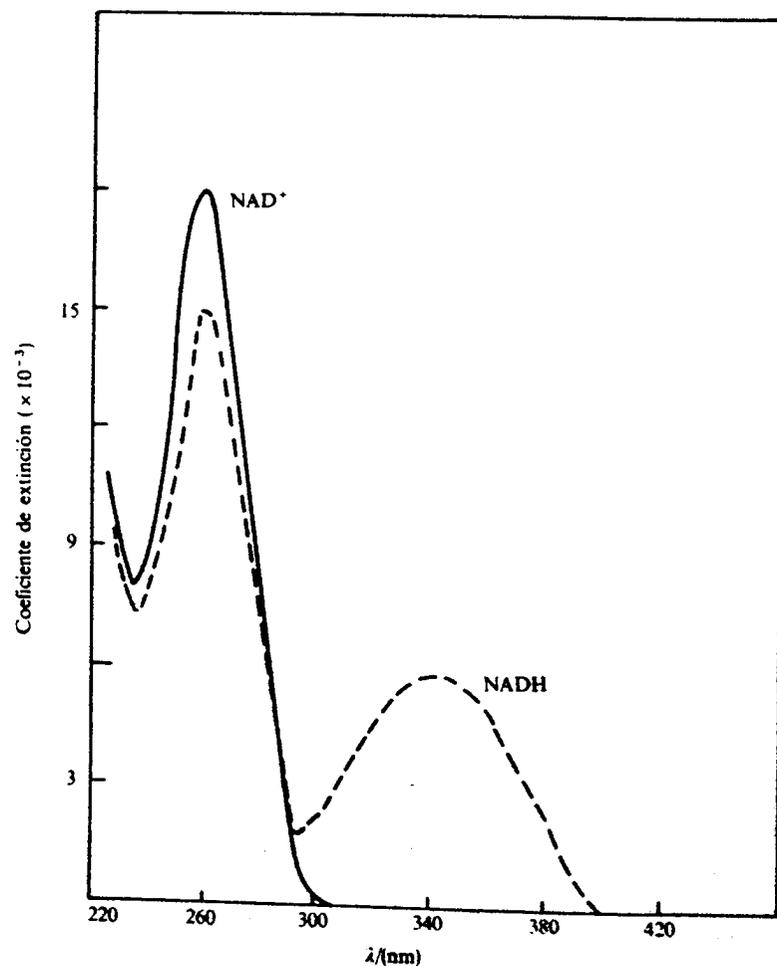


Figura 8.31. Espectro de absorción del NAD^+ y NADH .

diluida, gran parte de la emisión fluorescente del anillo de nicotinamida es absorbida por el anillo adyacente de adenina de la estructura plegada. Al unirse a la apoenzima, la estructura extendida del dinucleótido permite una intensificación considerable de la luz emitida, lo que hace que la medida de esta fluorescencia pueda emplearse como un método sensible de detección del complejo enzima-coenzima.

Además de transportador electrónico celular, el NAD^+ actúa también como coenzima en ciertas reacciones de epimerización, aldolización y eliminación de ciertos sustratos que carecen de la actividad química intrínseca necesaria para que estas reacciones transcurran a velocidades considerables. Por otra parte, actúa como donador de residuos ADP-ribosilo en la modificación química de ciertas proteínas (factores de elongación en la síntesis proteica, adenilato ciclasas, histonas, etc.). Algunas toxinas bacterianas como la cólerica o la diftérica actúan mediante estas reacciones de transferencia de ADP-ribosilo.

Deficiencia de vitamina B_3

La carencia de vitamina PP es uno de los factores determinantes de la pelagra, la enfermedad de las tres D (dermatitis, diarrea, demencia), asociada desde su aparición a las poblaciones alimentadas con maíz. Se caracteriza por una dermatitis eritematosa muy típica, parecida a las quemaduras graves por el sol, con desarrollo simétrico de las zonas afectadas que enrojecen y se hinchan ligeramente. Va acompañada de diarrea, probablemente por cierto grado de atrofia de la mucosa intestinal, y en su grado avanzado presenta síntomas psiquiátricos (retraso y lentitud psicomotora en las respuestas, alucinación, psicosis de ansiedad, convulsiones epileptiformes, demencia similar a la esquizofrenia). Estos últimos síntomas parecen deberse a una disminución en la síntesis o utilización de serotonina en el cerebro.

Curiosamente, el maíz tiene un contenido en ácido nicotínico muy parecido al de otros cereales no pelagragénicos, por lo que la aparición de la pelagra en personas con dieta predominante de maíz puede residir en su bajo contenido en triptófano, precursor del NAD^+ , y su alto contenido en leucina que bloquea, en sus últimos pasos, la síntesis de nucleótidos de piridina y nicotinamida. Una dieta con alto contenido en leucina (maíz, sorgo, mijo) y descompensada en la proporción leucina/isoleucina interfiere en la actividad quinolinato fosforribosiltransferasa (fig. 8.27), impidiendo la síntesis de NAD^+ . Además, la leucina puede interferir en el metabolismo de la serotonina, disminuyendo la absorción de este neurotransmisor por las vesículas sinápticas de las células cerebrales, y siendo responsable de la fatiga, insomnio y depresiones de los enfermos de pelagra.

Altas dosis de ácido nicotínico, no de nicotinamida, pueden inducir sudación, prurito y malestar gastrointestinal, así como disminución de la colesterolemia por mecanismos no aclarados todavía.

Vitamina B_2 (riboflavina) y nucleótidos de flavina

En 1932, Warburg y Christian obtuvieron, a partir de extractos acuosos de levadura, una enzima amarilla a la que asignaron un papel clave en la respiración celular, y que en 1933 resolvieron en un componente proteico y un pigmento amarillo carentes por separado de actividad catalítica. En el mismo año, de forma independiente, varios grupos de investigación sugirieron la identidad entre la

vitamina B₂ o vitamina G, un factor termolábil del complejo vitamínico B, y los pigmentos hidrosolubles amarillo-verdosos encontrados en muchos tipos de células como las de levadura, hígado y riñón. Estos pigmentos se aislaron de diferentes fuentes y, por su color amarillo, se denominaron lactoflavina, hepatoflavina, ovolavina y, finalmente, riboflavina. Este último nombre fue propuesto en 1937 por el Council of Pharmacy and Chemistry de la American Medical Association después de que Kühn y Karrer establecieran su estructura en 1935 como un derivado de la isoaloxazina. Químicamente, la riboflavina es la 7,8-dimetil-10-(D-ribo-2,3,4,5-tetrahidroxipentil)-isoaloxazina o la 7,8-dimetil-10-ribotil-isoaloxazina (fig. 8.32).

Es una sustancia cristalina moderadamente hidrosoluble (120 mg/L a 27,5 °C), relativamente termoestable, sensible a la luz visible y UV, resistente a los ácidos fuertes, pero inestable frente a los álcalis. Las soluciones de riboflavina presentan una fuerte fluorescencia amarillo-verdosa, con un máximo entre pH 6 y 7.

La riboflavina abunda en las células animales y vegetales, es sintetizada por todas las plantas y numerosos microorganismos, pero no por los animales superiores. Las fuentes más ricas de esta vitamina son la levadura, la leche, la clara de huevo, las huevas de peces, el riñón, el hígado, el corazón y las verduras, además del pescado y carne, sobre todo la de pollo. Por su gran estabilidad no se suele destruir por cocción o al hervir los alimentos.

La vitamina B₂ se absorbe por la mucosa del intestino delgado, donde, tras convertirse en mononucleótido de flavina (FMN), es transportada por la circulación hasta el hígado y transformada en dinucleótido de flavina (FAD) (fig. 8.32). En los tejidos animales el 70-90 por 100 de la riboflavina está en forma de FAD y FMN y sólo una pequeña parte como riboflavina libre. La flora intestinal sintetiza

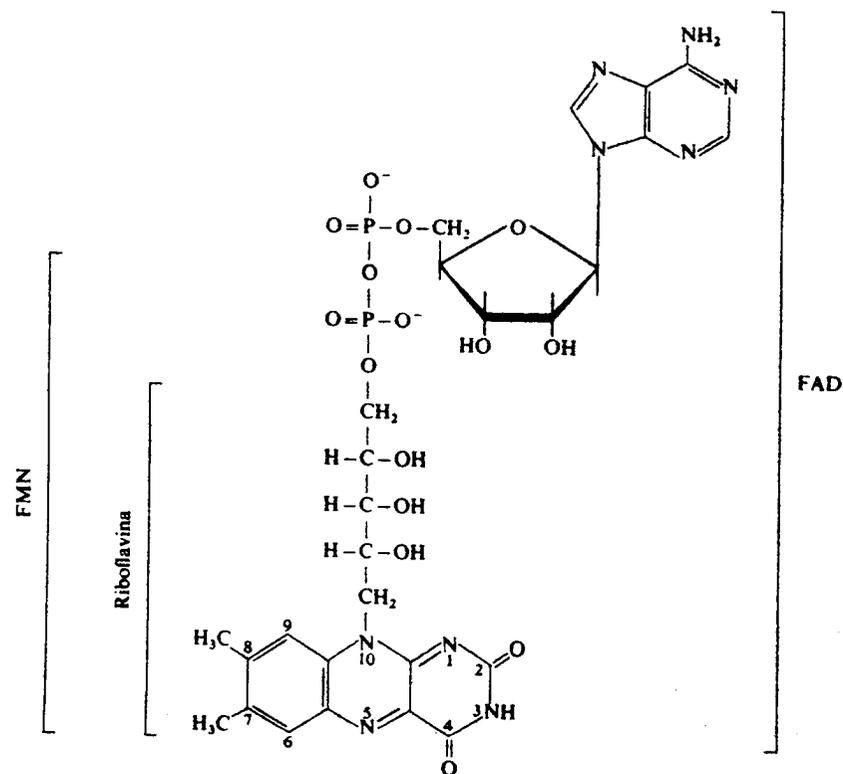
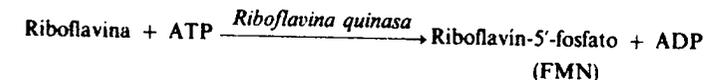


Figura 8.32. Estructura de los nucleótidos de flavina.

una pequeña parte de riboflavina. Se excreta principalmente en la orina, contribuyendo, al parecer, a su color amarillo.

Theorell y Kühn demostraron que la «enzima amarilla» de Warburg consistía en un componente proteico asociado a una fosforflavina capaz de oxidarse y reducirse. En 1938, Warburg y Christian identificaron la flavina como riboflavina y descubrieron una segunda coenzima, el flavín adenín dinucleótido o FAD. En realidad, sólo el FAD debería ser considerado como nucleótido (mononucleótido), ya que el FMN no contiene ribosa (y el FAD sólo una), sino ribitol unido al anillo de isoaloxazina (fig. 8.32).

La biosíntesis de estos nucleótidos a partir de la riboflavina es como sigue:



constituyendo la reacción catalizada por la quinasa una forma de atrapar la vitamina dentro de las células, tanto de la mucosa intestinal como de los eritrocitos o del hígado.

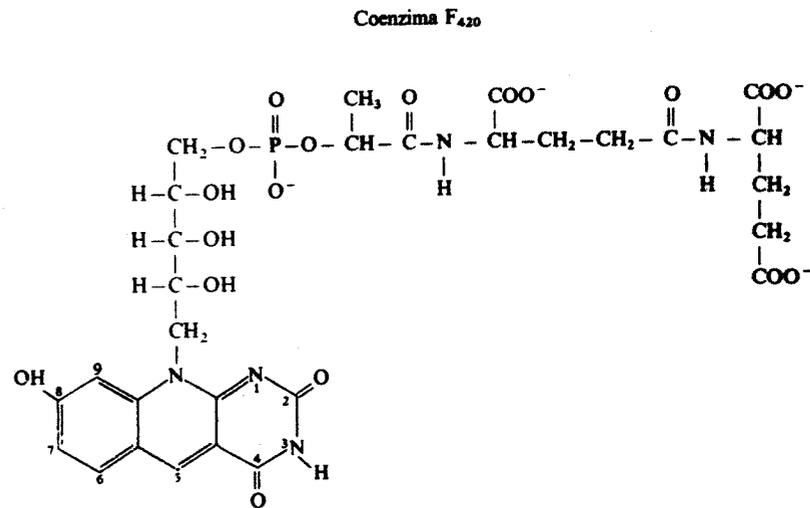
Función bioquímica

La función metabólica de la riboflavina y coenzimas derivadas es la de participar en la transferencia electrónica en las reacciones de oxidorreducción, dado el potencial redox estándar negativo de estos compuestos. El FMN y el FAD son las coenzimas de las flavoproteínas, esenciales para la respiración celular y otros procesos metabólicos. Pueden estar unidas a apoenzimas covalentemente o no. En el primer caso, la unión se realiza mediante el grupo metilo en posición 8 α al N₁ de una histidina (como en la *succinato deshidrogenasa* mitocondrial) o al grupo -SH de una cisteína (como en la *monoaminooxidasa* hepática) de la cadena peptídica. La unión no covalente de las flavinas es siempre mucho más fuerte que la de los nucleótidos de piridina a las deshidrogenasas ($K_D = 10^{-10} - 10^{-11}$ M). Por ello, las coenzimas flavínicas tienen que reoxidarse al final de cada ciclo catalítico, mientras que los nucleótidos de piridina y nicotinamida pueden liberarse en un estado de reducción diferente y ser reemplazados por otra molécula en el estado de oxidación inicial.

Algunos microorganismos pertenecientes al grupo de las Arqueobacterias, como los metanógenos, poseen una coenzima de flavina muy reductora, una 5-deazaflavina denominada F₄₂₀, descubierta en 1972 y que consiste en un anillo de 7,8-didesmetil-8-hidroxi-5-deazaflavín-5'-fosfato con un residuo lateral de N-(N-L-lactil-L-glutamilo). Es un compuesto amarillo muy fluorescente, con un máximo de absorción a 420 nm, que transporta dos electrones y que posee un potencial redox estándar de -0,36 V. Su estructura se recoge en la figura 8.33.

Las flavinas son muy sensibles a la luz de longitud de onda inferior a 600 nm. La riboflavina y el FMN son relativamente fotolábiles en solución acuosa, mientras que el FAD, que forma un complejo intramolecular, es más fotoestable. Todas absorben la luz intensamente en las regiones UV y azul del espectro (fig. 8.34).

Las coenzimas flavínicas existen en tres estados de oxidación distinguibles por sus espectros de absorción característicos y que además explican su mecanismo de acción: la forma oxidada, amarilla, la forma semirreducida con un solo electrón o forma semiquinónica azul o roja, y la forma totalmente reducida con dos electro-

Figura 8.33. Estructura del F₄₂₀.

nes, que es incolora (fig. 8.35). Son coenzimas muy versátiles que catalizan reacciones redox con numerosos donadores y aceptores de electrones: así, las deshidrogenasas no utilizan O₂ como aceptor, sino quinonas, citocromos o centros FeS. En las oxidasas, el O₂ se reduce con dos e⁻, en las H₂O₂ oxidasas-descarboxilasas el aceptor es el O₂, que se reduce a H₂O con 4 e⁻; en las monooxigenasas, el aceptor es el O₂, uno de cuyos átomos se reduce a agua y el otro se inserta en un sustrato; en las dioxigenasas, el aceptor es el O₂, cuyos dos átomos se insertan en un sustrato; en las metaloflavoenzimas, el aceptor puede ser el O₂ y se requieren metales de transición (Fe o Mo) para la catálisis. Por último,

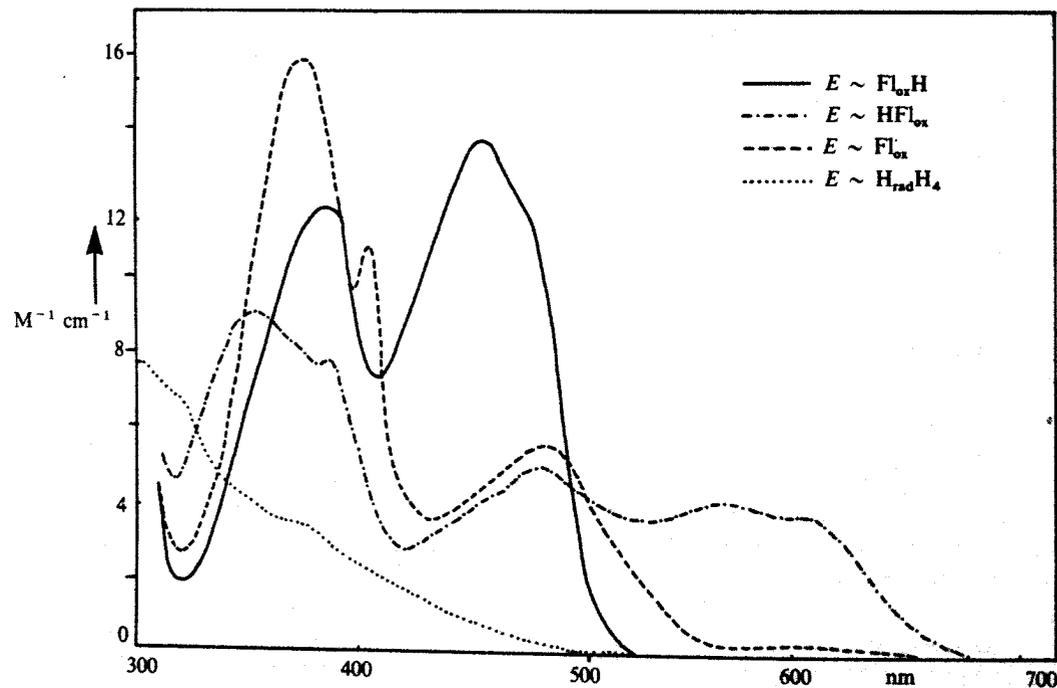


Figura 8.34. Espectro de absorción de una flavoproteína en sus formas oxidada y semiquinónicas. La forma reducida no absorbe prácticamente en el visible.

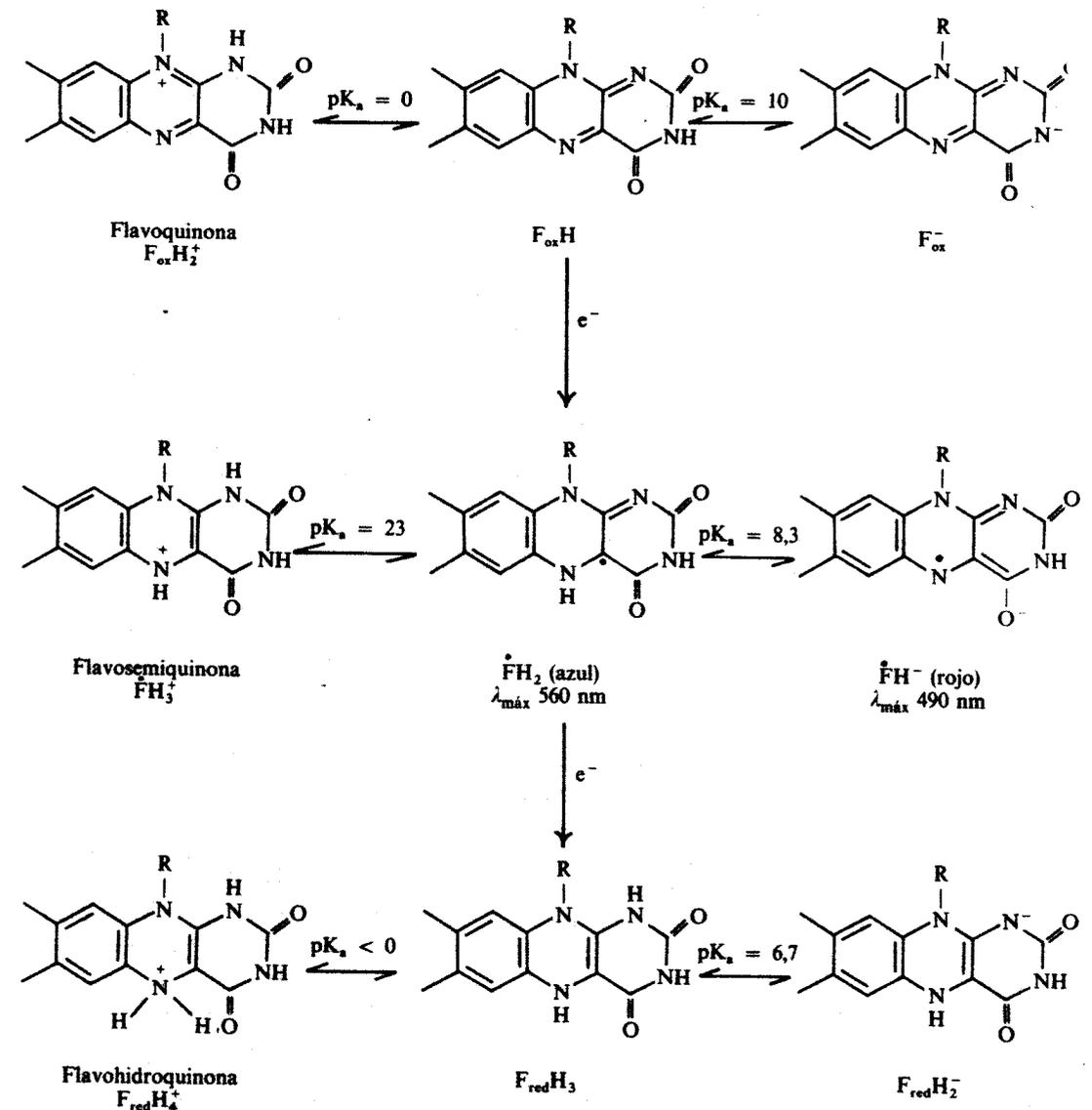


Figura 8.35. Estructura de las formas oxidadas y reducidas de los flavin nucleótidos.

las flavodoxinas catalizan reacciones de transferencia de un solo e⁻, implicando claramente a la forma semiquinónica.

La deficiencia de riboflavina (arriboflavinosis) en los animales y el hombre produce retraso en el crecimiento, perturbaciones oculares (conjuntivitis, queratitis, fotofobia) y orogenitales, dermatitis seborreica, escamosidad grasienta de los pliegues nasolabiales y de la mejilla y barbilla, estomatitis angular, degeneración de mielina y debilidad muscular. Todas estas lesiones pueden ser la manifestación de un desarreglo de la circulación capilar de las zonas afectadas (disergia capilar) por fallo del metabolismo celular de naturaleza anóxica (utilizando este término en sentido muy amplio), lo que se explicaría por la importancia de las coenzimas flavínicas en los procesos de oxidorreducción. Algunos síntomas de hipervitaminosis por riboflavina son prurito, parestesia y anuria.

Vitamina C (ácido L-ascórbico)

El ácido hexurónico, aislado en 1928 por Szent-György del jugo de limón, pimentón y glándulas adrenales, fue identificado simultáneamente en 1932 por Waugh y King, Svirley y Szent-György y Tillmans e Hirsh como el factor anti-escorbúico. De ahí su nombre de *ácido ascórbico*. Su estructura se determinó en 1933 en el laboratorio de Haworth en Birmingham, y en el mismo año se consiguió su síntesis en este laboratorio y en el de Reichstein en Suiza. Químicamente, es la L-treo-2,3,4,5,6-pentahidroxi-2-hexeno- γ -lactona o la lactona del ácido L-3-ceto-treo-hexurónico, cuya fórmula se muestra en la figura 8.36.

El elemento funcional de la vitamina es la agrupación diol en los carbonos 2 y 3 que hace de esta sustancia un agente reductor (E'_0 a pH 7 y 25 °C, +0,06 V) que se oxida fácilmente a ácido deshidroascórbico, dando origen a una dicetona. El ácido deshidroascórbico y el 2-fosfato-L-ascórbico también poseen actividad anti-escorbúica. La existencia de carbonos asimétricos da lugar a dos formas ópticamente activas, de las que sólo el isómero levógiro posee actividad biológica. Por hidratación, el ácido ascórbico da 2,3-diceto-L-gulónico, biológicamente inactivo.

El ácido ascórbico se obtiene a partir de D-glucosa, L-xilosa o L-sorbosa. Se le ha llamado también *vitamina C*, factor antiescorbúico, ácido hexurónico y anti-escorbúico. Se presenta en forma de cristales incoloros o débilmente amarillentos, de olor peculiar y sabor ácido. Es muy soluble en agua, sobre todo en forma de sal sódica (90 g/100 ml), moderadamente soluble en alcohol e insoluble en disolventes orgánicos. Las fuentes de vitamina C varían en su contenido desde los 189 mg/100 g del perejil, pasando por los 50 mg/100 g del zumo de limón, hasta los 10 mg/100 g del pepino. Abunda en los cítricos, moras, melones, tomates, pimientos verdes, col cruda y hortalizas de hojas verdes. Es muy inestable al calentamiento, particularmente en presencia de trazas de metales. Resiste muy bien la congelación. En los tejidos animales se encuentran grandes cantidades de vitamina C en comparación con otras vitaminas hidrosolubles.

El ácido ascórbico se requiere en la dieta de algunos vertebrados (hombre, mono, cobaya, murciélago y ciertos pájaros y peces). La mayoría de los animales y las plantas sintetizan la vitamina a partir de glucosa u otros precursores sencillos (fig. 8.37). No se encuentra en microorganismos ni parece esencial para su crecimiento.

La incapacidad del hombre y otros animales para sintetizar vitamina C radica en la ausencia de la *gulonolactosa oxidasa*, por delección del gen que codifica a esta enzima flavoproteína microsómica oligomérica. El hombre puede convertir, por una ruta no bien conocida, el ácido ascórbico en oxalato que aparece en la orina. También puede excretarse como ácido deshidroascórbico u oxidarse por la ruta de las pentosas.

Dado el potencial del par ascorbato/deshidroascorbato, la vitamina C puede

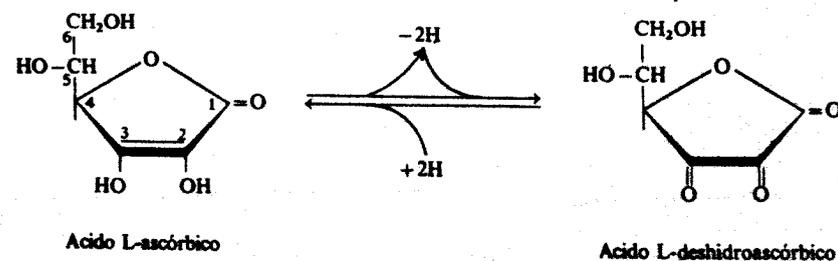


Fig. 8.36. Estructuras de los ácidos L-ascórbico y L-deshidroascórbico.

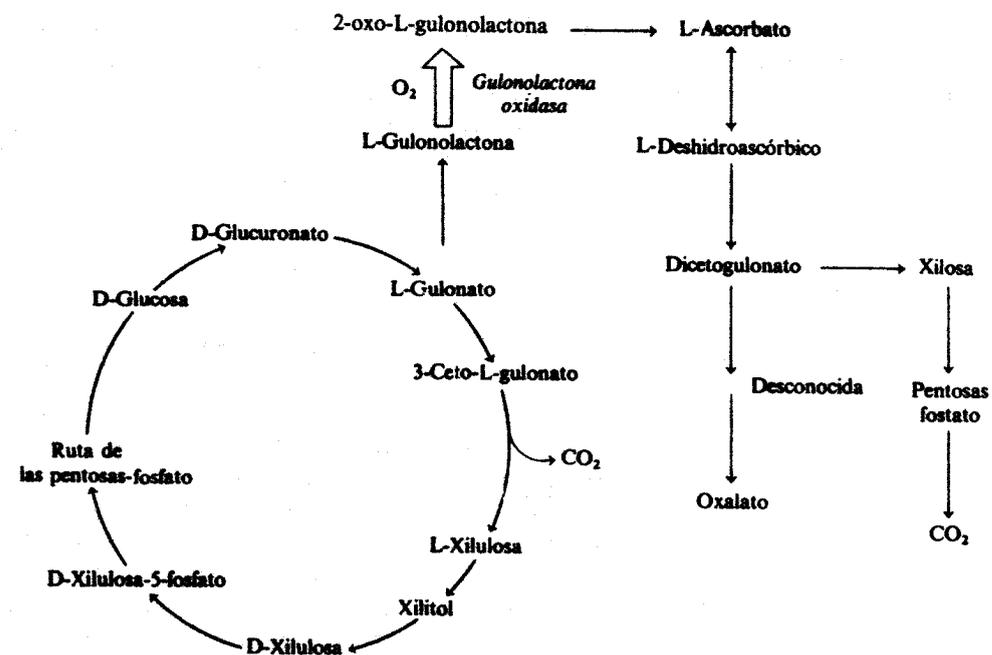


Figura 8.37. Síntesis y metabolismo del ácido ascórbico en el hígado de mamíferos. La conversión de L-gulonolactona en ácido cetogulónico, y de éste en ácido ascórbico tiene lugar en los microsomas.

reducir compuestos como el O_2 , nitrato y citocromo *c*, aunque no puede reducir $NAD(P)^+$, FAD, piruvato o hidroxibutirato.

El ácido ascórbico interviene como cofactor en reacciones de hidroxilación. La corteza de las glándulas suprarrenales contiene grandes cantidades de vitamina C, descendiendo rápidamente su concentración cuando las glándulas son estimuladas

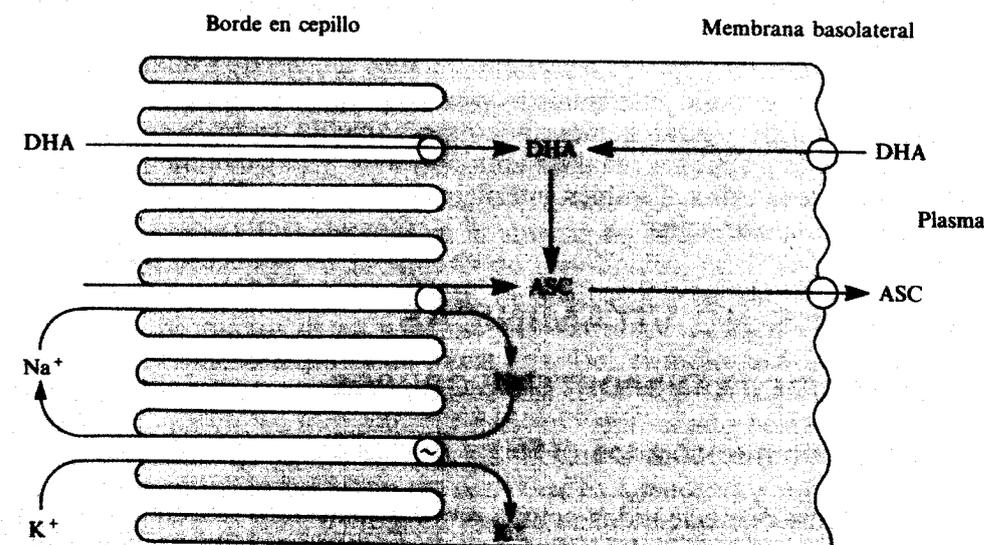


Figura 8.38. Transporte de la vitamina C en las células intestinales. DHA: deshidroascorbato; ASC: ascorbato. ~ : bomba de Na^+K^+ .

por la hormona adrenocorticotropa (ACTH). No se conoce la función del ascorbato en dichas glándulas.

La vitamina C es rápidamente absorbida en el intestino mediante transporte activo dependiente de sodio. Por el contrario, el deshidroascorbato penetra por difusión facilitada, siendo reducido inmediatamente para mantener el gradiente de concentración (fig. 8.38). En el riñón, el ascorbato se reabsorbe contra gradiente.

Deficiencia de vitamina C

La deficiencia de vitamina C se produce en humanos tras un periodo de tres a cuatro meses en que se agotan sus reservas. Entonces se produce el *escorbuto*, enfermedad caracterizada por la fragilidad de los capilares, hemorragias, gingivitis, caída de dientes, anemia, dolores intensos de los huesos, fatiga muscular, queratosis folicular y dificultad de cicatrización. Todos estos efectos apuntan a un papel, al parecer no muy específico, del ascorbato en la absorción y metabolismo del hierro actuando como reductor (anemia) y, sobre todo, a una función en la síntesis del colágeno y del sulfato de condroitina, lo que influye en la permeabilidad capilar, en la formación de la matriz ósea, la dentina y el cemento dental, la cicatrización de heridas, etc. Interviene también en la degradación de la tirosina (conversión del p-hidroxifenilpiruvato en homogentisato) y en la síntesis de aminas cerebrales. Otros efectos descritos de la vitamina C son: aumento de la resistencia a las infecciones bacterianas (manteniendo en las células una concentración óptima de cisteína para la síntesis de las globulinas necesarias para combatir la infección), aumento de resistencia ante las infecciones virales (facilitando la separación de los elementos estructurales de los virus que quedan expuestos a la acción de las nucleasas), potenciación de los efectos del AMP y GMP cíclicos (aumentando la actividad adenilatociclasa o inhibiendo las fosfodiesterasas), protección de las vitaminas A, E y algunas del complejo B, y aumento de la utilización de ácido fólico (potenciando la conversión del folato en FH_4 o la formación de derivados poliglutámicos del FH_4). Estudios realizados a partir de 1970 no han aclarado suficientemente su papel preventivo del resfriado común ni tampoco están claros sus efectos como terapia preventiva del cáncer.

La hipervitaminosis C puede ocasionar cálculos renales de oxalato (oxalosis) o interferir con la absorción intestinal de vitamina B_{12} . Aumenta la absorción de hierro, lo que puede causar hemocromatosis, aumenta la reabsorción renal de acetilsalicilato y la excreción renal de antidepresivos y anfetaminas, por su efecto sobre la acidez de la orina. También interfiere con las propiedades anticoagulantes del dicumarol o la warfarina.

COENZIMAS NO VITAMINICAS

COENZIMAS DE TRANSPORTE DE GRUPOS

Trifosfatos de nucleósidos (TFN) y derivados

Los trifosfatos de nucleótidos actúan con frecuencia en reacciones altamente exergónicas en las que sus enlaces fosfoanhidrido resultan hidrolizados, acoplándose a reacciones endergónicas, como las de biosíntesis, en los procesos celulares. Con frecuencia, este acoplamiento tiene lugar mediante la formación de un intermediario rico en energía formado por transferencia de una porción de la molécula

del TFN a una molécula aceptora. Puesto que el TFN se regenera constantemente y su concentración sirve de señal metabólica en muchas reacciones enzimáticas, se incluyen aquí como coenzimas de transferencia. En la figura 8.39 se señala cómo puede escindirse el ATP mediante diversas reacciones enzimáticas de transferencia:

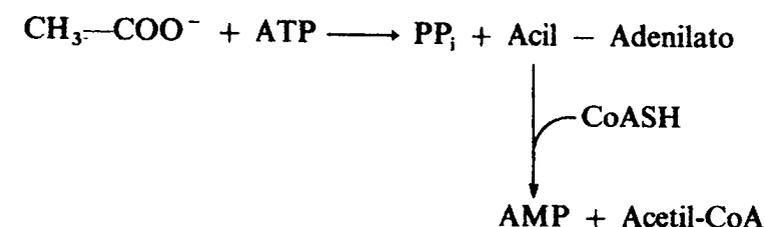
En *a* el ataque nucleofílico al P_γ produce la transferencia de un grupo fosforilo al agente atacante con liberación del ADP.

En *b* el ataque nucleofílico al P_α conduce a la transferencia de adenilo y a la liberación de pirofosfato.

En *c* se transfiere el grupo pirofosfato y se libera AMP. Es un caso raro.

El caso *d* es todavía más raro. Se produce desplazamiento sobre el C_5 y se libera tripolifosfato o sus productos de hidrólisis.

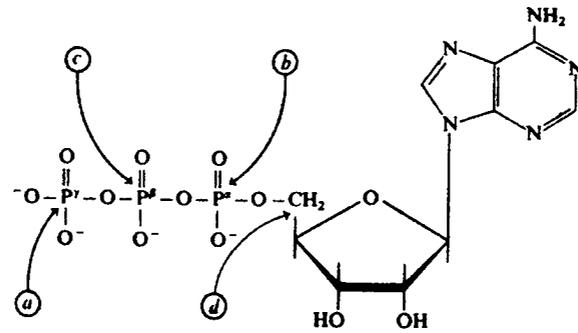
En todas estas reacciones, además del grupo polifosfato, que se escinde total o parcialmente, la naturaleza de la porción nucleotídica determina el tipo de reacción enzimática en la que estos nucleótidos actúan como coenzimas. En algunas reacciones, el tamaño de la fracción adenosilo es crítico para que la coenzima pueda ser asida por la apoenzima. Es el caso de la *acetato tioquinasa* que media una reacción del tipo *b* con el ATP, paso previo para la síntesis de acetil CoA en las células eucarióticas:



Una sola enzima, la *acetato tioquinasa*, cataliza ambas etapas. En el desplazamiento inicial se forma acil-adenilato, que permanece estrechamente unido a la enzima. Si el sustrato no tuviese el gran grupo adenosina, la proteína no podría retener al grupo acilo.

Igual que el AMP, otras porciones nucleotídicas (UMP, CMP, GMP, dTMP) desempeñan un papel, mediante uniones específicas, en diversas reacciones enzimáticas. Los fragmentos nucleotídicos forman parte de otras coenzimas (CoA, NAD(P)^+ , FAD) y actúan de transportadores de moléculas orgánicas pequeñas, pudiéndose convertir en intermediarios metabólicos activados, como el uridín difosfato-glucosa (UDP-glucosa) en la síntesis de polisacáridos, el citidín difosfato-colina (CDP-colina) en la síntesis de fosfolípidos, el dTDP en la síntesis de desoxiazúcares, el CMP en la síntesis de ácidos siálicos, etc.

Algunos productos de estas reacciones de transferencia pueden ser considerados a su vez como coenzimas de transporte. Por ejemplo, la S-adenosil metionina (SAM), que se origina por una reacción del tipo *d* (fig. 8.39), en la que actúa como aceptor la L-metionina (fig. 8.40). El derivado sulfonilado posee un alto potencial de transferencia del grupo metilo. El producto de la transmetilación es la S-adenosilhomocisteína (SAH) que se convierte en adenosina y homocisteína. Esta, a su vez, regenera la L-metionina en una reacción dependiente de N^5 -metil- FH_4 y vitamina B_{12} , como se vio anteriormente. Otras reacciones de transmetilación se producen en el catabolismo de las proteínas, dando lugar a aminoácidos metilados que aparecen en la orina humana, como la 1-metil histidina, la 3-metil histidina y tres N-metil derivados de la arginina (fig. 8.41).

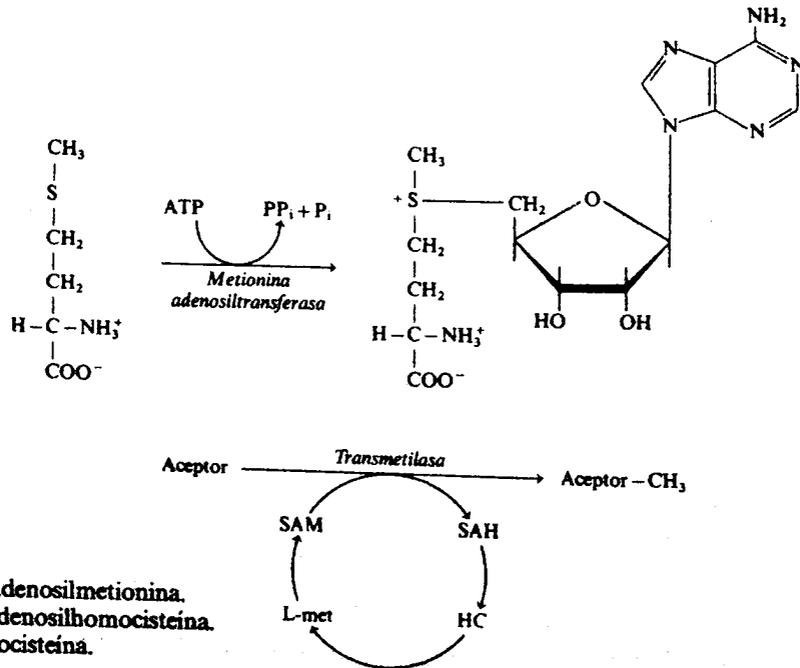


- a) $A + ATP \longrightarrow A - P + ADP$
 b) $A + ATP \longrightarrow A - AMP + PP_i$
 c) $A + ATP \longrightarrow A - PP_i + AMP$
 d) $A + ATP \longrightarrow PPP_i + A - Adenosina$

Figura 8.39. Formas de rotura nucleofílica del ATP en reacciones enzimáticas de transferencia: A: agente nucleofílico.

Acido lipoico

Esta coenzima no vitamínica posee la doble capacidad de actuar en reacciones de transferencia de grupos y en reacciones redox, por lo que se estudia aquí como puente entre ambos tipos de reacciones.



SAM: S-adenosilmetionina.
 SAH: S-adenosilhomocisteina.
 HC: homocisteína.

Figura 8.40. Síntesis de S-adenosilmetionina y reacción de transmetilación.

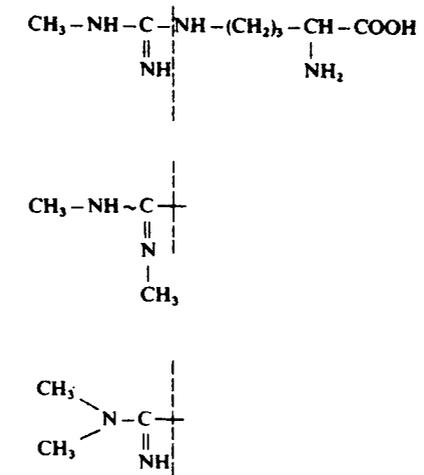


Figura 8.41. Metil-derivados de la arginina.

Químicamente, el ácido α -lipoico es el disulfuro del ácido 6,8-ditiooctanoico, a veces llamado ácido tióctico. Lo aislaron por primera vez en 1953 Reed y Gunsalus en forma cristalina. Puede existir en dos formas, oxidada y reducida, fácilmente interconvertibles por oxidación-reducción (fig. 8.42). El ácido lipoico funciona, unido covalentemente a un ϵ -amino de un residuo de lisina, como lipoil lisina o lipoamida que media la transferencia de grupos acilos activados y de electrones en los complejos multienzimáticos 2-oxoácido deshidrogenasas. En el proceso de descarboxilación oxidativa, el ácido lipoico se reduce primero a dihidrolipoico, y esta forma reducida actúa como aceptor de grupos acilos activados. La posibilidad de actuar en los dos tipos de transferencia permite a esta coenzima acoplar los dos procesos.

COENZIMAS NO VITAMINICAS DE TRANSPORTE ELECTRONICO

Entre estas coenzimas se incluyen también el ácido lipoico, que se acaba de describir, y las ubiquinonas, que se estudiarán, dada su relación estructural con la vitamina K, en el capítulo 28. Además, se pueden considerar las siguientes:

Tetrahidrobiopterina

Por su interés en las reacciones de hidroxilación hay que mencionar la *biopterina*, aislada por primera vez de la orina humana en 1972 y presente en el hígado y otros tejidos. En su forma reducida, 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina, posee una es-

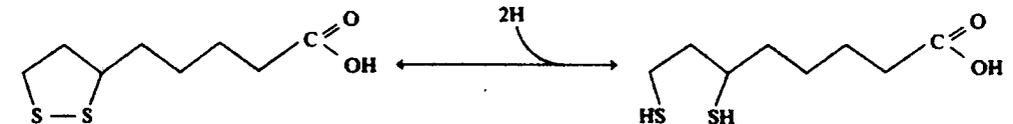


Figura 8.42. Estructura del ácido lipoico.

estructura semejante a la *flavina reducida* y actúa como coenzima de hidroxilación. Con los folatos comparte una porción 2-amino-4-hidroxipteridina y también se le han asignado funciones en reacciones de oxidorreducción, regulación del transporte de electrones y fotosíntesis. Su estructura se muestra en la figura 8.43.

La tetrahydrobiopterina es el reductor en ciertas reacciones enzimáticas de hidroxilación, como la conversión de la fenilalanina en tirosina por la *fenilalanina-4-monooxigenasa*, una oxidasa de función mixta (fig. 8.43). La tetrahydrobiopterina se oxida a dihydrobiopterina y se regenera por medio de una reductasa dependiente de NADPH.

Otras reacciones en las que interviene esta coenzima son las de la *tirosina-3-monooxigenasa* (tirosina → DOPA), *antranilato-3-monooxigenasa* (antranilato → 3-hidroxiantranilato) y *triptófano-5-monooxigenasa* (triptófano → 5-hidroxitriptófano).

Nuevas coenzimas bacterianas

En las arqueobacterias, sobre todo en el grupo de los metanógenos, se han descubierto nuevas coenzimas de transporte de grupos, de transporte electrónico y coenzimas que actúan en los dos tipos de reacciones. Entre ellas se encuentran la *coenzima F₄₂₀*, ya descrita como coenzima flavínica, la *coenzima M* (ácido 2-mercaptoetanosulfónico) que transporta grupos metilo (descubierta por Taylor y Wolfe en 1974); el *factor F₄₃₀* (un complejo níquel-tetrapirrol identificado por Thauer y col., que interviene en el último paso de la *formación del metano*), la *tetrahidrometanopterin* (descubierta por Vogel y col.) y el *metanofurano*. Estos dos últimos están implicados en la reducción del CO₂ a CH₄, siendo el metanofurano el aceptor primario del mismo. Recientemente se ha identificado un nuevo cofactor, el *N-7-mercaptoheptanoil-O-fosfotreonina*, que participa en la reacción de la *metil reductasa*, donde tiene lugar la conservación de la energía en la metanogénesis.

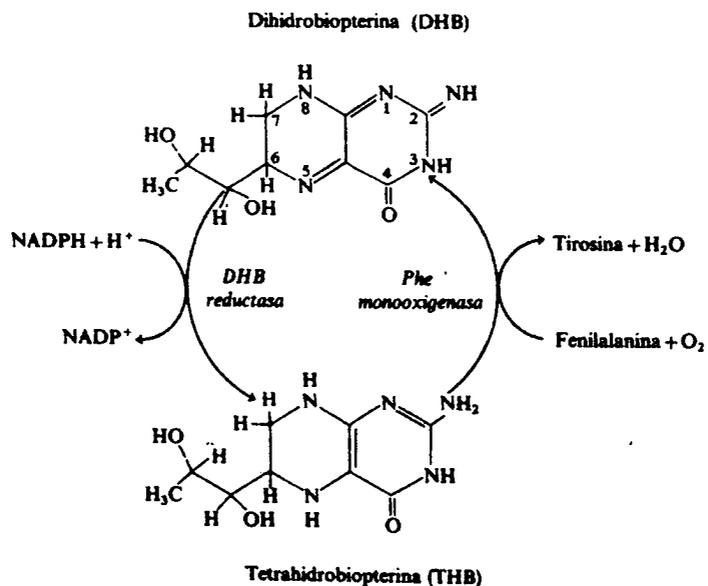


Figura 8.43. Conversión de la dihydrobiopterina (DHB) en tetrahydrobiopterina (THB) y su participación en reacciones metabólicas.

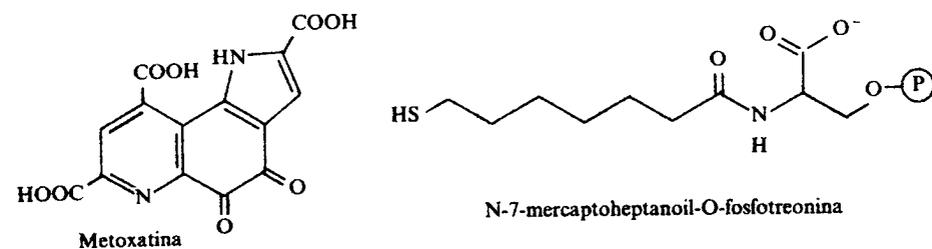
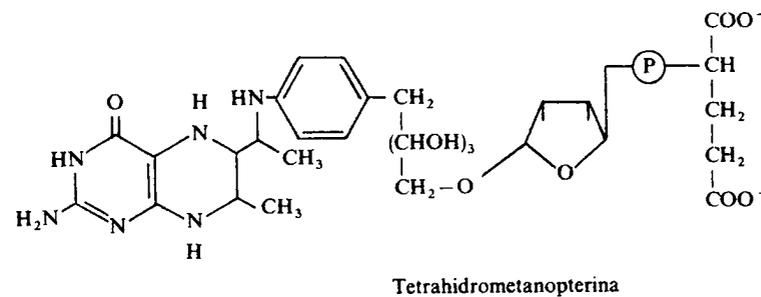
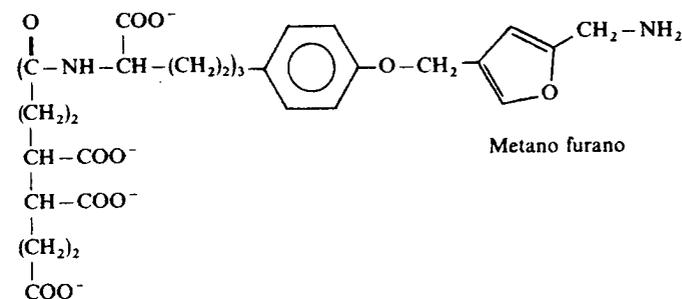
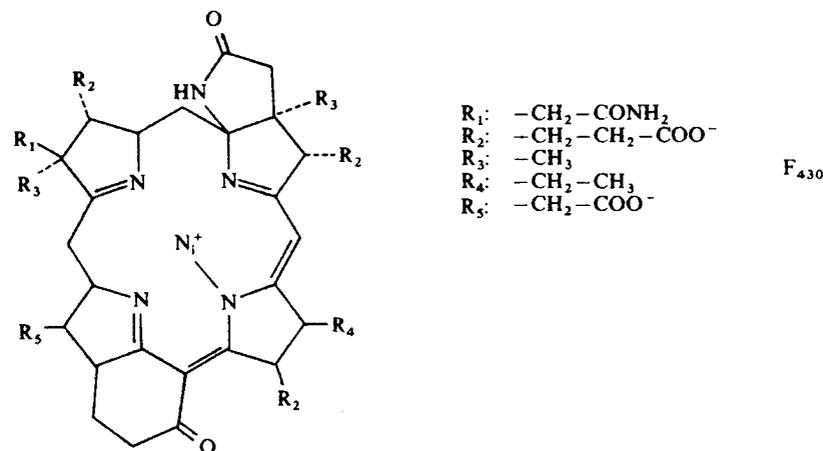
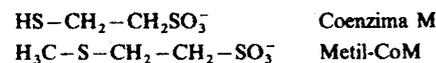


Figura 8.44. Coenzimas bacterianas encontradas en los metanógenos (coenzima M, F₄₃₀, metanofurano, tetrahidrometanopterin y N-7-mercaptoheptanoil-O-fosfotreonina).

Las bacterias aeróbicas del grupo de los metilótrofos (*Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylobacter*, etc.) poseen una enzima, la *metanol deshidrogenasa*, que oxida el metanol a formaldehído y que posee una coenzima de naturaleza quinónica, la *pirroloquinolín quinona* o *metoxatina* (PQQ), que fue descubierta en 1979 y que transfiere los electrones al citocromo *c* de la cadena respiratoria. La *alcohol deshidrogenasa* de las bacterias acéticas transfiere también los electrones procedentes de la oxidación del alcohol etílico a la PQQ.

En la figura 8.44 se muestran las estructuras de estas coenzimas.

OTRAS SUSTANCIAS CON POTENCIAL VITAMINICO

En los alimentos se han encontrado diversos factores esenciales para el crecimiento de algunos animales y ciertos tipos de microorganismos, y que no parecen necesarios para el hombre. La mayoría de ellos pueden ser sintetizados por los animales superiores excepto en casos de raras anomalías genéticas.

Compuestos de esta clase son el ácido araquidónico, la asparagina, el inositol, la lecitina, varios nucleótidos y ácidos nucleicos, el ácido p-aminobenzoico, ciertos péptidos y proteínas, ubiquinonas, bipterina, colesterol, ácido pimélico, pteridinas, ácido lipoico, colina, carnitina y glicina. Muchas de estas sustancias se han descrito en este y otros capítulos del libro. Por su potencial como vitaminas y su importancia en ciertas reacciones metabólicas, consideramos algunas de ellas a continuación.

Inositol

El inositol es el hexahidrociclohexano. De los nueve posibles estereoisómeros, el *mioinositol* o *mesoinositol* (fig. 8.45) es la forma biológicamente activa. Se encuentra en músculo, cerebro, eritrocitos y tejidos del ojo. Abunda en los frutos,

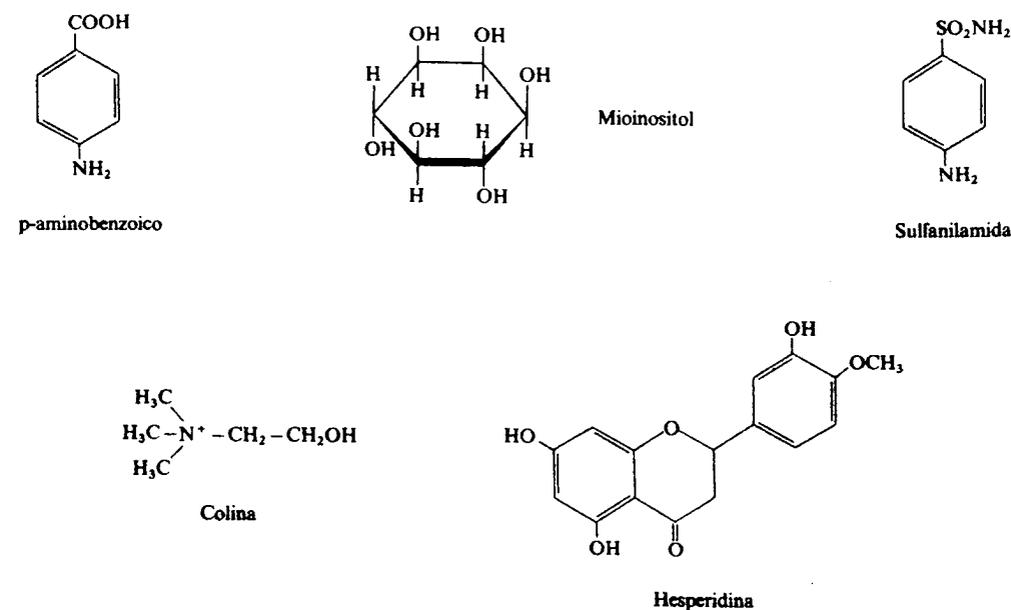


Figura 8.45. Estructura de algunas sustancias con potencial vitamínico.

vegetales, granos enteros y nueces, así como en la levadura y en la leche. En la naturaleza, se encuentra como inositol libre, fitina (sal mixta de calcio y magnesio del ácido fítico o hexafosfato de inositol, presente en los vegetales y eritrocitos nucleados de varias especies animales, en los que aumenta la liberación de oxígeno por la hemoglobina), como fosfatidil inositol y como un complejo hidrosoluble no dializable.

La deficiencia de inositol en animales produce retraso en el crecimiento y una calvicie peculiar en ratones. En la rata tiene un efecto curativo sobre los hígados grasos producidos por administración de biotina. No se ha descrito para el inositol ninguna función vitamínica en humanos.

Acido p-aminobenzoico (PABA)

El PABA (fig. 8.45) es un compuesto cristalino blanco, poco soluble en agua fría, pero muy soluble en agua caliente y alcohol, muy abundante en la naturaleza y especialmente en hígado, levadura, trigo integral y salvado de arroz. Es un factor necesario para el crecimiento de ratas, pollos y bacterias, aunque no parece requerirse en humanos. Su deficiencia produce decoloración del pelo en la rata. El PABA bloquea competitivamente, por su analogía estructural, el efecto bacteriostático de la sulfamida, por lo que la acción de ésta y otras drogas sulfa puede interpretarse como una interferencia con la incorporación de PABA necesaria para el crecimiento bacteriano, posiblemente a nivel de un sistema de fenolasa. El PABA forma parte también del ácido fólico, lo que puede constituir otro punto de interferencia de las drogas sulfa.

Dado el antagonismo entre el PABA y las sulfonamidas, debe evitarse la ingestión continua de grandes cantidades del mismo para no desvirtuar la terapia con estos medicamentos.

Colina

Forma parte de las lecitinas, es un componente esencial de las membranas celulares y de las lipoproteínas, constituye un precursor de la acetilcolina y una fuente de grupos metilos en reacciones de metilación. Químicamente es el ion trimetilhidroxietilamonio (fig. 8.45).

En ratas, es un componente esencial de una dieta pobre en aminoácidos, particularmente metionina (normalmente precursor de la colina). La deficiencia en colina produce anorexia y detención del crecimiento en animales recién nacidos, impide la puesta en las gallinas e interfiere con la producción de leche en la rata. También determina la aparición de hígados grasos y hemorragias en riñones y ojos de ratas jóvenes, así como anemia e hipoproteïnemia.

No se conocen efectos de este compuesto en la nutrición humana. Quizá la cirrosis hepática se deba en gran parte a la deficiencia en agentes lipotrópicos, como colina y metionina. En los niños pequeños con una dieta pobre en proteínas y enriquecida con productos muy refinados, se ha detectado una deficiencia en colina y otras sustancias lipotrópicas. También se ha observado una disminución de la resistencia a las infecciones, probablemente debida a una síntesis deficiente de inmunoglobulinas.

La colina es muy abundante y ordinariamente no se suelen producir deficiencias. Fuentes excelentes de este factor son la carne, la yema de huevo, el pan, los

cereales, los guisantes y los cacahuets. La ingestión diaria normal en los alimentos es de 400-500 mg, más que suficiente para el mantenimiento del metabolismo.

Otras sustancias nutritivas

Algunas sustancias presentes en los alimentos no se consideran nutrientes esenciales en el hombre y los animales, pero tienen ciertos efectos farmacológicos en el primero. Entre ellos cabe destacar la *amigdalina* (laetrile o vitamina B₁₇), que algunos autores consideran que puede ser eficaz en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer; los *bioflavonoides* (rutina y hesperidina (fig. 8.45), factores vitamínicos P), con actividad asociada al mantenimiento de la permeabilidad y fragilidad capilar dentro de los límites normales; la *cafeína*, el *ácido orótico* y el *ácido pangámico* (denominado erróneamente vitamina B₁₅ y que es una mezcla poco definida de sorbitol y dimetilglicina). Los flavonoides producidos en las raíces de las leguminosas actúan como inductores de genes bacterianos implicados en la simbiosis *Rhizobium-leguminosas* (genes *nod*).

TEXTOS DE CONSULTA

- Alhadef, L.; Gualtieri, C. T., y Lipton, M.: «Toxic effect of water-soluble vitamins», *Nutrition Rev.*, 42:33-39, 1984.
- Barker, B. M., y Bender, D. A.: *Vitamins in Medicine*, 4.ª ed., 2 vols., William Heinemann Medical Books, Londres, 1980.
- Bentley, R.: «The configuration of biotin and related compounds», *TIBS*, 10:51-56, 1985.
- Briggs, M. H.: *Recent vitamin research*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 1984.
- Cantoni, G. L.: «Biological methylation: selected aspects», *Ann. Rev. Biochem.*, 44:435-451, 1975.
- Cooper, B. A., y Rosenblatt, D. S.: «Inherited defects of Vitamin B₁₂ metabolism», *Ann. Rev. Nutr.*, 7:291-320, 1987.
- Di Palma, J. R., y Ritchie, D. M.: «Vitamin toxicity», *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17:133-148, 1977.
- Gottschalk, G.: «Bacterial fermentation», en *Bacterial Metabolism*, Springer Series in Microbiology, Springer-Verlag, Nueva York, págs. 252-260, 1986.
- Grande Covián, F.: *Alimentación y nutrición*, Salvat, Madrid, 1983.
- Halpern, J.: «Mechanisms of Coenzyme B₁₂-dependent rearrangements», *Science*, 227:869-875, 1985.
- Herbert, V., y Das, K. C.: «The role of Vitamin B₁₂ and acid folic in hemato-and other cell-poiesis», *Vitam. Horm.*, 35:1-30, 1977.
- Higgins, I. J.; Best, D. J.; Hammond, R. C., y Scott, D.: «Metane-oxidizing microorganisms», *Microbiol. Rev.*, 45:556-590, 1981.
- Isler, O.; Brubacher, G.; Ghisla, S., y Kräutler, B.: *Vitamine II. Waterlösliche Vitamine*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Nueva York, 1988.
- Korpela, T. Ph., y Christen (eds.): *Biochemistry of Vitamin B₆*, Birkhäuser Verlag, Basel-Boston, 1987.
- Krumdieck, C. L.; Tamura, T., y Eto, T.: «Synthesis and analysis of the pteroylpolyglutamate», *Vitam. Horm.*, 40:45-94, 1983.
- Langley-Danysz, P.: «A quoi servent les Vitamines», *La Recherche*, 197, 1988.
- Large, P. J.: «Methylotrophy and methanogenesis», en *Aspects of Microbiology*, vol. 8 (Cole, J. A.; Knowles, D., y Schlessinger, D., eds.), ASM Series, Van Nostrand Reinhold, UK, 1983.
- Leboulanger, J.: «Las vitaminas. Bioquímica. Mecanismos de acción. Interés terapéutico», Servicio Científico Roche. Madrid, 1981.

- Martell, A. E.: «Reaction pathways and mechanism of pyridoxal catalysis», *Adv. Enzymol.*, 53:163-199, 1982.
- Merril, A. H., y Kenderson, J. M.: «Diseases associated with defects in vitamin B₆ metabolism or utilization», *Ann. Rev. Nutr.*, 7:137-156, 1987.
- Meyers, F. H.; Jawetz, E., y Goldfiel, A.: *Review of Medical Pharmacology*, 6.ª ed., Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1978.
- Pauling, L.: *Vitamin C, the Common Cold and the Flu*, W. H. Freeman, San Francisco, 1976.
- Quayle, J. R.: «Aspects of the regulation of methylotrophic metabolism», *FEBS Lett, Supplement 117*, K16-K27, 1980.
- Rose, D. P.: «The interactions between Vitamin B₆ and hormones», *Vitam. Horm.*, 36:53-99, 1978.
- Rose, R. C.: «Water-soluble vitamin absorption in intestine», *Ann. Rev. Physiol.*, 42:157-171, 1980.
- Sato, P., y Udenfriend, S.: «Studies on ascorbic acid related to the genetic basis of scurvy», *Vitam. Horm.*, 36:33-52, 1978.
- Schnellenberger, A., y Hübner, G.: «Thiamine pyrophosphate carriers of C-C-splitting enzymes», *Biochem. Ed.*, 13:160-163, 1985.
- Seetharam, B., y Alpers, D. H.: «Cellular uptake of Cobalamin», *Nutrition Rev.*, 43:97-101, 1985.
- Sharman, I. M.: «Vitamins: essential dietary constituents discovered», *Endeavour, N Series*, 1:97-102, 1977.
- Stadtman, T. C.: «Selenium-dependent enzymes», *Ann. Rev. Biochem.*, 49:93-100, 1980.
- Vega, J. M.; Castillo, F., y Cárdenas, J.: *La bioconversión de la energía*, Pirámide, Madrid, 1983.
- Thauer, R. K., y Fuchs, G.: «Methanogene Bakterien», *Naturwissenschaften*, 66:89-1979.
- Wagner, C.: «Folate-binding proteins», *Nutrition Rev.*, 43:293-299, 1985.
- Wood, H. G.: «The reactive group of biotin in catalysis by biotin enzymes», *TIBS*, 1:4, 1976.
- Wood, H. G., y Barden, R. E.: «Biotin enzymes», *Ann. Rev. Biochem.*, 46:385-413, 1977.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)



Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Principios de la termodinámica aplicados a la bioquímica. Bioenergética

JOSÉ MARÍA MEDINA

A lo largo de los capítulos precedentes subyace el concepto, tácita o explícitamente expresado, de que la bioquímica es un intento de explicar el fenómeno de la vida con los paradigmas de la Física y de la Química. Sin embargo, este intento no es el resultado de un propósito puramente académico, sino consecuencia del deseo de aplicar a los fenómenos vitales las leyes inmutables de la materia inerte que, de cumplirse en los seres vivos, facilitarían enormemente su estudio, permitiéndonos utilizar para su conocimiento métodos casi exclusivamente teóricos. En este sentido, ciertas características de una reacción química siguen unas leyes estrictas, inmutables por el hecho de que tengan lugar dentro de los seres vivos o en el tubo de ensayo. Por consiguiente, podemos obtener una información extraordinaria acerca de una reacción metabólica, aun desconociendo muchas de las circunstancias que la rodean.

En efecto, la aplicación de la *leyes de la termodinámica* a los seres vivos resulta de extraordinaria utilidad si se considera que los procesos bioquímicos, como reacciones químicas que son, deben ajustarse en todo a las leyes que nos informan del comportamiento de los procesos termodinámicos. De hecho, los principios termodinámicos son esenciales para el conocimiento de la transformación de la energía entre sus diferentes formas o presentaciones. En este sentido, es evidente que los seres vivos no escapan a la necesidad de transformar la energía disponible en su entorno en trabajo útil, con el que alimentar su crecimiento y reproducción. Por otro lado, las leyes de la termodinámica no sólo nos informan sobre el comportamiento de la energía, sino que dictaminan la dirección y viabilidad de los procesos. Esto último es muy importante en los procesos metabólicos, puesto que la dirección y viabilidad de las reacciones bioquímicas determinan claramente su posible significado fisiológico.

Sorprende, sin embargo, que queramos aplicar la termodinámica clásica al estudio de los seres vivos. En efecto, la termodinámica clásica se llama también «termodinámica de equilibrio» porque sus principios se cumplen sólo cuando se alcanza el equilibrio. Sin embargo, los seres vivos deben mantener sus procesos *lejanos del equilibrio*, puesto que, como la termodinámica clásica predice, en el equilibrio no se genera trabajo útil (véase Características de la energía libre). Por consiguiente, la condición de equilibrio es incompatible con la vida, puesto que, como sabemos, la vida está basada en la utilización de la energía en beneficio de

un orden estructural preestablecido (es decir, en beneficio de la disminución de la *entropía*: véase Segunda ley de la termodinámica). Es más, la muerte se ha definido como la «situación en que los seres vivos alcanzan el equilibrio» y a la vida, según Bichat, como «el conjunto de funciones que se resisten a la muerte». Expresada esta definición de la vida en la terminología termodinámica, podríamos decir que la vida es el conjunto de factores que impiden que se alcance el equilibrio. Por consiguiente, la aplicación de la termodinámica clásica a los seres vivos conlleva la servidumbre de la extrapolación al equilibrio de procesos que positivamente sabemos están alejados de él. Sin embargo, como hemos indicado antes, la termodinámica clásica permite predecir, con relativa fiabilidad, ciertas características de una reacción, algunas tan importantes como la transferencia de energía ocurrida, la dirección o la viabilidad. En otras palabras, que la aplicación de los principios termodinámicos a los seres vivos no tiene más limitaciones que las propias de la termodinámica clásica. En este sentido, la principal limitación de la termodinámica clásica consiste en su incapacidad para predecir la velocidad de los procesos. Para predecir la velocidad de una reacción tenemos que estudiar sus características cinéticas, en las que interviene decisivamente la presencia de las enzimas (véase cap. 6).

Por otro lado, las limitaciones de la termodinámica clásica, especialmente en lo que se refiere a su aplicación a los seres vivos, se superan ampliamente gracias a la denominada *termodinámica de los procesos irreversibles* (también llamada «termodinámica de desequilibrio»). Sin embargo, la termodinámica clásica nos permite obtener una amplia información de los fenómenos vitales, las más de las veces, suficiente para comprender el funcionamiento y significado fisiológico de los procesos bioquímicos. Sólo en algunos casos será estrictamente necesario utilizar los principios de la termodinámica de desequilibrio. Por esta razón, este capítulo se dedicará exclusivamente al estudio de aquellos aspectos de la termodinámica clásica aplicables a los procesos bioquímicos y cuyo conocimiento nos resulta imprescindible para entender los principios generales de la bioenergética.

TERMODINAMICA DE LOS PROCESOS BIOQUIMICOS

Antes de entrar a enunciar las leyes de la termodinámica debemos recordar someramente el significado de alguno de los términos utilizados frecuentemente en el lenguaje termodinámico:

Sistema. Conjunto de materia objeto de estudio.

Alrededores. Toda la materia existente más allá de las fronteras del sistema.

Universo. Es el conjunto del sistema más sus alrededores.

Los sistemas se dividen de acuerdo con la transferencia de energía o de materia con los alrededores:

Sistema aislado. Se denomina sistema aislado a aquel sistema separado de tal forma de sus alrededores que no puede existir transferencia de materia ni de energía entre el sistema y sus alrededores.

Sistema cerrado. Se denomina sistema cerrado a aquel sistema separado de tal forma de sus alrededores que no puede existir transferencia de materia, pero sí de energía, entre el sistema y sus alrededores.

Sistema abierto. Se denomina sistema abierto a aquel cuya frontera con sus alrededores permite la transferencia de energía y de materia con sus alrededores.

La termodinámica clásica sólo es aplicable a los sistemas *aislados* o *cerrados*. Por otro lado, los sistemas más interesantes desde el punto de vista termodinámico

co son los sistemas cerrados. Por consiguiente, a menos que se indique otra cosa, los sistemas que vamos a estudiar son siempre *sistemas cerrados*.

Los seres vivos, sin embargo, son sistemas abiertos, puesto que existe transferencia de materia con los alrededores, y en ellos, al contrario de los sistemas cerrados, no se alcanza nunca el equilibrio. En este sentido, hemos mencionado anteriormente las limitaciones de la termodinámica clásica con lo que respecta a su aplicación a los seres vivos. Sin embargo, como aproximación, la termodinámica clásica resulta de indudable valor para el estudio de los procesos bioquímicos. En consecuencia, tenemos que «aproximar» los seres vivos al concepto de sistema cerrado, para así poder utilizar con ventaja los principios de la termodinámica clásica, cuya universalidad nos faculta para incluir a los fenómenos vitales dentro del universo fisicoquímico.

Primera ley de la termodinámica

Energía interna

La energía total de un sistema viene dada por la suma de los siguientes términos:

$$E_{\text{total}} = EC + EP + U$$

Donde EC es la energía cinética del sistema; EP, la energía potencial, y U, la energía interna. Los sistemas que vamos a estudiar están en «descanso» y, por lo general, no sometidos a campos magnéticos o eléctricos. Por consiguiente, $EC = EP = 0$, con lo que resulta:

$$E_{\text{total}} = U$$

La energía interna de un sistema resulta de la suma de las energías correspondientes a la translación, rotación y vibración de las moléculas, la energía de los electrones y la energía correspondiente a los núcleos. Hay que hacer notar que en los estudios termodinámicos se suele excluir la energía nuclear, ya que se estudian reacciones en que esta energía no juega un papel apreciable.

La determinación de la cantidad absoluta de energía interna de un sistema es prácticamente imposible. Sin embargo, lo que verdaderamente nos interesa es el cambio de energía interna (ΔU), más que el valor absoluto de esta energía. De hecho, en una reacción química no nos interesa tanto si los productos tienen mayor o menor energía interna que los sustratos, sino cuál es el cambio de energía ocurrido en el transcurso de la reacción. Pues bien, según la primera ley de la termodinámica:

$$\Delta U = Q + W$$

Donde ΔU es el cambio de energía interna; Q, el calor tomado del exterior, y W, el trabajo realizado por los alrededores en el sistema. El significado de la ley se entiende mejor si consideramos negativo el trabajo, es decir, consideramos el trabajo realizado por el sistema en los alrededores. De esta manera, el incremento de la energía interna del sistema será:

$$+\Delta U = Q - W \quad (9.1)$$

Esta ecuación es intuitivamente fácil de comprender, si la enunciamos diciendo que el aumento de la energía interna es igual al calor tomado de los alrededores menos el trabajo realizado fuera del sistema. Este concepto queda expresado con otras palabras en el enunciado de la *primera ley de la termodinámica*, que dice:

«En cualquier transformación física o química, la cantidad total de energía del universo permanece constante.»

Lo que expresado en otros términos quiere decir que el calor y el trabajo son formas de energía, y que cualesquiera que sean las transformaciones ocurridas, la cantidad total de energía del universo permanece constante. A esta ley se le ha llamado frecuentemente la *ley de la conservación de la energía*, puesto que la conclusión más interesante que podemos extraer de ella es que «la energía no se crea ni se destruye, sino que sólo se transforma». No debemos olvidar, sin embargo, que esta ley predice, además, cómo la energía se transforma de una forma en otra, o cómo se transfiere de un sistema a sus alrededores y viceversa.

La primera ley de la termodinámica tiene una aplicación inmediata para nuestros propósitos. Así, es muy frecuente que leamos «las calorías que tiene un alimento». Para conocer lo que más correctamente debíamos denominar como *calor de combustión* de un alimento, podemos utilizar el *calorímetro adiabático*, más conocido por el nombre de *bomba calorimétrica* (fig. 9.1).

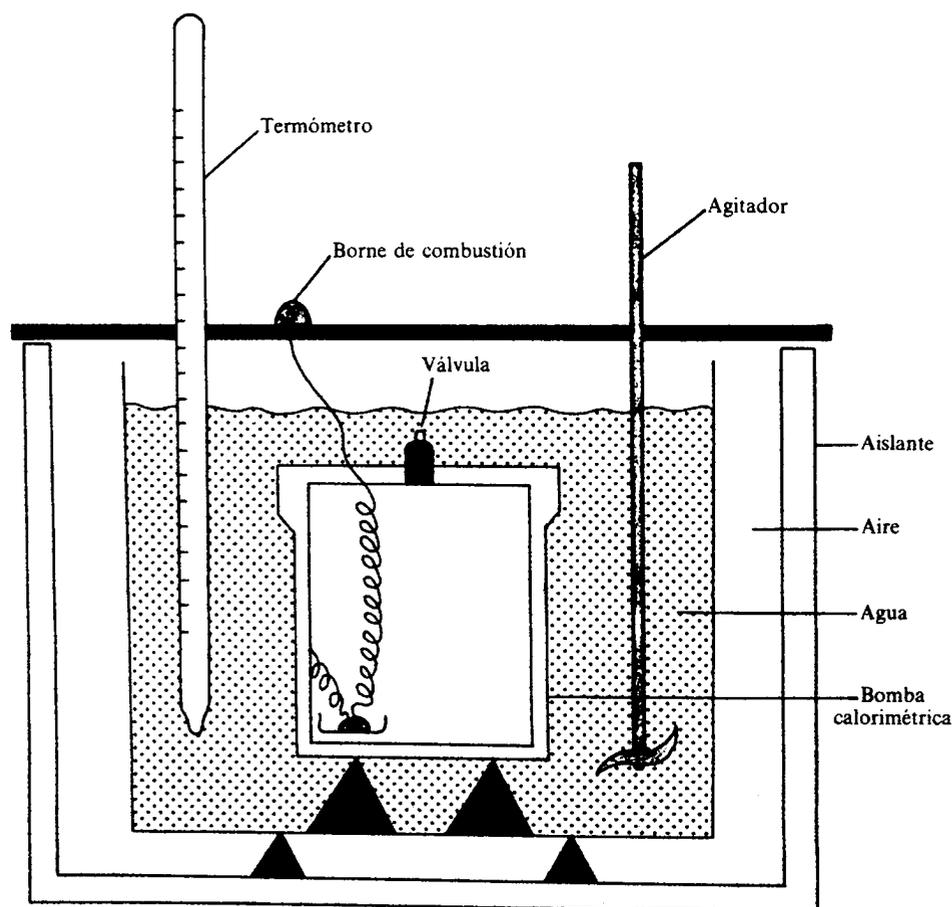


Figura 9.1. Calorímetro adiabático o bomba calorimétrica.

Se trata de un recipiente metálico de gruesas paredes y herméticamente cerrado. A través de su tapadera se han practicado dos orificios: uno por donde entra un conductor eléctrico y otro donde se ha ajustado una válvula de gases. Cercano al fondo, en un dispositivo especial, se coloca una cantidad exactamente pesada del producto a estudiar, altamente purificado. La bomba se llena de oxígeno puro a alta presión por la válvula antes mencionada y se sumerge en un baño de agua, cuyo cambio de temperatura nos permitirá conocer el calor cedido por la combustión. Todo ello se aísla del exterior para evitar posibles transferencias de calor con el exterior del calorímetro. Una vez estabilizada la temperatura de todo el sistema (bomba) y de los alrededores del sistema (baño de agua), se provoca la combustión de la sustancia mediante una descarga eléctrica. El calor liberado en la combustión lo calculamos a partir del cambio de temperatura ocurrido en el agua del baño, teniendo en cuenta el calor específico del calorímetro. Si queremos conocer ahora el cambio de energía interna ΔU , aplicamos la ecuación (9.1), que indicaba:

$$\Delta U = Q - W$$

Donde podemos sustituir el trabajo W por:

$$W = P\Delta V$$

Donde P es la presión a que se realiza el cambio de energía y ΔV el cambio de volumen sufrido por el sistema durante el proceso. Luego, podemos escribir:

$$\Delta U = Q - P\Delta V$$

Sin embargo, en el calorímetro adiabático no hay cambio apreciable de volumen, es decir, $\Delta V = 0$, por lo que, en estas circunstancias, podemos escribir:

$$\Delta U = Q_v$$

Lo que indica que el cambio de energía interna, resultado de la combustión, es igual al calor producido a *volumen constante* (de ahí el subíndice v).

Por consiguiente, gracias al calorímetro adiabático podemos conocer el cambio de energía interna ocurrido por la combustión de una sustancia, es decir, su *calor de combustión*. Por consiguiente, conocida la composición de un alimento, podemos deducir fácilmente su «valor calórico», utilizando los calores de combustión de sus componentes elementales (hidratos de carbono, lípidos y proteínas).

Entalpía

Sin embargo, los procesos que tienen lugar en el interior de las células no transcurren a volumen constante, aunque sí a presión constante. En este caso podemos escribir la ecuación (9.1) como sigue:

$$\Delta U = Q_p - P\Delta V$$

Donde Q_p es el cambio de calor ocurrido a *presión constante* que, reordenando, será igual a

$$Q_p = \Delta U + P\Delta V \quad (9.2)$$

Pues bien, el cambio calórico ocurrido en estas circunstancias, es decir, a presión constante, se denomina *entalpía H* (literalmente «calor en»). Podemos escribir la ecuación (9.1) de este modo:

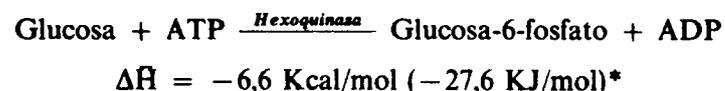
$$\Delta H = \Delta U + P\Delta V \quad (9.3)$$

Como hemos mencionado antes, las reacciones bioquímicas tienen lugar a presión constante, por lo que los cambios calóricos que observamos son cambios entálpicos. Sin embargo, desde el punto de vista bioquímico, el concepto de *entalpía* está muy cercano al concepto de *energía interna*. En efecto, en la mayoría de los casos que estudiaremos, el cambio de volumen (ΔV) será muy pequeño, por lo que el segundo término de la ecuación (9.3) será prácticamente despreciable, correspondiendo el cambio entálpico al cambio de la energía interna del sistema. Sin embargo, los cambios de volumen, aunque pequeños, existen, por lo que, correctamente hablando, nos referiremos a los cambios calóricos como cambios de entalpía.

El cambio de entalpía ocurrido en una reacción dada será característico de la reacción, denominándose *entalpía de reacción*. Si en el transcurso de la reacción se libera calor, el proceso se llama *exotérmico* y ΔH es *negativo*. Si en el transcurso de la reacción se absorbe calor del exterior, ΔH es *positivo* y el proceso se denomina *endotérmico*.

Entalpimetría

Hemos mencionado anteriormente que cada reacción tiene un cambio de entalpía característico, la *entalpía de reacción*, que, si lo referimos a un mol transformado, denominaremos *entalpía molar* (ΔH). Por ejemplo, la reacción de fosforilación de la glucosa, catalizada por la *hexoquinasa* tiene una entalpía molar de



Por consiguiente, si medimos el cambio de entalpía de esta reacción en unas condiciones determinadas, podemos conocer la cantidad de glucosa transformada en el transcurso de la reacción. Como vemos, la entalpía nos puede ser útil para la medida de la concentración de ciertos metabolitos.

Para la medida del cambio entálpico ocurrido en una reacción, aprovechamos que, en la práctica, el cambio de calor ocurrido en una reacción a presión constante es equivalente a la entalpía de la reacción, dado que los cambios de volumen en los líquidos son mínimos y podemos despreciarlos. Los cambios se determinan en un calorímetro adiabático especialmente diseñado que posee dos compartimientos. En uno se sitúan los sustratos, coenzimas y tampón adecuados, y en el otro, la enzima. Mediante un pequeño movimiento, enzima y reactantes entran en contacto, y el calor de reacción es detectado por un termómetro muy sensible. Los cambios calóricos que tienen lugar en estas circunstancias son muy pequeños, por lo que, a veces, resulta difícil detectarlos. Para solventar este

problema, la reacción en estudio se acopla a otras, que aumentan el cambio de entalpía total (la entalpía total será la suma de los cambios de entalpía de las reacciones acopladas, puesto que una de las propiedades de las entalpias molares es que son aditivas: ley de Hess). Por último, el aislamiento total del calorímetro (indispensable en el calorímetro adiabático, como su propio nombre indica) es imposible en la práctica. Para paliar los errores que originan las inevitables pérdidas o tomas de calor del exterior («calorímetro quasiadiabático») se compensan electrónicamente las pérdidas, gracias a las señales procedentes de un detector de flujo calórico. En este sentido, para la medida de las entalpias de reacciones lentas se utiliza otra clase de calorímetro, el denominado *calorímetro de flujo*. En este tipo de calorímetro, la cubeta de reacción está construida de tal manera que una de sus paredes permite medir el escape de calor al exterior, mediante una sonda termoelectrónica. De esta manera se mide el flujo de calor, el cual es proporcional al cambio de entalpía.

Los calorímetros han sido utilizados con éxito para la determinación en suero de glucosa, ácido úrico, colesterol, etc., mediante las correspondientes reacciones enzimáticas. Este hecho añade aún más interés bioquímico a esta técnica, utilizada habitualmente para el estudio de los mecanismos de reacción de los procesos enzimáticos.

Segunda ley de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica, antes mencionada, nos predice los posibles cambios en las características y flujo de la energía entre un sistema y sus alrededores. Sin embargo, no nos dice nada acerca de *la dirección del proceso*. En este sentido, el conocimiento de la dirección en que transcurre un proceso tiene un interés general, puesto que conocer la dirección de los cambios de energía es tanto como predecir, por ejemplo, si una máquina funcionará o no antes de construirla. Desde el punto de vista bioquímico, este hecho es aún más interesante, puesto que si ignoramos la posible dirección de los procesos metabólicos, difícilmente podremos conocer el significado de tales procesos.

Para determinar la dirección de los procesos, la termodinámica utiliza dos nuevos conceptos: la *entropía* (S) y la *energía libre o de Gibbs* (G). Antes de entrar a definir estas nuevas funciones termodinámicas, conozcamos lo que, desde el punto de vista termodinámico, se entiende por procesos reversibles e irreversibles.

Procesos reversibles e irreversibles

Desde el punto de vista termodinámico, un proceso es *reversible* si después de transcurrido dicho proceso podemos restablecer las condiciones originales sin causar cambios en otro sistema. Por el contrario, un proceso es termodinámicamente *irreversible* (frecuentemente llamado *espontáneo*) si para restablecer las condiciones originales debemos ocasionar cambios en otro sistema.

Las reacciones irreversibles son las que condicionan la dirección de los procesos metabólicos y, por consiguiente, son las más interesantes desde el punto de vista bioquímico. Sin embargo, para determinar la irreversibilidad de una reacción tenemos que entender primero los cambios termodinámicos que ocurren en este tipo de reacciones y que las distinguen de los procesos reversibles. En un principio, y dado que casi todos los procesos espontáneos o irreversibles son exotérmicos (ΔH negativo), podríamos pensar que la liberación de calor podría constituir

* Una caloria (cal) equivale a 4,184 Julios (J).

la fuerza impulsora de la irreversibilidad de los procesos. Recordemos los ejemplos clásicos de fenómenos irreversibles: la piedra que cae de cierta altura transformando su energía cinética en calor, la explosión de un gas, etc. Todos estos procesos son evidentemente irreversibles. En el mito de Sísifo la roca cae por la pendiente *irreversiblemente*. Para retornar el proceso a su estado original tenemos que modificar otro sistema: el propio Sísifo, que con la energía de sus músculos «sube» la roca de nuevo a su posición original. El ejemplo podíamos llevarlo aún más lejos: la relajación de los músculos de Sísifo es un proceso irreversible. Para contraer de nuevo los músculos tenemos que aportar la energía de «otro» sistema, es decir, la hidrólisis de un compuesto rico en energía, el ATP (véase Compuestos ricos en energía). Estos procesos, evidentemente irreversibles, liberan calor; son exotérmicos. Podríamos pensar, pues, que cualquier proceso con un ΔH negativo sería inevitablemente irreversible. Sin embargo, un trozo de hielo funde espontáneamente (irreversiblemente) aun tratándose de un proceso *endotérmico*; el sistema toma calor de sus alrededores. Como vemos, el cambio de entalpía no nos sirve para determinar la dirección del proceso, sólo nos da cuenta de la transformación de la energía en el transcurso del mismo. Por consiguiente, tenemos que considerar la existencia de otra función que nos ayude a definir las características de un proceso irreversible. Una de estas funciones es la *entropía*.

Entropía

De acuerdo con las características antes mencionadas para un proceso irreversible, la disolución del cloruro cálcico en agua es un proceso irreversible. De hecho, sólo podemos obtener de nuevo cloruro cálcico sólido si modificamos otro sistema. Pues bien, cuando disolvemos cloruro cálcico podemos comprobar que nuestro recipiente se calienta; evidentemente, se trata de un proceso *irreversible exotérmico*. Sin embargo, si lo que disolvemos en agua es, en cambio, cloruro de cesio, aunque el proceso es igualmente irreversible, nuestro recipiente se enfría. Por consiguiente, la disolución de cloruro de cesio en agua es un proceso *irreversible endotérmico*. Con respecto al cambio de entalpía, los dos procesos mencionados son diferentes y, sin embargo, ambos son irreversibles. Si averiguamos lo que estos procesos tienen en común, podremos entender qué es lo que determina la reversibilidad o irreversibilidad de un proceso.

En efecto, cuando disolvemos en agua una sustancia, sus moléculas (sus iones en el caso de los cloruros antes mencionados) pasan de un estado muy ordenado (la de un sólido cristalino o amorfo) al estado más desordenado que le permite el disolvente. En efecto, si añadimos a esta disolución más agua, las moléculas del soluto irán ocupando paulatinamente la nueva agua hasta distribuirse uniformemente en todo el disolvente. Diluir es, por consiguiente, un proceso irreversible, porque al diluir se «aumenta el desorden» de las moléculas disueltas. Para definir esta tendencia interna de la materia a conseguir el «estado más desordenado posible» se ha desarrollado el término *entropía (S)* (literalmente: «movimiento interno»). Se trata, pues, de una función termodinámica que determina la magnitud del desorden alcanzado por la materia. En este sentido, los procesos irreversibles antes mencionados se caracterizan porque el cambio de entropía ocurrido en el transcurso del proceso es mayor que cero. La *segunda ley de la termodinámica* puede escribirse, en este sentido, como sigue:

«Cualquier proceso irreversible que se lleve a cabo en un sistema aislado conduce al aumento de la entropía del sistema.»

Ampliando un poco más el significado de esta segunda ley, habría que afirmar que en un proceso reversible la entropía del universo permanece constante. Sin embargo, la entropía del universo nunca decrece: si la entropía del sistema decrece, aumenta la de los alrededores, de tal manera que el cambio de entropía total del universo (sistema + alrededores) aumenta o permanece constante, es decir:

$$\Delta S_{\text{univ}} = \Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{alr}} \geq 0 \quad (9.4)$$

En donde ΔS_{univ} es el cambio de entropía del universo, ΔS_{sist} es el correspondiente al sistema y ΔS_{alr} el correspondiente a los alrededores del sistema.

Si volvemos a nuestro ejemplo anterior, es decir, el de la disolución de una sustancia en agua, podemos observar que una vez disuelta, es decir, distribuida uniformemente en el disolvente, está en una situación «mucho más probable» que la anterior, en la que todas las moléculas estaban perfectamente ordenadas formando un cristal. Por consiguiente, la tendencia natural de la materia es la de adoptar la forma «más probable». En efecto, la probabilidad y la entropía están relacionadas entre sí por la ecuación de Boltzmann:

$$S = k \ln \mathcal{P}$$

Donde \mathcal{P} es la probabilidad y k la constante de Boltzmann (esta constante tiene un valor calculado de $5,776 \times 10^{-23} \text{ J/K}^\circ$). Como la probabilidad no tiene unidades, la entropía viene dada en unidades de energía. El cambio de entropía, ΔS , nos vendrá dado según esta ecuación por

$$\Delta S = k \ln \frac{\mathcal{P}_{\text{final}}}{\mathcal{P}_{\text{inicial}}} \quad (9.5)$$

Esta ecuación nos indica que, dado que la materia tiene tendencia a adoptar la forma «más probable», la entropía siempre tenderá a aumentar. Sólo cuando las probabilidades iniciales y finales sean iguales, entonces $\Delta S = 0$. Por otro lado, las unidades en que nos viene dada la entropía son las mismas que las de la energía, lo que nos permite denominar a la entropía como la *energía degradada*.

La definición de entropía en términos estadísticos (ecuación 9.5) es muy intuitiva y nos permite entender el significado de la segunda ley de la termodinámica. Sin embargo, no nos permite calcular el valor de ΔS , dado que es imposible conocer los valores reales de $\mathcal{P}_{\text{final}}$ y $\mathcal{P}_{\text{inicial}}$. Por ello es necesaria la denominada *definición termodinámica* de la entropía que se establece como:

$$\Delta S = \frac{Q_{\text{rev}}}{T}$$

Donde Q_{rev} es el calor absorbido por el sistema en un proceso *reversible* y T es la temperatura absoluta a la que tiene lugar el proceso. Esta definición sólo puede aplicarse para procesos reversibles, de ahí que el cambio calórico posea el subíndice «rev». Sin embargo, ΔS no lleva subíndice, porque ΔS tendrá el mismo valor numérico aunque el proceso transcurra por una vía irreversible. En este sentido, basta que imaginemos un proceso reversible hipotético, cuyo resultado final sea el mismo que el del proceso irreversible en donde queremos determinar el cambio de

* K° es el símbolo para grados Kelvin.

entropía; con el cambio de calor ocurrido en el proceso reversible calculamos el cambio de entropía del proceso irreversible en el que estamos interesados. De nuevo, la entropía vendrá expresada en cal/K, es decir, unidades de energía. Más tarde veremos que existen métodos indirectos para determinar el ΔS de una reacción sin las complicaciones que presenta el sistema que acabamos de proponer (véase Determinación de los cambios de energía libre estándar).

Energía libre o energía de Gibbs

Según establece la segunda ley de la termodinámica (ecuación 9.4) el cambio de entropía del universo en un proceso reversible es igual a cero, y mayor que cero si se trata de un proceso irreversible. Poseemos, pues, un medio aparentemente sencillo de determinar la reversibilidad o irreversibilidad de un proceso. Sin embargo, según la ecuación (9.4) antes mencionada:

$$\Delta S_{\text{univ}} = \Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{alr}} \geq 0 \quad (9.4)$$

Por consiguiente, tenemos que conocer el cambio de entropía no sólo del sistema (que es el que nos interesa), sino también el de sus alrededores. Este hecho complica extraordinariamente el cálculo de ΔS_{univ} , dado que resulta casi imposible el determinar el ΔS_{alr} de cada proceso. Para solucionar este problema, Gibbs propone una nueva función: la *energía libre* o *energía de Gibbs* (G) que, al utilizar sólo variables del sistema, nos permite conocer la reversibilidad o irreversibilidad de un proceso.

Veamos cómo se deduce la función de Gibbs. Sabemos que:

$$\Delta S_{\text{univ}} = \Delta S_{\text{sist}} + \Delta S_{\text{alr}} \quad (9.5)$$

Por otro lado, el cambio de entropía de un proceso reversible hipotético, cuyo resultado final sea igual al estudio, sería:

$$\Delta S_{\text{alr}} = \left(\frac{Q_{\text{rev}}}{T} \right)_{\text{alr}}$$

Pero recordemos que a temperatura y presión constantes (véase la definición de entalpía):

$$\Delta H_{\text{sist}} = -(Q_{\text{rev}})_{\text{alr}}$$

Luego:

$$\Delta S_{\text{alr}} = -\frac{\Delta H_{\text{sist}}}{T}$$

Y sustituyendo en la ecuación (9.4):

$$\Delta S_{\text{univ}} = \Delta S_{\text{sist}} - \frac{\Delta H_{\text{sist}}}{T} \geq 0$$

Multiplicando ambos términos por $(-T)$:

$$-T\Delta S_{\text{univ}} = \Delta H_{\text{sist}} - T\Delta S_{\text{sist}} \leq 0$$

Esta formulación tiene la enorme ventaja de que el cambio de entropía del universo se define sólo con las propiedades del sistema. El producto de T por el cambio de entropía del universo se denomina *cambio de energía libre* o *energía de Gibbs* (G), es decir:

$$\Delta G = -T\Delta S_{\text{univ}} \leq 0$$

Y según la definición anterior:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \leq 0 \quad (9.6)$$

Obsérvese que se han suprimido los subíndices referentes al universo o al sistema, puesto que todas las funciones se refieren siempre al sistema.

La energía libre nos viene dada, naturalmente, en unidades de energía, y tiene unas propiedades muy interesantes. En efecto, si

$$\Delta G = 0$$

El proceso es reversible y está en el equilibrio. Si, por el contrario

$$\Delta G < 0$$

El proceso es irreversible, es decir, inviable en la dirección contraria a la propuesta. Pero el concepto de energía libre no sólo sirve para determinar la dirección de un proceso, sino que, además, indica el cambio de energía libre, es decir, la *energía útil*. Notemos que ΔG es igual al cambio de entalpía (cambio de energía interna a presión constante) menos el cambio de energía degradada, es decir, de la entropía. Se trata, pues, de la energía que nos interesa, es decir, la que puede utilizarse en forma de trabajo. Para llegar al concepto de energía libre, hemos tenido que conocer otras funciones. Sin embargo, sólo ahora, con el cambio de energía libre, poseemos un método sencillo para conocer la dirección y posible utilidad energética de las reacciones bioquímicas.

Es necesario resaltar que ΔG es un *concepto dinámico*. En efecto, aunque en un proceso irreversible $\Delta G < 0$, cuando se alcanza el equilibrio $\Delta G = 0$. Por consiguiente, un proceso irreversible, mientras está *alejado del equilibrio*, libera energía útil; sin embargo, alcanzado el equilibrio ya no existe ningún cambio de energía útil. Por esta razón, los seres vivos mantendrán sus procesos permanentemente alejados del equilibrio, en lo que se ha denominado *estado estacionario*.

Características de la energía libre

Hemos visto cómo el cambio de energía libre de una reacción nos permite conocer su reversibilidad o irreversibilidad, a la vez que nos muestra la energía liberada utilizable en todo proceso o reacción. Vemos ahora otras de las características de la energía libre que aumentan la utilidad bioquímica de la función propuesta por Gibbs.

Energía libre estándar de formación

Los valores absolutos de las entalpías de las sustancias son imposibles de conocer, puesto que nuestros conocimientos sobre la estructura de la materia son

insuficientes. Sin embargo, como lo que nos interesa conocer es el cambio de energía libre (ΔG), no tanto como la energía libre (G) en sí misma; lo que necesitamos determinar es el cambio de entalpía (ΔH) y no la entalpía absoluta. Ahora bien, en todo cambio o diferencia tenemos que referirnos a un patrón o estándar al que damos un valor arbitrario. En este caso asignamos una entalpía cero a todos los elementos de la Tabla Periódica en su forma atómica o molecular más estable (la forma más estable a 1 atmósfera y a 298 K: 25 °C). Para indicar que se trata de una entalpía en el *estado estándar*, al que asignamos un valor cero, se añade éste al símbolo correspondiente (H°). Si nos referimos a la *entalpía molar estándar*, entonces escribiremos \bar{H}° (o simplemente indicaremos las calorías por mol).

Por consiguiente, si queremos determinar el cambio de entalpía estándar de formación (ΔH_f°) de un compuesto AB haremos reaccionar los elementos de que se compone, A y B y mediremos el cambio calórico ocurrido a temperatura y presión constantes. En estas condiciones (recuérdese la definición de entalpía):

$$\Delta H_{fAB}^\circ = Q_{\text{reac}}$$

Si ahora recordamos que, según la ley de Hess, las entalpías son aditivas, podemos escribir:

$$\Delta \bar{H}_{fAB}^\circ = \bar{H}^\circ AB - \bar{H}^\circ A - \bar{H}^\circ B \quad (9.7)$$

Como A y B son elementos: $\bar{H}^\circ A = \bar{H}^\circ B = 0$, sustituyendo en la ecuación (9.7):

$$\Delta \bar{H}_{fAB}^\circ = \bar{H}^\circ AB$$

Esto quiere decir que el cambio de entalpía que observamos en la formación de una sustancia (y que podemos medir en el entalpímetro a volumen y presión constantes) es igual a la entalpía estándar de la mencionada sustancia. Sin embargo, nótese que el cambio de entalpía que observamos es igual a la entalpía estándar del compuesto precisamente porque hemos convenido que las entalpías estándar de los elementos son iguales a cero. Por ello, debemos utilizar $\Delta \bar{H}_f^\circ$ en vez de \bar{H}° .

Si acordamos ahora utilizar las entropías de las sustancias en las condiciones estándar (S°)*, podremos calcular la energía libre de formación de una sustancia, gracias a la ecuación (9.6):

$$\Delta \bar{G}^\circ = \Delta \bar{H}^\circ - T\Delta \bar{S}^\circ$$

Por otro lado, si convenimos que la energía libre de formación estándar de un elemento es cero, en el estado más estable que presenta a 1 atmósfera y 298 K (25 °C), podemos escribir, al igual que en la ecuación (9.7):

$$\Delta \bar{G}_{fAB}^\circ = \bar{G}_{AB}^\circ - \bar{G}_A^\circ - \bar{G}_B^\circ$$

* Las entropías absolutas estándar de los elementos en su estado más estable no son iguales a cero. Por el contrario, la entropía de una sustancia sólo es igual a cero en las cercanías de los cero grados Kelvin (tercera ley de la termodinámica). Sin embargo, los ΔS° de los elementos sí son iguales a cero, puesto que no hay diferencias de entropía en el estado estándar.

Como por definición:

$$\begin{aligned} \bar{G}_A^\circ &= \bar{G}_B^\circ = 0 \\ \Delta \bar{G}_{fAB}^\circ &= \bar{G}_{AB}^\circ \end{aligned}$$

De esta manera se calculan las energías libres estándar de formación de los diversos compuestos. Por otro lado, para una reacción cualquiera:

$$\Delta G^\circ = \sum \Delta \bar{G}_f^\circ \text{ productos} - \sum \Delta \bar{G}_f^\circ \text{ sustratos} \quad (9.8)$$

Por consiguiente, las energías libres de formación estándar de las sustancias nos permiten calcular los cambios de energía libre de las reacciones, sin necesidad de llevarlas a cabo en el laboratorio. Este sistema permite, además, mediante un simple cálculo y sin hacer ningún experimento, prever la reversibilidad o irreversibilidad de una reacción concreta. Calculemos, por ejemplo, el cambio de energía libre estándar de la reacción de oxidación de la glucosa:



Según la ecuación (9.8), podemos escribir:

$$\Delta G^\circ = 6\Delta \bar{G}_f^\circ CO_2 + 6\Delta \bar{G}_f^\circ H_2O - \Delta \bar{G}_f^\circ C_6H_{12}O_6 - 6\Delta \bar{G}_f^\circ O_2$$

En donde $\Delta \bar{G}_f^\circ O_2 = 0$ al tratarse de un elemento en su forma más estable a 1 atmósfera y 298 K. Por consiguiente:

$$\Delta G^\circ = 6(-94,26 \text{ Kcal/mol}) + 6(-56,69 \text{ Kcal/mol}) - 1(-217,63 \text{ Kcal/mol})$$

$$\Delta G^\circ = -688 \text{ Kcal/mol} (-2,878 \text{ KJ/mol}), \text{ es decir:}$$

$$\Delta G^\circ = -3,82 \text{ Kcal/g}$$

El cambio de energía libre estándar de esta reacción es fuertemente negativo, lo que nos indica que la reacción es irreversible cuando los sustratos y productos están en las condiciones estándar. Por consiguiente, la única dirección de la reacción formulada es la de la transformación de glucosa en CO_2 y H_2O . Como vemos, un simple cálculo nos ha servido para predecir la dirección de un proceso bioquímico, así como la energía útil liberada.

Energía libre y equilibrio químico

Una de las características más útiles de la energía libre es la de su relación con el *equilibrio químico*. Este hecho permite el cálculo del cambio de energía libre de una reacción si conocemos su constante de equilibrio. De esta manera se facilita extraordinariamente la determinación de los cambios de energía libre ocurridos en una determinada reacción.

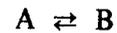
En este sentido, el cambio de energía libre de una sustancia en solución depende del cambio de energía libre estándar de formación de la sustancia y de su concentración en el disolvente, relacionadas entre sí por la ecuación

$$\Delta G = \Delta \bar{G}_f^\circ + RT \ln c^* \quad (9.9)$$

* Esta ecuación resulta de derivar la definición de energía libre (ecuación 9.6), teniendo en cuenta que para un gas ideal $PV = nRT$, en donde n es el número de moles de gas, R es la constante de los gases ($R = 1,99 \text{ cal/K}^\circ = 8,31 \text{ J/K}^\circ$ por mol) y T es la temperatura absoluta (298,15 K°).

Donde R es la constante de los gases; T, la temperatura absoluta, y c, la concentración molar de la sustancia*.

Supongamos una reacción en el equilibrio tal como



Podemos escribir (ecuación 9.9):

$$\Delta G_A = \Delta G_A^\circ + RT \ln [A] \quad (9.10)$$

$$\Delta G_B = \Delta G_B^\circ + RT \ln [B] \quad (9.11)$$

Donde [A] y [B] son las concentraciones de A y B, respectivamente. Como hemos mencionado, en el equilibrio el cambio de energía libre de la reacción es igual a cero, es decir, $\Delta G_A = \Delta G_B$. Por consiguiente, si las ecuaciones (9.10) y (9.11) son iguales entre sí, escribiremos:

$$\Delta G^\circ = \Delta G_B^\circ - \Delta G_A^\circ = -RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

Donde ΔG° es el cambio de energía libre estándar de la reacción. Por otro lado, como estamos en el equilibrio:

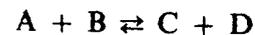
$$\frac{[B]}{[A]} = K_{eq}$$

Donde K_{eq} es la constante de equilibrio de la reacción. Sustituyendo

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq} \quad (9.12)$$

Esta relación entre el cambio de energía libre estándar de una reacción y la constante de equilibrio de la misma no nos debe conducir al error de pensar que ΔG° es el cambio de energía libre en el equilibrio (en el equilibrio y por definición $\Delta G = 0$). Por el contrario, se define el cambio de energía libre estándar de una reacción como el *cambio de energía libre en condiciones estándar*, es decir, cuando los sustratos y productos están a concentración 1 M. Esta situación (arbitraria como todas las estándar) difícilmente coincidirá con el equilibrio de la reacción. Por consiguiente, en la mayoría de los casos, $\Delta G^\circ \neq 0$.

En cualquier otra circunstancia, diferente del equilibrio, el cambio de energía libre de una reacción:



Viene dado por:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (9.13)$$

En condiciones estándar:

$$[A] = [B] = [C] = [D] = 1 \text{ M}$$

Y, por consiguiente,

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln 1$$

Donde se deduce que, en condiciones estándar:

$$\Delta G = \Delta G^\circ$$

Es decir, que el cambio de energía libre de una reacción cuando las concentraciones de sustrato y productos es 1 M es el cambio de *energía libre estándar*. En el equilibrio:

$$\Delta G = 0 \text{ y } \frac{[C][D]}{[A][B]} = K_{eq}$$

Sustituyendo en (9.13):

$$0 = \Delta G^\circ + RT \ln K_{eq}$$

Luego:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

Ecuación ya deducida anteriormente (ecuación 9.12).

El cambio de energía libre estándar ha tenido que modificarse para que pudiese aplicarse a los procesos bioquímicos. En efecto, las condiciones estándar exigen que todos los sustratos y productos estén a concentración 1 M. Por consiguiente, cuando los protones entran a formar parte de la reacción, su concentración deberá fijarse en 1 M, es decir, pH = 0. Dado que este pH es incompatible con el metabolismo celular, adoptamos una nueva energía libre estándar a pH = 7 ($\Delta G^{\circ'}$). Correctamente debemos definir la *energía libre estándar fisiológica* o *bioquímica* (nótese la prima para diferenciarla) como el cambio de energía libre de una reacción cuando todos sus sustratos y productos están a concentración 1 M, excepto la concentración de protones, que se establece como $[H^+] = 10^{-7}$.

Para ver las diferencias entre la energía libre estándar fisiológica y la tradicional, podemos aplicar la ecuación (9.13) a la reacción:



$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D] 10^{-7}}{[A][B]}$$

$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^\circ + RT \ln 10^{-7}$$

$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^\circ - 9,56 \text{ Kcal } (-40,0 \text{ KJ})$$

Por consiguiente, $\Delta G^{\circ'}$ será menor que ΔG° cuando los protones sean producto de la reacción. Si, por el contrario, los protones son *sustrato* de la reacción:

$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^\circ + 9,56 \text{ Kcal } (+40,0 \text{ KJ})$$

* Al tratarse de disoluciones muy diluidas se puede utilizar la concentración del soluto en vez de su «actividad».

Por último, cuando en la reacción no intervengan los protones:

$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^{\circ}$$

De la misma manera, podemos acordar la existencia de una *constante de equilibrio fisiológica* (K'_{eq}) como la constante de equilibrio de la reacción a $pH = 7$, lo que transforma la ecuación (9.12) en:

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K'_{eq}$$

La relación numérica existente entre $\Delta G^{\circ'}$ y K'_{eq} puede observarse en la tabla 9.1.

Tabla 9.1
RELACION ENTRE EL CAMBIO DE ENERGIA
LIBRE ESTANDAR DE UNA REACCION
Y SU CONSTANTE DE EQUILIBRIO

K'_{eq}	$\Delta G^{\circ'}$ Kcal/mol	ΔG° (KJ/mol)
0,001	+4,1	+17,1
0,01	+2,7	+11,4
0,1	+1,4	+ 5,7
1,0	0	0
10,0	-1,4	- 5,7
100,0	-2,7	-11,4
1000,0	-4,1	-17,1

Por otro lado, podemos escribir la ecuación (9.13) como sigue:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[\text{Productos}]}{[\text{Sustratos}]} \quad (9.14)$$

O lo que es lo mismo:

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \Gamma' \quad (9.14)$$

En donde Γ' es la razón de acción de masas «aparente», es decir, la razón de acción de masas existente a $pH = 7$, en la que no se considera la concentración de los protones, aunque éstos sean sustrato o producto de la reacción. Sin embargo, $\Delta G'$ puede sustituirse por ΔG , puesto que un sencillo cálculo nos demuestra que ambos parámetros son idénticos. En efecto, en el caso de que los protones sean producto de la reacción, podemos escribir la ecuación (9.14):

$$\Delta G' = -RT \ln K'_{eq} + RT \ln \Gamma'$$

Mientras que

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} + RT \ln \Gamma$$

Sustituyendo:

$$\Delta G = -RT \ln (K'_{eq} [H^+]) + RT \ln (\Gamma' [H^+])$$

Y desarrollando esta última ecuación:

$$\Delta G = -RT \ln K'_{eq} - RT \ln [H^+] + RT \ln \Gamma' + RT \ln [H^+]$$

Como el término $RT \ln [H^+]$ se repite con diferente signo, podemos escribir:

$$\Delta G = -RT \ln K'_{eq} + RT \ln \Gamma'$$

Donde se deduce que:

$$\Delta G = \Delta G'$$

El razonamiento sería el mismo en el caso de que los protones fueran sustrato de la reacción. En este caso, el término que se elimina es:

$$RT \ln 1/[H^+]$$

Como vemos, es muy útil usar $\Delta G^{\circ'}$ y Γ' , puesto que con estos parámetros no se requiere el conocimiento de la concentración de protones, sin que se altere lo más mínimo el significado y magnitud de los cambios de energía libre de las reacciones.

Por último, recordemos el significado del concepto de cambio de energía libre estándar. Como hemos mencionado, el cambio de energía libre estándar de una reacción es algo arbitrario, que hemos establecido como el cambio de energía libre que tendría lugar a una concentración 1 M de sustratos y productos. Sin embargo, al tratarse de algo único para cada reacción, nos permite conocer la dirección probable de la reacción cualesquiera que sean sus circunstancias. Al ser $\Delta G^{\circ'}$ una característica de la reacción, podemos calcularla aun en circunstancias muy diferentes a las fisiológicas. Así, una reacción química tendrá un $\Delta G^{\circ'}$ único y característico, tanto si se realiza dentro como fuera del entorno celular. Podemos, por consiguiente, determinarla *in vitro* en el laboratorio, y de su resultado predecir la dirección de la reacción en el metabolismo celular. De esta manera podemos obtener la información deseada en circunstancias muy simplificadas. No es necesario que conozcamos las concentraciones *in vivo* de los sustratos y productos, ni la enzima que cataliza la reacción, ni mucho menos el significado fisiológico de la reacción en estudio.

Procesos exergónicos y endergónicos. Acoplamiento energético

Dado que una reacción puede ser enunciada en la forma más conveniente, nos encontramos ante el hecho de que existen reacciones que tienen cambios de energía libre positivos. Este tipo de procesos son inviables en la dirección propuesta y reciben el nombre de procesos *endergónicos**. Por el contrario, aquellos procesos que poseen un cambio de energía libre negativo liberarán energía hasta

* Del griego *ergo*: trabajo. Recuérdese que la energía libre se denomina también «trabajo útil».

llegar al equilibrio, y se denominan procesos *exergónicos*. Nótese que los términos endergónico y exergónico se refieren a los cambios de energía libre y no a los de calor. Por consiguiente, podemos definir a un proceso endergónico como aquel que se caracteriza por poseer un cambio de energía libre *positivo*. Por el contrario, definimos un proceso como *exergónico* cuando su cambio de energía libre es negativo.

Es importante que hagamos notar que un proceso es exergónico o endergónico dependiendo del signo de ΔG y no de ΔG° . De hecho, el segundo término de la ecuación (9.14) puede invertir el signo de ΔG en un momento dado. Esto quiere decir que algunos procesos pueden ser exergónicos o endergónicos, dependiendo de las concentraciones reales de sus sustratos y productos. Este hecho no nos debe llevar, sin embargo, a considerar de poca utilidad los cambios de energía libre de las reacciones en condiciones estándar. Por el contrario, los cambios de energía libre estándar nos permiten predecir, con una alta probabilidad, la dirección y características de una reacción. Por consiguiente, usaremos ΔG° en todos los cálculos habituales, aunque sin olvidar que en ciertas reacciones, principalmente aquellas cuyo ΔG° está muy cercano a cero, el signo ΔG puede variar de acuerdo con las concentraciones reales de los sustratos y productos.

Hemos mencionado antes que, desde el punto de vista termodinámico, una reacción que posee un ΔG° positivo es inviable en la dirección propuesta. Este hecho nos podría hacer pensar que algunas reacciones metabólicas importantes, cuyo cambio de energía libre estándar es positivo, no podrían llevarse a cabo cualesquiera que fuesen sus circunstancias. Por el contrario, muchas de las reacciones metabólicas más importantes tienen ΔG° positivos y, sin embargo, se llevan a cabo gracias al fenómeno denominado *acoplamiento energético*. Este fenómeno consiste en el acoplamiento de una reacción de ΔG° fuertemente negativo a aquellas reacciones que por su ΔG° positivo serían inviables de llevarse a cabo aisladamente. Un ejemplo clásico de acoplamiento energético es la fosforilación de la glucosa, paso obligado de la glucólisis y glucogenosíntesis. En efecto, la siguiente reacción es endergónica, puesto que su $\Delta G^\circ = +3,2$ Kcal/mol (+13,4 KJ/mol).



Por consiguiente, la reacción es termodinámicamente inviable en la dirección propuesta. Sin embargo, si la acoplamos a la hidrólisis de ATP, como indica la siguiente reacción:



La hidrólisis del ATP confiere a la reacción total un $\Delta G^\circ = -4,1$ Kcal/mol (-17,2 KJ/mol), es decir, el acoplamiento hace que la reacción sea exergónica y pueda transcurrir en la dirección propuesta.

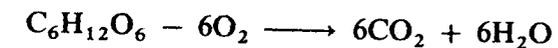
El acoplamiento energético también puede tener lugar entre dos reacciones contiguas en una ruta metabólica. En este caso, la suma de los ΔG° de las dos reacciones resulta en un cambio de energía libre suficientemente negativo. Un ejemplo clásico de este tipo de acoplamiento energético se verá en el próximo capítulo como ejemplo de fosforilación unida al sustrato (fig. 10.5).

El acoplamiento energético explica, por consiguiente, cómo se pueden llevar a

* P_i es el signo convencional de fosfato inorgánico (ortofosfato).

cabo reacciones endergónicas acopladas con otras de carácter exergónico. De hecho, se trata de un sistema general utilizado en el metabolismo celular para realizar la transferencia de energía de unas sustancias a otras, con objeto de situar la energía en la forma y lugar más adecuados para las necesidades celulares. Esta es la misión fundamental del metabolismo celular, transformar las sustancias para extraer parte de su energía interna, energía que más tarde será empleada en la síntesis de las sustancias necesarias para la reproducción y supervivencia celulares.

Por otro lado, el acoplamiento energético sólo es posible si la energía liberada o requerida por una reacción es «discreta». Por esta razón, los grandes procesos metabólicos se dividen en pequeñas etapas que requieren o liberan cantidades discretas de energía, energía que por su magnitud puede ser aportada o utilizada por otras reacciones. Por ejemplo, como hemos visto anteriormente, la oxidación terminal de la glucosa



tiene un $\Delta G^\circ = -688$ Kcal/mol (-2.878 KJ). Pues bien, si esta enorme cantidad de energía se liberara en un solo paso, sería difícil encontrar una reacción endergónica que pudiera aprovecharla. Por esta razón, en el metabolismo, la oxidación de la glucosa se divide en varios procesos (glucólisis, oxidación del piruvato, ciclo tricarbóxico, cadena respiratoria y fosforilación oxidativa), procesos que a su vez se componen de numerosas reacciones. En este sentido, gracias a los múltiples pasos de que se compone, la oxidación metabólica de la glucosa da como resultado la síntesis de 38 moles de ATP (por mol de glucosa oxidada). De este hecho se deduce que la energía procedente de la oxidación de la glucosa ha sido liberada en paquetes de dimensiones idóneas, con objeto de que pudieran ser acoplados a la capacidad energética de los enlaces fosfato-fosfato del ATP (véase Compuestos ricos en energía). En otras palabras, una reacción muy exergónica, como es la oxidación de la glucosa, se «acopla», en diferentes etapas, a una misma reacción endergónica, es decir, a la síntesis de ATP.

Por otro lado, la energía almacenada en cada mol de ATP podemos calcularla considerando el cambio de energía libre que tiene lugar en la hidrólisis de su fosfato terminal (cambio de energía libre estándar de hidrólisis (ΔG_h°), de acuerdo con la siguiente reacción:



Cuya $\Delta G^\circ = -7,3$ Kcal/mol (-30,5 KJ/mol).

Si calculamos ahora la eficiencia del proceso global:

$$\text{Eficiencia} = \frac{38 \times 7,3}{688,1} \times 100 = 40,3 \%$$

Estos cálculos nos indican que la oxidación metabólica de la glucosa hasta CO_2 y H_2O tiene una eficiencia «mínima» del 40,3 por 100. Esta eficiencia es extremadamente alta si se compara con la eficiencia de las máquinas inventadas por el ingenio humano. Asimismo, si utilizamos para el cálculo ΔG , es decir, la energía libre calculada teniendo en cuenta las concentraciones reales de los intermediarios, la eficiencia es aún más alta, aproximándose al 60 por 100.

Aunque la eficiencia de la oxidación metabólica de la glucosa es muy elevada, podríamos pensar que un proceso que presumiblemente se ha perfeccionado durante la evolución de los seres vivos, transcurrida a lo largo de millones de años, podría haber alcanzado mayores cotas de eficiencia. Sin embargo, una

eficiencia aún mayor sólo puede conseguirse mediante un proceso reversible. En este sentido, los procesos reversibles son termodinámicamente muy eficientes, lo que nos podría sugerir que la naturaleza podía haber sacrificado irreversibilidad en beneficio de eficiencia. Sin embargo, un aumento de la reversibilidad ($\Delta G \rightarrow 0$) iría en detrimento de la velocidad del proceso. Además, si el proceso fuese reversible, no se aseguraría la dirección deseada, lo que comportaría una notable pérdida de eficacia. Por el contrario, los procesos vitales tienen que ser veloces y seguros, aunque para ello haya de renunciarse a mayores rendimientos.

Como acabamos de ver, la oxidación de la glucosa es un proceso fuertemente exergónico, es decir, termodinámicamente irreversible, es decir, espontáneo en la terminología termodinámica. Sin embargo, todos sabemos que unos cristales de glucosa pueden existir años enteros en el aire sin que se oxiden espontáneamente. Esta paradoja es un buen ejemplo de la principal limitación de la termodinámica, es decir, la termodinámica nos muestra la dirección y viabilidad de un proceso, pero no nos dice nada acerca de su velocidad. En efecto, para que un proceso espontáneo pueda llevarse a cabo necesita que se le aporte una energía adicional, la denominada *energía de activación* (cap. 5), energía que es independiente el cambio de energía libre de la reacción. En efecto, en el calorímetro adiabático o bomba calorimétrica (véase Energía interna), la descarga eléctrica aporta la energía de activación. Sin el suministro de esta energía, la combustión, por ejemplo, de glucosa (a pesar de que ΔG° es altamente negativo) no podría realizarse. La principal misión de los catalizadores y, por consiguiente, de las enzimas es la de disminuir la energía de activación de las reacciones, aumentando extraordinariamente su velocidad. En resumen, la dirección y capacidad energética de una reacción viene dada por su cambio de energía libre; la velocidad queda, sin embargo, custodiada por la enzima. La naturaleza utiliza las reacciones irreversibles para mantener los procesos metabólicos lejos del equilibrio y, por ende, unidireccionales. Sin embargo, la actividad de la enzima (cap. 5) regula la velocidad de la reacción, lo que en definitiva determina su propia viabilidad.

Determinación de los cambios de energía libre estándar

El cambio de energía libre estándar puede calcularse si se conocen los cambios de entalpía estándar y las entropías estándar de los sustratos y productos. El cambio de entalpía estándar puede calcularse gracias a los valores de ΔH_f° o, más frecuentemente, por el calor de combustión de las sustancias en la bomba calorimétrica. Por otro lado, existen métodos para la determinación de las entropías estándar absolutas. Sin embargo, lo más frecuente es que ΔS° se calcule conociendo los valores de ΔG° y ΔH° .

El método más utilizado para el cálculo de ΔG° es el de aplicar la relación existente entre ΔG° y la constante de equilibrio (véase Energía libre y equilibrio químico):

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K'_{eq}$$

La constante de equilibrio se determina dejando transcurrir la reacción en presencia de la enzima correspondiente y una vez alcanzado el equilibrio, se mide la concentración de los sustratos y productos. Sin embargo, en algunos casos la concentración de un sustrato o producto en el equilibrio es tan baja que los métodos disponibles no permiten su determinación con un mínimo de garantías. En este caso se opta por determinar la constante de equilibrio a otra temperatura,

en la que sea posible determinar la concentración de sustratos y productos. La constante de equilibrio resultante se corrige a la temperatura estándar.

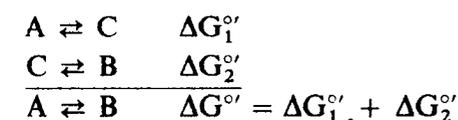
Por otro lado, si conocemos las características cinéticas de la enzima que cataliza la reacción objeto de estudio, podemos utilizar la denominada *aproximación de Haldane*, que, para una reacción monosustrato tal como



Establece que

$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]} = \frac{V_{max}^{B \rightarrow A} \cdot K_m^A}{V_{max}^{A \rightarrow B} \cdot K_m^B}$$

Por último, un método muy utilizado para la determinación de los cambios de energía libre es el de aprovechar las propiedades aditivas de ΔG° . Así, si queremos conocer el cambio de energía libre estándar de una reacción, que en el equilibrio presenta concentraciones de B indetectables, utilizamos otras reacciones relacionadas con A y B, tales como:



El cambio de energía libre de la reacción motivo de estudio resulta de la suma de los ΔG° de las reacciones relacionadas.

COMPUESTOS RICOS EN ENERGIA

Características químicas

La definición más correcta de los compuestos ricos en energía es la que los define como aquellos intermediarios metabólicos cuyo *potencial de transferencia de grupo* es igual o inferior a -7 Kcal/mol (aprox. -30 KJ/mol). Como potencial de transferencia de grupo se entiende la energía libre que el compuesto es capaz de ceder a otra sustancia junto con el grupo transferido. Como referencia de la energía transferible se utiliza la que se libera cuando el grupo se cede al agua. Por consiguiente, el potencial de transferencia de grupo coincide con el cambio de energía libre estándar de hidrólisis (ΔG_h°). Podemos preguntarnos por qué no podemos definir los compuestos ricos en energía como aquellos cuya energía libre de hidrólisis sea inferior a -7 Kcal/mol. Sin embargo, esta definición incluiría a todos los compuestos cuya energía libre de hidrólisis fuese menor de -7 Kcal/mol aun cuando esta energía no pueda ser transferida en una sola reacción. Por esta razón se introduce el concepto de *potencial de transferencia* queriendo indicar que no basta con que la sustancia sea potencialmente rica en energía, sino que, además, esta energía tiene que ser fácilmente transferible.

Por otro lado, los compuestos ricos en energía liberan la energía que transportan mediante la rotura de un solo enlace de su molécula. Por esta razón, al enlace que se rompe en la transferencia se le denomina *enlace rico en energía*, distinguiéndolo con el signo \sim . Sin embargo, esta denominación es incorrecta, puesto que estos enlaces son iguales a otros de su misma clase, con la diferencia de que su

Tabla 9.2
ENERGIA LIBRE ESTANDAR DE HIDROLISIS*
DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS
RICOS EN ENERGIA

	$-\Delta G^{\circ}$ (Kcal/mol)	$-\Delta G^{\circ}$ KJ/mol
Fosfoenol-piruvato	14,8	61,9
Acetil-fosfato	10,3	43,1
Creatin-fosfato	10,3	43,1
S-adenosil-metionina	10,0	41,8
Acetoacetil-CoA	10,5	43,9
Acil-CoA	7,7	32,2
Uridindifosfo-glucosa	7,6	31,8
ATP	7,3	30,5
Pirofosfato	6,0	25,1
Glucosa-1-fosfato	5,0	20,9
Glucosa-6-fosfato	3,3	13,8
Glicerol-1-fosfato	2,2	9,2

* La energía libre estándar de hidrólisis es equivalente al potencial de transferencia de grupo estándar.

rotura libera tensiones internas de la molécula, lo que da lugar a la liberación de la energía acumulada en él y en otros enlaces que no son objeto de hidrólisis. Sin embargo, aunque la denominación de enlace rico en energía conduce a conclusiones erróneas, su uso está tan extendido que se ha renunciado por el momento a su sustitución por otro más adecuado. En general, el grupo que se transfiere (junto con la energía) responde a tres clases:

1. Grupos fosfato (nucleótidos, acetil-fosfato, enol-fosfato, guanidín-fosfato).
2. Grupos acilo (ésteres de la coenzima A).
3. Grupos metilos (S-adenosil metionina).

Compuestos ricos en energía transferidores de grupos fosfato

Fosfoanhídridos

Es el grupo más importante de compuestos ricos en energía, incluyéndose en él los representantes más genuinos de este tipo de compuestos. De entre ellos el más importante es el ATP (adenosín trifosfato), cuyo potencial de transferencia de grupo varía según la reacción de transferencia. En este sentido, el potencial de transferencia de grupo o energía libre de hidrólisis del ATP depende de cómo transcurra la hidrólisis:

- (1) $ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$; $\Delta G^{\circ} = -7,3 \text{ Kcal/mol} (-30,5 \text{ KJ/mol})^*$
- (2) $ATP + H_2O \rightarrow AMP + PP_i$; $\Delta G^{\circ} = -8,2 \text{ Kcal/mol} (-34,3 \text{ KJ/mol})$

Por otro lado, la energía libre resultante de la hidrólisis de ATP varía, según el enlace fosfato-fosfato objeto de la hidrólisis, aun dentro de la misma molécula. En

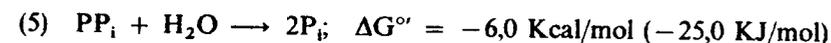
efecto, la hidrólisis del último fosfato, reacción 1, tiene una energía libre de hidrólisis de $-7,3 \text{ Kcal/mol}$. Sin embargo, si la hidrólisis tiene lugar en el penúltimo fosfato, una vez liberado el último, es decir:



la energía libre de hidrólisis es, como vemos, ligeramente inferior. Si, por último, la hidrólisis tiene lugar en el restante fosfato:



la energía libre de hidrólisis disminuye ostensiblemente. Por otro lado, la hidrólisis del pirofosfato resultante en la reacción 2:



Del estudio de las energías de hidrólisis del ATP en las reacciones citadas podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. Según la definición indicada anteriormente, el AMP y el PP_i no pueden considerarse compuestos ricos en energía, puesto que su ΔG° es superior a -7 Kcal/mol .

2. La energía libre resultante de la hidrólisis de los enlaces fosfato-fosfato del ATP depende de las características de los productos resultantes de la hidrólisis y no del enlace concreto objeto de hidrólisis. Así, la energía libre de hidrólisis del enlace existente entre los dos últimos fosfatos es muy diferente en las reacciones 1 y 5. La diferencia es tan notable que en un caso sería enlace rico en energía, reacción 1 y no en el otro, reacción 5. Este hecho indica claramente lo incorrecto de la denominación de «enlace rico en energía». La energía liberada, evidentemente, no está acumulada en un solo enlace.

3. La energía libre cedida por el ATP en su hidrólisis puede ser dosificada en la cantidad necesaria, gracias a la existencia de dos posibilidades de hidrólisis. En la mayoría de los casos, la energía y el fosfato serán donados gracias a la reacción 1. Sin embargo, algunas reacciones requieren un ligero «extra» de energía. En estas circunstancias, la hidrólisis del ATP tiene lugar mediante la reacción 2. Este último sistema se utiliza en muy pocos casos, entre los que podemos citar la activación de los ácidos grasos mediante la reacción catalizada por la *acil-CoA sintetasa* y la activación de los aminoácidos para la síntesis de proteínas, catalizada por la *aminoacil-tRNA sintetasa*. En el resto de los casos, la transferencia de la energía acumulada en el ATP se llevará a cabo mediante la reacción 1, acoplada o no a la fosforilación de un sustrato.

Por otro lado, es muy interesante que estudiemos la variación de la energía libre de hidrólisis del ATP en condiciones reales, es decir, a concentraciones fisiológicas de ATP y de sus productos de hidrólisis (fig. 9.2). Como vemos, la energía libre de hidrólisis aumenta conforme aumenta la razón de acción de masas. Asimismo, si consideramos que la concentración de fosfato inorgánico es prácticamente estable en condiciones fisiológicas, la energía libre de hidrólisis actual del ATP aumenta conforme que disminuye la razón ATP/ADP. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, las variaciones de la razón ATP/ADP son muy pequeñas, lo que hace oscilar a ΔG dentro de unos márgenes muy cercanos a ΔG° (fig. 9.1). Por ejemplo, en músculo de rata:

$$[ATP] = 8,05 \text{ mM} ; [ADP] = 0,93 \text{ mM} ; [P_i] = 8,05 \text{ mM}$$

* Este es el ΔG° del ATP en forma de complejo: $[Mg \cdot ATP]^{2+}$, es decir, como se encuentra en el entorno celular.

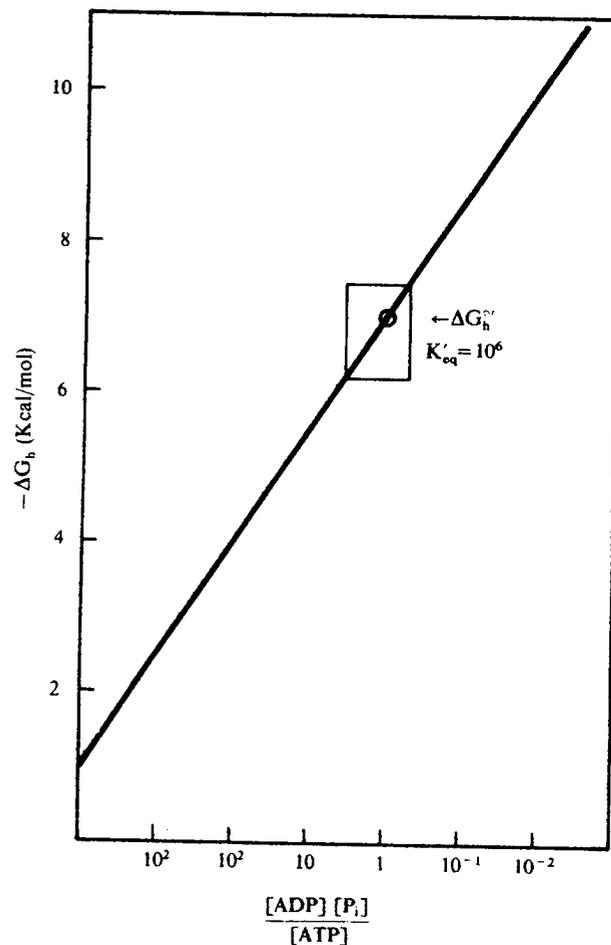


Figura 9.2. Cambio de la energía libre de hidrólisis del ATP en relación con la razón de acción de masas. ΔG_h : energía libre de hidrólisis; ΔG_h° : energía libre estándar de hidrólisis a pH 7; Γ' : razón de acción de masas aparente. El círculo indica la energía libre estándar de hidrólisis «fisiológica» (ΔG_h°). El recuadro indica los valores normales de la energía libre de hidrólisis «actual» (ΔG_h) en tejidos de rata.

Y según la ecuación (9.14):

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \Gamma'$$

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[\text{ADP}][\text{P}_i]}{[\text{ATP}]}$$

Sustituyendo por las concentraciones antes indicadas:

$$\Delta G = -7,3 + 2,3 \times 0,00199^* \times 298,15 \log \frac{0,93 \times 8,05}{8,05}$$

$$\Delta G' = -7,30 - 0,04 = -7,34 \text{ Kcal/mol}$$

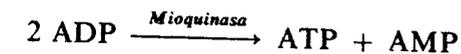
* $R = 1,99 \text{ cal} = 0,00199 \text{ Kcal}$. Asimismo, recuérdese que $\ln x = 2,3 \log x$.

En el caso del hígado $\Gamma' = 1,87$, lo que resulta en:

$$\Delta G' = -7,30 + 0,37 = -6,93 \text{ Kcal/mol}$$

Como vemos, el cambio de energía libre de hidrólisis en circunstancias fisiológicas es muy similar al valor calculado para las condiciones estándar. Sin embargo, en circunstancias patológicas (anoxia, por ejemplo), las concentraciones de ATP pueden disminuir mucho con respecto a las de ADP y P_i . Este hecho lleva consigo no sólo la disminución de la reserva de ATP, sino que el ATP libera cada vez menos energía como consecuencia del aumento de su energía libre de hidrólisis. Este hecho significa que las calorías netas utilizables por cada mol de ATP hidrolizado son menores que en circunstancias normales. Es decir, que por cada ATP se obtiene menos energía que en condiciones fisiológicas (fig. 9.2). Por esta razón, tejidos como el músculo, que tienen que utilizar el ATP de la manera más eficiente posible, no pueden permitirse que las concentraciones de ATP varíen dentro de unos márgenes amplios. Si así fuese, se obtendría diferente cantidad de energía del ATP presente en cada una de las circunstancias. Por el contrario, la concentración de ATP en músculo es bastante constante, hasta el punto de que las enzimas que se regulan por la concentración de ATP (concretamente la *fosfofructoquinasa*) poseen un sistema amplificador, que permite el control de la actividad de la enzima mediante pequeñísimos cambios de la concentración de ATP.

Teniendo en cuenta que las concentraciones de ATP y ADP están relacionadas por la reacción catalizada por la *mioquinasa* (adenilato quinasa):



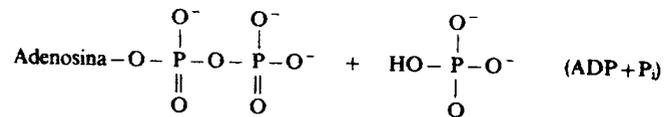
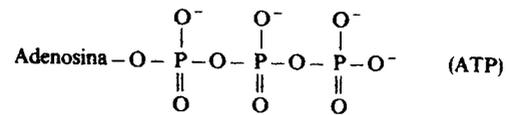
el potencial energético celular viene dado no sólo por la cantidad de ATP, sino también por la presencia de otros enlaces ricos en energía utilizables. En este sentido, Atkinson ha propuesto el concepto de *carga energética*, que viene definido por

$$\text{Carga energética} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2}[\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

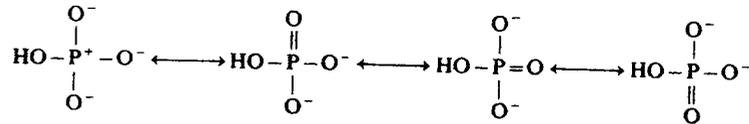
Nótese que no se trata del producto de las concentraciones, sino de su suma, y que la concentración de ADP en el numerador va precedida de $\frac{1}{2}$, puesto que contribuye teóricamente con la mitad de la energía que el ATP (sólo tiene un enlace rico en energía). Este concepto tiene la ventaja de indicarnos de una manera global el estado energético celular. Así, valores de la carga energética cercanos a 0,85 nos indican la existencia de equilibrio entre los procesos que generan ATP con respecto a aquellos que lo utilizan. Valores inferiores a 0,85 activan los procesos generadores de ATP que, inmediatamente, aumentan el índice hasta alcanzar los valores normales. Este hecho nos indica que el estado energético celular está controlado dentro de unos márgenes muy estrictos, existiendo una verdadera *homeostasis* del estado energético celular.

Hemos mencionado antes que el potencial de transferencia de grupo de un compuesto rico en energía no está confinado únicamente en los denominados incorrectamente «enlaces ricos en energía». De hecho, al mencionado potencial contribuyen también otros factores ajenos a los enlaces fosfato-fosfato. Entre estos factores, podemos mencionar los siguientes:

1. Los productos de la hidrólisis de los enlaces fosfato-fosfato tienen una mayor *resonancia* que la sustancia de que proceden. Así, la hidrólisis del ATP transcurrirá de la forma siguiente:



Las posibles formas de resonancia del fosfato libre (P_i) son:



Es evidente que las posibilidades de resonancia están mucho más limitadas cuando el fosfato forma parte del ATP. Además, las posibilidades totales de resonancia del ATP son mucho menores, si pensamos que los fosfatos internos están aún más limitados en sus posibles formas resonantes. Prácticamente, el único estado posible de los fosfatos penúltimo y antepenúltimo del ATP (a pH 7) es el propuesto anteriormente. Por consiguiente, los productos de la hidrólisis del ATP pueden estar en mayor número de formas resonantes, y un mayor número de formas equivale a una más alta probabilidad de que existan. En este sentido, según la ecuación de Boltzmann (ecuación 9.5) cuanto mayor sea la probabilidad del estado de una molécula, mayor es su entropía. Supuesto un cambio de entalpía fijo, conforme aumenta ΔS° , disminuye ΔG° . Por consiguiente, los cambios de energía estándar de formación (ΔG_f°) de los productos de hidrólisis del ATP son mucho mayores que el correspondiente al sustrato (ATP) y, según la ecuación (9.8):

$$\Delta G_h^\circ = \Sigma \Delta G_f^\circ \text{ productos} - \Sigma \Delta G_f^\circ \text{ sustratos}$$

El ΔG_h° resultante es fuertemente negativo. Posiblemente, dada la influencia del cambio de entropía en ΔG_f° de los productos, esta reacción está parcialmente dirigida por la entropía, puesto que en la siguiente ecuación tiene mucha influencia la elevada magnitud de ΔS° :

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$$

2. Otro factor que puede influir sustancialmente en la negatividad de $\Delta G_{h, \text{ATP}}^\circ$ es la *repulsión* entre las cargas negativas de los fosfatos. Como hemos visto anteriormente, a pH 7 el ATP presenta cuatro cargas negativas. La proximidad de las cargas de mismo signo y la consiguiente repulsión entre ellas hace muy improbable, de nuevo, la estructura del ATP. Por otro lado, tras la hidrólisis, disminuye la repulsión entre cargas. Los productos de hidrólisis son, pues, más

probables. De nuevo, la entropía aumenta con la hidrólisis, influyendo decisivamente en ΔG_h° .

3. Por último, la presencia de tantos oxígenos en cada átomo de fosfato plantea problemas de *impedimento estérico* para la rotación de grupos. La hidrólisis de los enlaces disminuye el impedimento, aumentando, en consecuencia, la entropía. Una causa más para que la energía libre de hidrólisis estándar del ATP sea fuertemente negativa.

Dentro de este grupo de compuestos ricos en energía se incluyen, además, otros nucleótidos, tales como el GTP, UTP, CTP e incluso ITP. Sin embargo, de todos ellos, sólo el GTP puede considerarse transferidor de grupos fosfato. El resto, más que ceder el grupo fosfato, se incorporan en toda su estructura (a excepción del último o de los dos últimos fosfatos) formando UDP-, CDP- o CMP- derivados. El enlace formado es de los denominados «ricos en energía», pero la formación del derivado tiene otras finalidades además de la propia transferencia de energía (véase más adelante).

Acil-fosfatos

Los representantes más destacados de este grupo son el 1,3-bisfosfoglicerato, el acetil-fosfato y los aminoacil-adenilatos (fig. 9.3). El primero es un intermediario de la glucólisis; el segundo, del metabolismo de microorganismos, y el tercero, intermediario de la síntesis de proteínas.

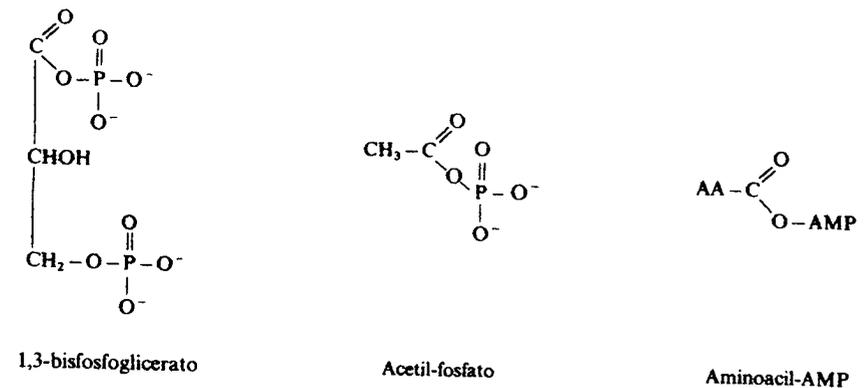


Figura 9.3. Compuestos ricos en energía acil-fosfatos.

El caso del 1,3-bisfosfoglicerato es muy ilustrativo, puesto que la hidrólisis del fosfato en posición 1 tiene un ΔG_h° de aproximadamente $-10,3$ Kcal/mol, mientras que la hidrólisis del fosfato en posición 3 apenas $-2,2$ Kcal/mol. Muy probablemente, esta diferencia en el ΔG_h° de uno y otro fosfato se debe a que el fosfato en posición 3 puede adoptar casi el mismo número de formas resonantes que el fosfato libre. Sin embargo, la carga residual negativa del oxígeno del grupo carbonilo carga positivamente al carbono, que, a su vez, succiona electrones del oxígeno común con el fosfato. Este fenómeno restringe las formas resonantes del fosfato, así como las del carbonilo. El resultado es una estructura muy improbable con una energía libre de hidrólisis fuertemente negativa. Estos mismos argumentos pueden aplicarse para el acetil-fosfato y los aminoacil-adenilatos (fig. 9.3).

también cumplen un papel secundario, no estrictamente relacionado con la energía, pero de mucha importancia desde el punto de vista bioquímico. Nos referimos a la función que cumplen la mayoría de los compuestos ricos en energía como *marcadores o señaladores* de los sustratos. En efecto, el compuesto rico en energía unido a un sustrato es, muchas veces, no sólo una manera de conservar la energía, sino también el distintivo que lo señala como destinado a un determinado proceso metabólico. Ambas misiones son inseparables y siempre son ambas el objeto de la formación del compuesto rico en energía. Sin embargo, las estudiaremos por separado con objeto de definir el carácter bimodal de estos compuestos.

Transferencia de energía en el metabolismo celular

La conservación y transferencia de la energía celular se lleva a cabo gracias a la transferencia de grupos fosfato. En efecto, los compuestos más ricos en energía, es decir, el 1,3-bisfosfoglicerato y el fosfoenol-piruvato, ceden su energía al ATP, que, a su vez, la distribuye allá donde la requieran las necesidades celulares (fig. 9.5). Los fosfágenos (creatin-fosfato y arginín-fosfato) actúan como reserva de energía en aquellos tejidos que, como el músculo, requieren en ciertos momentos de su funcionamiento un suministro de energía mayor. De todas maneras, la energía acumulada en los fosfágenos se utiliza siempre a través del ATP, nunca directamente a otras sustancias. Por consiguiente, el ATP es la figura central del sistema de transferencia de energía en el interior celular. Por esta razón se denomina al ATP «la moneda energética celular». De hecho, la energía que converge en el ATP se transfiere a todos aquellos procesos que por su carácter endergónico requieren aporte de energía. De esta manera, la célula dispone de una energía fácilmente transferible y «reconocible» por las enzimas catalizadoras de las reacciones

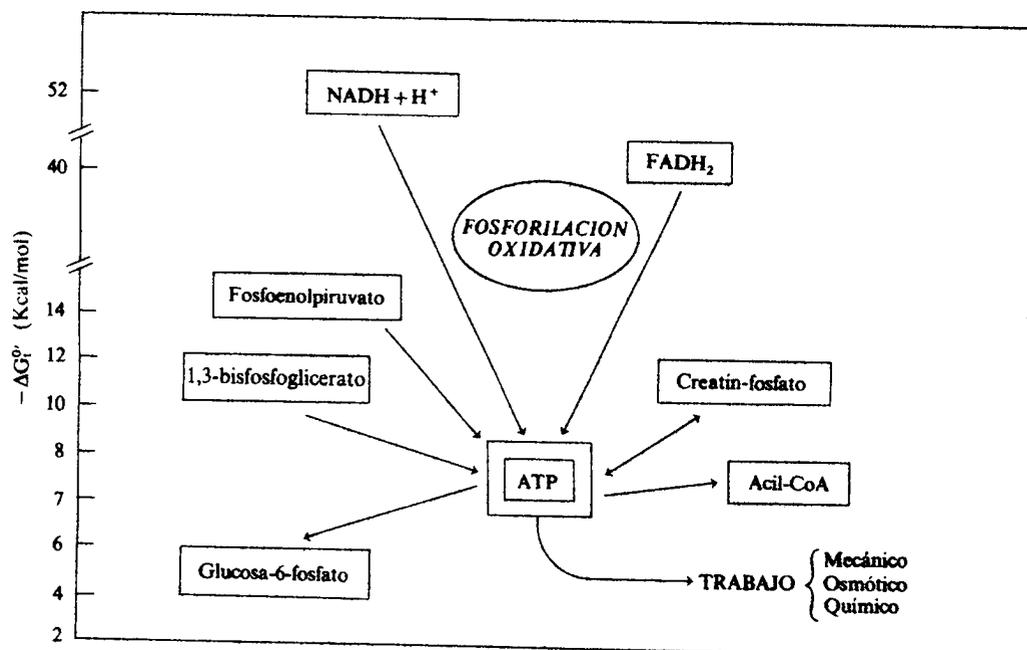


Figura 9.5. Papel del ATP en la transferencia de energía. ΔG_i^0 : potencial de transferencia de grupo estándar (véase el texto).

necesitadas de tal energía. Estas últimas pueden ser tan variadas como una simple fosforilación, el transporte de un soluto en contra de gradiente, el movimiento de las fibras musculares, la síntesis de un nuevo compuesto rico en energía (acil-CoA, por ejemplo), etc.

Es necesario adelantar (cap. 10) que la principal fuente de la energía que se acumula en el ATP es la energía de oxidorreducción procedente de coenzimas reducidas. En este sentido, a la fosforilación del ADP para dar ATP, gracias a la transferencia de la energía procedente del 1,3-bisfosfoglicerato o del fosfoenol-piruvato, se denomina *fosforilación unida al sustrato*. Sin embargo, la fosforilación del ADP para dar ATP a costa de la energía liberada mediante la oxidación de las coenzimas reducidas se denomina *fosforilación oxidativa* (fig. 9.5).

Los compuestos ricos en energía como marcadores de destino metabólico

Como hemos mencionado anteriormente, los compuestos ricos en energía, o sus derivados más próximos, cumplen un papel adicional en el metabolismo como marcadores o señaladores del proceso metabólico a que se destina un sustrato. En efecto, la formación de derivados de la coenzima A está reservada, casi exclusivamente, a los ácidos grasos y sus derivados. Las enzimas detectarán este distintivo, a la vez que tomarán ventaja de la riqueza en energía del enlace. Sólo si los ácidos grasos y sus derivados están en la forma de acil-CoA, participarán en el metabolismo y diremos que están «activados». Por otro lado, los lípidos complejos utilizan otro distintivo, el CDP, formando los CDP-derivados, que cumplen la misma misión marcadora. Los aminoácidos se «activan» como aminoacil-AMP, paso obligado para la formación del enlace peptídico. Los azúcares formarán UDP-derivados (glucosa y galactosa), GDP-derivados (manosa y fucosa), CMP-derivados (N-acetil-neuramínico), etc. De esta manera, los azúcares no sólo se «activan», sino que son fácilmente reconocibles por sus enzimas específicas, a pesar de su extraordinario parecido estructural.

REACCIONES DE OXIDORREDUCCION

Las reacciones que transcurren con transferencia de electrones se denominan *reacciones de oxidorreducción*. En un principio, se consideraba oxidación al proceso de adquisición de oxígeno. Más tarde, el término se amplió a aquellas reacciones en que existe una pérdida de hidrógeno. Finalmente, se denominó con el nombre de oxidación a todos aquellos procesos en que existe una pérdida de electrones. Por consiguiente:

Oxidación significa pérdida de electrones
Reducción significa ganancia de electrones
Reductor es el donador de electrones
Oxidante es el aceptor de electrones

Las reacciones de oxidación se ajustan en todo a las consideraciones anteriormente descritas para cualquier reacción química, con la particularidad de que la energía libre de la reacción podemos medirla más fácilmente gracias al trabajo eléctrico producido.

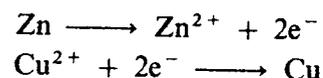
Potencial de oxidorreducción

Supongamos el ejemplo clásico de un trozo de zinc sumergido en una solución de CuSO_4 . En estas circunstancias ocurre la reacción:



Es decir, parte del zinc se disuelve en forma de zinc iónico, mientras que algo de cobre se deposita sobre la barra de zinc, a la forma de cobre metálico. Sin embargo, la reacción contraria no tiene lugar en estas circunstancias. Ahora bien, si sumergimos cobre metálico en nitrato de plata, el cobre se disuelve, mientras que la plata se deposita en forma de metal. Este hecho nos indica que las reacciones de oxidorreducción (redox para simplificar) son termodinámicamente irreversibles y siguen la dirección que le viene impuesta por las características del donador y aceptor de electrones.

Por otro lado, en el ejemplo anterior separamos los dos metales, es decir, la barra de zinc se sumerge en sulfato de zinc y, separadamente la de cobre en sulfato de cobre (fig. 9.6). Asimismo, las dos soluciones se ponen en contacto mediante un puente salino (agar-agar embebido en solución saturada de cloruro potásico), si conectamos ahora las dos barras metálicas, la corriente eléctrica fluye de la barra de zinc a la de cobre. Hemos construido lo que en lenguaje electroquímico se denomina pila *galvánica* o *voltaica*. Mediante esta pila, los electrones se mueven a través de un conductor, gracias a las reacciones de oxidorreducción que tienen lugar en sus compartimientos. En efecto, las reacciones que tienen lugar en cada compartimiento (semipila) son las siguientes:



En la barra (electrodo) de zinc está ocurriendo una reacción de *oxidación* (recordemos que oxidación indica pérdida de electrones), mientras que en el electrodo de cobre está ocurriendo una *reducción*. El electrodo de zinc se carga

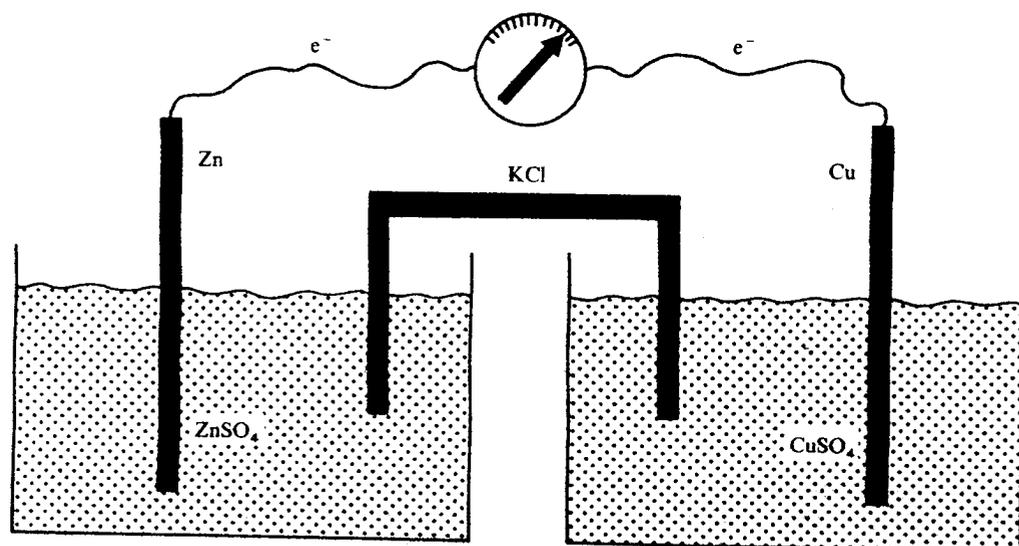
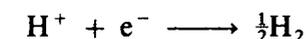


Figura 9.6. Pila galvánica o voltaica.

positivamente y se denomina *ánodo*, mientras que el de cobre se carga negativamente y se denomina *cátodo*. El Zn es *reductor* porque tiene tendencia a liberar electrones. Por el contrario, el Cu^{2+} es *oxidante* porque tiene tendencia a tomar electrones.

Entre el ánodo y el cátodo mediante el conductor metálico, pasan los electrones gracias a la existencia de una diferencia de potencial entre ambos polos. A esta diferencia de potencial se le denomina *potencial de oxidorreducción* (*potencial redox*) o *fuerza electromotriz* (ϵ). Evidentemente, el potencial redox o fuerza electromotriz se expresará en unidades de potencial eléctrico, es decir, en voltios.

Por otro lado, el potencial redox dependerá de la pila que construyamos. En otras palabras, no podemos conocer el potencial redox de una semipila sin tomar otra de referencia. Como semipila de referencia se ha escogido la semipila denominada *electrodo de hidrógeno*. El electrodo de hidrógeno consiste en un conductor de platino sumergido en una solución de H^+ (ácido clorhídrico), en donde se burbujea hidrógeno gaseoso. La reacción de la semipila es:



Pues bien, el potencial redox teórico que poseería este electrodo, a la temperatura de $298,15 \text{ K}^\circ$ (25°C), a $[\text{H}^+] = 1 \text{ M}$ y presión de gas hidrógeno de una atmósfera, se le da el valor de cero. Por consiguiente, el potencial redox del electrodo de hidrógeno en *condiciones estándar* es igual a cero, es decir:

$$\epsilon_{\text{H}^+/\text{H}_2}^\circ = 0$$

Mediante esta referencia podemos medir el potencial redox de otras semipilas comparándolas con el electrodo de hidrógeno. En este sentido, el potencial redox existente entre el electrodo de hidrógeno y una semipila determinada, cuando las concentraciones de los componentes de la semipila sean 1 M , lo denominaremos *potencial redox estándar* de la semipila (ϵ°). Si los electrones fluyen de la semipila al electrodo de hidrógeno, ϵ° tendrá signo negativo, su potencial redox será mayor en electronegatividad que el del electrodo de hidrógeno. Si los electrones fluyen del electrodo de hidrógeno a la semipila en cuestión, ϵ° tendrá signo positivo, es decir, su potencial redox será menor en electronegatividad que el electrodo de hidrógeno. Así, en nuestro ejemplo anterior*:



Los electrones fluirán desde la semipila Zn^{2+}/Zn , fuertemente negativa, a la Cu^{2+}/Cu , fuertemente positiva. La reacción completa será:



Cuya diferencia de potencial redox:

$$\epsilon^\circ = 0,337 - (-0,763) = 1,1 \text{ V}$$

* Nótese que las reacciones de cada semipila se escriben siempre en el sentido de la reducción.

Energía libre de las reacciones redox. Ecuación de Nernst

En una pila voltaica, como la descrita anteriormente, los electrones se mueven porque se ejerce un trabajo eléctrico. Este trabajo será el resultado de la diferencia de potencial (ε) y del número de electrones (N) transportados. Es decir:

$$\text{Trabajo eléctrico} = N \varepsilon$$

Como el trabajo eléctrico es el trabajo útil o disponible, este término es igual al cambio de energía libre. Por consiguiente:

$$\Delta G = N \varepsilon$$

Si expresamos N en número de moles (n) por la carga de un mol de electrones (el faraday \mathcal{F})* resulta:

$$\Delta G = -n\mathcal{F}\varepsilon$$

El signo negativo de esta ecuación es debido a que cuando ε resulta positivo, la reacción es exergónica y, por consiguiente, ΔG tiene que resultar negativa. El faraday viene dado en culombios/mol y ε en voltios. Como:

$$1 \text{ Julio} = 1 \text{ culombio} \times 1 \text{ voltio}$$

ΔG nos vendrá dado en J/mol, que, como sabemos, puede convertirse en calorías, puesto que $1 \text{ cal} = 4,184 \text{ J}$.

En condiciones estándar:

$$\Delta G^\circ = -n\mathcal{F}\varepsilon^\circ \quad (9.16)$$

De cuya ecuación podemos deducir que:

$$\varepsilon^\circ = \frac{-\Delta G^\circ}{n\mathcal{F}} \quad (9.17)$$

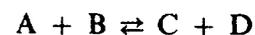
Y si recordamos que según la ecuación (9.12)

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

Sustituyendo en la ecuación (9.17) tenemos que

$$\varepsilon^\circ = \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln K_{eq} \quad (9.18)$$

Podemos ahora deducir el valor del potencial redox en condiciones diferentes a las estándar. Tomemos la siguiente reacción:



* El faraday equivale a 96.472 culombios/mol y resulta de multiplicar la carga del electrón por el número de Avogadro.

De acuerdo con la ecuación (9.13)

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Dividiendo los dos términos por $n\mathcal{F}$:

$$\frac{\Delta G}{n\mathcal{F}} = \frac{\Delta G^\circ}{n\mathcal{F}} + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Lo que es igual a

$$\varepsilon = \varepsilon^\circ - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (9.19)$$

La ecuación (9.19) se conoce como *ecuación de Nernst*. En condiciones estándar $[C] = [D] = [A] = [B] = 1$, que sustituidas en la ecuación (9.19) resulta en

$$\varepsilon = \varepsilon^\circ - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln 1$$

Por consiguiente, en condiciones estándar:

$$\varepsilon = \varepsilon^\circ$$

Gracias a la ecuación de Nernst podemos calcular el potencial redox actual de cualquier semipila, teniendo en cuenta la concentración de la sustancia donadora de electrones (numerador) y de la aceptora de electrones (denominador). En efecto, podemos calcular, por ejemplo, el potencial redox del electrodo de hidrógeno a concentraciones fisiológicas de protones, es decir, a $\text{pH} = 7$ (ε°). Así:

$$\varepsilon^{\circ'} = \varepsilon^\circ - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{1}{10^{-7}}$$

En términos numéricos:

$$\varepsilon^{\circ'} = \varepsilon^\circ - \frac{8,31^* \times 298,15}{1^* \times 96.472} 2,3 \log \frac{1}{10^{-7}}$$

$$\varepsilon^{\circ'} = \varepsilon^\circ - 0,059 \log \frac{1}{10^{-7}}$$

$$\varepsilon^{\circ'} = \varepsilon^\circ - 0,414$$

Como en el caso del electrodo de hidrógeno se conviene que $\varepsilon^\circ = 0$, se deduce que

$$\varepsilon_{\text{H}^+/\text{H}_2}^{\circ'} = -0,414 \text{ V}$$

* Teniendo en cuenta la equivalencia: $1 \text{ J} = 1 \text{ culombio} \times 1 \text{ voltio}$, R tiene que expresarse en julios; n es el número de electrones transferidos, puesto que los cálculos se llevan a cabo en concentraciones molares.

Tabla 9.3

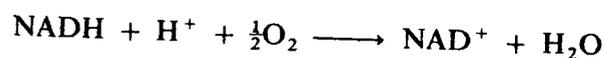
POTENCIALES REDOX ESTANDAR DE ALGUNOS SISTEMAS BIOLÓGICOS

Sistema	Reacción	ϵ° (V)
Acetato/piruvato	$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{COCOOH} + \text{H}_2\text{O}$	-0.700
H^+/H_2	$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2$	-0.414
$\text{NADP}^+/\text{NADPH} + \text{H}^+$	$\text{NADP}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{NADPH} + \text{H}^+$	-0.324
$\text{NAD}^+/\text{NADH} + \text{H}^+$	$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{NADH} + \text{H}^+$	-0.320
FAD/FADH_2	$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{FADH}_2$	-0.219
Piruvato/lactato	$\text{CH}_3\text{COCOO}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$	-0.185
Oxalacetato/malato	$^- \text{OOC} - \text{COCH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons ^- \text{OOCCH}_2\text{COO}^-$	-0.166
Fumarato/succinato	$^- \text{OOCCH}=\text{CHCOO}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons ^- \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$	+0.031
Ubiquinona/ubiquinol	Ubiquinona + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons$ Ubiquinol	+0.100
Cit $b_k^{3+}/\text{Cit } b_k^{2+}$	$2\text{Fe}^{3+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{2+}$	+0.030
Cit $c^{3+}/\text{Cit } c^{2+}$	$2\text{Fe}^{3+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{2+}$	+0.254
Cit $a^{3+}/\text{Cit } a^{2+}$	$2\text{Fe}^{3+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{2+}$	+0.290
$\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$	$2\text{Cu}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Cu}^+$	+0.540
$\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	$\text{O}_2(\text{g}) + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+0.816

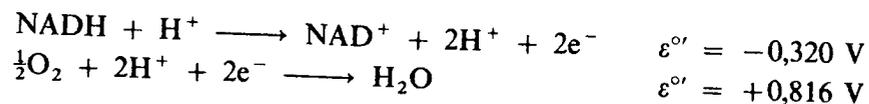
En la tabla 9.3 figuran los potenciales redox estándar corregidos a pH fisiológico, incluido el del electrodo de hidrógeno. Con ellos podemos calcular el cambio de energía libre estándar de cualquier reacción redox, puesto que la ecuación (9.16) se puede escribir:

$$\Delta G^{\circ} = -n\mathcal{F}\epsilon^{\circ} \quad (9.20)$$

Con esta ecuación podemos calcular, por ejemplo, la energía libre estándar de la oxidación del $\text{NADH}(\text{H}^+)$ (una coenzima reducida resultante de la oxidación de los sustratos energéticos; fig. 9.5 y cap. 10), según la reacción:



Que podemos dividir en dos semipilas:



El cambio de energía libre de la reacción completa, de acuerdo con la ecuación (9.20), podemos calcularlo como sigue:

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ} &= -(2)(96.472)[0,816 - (-0,320)] \\ \Delta G^{\circ} &= -219,2 \text{ KJ/mol} = -52,4 \text{ Kcal/mol} \end{aligned}$$

En el caso de FADH_2 la reacción completa sería (tabla 9.3):



lo que resulta en un cambio de energía libre de $\Delta G^{\circ} = -47,7 \text{ Kcal/mol}$. Como vemos, estas sustancias fuertemente reducidas, $\text{NADH}(\text{H}^+)$ y FADH_2 , cuando ceden dos electrones al oxígeno, liberan una enorme cantidad de energía que equivale aproximadamente a siete veces la de un mol de ATP. Sin

embargo, no podemos considerar a estas sustancias como compuestos ricos en energía, si recordamos la definición indicada en la sección anterior. En este sentido, la energía acumulada en $\text{NADH}(\text{H}^+)$ y FADH_2 no puede ser transferida en una sola reacción. Por el contrario, la célula aerobia tendrá que disponer de toda una complicada maquinaria para conseguir la liberación paulatina y dosificada de esta energía. Sólo de esta manera la energía liberada puede ser utilizada en la fosforilación del ADP en ATP (*fosforilación oxidativa*), permitiendo la conservación de la energía por un sistema universal común a todos los seres vivos aerobios (cap. 10).

Por último, la energía retenida en un mol de $\text{NADH}(\text{H}^+)$ da lugar, mediante la fosforilación oxidativa, a sólo tres moles de ATP. Si calculamos la eficiencia del proceso tendremos:

$$\text{Eficiencia} = \frac{3 \times 7,3}{52,4} \times 100 = 41,8 \%$$

Como en el caso de la glucólisis (véase Procesos endergónicos y exergónicos. Acoplamiento energético), la eficiencia de la fosforilación oxidativa es muy alta si la comparamos con la de las máquinas construidas por el hombre. En este caso, además, la eficiencia total es mucho mayor, puesto que la energía del $\text{NADH}(\text{H}^+)$ no sólo se utiliza en la síntesis del ATP, sino también, y muy eficientemente, en el transporte de solutos a través de la membrana mitocondrial. En efecto, el transporte de solutos requiere energía si se lleva a cabo en contra de un gradiente osmótico o eléctrico, circunstancia que ocurre con frecuencia en la mitocondria. Tomados en su conjunto todos los procesos mitocondriales, se calcula que la eficiencia total de la maquinaria oxidativa es de aproximadamente el 95 por 100. Si así fuera, este sistema habría alcanzado a lo largo de la evolución un grado de perfección difícilmente imaginable. No debemos olvidar, sin embargo, que un aumento extraordinario de la eficiencia sólo puede conseguirse si el proceso es reversible. Este hecho hace pensar en la existencia de eficiencias reales más bajas, que no comprometan la unidireccionalidad y velocidad de un proceso de tan vital importancia en la supervivencia de los seres vivos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bergmeyer, H. U.; Bergmeyer, J., y Grabl, M. (eds.): *Methods of Enzymatic Analysis*, 3.ª ed., vol. 1. Verlag Chemie, Basilea, 1983.
- Chang, R.: *Physical Chemistry with Applications to Biological Systems*, McMillan Publishing Co., Nueva York, 1977.
- Chang, R.: *Physical Chemistry with Applications to Biological Systems*, 2.ª ed., McMillan Publishing Co., Nueva York, 1981.
- Freifelder, D.: *Physical Chemistry for Students of Biology and Chemistry*, Science Books International, Inc., Boston, MA, 1982.
- Peacocke, A. P.: *The physical chemistry of biological organization*, Clarendon Press, Oxford, 1983.
- Skulachev, V. P.: «Membrane bioenergetics, should we build the bridge across the river or alongside of it?», *TIBS-April*, 182-185, 1984.
- Van Holde, K. E.: *Physical Biochemistry*, Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Oxidación biológica y cadena respiratoria

JOSÉ MARÍA MEDINA

Desde el punto de vista de la fuente de carbono utilizada, los seres vivos se dividen en *autótrofos*, es decir, aquellos que utilizan el anhídrido carbónico atmosférico como sustrato con el que sintetizar sus esqueletos carbonados, y *heterótrofos*, es decir, aquellos que obligatoriamente deben utilizar el carbono previamente asimilado por otros seres vivos.

Sin embargo, si consideramos la fuente de energía utilizada, los seres vivos se dividen en *fotoótrofos*, es decir, aquellos que utilizan la energía solar como fuente de energía primaria, y *quimiótrofos*, es decir, aquellos que utilizan la energía química previamente acumulada en forma de energía *interna* de las sustancias químicas. En la mayoría de los casos, la energía química utilizada por los seres quimiótrofos es de origen orgánico, denominándose *quimiorganótrofos*, mientras que aquellos seres vivos que utilizan la energía interna de sustancias inorgánicas se denominan *quimiofitótrofos*. En este sentido, el hombre es heteroquimiorganótrofo, ya que se alimenta del carbono y la energía acumulada por otros seres vivos en forma de sustancias orgánicas.

Por consiguiente, los seres superiores obtenemos la energía de las sustancias químicas sintetizadas por otros seres vivos. Sin embargo, la transferencia de esta energía a sustancias químicas propias plantea problemas diversos. De hecho, no sólo hay que aprovechar la mayor cantidad de la energía recibida, sino también dosificarla y almacenarla de forma versátil. En este sentido, la selección natural ha escogido el ATP como moneda de transacción energética (cap. 9). Así, en el ATP converge la energía procedente de los nutrientes, y del ATP se distribuye a los procesos endergónicos de síntesis.

Para realizar la transferencia de la energía procedente de los nutrientes a energía fácilmente transferible, es decir, a ATP, los seres vivos *oxidán* los sustratos que reciben. Ahora bien, si la energía de oxidorreducción se transfiere *directamente* del sustrato portador de la energía a ATP, el fenómeno se denomina *fosforilación unida al sustrato*. Ejemplos de esta clase de fosforilación son las reacciones catalizadas por la *3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa/3-fosfoglicerato quinasa* (fig. 10.5), y la catalizada por la *piruvato quinasa* (cap. 16) y por la *succinato tioquinasa* (cap. 12).

Sin embargo, si la energía de oxidorreducción se acumula primero en unos intermediarios fuertemente reducidos, las coenzimas NADH(H⁺) y FADH₂ o, ex-

cepcionalmente, en el NADPH(H⁺), y, sólo después de esta obligada convergencia, se utiliza para la síntesis de ATP, el fenómeno se denomina *fosforilación oxidativa*, ya que utiliza oxígeno como último aceptor de electrones.

Desde el punto de vista termodinámico, la fosforilación oxidativa consiste en el acoplamiento de una reacción fuertemente exergónica, la transferencia de electrones de las coenzimas reducidas al oxígeno, a otra de carácter endergónico, es decir, la síntesis de ATP. Sin embargo, como hemos mencionado en el capítulo anterior, la cantidad de energía liberada en las reacciones exergónicas tiene que ser discreta para que pueda realizarse el correspondiente acoplamiento energético. De hecho, el metabolismo celular dispone, casi exclusivamente, de una sola reacción endergónica capaz de acoplarse directamente a los procesos exergónicos: la síntesis de ATP. En otras palabras, los contenedores energéticos celulares tienen unas dimensiones tan estrictas, que la energía tiene que ser dispensada cuidadosamente en paquetes homologables al enlace fosfato-fosfato del ATP. En este sentido, si la energía se libera en paquetes de dimensiones inadecuadas, no podría ser utilizada en trabajo químico, disipándose en forma de calor. Por otro lado, el dispositivo dispensador de la energía debe estar sincronizado con la síntesis de ATP, pues de otra manera, la energía, aun reducida a las dimensiones adecuadas, no encontraría a tiempo su lugar de destino. Para la primera de las funciones, es decir, para la dosificación de la energía redox, los organismos aerobios disponen de la denominada *cadena respiratoria*. Para la segunda de las funciones, es decir, para el acoplamiento de la energía liberada con la síntesis de ATP, se utiliza la *fosforilación oxidativa*.

En los organismos superiores, la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa están localizadas, junto a la mayoría de las deshidrogenasas, en la mitocondria. En este sentido, la mitocondria se ha especializado en la oxidación terminal de los sustratos, extrayendo muy eficazmente la mayor parte de la energía interna de las moléculas. De hecho, los elementos químicos que fundamentalmente forman parte de los sustratos, es decir, el carbono y el hidrógeno, resultan, tras el metabolismo mitocondrial, en la forma más oxidada posible, o sea, en forma de CO₂ y H₂O. Las mitocondrias son, por consiguiente, las centrales energéticas celulares, donde la maquinaria oxidativa extrae la energía interna de los sustratos energéticos reduciéndolos a sustancias fácilmente eliminables.

CADENA RESPIRATORIA

Componentes de la cadena respiratoria

Podemos considerar el descubrimiento de las deshidrogenasas, realizado por Thumberg a comienzos de este siglo, como el inicio del estudio de lo que hoy conocemos con el nombre de cadena respiratoria. Así, Thumberg descubre la existencia de ciertas enzimas, a las que denomina deshidrogenasas, que son capaces de catalizar la oxidación de ciertos sustratos en ausencia absoluta de oxígeno. Paralelamente, Warburg descubre que el cianuro, sustancia a la que son insensibles las deshidrogenasas, inhibe, sin embargo, la respiración a muy bajas concentraciones. A la enzima inhibible por cianuro Warburg la denomina «enzima respiratoria». Estas experiencias son difíciles de relacionar entre sí, hasta que Szent-Györgyi sugiere que las flavoproteínas podrían ser las intermediarias entre las deshidrogenasas y la «enzima respiratoria» de Warburg. Más tarde, Kelin demuestra la implicación de los citocromos en el proceso y confirma la sugerencia de Warburg de que la «enzima respiratoria» debía poseer hierro, ya que era inhibible por cianuro. Experimentos posteriores condujeron al descubrimiento de

que la cadena respiratoria estaba constituida por una serie de transportadores de electrones, entre los que destacaban las flavoproteínas, quinonas y citocromos (caps. 8 y 11). Hoy sabemos que la cadena respiratoria se compone de una serie de sustancias capaces de aceptar y donar electrones con una secuencia tal que permite la liberación de energía de oxidorreducción en paquetes homologables al enlace rico en energía del ATP.

De una manera simplificada, la cadena respiratoria puede formularse como se muestra en la figura 10.1. Según este esquema, existen dos «entradas o canales» por los que los sustratos ceden los electrones a la cadena. El primero de ellos, denominado de «sustratos NAD», es el mayoritario, y a él están acopladas las deshidrogenasas correspondientes al piruvato, 2-oxoglutarato, malato, glutamato, isocitrato, 3-hidroxiubutirato, etc. Al segundo canal están acopladas las deshidrogenasas del succinato, glicerol-fosfato y acil-CoA. Este último se ha denominado tradicionalmente «canal del succinato», y de una manera más general «de sustratos FAD». Ambos canales confluyen en la coenzima Q, donde finaliza el transporte de átomos de hidrógeno, continuando el de electrones a través de los diferentes citocromos.

Podemos indicar, asimismo, la existencia de un tercer canal, denominado «canal del ascorbato» a través del cual el ascorbato puede ceder electrones al citocromo c. Debemos adelantar, sin embargo, que el ascorbato no parece ser un donador natural de electrones en la cadena respiratoria, puesto que su oxidación no tiene lugar en mitocondria intacta, a menos que se le acompañe de un aceptor artificial de electrones. Sin embargo, la existencia de dicho canal ha ayudado considerablemente a la localización de los denominados «sitios de fosforilación» (véase más adelante).

Secuencia de los componentes de la cadena respiratoria

A la vista del esquema mostrado en la figura 10.1, podemos preguntarnos cómo se ha podido dilucidar el orden en que están situados los componentes de la cadena respiratoria. Este estudio se ha podido llevar a cabo gracias a la aplicación de los siguientes criterios experimentales:

Potenciales redox estándar

La primera aproximación que podemos utilizar para conocer la secuencia de la cadena respiratoria es la de ordenar los componentes de acuerdo con su *potencial redox estándar*. En efecto, dado que se trata de sustancias capaces de aceptar y donar electrones, el transporte de electrones no sería posible a menos que dichos transportadores estén situados en orden de potencial redox de electro-negatividad decreciente. Por consiguiente, basta conocer el potencial redox estándar de cada uno de los componentes de la cadena respiratoria para poder determinar el orden exacto en que éstos deben estar situados. Este ha sido uno de los criterios básicos utilizados para la determinación de la secuencia mostrada en la figura 10.1. Sin embargo, la determinación de los potenciales redox estándar de los componentes de la cadena respiratoria presenta serias dificultades experimentales. En primer lugar, los potenciales redox estándar sólo pueden determinarse con exactitud en sustancias altamente purificadas, lo que resulta difícil en gran parte de los citocromos y flavoproteínas, al tratarse de sustancias íntimamente unidas a la membrana mitocondrial. En segundo lugar, el potencial redox de una

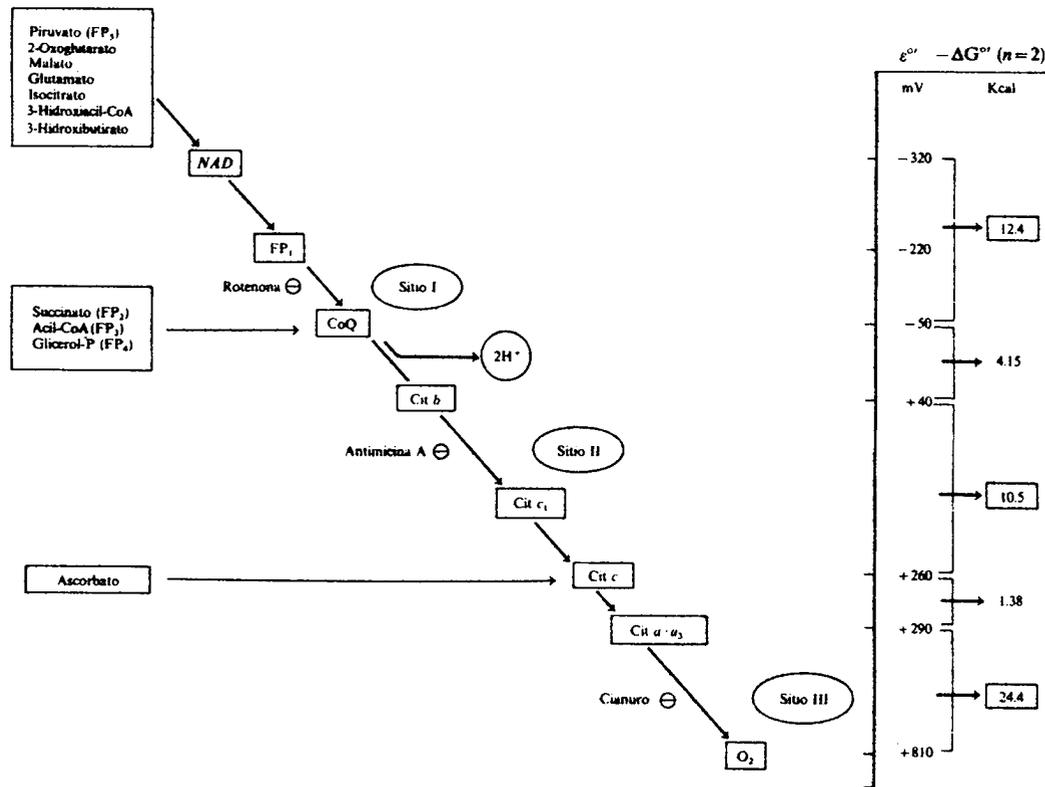


Figura 10.1. Esquema general de la cadena respiratoria. FP₁, FP₂, etc.: flavoproteínas; NAD: NADH-oxidasa; CoQ: coenzima Q o ubiquinona; cit a-a₃: citocromo oxidasa; ε°: potencial redox estándar fisiológico; ΔG°: cambio de energía libre estándar fisiológico.

sustancia en un momento dado no sólo depende de las concentraciones de la forma oxidada y reducida en cada momento (véase cap. 9), sino también de la posible influencia del medio que le rodea sobre el propio potencial redox estándar. De hecho, poseemos datos experimentales que nos hacen dudar de la utilización axiomática de los potenciales redox estándar determinados *in vitro*. Como ejemplo, baste recordar el caso del complejo multienzimático *piruvato deshidrogenasa*. En este complejo, el FAD, grupo prostético de la *dihidrolipoato deshidrogenasa*, es capaz de ceder electrones al NAD, a pesar de la mayor electronegatividad de este último. Puesto que no cabe la menor duda de que este hecho tiene lugar *in vivo*, debemos admitir que el resto de la estructura proteica de la enzima influye de tal manera sobre el FAD que eleva su potencial redox estándar por encima de la electronegatividad del NAD. Necesitamos, por consiguiente, otros criterios adicionales para precisar el orden en que están situados los componentes de la cadena respiratoria.

Cambios en el estado redox de los componentes en la cadena respiratoria

Si la formulación consecuente con los potenciales redox estándar de los componentes de la cadena respiratoria es cierta (fig. 10.1), el estado redox de los intermediarios corresponderá de una manera lógica con el estado metabólico de la mitocondria. Así, si a una suspensión de mitocondrias en aerobiosis se le suministra un sustrato NAD (malato, por ejemplo), la *NADH-oxidasa*, primer aceptor de

la cadena (*NAD* en la fig. 10.1) se reducirá proporcionalmente más que las flavoproteínas y éstas, a su vez, más que el citocromo *b* y éste que el citocromo *c*, y así sucesivamente. Si, por el contrario, mantenemos la suspensión de mitocondrias en anaerobiosis y les suministramos malato, todos los componentes estarán reducidos. Si ahora hacemos accesible el oxígeno, el primero en oxidarse sería el citocromo *a-a₃* seguido del citocromo *c*, *b*, flavoproteínas, etc. En efecto, estos hechos pueden comprobarse experimentalmente, lo que sugiere que la formulación expuesta en la figura 10.1 es posiblemente cierta.

Efecto de inhibidores. Teorema de Chance

La utilización de inhibidores específicos para la dilucidación de la secuencia de los intermediarios de la cadena respiratoria es un ejemplo más del enorme servicio que han proporcionado los inhibidores en la secuenciación de las principales vías metabólicas. En el caso concreto de la cadena respiratoria, se hace uso del denominado *Teorema de Chance* («crossover theorem»), que postula que, en presencia de un inhibidor, los intermediarios de la cadena respiratoria situados por encima (en electronegatividad) del punto de inhibición estarán muy reducidos, mientras que aparecerán muy oxidados los situados debajo del punto de interferencia. Por ejemplo, en presencia de antimicina A, la *NADH-oxidasa*, las flavoproteínas y el citocromo *b* se encuentran fuertemente reducidos, y fuertemente oxidados los citocromos *c* y *a-a₃*. Por consiguiente, estos resultados nos indican que la antimicina A debe actuar entre el citocromo *b* y el citocromo *c* y que, a su vez, el citocromo *b* y el citocromo *c* están situados próximos en la cadena. Con este criterio, y mediante el uso combinado de inhibidores y sustratos, se ha podido confirmar la secuencia enunciada en la figura 10.1.

Localización de los «sitios de fosforilación»

Los «sitios de fosforilación» son aquellos lugares de la cadena respiratoria donde se supone que la síntesis del ATP está acoplada al transporte electrónico. Para su localización podemos utilizar criterios parecidos a los seguidos para la determinación de la secuencia de la cadena respiratoria.

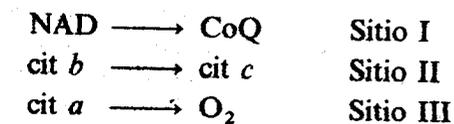
Diferencias de potencial redox estándar

Conociendo los potenciales redox estándar, podemos calcular el cambio de energía libre estándar utilizando la ecuación (véase cap. 9, ecuación 9.20):

$$\Delta G^{\circ} = -n\mathcal{F}\epsilon^{\circ}$$

Donde *n* es el número de electrones que se transfieren; \mathcal{F} , el faraday, y ε°, la diferencia de los potenciales redox estándar en voltios.

Realizados estos cálculos (fig. 10.1), encontramos que existen tres diferencias de potencial redox, cuya energía liberada en la transferencia de dos electrones es suficiente para sintetizar una molécula de ATP. Estos son:



Aplicación del Teorema de Chance a la localización de los sitios de fosforilación

Para entender cómo puede aplicarse el Teorema de Chance a la localización de los sitios de fosforilación, tenemos que adelantar un concepto fundamental en el estudio de la respiración mitocondrial, a saber, la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa están acopladas. Este hecho indica que ambos fenómenos, transporte de electrones y fosforilación oxidativa, están conectados de tal manera que sólo pueden funcionar sincrónicamente. De hecho, si a una suspensión de mitocondrias se le suministra sustrato respiratorio, oxígeno y fósforo inorgánico, pero no ADP, la respiración (gasto de oxígeno) es muy baja. Se dice entonces que la mitocondria está en el estado 4 (véase tabla 10.1), es decir, su respiración está limitada por ADP. Si ahora añadimos ADP, el consumo de oxígeno aumenta muy considerablemente (estado 3), hasta que todo el ADP añadido es fosforilado. Terminada la fosforilación, la mitocondria recupera lo que hemos denominado estado 4. Por consiguiente, en el estado 4 (es decir, en ausencia de ADP) la cadena respiratoria está inhibida por la ausencia de ADP, y dicha inhibición debe sufrir efecto precisamente en aquellos lugares de la cadena respiratoria donde tiene lugar la síntesis de ATP, es decir, en los denominados «sitios de fosforilación». Pues bien, si medimos el porcentaje de formas oxidadas y reducidas de los componentes de la cadena respiratoria en el estado 4, encontraremos unos puntos donde estarán disminuidos los porcentajes de las formas reducidas. De hecho, confirmando las anteriores predicciones, estos puntos coinciden con los «sitios de fosforilación» propuestos por los cálculos de los cambios de energía libre estándar.

Tabla 10.1
ESTADOS METABOLICOS DE LA MITOCONDRIA

Estado	Concentración de oxígeno	Concentración de sustrato	Concentración de ADP	Velocidad de la respiración	Factor limitante de la respiración
1	Suficiente	Baja	Baja	Lenta	ADP
2	Suficiente	Muy baja	Alta	Lenta	Sustrato
3	Suficiente	Alta	Alta	Rápida	Cadena respiratoria
4	Suficiente	Alta	Baja	Lenta	ADP
5	Nula	Alta	Alta	Nula	Oxígeno

Razón fósforo/oxígeno

La razón fósforo/oxígeno indica las moléculas de ATP sintetizadas por átomo de oxígeno consumido. Dicha razón puede determinarse si se añade una cantidad conocida de ADP a una suspensión mitocondrial en el estado 4. Por consiguiente, el gasto de oxígeno ocurrido en el estado 3, hasta el regreso de nuevo al estado 4, corresponde con el oxígeno necesario para fosforilar el ADP añadido.

En este sentido, la razón fósforo/oxígeno es igual a 3 para el caso de los sustratos NAD, a 2 para el caso de los sustratos FAD y a 1 para el caso del ascorbato. Este hecho nos indica que el primer sitio de fosforilación está situado antes de la coenzima Q, el sitio de fosforilación II se encuentra entre éste y el citocromo *c* y, por último, el sitio de fosforilación III está situado entre el citocromo *c* y el oxígeno.

Por consiguiente, la aplicación conjunta de los criterios antes enunciados sugiere que los sitios de fosforilación están situados como sigue:

- Sitio I: Entre la flavoproteína 1 y la coenzima Q.
- Sitio II: Entre el citocromo *b* y el citocromo *c*₁.
- Sitio III: Entre el citocromo *a* y el oxígeno.

Mecanismo de transporte de electrones

El perfeccionamiento de los medios instrumentales ha permitido el descubrimiento de nuevos componentes de la cadena respiratoria (fig. 10.2). En este sentido, la mayor parte de los componentes descubiertos en los últimos años son ferroproteínas no hemínicas. Dichas ferroproteínas tienen una estructura parecida a la de la ferredoxina (cap. 11). La ferredoxina es una ferrosulfoproteína en la que los átomos de hierro y azufre están dispuestos en estructuras cúbicas, cuyos vértices son alternativamente ocupados por los átomos de hierro y azufre. Podemos distinguir tres grupos principales de ferrosulfoproteínas asociadas con la cadena respiratoria: 1) ferrosulfoproteínas asociadas al canal NAD; 2) ferrosulfoproteínas asociadas con el canal del succinato y, por último, 3) una ferrosulfoproteína asociada con los citocromos *b* y *c*. Las relacionadas con el canal del succinato se denominan S-1, S-2, etc., y las asociadas con el canal NAD con los símbolos N-1, N-2, etc. La importancia de las ferrosulfoproteínas en la cadena respiratoria parece evidente, puesto que su situación coincide con los sitios de fosforilación I y II y, por otro lado, son las responsables de la inhibición por rotenona y antimicina A.

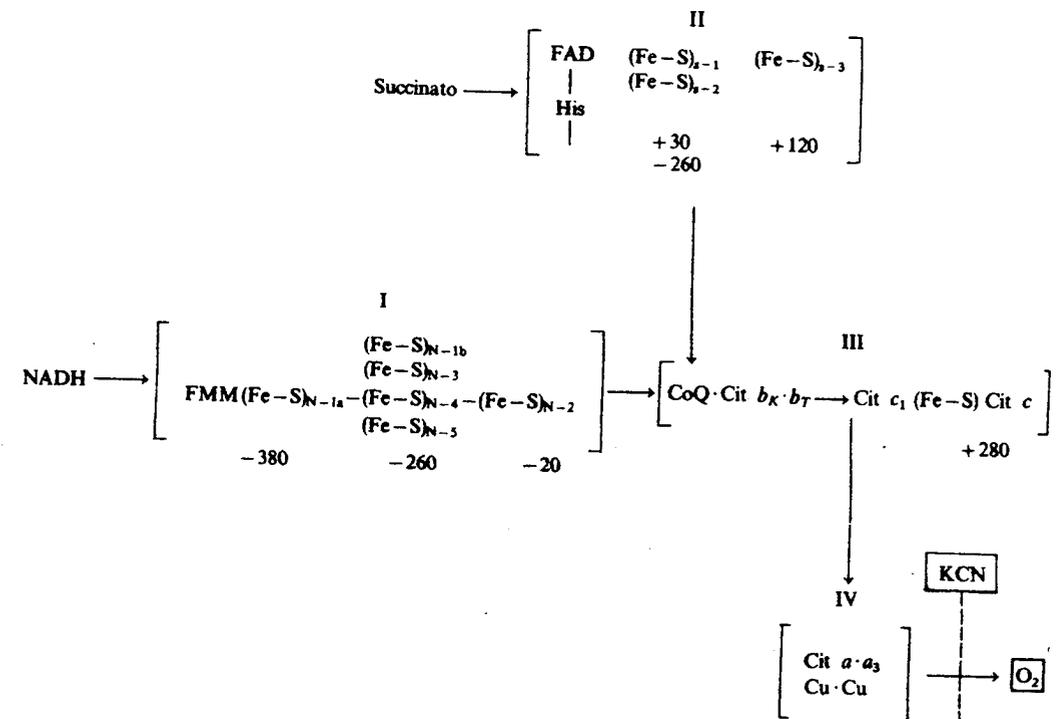


Figura 10.2. Esquema de los componentes de la cadena respiratoria mostrando los complejos de Green. I, II, III y IV: complejos de Green; Fe-S: ferrosulfoproteínas (no hemínicas). Las cifras indican los potenciales redox estándar aproximados, en milivoltios. CoQ: coenzima Q o ubiquinona.

También se han añadido al esquema anterior dos especies diferentes del citocromo *b* (b_K y b_T) que difieren en su potencial redox y tienen sus máximos en la banda α a 526 y 566 nm, respectivamente. El posible cambio conformacional del citocromo *b* en el transcurso del transporte de electrones, es muy importante en la «hipótesis conformacional», como tendremos ocasión de comentar más adelante.

Una vez conocidos los componentes de la cadena respiratoria, debemos preguntarnos cómo se realiza, de hecho, la transferencia de electrones entre un componente y otro. Para contestar a esta pregunta, necesitamos conocer lo más posible acerca de la disposición espacial de las componentes en la cadena respiratoria. En este sentido, en la figura 10.2 se agrupan los componentes de la cadena en complejos enmarcados entre corchetes. La existencia de tales complejos, denominados complejos de Green, está basada en las experiencias de aislamiento y reconstrucción de los componentes de la cadena respiratoria. Según este criterio, la cadena respiratoria está formada por cuatro complejos, resultado de la asociación supramolecular de los componentes en unas estructuras aislables, de peso molecular conocido. Sin embargo, si estudiamos estos complejos, observamos que los componentes de cada uno de ellos difieren entre sí sensiblemente, sobre todo en lo que se refiere a sus potenciales redox estándar. Por consiguiente, los complejos de Green pueden tener una utilidad experimental indudable, pero no predicen nada sobre el mecanismo de transporte de electrones a través de la cadena respiratoria.

Por esta razón, Chance propone la asociación de los componentes de la cadena en complejos isotopotenciales, es decir, en complejos que agrupan los intermediarios con potencial redox estándar similar. Este tipo de asociación es puramente teórico (fig. 10.3) y no está reñido con los complejos de Green. De hecho, es fácilmente predecible que los componentes de la cadena respiratoria se separen de acuerdo con ciertos criterios estructurales que no tienen por qué coincidir con su disposición funcional. En este sentido, Chance agrupa a los componentes de acuerdo con su potencial redox, en unos complejos tales que mantienen entre sí una diferencia de potencial redox suficiente como para que pueda llevarse a cabo la síntesis de ATP.

El número de transportadores de cada complejo (cinco en el 1, cuatro en el 2, cinco en el 3 y más de dos en el 4) permite que se considere a estas asociaciones como «lastres redox». Este concepto quiere indicar que la aceptación o donación de un electrón por un componente del complejo no modifica sensiblemente el potencial redox estándar del complejo en su conjunto. Este hecho es verdaderamente importante, pues permite imaginar una cadena respiratoria, como la real,

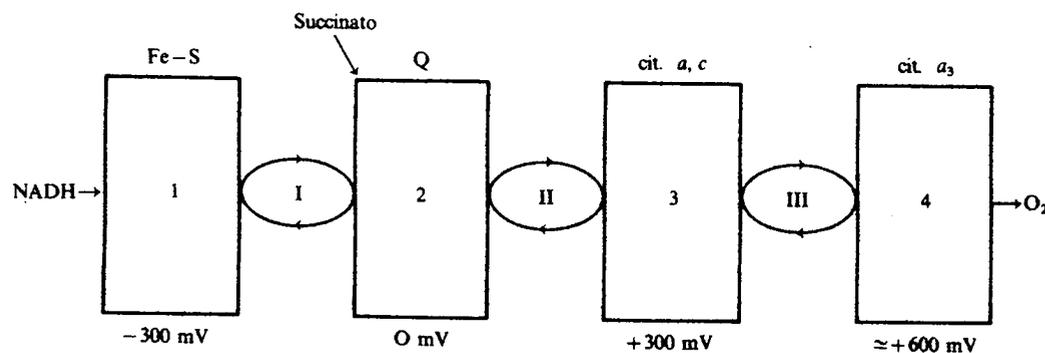


Figura 10.3. Cadena respiratoria según Chance. 1, 2, 3 y 4: complejos de Chance o «lastres redox»; I, II, III: sitios de fosforilación.

capaz de transportar un electrón/seg en estado de reposo (estado 4), y de hasta veinte electrones/seg en el estado 3. Esto no sería posible si no existieran en cada complejo diversos transportadores, agrupados de tal manera que la toma de un electrón por uno de ellos no cambia el potencial redox del grupo, lo que permite el flujo continuo de electrones. La denominación de «lastre redox» quiere indicar que cada complejo tiene un «peso redox» suficiente como para que el transporte de electrones no modifique sensiblemente el potencial redox del conjunto.

Por otro lado, la proximidad espacial del donador y el aceptor de electrones es una necesidad absoluta. Así, tanto si la transferencia de electrones se realiza gracias al efecto «tuneling» como si se hace por solapamiento de orbitales externos, la distancia entre los transportadores tiene que ser muy pequeña (de 20 o 10 Å respectivamente). Esto no quiere decir, sin embargo, que los grupos tradicionalmente considerados como funcionales (por ejemplo, el grupo hemo de los citocromos) tengan que estar obligatoriamente tan cercanos en el espacio. En efecto, el resto de la molécula puede servir también como conductor o intermediario en el transporte de electrones. Sin embargo, dada la extrema dificultad existente en el aislamiento de los componentes de la cadena en su estado nativo, poseemos pocos datos para entender cómo se lleva a cabo, realmente, la transferencia de electrones entre un centro activo y otro. Un par de casos mejor conocidos nos pueden servir como ejemplo para entender cómo se realiza la transferencia de electrones entre dos centros activos:

Citocromo *c*. El citocromo *c* es fácilmente extraíble en su estado nativo, lo que ha permitido que su estructura sea la mejor conocida de entre los transportadores de la cadena respiratoria (fig. 10.4). En este sentido, estudios recientes parecen indicar que los electrones provenientes del citocromo c_1 podrían ser captados por aminoácidos aromáticos del citocromo *c*, tales como el triptófano y la fenilalanina y, de ellos, cedidos al hierro del núcleo tetrapirrólico.

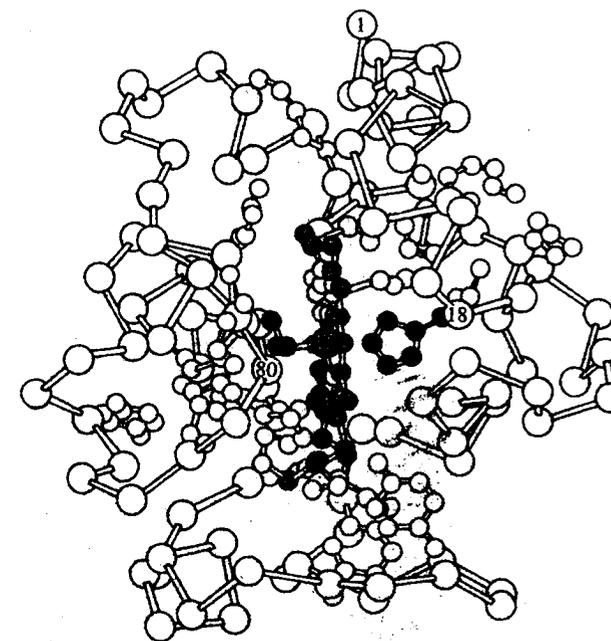


Figura 10.4. Citocromo *c*. En sombreado el grupo hemo, en negro la metionina 80 y la histidina 18.

Citocromo oxidasa. En este caso los electrones procedentes del citocromo *c* serían captados por el hierro del núcleo tetrapirrólico del citocromo *a*, y de éste, transferidos al del *a₃*. Hay que destacar que los citocromos *a* y *a₃* parecen constituir una sola molécula proteica con dos núcleos tetrapirrólicos, uno de tipo *a* y otro de tipo *a₃*, así como, al menos, dos átomos de cobre. La cuproproteína sería la encargada de aceptar el oxígeno, y los núcleos *a* y *a₃*, de transferir los electrones al oxígeno (véase fig. 10.9).

Por otro lado, no conocemos con exactitud si la transferencia de electrones se lleva a cabo en grupos de dos electrones o de uno en uno. Sin embargo, lo más probable es que se haga en grupos de dos y que, de alguna manera, lleguen a la *citocromo oxidasa* cuatro electrones a la vez para originar dos moléculas de agua. Así, si sólo llegaran dos electrones, se produciría agua oxigenada, y si uno solo, superóxido. Hay evidencias experimentales de que tales sustancias se producen en ciertas circunstancias. Sin embargo, la existencia de *superóxido dismutasa*, capaz de convertir el superóxido en agua oxigenada, y de la *catalasa*, capaz de convertir el agua oxigenada en agua y oxígeno, asegura la inactivación de estas sustancias tan peligrosas para las estructuras celulares.

Topología de los componentes de la cadena respiratoria

En los organismos eucarióticos, los componentes de la cadena respiratoria están situados en la membrana interna mitocondrial. La mitocondria es un orgánulo membranoso de aproximadamente dos micrómetros de grosor, cuya forma depende de la procedencia tisular de las células que la contienen. Dado que su tamaño es similar al de una bacteria, su estructura puede ser observada incluso al microscopio óptico. Posee dos membranas bien definidas, una lista externa y otra interna que presenta numerosas invaginaciones. La interna posee numerosas estructuras esféricas orientadas hacia el interior, unidas a la membrana por un tallo cilíndrico. Estas estructuras, observadas por primera vez por Fernández-Morán, se denominaron en un principio «partículas elementales» y hoy, más comúnmente, esferas mitocondriales. Durante algún tiempo se discutió si dichas partículas estaban o no embutidas en la estructura de la membrana interna. En efecto, se sospechaba que los métodos tradicionales de fijación de las preparaciones pudiesen provocar la salida de las partículas hacia el interior de la mitocondria. Finalmente, el tratamiento de la preparación microscópica con métodos que no requieren fijación previa confirmó la disposición primariamente descrita por Fernández-Morán, es decir, sobresaliendo hacia el interior de la mitocondria. La membrana interna engloba un «plasma» denominado *matriz*, en el que destacan al microscopio partículas muy densas a los electrones, denominados granos, que están compuestos de hidroxapatita. Por último, cercanos a la membrana interna, existen ribosomas encargados de la síntesis de algunas proteínas mitocondriales (una minoría) y el DNA (circular) que codifica para tales proteínas. Algunas de estas características, DNA circular, ribosomas 50S, etc., han permitido proponer una atractiva hipótesis sobre el origen de la mitocondria, a la que se supone procedente de una primitiva bacteria en simbiosis con la célula eucariótica.

El perfeccionamiento de los métodos de centrifugación diferencial ha permitido no sólo el aislamiento de mitocondrias totalmente funcionales, sino incluso la separación de cada una de sus membranas. Efectivamente, aprovechando la mayor riqueza en colesterol de la membrana externa, se pueden separar las dos membranas por tratamiento con digitonina. Así, rota la membrana externa por el tratamiento, la interna se despliega formando mitoplastos, que más tarde se

rompen, vesiculando en estructuras cerradas más o menos homogéneas. La menor densidad de estas últimas se aprovecha para separarlas de los restos de la membrana externa. Por otro lado, si el tratamiento se realiza con ultrasonidos, la vesiculación de los fragmentos de la membrana interna es más homogénea, pero, por una razón no aclarada, las vesículas se cierran al contrario de su posición normal, es decir, con las esferas mitocondriales hacia el exterior.

La separación y purificación de las membranas mitocondriales ha permitido localizar las enzimas y los transportadores de electrones dentro de las propias estructuras mitocondriales.

Así, la *membrana externa*, que posee una gran permeabilidad, hasta moléculas de peso molecular inferior a la albúmina, incluye en su estructura numerosas enzimas, entre las que destacan:

- *Monoamino oxidasa*. Cataliza la oxidación de neurotransmisores.
- *NADH-citocromo c reductasa* (insensible a la rotenona).
- *Quinurenina oxidasa*. Cataliza un paso clave en la degradación del triptófano y en la síntesis de ácido nicotínico y de serotonina.
- *Acil-CoA sintetasa*. Cataliza la activación de los ácidos grasos a acil-CoA.
- *Sistema de elongación de ácidos grasos* (C₁₄—C₁₆).
- *Fosfolipasa A-2*.

El *espacio intermembranal* está ocupado también por enzimas, de las que destacan:

- *Adenilato quinasa*.
- *Nucleótido difosfoquinasa*.
- *Nucleótido monofosfoquinasa*.

La *matriz*. Contiene numerosas proteínas enzimáticas, de las que destacan las siguientes:

- *Enzimas del ciclo del ácido cítrico*. Todas, menos la succinato deshidrogenasa.
- *Piruvato carboxilasa*. En todas las especies, anaplerótica y gluconeogénica.
- *Fosfoenol-piruvato carboxiquinasa*. (En algunas especies.) Gluconeogénica.
- *Acil-CoA transferasa*. Activación de los ácidos grasos por transferencia de CoA procedente del succinil-CoA.
- *Enzimas de la β-oxidación*.
- *Aspartato aminotransferasa*.
- *Ornitina transcarbamilasa*. Única del ciclo de la urea en mitocondria.
- *Glutamato deshidrogenasa*.

Membrana interna. Difiere estructural y funcionalmente de la membrana externa. En efecto, la membrana interna es prácticamente impermeable a los solutos, hasta el punto de que es la responsable de la compartimentación mitocondrial, puesto que constituye la verdadera barrera que separa la matriz del resto del citoplasma. Sería prolijo citar aquí el catálogo completo de los componentes de la membrana interna. Mencionaremos, sin embargo, que en ella están localizados:

- Todos los componentes de la *cadena respiratoria*.
- Todos los componentes de la *fosforilación oxidativa*.
- *Succinato deshidrogenasa*. Única del ciclo del ácido cítrico propiamente particulada.
- *3-hidroxibutirato deshidrogenasa*.

— *Ferroquelatasa*. Catalizadora de la adición de hierro al núcleo tetrapirrólico. Fundamental en la síntesis de los citocromos y de la hemoglobina.

— *Sistema de elongación de ácidos grasos* (C_2 — C_{10}), etc.

Esta enorme variedad de componentes, sumada a las posibles proteínas estructurales, así como a los transportadores (de ATP, ácidos tri y dicarboxílicos, glutamato, piruvato, ornitina, etc.), da origen a una membrana con un altísimo contenido proteico. De hecho, las proteínas constituyen el 80 por 100 del total, quedando sólo un 20 por 100 para los lípidos. La fracción lipídica está formada principalmente por cardiolipinas (difosfatidilglicerol), mientras que el contenido en inosito-fosfátidos (fosfatidil-inositol) y colesterol es muy bajo.

Por consiguiente, en la membrana interna mitocondrial, la bicapa lipídica ha quedado reducida al mínimo ante la presencia de tan alto número de componentes proteicos. Pues bien, en esta estructura están situados los componentes de la cadena respiratoria y de la fosforilación oxidativa. Pero ¿se trata de proteínas periplásmicas o integrales? Es decir, los componentes de la cadena respiratoria, ¿están simplemente en la superficie o embutidos en la estructura de la membrana? En este sentido parece evidente que los transportadores de electrones son proteínas integrales, puesto que son difícilmente extraíbles, a excepción del citocromo *c*. Por otro lado, dado el grosor de la capa lipídica (unos 40 Å), incluso el componente de menor tamaño, es decir, el citocromo *c* ($30 \times 34 \times 34$ Å), debe mostrarse por una de las dos superficies de la membrana, mientras que la *citocromo oxidasa* ($40 \times 80 \times 60$ Å) puede aparecer a ambos lados. Con los medios instrumentales de que disponemos en la actualidad no podemos conocer aún la disposición exacta de los transportadores dentro de la estructura de la membrana. Sin embargo, podemos investigar hacia qué lado de la membrana es accesible el sitio activo. En este sentido, describimos a continuación algunos ejemplos (fig. 10.5)

Citocromo oxidasa

La azida es un conocido inhibidor de la *citocromo oxidasa*. Sin embargo, si adicionamos azida a una suspensión de mitocondrias intactas, la inhibición es indetectable. De hecho, la membrana mitocondrial es impermeable a la azida, lo que nos indica que la *citocromo oxidasa* no es accesible por el lado exterior de la membrana. Sin embargo, si junto a la azida adicionamos calcio, la inhibición de la *citocromo oxidasa* surte efecto. Puesto que el calcio permite la entrada de la azida en la mitocondria, podemos considerar que el centro activo de la *citocromo oxidasa* (inhibible por azida) está expuesto hacia el lado de la matriz (fig. 10.5).

Citocromo *c*

El citocromo *c* (fig. 10.5) es fácilmente extraíble a partir de mitocondrias intactas. Sin embargo, el rendimiento de la extracción es bajísimo si se utilizan fragmentos sónicos que, como se recuerda, vesiculan con la membrana en disposición inversa a la nativa. Este hecho sugiere que el citocromo *c* está situado en el lado externo de la membrana.

Glicerol-fosfato deshidrogenasa y succinato deshidrogenasa

El glicerol-fosfato (fig. 10.5), sustrato de la *glicerol-fosfato deshidrogenasa* mitocondrial (*glicerol oxidasa*), es capaz de ceder *in vitro* electrones al ferricianuro.

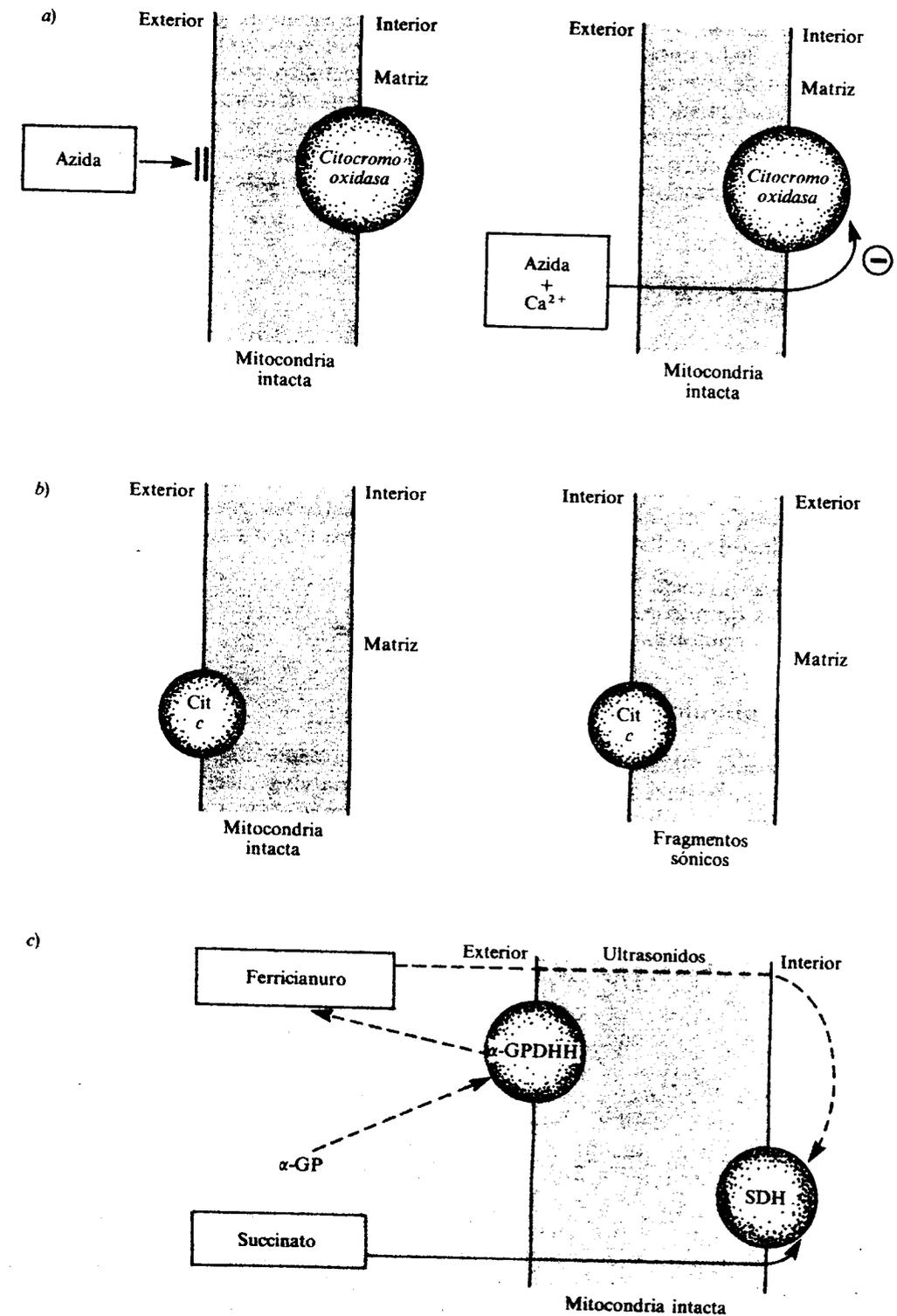


Figura 10.5. Localización en la membrana interna mitocondrial de: a) citocromo oxidasa; b) citocromo *c*; c) glicerol-fosfato deshidrogenasa (α -GPDH) y succinato deshidrogenasa (SDH). Para más detalles, véase el texto.

Puesto que la membrana mitocondrial es impermeable al glicerol-fosfato y al ferricianuro, deducimos que la *glicerol-fosfato deshidrogenasa* está situada en el lado exterior de la membrana. Por otro lado, el succinato, sustrato de la *succinato deshidrogenasa*, puede pasar libremente a través de la membrana. Sin embargo, el ferricianuro, que podría aceptar electrones del succinato, no es efectivo en mitocondria intacta, aunque sí después de un tratamiento débil con ultrasonidos. Este hecho sugiere que el centro activo de la *succinato deshidrogenasa* está situado hacia la matriz.

FOSFORILACION OXIDATIVA

Después de este breve resumen acerca de la estructura y funcionamiento de la cadena respiratoria, ha llegado el momento de que nos preguntemos cómo la energía liberada por la cadena respiratoria puede ser utilizada en la síntesis de ATP. Adelantemos que no poseemos aún una respuesta completamente satisfactoria a esta pregunta. Sin embargo, podemos tratar de responder a ella a través de las tres hipótesis enunciadas hasta el momento. Todas ellas intentan explicar cómo la energía originada en el transporte de electrones puede ser traducida en energía utilizable en forma de ATP. Estas hipótesis son las siguientes:

Hipótesis química. Slater, 1953.

Hipótesis quimiosmótica. Mitchell, 1961.

Hipótesis conformacional. Boyer-Chance, 1964.

Hipótesis química

Básicamente, Slater parte de un hecho sobradamente comprobado: la naturaleza siempre se imita a sí misma. Es decir, la materia viva suele utilizar sistemas en funcionamiento y sobradamente comprobados, como base para el desarrollo de nuevas funciones. Con esta idea, buscamos algún proceso, evolutivamente más antiguo, que nos pueda servir de modelo para explicar la fosforilación oxidativa. En este sentido, el precedente metabólico más adecuado es la fosforilación unida al sustrato, proceso que tiene lugar en la glucólisis, es decir, en una de las vías metabólicas evolutivamente más antiguas. De los posibles ejemplos, estudiaremos la fosforilación del ADP en el transcurso de la reacción catalizada por la *3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa* y la *3-fosfoglicerato quinasa* (fig. 10.6).

La reacción catalizada por la *3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa* podemos dividirla en dos partes. En la primera, se produce la oxidación del 3-fosfogliceraldehído a 3-fosfoglicerato. El cambio de energía libre de esta primera parte es aprovechado en la segunda para la fosforilación del 3-fosfoglicerato. Este último compuesto contiene un enlace rico en energía, que es utilizado en la reacción siguiente, catalizada por la *fosfoglicerato quinasa*, para la fosforilación de un ADP. En resumen, se trata de aprovechar la energía liberada en la oxidorreducción de AH_2 en BH_2 , para la fosforilación de A, el cual, en un paso posterior, cede el fosfato al ADP para dar origen a ATP (fig. 10.6). Esto es, según Slater, lo que podría ocurrir en la fosforilación oxidativa. Así, la energía liberada en el transporte electrónico sería utilizada en la formación de un compuesto fosforilado rico en energía que, en una reacción siguiente, fosforilaría el ADP para dar ATP. Este esquema cumple, además, una de las características más importantes de la fosforilación oxidativa, es decir, su «acoplamiento» con la cadena respiratoria. En este sentido, si no existe ADP que fosforilar, el compuesto A no podría ser liberado de

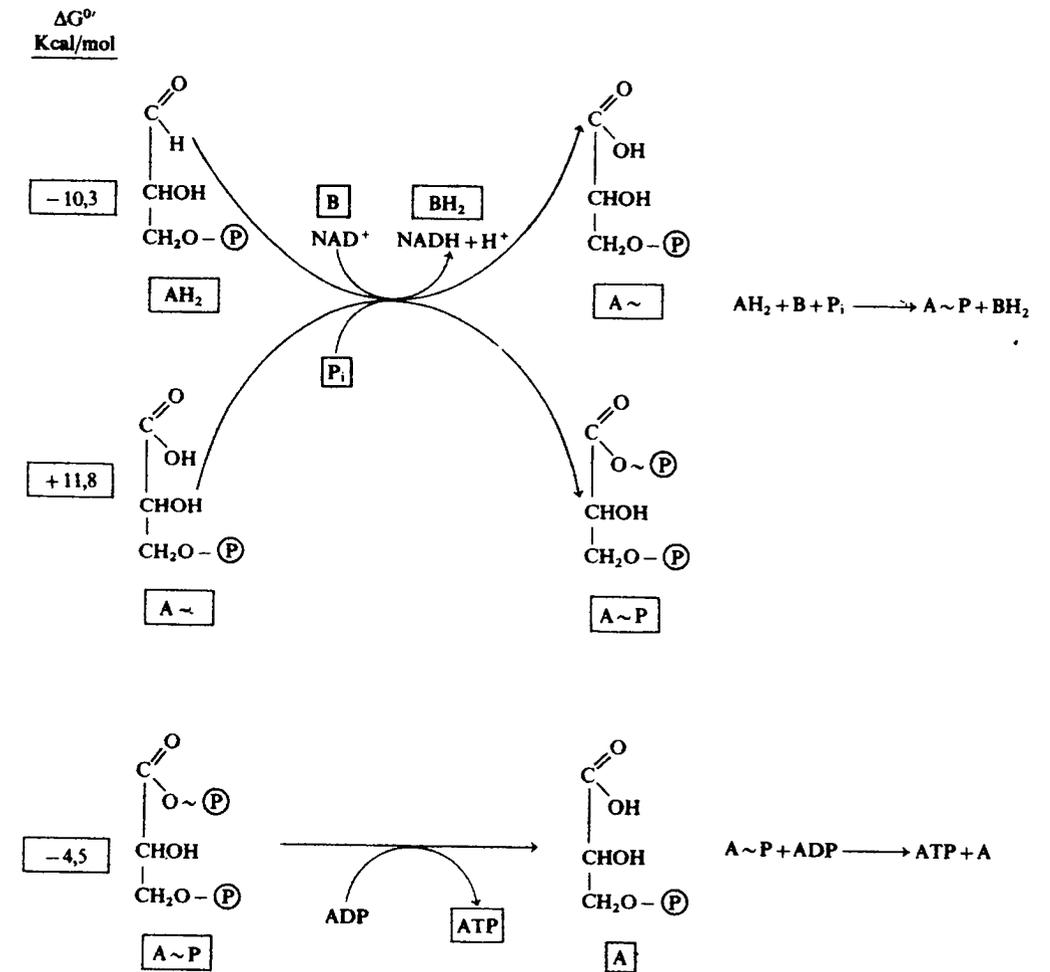


Figura 10.6. Reacción catalizada por la *3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa* y *3-fosfoglicerato quinasa* como ejemplo de fosforilación unida al sustrato. \textcircled{P} : $-\text{PO}_4\text{H}_2$. Para más detalles, véase el texto.

su forma $A \sim P$ y, en consecuencia, sería incapaz de aceptar nuevamente electrones, con la consiguiente inhibición de la respiración. Así pues, esta hipótesis da cuenta de uno de los hechos experimentales más importantes, es decir, el del acoplamiento existente entre la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Recordemos que el «acoplamiento» no permite el funcionamiento de uno de los dos procesos por separado.

Sin embargo, este esquema (fig. 10.6) es insuficiente para dar cuenta de otros hechos experimentales, lo que ha obligado a proponer el que se expone en la figura 10.7. Como vemos, la principal diferencia con el esquema anterior es la presencia de intermediarios ricos en energía no fosforilados, encargados de transmitir la energía al compuesto fosforilado. La presencia de estos intermediarios es necesaria para dar cuenta del mecanismo de acción de los desacopladores. En efecto, existen sustancias (naturales, tales como el dicumarol y las hormonas tiroideas, y de síntesis, tales como el dinitrofenol) capaces de desacoplar («desconectar») la respiración de la fosforilación. La adición de estas sustancias a una suspensión mitocondrial provoca un extraordinario aumento del consumo de oxígeno en ausencia de síntesis de ATP. Este fenómeno se explica por el hecho de que

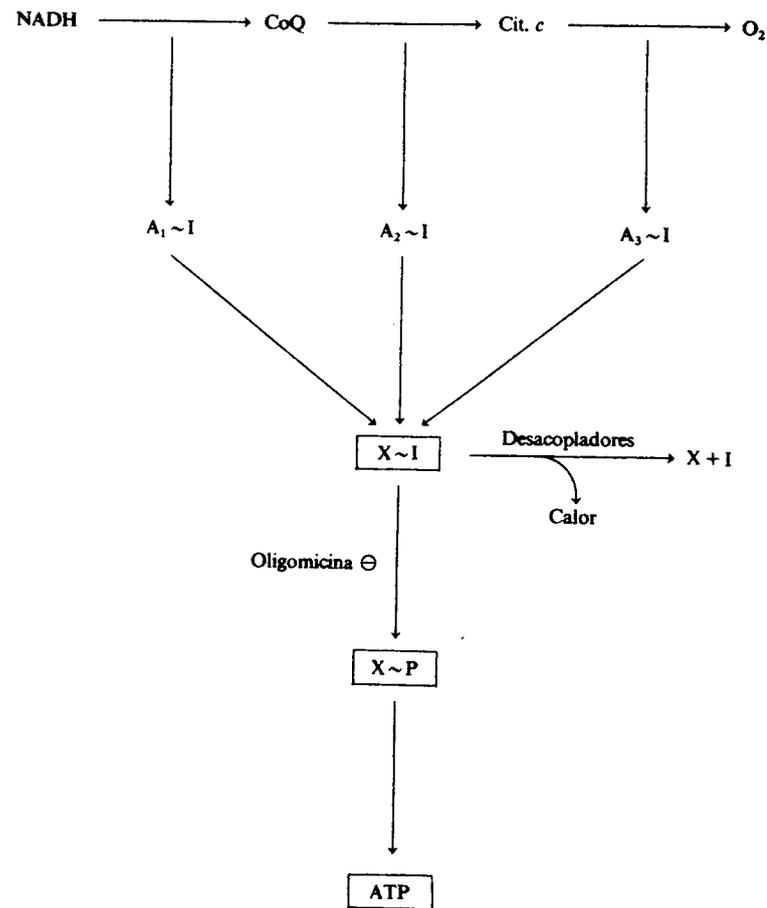


Figura 10.7. Fosforilación oxidativa según la hipótesis química. A₁ ~ I, A₂ ~ I, A₃ ~ I y X ~ I: compuestos ricos en energía no fosforilados; X ~ P: compuesto rico en energía fosforilado.

estas sustancias es la de llevar a cabo el desacoplamiento, en ausencia de ADP y fosfato. Por consiguiente, deben existir intermediarios ricos en energía no fosforilados sobre los que los desacopladores ejercen su acción. En este sentido, los desacopladores hidrolizarían estos compuestos, liberando la energía almacenada en forma de calor. De esta manera, los transportadores de la cadena respiratoria podrían reincorporarse a su misión transportadora, facilitando el consumo de oxígeno. Esta característica de los desacopladores explica, asimismo, el mecanismo de acción de la *oligomicina*. En efecto, la *oligomicina* inhibe la respiración en el estado 3 (es decir, en presencia de ADP y fosfato), aunque la inhibición se supera por la presencia de desacopladores. Sin embargo, los desacopladores son incapaces de superar la inhibición producida por los inhibidores respiratorios, tales como la rotenona, antimicina A o cianuro. Por consiguiente, la *oligomicina* no es un inhibidor de la cadena respiratoria, sino de la fosforilación oxidativa. Por otro lado, la inhibición de la *oligomicina* tiene lugar más allá de los compuestos ricos en energía no fosforilados, puesto que sobre éstos actúan los desacopladores.

Otro hecho que destaca en este esquema es la presencia de un intermediario rico en energía no fosforilado común para los tres sitios de fosforilación (X ~ I). Este intermediario es aparentemente innecesario, puesto que los compuestos ricos en

energía de cada sitio de fosforilación (A₁ ~ I, A₂ ~ I y A₃ ~ I) podrían ceder directamente la energía al compuesto fosforilado X ~ P. Sin embargo, se postula la existencia de este intermediario común, puesto que existe transmisión de energía de un sitio de fosforilación a otro en presencia de oligomicina. En efecto, en presencia de oligomicina (que impide la transferencia de la energía al ATP) y de antimicina A (que impide el transporte de electrones entre la coenzima Q y el citocromo c), el succinato es capaz de reducir al NAD en presencia de ascorbato. Es decir, la oxidación del ascorbato libera energía en el tercer sitio de fosforilación, energía que se transmite al sitio I, en donde permite la reducción del NAD por el succinato en contra del potencial redox. En otras palabras, la energía generada en el sitio III sirve para conducir los electrones en sentido contrario a su tendencia redox. Por consiguiente, si existe transmisión de energía entre los sitios de fosforilación, debe existir un intermediario rico en energía no fosforilado, común para los tres sitios de fosforilación.

Hipótesis quimiosmótica

Primera formulación (Mitchell, 1961)

En este estado de cosas irrumpe en la literatura científica la hipótesis quimiosmótica, enunciada por Mitchell en un artículo publicado en *Nature*. Mitchell parte de un argumento negativo, a saber: en los ocho años transcurridos desde la enunciación de la hipótesis química, dice, los esfuerzos por aislar los intermediarios ricos en energía han sido infructuosos, lo que sugiere que tales intermediarios, simplemente, no existen. Por otro lado, la integridad de la membrana mitocondrial es estrictamente necesaria para que la respiración y la fosforilación oxidativa puedan llevarse a cabo, un hecho experimental que no puede ser explicado por la hipótesis química. De hecho, los intentos de reconstitución del proceso *in vitro* han sido siempre infructuosos. Por consiguiente, Mitchell propone otro modelo absolutamente diferente, que puede resumirse en los siguientes postulados:

1. La membrana interna de la mitocondria es impermeable a los protones.
2. La cadena transportadora de electrones está situada en la membrana interna de la mitocondria, de tal manera que mediante su funcionamiento asimétrico provoca la expulsión de protones.
3. La *ATPasa*, sistema enzimático encargado de la síntesis de ATP, funciona asimétricamente, captando protones del exterior.
4. Existe un sistema de difusión de cambio, probablemente H⁺/K⁺, que tiene por objeto disipar el gradiente de pH sin eliminar el potencial de membrana.

Postulados de la hipótesis quimiosmótica

Primer postulado. El primero de los postulados requiere poca explicación. Se propone que la membrana interna mitocondrial es impermeable a los protones. Como veremos más tarde, hay pruebas experimentales que parecen apoyar esta afirmación.

Segundo postulado. Mitchell propone que la cadena respiratoria está situada asimétricamente en la estructura de la membrana, formando tres «curvas» («loops») cuyo funcionamiento provoca la expulsión de protones. Las tres «curvas» (fig. 10.8) tomarían contacto por el interior con los tres tipos de sustratos, sustratos NAD, succinato y ascorbato, respectivamente, y, fundamentalmente,

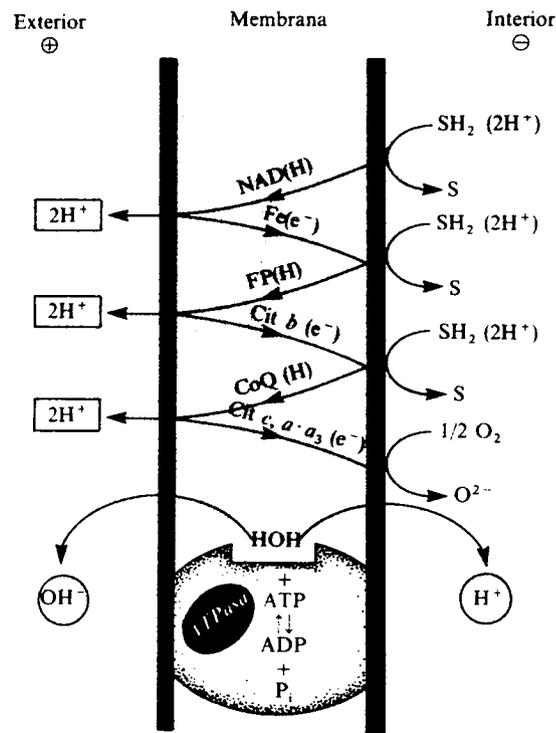
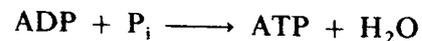


Figura 10.8. Primera formulación de la hipótesis quimiosmótica. SH₂: sustrato reducido. *ATPasa*: *ATP sintasa*, enzima que cataliza la síntesis de ATP. Para más detalles, véase el texto.

constarían de un componente transportador de protones y otro de electrones. En la primera «curva» estos transportadores serían el NAD⁺ y una ferrosulfoproteína, respectivamente, en la segunda, una flavoproteína y el citocromo *b*; en la tercera, la coenzima Q y los citocromos *c* y *a-a*₃. Cada «curva» provocaría la expulsión de dos protones precedentes de sustratos respiratorios existentes en disolución en el contenido de la matriz. Por otro lado, se propone la existencia de una cuarta «curva» (no reseñada en la fig. 10.8), que correspondería a la NAD⁺/NADP⁺-*transhidrogenasa*. Como vemos, el funcionamiento asimétrico de la cadena respiratoria provoca un aumento de la concentración protónica en el exterior de la membrana cargando positivamente el exterior, mientras que el interior resulta cargado negativamente. Este potencial de membrana será el responsable de la síntesis de ATP, como veremos a continuación.

Tercer postulado. La *ATPasa* (más correctamente llamada *ATP sintasa*) es el complejo enzimático mitocondrial encargado de la síntesis de ATP. Cataliza, por tanto, la reacción



Según Mitchell, en la razón de acción de masas de esta reacción no debe olvidarse la presencia del agua. En efecto, cuando una reacción tiene lugar en medio acuoso, no se tiene en cuenta la concentración de agua, ya que esta concentración es tan alta que no sufre variaciones significativas en el transcurso de la reacción. Sin embargo, en un medio tan hidrófobo como es la membrana mitocondrial, tenemos que considerar al agua como un producto más de la

reacción. Por consiguiente, la transformación del agua en otro producto desplazaría el sentido de la reacción hacia la producción de ATP. Según Mitchell, la fuerte concentración protónica del exterior de la mitocondria podría extraer un hidroxilo del fosfato, mientras que la fuerte concentración de iones hidroxilo del interior extraería un protón del ADP, desplazando la reacción hacia la formación de ATP. Por esta razón, se postula la asimetría de la *ATPasa*, puesto que estaría diseñada de tal manera que el hidroxilo sería extraído sólo hacia el exterior, mientras que el protón lo haría siempre hacia el interior. Como vemos, según la hipótesis quimiosmótica, *no existen sitios de fosforilación propiamente dichos*, sino que la síntesis de ATP tiene lugar siempre que exista un gradiente protónico suficiente.

Cuarto postulado. El cuarto postulado indica que existe un sistema de difusión de cambio (posiblemente H⁺/K⁺) que disipa el gradiente de pH, sin suprimir el potencial de membrana. Este postulado se introduce en la hipótesis, a la vista de que, experimentalmente, sólo se detecta una pequeña disminución del pH como resultado de la respiración mitocondrial (véase más adelante).

Comprobación experimental de los postulados

Antes de pasar a describir las posteriores modificaciones de la hipótesis quimiosmótica, es imprescindible que confrontemos los postulados antes mencionados con los hechos experimentales. De esta manera, podremos decidir si el modelo de Mitchell es más útil que otros para explicar el funcionamiento de la cadena respiratoria y de la fosforilación oxidativa.

En efecto, la hipótesis de Mitchell debe dar cuenta de los siguientes hechos experimentales:

1. *La membrana mitocondrial debe ser impermeable a los protones.* Este hecho parece confirmado por la siguiente experiencia: si a una suspensión mitocondrial añadimos una determinada cantidad de protones (clorhídrico, por ejemplo) el pH aumenta muy lentamente, lo que nos indica que los protones están siendo tomados por la mitocondria, pero solamente por difusión pasiva residual. Este hecho sugiere que la membrana mitocondrial es impermeable a los protones.
2. *Los componentes de la cadena respiratoria deben estar situados de acuerdo con la asimetría postulada.* Las experiencias ya mencionadas acerca de la localización de los componentes de la cadena respiratoria (fig. 10.5) están, en líneas generales, de acuerdo con la descripción de Mitchell. Recordemos que la *citocromo oxidasa* está situada hacia el interior de la membrana; el citocromo *c* en el exterior, la *succinato deshidrogenasa* en el interior, etc. En este sentido, la información que poseemos sobre la disposición de los transportadores de la cadena respiratoria en las dos primeras «curvas» aún es confusa. Sin embargo, se puede afirmar con casi absoluta seguridad, que la *citocromo oxidasa* forma un complejo molecular que atraviesa de lado a lado la membrana mitocondrial; el citocromo *c* asoma por el lado exterior de la membrana, mientras que el centro de unión del oxígeno lo hace hacia el interior (fig. 10.9).
3. *Los componentes de la cadena respiratoria deben estar ordenados de acuerdo con su potencial redox.* En este caso es difícil admitir la disposición de la coenzima Q detrás del citocromo *b*. De hecho, cuando Mitchell propone la secuencia expresada en la figura 10.8, aún no se conocía el potencial redox del citocromo *b*. Sin embargo, podemos afirmar hoy que el citocromo *b* tiene un potencial redox estándar menos electronegativo que la coenzima Q, por lo que esta disposición no es sostenible. Sin embargo, el posterior descubrimiento de numerosas ferrosulfoproteínas aumentó las posibilidades de situación de los transportadores. Además,

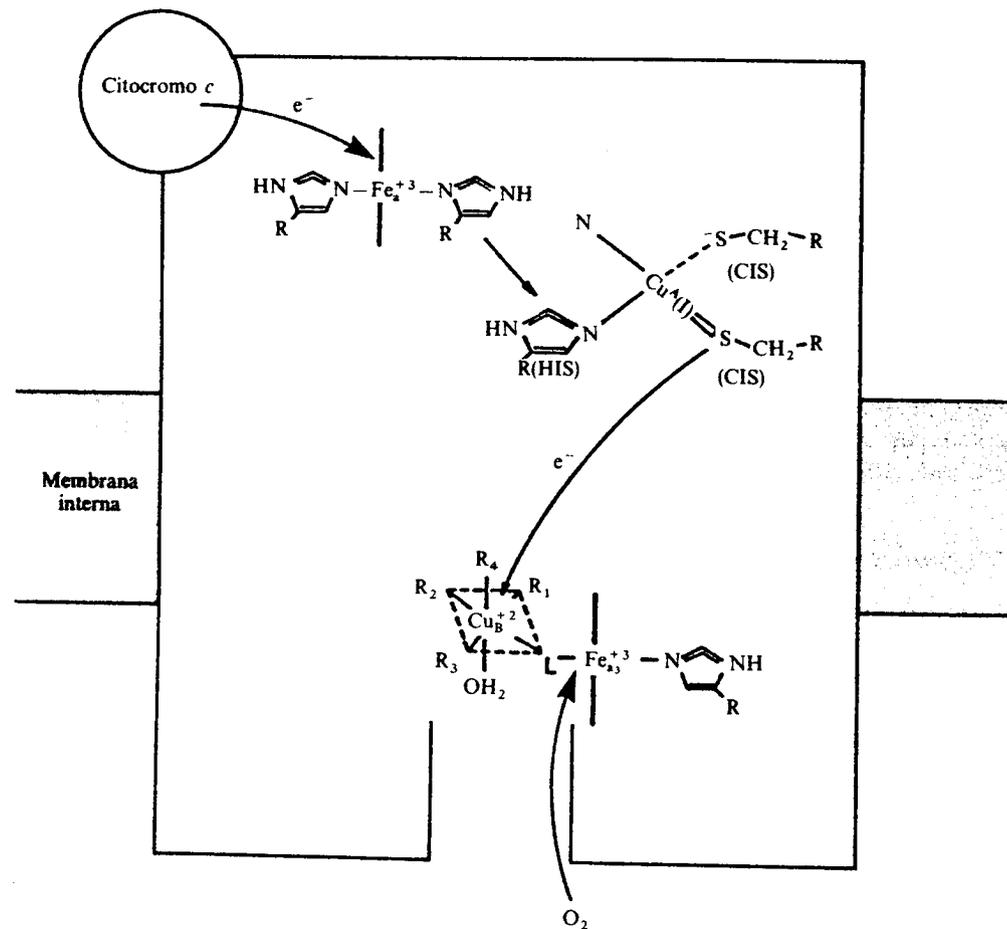


Figura 10.9. Disposición transmembranal de la citocromo oxidasa. a: citocromo a; a₃: citocromo a₃; CuA y CuB: átomos de cobre.

los citocromos b (b_T y b_K) pueden transportar protones, lo que permite, asimismo, una nueva disposición de los transportadores. En este sentido, se sitúa la coenzima Q junto con la flavoproteína, el citocromo b en el lugar ocupado por la coenzima Q, y en el hueco dejado por el citocromo b , la ferrosulfoproteína del complejo III de Green.

4. *La respiración debe disminuir el pH externo.* En efecto, si mantenemos una suspensión de mitocondrias en contacto con un electrodo de pH y permitimos el acceso del oxígeno, se detecta la caída del pH externo.

5. *Un gradiente artificial de pH debe dar lugar a la síntesis de ATP.* De hecho, un gradiente artificial de protones, causado por un rápido cambio del pH externo, produce la fosforilación del ADP con la consiguiente formación de ATP.

6. *La respiración tiene que crear un gradiente de protones suficiente para provocar la síntesis de ATP.* Recién postulada la hipótesis quimiosmótica, Slater realizó el cálculo del cambio de pH necesario para sintetizar una molécula de ATP. Dichos cálculos arrojaron una diferencia de pH de 5,7 unidades. Evidentemente, y aun admitiendo cierto error en los cálculos citados, esta cifra es muy superior a la encontrada experimentalmente. Para explicar esta discrepancia, Mitchell utiliza su cuarto postulado, en el que indica la existencia de un sistema de difusión de cambio entre protones y un catión (probablemente potasio), destinado

a disipar parte del gradiente protónico sin alterar el potencial de membrana. Es decir, que lo que antes se formulaba como

$$\Delta p = -2,3 \frac{RT}{\mathcal{F}} \Delta pH$$

Donde Δp es el potencial de membrana producido por el gradiente de protones (ΔpH), debemos formularlo ahora como sigue:

$$\Delta p = \Delta \psi - 2,3 \frac{RT}{\mathcal{F}} \Delta pH$$

Donde Δp es la fuerza protón-motriz compuesta por dos componentes: el potencial eléctrico $\Delta \psi$ y el potencial protónico $2,3(RT/\mathcal{F})\Delta pH$.

Ambos componentes son esenciales para la síntesis de ATP, puesto que dicha síntesis no tiene lugar si suprimimos alguno de ellos. Este hecho se ha podido demostrar gracias al descubrimiento del mecanismo de acción de la nigericina y valinomicina. La primera promueve futilmente la difusión de cambio H^+/K^+ , disipando ΔpH , mientras que la segunda promueve el paso de potasio al interior de la mitocondria, disipando $\Delta \psi$. Pues bien, en presencia de uno o ambos anti-bióticos, la fosforilación oxidativa no tiene lugar.

7. *La respiración debe crear un potencial eléctrico de membrana.* Los primeros intentos de determinar el potencial de membrana en mitocondria se deben a Tedeschi, que logró situar un microelectrodo en el interior mitocondrial. Con este sistema, Tedeschi encontró una diferencia de potencial claramente insuficiente para la síntesis de ATP (+10 mV). Sin embargo, los daños producidos por el electrodo en la estructura de la membrana mitocondrial quitaron cierta validez a estos resultados. Más recientemente, medidas del potencial de membrana, mediante sustancias radiactivas que se distribuyen de acuerdo con el $\Delta \psi$ o el ΔpH , han permitido medir con precisión el potencial de membrana, mostrando ser suficiente para la síntesis de ATP.

8. *La hipótesis quimiosmótica debe explicar mejor que la química el mecanismo de acción de los desacopladores.* La teoría química explica con dificultad la acción de los desacopladores. Así, es difícil de entender cómo sustancias con escaso o ningún parecido estructural puedan escindir el mismo compuesto rico en energía. Sin embargo, Mitchell explica este fenómeno haciendo notar que todos los desacopladores tienen en común dos características: 1) el de ser liposolubles y, por consiguiente, permeables a la membrana, y 2) el de ser ácidos débiles y, por tanto, probables portadores de protones (disipadores, por tanto, de ΔpH). Así, el desacoplador transportaría protones al interior de la mitocondria, donde se disociaría; una vez en forma de anión, saldría al exterior, de donde transportaría un nuevo protón al interior de la mitocondria. Este hecho impide la síntesis de ATP, pero no el funcionamiento de la cadena respiratoria, fomentando, por consiguiente, el consumo de oxígeno.

9. *El transporte de protones tiene como finalidad la síntesis de ATP.* En este sentido, los adversarios de la hipótesis de Mitchell indican que el transporte de protones es un hecho secundario, consecuencia del transporte activo de cationes al interior de la mitocondria. La argumentación es la siguiente: admitamos que se produce un flujo de protones hacia el exterior de la mitocondria. Sin embargo, es bien sabido que la membrana mitocondrial interna transporta a su interior cationes, singularmente calcio, proceso que requiere un aporte energético. Por consiguiente, la energía acumulada en los compuestos ricos en energía no fosforilados

(o el cambio de conformación de proteínas de la membrana, como veremos en la hipótesis conformacional) se utiliza para el transporte de calcio. Dicho transporte estaría acoplado a la difusión de cambio con protones, con objeto de disipar el potencial de membrana creado por el propio transporte de calcio. Naturalmente, el argumento puede formularse al contrario, puesto que la hipótesis quimiosmótica indica que la expulsión de protones es el sistema de transporte de calcio, al intercambiarse éste con las cargas exportadas.

Segunda formulación (Mitchell, 1966)

Sin embargo, los datos experimentales que ponen en entredicho la validez de la hipótesis quimiosmótica son aportados por el propio Mitchell. En efecto, él mismo determina la estequiometría H^+/ATP , encontrando que es igual a dos. Este resultado significa que es necesaria la expulsión de dos protones por cada ATP sintetizado. Este hecho concuerda con el diseño quimiosmótico de la cadena respiratoria, pero no con el mecanismo propuesto, claramente simplista, para la *ATPasa*. Así, como hemos visto en el esquema anterior (fig. 10.8), solamente es necesaria la expulsión de un protón para que tenga lugar la extracción del hidroxilo del fosfato y, en consecuencia, la síntesis de un ATP. Ante esta discrepancia, Mitchell modifica sus hipótesis como se representa en la figura 10.10.

Como vemos, se postula la existencia de dos compuestos (X es probablemente un grupo tiol e I probablemente un carboxilo) que en el exterior de la membrana toman protones y, sólo entonces, esterifican, formando un compuesto rico en energía $X \sim I$. Este compuesto viaja al interior, donde se hidroliza y, posteriormente, disocia en sus componentes. Dicha disociación se hace a costa del agua de la reacción de la *ATPasa*, liberándose protones al interior. Este movimiento de protones en favor de gradiente constituye lo que Mitchell denomina «proton

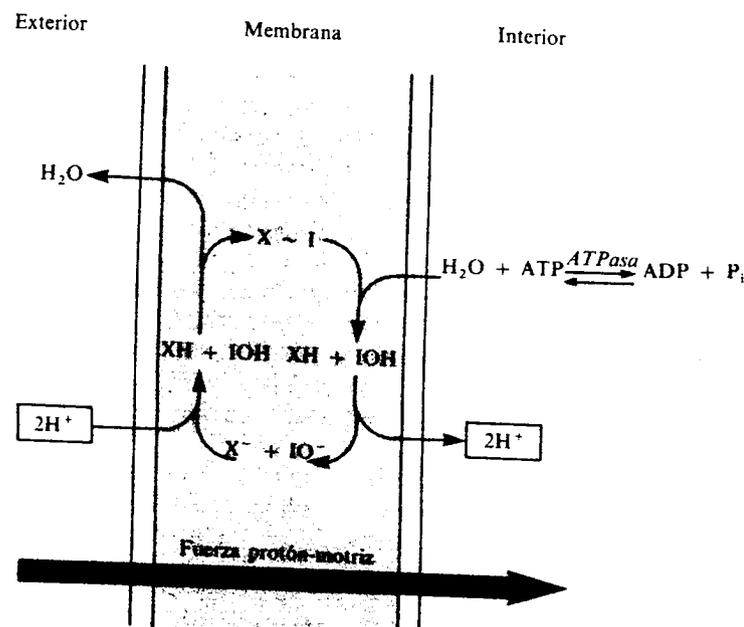


Figura 10.10. Segunda formulación de la hipótesis quimiosmótica. XH: tiol; IOH: carboxil. Para más detalles, véase el texto.

motive force», es decir, fuerza protón-motriz (a semejanza de fuerza electromotriz ϵ), responsable del funcionamiento de la *ATPasa*. Es curioso que, aunque esta modificación de la hipótesis hace caer a Mitchell en aquello de lo que pretendía huir inicialmente, es decir, de la existencia de compuestos ricos en energía, marca un hito en la atención que a sus ideas prestan el resto de los investigadores. En efecto, hasta este momento la hipótesis de Mitchell es prácticamente desconocida o, quizá debería decirse más correctamente, conscientemente ignorada. ¿Por qué ahora, cuando la hipótesis se artificializa más, es precisamente cuando empieza a ser considerada, aun siquiera como una disquisición intelectual curiosa? Quizá porque los defensores de la hipótesis química, la mayoría en estos momentos, se sienten satisfechos por la «caída» de Mitchell en los postulados tradicionales (los compuestos ricos en energía). Quizá porque los hechos experimentales empiezan a probar que la hipótesis no es ni mucho menos una elucubración visionaria.

Tercera formulación (Mitchell, actual)

Un nuevo cálculo de la razón H^+/ATP , esta vez realizado por Lehninger, demuestra, sin embargo, que se expulsan tres protones por ATP sintetizado. Este hecho hace que Mitchell modifique la hipótesis por segunda vez, proponiendo un modelo en que la estequiometría H^+/ATP no es esencial. Esta nueva formulación de la hipótesis se resume en la figura 10.11.

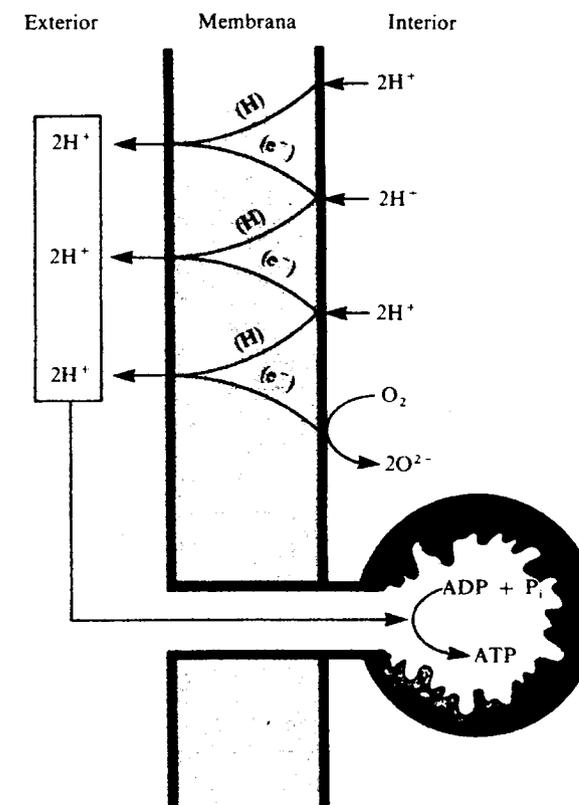


Figura 10.11. Formulación actual de la hipótesis quimiosmótica. Para más detalles, véase el texto.

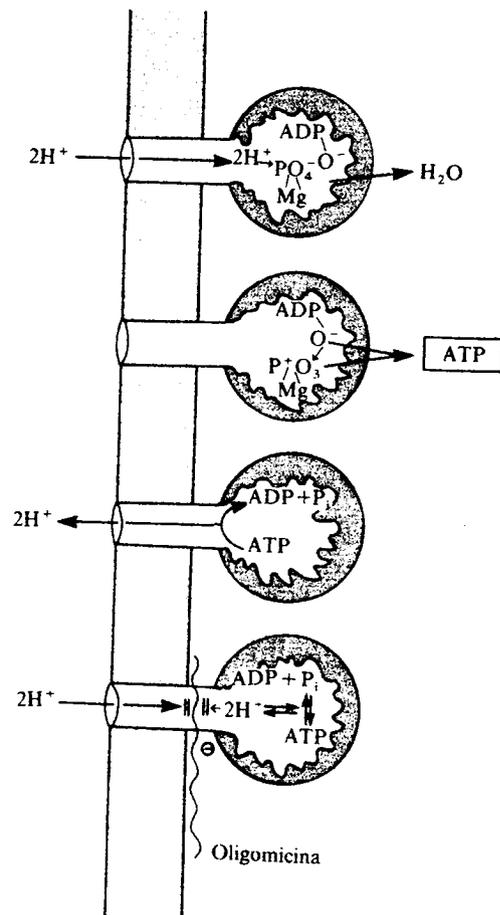


Figura 10.12. Mecanismo de la reacción catalizada por la *ATP sintasa*, según Mitchell. Para más detalles, véase el texto.

Como puede apreciarse, la maquinaria de síntesis de ATP funciona gracias al gradiente de protones producido por la cadena respiratoria. Según Mitchell, la presión protónica provocaría la deshidratación del fosfato, formándose el radical P^+O_3 , que en este momento recibiría el ataque nucleofílico del $ADP-O^-$, sintetizándose ATP (fig. 10.12). Este proceso puede funcionar en sentido contrario, actuando la hidrólisis de ATP como una bomba protónica, similar a la *ATPasa dependiente de calcio* o *dependiente de sodio-potasio*. En este esquema, la oligomicina actúa uniéndose al tallo de la *ATPasa*, lo que provoca el cierre del canal protónico y la subsiguiente inhibición del flujo de protones en ambos sentidos.

Modificación de Williams (1961)

La modificación de Williams se basa en la aparente disociación cronológica existente entre el funcionamiento de la cadena respiratoria y la expulsión de protones. Así, aparentemente la síntesis de ATP es detectable «antes» de que se produzca la salida de protones. Este hecho es inconcebible según la hipótesis quimiosmótica, donde la generación del gradiente de pH es previa a la fosforila-

ción. Para dar cuenta de estos hechos, Williams (fig. 10.13) propone que una parte de los protones procedentes de la cadena respiratoria circula, en forma anhidra, por el interior de la membrana hasta alcanzar la *ATPasa*. De esta manera, parte de ΔpH no sería detectable inmediatamente. Sin embargo, no existe ninguna prueba experimental en favor de la existencia de un *canal protónico* en el interior de la membrana, lo que hace difícilmente sostenible la proposición de Williams.

Modificación de Skulachev (1975)

Hemos mencionado anteriormente los cálculos realizados por Lehninger sobre la estequiometría H^+/ATP . En este sentido, Lehninger, utilizando métodos muy refinados, mide la razón H^+/ATP encontrando un número comprendido entre 3 y 4. Según Lehninger, la determinación realizada por Mitchell (que, como recordamos, encontró una razón de dos protones por ATP) se llevó a cabo en presencia de fosfato y, en estas circunstancias, se expulsa, al menos, un protón adicional que no es detectado, puesto que acompaña al fosfato con objeto de equilibrar cargas.

Basándose en estos datos, Skulachev propone un modelo (fig. 10.14) en el que las primeras «curvas» de la cadena respiratoria, así como la de la *transhidrogenasa*, no serían tales, sino que funcionarían como bombas protónicas. El resto, es decir, el complejo *citocromo oxidasa*, podría funcionar según la proposición de Mitchell. Las bombas protónicas funcionan a costa de la energía liberada en la cadena respiratoria, expulsando protones sin una estequiometría determinada. Mediante esta modificación, se puede dar cuenta de la expulsión de más de dos protones por cada dos electrones transferidos en la cadena respiratoria. La proposición de

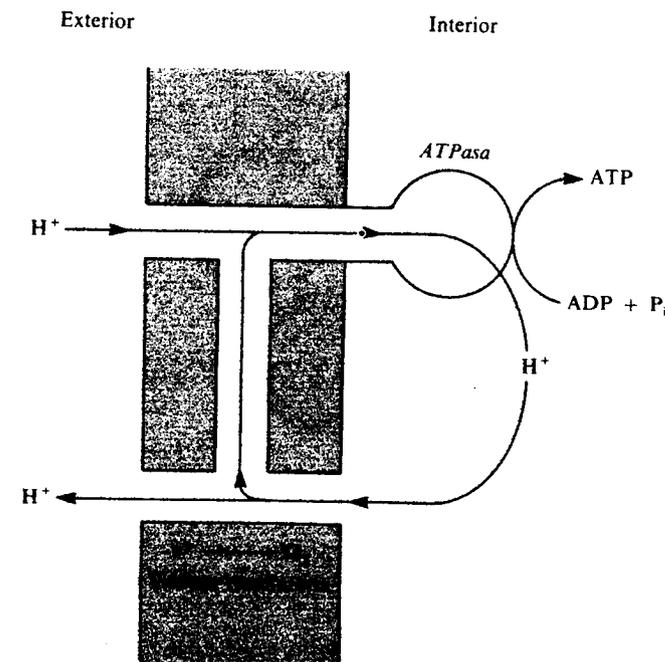


Figura 10.13. Modificación de Williams de la hipótesis quimiosmótica. Para más detalles, véase el texto.

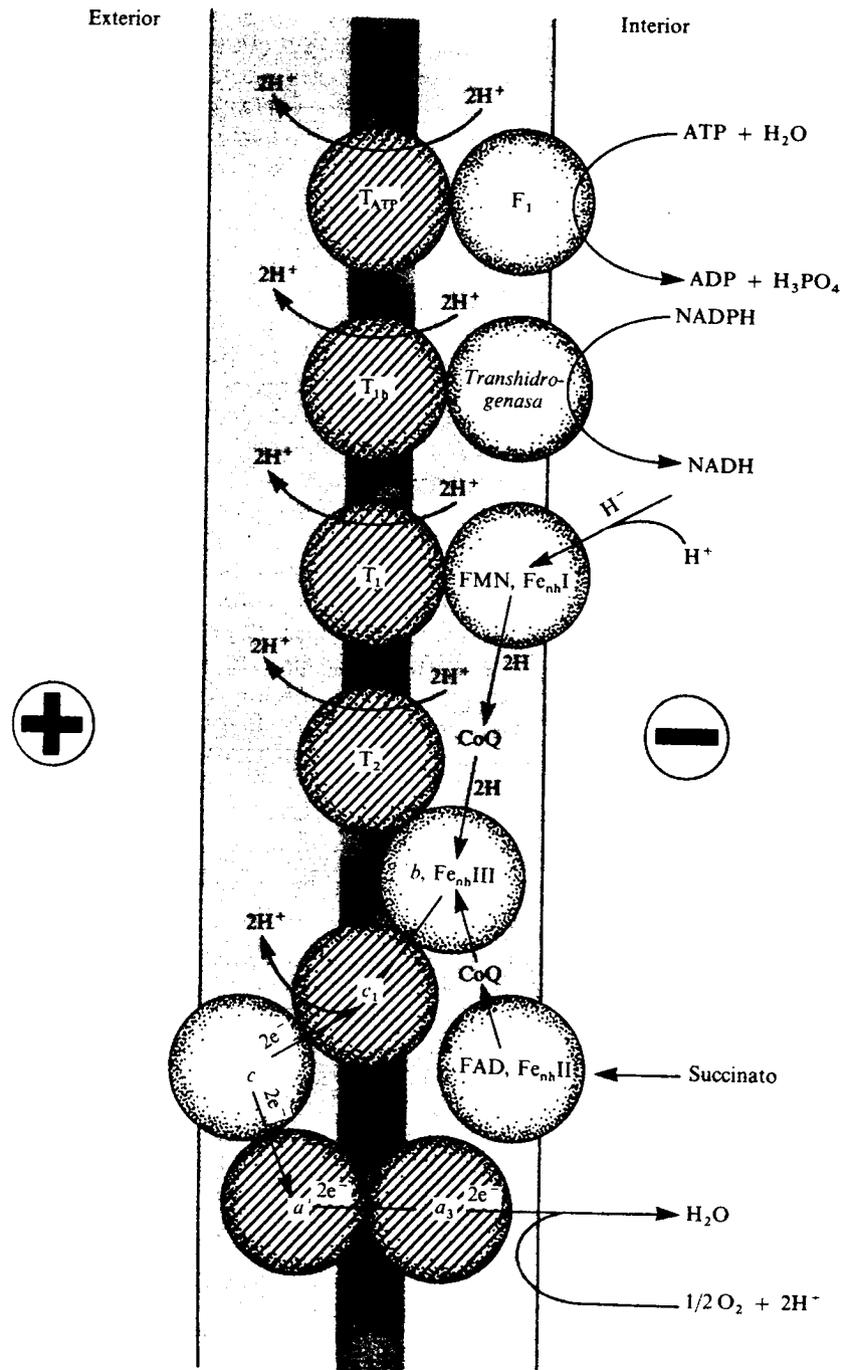


Figura 10.14. Modificación de Skulachev de la hipótesis quimiosmótica. F_1 : *ATPasa*; T_{ATP} , T_{1b} , T_1 y T_2 : transportadores de protones; Fe_{nh} : ferroproteína no hemínica (ferrosulfoproteína).

Skulachev está apoyada por las experiencias realizadas por Papa, que indican la existencia de una bomba protónica a nivel de complejo III de Green, que podría funcionar, al menos, de dos formas (fig. 10.15). En una de ellas se hace participar al citocromo c_1 , y en la otra al citocromo b_T y b_K .

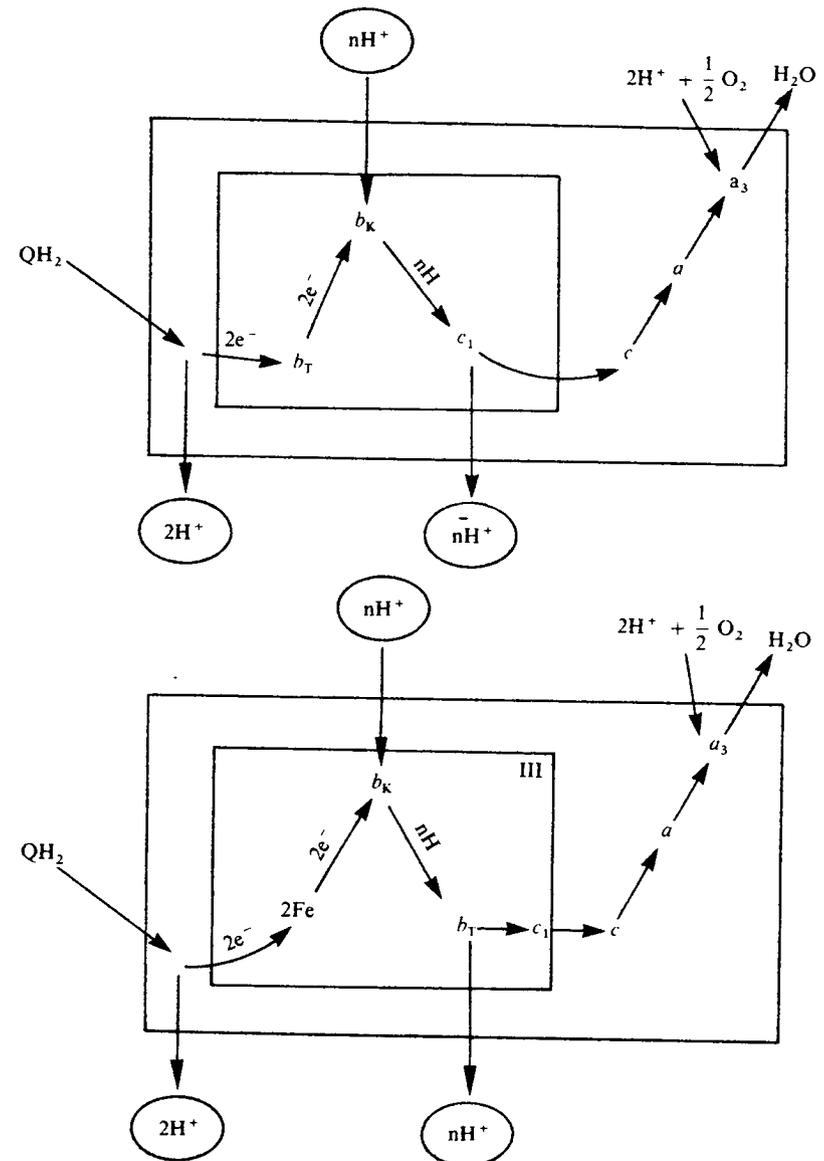


Figura 10.15. Funcionamiento de la bomba protónica del complejo III de Green, según Papa.

Hipótesis conformacional

Los considerables avances ocurridos dentro del campo de la conformación espacial de las proteínas indujeron a Boyer a proponer una nueva hipótesis, la hipótesis conformacional, que más tarde se desarrollaría gracias al apoyo de Chance. Esta hipótesis propone que la energía originada en la cadena respiratoria se transmite a la maquinaria de síntesis de ATP, gracias a un cambio de conformación de las proteínas de la membrana mitocondrial. Esta hipótesis tuvo poca aceptación en el momento de su enunciación puesto que Boyer postulaba que la

transmisión de la energía desde las proteínas hasta la maquinaria de síntesis de ATP requería la existencia de un compuesto rico en energía, que él suponía un acil-S-derivado. Más tarde, Boyer suprime el compuesto rico en energía, dejando como único intermediario el complejo proteico que sufre los cambios conformacionales.

Hasta 1973, las únicas pruebas en favor de la hipótesis conformacional eran las siguientes: 1) la mitocondria sufre un cambio estructural cuando respira. En efecto, en ausencia de ADP, la mitocondria tiene el aspecto usual, denominado «forma ortodoxa». Sin embargo, durante la respiración, la membrana interna se contrae y el espacio intermembranal aumenta a costa de la matriz («forma condensada»). Por consiguiente, existen cambios conformacionales muy notables en la membrana interna como consecuencia de la actividad mitocondrial. 2) Algunas de las proteínas de la membrana interna sufren cambios conformacionales durante la respiración. Este hecho ha sido comprobado experimentalmente mediante el uso de ciertas sustancias que, una vez unidas a las proteínas, sufren cambios en su fluorescencia como consecuencia de los cambios conformacionales de las proteínas.

A partir de 1973 aparecen otros datos experimentales más concretos a favor de la existencia de cambios conformacionales relacionados con la fosforilación oxidativa. Los más destacados son los siguientes: 1) se aportan pruebas evidentes sobre la existencia de cambios conformacionales de la *ATPasa* de cloroplastos durante la transmisión de la energía; 2) similares cambios de conformación se observan en la *transhidrogenasa*; 3) asimismo, se han observado cambios conformacionales en algunos componentes de los complejos de Green durante la transmisión de energía.

En este sentido, la visión actual de la hipótesis conformacional puede formularse como sigue:

Funcionamiento de la cadena respiratoria

Según la hipótesis conformacional, el transporte de electrones en la cadena respiratoria produce un cambio conformacional de, al menos, un componente de cada uno de los complejos de Green: I, III y IV. Dicho cambio conformacional sería transmitido a la *ATPasa* y utilizado en la síntesis de ATP. Las sustancias que sufren el cambio conformacional, denominadas «acopladores energéticos», están situadas en los sitios de fosforilación. Por otro lado, los cambios conformacionales son consecuencia del cambio del potencial redox que ocurre como resultado del transporte de electrones. Los candidatos más seguros a ser «acopladores energéticos», según Chance, son:

- La ferrosulfoproteína N-2 para el Sitio I.
- El citocromo b_T para el Sitio II.
- El citocromo a_3 para el Sitio III.

Por otro lado, la energía acumulada en los «acopladores energéticos» se emplea tanto en el transporte de protones como en la síntesis de ATP.

Transporte de protones

Según la hipótesis conformacional, la energía acumulada en los cambios conformacionales de los «acopladores energéticos» se utiliza, en parte, para generar

un gradiente protónico. Según esta hipótesis, el gradiente protónico tiene como única misión el transporte de iones a través de la membrana mitocondrial, mediante sistemas de difusión de cambio. Existen dos posibles mecanismos para la expulsión de los protones: 1) mediante la exposición al exterior de grupos disociables, que liberan lo que Chance denomina «protones Bohr», y 2) mediante los cambios conformacionales de los «acopladores energéticos» que se transmitirán a bombas protónicas como las propuestas por Skulachev. Muy recientemente, Boyer ha propuesto que los protones pudiesen ser transportados a la forma de ion hidronio (H_3O^+).

Síntesis de ATP

La hipótesis conformacional se ha aplicado, principalmente, al mecanismo de síntesis de ATP. En este sentido se propone que la energía procedente de la oxidación de los sustratos promueve la liberación de moléculas de ATP fuertemente unidas a la *ATPasa*, mientras que facilita la unión de ADP y fosfato a la enzima. El esquema propuesto por Boyer se representa en la figura 10.16.

Como vemos, la *ATPasa* estaría formada por, al menos, dos subunidades idénticas, cuyos centros activos presentan en un momento dado diferente afinidad por el ADP y el fosfato. En el estado de reposo, uno de estos centros activos está ocupado por ATP fuertemente unido a la enzima, mientras que el otro tiene una alta afinidad para el fosfato y ADP. Ahora, la energía procedente de la cadena respiratoria induce un cambio conformacional en la enzima, de tal manera que el centro activo portador del ATP deja éste en libertad. Mientras tanto, en el otro centro activo el cambio conformacional promueve la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato. El ATP así sintetizado quedaría fuertemente unido a la enzima, en espera de un nuevo cambio conformacional inducido por la energía liberada en la cadena respiratoria.

Este modelo es muy atractivo desde el punto de vista enzimológico, puesto que se trata de un mecanismo flip-flop de cooperatividad negativa como el descrito para algunas fosfatasa. La existencia de varias subunidades en la *ATPasa*, así como la existencia de interacciones cooperativas entre los centros activos durante la síntesis de ATP, parecen estar de acuerdo con este modelo. El estudio de la cinética de la *ATPasa*, así como la cuantificación del índice de Hill, puede dar una respuesta satisfactoria a esta proposición. Por otro lado, parece demostrado el carácter mixto K/V del sistema, puesto que, como ha podido demostrar el propio Boyer, el dinitrofenol aumenta la K_m aparente pero disminuye la $V_{m\acute{a}x}$ del sistema para el ADP. Los recientes estudios de Penefsky parecen confirmar el efecto cooperativo del ATP sobre la *ATPasa*, ya que han puesto de manifiesto la

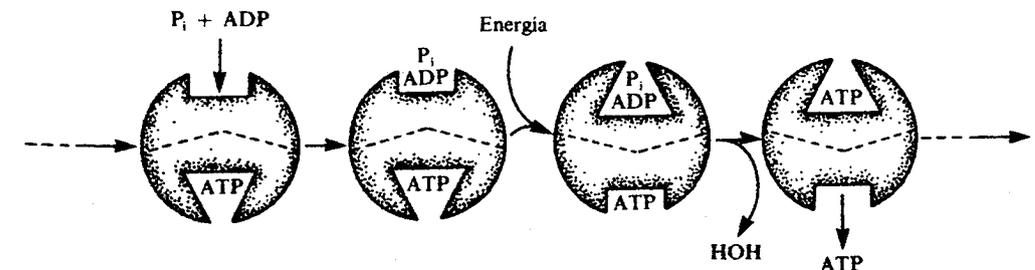


Figura 10.16. Mecanismo de reacción de la *ATP sintasa* según la hipótesis conformacional.

existencia de dos centros catalíticos con diferente afinidad por el ATP. El de alta afinidad se activa por la unión de ATP al centro de baja afinidad, lo que parece indicar la cooperación entre ambos sitios. Curiosamente, el propio Penefsky ha demostrado que la protonación de un aminoácido clave en la estructura de la parte distal de la *ATPasa* (F_0 ; véase más adelante) provoca la disociación del ATP fuertemente unido a la F_1 -*ATPasa*. Este dato abre la esperanza a la unificación de las hipótesis conformacional y quimiosmótica.

Estructura y función de la *ATPasa* (*ATP sintasa*)

Gran parte de los conocimientos actuales sobre la estructura y función de la *ATPasa* se los debemos al grupo de Racker. En efecto, Racker decidió tratar las mitocondrias por un método que empezaba a utilizarse con éxito en la disrupción de las bacterias: el molino de bolas. Después de un tratamiento suave con este sistema, se separaba una fracción mitocondrial que tenía una débil actividad ATPásica. En este punto decidió utilizar la microscopia electrónica para poder decidir de dónde procedía tal actividad. La fotografía al microscopio electrónico indicó que la fracción de *ATPasa* purificada estaba constituida por esferas de unos 90 Å, procedentes, posiblemente, de las partículas elementales de Fernández-Morán. De hecho, la fracción no soluble estaba formada por «vesículas sónicas» que carecían de esferas mitocondriales. Racker intentó la reconstrucción sin demasiado éxito, hasta que tratamientos más suaves con urea le permitieron aislar unas esferas mitocondriales con actividad ATPásica que, mezcladas con las vesículas de procedencia, se ensamblaban, dando lugar a una membrana mitocondrial muy parecida a la nativa. Sin embargo, aunque la fracción de *ATPasa* hidrolizaba el ATP, carecía de capacidad fosforilante. Por otro lado, y como le hizo notar Slater en una discusión con ocasión del Congreso Internacional de Bioquímica en Moscú, en el año 1963, «si la *ATPasa* aislada por usted es insensible a la oligomicina, dicha *ATPasa* no tiene nada que ver con la enzima de la fosforilación oxidativa». Años más tarde, Racker consiguió la reconstrucción de la *ATPasa* en circunstancias tales, que la actividad ATPásica se mostraba sensible a la oligomicina. Estos resultados animaron al aislamiento de las fracciones proteicas que constituyen la *ATPasa*, enzima que pronto pudo ser denominada *ATP sintasa*.

En la figura 10.17 se muestra la estructura de la *ATP sintasa*. Se trata de un esquema general que intenta dar cuenta de la estructura de la enzima, tanto en mitocondrias como en cloroplastos y membranas de *E. coli*. Como vemos, la *ATPasa* está localizada en las esferas mitocondriales denominadas ahora factor 1 (F_1) y está constituida por 5 clases de subunidades:

- Subunidad α . Peso molecular aproximado 59.000 daltons.
- Subunidad β . Peso molecular aproximado 56.000 daltons.
- Subunidad γ . Peso molecular aproximado 37.000 daltons.
- Subunidad δ . Peso molecular aproximado 22.000 daltons.
- Subunidad ϵ . Peso molecular aproximado 13.000 daltons.

F_1 . Las subunidades α y β constituyen el grueso de la F_1 , y tienen la responsabilidad del centro activo. Sin embargo, las subunidades γ y δ tienen misiones típicamente estructurales. La subunidad ϵ tiene probablemente una misión reguladora. No es absolutamente seguro que las subunidades γ , δ y ϵ estén situadas en el tallo de la esfera, pero su posición es concordante con las experiencias llevadas a cabo con anticuerpos específicos.

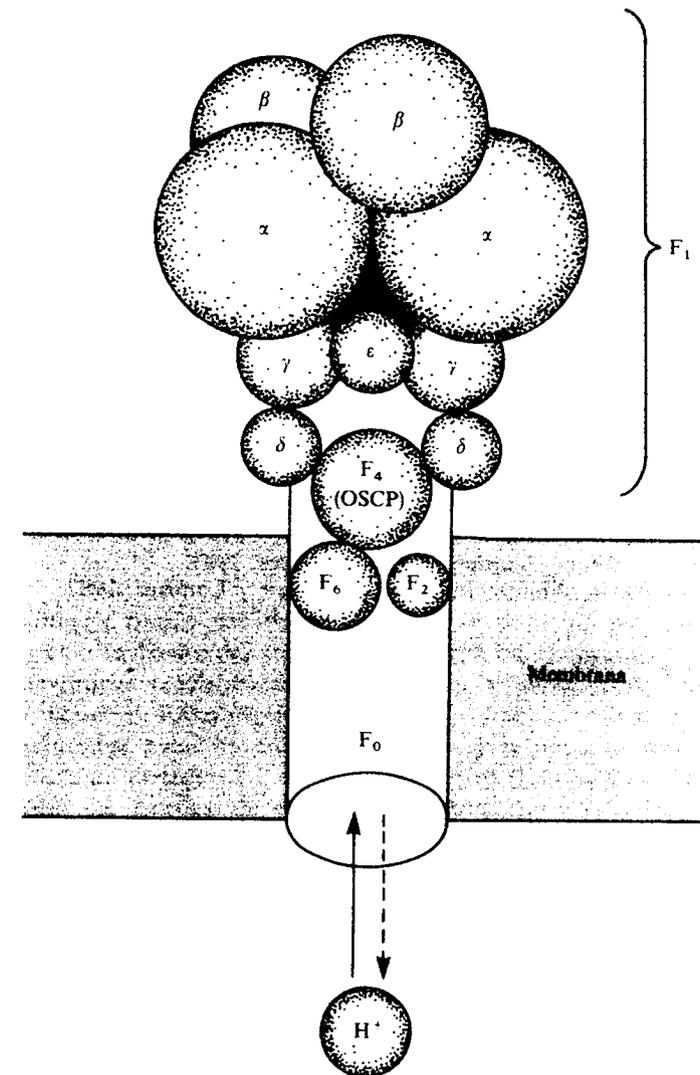


Figura 10.17. Estructura de la *ATP sintasa*. La zona en negro corresponde al centro activo; OSCP: «oligomycin sensitivity-conferring protein». Para más detalles, véase el texto.

F_2 . El factor F_2 parece tener una clara responsabilidad respecto a la translocación de protones.

F_6 . El factor F_6 parece cumplir un papel fundamental en la unión de F_1 con la membrana.

F_4 . Más conocido con el nombre de OSCP («oligomycin sensitivity-conferring protein»). Recibe este nombre puesto que es imprescindible para la acción de la oligomicina, a pesar de que no parece ser el sitio de fijación de la oligomicina a la *ATPasa*. Es el verdadero «cancerbero protónico», puesto que el transporte de protones depende estrictamente de esta proteína.

F_0 . El factor F_0 está enterrado en la membrana mitocondrial y tiene claras interacciones con los fosfolípidos de la membrana. Actúa como canal protónico, siendo regulado por el resto de los factores.

TEXTOS DE CONSULTA

- Boyer, P. D.; Chance, B.; Ernster, L.; Mitchell, P.; Racker, E., y Slater, E. C.: «Oxidative Phosphorylation and Photophosphorylation», *Ann. Rev. Biochem.*, 46:955-1026, 1977.
- Boyer, P. D.: «Bioenergetic coupling to protonmotive force: Should we be considering hydronium ion coordination and not group protonation?», *TIBS*, 13:5-7, 1988.
- Ernster, L. (ed.): *Bioenergetics. New Comprehensive Biochemistry*, vol. 9, Elsevier, Amsterdam, 1984.
- Ferguson, S. J.: «Towards a mechanism for the ATP synthase of oxidative phosphorylation», *TIBS*, 11:100-101, 1986.
- Flatt, J. P.; Pamud, P.; Ravussin, E., y Jéquier, E.: «An estimate of the P:O ratio in man», *TIBS-November*, 466-468, 1984.
- Kozlov, I. A., y Skulachev, V. P.: «H⁺-Adenosine Triphosphatase and Membrane Energy Coupling», *Biochimica et Biophysica Acta*, 463:29-89, 1977.
- Mitchell, P.: «Compartmentation and Communication in Living Systems. Ligand Condition: a General Catalytic Principle in Chemical, Osmotic and Chemiosmotic Reactions Systems», *Eur. J. Biochem.*, 95:1-20, 1979.
- Nicholls, D.: *Bioenergetics*, Academic Press, Londres y Nueva York, 1982.
- Skulachev, V. P., y Hinkle, P. C.: *Chemiosmotic Proton Circuits in Biological Membranes*, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., Londres, 1981.
- Tzagoloff, A.: *Mitochondria*, Plenum Press, Nueva York y Londres, 1982.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Fotosíntesis

AGUSTÍN G. FONTES
y JOSÉ MARÍA MALDONADO

La *fotosíntesis* puede ser definida como el proceso por el que las plantas captan la energía radiante del sol y la convierten en energía química contenida en moléculas orgánicas (carbohidratos, proteínas, lípidos, etc.). En otras palabras, mediante el proceso fotosintético las plantas sintetizan sus propias moléculas orgánicas reducidas, ricas en energía, a partir de moléculas inorgánicas oxidadas sencillas, pobres en energía. Esta capacidad de las plantas para «autoalimentarse» se debe a que las células de sus hojas poseen unos orgánulos especiales, los *cloroplastos*, en cuyo interior se aloja una perfecta maquinaria capaz de transducir la energía física de la luz en energía química, en forma de ATP y poder reductor (ferredoxina reducida y NADPH). Este puede ser considerado como el proceso básico de la fotosíntesis, constituido por las denominadas *reacciones lumínicas* o *reacciones primarias* de la fotosíntesis. La maquinaria fotosintética, que transforma la energía física de la luz en energía química, se compone de un elevado número de moléculas de pigmentos que captan la energía lumínica y la canalizan a unos «centros de reacción», y de una serie de moléculas transportadoras de electrones que permiten que éstos fluyan desde el H₂O hasta el NADP⁺ con la consiguiente formación de NADPH y O₂. Durante parte de su trayecto, los electrones «caen» a favor de un gradiente de potencial redox, quedando almacenada en forma de ATP la energía que se libera en dicha caída. Tanto las *clorofilas*, principales pigmentos fotosintéticos, como los diferentes componentes de la cadena transportadora de electrones, se hallan embebidos en las membranas internas (*tilacoides*) del cloroplasto.

El poder reductor y el ATP generados en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis son posteriormente utilizados en una serie de reacciones, denominadas *oscuras*, a través de las cuales los compuestos inorgánicos oxidados que las plantas toman del medio, tales como dióxido de carbono, nitrato y sulfato, son reducidos y asimilados, integrándose en el propio material celular. La mayor parte de las enzimas que intervienen en dichas reacciones se localizan en la matriz soluble, o *estroma*, del cloroplasto. En la figura 11.1 se representa esquemáticamente el proceso global de la fotosíntesis con indicación de los sustratos y productos resultantes de cada una de las dos «reacciones» o «fases» de que consta. Conviene destacar que las expresiones «fase lumínica» y «fase oscura» de la fotosíntesis no son del todo correctas, ya que, como se verá más adelante, muchas

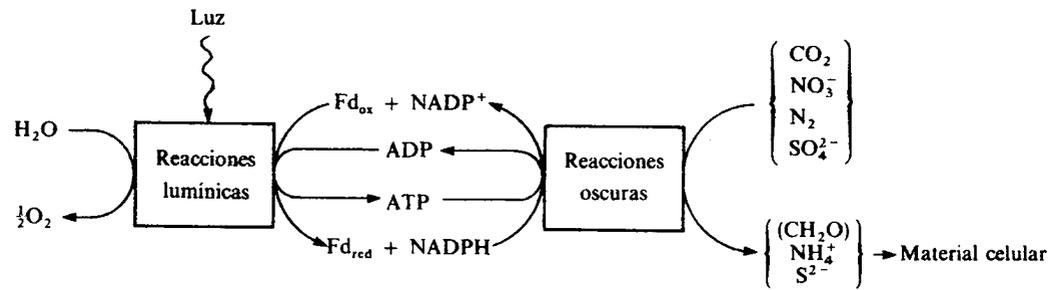


Figura 11.1. Esquema global de la fotosíntesis. La energía de la luz hace posible la transferencia de electrones desde el agua a la ferredoxina (Fd) y al NADP⁺, liberándose oxígeno como producto resultante de la oxidación del agua. El poder asimilatorio (poder reductor más ATP) generado en las reacciones luminicas se emplea en la reducción asimilatoria del carbono, nitrógeno y azufre; (CH₂O) representa una unidad de carbohidrato.

de las enzimas que participan en las reacciones oscuras, particularmente en la asimilación del CO₂, requieren luz para activarse y, en consecuencia, para poder catalizar dichas reacciones.

EL APARATO FOTOSINTETICO

Estructura del cloroplasto

Los cloroplastos son orgánulos que se encuentran únicamente en las células vegetales fotosintéticas. Tienen forma de discos lenticulares de 3 a 10 μm de diámetro y de 1 a 2 μm de espesor, y pueden existir alrededor de cuarenta por célula. Se hallan rodeados de una envoltura formada por una membrana externa y una membrana interna, separadas entre sí por un espacio intermembranal (fig. 11.2). El interior del cloroplasto está constituido por una matriz soluble o

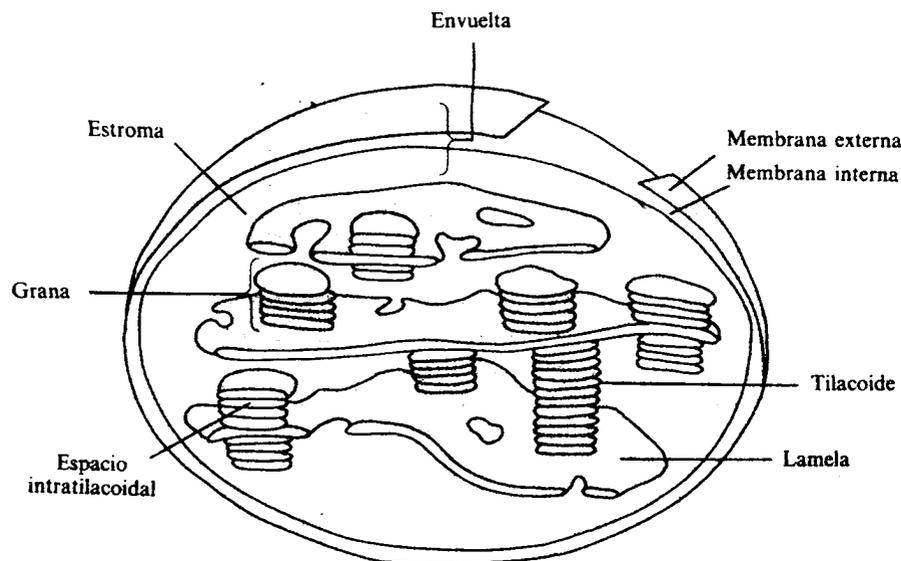


Figura 11.2. Estructura de un cloroplasto.

estroma y unas estructuras membranosas que forman sacos cerrados y aplanados denominados *tilacoides* o *lamelas*. La superficie externa de la *membrana tilacoidal* está en contacto con el estroma, mientras que su superficie interna limita el *espacio intratilacoidal*. Los tilacoides pueden apilarse unos sobre otros formando estructuras denominadas *grana*. Otro tipo de tilacoides, los llamados *tilacoides* (o *lamelas*) *del estroma*, no se apilan, sino que forman un sistema de túbulos que unen entre sí a los tilacoides de los grana.

En las membranas de los tilacoides se ubican los pigmentos fotosintéticos y los demás componentes de la maquinaria fotosintética que transduce la energía lumínica en energía química. Por el contrario, el estroma contiene las enzimas responsables de la transformación del CO₂ en azúcares, otras enzimas y proteínas solubles, y el DNA y los ribosomas propios de los cloroplastos.

Pigmentos fotosintéticos

El primer proceso en las reacciones luminicas de la fotosíntesis es la absorción de luz por las moléculas de pigmentos, que son moléculas orgánicas con un sistema de dobles enlaces conjugados, es decir, con electrones π deslocalizados, que absorben fotones de luz visible y, en consecuencia, confieren color a la molécula.

Los pigmentos involucrados en la fotosíntesis son de tres tipos: *clorofilas*, *carotenoides* y *ficobilinas*. Difieren unos de otros en las estructuras de sus moléculas y en sus espectros de absorción, es decir, en el tipo de luz visible que absorben.

Clorofilas

El color verde de las células vegetales se debe a la presencia en los cloroplastos del pigmento *clorofila*. Dicho pigmento absorbe principalmente la luz violeta-azul (400-490 nm) y la roja cercana (640-700 nm) del espectro visible (fig. 11.3). La molécula de clorofila consta de dos partes: un núcleo polar, constituido por un tetrapirrol cíclico (porfirina) con un átomo de Mg²⁺ coordinado en el centro, y una cadena apolar de fitol (20 átomos de carbono) cuyo grupo alcohólico terminal esterifica al grupo carboxilo de un resto de ácido propiónico situado en el anillo IV de la porfirina (fig. 11.4).

En los organismos fotosintéticos existen diversos tipos de clorofila que se diferencian entre sí por la naturaleza de los sustituyentes del anillo porfirínico y por sus espectros de absorción. La clorofila *a* se halla presente en todos los organismos fotosintéticos, siendo la más abundante de todas las clorofilas. Además de clorofila *a*, las plantas y algas verdes contienen clorofila *b*; las algas pardas y diatomeas, clorofila *c*, y las algas rojas, clorofila *d*. Las bacterias fotosintéticas, que realizan una fotosíntesis en la que no se desprende O₂, contienen unas clorofilas ligeramente diferentes a las de algas y plantas: son las denominadas *bacterioclorofilas*.

Las clorofilas se hallan unidas a proteínas específicas formando los complejos clorofila-proteína, que posibilitan el mantenimiento de la orientación y distancia óptimas entre las moléculas de clorofila para que la transferencia de energía de excitación entre las mismas ocurra con la máxima eficiencia posible. La unión clorofila-proteína no es covalente, por lo que el pigmento se puede extraer con facilidad mediante solventes orgánicos tales como acetona o alcohol.

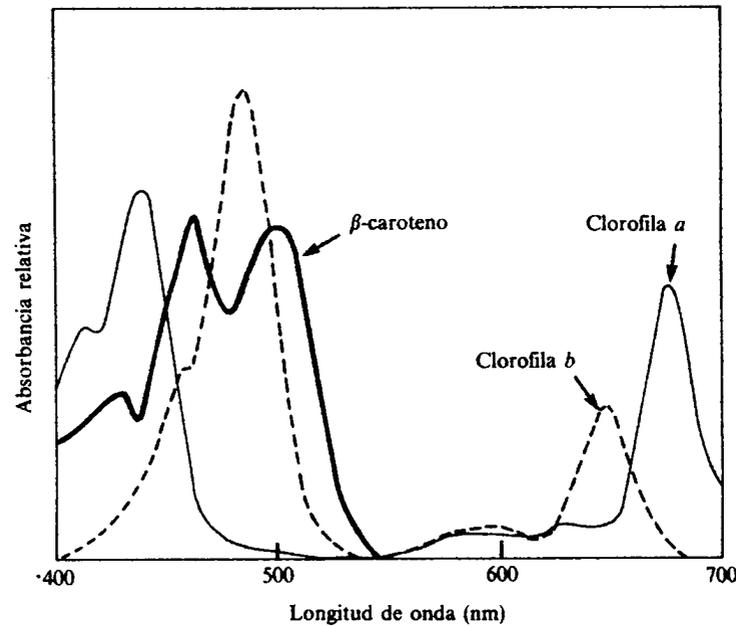


Figura 11.3. Espectros de absorción de la clorofila *a*, la clorofila *b* y el β -caroteno.

Carotenoides

Los *carotenoides* son otros pigmentos ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Su color, que va del amarillo al naranja, suele estar enmascarado por el color verde de las clorofilas, que son los pigmentos predominantes en las hojas. Los carotenoides absorben luz azul (425-490 nm) y algo de verde (490-560 nm), presentando tres bandas de absorción características (fig. 11.3).

Son terpenoides formados por ocho unidades de isopreno. Son, pues, moléculas de 40 átomos de carbono con un sistema de dobles enlaces conjugados. Los carotenoides de los cloroplastos pueden ser de dos tipos: los puramente hidrocarbonados, o *carotenos*, y los oxigenados o *xantofilas*. En la figura 11.5 se muestran las estructuras de dos de los carotenoides más abundantes en los cloroplastos: el β -caroteno y la luteína. Al igual que las clorofilas, los carotenoides se encuentran unidos a proteínas mediante enlaces no-covalentes. Además de actuar como «pigmentos antenas» captadores de luz y que transfieren su energía de excitación a las moléculas de clorofila, los carotenoides desempeñan otra función, incluso más importante, que es la de proteger a las clorofilas de fotooxidaciones destructivas que sufren en presencia de O_2 y alta intensidad de luz.

Ficobilinas

Las *ficobilinas* constituyen otro grupo de «pigmentos antenas» que acompañan a las clorofilas en las membranas fotosintéticas de algunas algas. Se encuentran covalentemente unidas a proteínas formando las llamadas *ficobiliproteínas*. Las principales ficobilinas son la *ficocianobilina* (en las algas verde-azuladas o cianobacterias) y la *ficoeritrobilina* (en las algas rojas). Son tetrapirroles, pero, a diferencia de las clorofilas, los cuatro pirroles forman una cadena abierta y no contienen Mg^{2+}

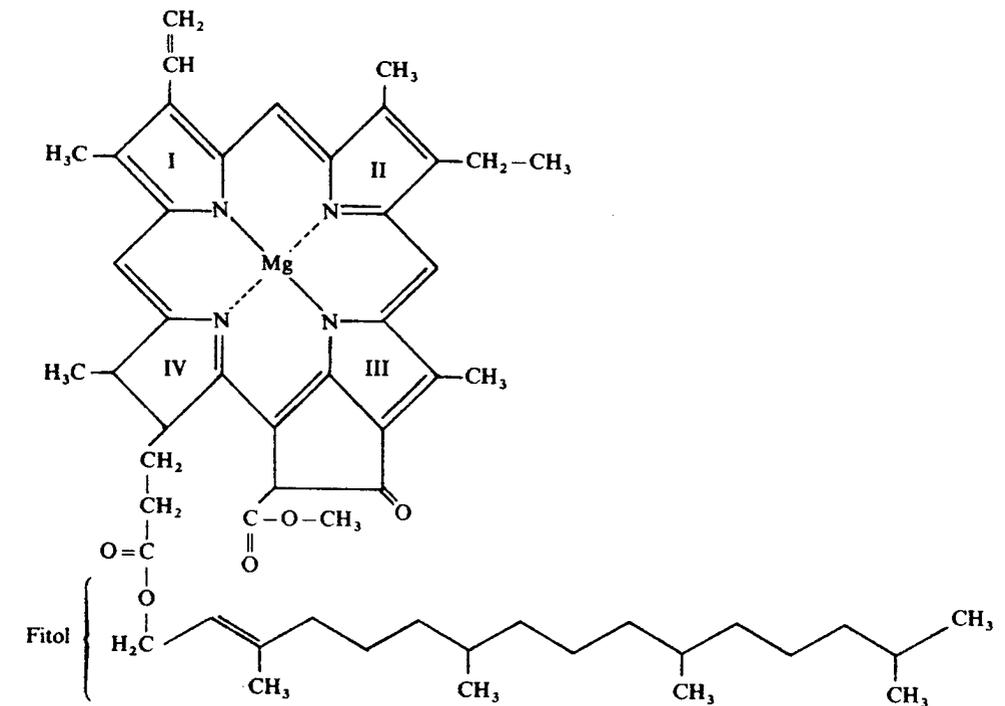


Figura 11.4. Estructura de la molécula de clorofila *a*. En la clorofila *b*, el grupo $-CH_3$ del anillo II es reemplazado por un grupo $-CHO$.

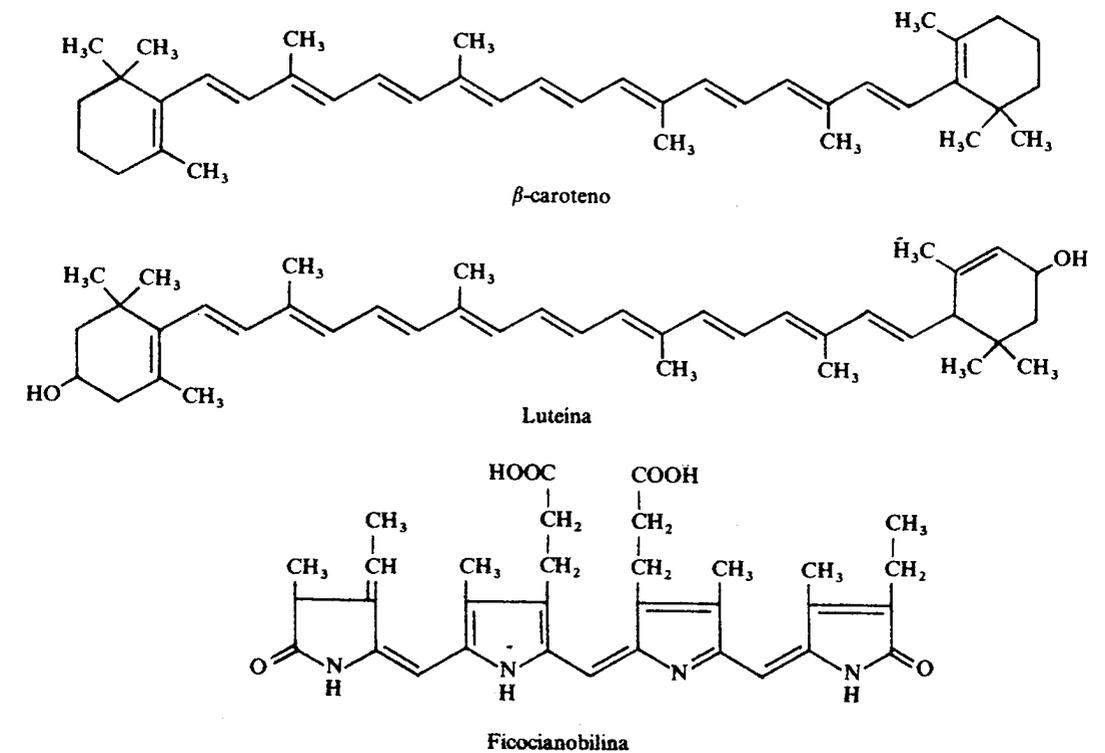


Figura 11.5. Estructuras de dos carotenoides (β -caroteno y luteína) y una ficobilina (ficocianobilina).

(fig. 11.5). Presentan máximos de absorción de luz entre 500 y 650 nm, es decir, en la región en que las clorofilas muestran una escasa absorción.

Resumiendo, podemos decir que la clorofila *a* es el principal pigmento fotosintético, hallándose presente en todos los organismos que poseen fotosíntesis oxigénica. Las restantes formas de clorofilas (*b*, *c* y *d*), los carotenoides y las ficobilinas, que constituyen los llamados pigmentos accesorios, tienen como misión extender la absorción de luz a longitudes de onda que son poco absorbidas por la clorofila *a*, aumentando así la eficiencia del proceso fotosintético.

REACCIONES PRIMARIAS DE LA FOTOSÍNTESIS

El proceso básico de la fotosíntesis es la captura de la energía física de la luz por las clorofilas y su conversión en energía redox, es decir, en la transferencia de un electrón desde una molécula donadora a otra aceptora. Dichas reacciones son denominadas *reacciones fotoquímicas* o *reacciones primarias* de la fotosíntesis.

Propiedades de la luz

La luz es un tipo de radiación electromagnética que, según la mecánica cuántica, tiene características de onda y de partícula. Cuando interacciona con las moléculas, la luz se comporta como si estuviese constituida por partículas de energía específica denominadas *cuantos* o *fotones*. La energía de un fotón (ϵ) es proporcional a la frecuencia (ν) de la radiación:

$$\epsilon = h\nu$$

donde h es la constante de Planck ($1,58 \times 10^{-34}$ cal s = $6,63 \times 10^{-34}$ J s = $4,14 \times 10^{-15}$ eV s). Es más frecuente en biología referirse a la longitud de onda de la radiación (λ) que a su frecuencia. Ambas están relacionadas de forma inversa:

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

donde c es la velocidad de la luz (3×10^8 m s⁻¹). Por tanto, la energía de un fotón, de longitud de onda λ , será:

$$\epsilon = \frac{hc}{\lambda}$$

En consecuencia, la energía de un mol de fotones será:

$$E = N\epsilon = N h\nu = \frac{Nhc}{\lambda}$$

siendo N el número de Avogadro [$6,02 \times 10^{23}$ moléculas (o fotones) por mol]. Así pues, cuanto mayor es la longitud de onda de una radiación, tanto menor es el contenido energético de sus fotones. Las radiaciones útiles para los organismos vivos se sitúan entre los 300 y 1.000 nm, que equivalen a contenidos energéticos aproximadamente entre 4 y 1,2 eV fotón⁻¹, o sea, entre 95 y 29 kcal mol⁻¹

fotones. Las radiaciones que pueden ser percibidas por el ojo humano comprenden aún un intervalo más estrecho de longitudes de onda: entre 400 y 740 nm.

Reacciones fotoquímicas

Cuando una molécula de pigmento en su «estado basal» absorbe un fotón de luz visible, un electrón de un orbital π enlazante pasa a ocupar un orbital antienlazante (π^*) de mayor energía. Se dice entonces que la molécula de pigmento se halla en «estado excitado». La energía del fotón absorbido ha de ser igual a la diferencia de energía entre los dos orbitales implicados. En otras palabras, la energía de la molécula en estado excitado es igual a su energía en estado basal más la energía del fotón absorbido. La molécula de clorofila tiene dos posibles estados excitados. El primero de ellos se alcanza cuando la molécula absorbe un fotón de luz roja, y el segundo, de mayor energía, cuando absorbe un fotón de luz azul (fig. 11.6).

Los estados electrónicos «excitados» son muy inestables, tendiendo los electrones a caer al «nivel basal» (de menor energía). Al «desexcitarse» la clorofila, la energía contenida en exceso en la molécula puede liberarse de varias formas (fig. 11.7). En primer lugar, puede ser liberada en forma de calor, como de hecho ocurre cuando el electrón cae desde el estado excitado 2 al estado excitado 1, desexcitándose la molécula sólo parcialmente. En otros casos, la energía se libera mediante emisión de un fotón de luz roja, fenómeno denominado *fluorescencia*. Por último, la molécula de clorofila excitada puede «desexcitarse» transfiriendo su energía de excitación a una molécula de clorofila vecina, la cual, como consecuencia, se excita. Mediante este proceso, la energía de los fotones absorbidos por las clorofilas y otros pigmentos antenas va pasando de una molécula a otra hasta que finalmente es atrapada por una clorofila *a* especial capaz de llevar a cabo la *reacción fotoquímica*. Efectivamente, esta clorofila *a* especial, de la que existe una molécula por cada 200-300 moléculas de clorofila, cuando se excita se hace mucho

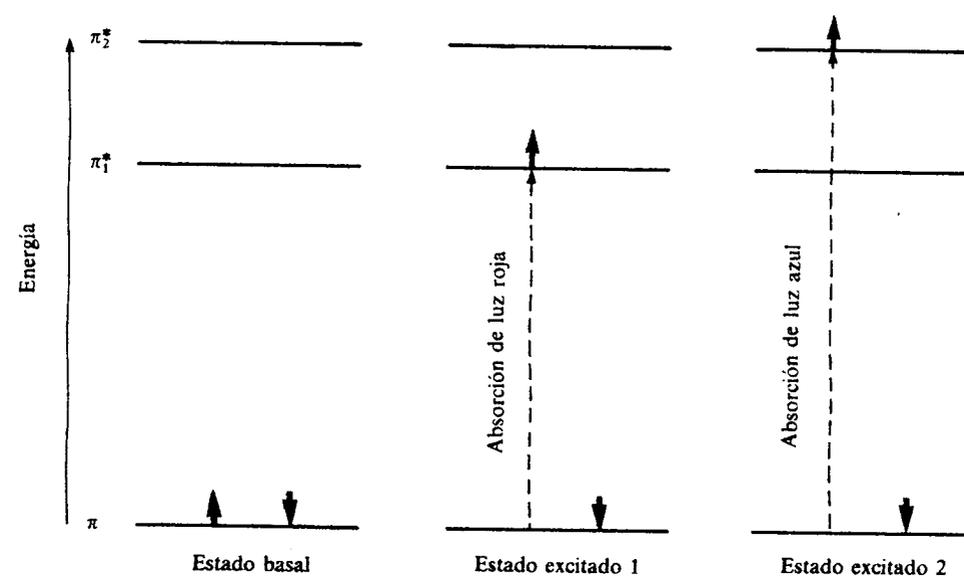


Figura 11.6. Diagrama que muestra las principales transiciones electrónicas que experimenta la molécula de clorofila al excitarse por la luz.

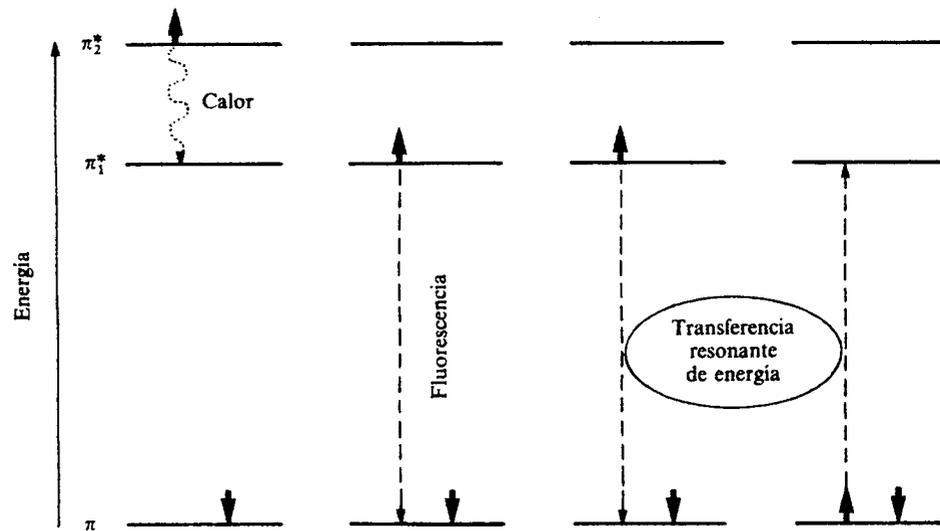
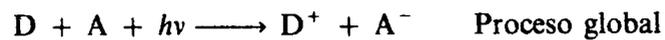
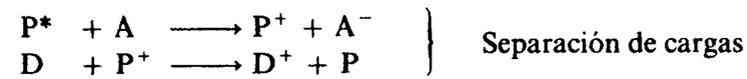
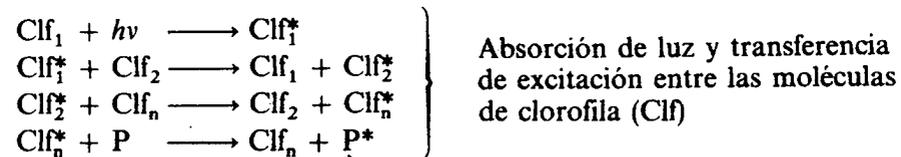


Figura 11.7. Diagrama que muestra diferentes formas de desexcitación de la molécula de clorofila excitada.

más reductora, pudiendo donar su electrón excitado a una molécula aceptora que, como consecuencia, se reduce. Al perder el electrón, la clorofila *a* especial adquiere un gran poder oxidante y arranca a su vez un electrón a una molécula donadora próxima, la cual, como resultado, se oxida. Este proceso, conocido con el nombre de «separación de cargas», ocurre en los denominados «centros de reacción». Por tanto, un «centro de reacción» se compone de una molécula de clorofila *a* (P), un aceptor primario de electrones (A) y un donador primario de electrones (D).

Las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis pueden resumirse como sigue:



Como se observa, el resultado neto de las reacciones primarias de la fotosíntesis es la transformación de la energía de la luz en energía química de óxido-reducción.

Fotosistemas I y II

En las membranas de los tilacoides, las clorofilas y otros pigmentos fotosintéticos se hallan agrupados en dos sistemas de pigmentos denominados *fotosistema I* (PSI) y *fotosistema II* (PSII). En ambos fotosistemas, los pigmentos se hallan unidos no-covalentemente a proteínas formando los complejos pigmento-proteína

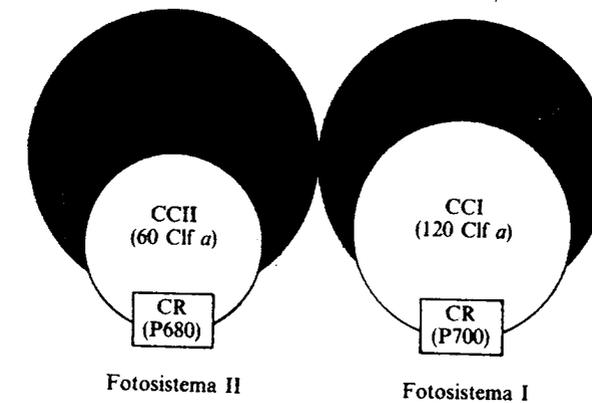


Figura 11.8. Representación esquemática de los complejos clorofila-proteína de los dos fotosistemas. Abreviaturas: CR, centro de reacción; CC («Core Complex»): complejo central; LHC («Light-Harvesting Complex»): complejo colector de luz; Clf: clorofila.

(fig. 11.8). Cada fotosistema lo integran dos tipos de complejos: un *complejo central* (CC), que contiene exclusivamente clorofila *a* y que alberga al centro de reacción, y un *complejo periférico colector de luz* (LHC), que contiene tanto clorofila *a* como clorofila *b*. El número de moléculas de clorofila *b* es bastante mayor en el LHCII que en el LHCI. Los dos complejos contienen, asimismo, carotenoides, principalmente β -caroteno en CC y xantofilas en LHC.

Los pigmentos de los fotosistemas actúan absorbiendo fotones y canalizando la energía de excitación hacia los respectivos centros de reacción, que contienen una o dos moléculas de la clorofila *a* especial (P700 en el PSI y P680 en el PSII) y los respectivos aceptores y donadores primarios de electrones. La naturaleza del aceptor primario de electrones de P700 (A_1) no está aún suficientemente conocida. El primer aceptor estable bien identificado está constituido por *ferredoxinas unidas* a la membrana tilacoidal, caracterizadas por tener potenciales redox muy electronegativos. Las *ferredoxinas* son proteínas que poseen un centro hierro-azufre. Aquéllas que actúan como primeros aceptores de electrones de P700 contienen cuatro átomos de hierro y cuatro átomos de azufre lábil [4Fe-4S] (fig. 11.9). Las *ferredoxinas* son moléculas transportadoras de un sólo electrón, ya que sólo se reduce y oxida uno de sus átomos de hierro. El donador primario de electrones

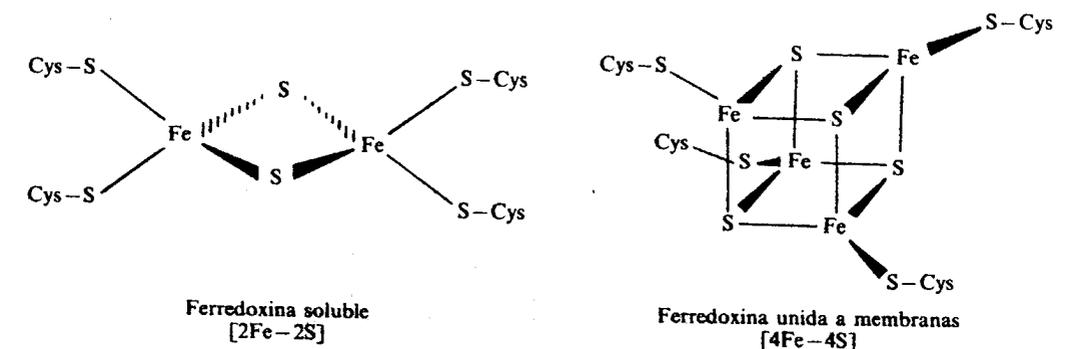


Figura 11.9. Estructuras de los centros hierro-azufre de las ferredoxinas de cloroplastos.

del PSI es la *plastocianina*, una proteína que contiene cobre como grupo prostético, el cual se oxida (Cu^+ a Cu^{2+}) cuando dona un electrón al P700^+ .

Al igual que ocurre con el PSI, tampoco se conoce con exactitud la naturaleza del aceptor primario de electrones del centro de reacción del PSII (A_{II}), aunque parece ser una molécula de feofitina (clorofila sin el átomo de Mg^{2+}). El primer aceptor estable (Q) es una molécula especial de plastoquinona. El donador de electrones es una proteína que contiene manganeso (Z) y que es responsable, asimismo, de la oxidación del H_2O a O_2 .

TRANSPORTE FOTOSINTETICO DE ELECTRONES

Según el *esquema en Z*, o en zig-zag, propuesto por Hill y Bendall en el año 1960, los fotosistemas I y II actúan en serie, transfiriendo los electrones del H_2O al NADP^+ . Dicha transferencia ocurre en contra de un gradiente de potencial eléctrico, ya que el potencial redox del par $\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2$ ($\epsilon^{\circ\prime} = +0,82 \text{ V}$) es superior al del par $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ ($\epsilon^{\circ\prime} = -0,32 \text{ V}$). Los fotones absorbidos por los fotosistemas suministran la energía requerida para que dicha transferencia pueda tener lugar. Tanto P680 como P700, cuando se excitan se hacen más reductores, esto es, sus potenciales redox disminuyen (aproximadamente 1,0 V). Sin embargo, cada uno de ellos opera en un diferente intervalo: P680 entre +0,9 y -0,2 V, y P700 entre +0,4 y -0,7 V, según se encuentren en su estado basal o excitado, respectivamente. Los dos fotosistemas se hallan interconectados por una cadena transportadora que transfiere los electrones desde el PSII al PSI. De esta forma, gracias a la activación por la luz de los dos fotosistemas, se produce un flujo de electrones desde el H_2O hasta el NADP^+ que recibe el nombre de *flujo no-cíclico de electrones*, a fin de diferenciarlo del flujo cíclico en el que sólo interviene el PSI (véase más adelante).

En la figura 11.10 se representa el esquema en Z del transporte fotosintético de electrones, situándose cada componente según su valor de potencial redox. En la figura 11.11 se muestra la orientación de dichos componentes en la membrana tilacoidal. A continuación se estudiará la secuencia de procesos que tienen lugar durante el transporte no cíclico de electrones.

Flujo no-cíclico de electrones

Reacciones asociadas al fotosistema II: desprendimiento de oxígeno

Cuando P680 se excita (P680^*) su potencial redox se hace más electronegativo y puede donar un electrón al aceptor primario A_{II} . La forma oxidada resultante (P680^+) es una especie molecular fuertemente oxidante ($\epsilon^{\circ\prime} = +0,9 \text{ V}$), capaz de oxidar el H_2O a O_2 ($\epsilon^{\circ\prime} \text{H}_2\text{O}/\text{O}_2 = +0,82 \text{ V}$), con lo que, simultáneamente, se restablece la forma reducida basal del pigmento (P680). La oxidación del H_2O no está causada directamente por el P680^+ , sino por la proteína Z. Esta, al donar cuatro electrones a P680^+ en cuatro «fotoactos» consecutivos, acumula cuatro cargas positivas en su molécula, debido a la oxidación de cuatro átomos de Mn^{2+} a Mn^{3+} . Es entonces cuando Z es capaz de sustraer, de una sola vez, cuatro electrones a dos moléculas de H_2O , produciéndose como resultado el desprendimiento de una molécula de O_2 :

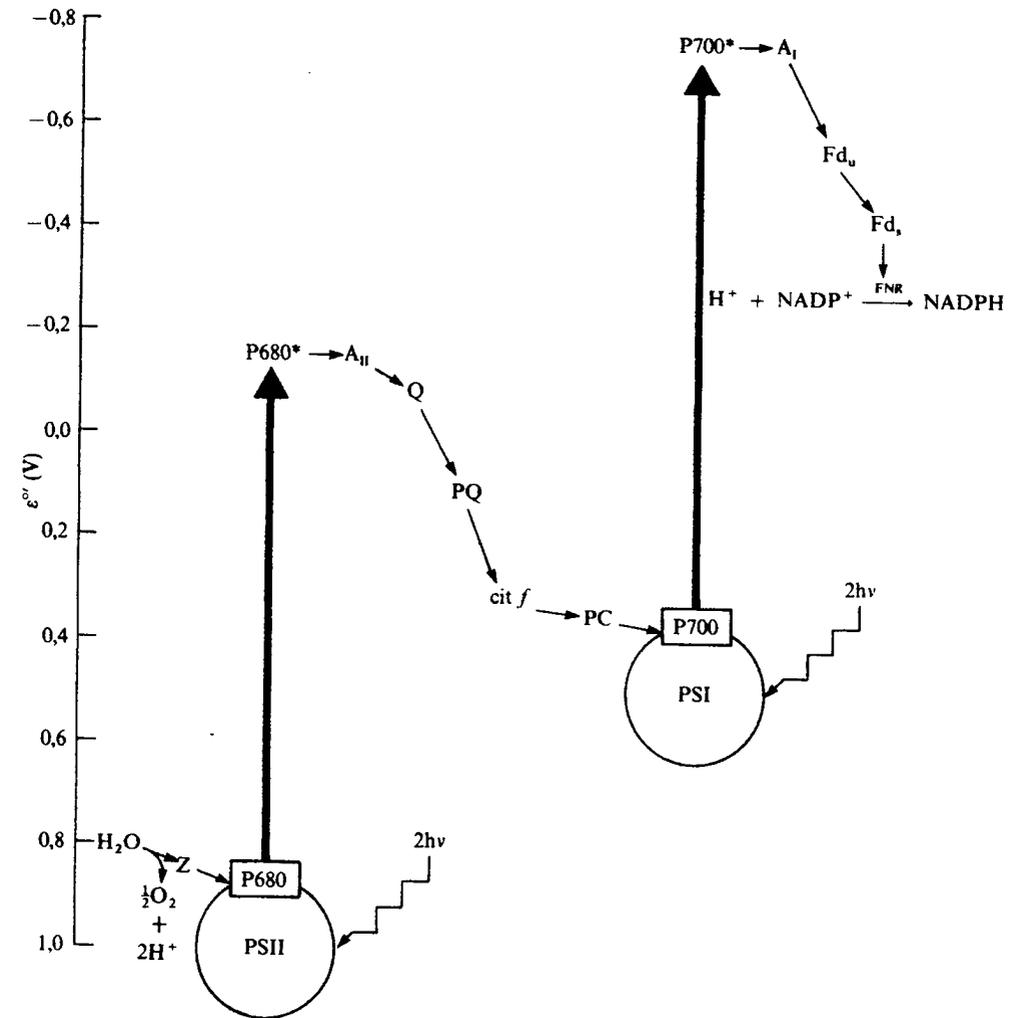
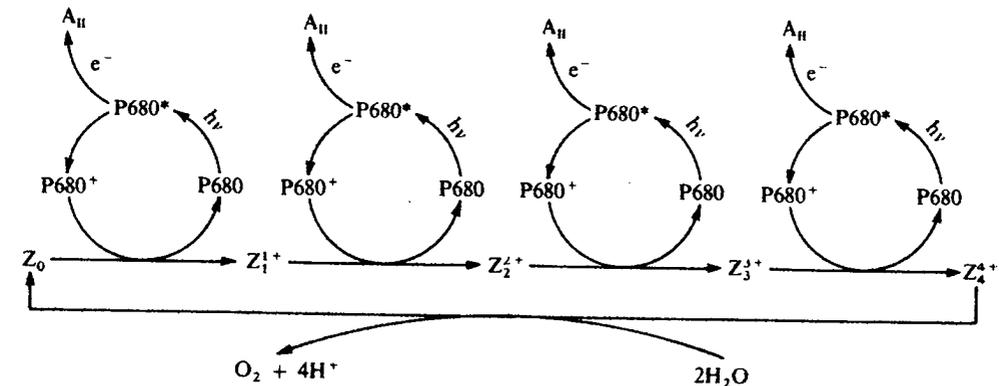


Figura 11.10. Esquema en Z del flujo no-cíclico de electrones. Abreviaturas: Z, complejo oxidante del agua; A_{II} ; aceptor primario de electrones del PSII; Q: aceptor primario estable del PSII; PQ: plastoquinonas; *cit f*: citocromo *f*; PC: plastocianina; A_1 : aceptor primario de electrones del PSI; Fd_L : ferredoxinas unidas a las membranas tilacoidales; Fd_S : ferredoxina soluble; FNR: ferredoxina- NADP^+ oxidorreductasa.



El componente Z se localiza en la cara interna de la membrana tilacoidal. Como consecuencia de ello, los protones resultantes de la oxidación del H₂O son liberados al espacio intratilacoidal (fig. 11.11).

Transporte de electrones entre los dos fotosistemas

Como se indicaba antes, PSII y PSI están interconectados por una cadena transportadora que transfiere los electrones desde un fotosistema a otro. Dicha transferencia ocurre a favor de un gradiente de potencial redox, empleándose parte de la energía liberada en la síntesis de ATP. Como se muestra en la figura 11.10, los electrones procedentes del PSII son transferidos, sucesivamente, a un «pool» de plastoquinonas, al citocromo *f* y, por fin, a la plastocianina, la cual reduce a P700⁺.

Las *plastoquinonas* (PQ) transportan átomos de hidrógeno, es decir, protones más electrones ($PQ + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons PQH_2$). Presentan un potencial redox de, aproximadamente, +0,1 V y existen entre cinco y diez moléculas por cada centro de reacción del PSII. Poseen una gran movilidad lateral dentro de la membrana tilacoidal, de tal forma que, al reducirse en la parte más externa de la membrana y oxidarse en su parte interna, toman protones (H⁺) del estroma y los liberan en el espacio intratilacoidal. Conviene señalar que, a diferencia de dichas plastoquinonas, la plastoquinona especial (Q) que actúa de aceptor primario estable de electrones del PSII es inmóvil y sólo transporta electrones.

Cuando las plastoquinonas se oxidan, lo hacen transfiriendo sus electrones al citocromo *f* (del latín *folium*: hoja), el cual es un citocromo del tipo *c* con un ϵ° de +0,36 V. Dicho citocromo forma parte del denominado *complejo de citocromos b/f*. Este complejo, además de citocromo *f*, contiene dos citocromos *b₆* y un centro

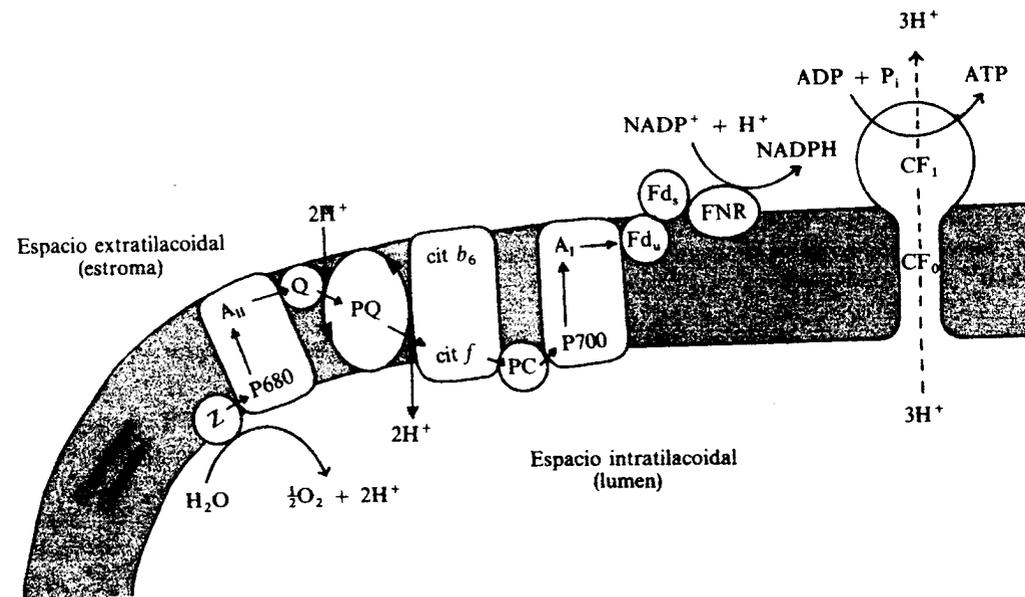


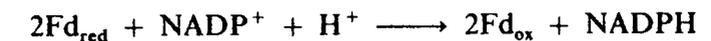
Figura 11.11. Orientación en la membrana tilacoidal de los componentes de la cadena fotosintética transportadora de electrones. Abreviaturas: CF₀ y CF₁: componentes hidrofóbico e hidrofílico, respectivamente, de la ATP sintetasa. Las restantes abreviaturas se identifican en la leyenda de la figura 11.10.

hierro-azufre unidos a una serie de polipéptidos. El citocromo *b₆* participa en el flujo cíclico de electrones alrededor del PSI. El citocromo *f* reducido se reoxida transfiriendo sus electrones a la plastocianina ($\epsilon^{\circ} = +0,37$ V), la cual, finalmente, reduce al P700⁺. Tanto el citocromo *f* como la plastocianina se localizan en la cara interna de la membrana tilacoidal (fig. 11.11).

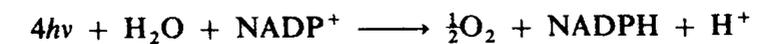
Reacciones asociadas al fotosistema I: formación de poder reductor

Mientras que la función del PSII es romper la molécula de H₂O con la consiguiente formación de O₂, la misión del PSI es generar poder reductor (ferredoxina reducida y NADPH) a expensas de los electrones que, en último término, provienen del H₂O.

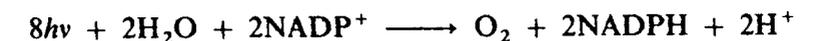
Como veíamos anteriormente, tras el proceso de separación de cargas en el centro de reacción del PSI, los electrones son aceptados por las *ferredoxinas unidas* a membrana ($\epsilon^{\circ} = -0,6$ V). Estas pueden reducir entonces a la *ferredoxina soluble* ($\epsilon^{\circ} = -0,42$ V), la cual contiene en su molécula un centro [2Fe-2S] (fig. 11.9). Dicha reducción tiene lugar en la cara externa de la membrana tilacoidal (fig. 11.11), de manera que la ferredoxina reducida puede actuar como donador de electrones en algunas reacciones del metabolismo del nitrógeno y del azufre que ocurren en el estroma del cloroplasto. Sin embargo, en las reacciones de reducción de la asimilación del CO₂, el donador de electrones es el NADPH. Este se forma a partir de ferredoxina reducida y NADP⁺ en una reacción catalizada por la *ferredoxina-NADP⁺ oxidoreductasa*, una flavoproteína que se encuentra adherida a la cara externa de la membrana tilacoidal:



Puesto que la formación de una molécula de NADPH necesita dos electrones procedentes del H₂O, y dado que el transporte de un electrón a lo largo de la cadena no-cíclica requiere, como mínimo, dos fotones (uno para activar al PSII y otro para activar al PSI), la estequiometría global del flujo no-cíclico de electrones sería:



o bien:



Como veremos después, en el transporte de electrones del PSII al PSI se genera, además, ATP.

Flujo cíclico de electrones

En los cloroplastos, además del flujo no-cíclico, existe un flujo cíclico de electrones en el que sólo participa el PSI. En efecto, una vez que los electrones llegan a la ferredoxina soluble, en vez de ser transferidos al NADP⁺, regresan a P700⁺ a través del citocromo *b₆* ($\epsilon^{\circ} = -0,08$ V), el «pool» de plastoquinonas, el citocromo *f* y la plastocianina (fig. 11.12). Por tanto, durante el flujo cíclico de electrones no se genera poder reductor, sino solamente ATP.

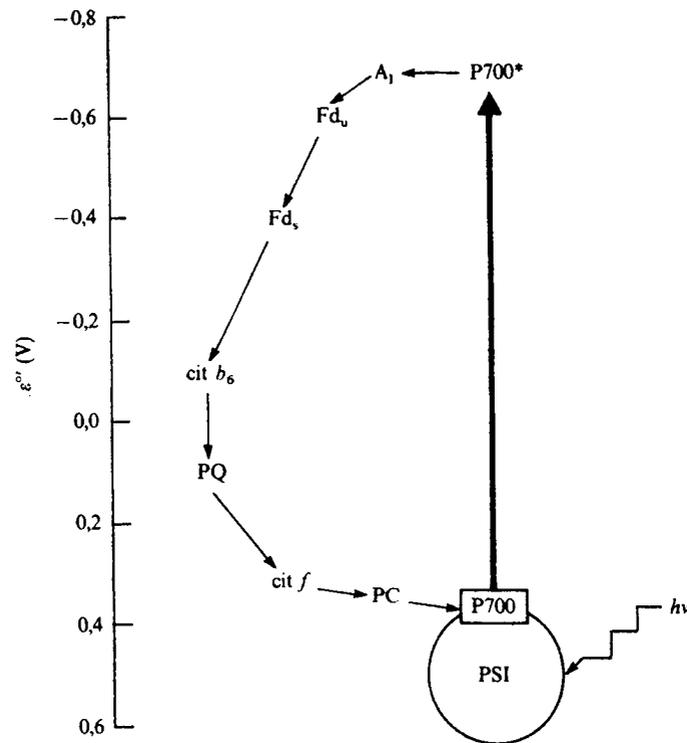


Figura 11.12. Esquema del flujo cíclico de electrones. Abreviaturas: cit b_6 , citocromo b_6 . Las restantes abreviaturas se identifican en la leyenda de la figura 11.10.

FOTOFOSFORILACION

Fotofosforilación cíclica y fotofosforilación no-cíclica

En 1954, Arnon y colaboradores encontraron que cuando se iluminaban cloroplastos aislados, éstos eran capaces de sintetizar ATP a partir de ADP y P_i . Este proceso recibió el nombre de *fosforilación fotosintética*, o simplemente *fotofosforilación*, para diferenciarlo de la fosforilación oxidativa que ocurre en la mitocondria. La fotofosforilación y la fosforilación oxidativa tienen en común que la síntesis de ATP está acoplada a la transferencia de electrones entre diversos transportadores a favor de un gradiente de potencial redox. En el caso de la fotofosforilación, dicha transferencia es promovida por la luz al impulsar ésta el salto inicial de electrones a niveles de mayor energía (potenciales más electronegativos) y, posteriormente, caer dichos electrones hacia potenciales más electropositivos.

La síntesis de ATP en los cloroplastos puede estar acoplada tanto al flujo no-cíclico de electrones (*fotofosforilación no cíclica*) como al flujo cíclico (*fotofosforilación cíclica*). La función de este último es suministrar el ATP requerido para los diferentes procesos biosintéticos y de transporte que ocurren en el cloroplasto sin que obligatoriamente se genere de forma simultánea poder reductor.

Mecanismo de la fotofosforilación

Como ya se ha indicado, la energía redox liberada en el transporte fotosintético de electrones se utiliza en la síntesis de ATP. Ahora bien, ¿de qué forma la

energía redox es transducida en energía química de enlace fosfato? El proceso de transducción de energía no ocurre de forma directa, sino a través de un intermediario o «estado de alta energía», que constituye una forma transitoria de almacenamiento de la misma. Se han formulado diversas hipótesis sobre la naturaleza del estado de alta energía (véase el capítulo sobre fosforilación oxidativa). De todas ellas, la que hoy goza de mayor aceptación y cuenta con más apoyo experimental es la denominada *hipótesis quimiosmótica* de Mitchell, según la cual el estado intermedio de alta energía lo constituye el gradiente electroquímico de protones que se establece a través de la membrana tilacoidal como consecuencia del transporte de electrones. La disipación de dicho gradiente a través de una *ATPasa*, más correctamente denominada *ATP sintasa*, proporciona la energía necesaria para formar ATP a expensas de ADP y P_i .

La formación de un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana tilacoidal se debe al hecho de que en la cadena fotosintética de transporte se alternan los transportadores de electrones (por ejemplo, los citocromos) con los transportadores de átomos de hidrógeno (por ejemplo, las plastoquinonas), estando además estas últimas moléculas orientadas en la membrana de manera que se reducen en la cara externa y se oxidan en la cara interna. Como se muestra en la figura 11.11, cuando las plastoquinonas aceptan electrones de Q en la cara externa de la membrana, simultáneamente toman del estroma los protones necesarios para complementar dichos electrones. Seguidamente, cuando las plastoquinonas reducidas (PQH_2) reducen al citocromo f en el lado interno de la membrana, los protones complementarios son liberados al interior del tilacoide. El mismo fenómeno se produce durante el flujo cíclico de electrones, pero en este caso las plastoquinonas son reducidas por los electrones del citocromo b_6 en vez de por los procedentes de Q. En el flujo no-cíclico, la rotura del H_2O en la cara interna de la membrana tilacoidal constituye un mecanismo adicional de acumulación de protones en el espacio intratilacoidal. Así pues, el funcionamiento asimétrico de la cadena transportadora de electrones conduce a un «transporte vectorial de protones» hacia el interior del tilacoide, el cual «instaura» un gradiente de potencial electroquímico de protones entre ambos lados de la membrana tilacoidal. Como los protones son partículas cargadas positivamente, su acumulación en el espacio intratilacoidal origina una diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana. Por tanto, la energía contenida en el gradiente electroquímico de protones ($\Delta\mu_{H^+}$) es función no sólo del gradiente de concentración de protones (gradiente de pH), sino también del gradiente de potencial eléctrico a través de la membrana ($\Delta\psi$):

$$\Delta\mu_{H^+} = F\Delta\psi + 2,3RT \log \frac{[H^+]_i}{[H^+]_e} = F\Delta\psi - 2,3RT\Delta pH \quad (11.1)$$

donde F es la constante de Faraday ($23 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1}$), $\Delta\psi$ es el potencial de membrana (V), R es la constante de los gases ($2 \times 10^{-3} \text{ kcal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T es la temperatura absoluta (K) y ΔpH es el gradiente de pH a través de la membrana = pH interno (intratilacoidal) - pH externo (estroma). $\Delta\mu_{H^+}$ representa la cantidad máxima de energía libre (kcal mol^{-1}) contenida en el gradiente y que puede ser utilizada para la síntesis de ATP.

La ecuación (11.1) suele presentarse modificada, dividiendo sus dos términos por F y llamando a $\Delta\mu_{H^+}/F$ fuerza protonmotriz (Δp), expresada en voltios:

$$\Delta p = \Delta\psi - 2,3 \frac{RT}{F} \Delta pH \quad (11.2)$$

Para una temperatura de 30 °C, la ecuación (11.2) expresada en mV queda transformada en la siguiente:

$$\Delta p = \Delta \psi - 60 \Delta \text{pH} \quad (11.3)$$

En los cloroplastos, la aportación de $\Delta \psi$ a Δp es considerablemente menor que la de ΔpH . Ello es debido a que, una vez que se crea un elevado potencial eléctrico positivo en el interior del tilacoide como consecuencia del transporte inicial de protones, en respuesta al mismo se produce una entrada de iones Cl^- procedentes del estroma y una salida de iones Mg^{2+} . Este flujo de iones «colapsa» en gran parte el potencial de membrana, evitándose así que dicho potencial alcance valores tan positivos que dificulte la acumulación de más protones. La entrada de iones Cl^- al espacio intratilacoidal y la salida del mismo de iones Mg^{2+} mitiga, por tanto, el potencial de membrana sin afectar al gradiente de pH, el cual puede alcanzar valores de hasta 3 unidades ($\text{pH} = 5$ en el espacio intratilacoidal y $\text{pH} = 8$ en el estroma).

Como, por definición,

$$\Delta p = \frac{\Delta \mu_{\text{H}^+}}{F}$$

de aquí resulta que:

$$\Delta \mu_{\text{H}^+} = F \Delta p \quad (11.4)$$

Dicha ecuación permite calcular, conociendo el valor de la fuerza protonmotriz, la energía almacenada (kcal mol^{-1}) en un mol de protones acumulados en el interior del tilacoide.

Además de los transportadores de electrones, en las membranas tilacoidales también se localiza la *ATP sintasa*, un complejo enzimático vectorial que cataliza la formación de ATP a expensas de la energía contenida en el gradiente electroquímico de protones (fig. 11.11). El complejo de la *ATP sintasa* consta de dos componentes: el *factor de acoplamiento 0* (CF_0), constituido por un agregado de proteínas hidrofóbicas que forman parte integral de la membrana tilacoidal, y el *factor de acoplamiento 1* (CF_1), que es una proteína hidrofílica oligomérica que sobresale de la superficie externa de la membrana. CF_0 funciona a modo de canal a través del cual los protones acumulados en el espacio intratilacoidal son conducidos hacia CF_1 , que es el componente que posee la actividad catalítica de síntesis de ATP. La *ATP sintasa* de cloroplastos recibe también por ello el nombre de *complejo $\text{CF}_1\text{-CF}_0$* .

Estequiometría de la fotofosforilación

Uno de los aspectos más estudiados y controvertidos de la fotofosforilación es la estequiometría entre el número de electrones (e^-) que fluyen por la cadena de transporte, los protones translocados y el ATP que finalmente se sintetiza.

Como se observa en la figura 11.11, en el flujo no-cíclico de electrones desde el H_2O al PSI existen dos sitios de acumulación de protones en el espacio intratilacoidal: el primero lo constituye la ruptura del H_2O y el segundo la lanzadera de las plastoquinonas. Según el mecanismo quimiosmótico, por cada $2e^-$ que fluyen a lo largo de dicha cadena se acumulan 4H^+ , es decir, la razón $\text{H}^+/e^- = 2$. Por

otra parte, las medidas de la cantidad de ATP formado en función del flujo de electrones, bajo condiciones de perfecto acoplamiento entre ambos procesos, arrojan un valor de $\text{ATP}/2e^- = 1,3$. De estos datos se deduce fácilmente que la razón $\text{H}^+/\text{ATP} = 3$, es decir, que por cada 3H^+ acumulados y canalizados a través de la *ATP sintasa*, se sintetiza una molécula de ATP.

Otra forma posible de determinar la estequiometría H^+/ATP es mediante una aproximación de tipo termodinámico. Según el modelo quimiosmótico, $\Delta \mu_{\text{H}^+}$ representa la energía correspondiente a un mol de protones que, al ser translocados desde el interior al exterior del tilacoide, se emplea en la síntesis de ATP. Por tanto:

$$\Delta G_{\text{ATP}} = n \Delta \mu_{\text{H}^+} = n F \Delta p \quad (11.5)$$

donde n es el número de moles de protones que deben salir para suministrar la energía requerida en la síntesis de un mol de ATP (ΔG_{ATP}). El valor estimado de ΔG_{ATP} , en las condiciones reales de fosforilación que se dan en el cloroplasto, es de aproximadamente 14 kcal mol^{-1} . Por otra parte, en los tilacoides se han medido valores de ΔpH de -3 unidades y $\Delta \psi$ de $+10$ mV. Según la ecuación (11.3), ello originaría un $\Delta p = 190$ mV.

Aplicando estos valores a la ecuación (11.5), resulta:

$$14 \text{ kcal mol}^{-1} = n \cdot 23 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \cdot 0,19 \text{ V}$$

$$14 = n \cdot 4,37$$

$$n = \frac{14}{4,37} = 3,2$$

es decir, también se obtiene una estequiometría de aproximadamente 3H^+ por cada ATP sintetizado.

ASIMILACION DEL CARBONO

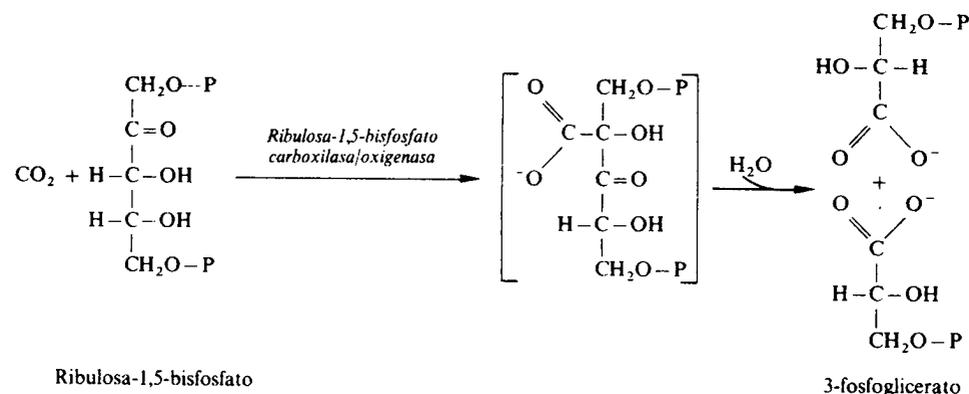
Ciclo de Calvin o ciclo reductivo de las pentosas-fosfato

El ciclo reductivo de las pentosas-fosfato, también denominado *ciclo de Calvin* en honor a su descubridor, constituye el conjunto de reacciones por el que las plantas sintetizan azúcares a partir del CO_2 atmosférico. El funcionamiento del ciclo consume gran parte del poder asimilatorio formado en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis, concretamente dos moléculas de NADPH y tres de ATP por cada molécula de CO_2 fijado. Considerado en conjunto, el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato supone una reversión, y de ahí su nombre, del ciclo oxidativo de las pentosas-fosfato. En efecto, mientras que a través del ciclo oxidativo la glucosa es degradada oxidativamente a pentosa con la consiguiente formación de NADPH y CO_2 , mediante el ciclo reductivo, propio de los organismos fotosintéticos, el CO_2 es añadido a una molécula de pentosa, de modo que tras una serie de reacciones en las que se consume NADPH y ATP se forma una hexosa.

El ciclo reductivo de las pentosas-fosfato transcurre en su totalidad en el estroma de los cloroplastos y consta de tres fases: fase de carboxilación, fase de reducción y fase de regeneración de la molécula aceptora.

Carboxilación de la ribulosa-bisfosfato

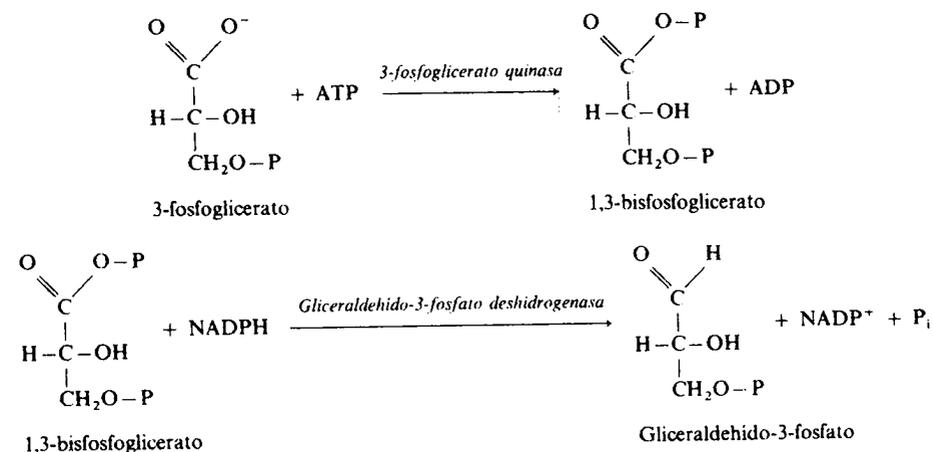
Consiste en la fijación de una molécula de CO_2 a la molécula aceptora, la ribulosa-1,5-bisfosfato, para formar un intermediario inestable de seis átomos de carbono que rápidamente se hidroliza generando dos moléculas de 3-fosfoglicerato. Experimentos de marcaje con $^{14}\text{CO}_2$ han demostrado que éste se incorpora al C_2 de la ribulosa-1,5-bisfosfato y que la ruptura de este molécula se produce entre los átomos de carbono 2 y 3, de tal forma que de las dos moléculas de fosfoglicerato formadas, una de ellas aparece marcada en el C_1 . La reacción es fuertemente exérgica y, por tanto, prácticamente irreversible:



La enzima que cataliza dicha reacción es la *ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa*, más correctamente denominada *ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa* (*RuBP carboxilasa/oxigenasa*), ya que lleva asociada una actividad oxigenasa responsable del proceso de fotorrespiración (véase más adelante). Es una proteína de alto peso molecular (aproximadamente 560.000 daltons) y consta de ocho subunidades grandes (PM: 54-60.000 daltons) y ocho subunidades pequeñas (PM: 12-16.000 daltons). La actividad catalítica, tanto carboxilasa como oxigenasa, se encuentra en las subunidades grandes, mientras que las subunidades pequeñas tienen solamente una función reguladora. La enzima requiere CO_2 y Mg^{2+} como cofactores. *In vivo* y en la luz muestra una K_m para el CO_2 de alrededor de $12 \mu\text{M}$, que es aproximadamente la concentración normal de CO_2 en el interior de los cloroplastos. De ello se infiere que la velocidad de fijación de CO_2 por las plantas puede duplicarse si se incrementa debidamente la concentración de CO_2 en la atmósfera y, como consecuencia, dentro del cloroplasto. En oscuridad, la *RuBP carboxilasa/oxigenasa* pasa a una forma de baja afinidad por el CO_2 ($K_m = 200-500 \mu\text{M}$), lo que se traduce en una escasa o nula capacidad de fijación de éste.

Reducción del fosfoglicerato

El 3-fosfoglicerato formado en la reacción anterior es reducido a gliceraldehido-3-fosfato mediante dos reacciones consecutivas. En primer lugar, la *3-fosfoglicerato quinasa* fosforila con ATP al 3-fosfoglicerato, convirtiéndolo en 1,3-bisfosfoglicerato y, a continuación, éste es reducido por NADPH a gliceraldehido-3-fosfato en una reacción catalizada por la *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa*:

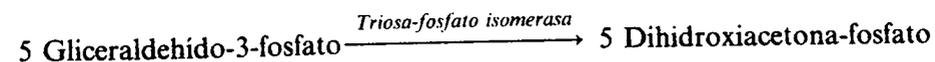


Puesto que, como veíamos antes, la fijación de una molécula de CO_2 a la ribulosa-1,5-bisfosfato genera dos moléculas de 3-fosfoglicerato, la reducción de éstas a gliceraldehido-3-fosfato consume dos moléculas de ATP y dos de NADPH. Si se tiene en cuenta que para producir una molécula de hexosa (seis átomos de carbono) es necesaria la entrada en el ciclo de seis moléculas de CO_2 que, al reaccionar con seis de ribulosa-1,5-bisfosfato, dan lugar a doce moléculas de 3-fosfoglicerato, resulta que en la fase de reducción se consume un total de doce moléculas de ATP y doce de NADPH por hexosa sintetizada.

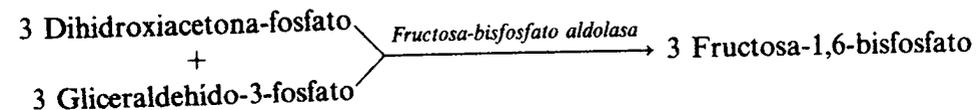
Regeneración de la ribulosa-bisfosfato y formación de fructosa-fosfato

La finalidad de esta fase es la de regenerar la molécula aceptora del CO_2 y, a la vez, dar lugar a la síntesis neta de una molécula de azúcar de seis átomos de carbono. La fase de regeneración propiamente dicha está integrada por una serie de reacciones de interconversión de azúcares-fosfato, similares a las que acontecen en la vía oxidativa de las pentosas-fosfato (véase el cap. 18), pero que operan en sentido opuesto. La secuencia de reacciones que ocurren es la siguiente:

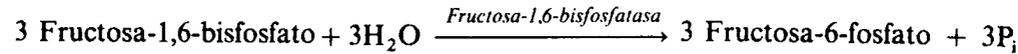
1. De las doce moléculas de gliceraldehido-3-fosfato formadas en la fase de reducción, cinco de ellas son convertidas en dihidroxiacetona-fosfato por medio de una *triosa-fosfato isomerasa*:



2. Tres de las cinco moléculas de dihidroxiacetona-fosfato, junto con tres moléculas de gliceraldehido-3-fosfato, sufren una condensación aldólica catalizada por la *fructosa-bisfosfato aldolasa*, con lo que se forman tres moléculas de fructosa-1,6-bisfosfato:

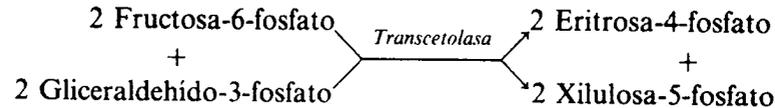


A continuación, sobre la fructosa-1,6-bisfosfato actúa la enzima *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, que hidroliza el grupo fosfato de la posición 1:

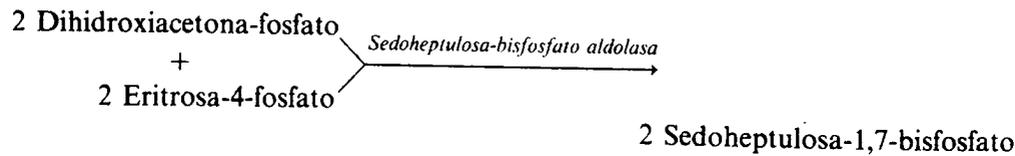


De las tres moléculas de fructosa-6-fosfato que se forman, una de ellas sale del ciclo, lo que supone la ganancia neta de una hexosa.

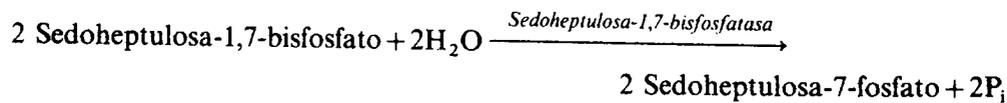
3. Las dos moléculas restantes de fructosa-6-fosfato reaccionan con dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato, produciéndose cantidades equimoleculares de eritrosa-4-fosfato y xilulosa-5-fosfato. Esta reacción está catalizada por la enzima *transcetolasa*, que requiere tiamina-pirofosfato y Mg^{2+} como cofactores, y transfiere un grupo cetol ($-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$) desde las cetosas al C_1 de las aldosas:



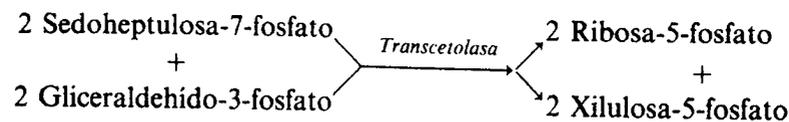
4. Las dos moléculas de eritrosa-4-fosfato formadas en la reacción anterior reaccionan con otras dos moléculas de dihidroxiacetona-fosfato para producir dos moléculas de sedoheptulosa-1,7-bisfosfato. Dicha reacción, catalizada por una *sedoheptulosa-bisfosfato aldolasa*, es similar a la de formación de fructosa-1,6-bisfosfato:



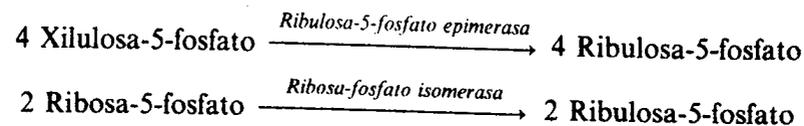
Al igual que ocurre con la fructosa-1,6-bisfosfato, el grupo fosfato de la posición 1 de la sedoheptulosa-1,7-bisfosfato es rápidamente hidrolizado por acción de la *sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa*:



5. Asimismo, posteriormente, una *transcetolasa* cataliza la transferencia del grupo cetol de la sedoheptulosa-7-fosfato al gliceraldehído-3-fosfato, formándose las pentosas ribosa-5-fosfato y xilulosa-5-fosfato:

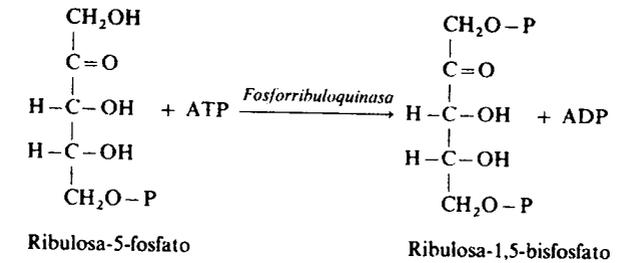


6. La xilulosa-5-fosfato y la ribosa-5-fosfato, productos de las anteriores reacciones de interconversión, son convertidas en ribulosa-5-fosfato por acción de las enzimas *ribulosa-5-fosfato epimerasa* y *ribosa-fosfato isomerasa*, respectivamente:



7. Finalmente, las seis moléculas de ribulosa-5-fosfato resultantes son fosforiladas en el C_1 a expensas de seis moléculas de ATP, regenerándose así las seis

moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato necesarias para iniciar un nuevo ciclo. Esta última reacción está catalizada por la enzima *fosforribuloquinasa*:



De todas las enzimas involucradas en el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato, únicamente tres de ellas (*RuBP carboxilasa/oxigenasa*, *sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa* y *fosforribuloquinasa*) son exclusivas del ciclo. El resto interviene también en la ruta glucolítica/gluconeogénica y, como señalábamos antes, en el ciclo oxidativo de las pentosas-fosfato.

En la figura 11.13 se representa de forma abreviada el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato, resaltándose la estequiometría del carbono y el consumo de poder asimilatorio para la síntesis de una hexosa. Como se observa, la síntesis de una molécula de fructosa-6-fosfato requiere la fijación de seis moléculas de CO_2 y un gasto de doce moléculas de NADPH y dieciocho moléculas de ATP, o lo que es lo mismo, dos moléculas de NADPH y tres de ATP por cada molécula de CO_2 asimilada.

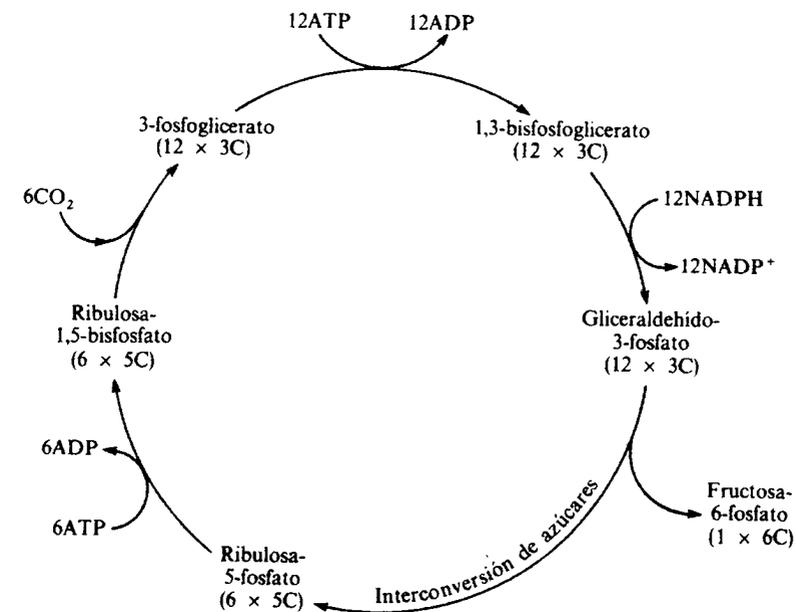


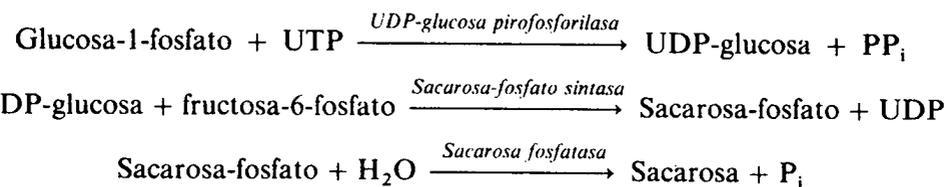
Figura 11.13. Ciclo de Calvin o ciclo reductivo de las pentosas-fosfato. Se muestra la estequiometría del carbono y el consumo de poder asimilatorio para la síntesis de una molécula de hexosa (fructosa-6-fosfato).

Biosíntesis de sacarosa y almidón

En las células fotosintéticas, el carbono asimilado es convertido en último término en sacarosa y almidón. La sacarosa constituye la principal forma en la que el carbono es exportado desde las hojas a otras partes de la planta, mientras que el almidón constituye la principal forma de almacenamiento del carbono fijado.

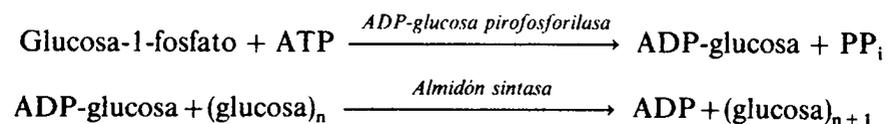
Biosíntesis de sacarosa

La síntesis de sacarosa ocurre en el citoplasma a partir de la dihidroxiacetona-fosfato, que se forma en el cloroplasto durante el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato. La dihidroxiacetona-fosfato es convertida en glucosa-6-fosfato por las enzimas citoplasmáticas de la ruta glucolítica y, seguidamente, en glucosa-1-fosfato por medio de la *fosfoglucomutasa*. La glucosa-1-fosfato es entonces activada por una molécula de UTP a través de una reacción catalizada por la enzima *UDP-glucosa pirofosforilasa* (*UTP-glucosa-1-fosfato uridiltransferasa* o *glucosa-1-fosfato uridiltransferasa*). Finalmente, la UDP-glucosa, junto con fructosa-6-fosfato, forman sacarosa mediante la acción secuencial de las enzimas *sacarosa-fosfato sintasa* y *sacarosa fosfatasa*:



Biosíntesis de almidón

El almidón es una mezcla de los polisacáridos *amilosa* (de cadena no ramificada) y *amilopectina* (de cadena ramificada). Al igual que ocurre con la biosíntesis de sacarosa, la glucosa-1-fosfato es activada inicialmente (en este caso por ATP) a través de una reacción catalizada por la enzima *ADP-glucosa pirofosforilasa* (*glucosa-1-fosfato adenil-transferasa*). Seguidamente, la enzima *almidón sintasa* cataliza la transferencia del residuo de glucosa de la molécula de ADP-glucosa al extremo no reductor de un resto de almidón, alargándose de este modo la cadena:



A partir de la amilosa se forma la amilopectina por la acción de una *enzima ramificante*.

Regulación por la luz de la asimilación fotosintética del carbono

En la fotosíntesis, la luz actúa no sólo como fuente de energía para la síntesis de ATP y poder reductor en el cloroplasto, sino, además, como agente modulador

de la actividad de diversas enzimas claves del ciclo reductivo de las pentosas-fosfato. Efectivamente, dichas enzimas se activan en la luz y se inactivan en la oscuridad. Por tanto, el término «fase oscura» de la fotosíntesis, aunque aún se emplee con relativa frecuencia, es incorrecto y puede inducir a confusión. La luz, al activar la maquinaria fotosintética, origina una serie de cambios en el estroma del cloroplasto que son los que provocan la activación de las enzimas. Dichos cambios son de tres tipos:

1. *Aumento del pH y de la concentración de Mg²⁺ en el estroma.* Como ya se señaló anteriormente, el flujo fotosintético de electrones origina una alcalinización del estroma (hasta pH 8) y un aumento en el mismo de la concentración de iones Mg²⁺ (hasta 3 mM). Estos cambios dan lugar a la activación de las enzimas *RuBP carboxilasa/oxigenasa*, *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, *sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa* y *fosforribuloquinasa*, ya que dichas enzimas muestran un pH óptimo de alrededor de 8 y requieren Mg²⁺ como cofactor.

2. *Formación de metabolitos que actúan como efectores positivos.* El NADPH y el ATP generados durante el transporte fotosintético de electrones causan una rápida activación de la *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa* y la *RuBP carboxilasa/oxigenasa*. Esta última se activa, además, por fructosa-6-fosfato. El propio CO₂ desempeña un papel esencial en la conversión de la forma inactiva (de alta K_m para el CO₂) de la *RuBP carboxilasa/oxigenasa* en su forma activa (de baja K_m para el CO₂), ya que el proceso de activación es consecuencia de la formación de un complejo ternario enzima-CO₂-Mg²⁺.

La actividad de la *ADP-glucosa pirofosforilasa* también es modulada por la luz a través de metabolitos efectores. De hecho, esta enzima se activa alostéricamente por 3-fosfoglicerato y se inhibe por ortofosfato (P_i), por lo que su actividad está controlada en realidad por la razón 3-fosfoglicerato/P_i, la cual se incrementa en la luz.

3. *Reducción de proteínas reguladoras.* La ferredoxina reducida generada en la luz reduce enzimáticamente a la tiorredoxina, una proteína reguladora de bajo peso molecular que posee en su sitio activo un puente disulfuro (—S—S—) que, al reducirse en la luz, pasa a la forma de sulfhidrilo (—SH HS—). La tiorredoxina reducida reduce entonces, y como consecuencia activa, a las enzimas *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa*, *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, *sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa* y *fosforribuloquinasa* (fig. 11.14).

En oscuridad desaparecen los cambios promovidos por la luz en el estroma del cloroplasto y, como resultado, las enzimas fotorregulables retornan a sus respectivas formas inactivas, cesando así la fijación de CO₂. Es interesante señalar que la *almidón fosforilasa*, que cataliza la degradación de almidón a glucosa-1-fosfato en el interior del cloroplasto, es una enzima que, por el contrario, se inactiva en la luz y se activa en la oscuridad. De esta forma, durante el día se activa la fijación del CO₂ y la síntesis de almidón, mientras que durante la noche dicho proceso se detiene y, simultáneamente, se activa la degradación del almidón almacenado con el fin de suministrar azúcares para el metabolismo respiratorio.

Otras rutas de asimilación del carbono

Aunque el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato es la única ruta de asimilación del carbono existente en las plantas superiores, diversas especies han desarrollado rutas complementarias que constituyen mecanismos de adaptación a los ambientes áridos y cálidos en que viven y en los que es fundamental para la

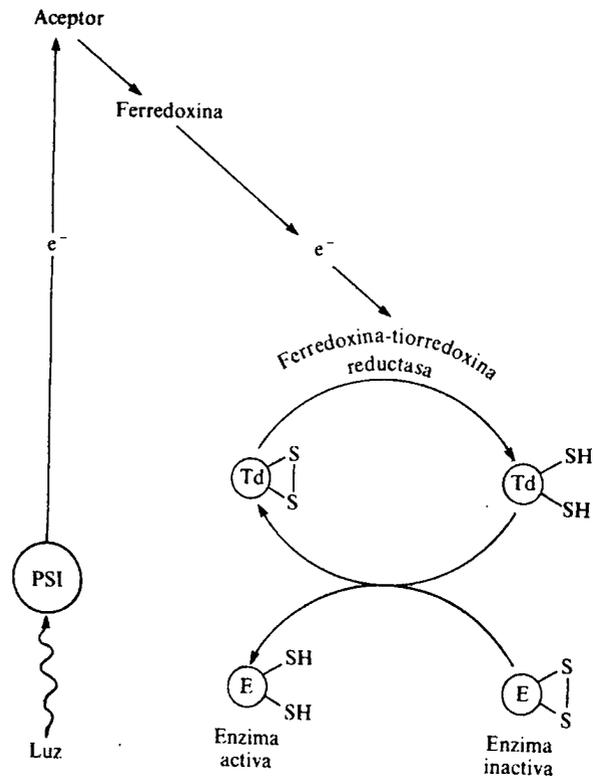


Figura 11.14. Fotoactivación de las enzimas del ciclo reductivo de las pentosas-fosfato a través del sistema de la tioredoxina. Abreviaturas: Td, tioredoxina; E, enzima.

supervivencia de la planta reducir las pérdidas de vapor de agua por transpiración.

Ciclo C₄

Existen especies vegetales en las que el primer producto que aparece marcado tras el suministro de ¹⁴CO₂ no es el 3-fosfoglicerato, sino un ácido orgánico de cuatro átomos de carbono. La razón de ello es que en dichas especies, con anterioridad al ciclo reductivo de las pentosas-fosfato, opera otro sistema de fijación del CO₂. Dicho sistema recibe el nombre de *ciclo C₄* o *fotosíntesis C₄* y las plantas que lo presentan se denominan *plantas C₄*. Por analogía, el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato suele también designarse como ciclo C₃, al ser el 3-fosfoglicerato (metabolito de tres átomos de carbono) el primer producto marcado.

Entre las especies C₄ sobresalen, por su interés agronómico, el maíz, el sorgo y la caña de azúcar. Las plantas C₄ presentan, además, otras características que las diferencian claramente de las plantas C₃. Entre ellas destacan:

1. Ausencia casi total de fotorrespiración.
2. Elevadas velocidades de fotosíntesis y de crecimiento a temperaturas cálidas (30-35 °C) y a alta intensidad de luz.
3. Bajas pérdidas de agua en relación a la biomasa producida.
4. Una anatomía especial de la hoja caracterizada por la existencia de dos

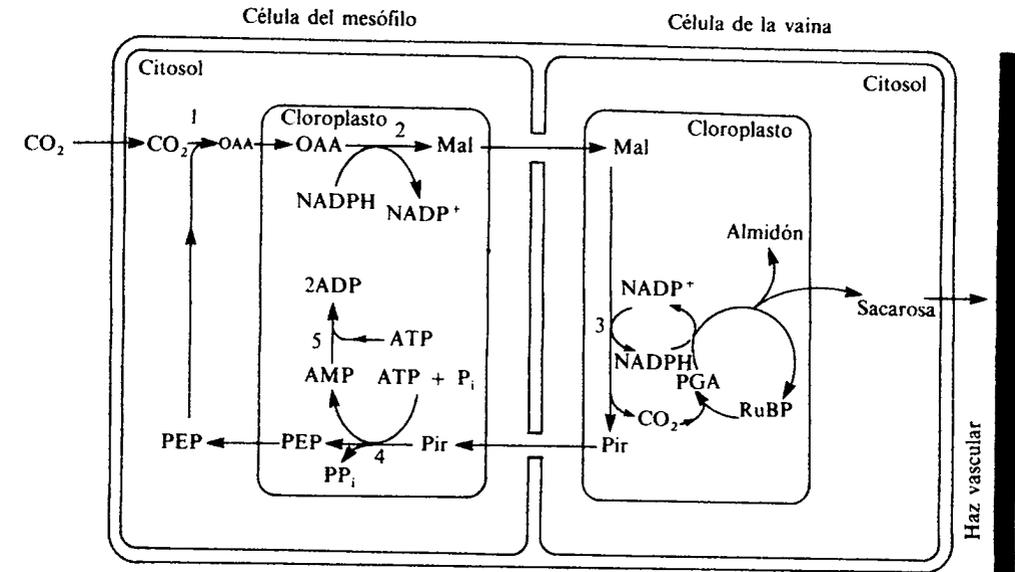
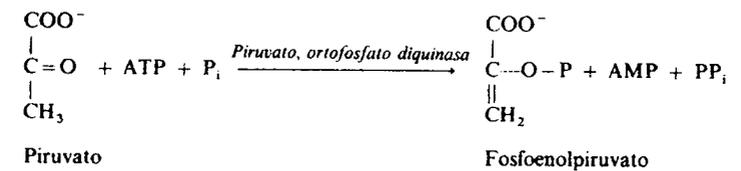


Figura 11.15. Asimilación del carbono en plantas C₄. Abreviaturas: OAA, oxaloacetato; Mal: malato; Pir: piruvato; RuBP: ribulosa-1,5-bisfosfato; PGA: 3-fosfoglicerato; PEP: fosfoenolpiruvato; P_i: ortofosfato; PP_i: pirofosfato. Enzimas: 1, fosfoenolpiruvato carboxilasa; 2, NADP⁺-malato deshidrogenasa; 3, NADP⁺-enzima málica; 4, piruvato, ortofosfato diquinasa; 5, adenilato quinasa.

tipos de células fotosintéticas: las células de la vaina, que rodean a los haces vasculares, y las células del mesófilo, que a su vez rodean a aquéllas y están en contacto con los espacios aéreos internos. Ambos tipos de células participan de forma coordinada en la asimilación del carbono (fig. 11.15).

La reacción inicial del ciclo C₄ es la carboxilación del fosfoenolpiruvato en las células del mesófilo para dar oxaloacetato. Este es rápidamente reducido a malato, el cual pasa a las células de la vaina (en otras especies, el oxaloacetato es convertido en aspartato y es éste el compuesto C₄ transportado a las células de la vaina). En estas células, el malato es descarboxilado y el CO₂ producido es fijado y asimilado por el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato. El compuesto de tres átomos de carbono resultante de la descarboxilación del malato (el piruvato), regresa a las células del mesófilo, donde, por acción de la *piruvato, ortofosfato diquinasa* (enzima típica del metabolismo C₄), es convertido en fosfoenolpiruvato, el cual puede aceptar de nuevo una molécula de CO₂:



Obsérvese (fig. 11.15) que la asimilación de una molécula de CO₂ mediante el ciclo C₄ exige un gasto adicional de dos moléculas de ATP (reacciones 4 y 5), lo que supone un consumo total de 5 ATP frente a sólo 3 ATP que requieren las plantas C₃. A pesar de ello, la fotosíntesis C₄ confiere una serie de importantes ventajas en las regiones secas y soleadas. En efecto, gracias al mecanismo C₄ se alcanza una elevada concentración de CO₂ en los cloroplastos de las células de la

vaina, lugar donde se localiza la *RuBP* carboxilasa/oxigenasa. Ello tiene dos efectos beneficiosos para la planta:

1. Las pérdidas de vapor de agua a través de los estomas pueden reducirse sin que esto afecte significativamente a la fijación de CO_2 .
2. El proceso de fotorrespiración se inhibe casi por completo. Todo ello se traduce en una alta velocidad de fotosíntesis y, como consecuencia, un rápido crecimiento de la planta.

Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM)

El *metabolismo ácido de las crasuláceas* (CAM, del inglés crassulacean acid metabolism) constituye, al igual que la ruta C_4 , un mecanismo de adaptación a los ambientes áridos. Las plantas CAM suelen habitar regiones semidesérticas en las que existen prolongados periodos de sequía y bruscos cambios de temperatura del día a la noche. Aunque la ruta CAM se encontró originariamente en miembros de la familia *Crassulaceae*, con posterioridad también se ha hallado en representantes de otras familias. Entre las especies CAM más conocidas se encuentran la chumbera, la pita, el diente de león y la piña tropical. En algunas especies la fotosíntesis CAM es constitutiva, mientras que en otras puede ser inducida tanto por «estrés hídrico» como por «estrés salino».

En la figura 11.16 se resume la secuencia de reacciones que integran la ruta CAM. Bajo condiciones de sequía prolongada, las plantas CAM, al contrario que

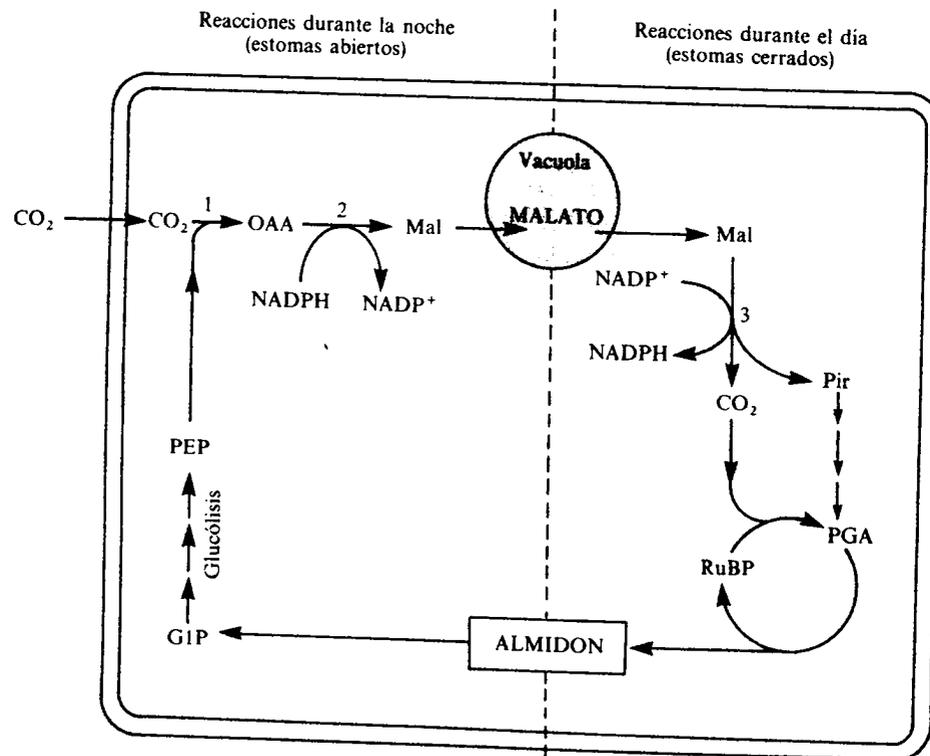


Figura 11.16. Ruta del metabolismo ácido de las crasuláceas. Abreviaturas: Pir, piruvato; G1P: glucosa-1-fosfato. Las restantes abreviaturas, así como los números identificativos de las enzimas, se describen en la leyenda de la figura 11.15.

el resto, abren sus estomas durante la noche (cuando la temperatura es baja) y los cierran durante el día (cuando la temperatura es alta), con lo que reducen considerablemente la transpiración. Por tanto, es durante la noche cuando el CO_2 atmosférico puede difundir al interior de las células y reaccionar con el fosfoenolpiruvato para formar oxaloacetato y, a continuación, malato, que se acumula en las vacuolas. La acumulación nocturna de malato origina un apreciable descenso del pH, una acidificación de los tejidos de la planta. Dicha acumulación está acompañada de un descenso de la concentración de almidón, al ser éste degradado a glucosa-1-fosfato para que, a través de la glucólisis, se genere el fosfoenolpiruvato necesario para sustentar la fijación nocturna de CO_2 . Durante el día, el malato acumulado sale de la vacuola y es descarboxilado. El CO_2 resultante es entonces asimilado a través del ciclo reductivo de las pentosas-fosfato.

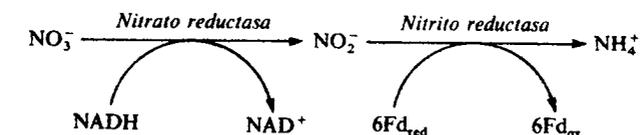
Como se observa, en las plantas CAM, al igual que ocurre en las C_4 , existen dos enzimas carboxilantes que actúan de forma coordinada en la asimilación fotosintética del carbono: la *fosfoenolpiruvato carboxilasa*, que da lugar a la formación de un compuesto de cuatro átomos de carbono, y la *RuBP carboxilasa/oxigenasa*, que finalmente fija el CO_2 resultante de la descarboxilación del compuesto C_4 y lo introduce en el ciclo de Calvin. No obstante, mientras que en las plantas C_4 existe una «separación espacial» entre las dos carboxilaciones (ocurren en dos tipos de células distintas), en las plantas CAM hay una «separación temporal» (noche/día). Las plantas CAM, al contrario que las plantas C_4 , muestran un lento crecimiento en su hábitat natural. Ello es debido a que la cantidad de CO_2 que pueden asimilar cada día está determinada por la cantidad de malato que pueden acumular en la vacuola durante la noche.

ASIMILACION DEL NITROGENO

Los organismos fotosintéticos no sólo son autótrofos para el carbono, sino también para el nitrógeno, es decir, tienen la capacidad de formar sus propias moléculas orgánicas nitrogenadas (aminoácidos, proteínas, etc.) a partir del nitrógeno inorgánico que se halla en el medio. La mayoría de las plantas utilizan el nitrógeno mineral del suelo, que se encuentra fundamentalmente bajo la forma de nitrato (NO_3^-) o de amonio (NH_4^+). Sin embargo, existen microorganismos, tanto fotosintéticos como no fotosintéticos, capaces, bien en estado libre, bien en asociaciones simbióticas, de utilizar el nitrógeno atmosférico (N_2).

Reducción del nitrato

Bajo condiciones normales de campo, el nitrato constituye la forma de nitrógeno predominante en la mayoría de los suelos. La asimilación de dicho nitrógeno requiere su previa reducción a amonio. El nitrato absorbido por la raíz de la planta puede ser reducido en la propia raíz o, lo que es más frecuente, en las hojas. Dicha reducción ocurre en dos etapas consecutivas: reducción de nitrato a nitrito, catalizada por la enzima *nitrato reductasa*, y reducción de nitrito a amonio, catalizada por la *nitrito reductasa*:



La *nitrito reductasa* de plantas es una enzima de elevado peso molecular (200-400.000 daltons) que utiliza generalmente NADH como donador de electrones. Contiene FAD, citocromo b_{557} y molibdeno como grupos prostéticos redox que participan en la transferencia de los electrones del NADH al nitrato. Aunque existen discrepancias en cuanto a su localización intracelular, se cree que, al menos en plantas superiores, se localiza en el citoplasma. El NADH requerido para la reducción del nitrato proviene fundamentalmente de la oxidación glucolítica, en el citoplasma, de las triosas-fosfato importadas del cloroplasto a través de la lanzadera 3-fosfoglicerato/dihidroxiacetona-fosfato.

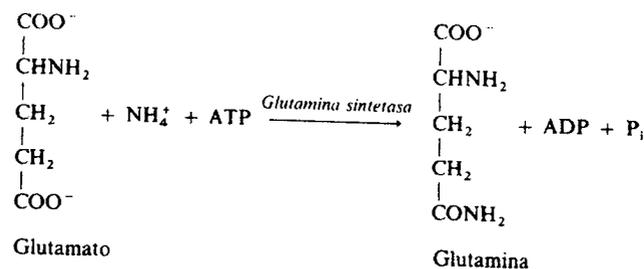
La *nitrito reductasa*, enzima que reduce el nitrito a amonio, tiene un peso molecular de 60-70.000 daltons y posee, como grupos prostéticos, un centro hierro-azufre [4Fe-4S] y un *sirohemo* (núcleo de porfirina con un átomo de hierro). Se localiza en los cloroplastos y su donador de electrones es la ferredoxina reducida, generada en las reacciones luminicas de la fotosíntesis. Puesto que la reducción de una molécula de nitrito a amonio requiere seis electrones, en dicha reacción se consumen seis moléculas de ferredoxina reducida.

La reducción asimilatoria del nitrato es un proceso sometido a diversos mecanismos de regulación. Así, la presencia de nitrato induce la síntesis *de novo* tanto de la *nitrito reductasa* como de la *nitrito reductasa*. Por otra parte, el amonio bloquea la entrada de nitrato en la célula, provoca la inactivación de la *nitrito reductasa* y, en último término, reprime la síntesis de las dos enzimas. Finalmente, la luz tiene una acción positiva sobre la síntesis y la actividad de la *nitrito reductasa*.

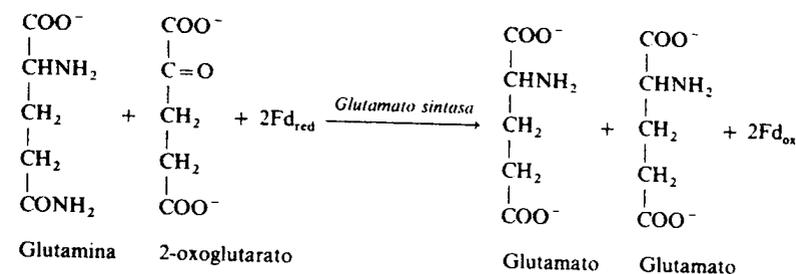
Asimilación del amonio

El amonio se puede generar en la célula vegetal de diversas formas: por reducción asimilatoria del nitrato, por fijación del nitrógeno molecular (en organismos fijadores de nitrógeno) y a través del proceso de fotorrespiración (véase más adelante). Además, el amonio puede ser absorbido por la planta directamente del suelo, especialmente cuando se añade al mismo como fertilizante nitrogenado. De cualquiera de las formas, al ser un compuesto altamente tóxico, es rápidamente asimilado.

El amonio se incorpora, en primer lugar, al glutamato formándose glutamina. Esta reacción requiere ATP y está catalizada por la enzima *glutamina sintetasa*:

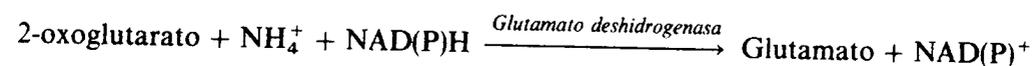


Seguidamente, la *glutamato sintasa* cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina al C₂ del 2-oxoglutarato, generándose dos moléculas de glutamato. Su donador de electrones es generalmente la ferredoxina reducida:



Como se muestra en la figura 11.17, de las dos moléculas de glutamato formadas, una de ellas se recicla incorporando una nueva molécula de amonio. La segunda, por acción de *aminotransferasas*, transfiere su grupo amino a diversos α -cetoácidos para formar los correspondientes aminoácidos.

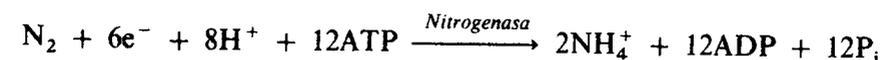
Una vía adicional de asimilación de amonio consiste en la aminación reductiva directa del 2-oxoglutarato catalizada por la enzima *glutamato deshidrogenasa*:



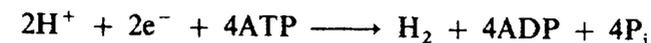
Esta última reacción opera cuando la concentración intracelular de amonio es alta, hecho que, por ejemplo, ocurre cuando a la planta se le suministra amonio.

Fijación del nitrógeno molecular

Se denomina fijación de nitrógeno al proceso por el cual diversos organismos procariontas, bien en forma libre, bien formando asociaciones simbióticas, reducen el nitrógeno molecular (N₂) a amonio, el cual es posteriormente asimilado en aminoácidos y proteínas. Dicha reacción está catalizada por el complejo enzimático *nitrogenasa*, que consta de dos proteínas diferentes: el componente I y el componente II. El *componente I* (llamado también *dinitrogenasa* o *MoFe-proteína*) es un tetrámero de aproximadamente 200-250.000 daltons que contiene dos centros molibdeno-hierro-azufre y cuatro centros hierro-azufre [4Fe-4S]. El *componente II* (conocido también por *dinitrogenasa reductasa* o *Fe-proteína*) es un dímero de 50-60.000 daltons que posee únicamente un centro hierro-azufre [4Fe-4S]. El mecanismo de la reacción catalizada por la *nitrogenasa* (fig. 11.18) comprende básicamente las siguientes etapas: activación por ATP de la Fe-proteína y su consiguiente reducción por el donador de electrones, transferencia de dichos electrones desde la Fe-proteína reducida a la MoFe-proteína y, finalmente, reducción por esta última del nitrógeno a amonio. La reacción requiere seis equivalentes de reducción, en forma de ferredoxina o flavodoxina reducidas, y, como mínimo, doce moléculas de ATP:



La *nitrogenasa* tiene también la capacidad de reducir los protones a hidrógeno según la siguiente reacción:



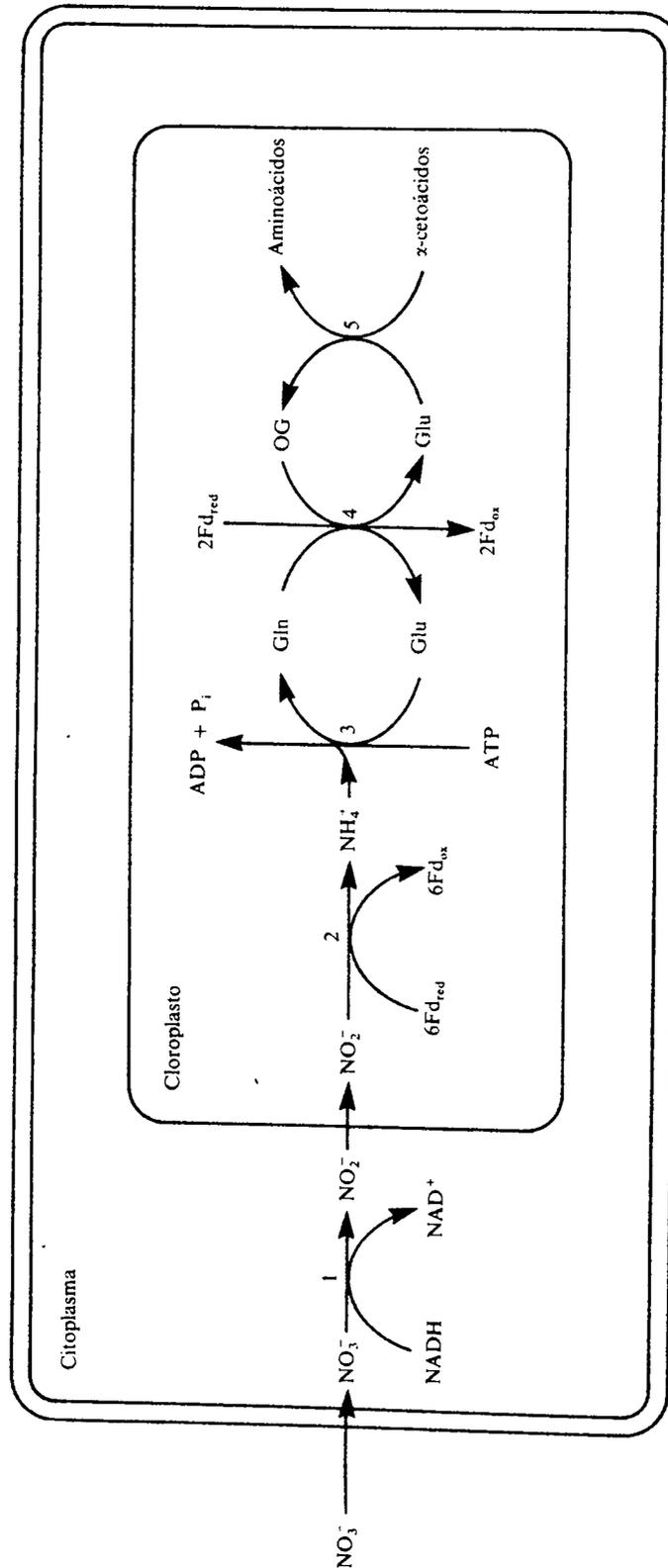


Figura 11.17. Ruta de conversión del nitrógeno inorgánico en nitrógeno orgánico en células fotosintéticas. Abreviaturas: Fd_{red} y Fd_{ox} : ferredoxinas reducida y oxidada, respectivamente; Glu: glutamato; Gln: glutamina; OG: 2-oxoglutarato. Enzimas: 1: nitrato reductasa; 2: nitrito reductasa; 3: glutamato sintetasa; 4: glutamato sintetasa; 5: aminotransferasa.

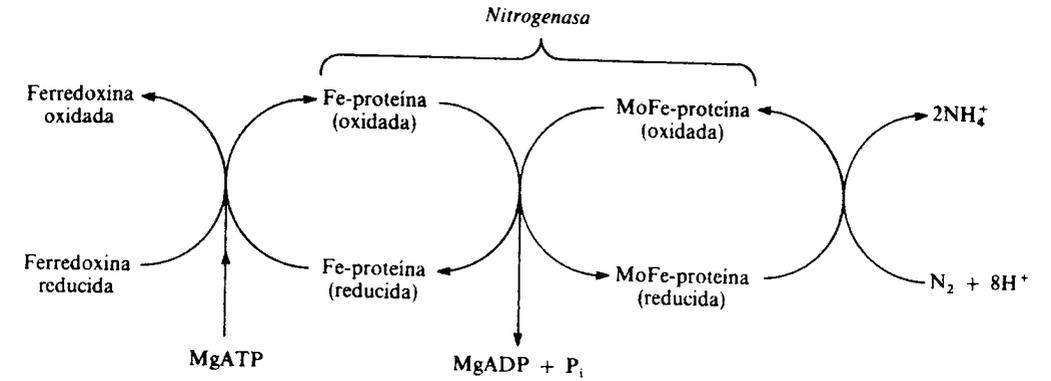


Figura 11.18. Reducción del nitrógeno molecular a amonio catalizada por la enzima nitrogenasa.

Como se observa, esta última actividad da lugar a un «dispendio» de ATP y poder reductor. No obstante, algunos organismos fijadores de nitrógeno poseen una enzima *hidrogenasa* capaz de reciclar el hidrógeno generado por la *nitrogenasa*, lo que les permite recuperar parte del poder reductor y del ATP.

La *nitrogenasa* es una enzima que se inactiva rápida e irreversiblemente por el oxígeno. Debido a ello, los organismos fijadores de nitrógeno han desarrollado diferentes mecanismos o estrategias con el fin de reducir la tensión de oxígeno en el entorno de la *nitrogenasa*. En el caso de la simbiosis entre las bacterias del género *Rhizobium* y las leguminosas, tras la infección de las raíces de la planta por el microorganismo, éste se multiplica y da lugar al desarrollo en la raíz de una serie de protuberancias o estructuras tumorales denominadas *nódulos*. En dichos nódulos, los bacteroides fijan el nitrógeno y el amonio resultante pasa a las células de la planta, donde es asimilado. En compensación, la planta suministra a los bacteroides fotosintatos, a partir de los cuales obtienen el poder reductor y el ATP requeridos para la reducción del nitrógeno. Pero, además, dentro de los nódulos se sintetiza *leghemoglobina*, una proteína con gran afinidad por el oxígeno que permite mantener en los alrededores de los bacteroides un ambiente lo suficientemente microaeróbico como para no dañar a la *nitrogenasa*, a la vez que suministra el oxígeno necesario para que, mediante respiración aeróbica, dichos bacteroides puedan generar el ATP requerido para la fijación del nitrógeno.

ASIMILACION DEL AZUFRE

El azufre es un elemento esencial para los seres vivos, ya que forma parte de ciertos aminoácidos y coenzimas. A diferencia de los animales, que necesitan ingerir azufre reducido integrado en compuestos orgánicos (principalmente metionina), los vegetales pueden utilizar el azufre inorgánico del medio en forma de sulfato (SO_4^{2-}) y convertirlo en azufre orgánico en forma de grupo sulfhidrilo ($-SH$) de la cisteína.

La mayor parte del sulfato absorbido por la raíz es transportado vía xilema a las hojas. En los cloroplastos, el sulfato es asimilado a expensas del poder reductor y del ATP generados en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis. El proceso de asimilación del sulfato transcurre en tres fases: activación del sulfato, reducción del sulfato activado a sulfuro y, finalmente, incorporación de éste a esqueletos carbonados como grupo sulfhidrilo (fig. 11.19).

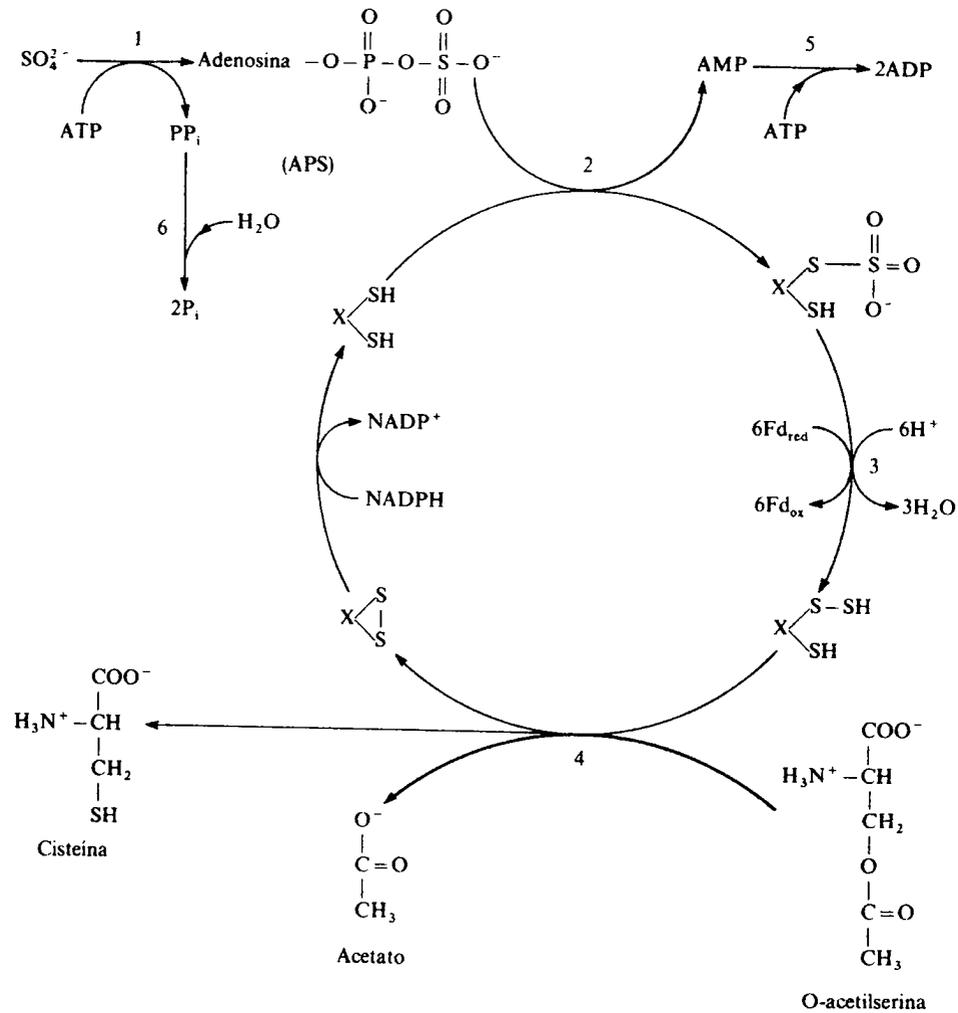


Figura 11.19. Ruta de la asimilación del sulfato en plantas superiores. Abreviaturas: APS, adenosina-5'-fosfosulfato; Fd: ferredoxina; P_i: ortofosfato; PP_i: pirofosfato; X: proteína unida a las membranas tilacoidales. Enzimas: 1, *ATP-sulfurilasa*; 2, *APS-sulfotransferasa*; 3, *tiosulfonato reductasa*; 4, *cisteína sintasa*; 5, *adenilato quinasa*; 6, *pirofosfatasa*.

La activación del sulfato se produce al reaccionar éste con una molécula de ATP, originándose adenosina-5'-fosfosulfato (APS). Dicha reacción está catalizada por la enzima *ATP-sulfurilasa*.

La reducción del sulfato activado transcurre en dos reacciones consecutivas que implican la transferencia de dos y seis electrones, respectivamente. En la primera de ellas, la *APS-sulfotransferasa* cataliza la transferencia del grupo sulfo (S⁶⁺) del APS a un grupo sulfhidrilo de una proteína tilacoidal de bajo peso molecular, liberándose AMP y formándose un grupo tiosulfonato (S⁴⁺) unido a la proteína. A continuación, el grupo tiosulfonato es reducido a tiosulfuro (S²⁻) en una reacción catalizada por la *tiosulfonato reductasa* y que requiere seis moléculas de ferredoxina reducida.

Finalmente, la *cisteína sintasa* cataliza una reacción entre el grupo tiosulfuro unido a la proteína y una molécula de O-acetilserina, produciéndose la escisión de esta última en acetato y cisteína, y quedando la proteína tilacoidal en estado

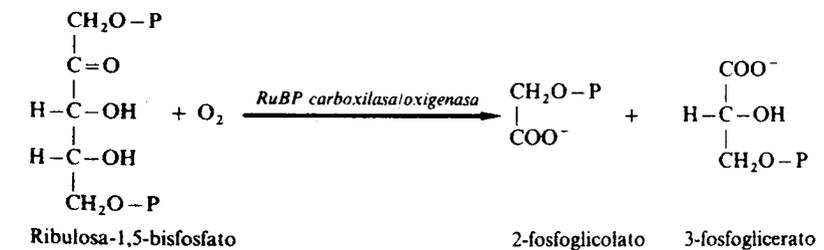
oxidado. Dicha proteína recupera su estado inicial reducido a expensas de una molécula de NADPH. A partir de la cisteína se sintetiza la metionina, así como otros compuestos azufrados.

En resumen, la reducción de sulfato a sulfuro consume ocho equivalentes de reducción (seis en forma de ferredoxina reducida y dos en forma de NADPH) y dos moléculas de ATP (una de ellas para generar ADP a partir del AMP).

FOTORRESPIRACION

La fotorrespiración es un proceso catabólico que ocurre sólo en la luz y que se manifiesta por un consumo de O₂ y un desprendimiento de CO₂ por las hojas de la mayoría de las especies vegetales. Las reacciones metabólicas que integran dicho proceso son totalmente diferentes de las que constituyen la respiración convencional o respiración oscura. Además, mientras que la respiración oscura tiene lugar en la mitocondria, en la fotorrespiración están involucrados tres orgánulos: cloroplastos, peroxisomas y mitocondrias (fig. 11.20). En términos de productividad vegetal, la fotorrespiración es un proceso negativo, ya que, de no existir, la velocidad de fijación de CO₂ y, como consecuencia, la producción de materia seca podrían incrementarse entre un 20 y un 40 por 100.

El metabolismo fotorrespiratorio es una consecuencia de la actividad oxigenasa de la enzima *RuBP carboxilasa/oxigenasa*. En presencia de O₂, dicha enzima cataliza la escisión de la molécula de ribulosa-1,5-bisfosfato en 3-fosfoglicerato y 2-fosfoglicolato:



El fosfoglicolato es rápidamente convertido en glicolato por acción de una *fosfoglicolato fosfatasa*. Dicho glicolato constituye el sustrato a partir del cual se genera el CO₂ fotorrespirado.

Una vez sintetizado en el cloroplasto, el glicolato es transportado al peroxisoma, en donde es oxidado a glioxilato y éste transaminado a glicina.

La glicina pasa entonces a la mitocondria, donde es convertida en serina mediante dos reacciones consecutivas. En la primera de ellas, una molécula de glicina es fragmentada en tres partes: el grupo carboxilo, que se libera como CO₂; el grupo amino, que se separa como amonio, y el grupo metilén, que se une a la coenzima tetrahidrofolato (THF). En la segunda reacción, el grupo metilén es transferido desde el metilén-tetrahidrofolato a una segunda molécula de glicina, formándose así serina. El CO₂ producido puede ser desprendido a la atmósfera o bien ser refijado en el cloroplasto por el ciclo de Calvin. En lo que respecta al amonio, es rápidamente reasimilado por el ciclo *glutamina sintetasa/glutamato sintasa*. El glutamato resultante entra en el peroxisoma y se emplea para aminar a una molécula de glioxilato. Mediante el ciclo fotorrespiratorio del nitrógeno se impide que durante la fotorrespiración se produzca una progresiva pérdida de nitrógeno en forma de amonio.

La serina sintetizada en la mitocondria regresa al peroxisoma, donde es des-

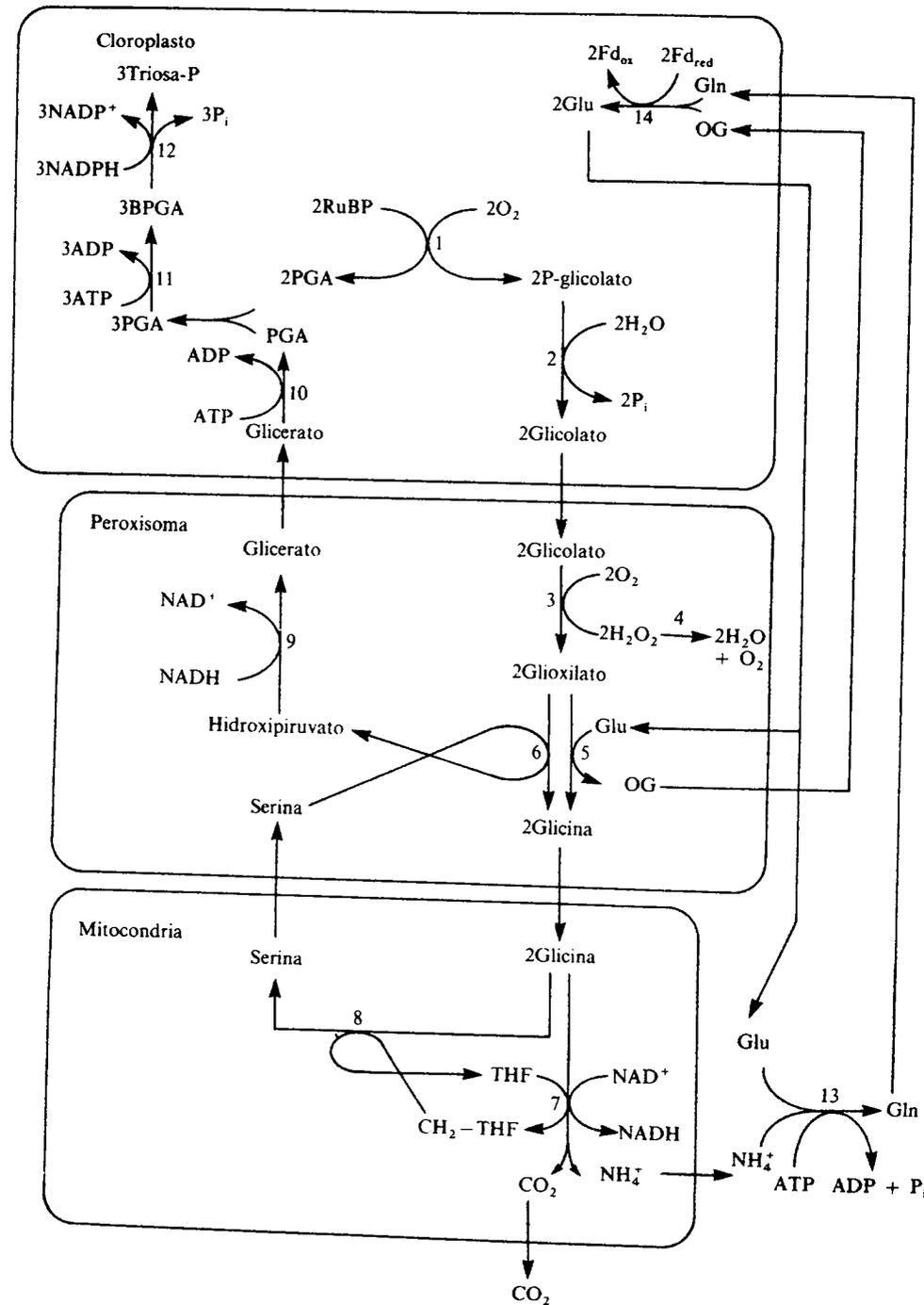


Figura 11.20. Ruta metabólica de la fotorrespiración. Abreviaturas: RuBP, ribulosa-1,5-bisfosfato; BPGA: 1,3-bisfosfoglicerato; PGA: 3-fosfoglicerato; THF: tetrahidrofolato. Las restantes abreviaturas se identifican en la leyenda de la figura 11.17. Enzimas: 1, *RuBP carboxilasa/oxigenasa*; 2, *fosfoglicolato fosfatasa*; 3, *glicolato oxidasa*; 4, *catalasa*; 5, *glutamato-glioxilato aminotransferasa*; 6, *serina-glioxilato aminotransferasa*; 7, *glicina sintasa*; 8, *serina hidroximetiltransferasa*; 9, *hidroxipiruvato reductasa*; 10, *glicerato quinasa*; 11, *3-fosfoglicerato quinasa*; 12, *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa*; 13, *glutamina sintetasa*; 14, *glutamato sintasa*.

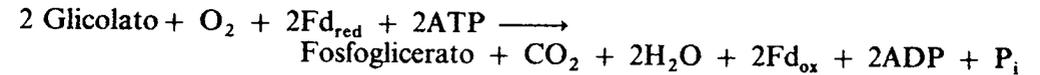
aminada y reducida, produciéndose glicerato. Finalmente, dicho glicerato pasa al cloroplasto, donde es fosforilado a 3-fosfoglicerato. Este último puede ser convertido en triosa-fosfato por las correspondientes enzimas del ciclo reductivo de las pentosas-fosfato.

Las reacciones que constituyen la fotorrespiración (véase más detalladamente en la fig. 11.20) pueden agruparse de la siguiente forma:

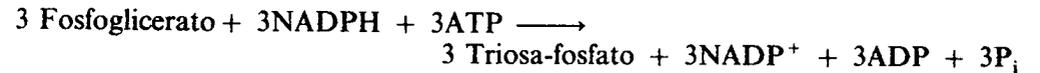
Biosíntesis de glicolato



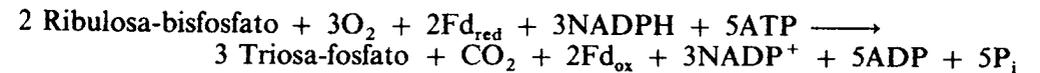
Ruta del glicolato



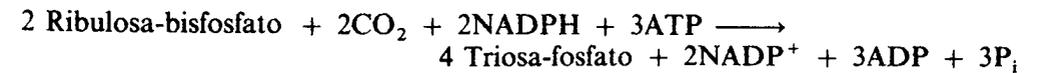
Conversión del fosfoglicerato en triosas-fosfato



La estequiometría global del proceso (suma de las tres etapas anteriores) sería, por tanto, la siguiente:



Adviértase que, si no existiese la actividad *RuBP oxigenasa*, la estequiometría para la síntesis de triosas-fosfato sería la siguiente:



Se observa, por tanto, que el proceso de fotorrespiración conduce a una progresiva pérdida de carbono orgánico sin que ello vaya acompañado de una ganancia neta de energía, tal como ocurre en otros procesos degradativos. Todo lo contrario, durante la fotorrespiración hay, además, un elevado consumo de ATP y poder reductor.

Puesto que el CO_2 y el O_2 compiten entre sí por el mismo sitio activo de la *RuBP carboxilasa/oxigenasa*, las velocidades relativas de carboxilación (asimilación del CO_2) y oxigenación (fotorrespiración) vienen determinadas, además de por los valores de K_m y $V_{\text{máx}}$ de la enzima para el CO_2 y el O_2 , por las concentraciones relativas de ambos sustratos en el interior del cloroplasto. A los niveles de CO_2 y O_2 en el aire (0,03 por 100 y 21 por 100, respectivamente), la velocidad de carboxilación en las plantas C_3 es aproximadamente cuatro veces superior a la de oxigenación. En las plantas C_4 , la fotorrespiración es, sin embargo, casi nula. Ello se debe a que, como consecuencia del ciclo C_4 , se alcanza una elevada concentración de CO_2 en los cloroplastos de las células de la vaina, lugar donde se localiza la *RuBP carboxilasa/oxigenasa*, y, como resultado, se inhibe casi totalmente la actividad oxigenasa. De hecho, es posible disminuir la fotorrespiración en las plantas C_3 , bien reduciendo suficientemente la concentración de O_2 en el aire o bien incrementando la de CO_2 .

Como hemos visto, la fotorrespiración es un proceso que despilfarra carbono y energía. ¿Cuál es entonces su función en las plantas? Según algunos autores, la oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato es una consecuencia inevitable del funcionamiento de la *RuBP carboxilasa/oxigenasa* en una atmósfera que, como la actual, posee una elevada concentración de O₂, en comparación a la atmósfera que existía sobre la Tierra cuando surgió dicha enzima. Desde este punto de vista, la ruta del glicolato permite recuperar para el ciclo de Calvin, aun a costa de un elevado consumo energético, gran parte del carbono que, de otra forma, se perdería como glicolato. Para otros autores, la fotorrespiración puede constituir un mecanismo de disipación del exceso de poder reductor y ATP que, bajo determinadas condiciones, se produce en el cloroplasto y que puede dañar a las propias estructuras fotosintéticas.

TEXTOS DE CONSULTA

- Amesz, J. (ed.): *Photosynthesis*, Elsevier, Amsterdam, 1987.
- Burriss, R. H., y Black, C. C. (eds.): *CO₂ Metabolism, and Plant Productivity*, University Park Press, Baltimore, 1976.
- Edward, G., y Walker, D. A.: *C₃, C₄: Mechanisms, and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1983.
- Fong, F. K. (ed.): *Light Reaction Path of Photosynthesis*, Springer-Verlag, Berlín, 1982.
- Gibbs, M., y Latzko, E. (eds.): *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, vol. 6 (*Photosynthesis II: Photosynthetic Carbon Metabolism and Related Processes*), Springer-Verlag, Berlín, 1972.
- Goodwin, T. W., y Mercer, E. I.: *Introduction to Plant Biochemistry*, Pergamon Press, Oxford, 1983.
- Govindjee (ed.): *Photosynthesis*, vol. 1 (*Energy Conversion by Plants and Bacteria*), y vol. 2 (*Development, Carbon Metabolism, and Plant Productivity*), Academic Press, Nueva York, 1982.
- Govindjee, Barber, J.; Cramer, W. A.; Goedheer, J. H. C.; Lavorel, J.; Marcelle, R., y Zilinskas, B. (eds.): *Excitation Energy and Electron Transfer in Photosynthesis*, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1987.
- Hatch, M. D., y Boardman, N. K. (eds.): *The Biochemistry of Plants, a Comprehensive Treatise*, vol. 10 (*Photosynthesis*), Academic Press, San Diego, 1987.
- Läuchli, A., y Bielecki, R. L. (eds.): *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, vol. 15A (*Inorganic Plant Nutrition*), Springer-Verlag, Berlín, 1983.
- Lawlor, D. W.: *Photosynthesis: Metabolism, Control, and Physiology*, Longman Scientific and Technical, Harlow, 1987.
- Nobel, P. S.: *Biophysical Plant Physiology and Ecology*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1983.
- Rennenberg, H., Brunold, C., De Kok, L. J., y Stulen, I. (eds.): *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants*, SPB Academic Publishing, The Hague, 1990.
- Stachelin, L. A., y Arntzen, C. J. (eds.): *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, vol. 19 (*Photosynthesis III: Photosynthetic Membranes and Light Harvesting Systems*), Springer-Verlag, Berlín, 1986.
- Steward, F. C., y Bidwell, R. G. S. (eds.): *Plant Physiology, a Treatise*, vol. 8 (*Nitrogen Metabolism*), Academic Press, Londres, 1983.
- Trebst, A., y Avron, M. (eds.): *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, vol. 5 (*Photosynthesis I: Photosynthetic Electron Transport and Photophosphorylation*), Springer-Verlag, Berlín, 1977.
- Ullrich, W. R.; Aparicio, P. J.; Syrett, P. J., y Castillo, F. (eds.): *Inorganic Nitrogen Metabolism*, Springer-Verlag, Berlín, 1987.
- Woodrow, I. E., y Berry, J. A.: Enzymatic Regulation of Photosynthetic CO₂ Fixation in C₃ Plants, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39:533-594, 1988.

- Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU
- Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Ciclos del ácido cítrico y del ácido glioxílico

EMILIO HERRERA

CICLO DEL ACIDO CITRICO

Significado del ciclo en el contexto del metabolismo intermediario

La mayor cantidad del ATP formado durante el metabolismo de los organismos superiores procede de la fosforilación oxidativa (cap. 10), que se nutre del potencial reductor (electrones) liberado en la oxidación de distintos sustratos a nivel de las membranas intramitocondriales, donde tiene lugar dicha vía. Ello se lleva a cabo mediante la formación de grupos acetilo, que en forma de acetil-CoA ($\text{CH}_3 - \text{CO} \sim \text{SCoA}$ o acetato activo) son oxidados a CO_2 y H_2O a través de una serie de reacciones, conocidas como *ciclo del ácido cítrico*, ciclo de los ácidos tricarbónicos o ciclo de Krebs, ocurridas en las mitocondrias. Los electrones liberados por la oxidación de los grupos acetilo en el transcurso del ciclo son asequibles directamente para fosforilación oxidativa, permitiendo así la formación de hasta las dos terceras partes de todo el ATP que consume el organismo.

En el contexto general del metabolismo se pueden distinguir tres grandes etapas (fig. 12.1). En la primera de ellas, los principios inmediatos o macromoléculas, proteínas, polisacáridos y lípidos (en particular los glicéridos) son transformados en sus metabolitos elementales (aminoácidos, glucosa, glicerol y ácidos grasos). En la segunda, éstos se transforman bien directamente, bien a través de la formación previa de piruvato, en acetil-CoA. Y, por fin, en la tercera etapa, los dos átomos de carbono del acetato activo entran en el ciclo del ácido cítrico para su completa oxidación a CO_2 , con la formación del potencial reductor que nutre la fosforilación oxidativa para la síntesis de ATP y agua (fig. 12.1). Así pues, este ciclo constituye una vía común, central y final del metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos.

Mientras que la primera de las etapas es reversible, es decir, las macromoléculas pueden volver a sintetizarse a partir de sus metabolitos elementales, la segunda sólo lo es en parte, dada la imposibilidad, por ejemplo, de sintetizar glucosa a partir de acetil-CoA. Por otro lado, tanto la formación de este compuesto como la posterior oxidación de los átomos de carbono del grupo acetilo hasta CO_2 , son procesos intramitocondriales, lo cual, junto con la impermeabilidad de la membrana mitocondrial al acetil-CoA, dificulta su reversibilidad (fig. 12.1).

compuestos marcados con isótopos radiactivos permitió una formulación definitiva del mismo. Ahora sabemos, además, que el ciclo es universal, y tiene lugar como vía principal de oxidación de los acetilos activos derivados del metabolismo celular, tanto en animales y plantas como en los más primitivos microorganismos. De hecho, los nombres que se han dado a la mayoría de los componentes del ciclo corresponden a los productos donde fueron inicialmente descubiertos, precisamente en el reino vegetal: 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). Otros componentes el ciclo, el ácido isocitrónico y el 2-oxoglutarico, recibieron sus nombres en función de sus características estructurales, ya que fueron sintetizados químicamente antes de que se reconociera su presencia ubicada en los organismos vivos.

Localización celular del ciclo del ácido cítrico

Todos los componentes del ciclo se encuentran en los tejidos dentro de las mitocondrias. Sin embargo, algunos de sus metabolitos y enzimas se encuentran también en el espacio extramitocondrial, como es el caso de los ácidos cítrico, málico y 2-oxoglutarico, y de la *aconitasa*, *fumarasa* y *malato deshidrogenasa*. El paso de metabolitos a través de la membrana mitocondrial no siempre se realiza por difusión simple, dependiente exclusivamente de sus gradientes de concentración, sino que en la mayoría de los casos dicho paso se encuentra finamente regulado por procesos dependientes de transportadores específicos que requieren, a su vez, el paso en sentido contrario de otro compuesto. Esto da un alto grado de especificidad y discriminación en el trasiego de componentes del ciclo del ácido cítrico entre uno y otro lado de la membrana mitocondrial, realizándose a veces a través de vías alternativas en las que el metabolito correspondiente es transformado en otro para atravesarla.

Dentro de las mitocondrias, las enzimas del ciclo se localizan de forma ordenada y próximas a las de la cadena respiratoria; posiblemente, en el lado opuesto de la membrana interna (matriz) de las mitocondrias, lo que facilita el adecuado acoplamiento de ambos procesos. Algunas de las enzimas del ciclo se encuentran íntimamente ligadas a la membrana mitocondrial, y esta localización es un requerimiento para manifestar su plena actividad. Esto ha hecho, por un lado, que la purificación y posterior estudio de las características catalíticas haya sido un proceso laborioso y todavía incompleto y, por otro, que no se haya conseguido la reconstitución del ciclo del ácido cítrico *in vitro* (en el tubo de ensayo). Se requiere la adecuada ubicación y organización intramitocondrial de sus componentes (enzimas, coenzimas y metabolitos) para que el proceso pueda alcanzar pleno rendimiento.

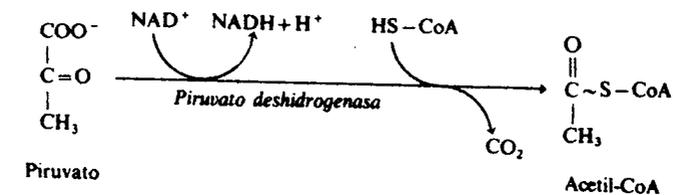
Conexión de la glucólisis con el ciclo del ácido cítrico: oxidación del piruvato a acetil-CoA

La última etapa de la degradación de la glucosa en plantas y animales (glucólisis, cap. 16) es el transporte del piruvato desde el citoplasma al interior de las mitocondrias, donde es oxidado y descarboxilado para formar acetil-CoA, y así poder entrar en el ciclo del ácido cítrico.

El paso del piruvato a la matriz mitocondrial requiere del transporte simultá-

neo de H^+ en la dirección opuesta. La transferencia de electrones que tiene lugar en la matriz mitocondrial permite una adecuada concentración de H^+ , cuyo gradiente hacia fuera facilita el bombeo de piruvato hacia dentro.

Una vez dentro de la mitocondria, la transformación del piruvato a acetil-CoA es catalizada por un agregado multienzimático denominado *piruvato deshidrogenasa*:



Este agregado multienzimático ha sido aislado y purificado de varios organismos. En mamíferos tiene pesos moleculares entre 7 y $8,5 \times 10^6$ daltons y está constituido por 20 ó 30 moléculas tetraméricas de *piruvato descarboxilasa* (también llamada *deshidrogenasa*), que contienen pirofosfato de tiamina. El agregado contiene también unas 60 moléculas de *dihidrolipoil transacetilasa* y 5 ó 6 moléculas diméricas de *dihidrolipoil deshidrogenasa*, que contienen una molécula de FAD cada una.

La participación de todos estos componentes en la reacción se presenta en forma resumida en la figura 12.2, y detalladamente en la figura 12.3. Por la acción catalítica de la *piruvato descarboxilasa* (*deshidrogenasa*) el piruvato es descarboxilado, con lo que se libera CO_2 como primer producto. El grupo α -hidroxi-etilo formado queda unido al pirofosfato de tiamina. En el siguiente paso, el ácido lipoico, en su forma oxidada, acepta un protón (H^+) y, con el grupo acetilo derivado de la deshidrogenación del grupo α -hidroxi-etilo, forma el ácido S-acetil lipoico. El enlace acetil-tio-éster es rico en energía y el compuesto formado se orienta dentro del complejo multienzimático, de forma que se separa de la *piruvato descarboxilasa* y se aproxima a la *dihidrolipoil transacetilasa*. Esto permite transferir el grupo acetilo a una molécula de coenzima A, dando así lugar a la formación del segundo producto final del complejo, el acetil-CoA, que es también rico en energía. Como resultado de estos pasos, el ácido lipoico queda en forma

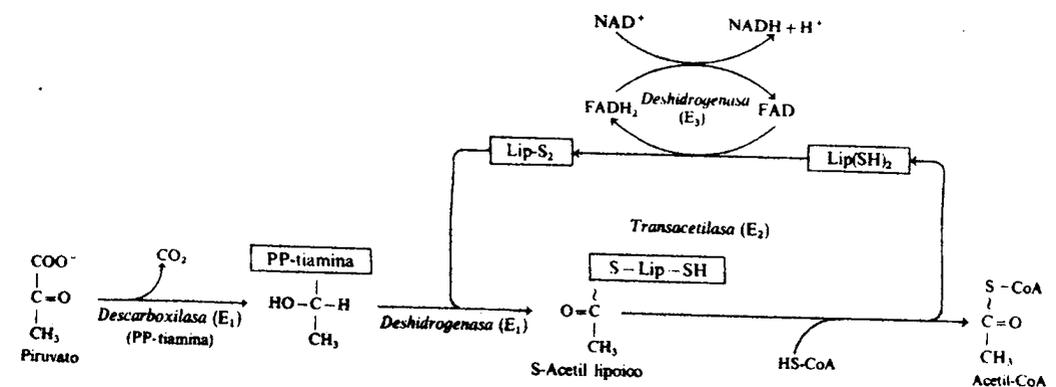


Figura 12.2. Esquema reducido de las reacciones catalizadas por el agregado multienzimático denominado *piruvato deshidrogenasa*. Está constituido por tres enzimas: E_1 , *piruvato descarboxilasa* o *deshidrogenasa*; E_2 , *dihidrolipoil transacetilasa*, y E_3 , *dihidrolipoil deshidrogenasa*. LipS_2 , ácido lipoico. \square , cofactores asociados a sus correspondientes enzimas.

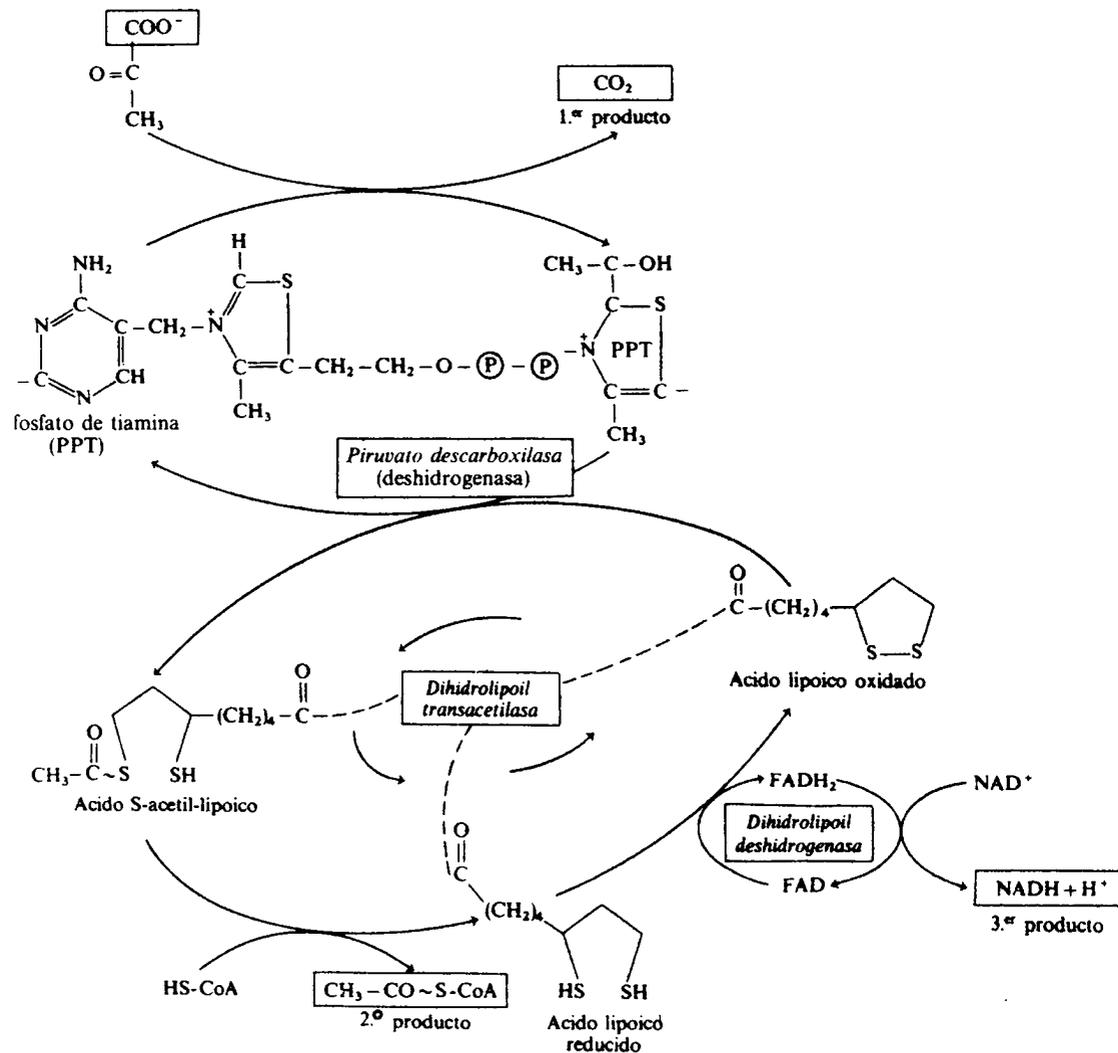


Figura 12.3. Desglose de las reacciones catalizadas por la piruvato deshidrogenasa. El ácido lipoico se encuentra unido a la molécula de la dihidrolipoil transacetilasa mediante un enlace amido, lo que permite un movimiento de rotación que favorece el contacto secuencial con la piruvato descarboxilasa, la coenzima A (HS-CoA) y la dihidrolipoil deshidrogenasa.

reducida, de manera que para volver a participar en el proceso ha de reoxidarse. Esta reoxidación se realiza mediante su deshidrogenación, catalizada por la dihidrolipoil deshidrogenasa, la cual es una flavoproteína que contiene FAD, que se reduce a FADH_2 . Finalmente, el FADH_2 es reoxidado por el NAD^+ , dando lugar al tercer producto del complejo, el NADH.

Dentro del agregado multienzimático, el ácido lipoico se encuentra unido a la dihidrolipoil transacetilasa mediante un enlace amido, formado entre el carboxilo del ácido y el grupo ϵ -amino de un residuo lisina de dicha enzima. Este enlace lipoil-lisina tiene un papel clave en la funcionalidad del conjunto, permitiendo que con un ligero movimiento del grupo S-S del ácido lipoico, entre en contacto sucesivo con la descarboxilasa, la coenzima A y la dihidrolipoil deshidrogenasa (fig. 12.3).

Regulación de la piruvato deshidrogenasa

Tanto el piruvato como el acetil-CoA, sustrato y producto principales de la piruvato deshidrogenasa, ocupan una posición clave en el metabolismo, al constituir ramificaciones (encrucijadas) de vías metabólicas (fig. 12.4). Así, el piruvato, además de ser producto final de la glucólisis, se forma en el metabolismo de los aminoácidos y en la oxidación del lactato, y puede ser utilizado para la síntesis de acetil-CoA, aminoácidos, lactato y glucosa. El acetil-CoA puede ser también formado a partir de ácidos grasos y de aminoácidos, y es sustrato para la síntesis de éstos, de la de los cuerpos cetónicos y del colesterol. Existen, por ejemplo, circunstancias en las que hay una formación suficiente o incluso excesiva de acetil-CoA a partir de la oxidación de los ácidos grasos, por lo que la célula no necesita formar más a partir de glucosa. Por consiguiente, la descarboxilación oxidativa del piruvato es un punto clave en el metabolismo intermediario, y la célula ha logrado su control de tal forma que cuando el aporte de acetil-CoA es adecuado a expensas de los ácidos grasos, la piruvato deshidrogenasa es inhibida, evitando así el desperdicio innecesario de piruvato derivado del consumo de glucosa (glucólisis).

La piruvato deshidrogenasa es una enzima interconvertible por enlace covalente (cap. 7), inactivada por fosforilación y activada por desfosforilación (fig. 12.5).

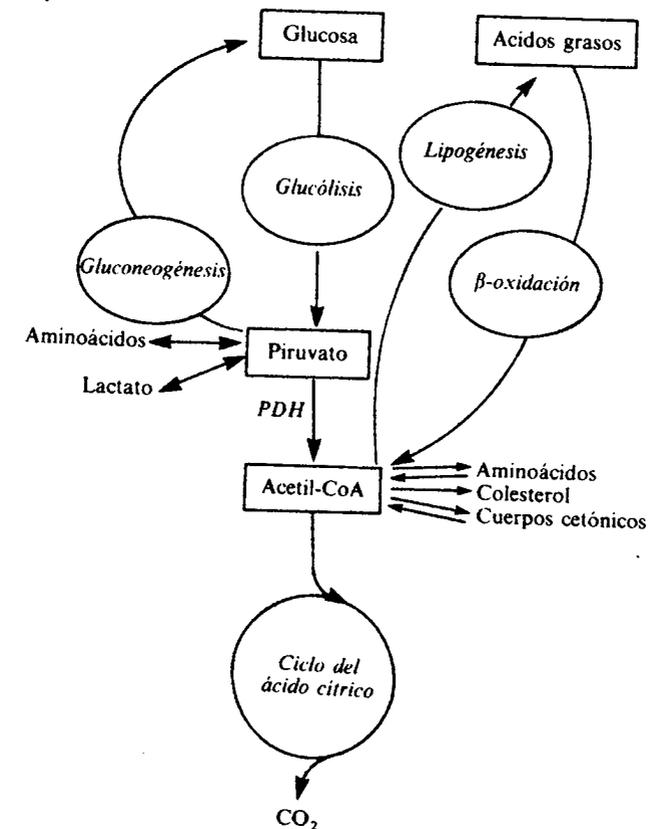


Figura 12.4. El piruvato y acetil-CoA, sustrato y producto principales de la reacción catalizada por la piruvato deshidrogenasa (PDH), ocupan una posición clave en el metabolismo intermediario, constituyendo lo que podría denominarse una encrucijada metabólica, al encontrarse en el vértice de diferentes vías.

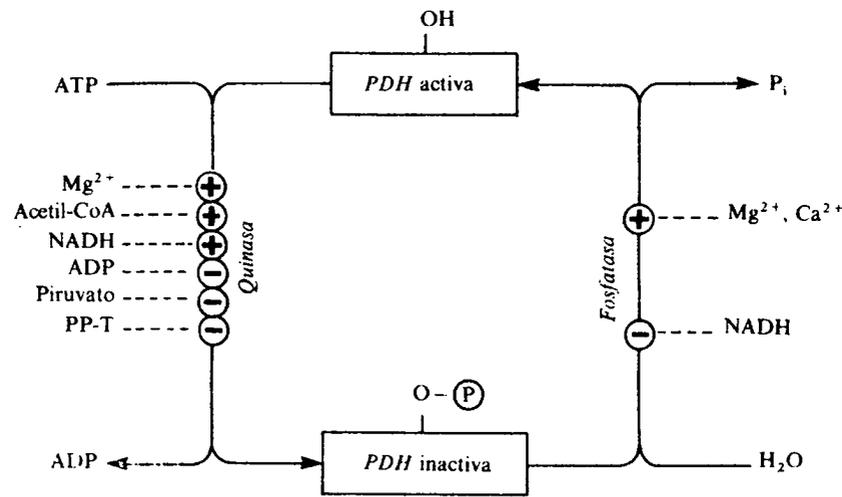


Figura 12.5. Control de la piruvato deshidrogenasa (PDH), que se realiza por interconversión de sus formas fosforilada (inactiva) y desfosforilada (activa), dependiente de las respectivas *quinasa* y *fosfatasa*. Estas enzimas son a su vez moduladas por los factores que se indican.

Estas modificaciones covalentes son catalizadas, respectivamente, por una *piruvato deshidrogenasa quinasa*, que requiere ATP, y una *piruvato deshidrogenasa fosfatasa*. De hecho, estas enzimas reguladoras forman también parte integral del agregado multienzimático de la *piruvato deshidrogenasa*, donde se encuentran asociadas a la *dihidrolipoil transacetilasa*.

La principal función reguladora es ejercida por la *quinasa*, que, al catalizar la fosforilación de la *piruvato deshidrogenasa* por hidrólisis del ATP, la convierte en su forma inactiva. La actividad de la *quinasa* es, a su vez, controlada por iones metálicos, cofactores y metabolitos (fig. 12.5); de entre ellos cabe destacar el papel estimulador que ejercen el acetil-CoA y el NADH, y el inhibidor del piruvato y el ADP. La inhibición producida por el ADP es competitiva con respecto al ATP, para lo que se requiere la presencia de un catión monovalente. El pirofosfato de tiamina (PP-T) también inhibe a la *quinasa*, aparentemente como resultado de su unión al sitio catalítico de la *piruvato descarboxilasa* y alterando su conformación para ser fosforilada, de tal forma que los grupos hidroxilos de los radicales serina de esta enzima se hacen menos accesibles a la *quinasa*. La *fosfatasa* es inhibida por exceso de NADH (fig. 12.5), y esta inhibición es revertida por el NAD^+ .

La actividad del agregado *piruvato deshidrogenasa* puede ser también regulada por el efecto directo de hormonas sobre los tejidos. De entre ellas cabe destacar la insulina, que incrementa la fracción activa (desfosforilada) de dicho agregado en tejido adiposo. Se ha propuesto que este efecto de la insulina se encuentre mediado por la estimulación de una *proteasa* de la membrana plasmática, de forma que la hormona facilitaría su liberación al interior de la célula, y que dicho péptido sería el activador de la *piruvato deshidrogenasa*.

De cualquier modo, la activación e inhibición de la *piruvato deshidrogenasa* se encuentran interconectadas, y el conjunto de su control permite que un exceso de energía (ATP/ADP), de potencial reductor (NADH/NAD⁺), o del producto de la oxidación de los ácidos grasos (acetil-CoA), inhiban la oxidación del piruvato derivado de la glucólisis, del metabolismo de los aminoácidos o del formado a partir de lactato, canalizándolo hacia su transformación en oxaloacético para la gluconeogénesis (cap. 17).

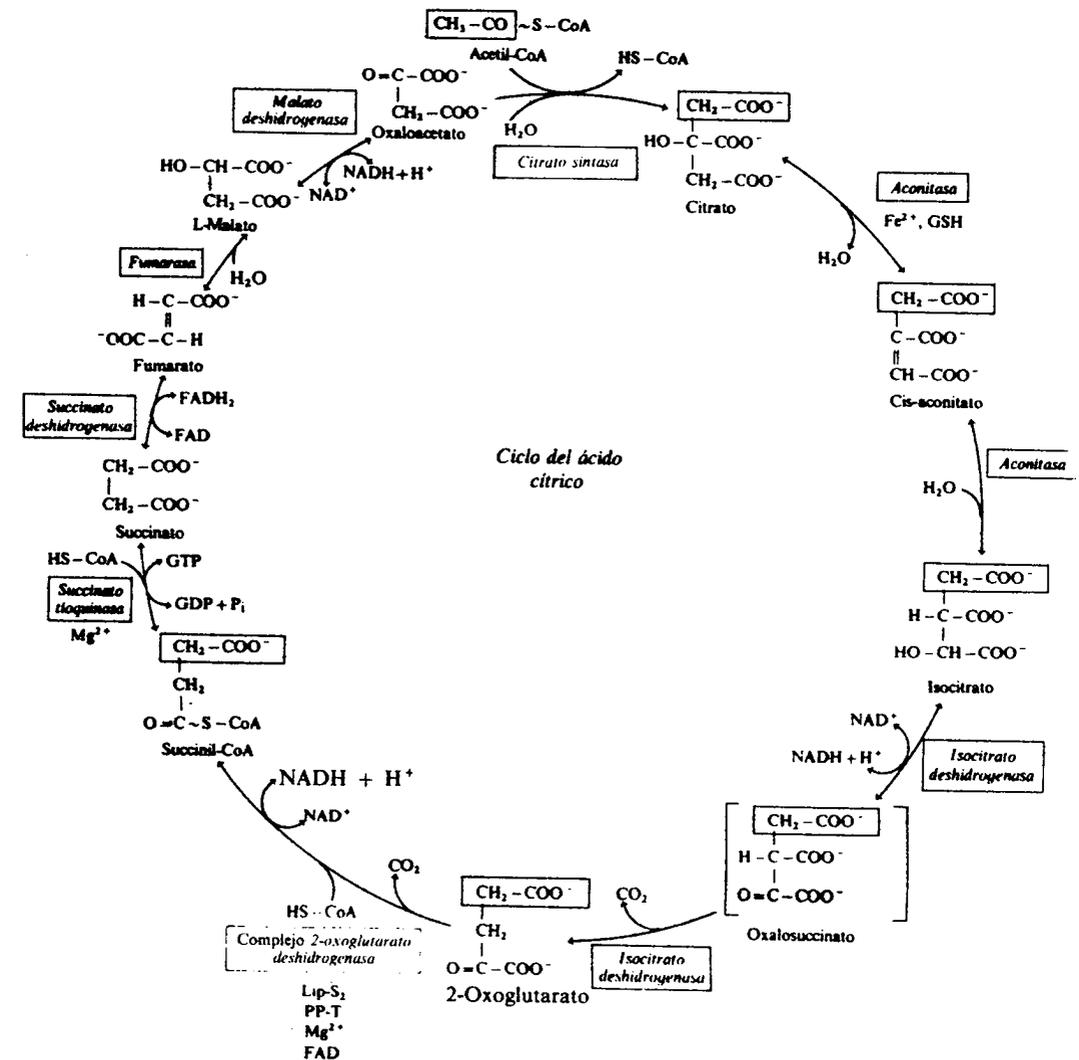
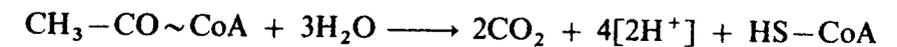


Figura 12.6. Reacciones del ciclo del ácido cítrico. En una vuelta del ciclo se desprenden dos átomos de carbono en forma de CO_2 , los cuales no proceden directamente del acetil-CoA que acaba de entrar en el mismo. Ello se debe a la acción catalítica de la *aconitasa*, que se ejerce de forma asimétrica sobre la molécula de citrato. Véase texto.

Reacciones del ciclo del ácido cítrico

El conjunto de reacciones que participan directamente en el ciclo del ácido cítrico se muestra en la figura 12.6, con especificación de enzimas, coenzimas y nombre de los ácidos que en él participan. El balance global del ciclo es:

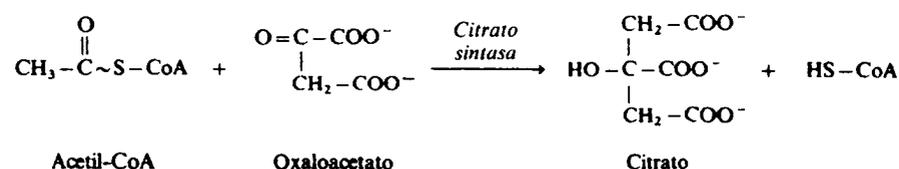


Las dos moléculas de CO_2 son equivalentes a los dos carbonos presentes en una molécula de acético, aunque es importante tener en cuenta que los carbonos del CO_2 no son los mismos que los del grupo acetilo en la primera vuelta del ciclo (fig. 12.6). Los cuatro pares de átomos de hidrógeno son utilizados para la reduc-

ción de nucleótidos (formación de $3\text{NADH} + \text{H}^+$ y 1CoQH_2^*), los cuales son posteriormente oxidados a través de la cadena respiratoria para su acoplamiento con la fosforilación oxidativa (formación de ATP).

Formación de citrato

La primera reacción del ciclo es la condensación de una molécula de acetil-CoA (derivada de la descarboxilación oxidativa del piruvato o de otras fuentes) con otra de oxaloacetato, por la acción catalítica de la *citrato sintasa* (también llamada *enzima condensante de citrato* o *enzima condensante de Ochoa*, por su descubridor):

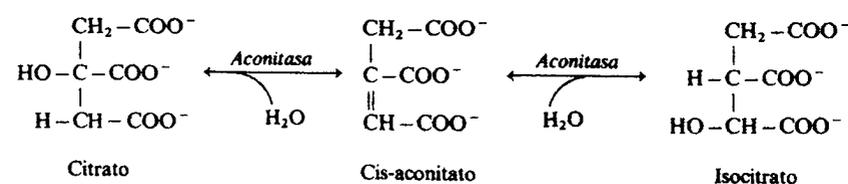


La reacción supone la hidrólisis del enlace tioéster del acetil-CoA, lo que implica la liberación de energía en forma de calor, haciendo el proceso prácticamente irreversible. En mamíferos, la *citrato sintasa* es exclusivamente intramitocondrial, y no requiere la participación de ninguna coenzima. Aunque es muy específica para sus sustratos, el acetil-CoA puede ser sustituido por fluoroacetil-CoA, en cuyo caso la reacción da lugar a la formación de fluorocitrato, que no puede ser metabolizado por las demás enzimas del ciclo, provocando su inhibición. El fluoroacetato ha sido utilizado como raticida, y su ingestión por el hombre puede ser fatal.

La *citrato sintasa* es inhibida por el producto principal de la reacción que cataliza, el citrato, que compite con el oxaloacetato también es inhibido por un metabolito intermedio del ciclo, el succinil-CoA, que compite con el acetil-CoA.

Isomerización del citrato

El grupo hidroxilo del citrato se encuentra localizado en la molécula en tal posición que su oxidación provocaría la rotura de ella. Esto hace que el citrato deba transformarse en un compuesto capaz de oxidarse, como el isocitrato, donde el hidroxilo se encuentra en un carbono que lleva un hidrógeno, y puede oxidarse hasta grupo cetónico, sin que la molécula se rompa. El proceso se realiza con la formación de un compuesto intermedio, el cis-aconitato, y es catalizado por la *aconitasa*, que contiene en su molécula Fe^{2+} y requiere de glutatión (γ -L-glutamil-L-cisteinilglicina o GSH) para su actividad:



* Aunque clásicamente se considera que los equivalentes reducidos que se producen en el ciclo del ácido cítrico son $3\text{NADH} + \text{H}^+$ y 1FADH_2 , en el caso del FADH_2 debe expresarse en forma de 1CoQH_2 . Ello se debe a que en la reacción en que se produce dicho nucleótido de flavina reducido (FADH_2), catalizada por la *succinato deshidrogenasa*, el potencial reductor correspondiente es rápidamente transferido a la ubiquinona (CoQ), formándose CoQH_2 , que es posteriormente oxidada a través de la cadena respiratoria.

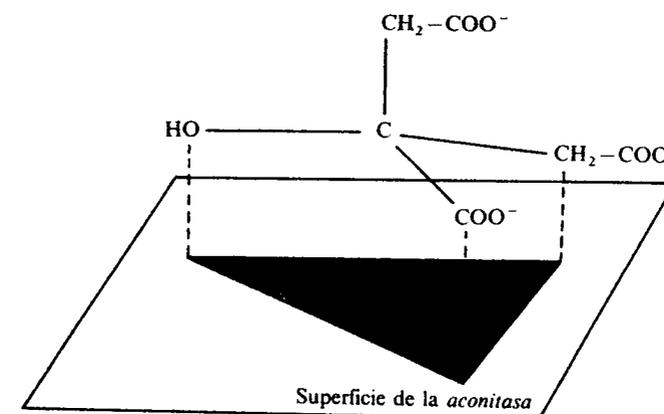


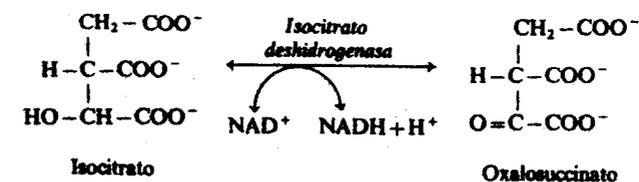
Figura 12.7. Unión hipotética de una molécula de citrato al lado activo de la *aconitasa*. La enzima diferencia entre los dos grupos $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ del citrato, por encontrarse en distinto plano, reconociendo así una asimetría en la molécula.

El proceso es reversible, y la *aconitasa* cataliza la liberación de agua tanto del citrato como el isocitrato, para la formación del cis-aconitrato. En el equilibrio, la concentración relativa de los tres componentes principales de la reacción es 89 por 100 de citrato, 3 por 100 de cis-aconitrato y 8 por 100 de isocitrato. A pesar de ello, *in vivo* el equilibrio está siempre desplazado hacia la isomerización del citrato a isocitrato, ya que el primero se está formando continuamente y de forma irreversible, y el isocitrato se está consumiendo en su oxidación y descarboxilación, que es también irreversible (fig. 12.6).

El primer sustrato de la *aconitasa*, el citrato, es una molécula químicamente simétrica. Sin embargo, mediante la utilización de trazadores radiactivos se ha demostrado que la *aconitasa* actúa sobre el citrato de una forma asimétrica, deshidratando siempre la parte de la molécula procedente del oxaloacetato. 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 $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ del citrato, por encontrarse en distinto plano del espacio (fig. 12.7), produciendo así asimetría a una molécula aparentemente simétrica. La consecuencia de la acción asimétrica de la *aconitasa* tiene importancia, porque es la responsable de que ninguno de los dos átomos de carbono que se desprenden en forma de CO_2 en una vuelta del ciclo del ácido cítrico procedan del acetil-CoA que acaba de incorporarse a él (fig. 12.6).

Oxidación del isocitrato

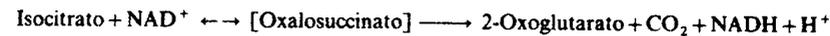
El isocitrato es oxidado con pérdida de dos hidrogeniones, en una reacción catalizada por la *isocitrato deshidrogenasa*, que utiliza como coenzima el NAD^+ ; el Mg^{2+} es también un componente importante del proceso. Los productos de la reacción son el NADH y el correspondiente oxo-ácido, el oxaloasuccinato:



La reacción no se detiene ahí, pues el oxalosuccinato queda unido a la enzima y es descarboxilado, formándose así el 2-oxoglutarato como segundo producto de la reacción:



Esta descarboxilación es también catalizada por la *isocitrato deshidrogenasa*, pero de forma prácticamente irreversible, y es dependiente de Mn^{2+} , lo cual es una excepción entre las deshidrogenasas. La reacción global catalizada por la *isocitrato deshidrogenasa* puede resumirse de la siguiente forma:

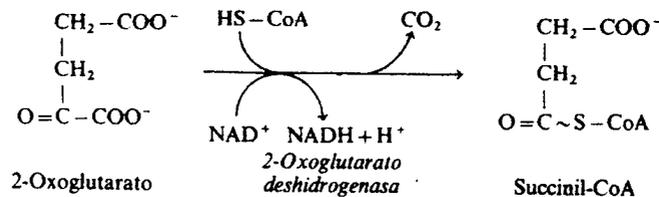


Esta *isocitrato deshidrogenasa* mitocondrial y dependiente de NAD^+ tiene características alostéricas, siendo el ADP un efector positivo y el ATP negativo. El ADP facilita el agrupamiento molecular de la enzima en forma de un tetrámero, mientras que el ATP produce su disociación en un dímero de menor actividad.

En la mayoría de los tejidos animales existen otras dos *isocitrato deshidrogenasas*, pero, a diferencia de la anterior, utilizan como coenzima el NADP^+ y se localizan una en las mitocondrias y otra en el citoplasma. Incluso en aquellos tejidos en que existe una *isocitrato deshidrogenasa-NADP^+* intramitocondrial, como el músculo cardíaco, el acoplamiento de la oxidación del isocitrato con la cadena respiratoria tiene lugar casi exclusivamente por la enzima dependiente de NAD^+ .

Descarboxilación oxidativa del 2-oxoglutarato

El 2-oxoglutarato se descarboxila de forma distinta al oxalosuccinato, ya que además de desprenderse CO_2 , el sustrato se oxida, incorpora una molécula de coenzima A y reduce a una molécula de NAD^+ :

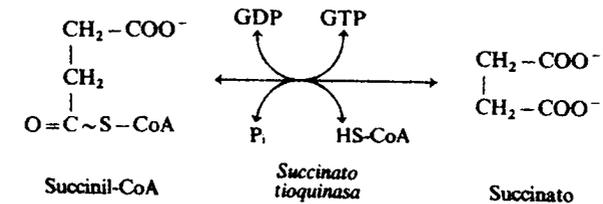


La reacción es catalizada por el agregado multienzimático *2-oxoglutarato deshidrogenasa*, cuya acción es análoga a la de la *piruvato deshidrogenasa* (pág. 337) y utiliza los mismos cofactores: pirofosfato de tiamina, ácido lipoico, NAD^+ , FAD y coenzima A. El equilibrio de la reacción está desplazado hacia la formación del succinil-CoA, de forma que es prácticamente irreversible. Conviene recordar que el CO_2 que se forma en esta reacción es el segundo que se desprende en el ciclo, y que en ambos casos estos átomos de carbono proceden de la molécula del oxaloacetato inicial. Así, aunque el acetil-CoA es un sustrato principal del ciclo del ácido cítrico, para que se desprenda CO_2 de su radical acetato, el ciclo ha de dar dos vueltas.

La *2-oxoglutarato deshidrogenasa* es inhibida por la presencia de iones mercúrico y arsenito, que bloquean los grupos $-\text{SH}$ del ácido lipoico. También es inhibida por deficiencia de tiamina en la dieta, y todo ello produce un acúmulo de 2-oxoglutarato y la inhibición del ciclo del ácido cítrico.

Fosforilación a nivel de sustrato

En la siguiente reacción del ciclo, la energía potencial del enlace tioéster del succinil-CoA es aprovechada para la formación de un enlace fosfato rico en energía. La reacción es catalizada por la *succinato tioquinasa* (denominada así por intervenir en la transferencia de un grupo tiol, $-\text{SH}$, y en la fosforilación de un nucleótido, el GDP). El producto es el succinato, y como el equilibrio de la reacción permite que pueda transcurrir en sentido inverso, la enzima se conoce también con el nombre de *succinil-CoA sintetasa* o *succinato-CoA ligasa*:



El succinil-CoA se une a la enzima mediante la incorporación de un fosfato inorgánico formándose un compuesto intermedio, el succinil-fosfato, y liberándose la coenzima A. El fosfato del succinil-fosfato se libera para la fosforilación de GDP, dando lugar al GTP y separándose el succinato de la enzima. La *succinato tioquinasa* requiere Mg^{2+} , al igual que ocurre con la mayoría de las enzimas que catalizan la transferencia de grupos fosfato. Parece que dicho ion participa en la unión del sustrato al sitio catalítico de la enzima.

El GDP puede ser sustituido por el IDP, en cuyo caso se formará ITP en vez de GTP. Ambos nucleótidos pueden ser utilizados para la formación de ATP por acción de una *fosfoquinasa*:



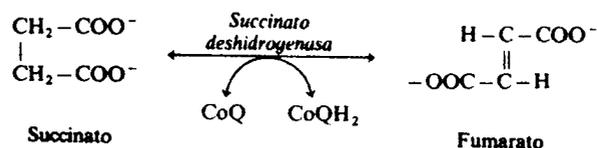
Este es el único sitio en el ciclo del ácido cítrico en que se genera ATP a nivel de sustrato.

En tejidos extrahepáticos existe también otra enzima que transforma el succinil-CoA en succinato, la *succinil-CoA acetoacetil-CoA transferasa* (o *tiaforasa*), que acopla el paso de succinil-CoA a succinato con la conversión de acetoacetato en acetoacetil-CoA. Esta reacción participa en la incorporación de los cuerpos cetónicos al ciclo del ácido cítrico (cap. 23), y constituye una alternativa a la reacción catalizada por la *succinato tioquinasa*. En el propio hígado hay también una *deacilasa*, que hidroliza directamente el succinil-CoA a succinato más coenzima A, pero su importancia cuantitativa es secundaria.

Oxidación del succinato

Por acción de la *succinato deshidrogenasa* (también denominada *succinato-ubiquinona oxidoreductasa*), el succinato es oxidado por deshidrogenación a fuma-

rato, con reducción de la ubiquinona (coenzima Q, o CoQ) y formación de ubiquinol (forma reducida de la coenzima Q, o CoQH₂). Por métodos isotópicos se ha demostrado que la enzima cataliza específicamente la formación del fumarato en configuración *trans*:

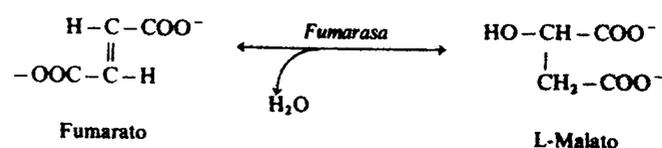


La enzima es una flavoproteína (FAD) que contiene hierro no hemínico. En la acción catalítica de esta enzima se forma FADH₂ como producto intermedio de la reacción, pero los dos hidrogeniones son transferidos a la CoQ para la formación de CoQH₂. Realmente esta CoQH₂ constituye el verdadero producto de la reacción, ya que se disocia de la enzima y actúa como sustrato para otras reacciones (véase cap. 10). La *succinato deshidrogenasa* se encuentra enclavada en la cara interna de la membrana. Esto permite que, a diferencia de otras deshidrogenasas, la deshidrogenación del succinato se realice sin participación del NAD⁺, y que la CoQH₂ formada sea fuente inmediata de electrones para la cadena respiratoria. Precisamente la propia CoQH₂ y el ATP son activadores para la *succinato deshidrogenasa*. La enzima puede ser inhibida competitivamente por el oxaloacetato y por un compuesto que no pertenece al ciclo, el malonato, que producen un acúmulo de succinato.

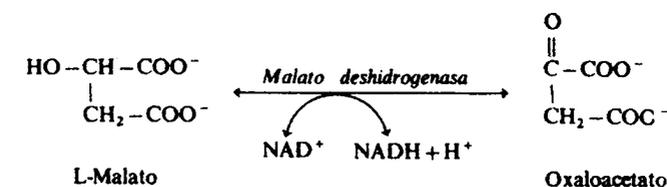
La actividad de la *succinato deshidrogenasa* en mitocondrias de mamíferos es superior a la de las otras enzimas del ciclo del ácido cítrico. Esto supone un mecanismo de regulación del rendimiento energético del ciclo, ya que cuando la *succinato deshidrogenasa* actúa a máxima actividad (por ejemplo, por aumento de la disponibilidad de ATP), la entrada de NADH en la cadena respiratoria disminuye por competencia con la CoQH₂ como donador de electrones, produciendo el acúmulo del primero e inhibiendo con ello la actividad de las deshidrogenasas que lo forman. Esto supone, a su vez, una disminución del rendimiento del ciclo, ya que de la oxidación de una molécula de NADH por la cadena respiratoria se obtiene energía suficiente para formar 3ATP, mientras que del succinato se obtienen solamente 2ATP.

Regeneración del oxaloacetato

La *fumarasa* (*fumarato hidratasa*) cataliza la incorporación de una molécula de agua al doble enlace del fumarato en su configuración *trans*, dando lugar de forma estereoespecífica al isómero L del malato:



El último paso del ciclo del ácido cítrico es la oxidación del malato a oxaloacetato, por acción de la *malato deshidrogenasa*, en una reacción dependiente de NAD⁺:



Esta reacción cierra el ciclo, aportando el oxaloacetato que se consumió inicialmente para comenzarlo. De hecho, aunque el equilibrio de la reacción se encuentre desplazado hacia el malato, el flujo está siempre orientado hacia la formación de oxaloacetato, ya que este compuesto se está utilizando continuamente para otras reacciones.

En tejidos humanos se han descrito seis isoenzimas de la *malato deshidrogenasa*, de las que la isoenzima IV es la más abundante. Como las de la *lactato deshidrogenasa* (LDH), estas isoenzimas también poseen diferencias entre sí en su desplazamiento electroforético, y son componentes normales del suero sanguíneo. Varían su proporción en determinadas situaciones patológicas, como en el infarto de miocardio, pero debido a que el análisis de las isoenzimas de LDH es más fácil que el de las de la *malato deshidrogenasa*, su uso en el laboratorio clínico no es frecuente.

Rendimiento energético del ciclo del ácido cítrico

Si el ciclo del ácido cítrico funcionara en ausencia de oxígeno, la suma de energía libre (ΔG°) de todas las reacciones que lo forman sería del orden de -25 kcal/mol, correspondiente en su mayor parte a la hidrólisis del enlace rico en energía del acetyl-CoA y a las dos descarboxilaciones. Ello permitiría el funcionamiento espontáneo del ciclo, pero tendría que regenerarse NAD⁺ y CoQ para que las deshidrogenasas correspondientes no quedaran inhibidas por acúmulo de dichas coenzimas reducidas. En realidad, el ciclo funciona únicamente en aerobiosis, perfectamente coordinado con la cadena respiratoria, lo cual sirve para la oxidación de dichas coenzimas reducidas y el aprovechamiento de la mayor parte de la energía que en él se produce para la formación de ATP.

En una vuelta completa del ciclo se liberan 216 kcal de energía química, de las que 191 se desprenden a través de la cadena respiratoria. Parte de esta energía es liberada en forma de calor, pero el resto es utilizada para la formación del ATP. Por cada molécula de acetyl-CoA que entra en el ciclo, se llegan a formar 12 ATP en los siguientes pasos:

isocitrato → 2-oxoglutarato	1 NADH	3 ATP (por cadena respiratoria)
2-oxoglutarato → succinil-CoA	1 NADH	3 ATP (por cadena respiratoria)
succinil-CoA → succinato	1 GTP	1 ATP (por transferencia directa)
succinato → fumarato	1 CoQH ₂	2 ATP (por cadena respiratoria)
malato → oxaloacetato	1 NADH	3 ATP (por cadena respiratoria)
Total		12 ATP

Estos 12 ATP son equivalentes a 87,6 kcal (12 × 7,3 kcal). A ellos habría que añadir tres ATP más en caso de que se considerara la formación del acetyl-CoA a partir de la descarboxilación oxidativa del piruvato, donde también se produce 1 NADH intramitocondrial. El rendimiento de energía metabólica del ciclo co-

responde a un 40 por 100 de la energía libre total del mismo, lo cual es un alto rendimiento desde el punto de vista fisiológico y, de hecho, constituye la principal fuente de ATP en el organismo.

Regulación global del ciclo del ácido cítrico

La proximidad intracelular del ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria no es sólo física, sino funcional, y la actividad de uno depende de la otra, y viceversa. Ambas vías metabólicas están regidas, a su vez, por las relaciones intramitocondriales de ATP/ADP y NADH/NAD⁺. Observando el ciclo en su conjunto (fig. 12.6), se comprende fácilmente su dependencia de la relación NADH/NAD⁺, de forma que una disminución de la cadena respiratoria disminuirá la regeneración del NAD⁺ e inhibirá las reacciones de la *isocitrato deshidrogenasa*, *2-oxoglutarato deshidrogenasa* y *malato deshidrogenasa*, por acúmulo de sus respectivas coenzimas reducidas. La relación ATP/ADP también controla la actividad del ciclo, ya que la *isocitrato deshidrogenasa* es activada por ADP e inhibida por ATP, y la *K_m* de la *citrato sintasa* para el acetil-CoA es aumentada por el ATP. Al mismo tiempo, un incremento de ATP impide la regeneración del GDP para la *succinato tioquinasa*, produciendo el acúmulo de succinil-CoA, el cual es inhibidor de la *citrato sintasa* y, en consecuencia, del inicio del ciclo. Así pues, un aumento en la relación ATP/ADP inhibe la actividad del ciclo del ácido cítrico. Esta regulación es similar a la que tiene lugar en la cadena respiratoria, donde la fosforilación del ADP es también dependiente de la relación ATP/ADP, y ello contribuye a un mejor acoplamiento de ambas vías.

En condiciones fisiológicas, el ciclo del ácido cítrico funciona en equilibrio dinámico, manteniendo constante el estado estacionario de los metabolitos que en él participan. Sin embargo, alteraciones metabólicas producidas por el ayuno, el ejercicio o cuadros patológicos, hacen variar dicho equilibrio, produciendo cambios importantes en las concentraciones de los metabolitos.

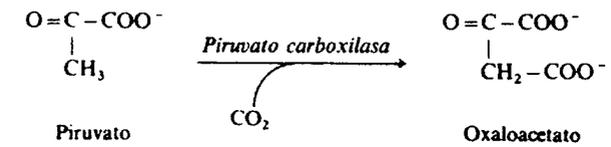
La actividad del ciclo depende también de la asequibilidad de sustratos. Aunque el acetil-CoA derivado del metabolismo hidrocarbonado, lipídico y amino-proteico es su principal sustrato, no es el único. Numerosos aminoácidos, a través de transaminaciones directas o indirectas, o de desaminaciones oxidativas (caps. 29 y 30), pueden ser transformados a α -cetoácidos (piruvato, oxaloacetato o 2-oxoglutarato), a succinil-CoA, o a fumarato, y entrar en el ciclo. Al mismo tiempo, del ciclo se derivan sustratos para la síntesis de otros componentes (oxaloacetato, para la síntesis de glucosa; succinil-CoA, para la síntesis de porfirinas, etc.). Lógicamente, la actividad de estas otras vías metabólicas influye también en la del ciclo del ácido cítrico.

Reacciones anapleróticas

Un aumento súbito en la llegada de piruvato a partir de glucosa, o de acetil-CoA a partir de los ácidos grasos, al interior de las mitocondrias, como ocurre con el ejercicio brusco o el estrés nervioso, puede producir una limitación de la entrada al ciclo del ácido cítrico por insuficiente disponibilidad de oxaloacetato para la síntesis de citrato. Existen dos reacciones que pueden considerarse auxiliares del ciclo, denominadas *anapleróticas*, que evitan esta situación: las catalizadas por la *piruvato carboxilasa* y por la *enzima málica*, respectivamente.

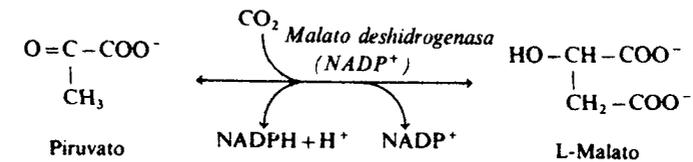
La *piruvato carboxilasa* es una enzima de la gluconeogénesis (cap. 17), que

cataliza la carboxilación del piruvato a oxaloacetato, y requiere precisamente de acetil-CoA como efector de activación para su funcionamiento:



Un aumento en la concentración intramitocondrial de acetil-CoA como resultado, por ejemplo, de la activación de la β -oxidación de los ácidos grasos produce una inhibición de la descarboxilación oxidativa del piruvato (el acetil-CoA es inhibidor de la *piruvato deshidrogenasa*) y una activación de la *piruvato carboxilasa* (fig. 12.8). Con ello, el piruvato disponible no es desaprovechado en la síntesis de acetil-CoA, que no podría entrar en el ciclo del ácido cítrico por falta de suficiente oxaloacetato, y es canalizado hacia la síntesis de este metabolito.

La segunda reacción anaplerótica es catalizada por una *malato deshidrogenasa* dependiente de NADP⁺, que se denomina *malato deshidrogenasa (NADP⁺)* o *enzima málica*. Produce la carboxilación y reducción del piruvato, transformándolo en malato. Utiliza como coenzima reductora el NADPH + H⁺:



Mediante la transformación posterior del malato a oxaloacetato, por la *malato deshidrogenasa* del ciclo del ácido cítrico, esta reacción de la *malato deshidrogenasa (NADP⁺)* también contribuye al aporte de oxaloacetato en el interior de las mitocondrias (fig. 12.8). El acoplamiento de las reacciones de las *malato deshidrogenasas dependientes de NADP⁺* y de NAD⁺ permite la utilización del potencial reductor del NADPH intramitocondrial para la formación de NADH (fig. 12.8), favoreciendo así la entrada de aquél a la cadena respiratoria.

De estas dos reacciones anapleróticas, la que cuantitativamente tiene mayor importancia es la catalizada por la *piruvato carboxilasa*, cuya actividad aumenta con el ejercicio, el ayuno, la diabetes y otras situaciones en las que es necesario un incremento de la síntesis de oxaloacetato para satisfacer las necesidades de este metabolito en la gluconeogénesis. La actividad de la *malato deshidrogenasa (NADP⁺)* varía de forma inversa, encontrándose disminuida en diabetes y aumentada tras la administración de insulina.

Intercambio de metabolitos del ciclo del ácido cítrico a través de la membrana mitocondrial

El ciclo del ácido cítrico es intramitocondrial, pero se nutre de metabolitos de fuera de la mitocondria; a su vez, metabolitos intermedios del ciclo se «escapan» de él para ser utilizados en vías extramitocondriales. La membrana mitocondrial no es permeable, permitiendo el paso a un número muy limitado de sustancias, y de una forma perfectamente controlada. Esto garantiza el mantenimiento del

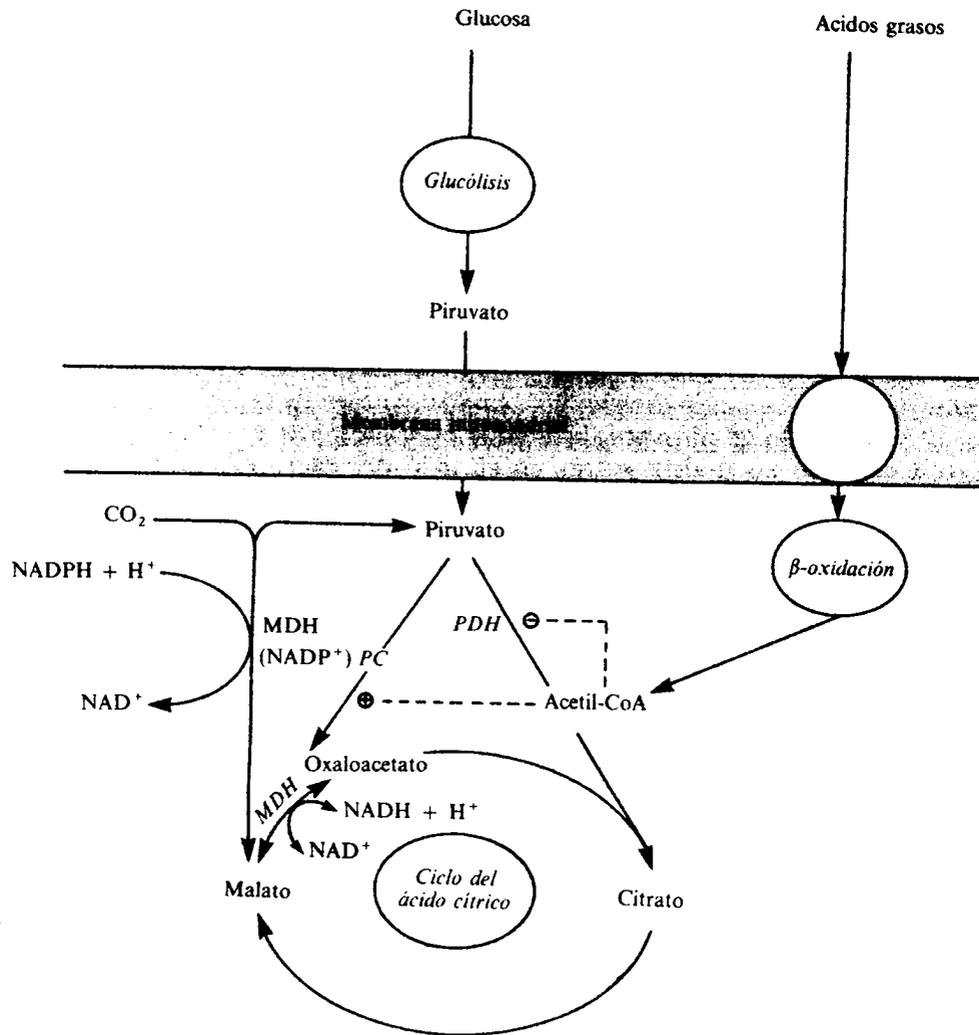


Figura 12.8. Las reacciones anapleróticas del ciclo del ácido cítrico, catalizadas por la *piruvato carboxilasa (PC)* y por la *malato deshidrogenasa (NADP⁺) (MDH[NADP⁺])*, garantizan la disponibilidad de oxaloacetato ante un incremento súbito de las concentraciones intramitocondriales del piruvato derivado de la glucólisis, y del acetil-CoA, derivado de la β -oxidación de los ácidos grasos. El control que ejerce el acetil-CoA sobre la *piruvato deshidrogenasa (PDH)* y la *PC* facilita que, cuando hay un aumento de la β -oxidación, no se desperdicien moléculas de piruvato para su síntesis, sino que éste sea canalizado hacia la formación de oxaloacetato. El acoplamiento de las reacciones de la *MDH(NADP⁺)* y la *malato deshidrogenasa (MDH)*, permite la transferencia del potencial reductor del NADPH intramitocondrial al NAD⁺, facilitando así su posterior oxidación por la cadena respiratoria.

equilibrio osmótico e iónico entre las mitocondrias y el citosol, y asegura los requerimientos mínimos de metabolitos intermedios del ciclo del ácido cítrico en el espacio intramitocondrial.

Existen compuestos del ciclo, o relacionados con él, que atraviesan fácilmente la membrana mitocondrial (piruvato, aminoácidos, malato, succinato, etc.), aunque normalmente lo hacen utilizando transportadores específicos (denominados genéricamente *translocasas*, por presentar características cinéticas similares a las

enzimas), que requieren de la transferencia de otro compuesto o ion en el sentido contrario. En cambio, la mayoría de las coenzimas (NAD⁺, NADH, FAD, coenzima A), con excepción de ATP y ADP, que poseen una translocasa específica, no atraviesan la membrana mitocondrial, por lo que de ellas existen dos acervos distintos dentro y fuera de esta membrana, que no se llegan a mezclar. Otros componentes del ciclo no atraviesan la membrana mitocondrial, pero lo hacen por vías alternativas, que los transforman reversiblemente en compuestos que sí pueden atravesarla; éste es, por ejemplo, el caso del oxaloacetato, que lo hace en forma de malato o aspartato, y del grupo acetilo del acetil-CoA, que lo hace en forma de citrato o de acetil-carnitina.

A pesar de que las translocasas son independientes entre sí, su acción llega a coordinarse con la actividad de enzimas intra y extramitocondriales, permitiendo a veces establecer sistemas complejos de transferencia que constituyen verdaderas vías metabólicas (fig. 12.9). Estas son reguladas por la concentración de iones a cada lado de la membrana interna de las mitocondrias, por la disponibilidad de metabolitos intermedios y por el propio control de las enzimas que en ellos participan.

Regulación de las translocasas

Existen inhibidores específicos de *translocasas*, pero normalmente no se encuentran en la célula, por lo que su importancia se limita a servir para identificarlas y estudiarlas *in vitro*. Sin embargo, las *translocasas* son reguladas por componentes celulares, lo cual es de gran importancia fisiológica, ya que constituye el control del intercambio de metabolitos en el ciclo del ácido cítrico.

Como ejemplo de regulación de las *translocasas* cabe destacar el de la transferencia de ATP y ADP entre un lado y otro de la membrana interna de las

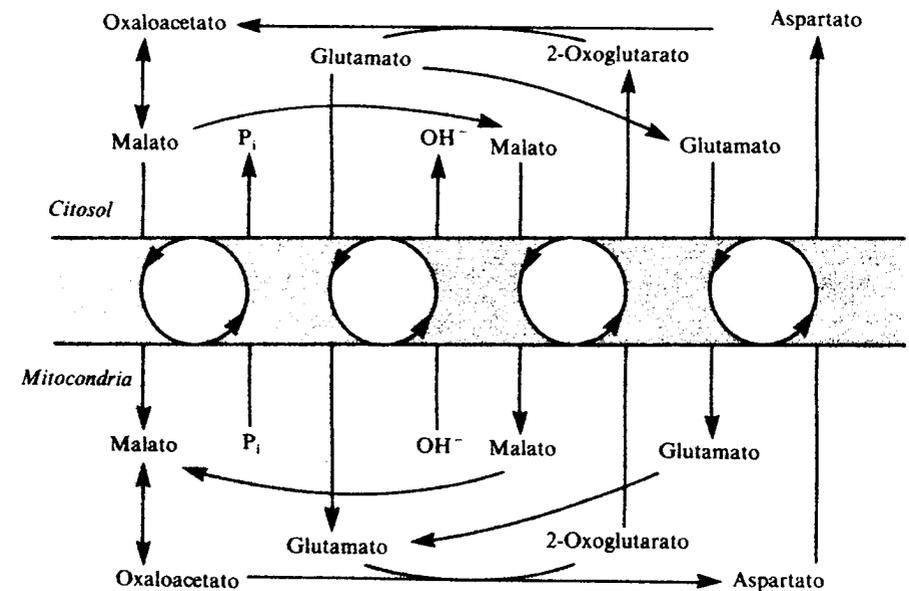


Figura 12.9. Las *translocasas* facilitan de forma específica el intercambio de componentes entre un lado y otro de la membrana mitocondrial. El acoplamiento de esta función con las reacciones propias de esos componentes en los compartimientos intra y extramitocondriales, permite establecer verdaderas vías metabólicas de considerable complejidad.

mitocondrias, dado el papel central de estos nucleótidos en el metabolismo celular. La misma *translocasa* es responsable de la transferencia simultánea, pero en distinta dirección, de ATP y ADP, de forma que cuando saca una molécula de ATP fuera de la mitocondria, ha de introducir otra de ADP. Esta translocación de ATP y ADP es inhibida de forma reversible, en el hígado de mamíferos, por los ésteres de ácidos grasos de cadena larga con la coenzima A (acil-CoA). Esto hace que el aumento de ATP que normalmente se produce en la respiración mitocondrial tras la adición de ADP esté disminuido en preparaciones procedentes de hígado de animales diabéticos o de animales hibernantes que poseen elevadas concentraciones de acil-CoA. A su vez, la adición de carnitina a estas preparaciones revierte el efecto, ya que este compuesto facilita la entrada de los grupos acilos al interior de las mitocondrias para su oxidación, evitando el acúmulo de los acil-CoA de cadena larga. Estos datos concuerdan con el hecho de que un incremento de ácidos grasos libres en tejidos, produce una inhibición de la fosforilación oxidativa posiblemente por el aumento que producen en la concentración de acil-CoA de cadena larga, lo cual inducirá a su vez una inhibición de la translocasa de los adenín-nucleótidos. Otro modulador fisiológico de esta *translocasa* es el ion

calcio. Concentraciones fisiológicas de este ion (200 μM) activan intensamente y de forma específica a la *translocasa*, y este efecto es aumentado más aún en presencia de iones K⁺. Estos datos coinciden con la repercusión que tienen en los procesos subcelulares de tejidos los cambios en la concentración de calcio libre en plasma, puesta de manifiesto por el desarrollo de la tetania cuando dicha concentración disminuye.

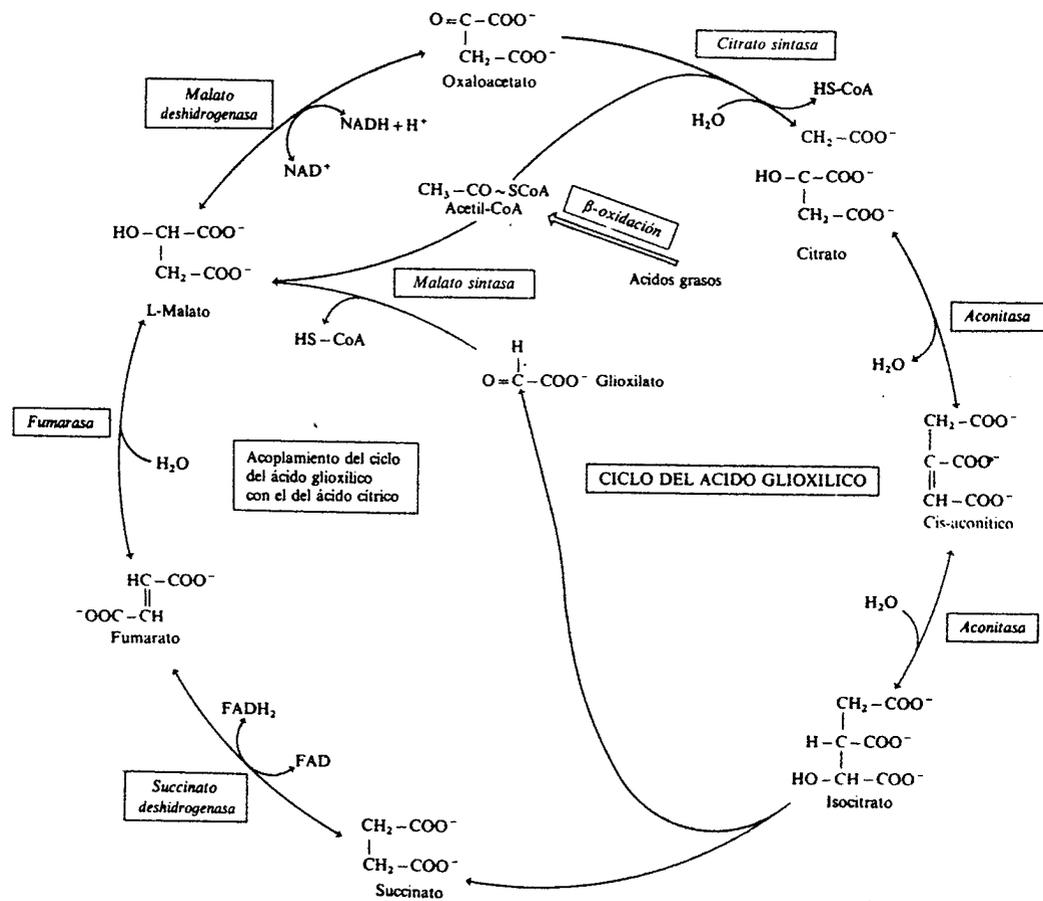


Figura 12.10. El ciclo del ácido glicólico constituye un acortamiento del ciclo del ácido cítrico. De hecho, el acoplamiento con reacciones de este ciclo (las catalizadas por la succinato deshidrogenasa, fumarasa y malato deshidrogenasa) permite que el conjunto se cierre con la formación neta de oxaloacetato a partir del acetil-CoA derivado de la β-oxidación de los ácidos grasos.

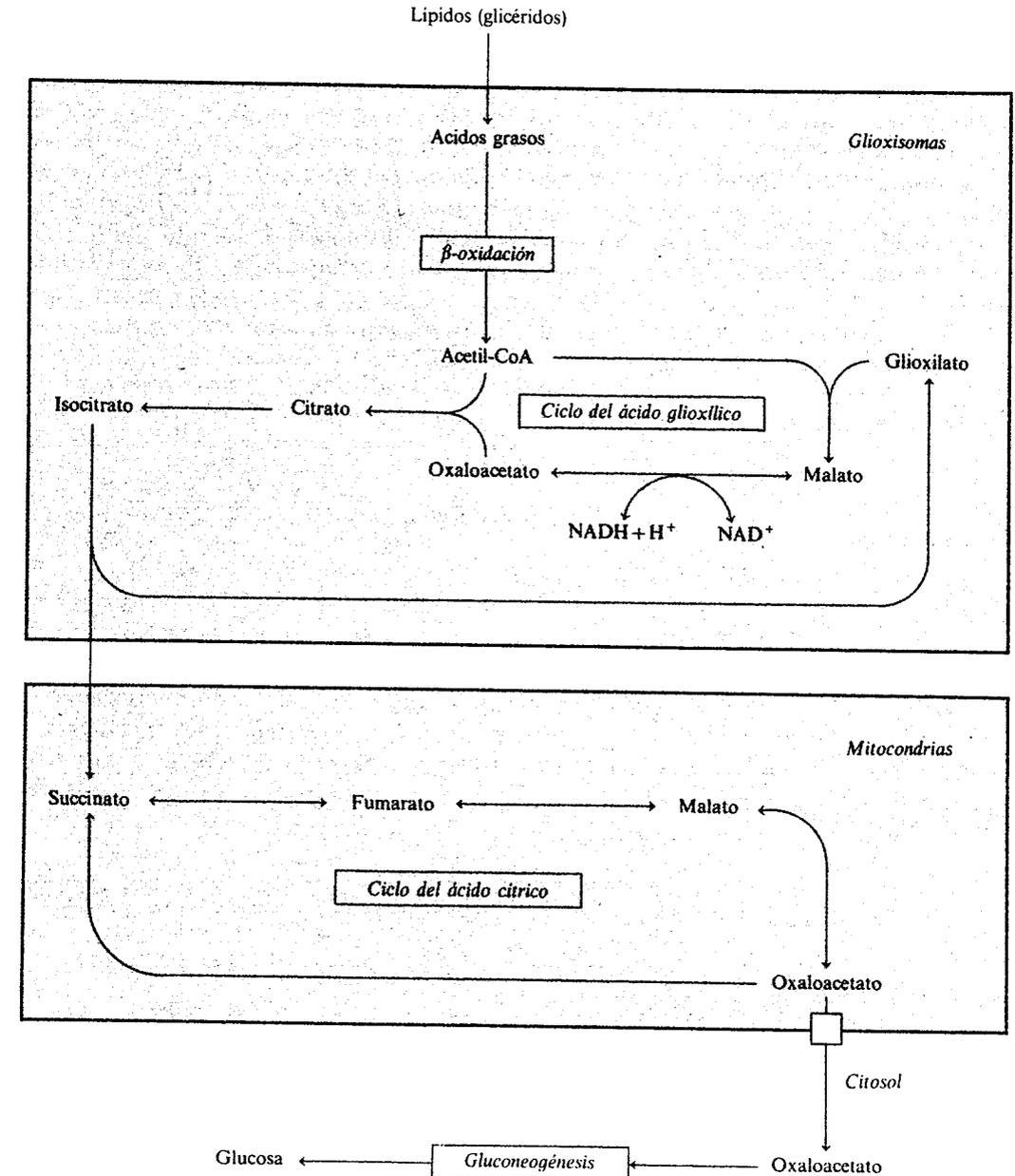
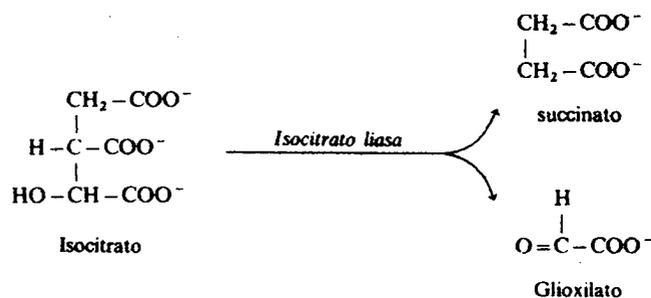


Figura 12.11. Compartimentación y acoplamiento intracelular de los ciclos del ácido glicólico y del ácido cítrico, y formación de glucosa a partir del oxaloacetato derivado de la oxidación de ácidos grasos.

CICLO DEL ACIDO GLIOXILICO

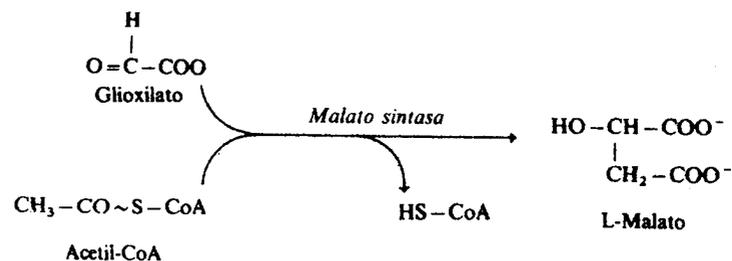
En los *glioxisomas* presentes en muchos microorganismos, semillas vegetales y, posiblemente, en algunos invertebrados tiene lugar lo que podría denominarse una versión reducida del ciclo del ácido cítrico, que por poseer el glioxilato como metabolito intermedio característico recibe el nombre de *ciclo del ácido glioxílico*. Este ácido da también nombre a los orgánulos subcelulares donde tiene lugar el ciclo, los *glioxisomas*, los cuales poseen características morfológicas y bioquímicas muy similares a los *peroxisomas* de mamíferos, aunque en éstos no tiene lugar dicho ciclo. En cierto modo, esto constituye una marcha atrás desde el punto de vista evolutivo, ya que gracias al ciclo del ácido glioxílico, los organismos que lo presentan pueden convertir carbonos de los ácidos grasos en glucosa, lo cual no ocurre en los animales superiores. En éstos, la conversión de piruvato en acetil-CoA es un proceso irreversible, lo que impide que este producto final de la oxidación de los ácidos grasos pueda ser transformado a piruvato para entrar en la gluconeogénesis mediante su carboxilación a oxaloacetato (cap. 17). Por el contrario, los organismos inferiores poseen dos enzimas, la *isocitrato liasa* y la *malato sintasa*, que les permite la síntesis neta de oxaloacetato a partir del acetil-CoA derivado de la β -oxidación de ácidos grasos en los propios glioxisomas y, a través de él, llegar a la síntesis de glucosa.

La *isocitrato liasa* cataliza la ruptura de la molécula de isocitrato en succinato y glioxilato:



La reacción es reversible, pero las concentraciones mutuas de sus componentes *in vivo* hacen que se encuentre desplazada a la derecha, en condiciones fisiológicas.

La *malato sintasa* se asemeja funcionalmente a la *citrato sintasa*, y cataliza la condensación irreversible del glioxilato y el acetil-CoA para la formación de L-malato:



Reacciones del ciclo del ácido glioxílico

La *malato sintasa* y la *isocitrato liasa* se acoplan a las reacciones catalizadas por la *malato deshidrogenasa*, *citrato sintasa* y *aconitasa*, para dar lugar a un ciclo

del ácido cítrico acortado (fig. 12.10), en el que el glioxilato actúa como un transportador de las moléculas de acetil-CoA que entran en él, desempeñando un papel similar al ejercido por el oxaloacetato en el ciclo del ácido cítrico (fig. 12.6).

No todas las reacciones del ciclo del ácido glioxílico tienen lugar en las glioxisomas y, de hecho, el ciclo se realiza de forma compartimentada entre dichos orgánulos y las mitocondrias, permitiendo un acoplamiento con el propio ciclo del ácido cítrico que tiene lugar en éstas (fig. 12.11). El conjunto permite la formación de suficiente cantidad de oxaloacetato para ser transferida al citoplasma por vías alternativas (recordemos que la membrana mitocondrial es impermeable al oxaloacetato), y ahí llegar a formar glucosa por la gluconeogénesis.

TEXTOS DE CONSULTA

- Boyer, P. D.: *How cells make ATP*, en *Biochemistry of metabolic processes*, D. L. F. Lennon, F. W. Stratman y R. N. Zahlten (eds.), Elsevier Biomedical, Nueva York, págs. 465-477, 1983.
- Cammack, R.: «FADH as a "product" of the citric acid cycle», *TIBS-October*, 277, 1987.
- Durand, R.; Briand, Y.; Touraille, S., y Alziari, S.: «Molecular approaches to phosphate transport in mitochondria», *TIBS-Agosto*, 211-213, 1981.
- Kay, J., y Weitzman, P. D. J.: «Krebs' citric acid cycle -Half a century and still turning», *Biochemical Society Symposium No. 54, The Biochemical Society*, Londres, 1987.
- Krebs, H. A., y Johnson, W. A.: «The role of citric acid in intermediate metabolism, in animal tissues», *Enzymologia*, 4:148-156, 1937.
- Krebs, H. A.: «The intermediate metabolism of carbohydrates», *Lancet*, ii, 736, 1937.
- Krebs, H. H.: *Reminiscences and reflections*, Clarendon Press, Oxford, 1981.
- Lanoue, K. F., y Schoolwerth, A. C.: «Metabolite transport in mitochondria», *Ann. Rev. Biochem.*, 48:871-922, 1979.
- Prince, R. C.: «The proton pump of cytochrome oxidase», *TIBS*, mayo, págs. 159-160, 1988.
- Reed, L. J., y Petit, F. H.: *Phosphorylation and dephosphorylation of pyruvate dehydrogenase*, en *Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation*, vol. 8: «Protein phosphorylation», Cold Spring Harbor Laboratory, págs. 701-711, 1981.
- Solioz, M.: «Dicyclohexylcarbodiisimide as a probe for proton translocating enzymes», *TIBS-Julio*, 309-312, 1984.
- Srere, P. A.: «The structure of the mitochondrial inner membrane-matrix compartment», *TIBS-October*, 375-378, 1982.
- Srere, P. A.: «Citric acid cycle redux», *TIBS*, noviembre, 411-412, 1990.
- Tager, J. M.; Wanders, R. J. A.; Groen, A. K.; Kunz, W.; Bohmensack, R.; Küster, U.; Letko, G.; Böhme, G.; Duszynski, J., y Wottczack, L.: «Control of mitochondrial respiration», *FEBS Letters*, 151:1-9, 1983.
- Wieser, W.: «The splitting of water by the tricarboxylic acid cycle, textbook error or textbook omission?» y «Involvement of water in TCA cycle», *TIBS-Noviembre*, 1980, y *TIBS-Marzo*, 1981, págs. 284 y XII, respectivamente.
- «50 Years ago, The theory of Szent-Györgyi», *TIBS-Enero*, 35-38, 1985.

Estructura y química de los monosacáridos

EDUARDO ARILLA FERREIRO



CONCEPTO Y CLASIFICACION DE LOS GLUCIDOS

Los glúcidos, azúcares, carbohidratos o sacáridos son aldehídos o cetonas polihidroxilados (osas), o productos derivados de ellos por polimerización (ósidos), reducción (alcoholes polihídricos y ciclitoles), oxidación (ácidos aldónicos, urónicos y sacáricos), sustitución (aminoazúcares») y esterificación (sulfatos y fosfatos); cuya fórmula empírica es $(CH_2O)_n$, $n \geq 3$. Se clasifican en osas y ósidos.

Las osas son glúcidos que no pueden desdoblarse en sustancias más sencillas por hidrólisis ácida. A su vez, se clasifican, según el número de átomos de carbono, en triosas (3), tetrasas (4), pentosas (5), hexosas (6) y heptosas (7); y según la naturaleza de la función carbonílica, en aldosas, si tienen una función aldehídica, y en cetosas, si poseen una función cetónica. La combinación de estos dos criterios permite caracterizar una osa. Así, una aldohexosa posee 6 átomos de carbono, 5 funciones alcohólicas y una función aldehído. Los ósidos son glúcidos que resultan de la asociación de varias moléculas de osas, a veces con sustancias no glucídicas. Estos glúcidos fueron estudiados en el capítulo 11.

ORIGEN DE LOS GLUCIDOS EN EL ORGANISMO

Los glúcidos presentes en el organismo son tanto de origen exógeno como endógeno. Los de origen exógeno proceden de la dieta, que contiene cereales (arroz, maíz, trigo), hortalizas (bulbos, raíces, verduras), legumbres (alubias, garbanzos, guisantes, habas, lentejas), tubérculos (patatas), frutas, dulces, confituras, jaleas, mermeladas, leche y productos lácteos. Además, tanto en el hígado como en la corteza renal del organismo pueden formarse glúcidos a partir de aminoácidos glucogénicos, y del glicerol de las grasas. Con excepción del ácido ascórbico, no existe ningún glúcido conocido que sea esencial en la dieta del hombre. Sin embargo, es aconsejable incluir en ésta suficientes glúcidos para evitar la cetosis, la degradación excesiva de proteínas tisulares, la pérdida de cationes, especialmente sodio, y la deshidratación.

- Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU
- Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS GLUCIDOS. INTERÉS INDUSTRIAL

Salvo el mencionado ácido ascórbico, los glúcidos no son imprescindibles en la alimentación. A pesar de ello, las dietas occidentales son ricas en estos compuestos, que proceden de tubérculos, cereales y legumbres o de sustancias purificadas como la sacarosa. Sus funciones son las siguientes:

— *Fuente energética.* La función principal de los glúcidos en el organismo es la de constituir la mayor fuente de energía, ya que producen 4 kcal/g.

— *Biosíntesis* de ácidos grasos y de algunos aminoácidos.

— *Constitución de moléculas complejas* importantes, tales como glicolípidos, glicoproteínas, ácidos nucleicos, nucleótidos azucarados y glicoesfingolípidos.

— *Aporte de fibra en la dieta.* Los hidratos de carbono indigeribles, tales como la celulosa, la lignina, el agar y las gomas, constituyen una gran parte de las fibras de los alimentos, que dan volumen a las heces. Diferentes estudios indican que la enfermedad diverticular del colon, el cáncer de colon e incluso la cardiopatía coronaria, pueden estar relacionadas con una carencia de fibras en la dieta. Dicha falta se ha relacionado también con hernias del tracto gastrointestinal, hemorroides, colepatías, apendicitis y obesidad. Además, existe una considerable evidencia experimental de que las fibras tienen efecto hipocolesterolémico.

— *Constitución de peptidoglicanos,* con lo que forman parte de las paredes celulares bacterianas.

Interés industrial

Los carbohidratos constituyen la materia prima de industrias de gran importancia económica, como las de pasta de madera, papel, fibras textiles y productos farmacéuticos. El principal carbohidrato industrial es sin duda la celulosa, cuya utilización mundial se calcula en 800 millones de toneladas por año. Los polisacáridos con propiedades gelificantes, como el agar, el ácido péptico y las carrageninas están implicados en las industrias alimentarias y de cosméticos.

ESTRUCTURA LINEAL DE LOS MONOSACARIDOS

Nomenclatura de los glúcidos

Los átomos de carbono de una *osa* se numeran de un extremo al otro de la cadena, asignando al carbono más oxidado el número más bajo. La fórmula lineal de las osas se representa de tal manera que la numeración sea creciente de arriba abajo (fig. 13.1).

El sufijo característico de los nombres de los monosacáridos y oligosacáridos es *osa*. La parte del nombre que precede a este sufijo refleja la historia y el origen del compuesto más que la sistemática química, por ejemplo, lactosa (azúcar de leche). En la nomenclatura sistemática, los polisacáridos se designan añadiendo el sufijo *ano* al nombre del monosacárido componente. Sin embargo, los polisacáridos no suelen denominarse según la nomenclatura sistemática, sino por sus nombres históricos (nombre consagrado por el uso) como es el caso del almidón, la dextrina, los pentosanos.

Algunos azúcares modificados se designan por el nombre del compuesto origi-

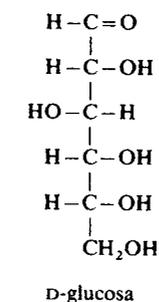


Figura 13.1. Estructura de la D-glucosa.

nal, añadiendo a éste términos que indican la clase de modificación estructural. Así pues, la conversión de una función alcohólica a un grupo metílico o metilénico se designa por el prefijo *desoxi*, como, por ejemplo, la ribosa y 2-desoxirribosa.

Las cetosas suelen denominarse por el nombre de la aldosa correspondiente, insertando la partícula *ul* antes del sufijo *osa* (ribosa y ribulosa).

Carbono asimétrico

Un carbono asimétrico es aquel que tiene sus cuatro valencias unidas a cuatro grupos diferentes. El *gliceraldehído*, cuya estructura se muestra en la figura 13.2,

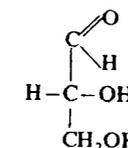


Figura 13.2. Estructura del gliceraldehído.

posee el C_2 asimétrico. El carbono asimétrico está en el centro de un tetraedro y los cuatro grupos enlazados se encuentran en los cuatro vértices (fig. 13.3).

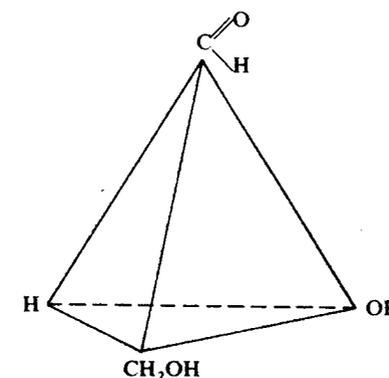


Figura 13.3. Estructura espacial del gliceraldehído.

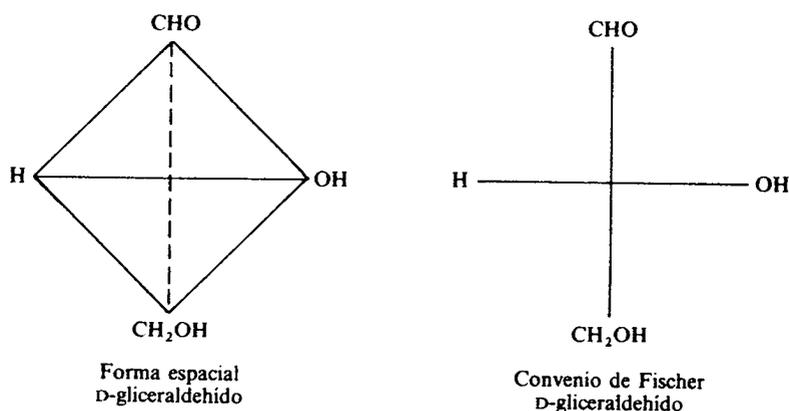


Figura 13.4. Convenio de Fisher para el gliceraldehído.

Fischer propuso una representación en un plano de las formas espaciales sobre la base de que las aristas opuestas del tetraedro son dos rectas que se cruzan perpendicularmente en el espacio. La arista que une CHO con CH₂OH es perpendicular a la arista que une H con OH.

El convenio de Fischer consiste en situar la arista (CHO)–(CH₂OH) verticalmente en la región posterior y proyectar normalmente todos los vértices sobre el plano del dibujo (fig. 13.4).

Configuración espacial D y L

La existencia de uno o varios carbonos asimétricos en todos los monosacáridos simples, excepto en la cetotriosa *dihidroxiacetona*, implica numerosas posibilidades de configuración espacial de la cadena carbonada. En el caso más sencillo, el de la aldotriosa gliceraldehído, existe un centro de asimetría, lo que da lugar a dos configuraciones posibles conocidas como isómeros D y L (fig. 13.5).

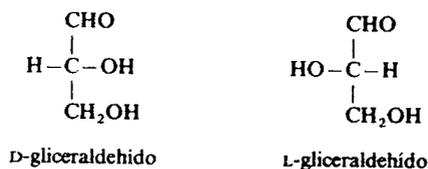


Figura 13.5. Estructura del D y L-gliceraldehído.

Todas las demás aldosas se consideran estructuralmente derivadas del D y L-gliceraldehído, por lo que se agrupan en las llamadas familias D y L (fig. 13.6). Para saber a qué familia pertenece cualquier monosacárido, basta con representar su fórmula espacial en proyección de Fischer y considerar la configuración del penúltimo carbono. En la figura 13.7 se muestra la configuración de las cetosas.

Para aquellos azúcares que poseen dos o más átomos de carbono asimétricos, se ha adoptado la convención de que los prefijos D y L se refieren al átomo de carbono asimétrico más alejado del átomo de carbono carbonílico. Según que coincida con la del D o la del L-gliceraldehído (–OH a la derecha o a la izquierda)

CONFIGURACIONES DE LAS ALDOSAS

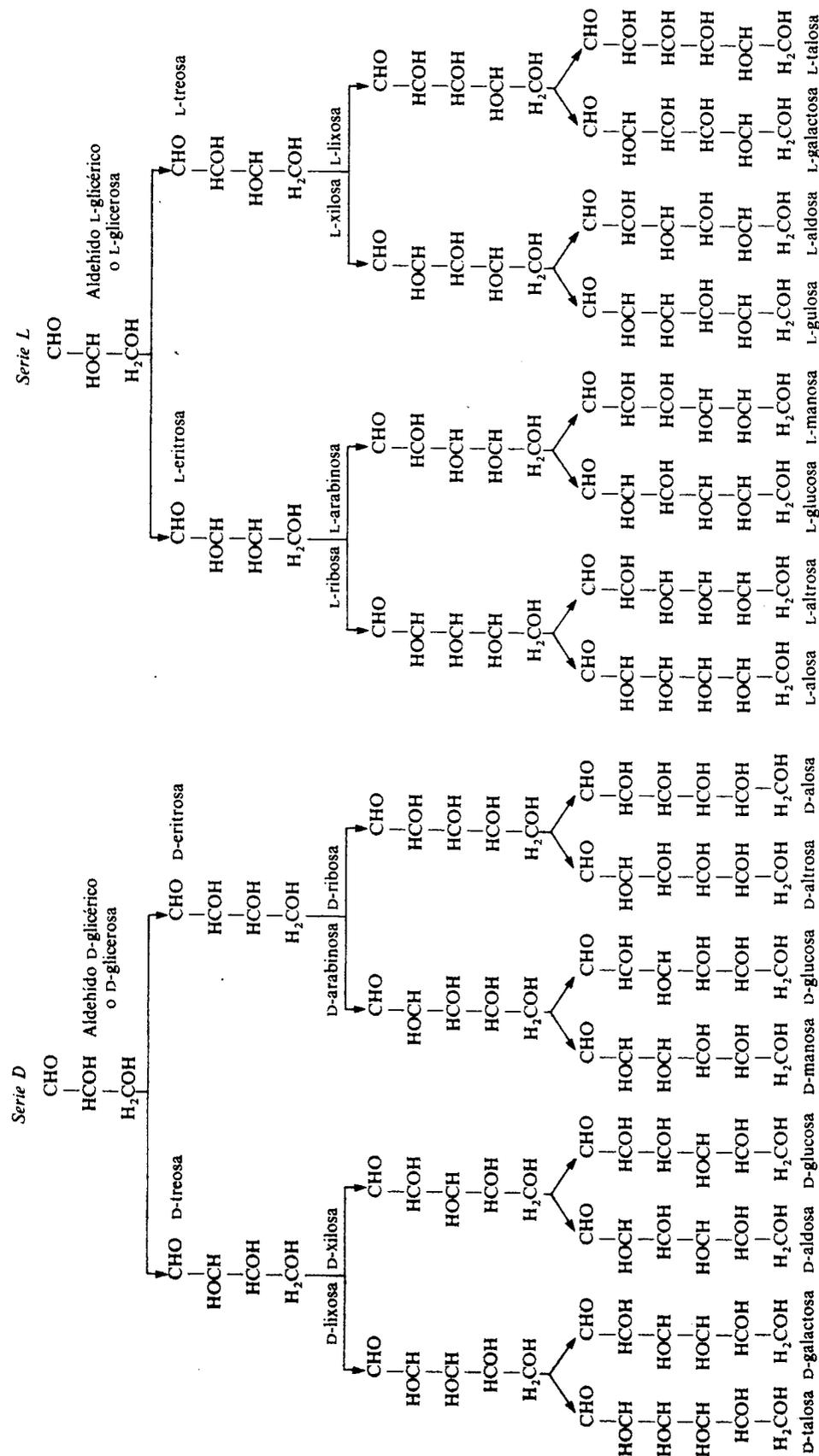


Figura 13.6. Configuraciones de las aldosas.

CONFIGURACIONES DE LAS CETOSAS

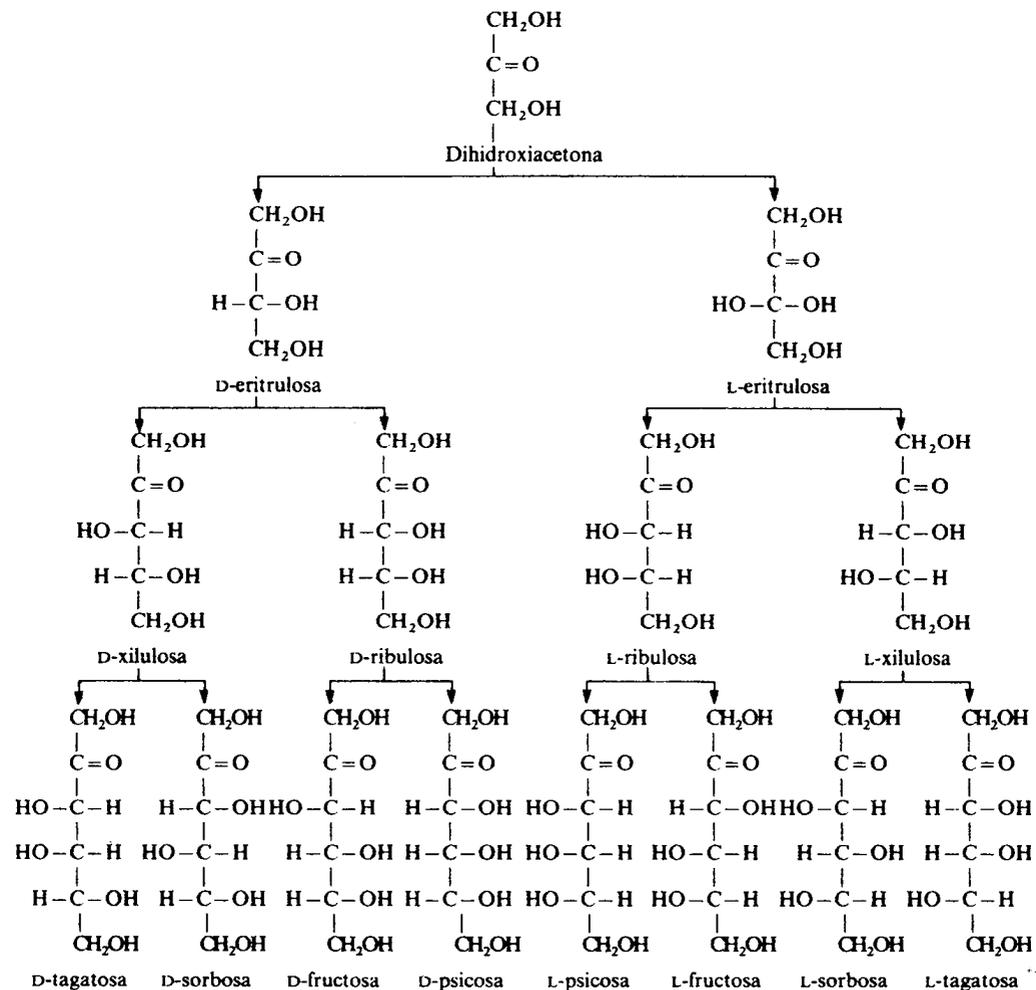


Figura 13.7. Configuraciones de las cetosas.

el azúcar pertenecerá a la familia D o a la L. La casi totalidad de los monosacáridos presentes en la naturaleza pertenecen a la familia D. En la naturaleza se encuentran con poca frecuencia L azúcares. Entre los más importantes se hallan la L-glucosa, la L-ramnosa y la L-sorbose.

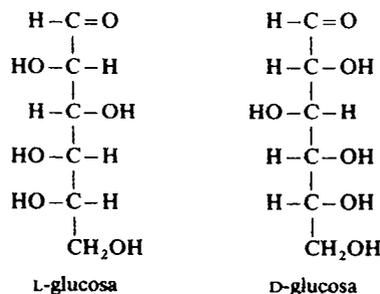


Figura 13.8. Estructuras de la D y L-glucosa.

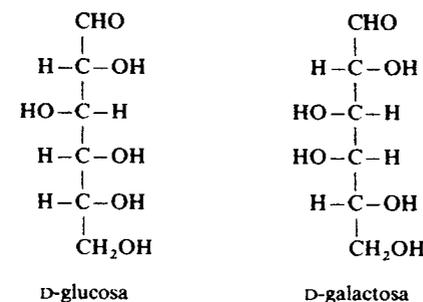


Figura 13.9. Estructura de dos epimeros: D-glucosa y D-galactosa.

Los azúcares de la serie D son isómeros especulares de sus homónimos de la serie L. Así, por ejemplo, la D-glucosa y la L-glucosa son enantiómeros, enantiomorfos o antipodas ópticos (fig. 13.8). Los azúcares que sólo difieren en la configuración de un carbono asimétrico se denominan epimeros, como, por ejemplo, la D-glucosa y la D-galactosa, que sólo difieren en la configuración del C₄ (fig. 13.9).

Actividad óptica

La presencia del carbono asimétrico explica la actividad óptica de los compuestos que lo poseen. Desde un punto de vista analítico su propiedad física más importante es su poder rotatorio, o capacidad de desviar el plano de la luz polarizada, debido a la ausencia de planos de simetría en sus moléculas. El ángulo de giro (rotación) de la luz polarizada (magnitud que se determina experimentalmente en el polarímetro) es proporcional a:

1. La concentración del azúcar en la disolución.
2. El espesor de la disolución atravesada.
3. La temperatura. En unas sustancias se observa aumento y en otras disminución de la rotación al aumentar la temperatura.
4. La longitud de onda de la luz utilizada.
5. La naturaleza del disolvente en el cual está disuelta la sustancia.

El poder rotatorio se expresa por la siguiente relación:

$$[\alpha]_D^{20^\circ C} = \frac{R \times 100}{C \times l}$$

medido a 20 °C, empleando luz monocromática correspondiente a la línea D del sodio.

R: ángulo de rotación del plano de polarización, medido en grados en el polarímetro.

C: concentración de la sustancia en gramos por 100 ml de disolución.

l: longitud del tubo del polarímetro que contiene la disolución, expresado en dm.

Si la sustancia desvía el plano de polarización hacia la derecha, se denomina dextrógira y el poder rotatorio tiene asignado el signo positivo (+); si la sustancia desvía el plano de polarización hacia la izquierda, se denomina levógira y el poder rotatorio tiene asignado el signo negativo (-). En el caso del gliceraldehído, las

rotaciones ópticas son dextrógira para el D y levógira para el L, pero la rotación de muchos miembros de la serie D es levógira y de otros de la L es dextrógira. Por ello, los prefijos D y L no indican la rotación óptica, solamente designan relaciones espaciales de los compuestos comparándolas con las dos formas de gliceraldehído.

Las sustancias con rotaciones ópticas iguales y de signos opuestos que son imágenes especulares (no se pueden superponer) son isómeros ópticos llamados *enantiomorfos ópticos* o *antípodos ópticos*. Cuando se mezclan estas dos sustancias en cantidades iguales se obtiene una *mezcla racémica*, que es ópticamente inactiva.

Isómeros ópticos de las aldosas

El número de carbonos asimétricos de una aldosa de n átomos de carbono es $(n - 2)$. Posee dos carbonos que no son asimétricos, el C_1 -aldehídico y el carbono terminal (C_n), que funcionalmente es un alcohol primario ($-CH_2OH$). Cada uno de los $(n - 2)$ carbonos asimétricos podrá tener dos disposiciones espaciales (D o L) de modo que el número total de isómeros ópticos posibles será $2^{(n-2)}$.

Isómeros ópticos de las cetosas

Una cetosa es un cuerpo con una función cetónica en el C_2 y funciones alcohólicas en los otros carbonos: estas funciones alcohólicas son de tipo primario en los carbonos inicial y final de la molécula; por tanto, estos carbonos no son asimétricos. Como tampoco es asimétrico el C_2 con la función cetónica, resulta que una cetosa con n átomos de carbono tiene $(n - 3)$ carbonos asimétricos y el número de isómeros posibles será $2^{(n-3)}$.

ESTRUCTURA CICLICA DE LOS MONOSACARIDOS

Hasta este momento se han representado los azúcares como aldehídos y cetonas polihidroxílicos de cadena abierta. Sin embargo, hay pruebas de que, en estado natural, los azúcares presentan estructura cíclica.

El grupo carbonilo es un grupo muy reactivo y una de sus reacciones características es la adición de grupos ricos en electrones, tales como el grupo $-OH$. Si una cadena de un azúcar es lo suficientemente larga (4-6 átomos de carbono) uno de los grupos hidróxilo de la misma molécula puede añadirse al grupo carbonilo para formar un hemiacetal cíclico o en forma de anillo, que se halla en equilibrio con la forma de aldehído o de cetona libres. Los éteres del hidróxilo hemiacetalico reciben el nombre de *glicósidos*.

Si los dos radicales que reaccionan pertenecen a la misma molécula, resulta una estructura cíclica. Tomemos, por ejemplo, la forma acíclica o de cadena abierta de la D-glucosa a la que podemos llamar aldehído D-glucosa y condensemos el radical aldehídico del C_1 con el radical alcohólico del C_5 (fig. 13.10). En estas circunstancias, como se dijo antes, pueden producirse dos formas de glucosa. Después de la ciclación, el C_1 está unido a cuatro grupos diferentes y, como consecuencia, es un carbono asimétrico. Si el átomo de hidrógeno del radical alcohólico, que participa en la reacción, fija el átomo de oxígeno carbonílico del radical aldehído rotatorio en un lado de la cadena, el nuevo radical hidróxilo resultante se extenderá a la derecha y formará α -glucosa. La combinación corres-

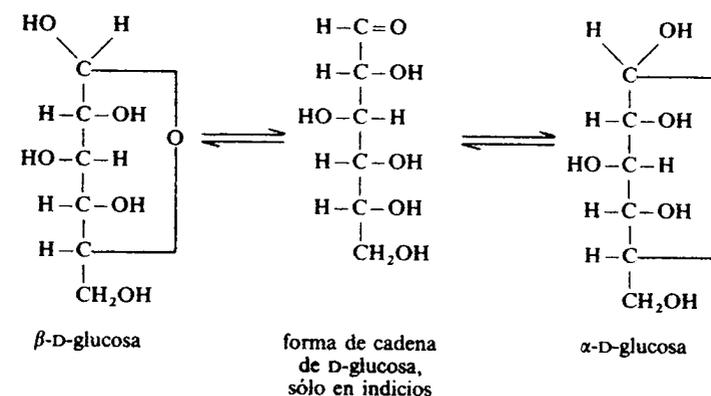


Figura 13.10. Estructura cíclica de la glucosa.

pondiente, con formación del nuevo radical hidróxilo en el lado opuesto de la cadena producirá β -glucosa. Los dos compuestos cíclicos poseerán rotación óptica diferente, pero no tendrán igual magnitud ni signos opuestos, como ocurre con los enantiomorfos, porque los compuestos considerados globalmente no son imágenes especulares uno del otro. Los compuestos que guardan una relación de esta índole se llaman *anómeros* y el C_1 se denomina carbono anomérico. Se llaman anómeros a las formas isómeras de los monosacáridos que sólo difieren entre sí en la configuración del carbono carbonílico (que ahora se llama anomérico). Se distinguen los anómeros α y β según que la configuración del carbono anomérico coincida o no con la del carbono que determina la pertenencia a la familia D o L.

Según el procedimiento seguido para la cristalización del azúcar, el poder rotatorio inicial varía considerablemente. Por ejemplo, la D-glucosa recristalizada de piridina (que es la glucosa cristalizada corriente) está en un 100 por 100 en la configuración anomérica α y tiene un poder rotatorio específico inicial de $+112,2^\circ$, mientras que la D-glucosa recristalizada de alcohol (adopta totalmente la forma β) tiene un poder rotatorio de $+18,7^\circ$.

Cuando se disuelve en agua un monosacárido cristalino es frecuente comprobar que su poder rotatorio varía gradualmente con el tiempo hasta alcanzar un valor estable, que al cabo de unas veinticuatro horas muestra un valor de $+52,5^\circ$. Este cambio gradual del poder rotatorio de un monosacárido en disolución recibe el nombre de *mutarrotación*. Es posible que el mecanismo de la mutarrotación entrañe la apertura del anillo hemiacetal con producción de vestigios de la forma aldehídica, y que después vuelva a constituirse la forma cíclica. La forma aldehídica es muy inestable y sólo se observa como intermedio pasajero en las reacciones de los carbohidratos.

Hay pruebas de que las formas hemiacetalicas cíclicas en disolución se hallan en equilibrio con la estructura de cadena abierta. Es decir, en disolución, los anómeros α o β se interconvierten hasta llegar a un equilibrio (*mezcla en equilibrio*), en el que aproximadamente dos tercios están en la forma β y un tercio en forma α a $25^\circ C$.

Fórmulas de proyección de Haworth

Las estructuras cíclicas de la glucosa que se ha mostrado no representa de manera exacta la forma de la molécula. Por ejemplo, está netamente aumentada la

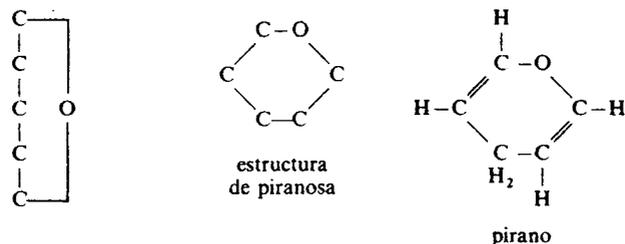


Figura 13.11. Estructura de piranosas.

longitud de los enlaces del átomo de oxígeno del anillo. Además, el grupo alcoholico primario ($-\text{CH}_2\text{OH}$) en realidad debiera sobresalir de la molécula en dirección *trans* en relación con los hidróxilos en C_2 y C_4 .

Según Haworth, las formas de anillos de seis miembros se llama *piranosas* porque el pirano posee el mismo anillo de cinco carbonos y uno de oxígeno (fig. 13.11).

Análogamente, Haworth designó los azúcares que contienen anillos de cinco miembros, con el nombre de *furanosas*, porque el furano contiene el mismo anillo (fig. 13.12). Las estructuras cíclicas de piranosas y furanosa propuestas por Haworth representan las configuraciones reales de los azúcares con más exactitud que las antiguas estructuras de proyección usadas por Fischer.



Figura 13.12. Estructura de furanosas.

Haworth propuso la representación de las piranosas mediante una fórmula en perspectiva en forma de un hexágono cuyo lado inferior es el más cercano al lector y que habitualmente se representa por líneas más gruesas. Los anillos son perpendiculares al plano del papel, y los grupos químicos que se proyectan hacia la derecha o la izquierda de la fórmula lineal, se proyectarán hacia abajo o hacia arriba, respectivamente, desde el plano del hexágono. Los azúcares del grupo de las furanosas se representan de manera análoga, pero valiéndose de un pentágono. Para mayor sencillez, suelen omitirse los átomos de carbono que forman los ángulos de los anillos (fig. 13.13). Para la ciclación de monosacáridos se procede del siguiente modo:



Figura 13.13. Anillos de piranosas y de furanosas.

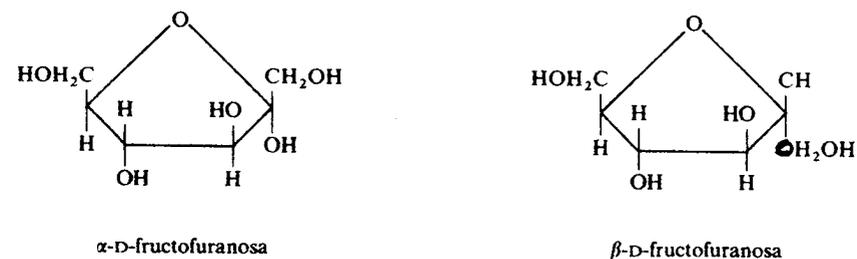
Figura 13.14. Estructura de la α -D-glucopiranosas y la β -D-glucopiranosas.

1. La molécula del azúcar se abate hacia la derecha. Los grupos sustituyentes (H y OH), que en las fórmulas lineales se encuentran situados a la derecha del átomo de carbono, en las fórmulas de Haworth se sitúan hacia abajo del anillo, mientras que los que quedan a la izquierda en las fórmulas lineales se sitúan hacia arriba del anillo.

2. El radical CH_2OH , C_6 de las hexosas y C_5 de las pentosas, ocupa siempre la posición contraria a la que le correspondería al OH del carbono característico.

3. En las formas α , la posición del OH del carbono anomérico es la misma que corresponde al OH del carbono característico antes del cierre de la molécula y a la inversa en las formas β .

El nombre sistemático para el anillo formado por la α -D-glucosa es α -D-glucopiranosas (fig. 13.14). Tomemos un ejemplo de cetohexosa, la fructosa. En estos compuestos el grupo hidroxilo alcoholico situado en el C_5 reacciona con el grupo carbonilo que se halla en el C_2 y se forma un anillo de cinco miembros similar al del furano. La forma cíclica corriente de la D-fructosa es la de β -D-fructosa (fig. 13.15). Las aldohexosas (por ejemplo, la glucosa) pueden existir en forma de aldopiranosas, pero puesto que el anillo de aldopiranosas es más estable predominará en las disoluciones de aldohexosas.

Figura 13.15. Estructuras de la α -D-fructofuranosa y la β -D-fructofuranosa.

Configuración en el espacio de las formas cíclicas de los monosacáridos

La disposición de los átomos de carbono en un mismo plano del anillo, no concuerda con el ángulo real de $109^\circ 28'$ formado por el enlace entre carbonos, lo cual queda resuelto si se disponen los carbonos en distinto plano según las formas llamadas en «silla» y en «bote» (fig. 13.16). La forma de «silla» es mucho más estable que la de «bote» y probablemente predomina en muchos azúcares naturales.

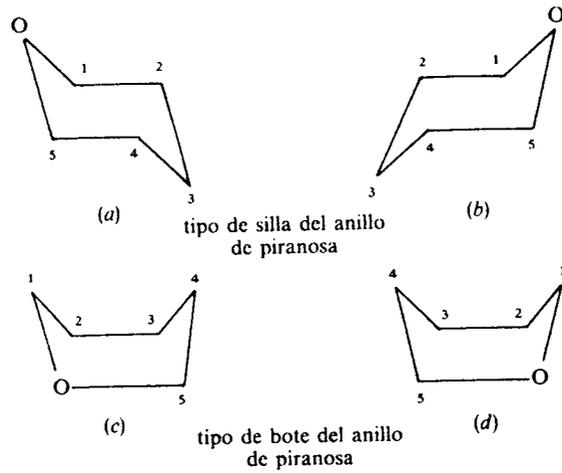
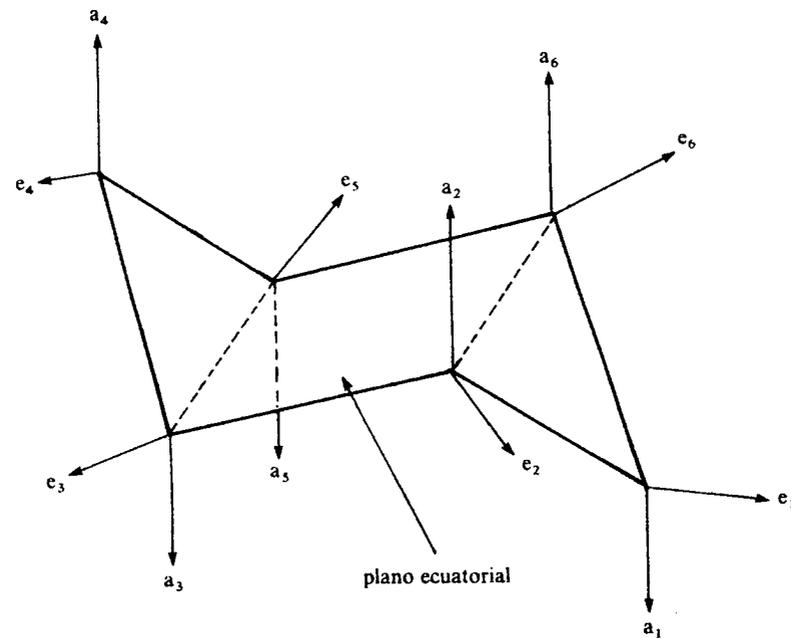


Figura 13.16. Configuraciones espaciales de las formas cíclicas de los monosacáridos.

Los doce átomos de hidrógeno del ciclohexano pueden dividirse en dos clases: *axiales*, cuyo enlace con el carbono (C-H) es paralelo al eje de simetría del anillo, y los *ecuatoriales*, unidos por enlaces paralelos al lado no adyacente del anillo (fig. 13.17). En cada átomo de carbono, un hidrógeno está por encima, o dirigido hacia arriba, y el otro está por debajo, o dirigido hacia abajo. Los seis hidrógenos que están por encima se llaman hidrógenos β y se representan por líneas continuas; los que están por debajo se denominan hidrógenos α y se representan por líneas de puntos.



Las proporciones exactas no están respetadas a causa de las distancias interatómicas. a, sustituyentes axiales; e, sustituyentes ecuatoriales.

Figura 13.17. Posiciones espaciales de los sustituyentes hidrógeno del ciclohexano.

REACCIONES DE LOS MONOSACARIDOS DEBIDAS AL GRUPO CARBONIL

Las propiedades químicas de los monosacáridos citadas a continuación están relacionadas con los grupos aldehído o cetona, aunque también en algunas reacciones intervienen grupos hidroxilo.

Reacción de adición de monosacáridos

Gracias a la fuerte electronegatividad del átomo de oxígeno, el doble enlace C=O es fuertemente polar y, por tanto, puede adicionar partículas nucleófilas al átomo de carbono polarizado positivamente. De este modo, puede tener lugar la adición de ácido cianhídrico, fenilhidracina e hidroxilamina al grupo carbonilo de los monosacáridos.

1. *Adición de HCN.* La adición de ácido cianhídrico (HCN) motiva la formación de *cianhidrinas*, base de un método de síntesis y elongación de las cadenas de los hidrocarburos (fig. 13.18).

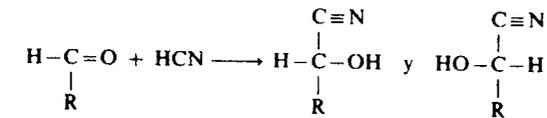


Figura 13.18. Formación de cianhidrinas.

2. *Adición de fenilhidracina.* La fenilhidracina y otras hidracinas sustituidas reaccionan con monosacáridos y otros carbohidratos que contienen un grupo carbonilo libre, con formación de *hidrazonas* y *osazonas* (fig. 13.19).

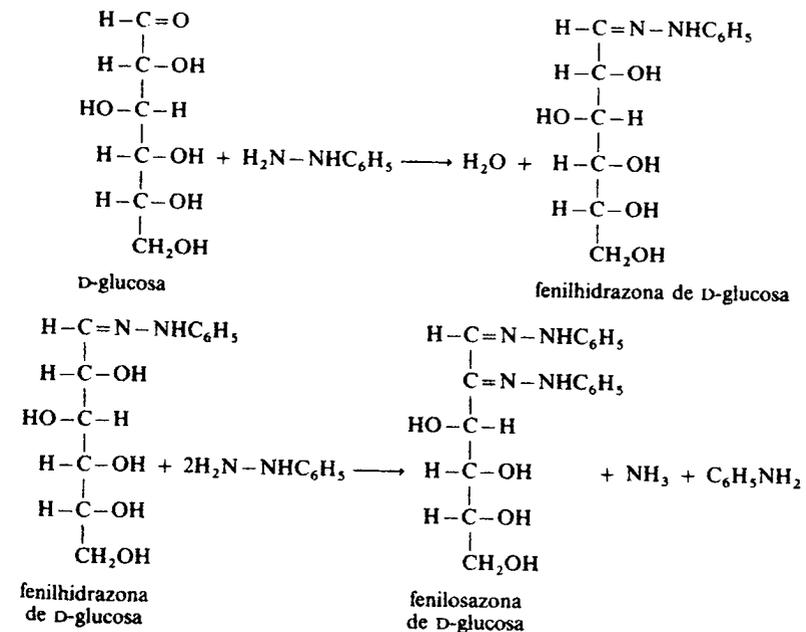


Figura 13.19. Reacción de la glucosa con fenilhidracina.

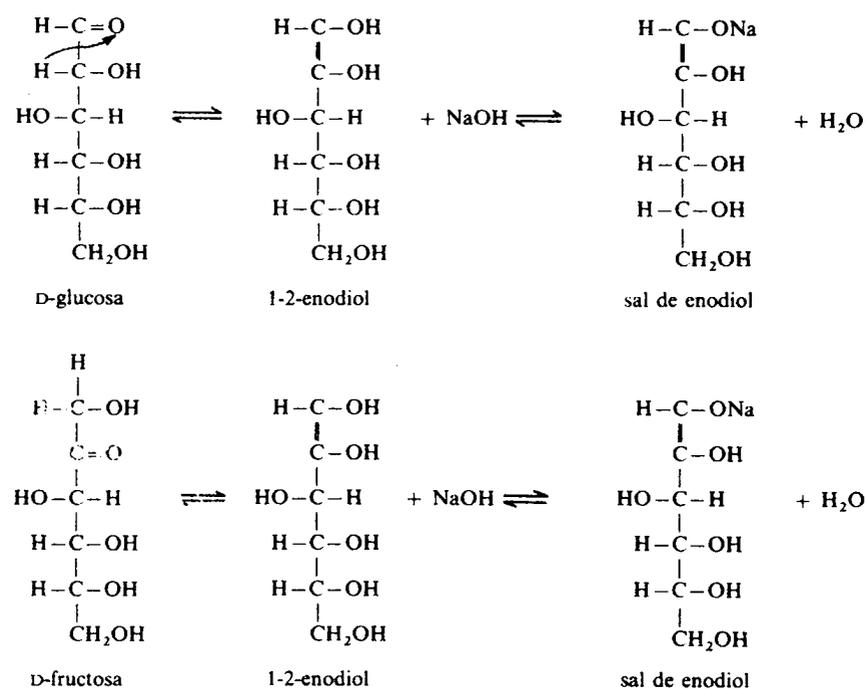


Figura 13.25. Formas enólicas de la D-glucosa y la D-fructosa.

ces C-H vecinos también se polarizan, con lo que se vuelven más reactivos. Como consecuencia de la polaridad del enlace C-H en el átomo de carbono vecino al del grupo carbonilo, es posible que, en ciertas circunstancias, el átomo de hidrógeno quede libre en forma de ion H^+ , y pueda emigrar al átomo de oxígeno de la función carbonilo determinando dos formas moleculares diferentes (carbonilo y enol). El fenómeno de que una sustancia pueda aparecer en dos estructuras diferentes que se diferencian entre sí en cuanto a la ordenación de sus átomos (y son, por tanto, isómeros estructurales) se llama *tautomería*, denominándose en este caso tautomería cetoenólica.

En solución alcalina, los monosacáridos, aldosas y cetosas, y los carbohidratos compuestos con una función aldehído o cetona libre se tautomerizan y forma la sal enólica correspondiente (fig. 25). Las formas enólicas de los azúcares son enodiolos, porque hay dos grupos hidroxilos unidos al sistema de carbono de doble enlace y existen en las configuraciones *cis* y *trans* respecto a dicho doble enlace. No se sabe bien cuál es el grupo hidroxilo enólico que reacciona primero para formar la sal. Glucosa, manosa y fructosa dan origen a las mismas formas de enodiol y de sal enodiólica (fig. 13.26). Cuando se deja reposar en álcali diluido durante algún tiempo una solución de cualquiera de estos monosacáridos y luego se acidifica, se obtiene una mezcla de los tres azúcares. Esto se debe al hecho de que todos ellos dan la misma sal de enodiol, ya que cuando ésta se descompone al enodiol libre por acidificación este último se tautomeriza a los tres azúcares (fig. 13.26). Esta interconversión de azúcares afines, por acción de álcalis diluidos, se llama *reacción de Lobry de Bruyn-van Ekenstein*, y se usa para la síntesis de ciertos azúcares. Cuando se dejan en reposo soluciones de azúcares en medio alcalino en ausencia de un oxidante se forma una mezcla compleja de ácidos aldáricos, como resultado de oxidación-reducción intramolecular y reordenación.

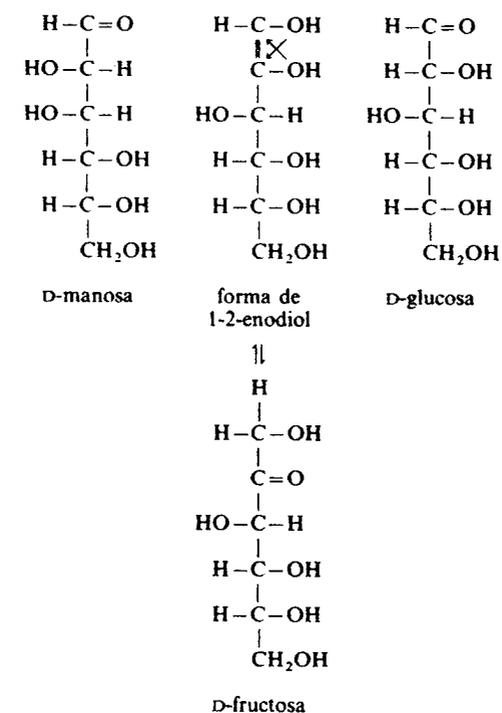


Figura 13.26. Formación del mismo enodiol a partir de D-manosa, D-glucosa y D-fructosa.

Los ácidos aldáricos reaccionan con D-fenildiamina para formar bencimidazoles que son derivados útiles para la identificación de estos ácidos y de los azúcares de los cuales derivan. Esta reacción se efectúa en medio ácido a altas temperaturas.

Oxidación de monosacáridos

Las formas enólicas de los monosacáridos se oxidan en medio alcalino en presencia de iones oxidantes. Asimismo, las aldosas, cuando se oxidan en condiciones apropiadas, pueden formar ácidos de azúcares tales como ácidos aldáricos (sacáricos), aldónicos y urónicos. Estos últimos se estudiarán en las reacciones de los monosacáridos debidas a los grupos hidroxilo.

1. *Oxidación de formas enólicas de los monosacáridos: reducción de iones oxidantes.* Las formas de enodiol de los azúcares son muy reactivas y son fácilmente oxidadas por oxígeno y otros oxidantes. Ello significa que estos azúcares en solución alcalina son reductores muy enérgicos. Como consecuencia de ello reducen fácilmente iones oxidantes como Cu^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ y Bi^{3+} , y se oxidan a mezclas complejas de ácidos. Esta acción reductora de los azúcares en solución alcalina se utiliza para la determinación cualitativa y cuantitativa de los azúcares.

Las sales cúpricas alcalinas oxidan los monosacáridos, y simultáneamente a la oxidación del azúcar hay reducción del ion Cu^{2+} al Cu^+ , que en medio alcalino puede originar óxido cuproso rojo e insoluble y ser identificado o determinado cuantitativamente. Los mejores reactivos conocidos para este fin son la *solución de Fehling*, una solución de sulfato cúprico alcalino (en NaOH o KOH) con tartrato

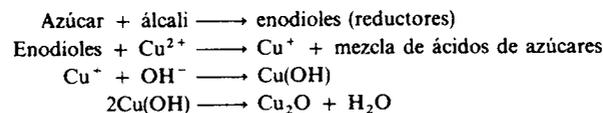


Figura 13.27. Acción reductora de los azúcares en solución alcalina.

sódico-potásico (sal de Rochelle), y la *solución de Benedict*, una solución de sulfato cúprico alcalino (en Na_2CO_3) con citrato sódico.

El citrato y la sal de Rochelle en los reactivos anteriores impiden la precipitación del hidróxido cúprico y del carbonato cúprico, para formar complejos solubles, poco disociados, con los iones Cu^{2+} . Estos complejos se disocian para procurar un suministro continuo de iones Cu^{2+} , disponibles para la oxidación. Los iones Cu^{2+} oxidan los enodioses ácidos de azúcares, a la vez que se reducen a iones cuprosos (Cu^+), los cuales se combinan con iones hidroxilos y forman hidróxido cuproso amarillo, que por el calor se convierte en óxido cuproso, rojo Cu_2O (fig. 13.27). La aparición de un precipitado de color amarillo a rojo indica reducción, y la cantidad de azúcar presente puede estimarse de modo aproximado por la cantidad de precipitado. El cobre reducido se estima por reacción con fosfomolibdato (Folin Wu, Benedict) o arsenomolibdato (Nelson-Somogyi), los cuales originan productos coloreados medibles por métodos fotométricos.

Se utiliza también como agente oxidante el ferricianuro potásico $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ que se reduce a ferrocianuro por acción de los azúcares. La cantidad de este último se determina por fotometría (Folin-Malmros) o titulación yodométrica (Hagedorn-Yensen) y de esta cantidad se obtiene la del azúcar.

2. *Ácidos aldáricos o sacáricos*. La oxidación de aldosas con ácido nítrico en las condiciones apropiadas convierte ambos extremos de la molécula, la función aldehído y la función alcohol primaria, en grupos carboxilos. La oxidación de las cetosas por el ácido nítrico conduce a una rotura de la molécula. El ácido derivado de la D-glucosa se llama glucárico o sacárico (fig. 13.28). El ácido galactárico o ácido múcico, producido por oxidación de la galactosa, es relativamente insoluble en agua, y su formación se utiliza como prueba para identificar galactosa libre o combinada (lactosa). Las sales ácidas de los ácidos aldáricos se emplean a menudo en la identificación de azúcares, a causa de su poca solubilidad en agua. Los ácidos aldáricos han sido muy valiosos en la prueba de las configuraciones de los azúcares aldosa, si bien poseen escaso significado biológico.

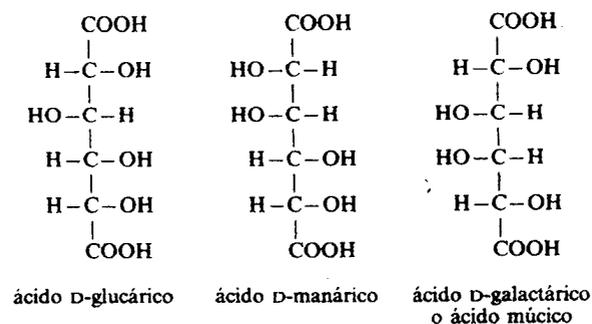


Figura 13.28. Estructuras de los ácidos glucárico, manárico y galactárico.

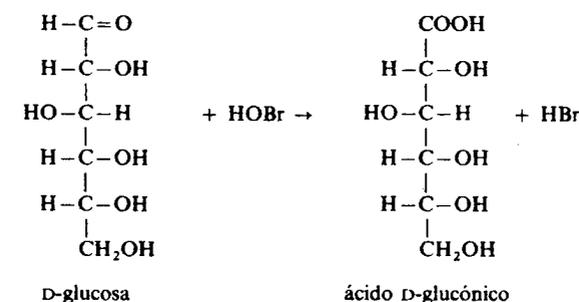


Figura 13.29. Formación del ácido D-glucónico.

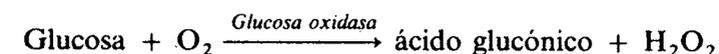
3. *Ácidos aldónicos*. El grupo aldehído de las aldosas se convierte por oxidación en un grupo carboxilo, lo cual origina el ácido aldónico correspondiente. Las cetosas se transforman en un ácido con un carbono menos y ácido fórmico. Los ácidos aldónicos pueden obtenerse tratando la aldosa con ácido nítrico muy diluido, bromo o yodo en medio alcalino, o bien mediante enzimas como la *glucosa oxidasa*.

En solución acuosa, el ácido D-glucónico, formado por la oxidación de la glucosa (fig. 13.29), está en equilibrio con las lactosas correspondientes (fig. 13.30). Otros ácidos de azúcares que contienen cinco o más átomos de carbono forman también dos lactonas. Los ácidos con cuatro átomos de carbono sólo pueden formar la lactona gamma.

Análogamente a la glucosa, la manosa, la galactosa y la arabinosa dan los ácidos manónico, galactónico y arabónico, respectivamente.

La *glucosa oxidasa* reacciona con la glucosa para suprimir dos hidrogeniones, formando gluconolactona, que rápidamente se hidrata dando ácido glucónico. El hidrogenión desplazado se combina entonces con oxígeno atmosférico para formar peróxido de hidrógeno.

La reacción global se expresa:



La *peroxidasa* cataliza la transferencia de oxígeno del peróxido (H_2O_2) a un aceptor cromogénico de oxígeno, como la ortotoluidina o la ortodiansidina que se vuelven azules al oxidarse

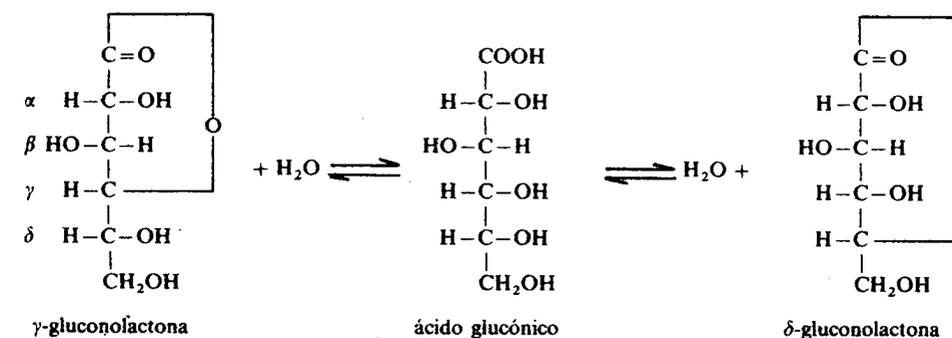
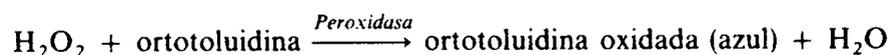


Figura 13.30. Estructuras de las lactosas del ácido D-glucónico.



Este segundo paso que implica la *peroxidasa* es menos específico. Diversas sustancias reductoras inhiben las reacciones compitiendo con el cromógeno por el oxígeno del H_2O_2 . La mayoría de estas sustancias que interfieren se eliminan utilizando un filtrado Somogyi-Nelson. Los avances recientes de la tecnología, con el uso de electrodos de O_2 , evitan el paso de la *peroxidasa* midiendo directamente la cantidad de O_2 generado por la *glucosa oxidasa*.

Willstatter y Schudel desarrollaron un método para la determinación cuantitativa de aldosas basado en su oxidación. Aunque los ácidos aldónicos no se presentan en estado libre en la naturaleza, algunos de sus derivados tienen importancia biológica. Así, el ácido D-glucónico en la forma de éster 6-fosfato es un metabolito intermediario en la síntesis biológica de las pentosas. Frecuentemente se emplea gluconato cálcico como fuente de calcio. Sus soluciones se administran por vía intravenosa para elevar la concentración de calcio en la sangre.

Reducción de monosacáridos

La hidrogenación de la función carbonilo de las aldosas y las cetosas transforma los grupos carbonilo por reducción en grupos alcohol, lo cual origina una serie de compuestos llamados alcoholes-azúcares o polialcoholes. Cada aldosa da el alcohol correspondiente por reducción, mientras que una cetosa forma dos alcoholes, por aparición de un nuevo átomo de carbono asimétrico en el proceso. Se puede reducir la función carbonílica por vía química mediante hidrogenación catalítica, sobre negro de platino o níquel Raney, así como por acción del borohidruro sódico ($\text{Na}^+ \text{BH}_4^-$) sobre la osa en solución acuosa. Estas reducciones no son reversibles por vía química, pero lo son por vía enzimática.

La galactosa, la manosa, la ribosa y la glucosa dan por reducción galactitol (dulcitol), manitol, ribitol y sorbitol, respectivamente. Gliceraldehído y dihidroxiacetona dan por reducción glicerol; la fructosa da origen a manitol y sorbitol, y la L-sorbosa origina D-sorbitol y L-iditol (fig. 13.31).

Algunos alcoholes-azúcares son productos intermedios naturales del metabolismo de los mamíferos. Así, el glicerol guarda relación con la vía glucolítica y de este modo, según las necesidades fisiológicas, puede sintetizarse glicerol a partir de la glucosa o, a la inversa, puede formar esta última.

El sorbitol es un producto intermedio en la conversión mutua de glucosa y fructosa en las vesículas seminales sirviendo de alimento básico para los espermatozoides.

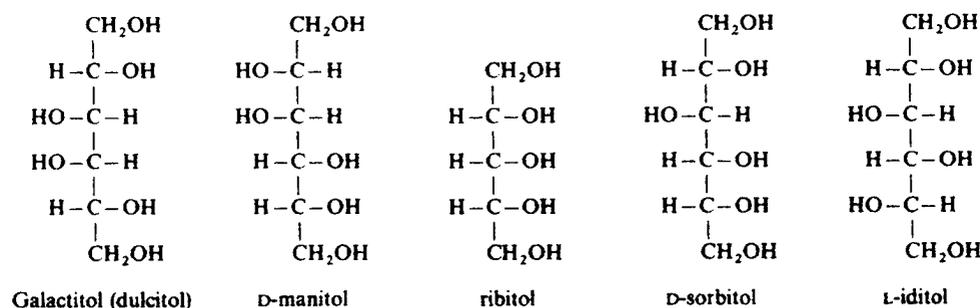


Figura 13.31. Estructuras del D-manitol, D-ribitol, D-sorbitol y L-iditol.

El acúmulo de sorbitol y de galactitol en el cristalino desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la catarata del paciente diabético y galactosémico, respectivamente. El sorbitol se emplea como colesticoquinético (aumenta la secreción biliar) y edulcorante para diabéticos.

El D-ribitol en combinación con la flavina, forma una vitamina, la riboflavina, que pertenece al complejo B. La molécula de riboflavina, combinada a su vez con otras sustancias, forma moléculas mayores que actúan como enzimas. El D-ribitol también es precursor de los ácidos teicoicos de la pared bacteriana.

El manitol, que no se forma en el organismo, se emplea en terapéutica como diurético osmótico, aunque es escasamente utilizado por el riesgo de deshidratación celular. No obstante, puede estar indicado en la intoxicación por barbitúricos, quemaduras, reacciones hemolíticas postransfusionales y shock quirúrgico.

Reacción de sustitución en el carbono anomérico: glucósidos

Dado que el presente apartado se refiere a las reacciones del grupo carbonilo, y el carbono anomérico procede de él, el estudio de las reacciones de dicho carbono con otras moléculas se describe junto con otras reacciones del grupo carbonilo.

Los compuestos formados por la reacción del átomo de carbono anomérico del hemiacetal intramolecular (forma piranósica de la aldohexosa) con un grupo hidroxilo aportado por otro alcohol, que puede ser o no un azúcar, reciben el nombre de glucósidos (glicósidos) u ósidos (acetales mixtos asimétricos). Si el alcohol forma parte de la molécula de otro azúcar el compuesto es un hologlucósido u *holósido*, y si se trata de un alcohol diferente recibe el nombre de heteroglucósido o *heterósido*. En ambos casos se elimina agua. El compuesto no hidrocarbonado se llama *aglucona*. El enlace formado en ambos casos se llama enlace glicosídico (glucosídico) y sus propiedades químicas son intermedias entre las de los acetales y las de los éter-óxidos.

Considerando que las formas hemiacetales de los azúcares originales pueden ser α o β , existen α y β -glucósidos. El átomo de carbono anomérico de los glucósidos es asimétrico. La D-glucosa forma, con el metanol, el metil- α -D-glucopiranosido y el metil- β -D-glucopiranosido que se representa en la figura 13.32.

Dado que el enlace glicosídico bloquea toda posibilidad de apertura del anillo para formar el azúcar aldehídico, los glucósidos no presentan mutarrotación. En términos generales, los glucósidos son estables en relación con los compuestos alcalinos, pero los ácidos los hidrolizan con facilidad. Muchos de los pigmentos rojos, violetas y azules de los vegetales se presentan en estado natural como glucósidos, cuyas agliconas son compuestos heterocíclicos bastante complejos. En algunos glucósidos de interés médico, las agliconas son derivados del fenantreno;

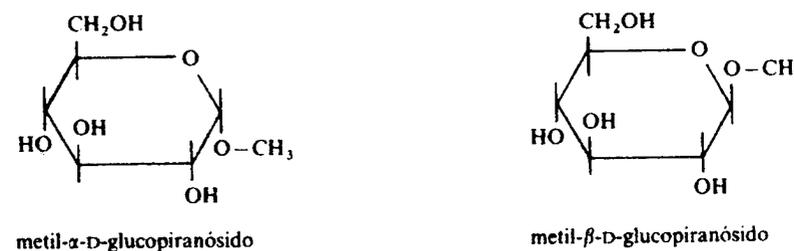


Figura 13.32. Estructura del metil- α -D-glucopiranosido y del metil- β -D-glucopiranosido.

así ocurre con los glucósidos cardíacos (derivados del digital) y con las saponinas (venenos hemolíticos ampliamente distribuidos en los vegetales). Los cerebrósidos, y glicolípidos que se encuentran especialmente en el sistema nervioso de los animales, poseen galactosa en un encadenamiento glicosídico. Por último, muchos compuestos excretados por los animales en la orina, entre ellos sustancias extrañas administradas con fines experimentales o terapéuticos (metanol), y las observadas o producidas de manera natural en el organismo (algunas hormonas y sus productos de desdoblamiento) están conjugados como glucósidos con un derivado de la glucosa, el ácido glucurónico.

En los glucósidos mencionados, la aglicona está unida al carbohidrato original por medio del átomo de oxígeno. Un grupo de glucósidos de gran importancia biológica, los nucleósidos, poseen como agliconas bases nitrogenadas, y la unión con el azúcar se forma por mediación de un átomo de nitrógeno. Estos glucósidos se presentan en los ácidos nucleicos y algunos compuestos afines.

REACCIONES DE LOS MONOSACARIDOS DEBIDAS A LOS GRUPOS HIDROXILO

El enlace C—O del átomo de carbono que soporta al hidroxilo es mucho más polar que el enlace C—H de los hidrocarburos, a pesar de lo cual su polaridad no es suficiente para que sea posible la liberación del grupo hidroxilo en forma de ion OH^- . Sin embargo, es frecuente que el grupo OH^- sea desplazado por acción de partículas nucleófilas. Como consecuencia del carácter fuertemente básico (nucleófilo) del ion OH^- que sale, la mayoría de estas reacciones no pueden verificarse más que en medio muy ácido. El grupo OH^- adiciona en este medio un protón dando origen a un ion oxonio, por ello, durante la sustitución no sale el ion OH^- , sino una molécula de agua (que es mucho menos nucleófila). La acción de la carga positiva es atraer aún más hacia el oxígeno al par electrónico del enlace C—O, lo que facilita la salida del agua.

Formación de ésteres

Si se mezcla un alcohol con un ácido fuerte, el anión del ácido actúa como partícula nucleófila y se origina un éster.

Las funciones alcohol primario y alcohol secundario de las osas pueden ser esterificadas por ácidos minerales u orgánicos. En el caso de los ácidos minerales destacan los siguientes ésteres: bóricos, fenólicos, fosfóricos, nítricos, sulfonados y sulfúricos. La formación de ésteres bóricos se emplea en la separación de las osas. Los ésteres fosfóricos son de importancia biológica fundamental, distinguiéndose los ésteres monofosfóricos (por ejemplo, α -D-glucosa-6-fosfato), los monofosfóricos cíclicos (por ejemplo, adenosina-3'-5'-monofosfato cíclico), los bisfosfóricos (por ejemplo, fructosa-1-6-bisfosfato), los polifosfóricos (por ejemplo, adenosina trifosfato, ATP) y los fosfóricos (por ejemplo, ácidos nucleicos).

Los ésteres fosfóricos resultan de la combinación de una única molécula de ácido ortofosfórico con dos funciones alcohol portadas por dos osas diferentes. Todos los tipos de ésteres fosfóricos son sintetizados por las células por vía enzimática.

Los ésteres nítricos tienen actividad vasodilatadora y se emplean en terapéutica cardiovascular. Los ésteres sulfúricos se encuentran en diversos glicosaminoglucanos del tejido conjuntivo. Los ésteres sulfonados se obtienen mediante reacción

de las osas con el paratolueno-sulfocloruro (o cloruro de tosilo) para dar paratolueno-sulfonatos. Estos derivados sulfonados son muy reactivos y constituyen excelentes intermediarios en la síntesis química de las osas.

Entre los ésteres formados con ácidos orgánicos están los ésteres acéticos, fenólicos, benzoicos y sulfonados.

Formación de éteres-óxidos

Si se añade a una mezcla de alcohol y de ácido fuerte, más alcohol, reaccionarán las moléculas de alcohol en exceso como partículas nucleófilas sustituyentes y se producirá un éter.

La metilación de funciones alcohólicas se realiza a una velocidad que depende de la naturaleza de la función y de la posición axial o ecuatorial de los sustituyentes. La función alcohol primario se metila mucho más rápidamente que las funciones alcohol secundario. Este método se emplea en la determinación del puente hemiacetal de la D-glucosa.

Deshidratación interna con ciclación

En presencia de ácidos no oxidantes, la molécula de monosacárido sufre una deshidratación interna, con ciclación. En el caso de las pentosas se forma furfural y en el caso de las hexosas se forma hidroximetilfurfural (fig. 13.33). Estos derivados de tipo furfural tienen la propiedad de condensarse con fenoles, aminas cíclicas o heterociclos nitrogenados produciendo compuestos de color intenso. Las diferentes coloraciones obtenidas varían con la naturaleza de la osa inicial. Si son suficientemente estables, pueden servir para la dosificación del monosacárido. Entre los compuestos más empleados, cabe citar los siguientes:

- El α -naftol (reacción de Molish) da una coloración rojo violácea.
- El resorcinol (reacción de Seliwanoff) en presencia de HCl da un color rojo. Esta reacción es específica de las cetosas. Las aldosas no la dan.

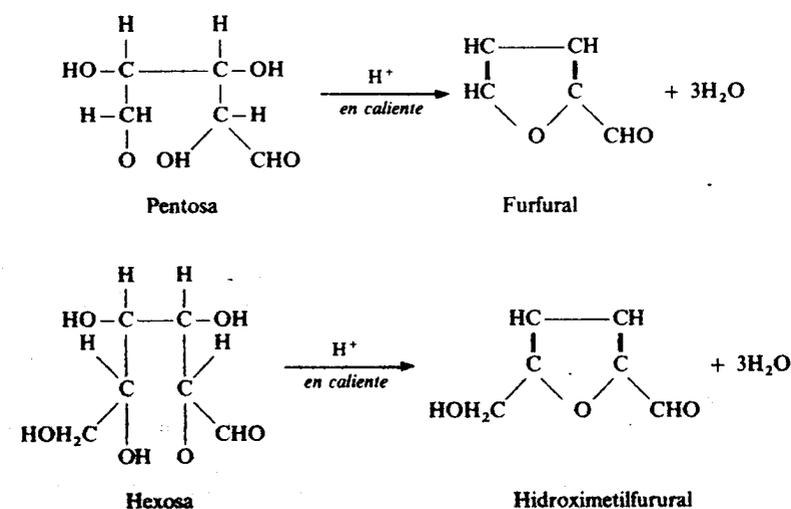


Figura 13.33. Deshidratación interna de monosacáridos.

— El orcinol da un color azul violeta en medio con HCl. Permite buenas técnicas de dosificación de pentosas (dosificación de ribosa de los ácidos ribonucleicos).

— La difenilamina (reacción de Dische) da colores diversos según el origen de la osa y la duración del calentamiento en medio con HCl. Se emplea, por ejemplo, en la dosificación de la desoxi-2-ribosa de los ácidos desoxirribonucleicos.

— La antrona da un color azul verdoso por calentamiento con la osa en medio con sulfúrico. Se utiliza para dosificar la glucosa (la inestabilidad de la coloración obtenida impone un formulario preciso).

Oxidación de la única función alcohol primario: ácidos urónicos

Cuando se oxida una aldosa de tal manera que el grupo de alcohol primario se convierte en carboxilo sin oxidación simultánea del grupo aldehído, se forma un *ácido urónico*. En el laboratorio, un ácido urónico se obtiene por acción de un oxidante, como el bromo, siempre que la función hemiacetal de la osa se proteja previamente contra la oxidación.

Los ácidos urónicos, glucurónicos, galacturónico y manurónico, son productos naturales (fig. 13.34). El *ácido glucurónico* no sólo puede formarse en el laboratorio sino que se sintetiza en el hígado participando en los procesos de desintoxicación de medicamentos, tóxicos y productos de degradación de las hormonas. Asimismo, participa en la estructura de los glicosaminoglucanos, condroitinsulfúrico y mucointinsulfúrico. El ácido D-glucurónico es también un metabolito intermediario en la síntesis del ácido ascórbico (vitamina C) y se presenta combinado en sustancias vegetales.

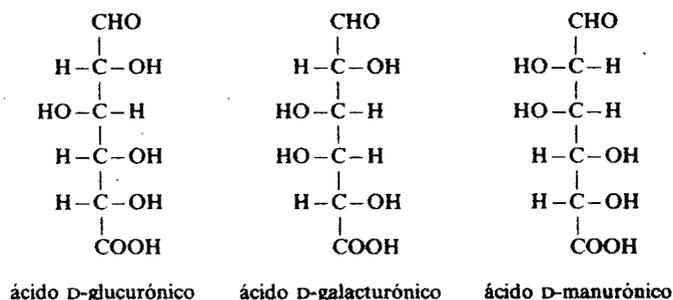


Figura 13.34. Estructura de ácidos urónicos.

El *ácido galacturónico* está presente en polisacáridos vegetales (pectinas) y bacterianos. Se emplean grandes cantidades de pectinas en la industria de conservación de frutas.

Polímeros lineales de unidades de ácido D-manurónico con enlaces $\beta(1-4)$ forman los ácidos alginicos, que se encuentran en muchas algas, sobre todo en las marinas gigantes. Los ácidos alginicos se usan como emulsionantes y suavizantes en la industria alimenticia.

Análogamente a los ácidos aldáricos y aldónicos, los urónicos reaccionan con o-fenildiamina formando bencimidazoles, que se emplean en la identificación de estos ácidos y de los azúcares de los cuales derivan.

MONOSACARIDOS DE INTERES BIOLOGICO

Diosa

Teóricamente, la más sencilla de las osas es el aldehído glicólico (fig. 13.35). La reacción de transcetolización enzimática (ciclo de las pentosas) corresponde a la transferencia de aldehído glicólico de una osa a otra, pero este compuesto no aparece en estado libre en el transcurso de la reacción.

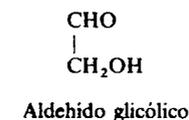


Figura 13.35. Estructura del aldehído glicólico.

Triosas

Existen dos aldotriosas, el L y el D-gliceraldehído. Este último se presenta en estado natural como 3-fosfo-D-gliceraldehído (fig. 13.36). Existe una cetotriosa, la dihidroxiacetona, frecuentemente en forma de dihidroxiacetona-fosfato (fig. 13.37). Tanto el 3-fosfo-D-gliceraldehído como la dihidroxiacetona-fosfato proceden de la ruptura enzimática de la fructosa-1-6-bisfosfato por la *aldosa*.

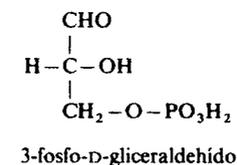


Figura 13.36. Estructura del 3-fosfo-D-gliceraldehído.

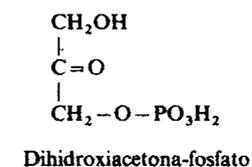


Figura 13.37. Estructura de la dihidroxiacetona-fosfato.

Tetrosas

Sólo la D-eritrosa posee interés metabólico, y se presenta en forma de D-eritrosa-4-fosfato (fig. 13.38) como metabolito intermediario en el ciclo de las pentosas.

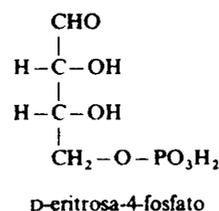


Figura 13.38. Estructura de la D-eritrosa-4-fosfato.

Pentosas

Entre las pentosas tienen gran importancia biológica la D-ribosa, la 2-desoxi-D-ribosa, las D y L-arabinosa y la D-ribulosa. La D-ribosa, casi siempre en forma de β -D-ribofuranosa, está presente en nucleósidos, nucleótidos, ácidos ribonucleicos y numerosos coenzimas (fig. 13.39).

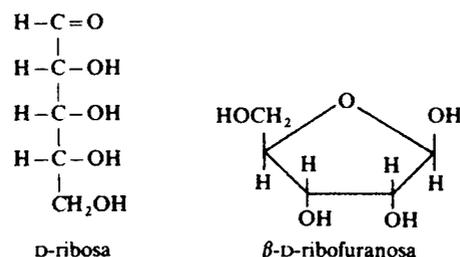


Figura 13.39. Estructura de la β -D-ribofuranosa.

La 2-desoxi-D-ribosa, generalmente en forma furanosa, es un componente fundamental de los ácidos desoxirribonucleicos (fig. 13.40).

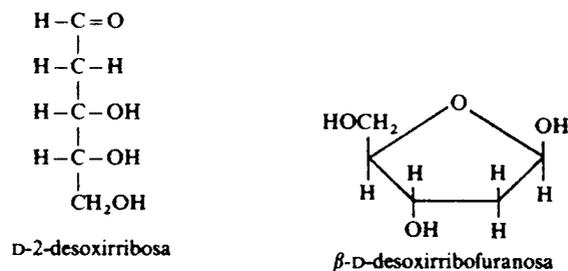


Figura 13.40. Estructura de la β -D-desoxirribofuranosa.

La D y la L-arabinosa (fig. 13.41) están ampliamente difundidas en la naturaleza, lo cual es muy poco frecuente para una forma L. La L-arabinosa se encuentra prácticamente en todas las plantas. El hombre ingiere L-arabinosa mediante el consumo de ciertos frutos, tales como ciruelas y cerezas, siendo absorbida por el intestino y eliminada rápidamente por el riñón, dada la ausencia de metabolización de la misma. La L-arabinosa presente en la orina humana reduce el líquido de Fehling. Esta eliminación fisiológica en exceso de una pentosa se conoce como

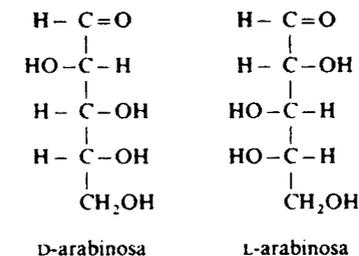


Figura 13.41. Estructuras de la D y L-arabinosa.

pentosuria alimenticia, y no debe confundirse con un proceso patológico. La D-arabinosa se halla en el bacilo tuberculoso.

La D-ribulosa en forma de ribulosa-5-fosfato y de ribulosa-1,5-bisfosfato es uno de los metabolitos fundamentales del ciclo de las pentosas y de las reacciones de la fotosíntesis, respectivamente (fig. 13.42).

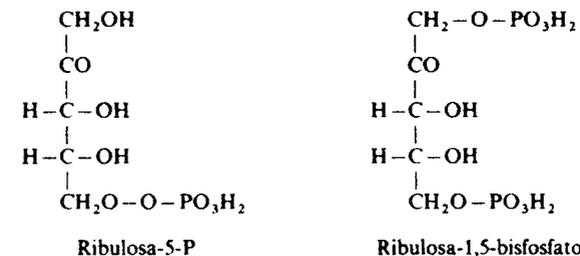


Figura 13.42. Estructuras de la ribulosa-5-fosfato y la ribulosa-1,5-bisfosfato.

Hexosas

Dentro de las hexosas tienen interés biológico las aldohexosas D-glucosa, D-galactosa y D-manosa, y la cetohepta D-fructosa.

La D-glucosa (fig. 13.1) está ampliamente distribuida tanto en el reino animal como en el vegetal, siendo la α -D-glucosa la más abundante y estable en forma piranósica. La D-glucosa está presente en productos de condensación tales como el glucógeno (animal), el almidón (vegetal) y la celulosa (vegetal), libre en la sangre y líquido cefalorraquídeo y en forma de ésteres fosfóricos, tales como la glucosa-1-fosfato (éster de Cori) y glucosa-6-fosfato (éster de Robinson) de papel central en el metabolismo glucídico (fig. 13.43).

La D-galactosa (fig. 13.6) es el monosacárido más abundante después de la glucosa. Está presente en heterósidos, oligósidos (lactosa de la leche) poliósidos, glicoproteínas y galactolípidos.

La D-manosa (fig. 13.6) está presente en las glicoproteínas humanas y en los poliósidos, sobre todo en los vegetales (mananas).

La D-fructosa (levulosa) (fig. 13.7) en forma furanósica, es la forma más estable de la D-fructosa en estado natural. Está presente en la miel de abeja, en plantas y en frutas. En el hombre, sólo existe en cantidad importante en la secreción de las vesículas seminales, siendo el alimento básico del espermatozoide. Sus derivados

de interés metabólico son la fructosa-6-fosfato (éster de Neuberg) y la fructosa-1-6-bisfosfato (éster de Harden y Young) (fig. 13.44).

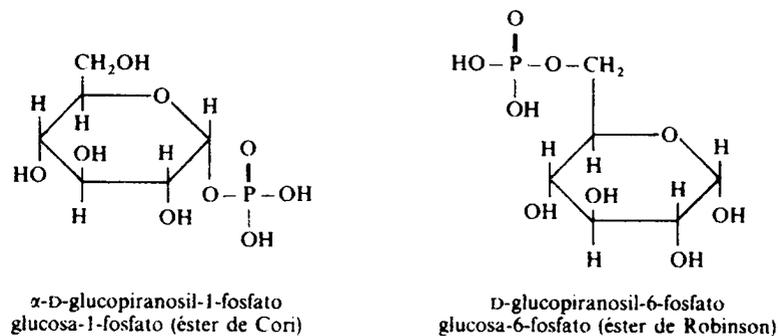


Figura 13.43. Estructuras de la glucosa-1-fosfato y de la glucosa-6-fosfato.

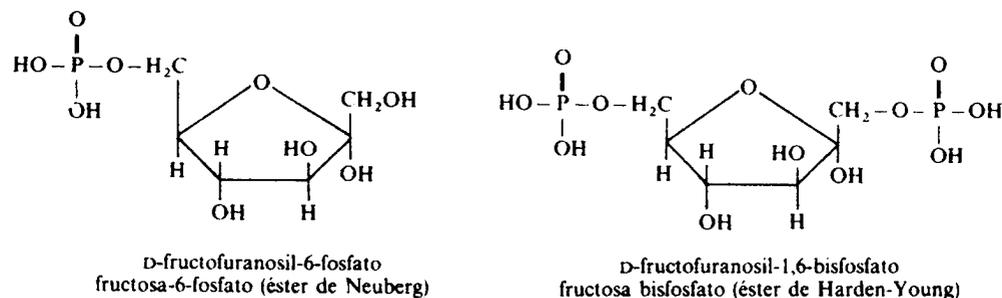


Figura 13.44. Estructura de la fructosa-6-fosfato y de la fructosa-1,6-bisfosfato.

Heptosas

Dentro de las heptosas, sólo la sedoheptulosa tiene gran interés biológico (fig. 13.45). Así, la sedoheptulosa-7-fosfato es un metabolito intermediario del ciclo de las pentosas y de la fotosíntesis.

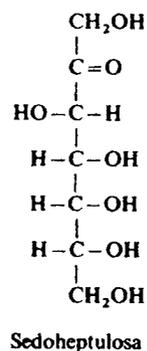


Figura 13.45. Estructura de la sedoheptulosa.

DERIVADOS DE MONOSACARIDOS DE INTERES BIOLÓGICO

Osaminas (aminoazúcares)

Diversos grupos hidroxilos de los monosacáridos se pueden sustituir por grupos aminos, con formación de osaminas o aminoazúcares. Aunque se han sintetizado muchas de estas sustancias, relativamente pocas son productos naturales y entre ellas las mejor conocidas son la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, o *glucosamina* (quitosamina) (fig. 13.46), y la 2-amino-2-desoxi-D-galactosa, o *galactosamina* (condrosamina) (fig. 13.47). Ambas osaminas existen en forma cíclica. Los aminoazúcares se presentan combinados como derivados N-acetilados en varias sustancias biológicas importantes.

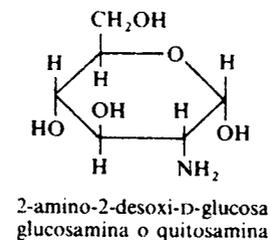


Figura 13.46. Estructura de la glucosamina.

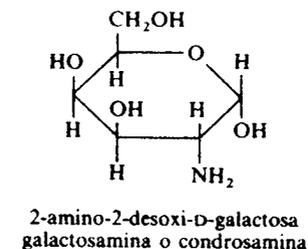


Figura 13.47. Estructura de la galactosamina.

La glucosamina está ampliamente distribuida en la naturaleza en calidad de componente de los glicosamino-glucanos y de las glicoproteínas, tales como el ácido hialurónico, la heparina y los antígenos de los grupos sanguíneos. La glucosamina es el principal componente orgánico de la pared celular de los hongos y de los caparazones de crustáceos (langosta, cangrejo, etc.) en los que existe como quitina, la cual está constituida por muchas moléculas de glucosamina-N-acetilada unidas por un tipo de enlace polisacárido. Por su relación con la quitina, a la glucosamina se le llama también quitosamina.

La galactosamina se encuentra en forma N-acetilada en un grupo de glicosamino-glucanos sulfatados presentes en las condroproteínas, localizadas en el cartilago, huesos de adulto, córnea, piel, tendones y válvulas cardíacas. Por su presencia en la condroitina, la galactosamina también se llama condrosamina. Las osaminas se determinan por la antigua reacción de Elson y Morgan con p-dimetil-amino-benzaldehído.

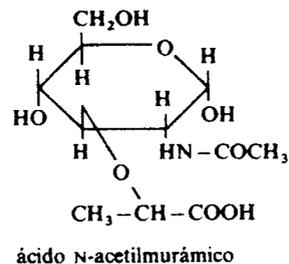


Figura 13.48. Estructura del ácido N-acetilmurámico.

Derivados de las osaminas acetiladas (aminoazúcares ácidos)

El *ácido N-acetilmurámico*, derivado de la N-acetil-glucosamina está formado por una molécula de ácido láctico unida por un enlace éter-óxido entre su función alcohol y la función alcohol secundario del C₃ de la N-acetil-D-glucosamina (fig. 13.48), participa en la constitución de la mureína de las paredes bacterianas y asegura así su rigidez. En las micobacterias, muy frecuentemente, un grupo N-glucosil sustituye al grupo N-acetilo.

Ácidos siálicos

El *ácido neuramínico* es una cetosa de nueve átomos de carbono que resulta de la condensación del ácido pirúvico con la D-manosamina (fig. 13.49). El nuevo hidroxilo en el C₄ se dispone en trans con respecto al grupo aminado en el C₅.

El ácido neuramínico no existe en estado libre, sino que siempre se presenta combinando (N-acetil, N-glucosil, O-acetil, O-glucosil). Estas combinaciones son los *ácidos siálicos*.

Los ácidos siálicos son de un gran interés en biología. Intervienen en la constitución de las glicoproteínas así como de los glicolípidos de las membranas celulares; en éste último caso desempeñan un papel fundamental en la fijación y penetración de los virus en las células. El agente del cólera (*vibrio cholerae*) y

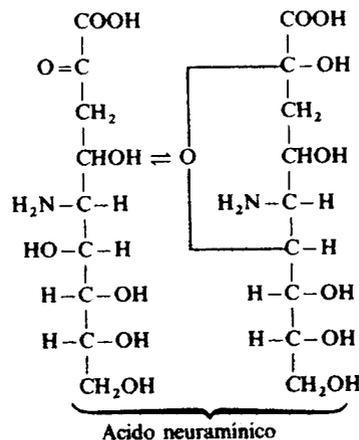


Figura 13.49. Estructura del ácido neuramínico.

ciertos virus (gripe, paperas, etc.) poseen una enzima específica, la *neuraminidasa* (o *sialidasa*) que ataca específicamente los enlaces osídicos que unen el ácido N-acetil neuramínico a diversos constituyentes. El ácido neuramínico es también un compuesto cualitativamente importante de la leche de mujer (en forma combinada, como neuraminidil-lactosa).

Ácido L-ascórbico

El ácido L-ascórbico fue aislado en estado cristalizado por Szent-Györgyi en 1912 (fig. 13.50). Esta molécula incluye una función enodiol, es decir dos hidroxilos portados por dos átomos de carbono unidos por un doble enlace. El ácido ascórbico es un compuesto muy reductor; reduce en frío el reactivo de Fehling. Al perder dos átomos de hidrógeno, el ácido ascórbico se transforma en ácido deshidroascórbico. Un sistema enzimático que contiene cobre, la *L-ascórbico oxidasa*, realiza fácilmente esta transformación



Los vegetales sintetizan fácilmente el ácido ascórbico en el curso de su metabolismo glucídico. Por el contrario, el hombre, el cobayo y los primates no realizan la síntesis.

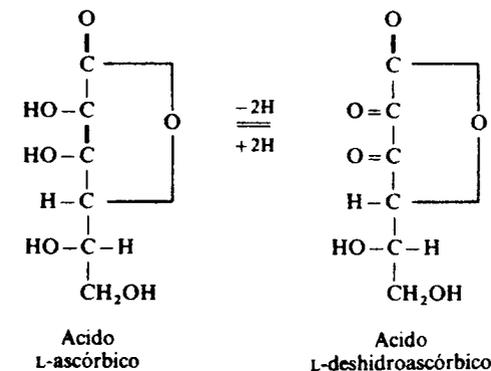


Figura 13.50. Estructuras del ácido ascórbico.

Desoxiazúcares

Se trata de azúcares en los cuales ha sido eliminado el oxígeno de un grupo hidroxilo, dejando el hidrógeno. Algunos de los desoxiazúcares naturales más importantes son los siguientes:

1. 2-desoxi-D-ribosa.
2. 6-desoxi-L-galactosa: L-fucosa.
3. 6-desoxi-L-manosa: L-ramnosa.

La *2-desoxi-D-ribosa* (fig. 13.40) es uno de los componentes fundamentales de los ácidos desoxirribonucleicos. En estado natural posee el anillo de furanosa. La presencia de un grupo metilénico en el C₂ acentúa el carácter aldehídico del grupo carbonílico en el C₁. Por eso, la 2-desoxi-D-ribosa tiene la propiedad de recolorar

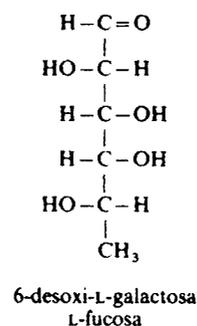


Figura 13.51. Estructura de la L-fucosa.

la fuchsina previamente decolorada por SO_2 (reactivo de Schiff), que constituye el origen de la reacción de Feulgen, ampliamente utilizada para caracterizar en la célula los ácidos desoxirribonucleicos. También por mediación de un derivado furfúrico de la desoxirribosa que se combina con la difenilamina se pueden determinar los ácidos desoxirribonucleicos.

La *L-fucosa* (6-desoxi-L-galactosa) (fig. 13.51) es un constituyente fundamental de los poliósidos de la leche (leche de mujer, en particular) y de las glicoproteínas.

La *L-ramnosa* (6-desoxi-L-manosa) (fig. 13.52) está presente en la pared de algunas células bacterianas y vegetales (goma arábica), pero no es metabolizada por el hombre. La *L-ramnosa* se encuentra en un medicamento fundamental de la terapéutica cardiovascular, la *ouabaina*.

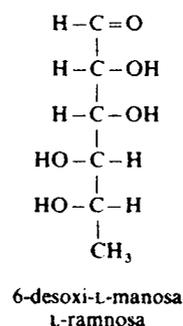


Figura 13.52. Estructura de la L-ramnosa.

Inositoles o ciclitoles

Los inositoles o ciclitoles son derivados del ciclohexano en los cuales un hidrógeno de cada carbono ha sido reemplazado por un grupo hidroxilo (fig. 13.53). Por consiguiente, son ciclohexanohexoles y por ser alcoholes cíclicos, son llamados ciclitoles.

Los anillos de inositol son análogos a los de piranosa de Haworth y al igual que éstos, no son planares, sino que asumen formas de «silla» o de «bote». Hay nueve inositoles isoméricos posibles según las ordenaciones de los grupos de hidrógeno e hidroxilos en torno de los átomos de carbono del anillo. Sólo cuatro

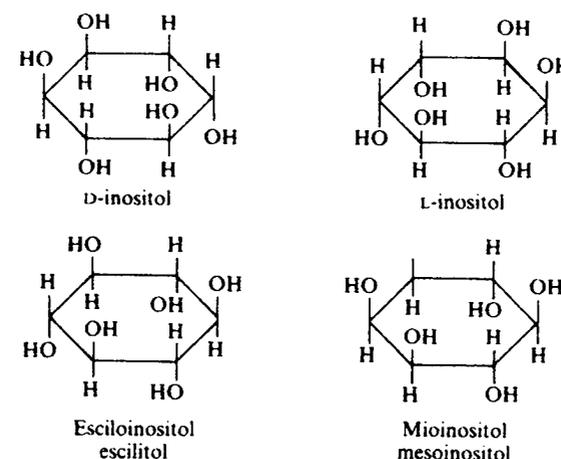


Figura 13.53. Estructura de los inositoles.

inositoles se presentan en la naturaleza, el *D-inositol*, el *L-inositol*, el *mioinositol* (mesoinositol) y el *esciloinositol* (esciclitol, cocisitol, quercina). Varios derivados de los inositoles son productos naturales, por ejemplo, los desoxiinositoles.

Todos los inositoles, salvo dos de los isómeros posibles, son ópticamente inactivos.

Los inositoles D y L, y los esciloinositoles son productos vegetales. El mioinositol, o mesoinositol, es una sustancia bioquímica muy importante, siendo el único isómero que posee actividad biológica importante comprobada. Se encuentra muy distribuido en animales, bacterias, levaduras, mohos y plantas (cacahuete, semilla de soja, germen de trigo) y es miembro del grupo de vitaminas del complejo B que se halla generalmente en tejidos animales. Fue descubierto por Scherer en el músculo en 1850. No se ha dilucidado la necesidad alimentaria humana de esta vitamina, pues la sintetizan fácilmente los microorganismos del intestino, y abunda en casi todos los alimentos. Existe en estado libre en los músculos (esquelético y cardíaco), en el hígado, en la sangre y sobre todo en el esperma. Existe en forma combinada en los fosfolípidos (*inositolfosfátidos*) del cerebro, la médula espinal, el hígado y el miocardio, y también como ácido fítico.

El mioinositol se utiliza en terapéutica como factor lipotropo. Se ha supuesto que la deficiencia de inositol pudiera causar hígado graso en el hombre.

TEXTOS DE CONSULTA

- Berth, G.; Dautzenberg, H.; Lexow, D., y Rother, G.: «The determination of the molecular weight distribution of pectins by calibrated GPC.1. Calibration by light scattering and membrane osmometry», *Carbohydr Polym.*, 12:39-60, 1990.
- Bock, G., y Harnett, S.: «Carbohydrate recognition in cellular function», Chichester John Wiley and Sons Ltd. (eds.), 1989.
- Casu, B.; Petitou, M.; Provasoli, M., y Sinay: «Conformational flexibility: a new concept for explaining binding and biological properties of iduronic acid-containing glycosaminoglycans», *Trends. Biochem. Sci.*, 13:221-225, 1988.
- Lechner, J., y Wieland, F.: «Structure and biosynthesis of prokaryotic glycoproteins», *Ann. Rev. Biochem.*, 58:173-194, 1989.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Oligosacáridos y polisacáridos. Glicoproteínas. Cartílago

EDUARDO ARILLA

OSIDOS. CONCEPTO Y CLASIFICACION

Los ósidos son glúcidos que resultan de la asociación de varias moléculas de osas, a veces con sustancias no glucídicas.

Se dividen en (tabla 14.1):

1. *Holósidos*. Resultan de la combinación exclusiva de varias moléculas de osas mediante enlaces glucosídicos (también llamados glicosídicos) y, según el número de osas que poseen, se pueden clasificar en *oligósidos* y *poliósidos*.
2. *Heterósidos*. Resultan de la combinación de una o de varias moléculas de osas con una fracción no glúcida llamada *aglucona*.

El enlace glucosídico se establece al reaccionar el grupo hidróxilo del carbono anomérico con otro hidróxilo suministrado por un alcohol. Sus propiedades químicas son intermedias entre las de los acetales y las de los éter-óxidos.

Tabla 14.1
CLASIFICACION DE LOS OSIDOS

Osidos	{ Holósidos (holosacáridos) Heterósidos (heterosacáridos)	{ Oligósidos (oligosacáridos)	{ Homopolisacáridos Heteropolisacáridos
		{ Poliósidos (polisacáridos)	
		{ Péptidoglicanos Glicoproteínas Proteoglicanos	

I. HOLOSACARIDOS

OLIGOSACARIDOS

Los oligosacáridos son aquellos holósidos que contienen de dos a diez moléculas de osas y, según este criterio, se pueden clasificar en disacáridos, trisacáridos, etc.

Disacáridos

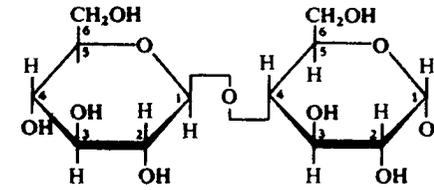
Los disacáridos resultan de la condensación de dos moléculas de osas con pérdidas de agua (formación de enlace éter). Esta condensación puede ocurrir de dos modos:

1. Cuando una osa perteneciente a un disacárido tiene su carbono anomérico libre (C_1 en las aldosas y C_2 en las cetosas), es decir, que no se ha utilizado en la unión con otra osa, dicha osa tiene poder reductor. De hecho, la oxidación de ésta en medio alcalino por el yodo o el bromo, conduce a un ácido aldónico. Esta osa habrá utilizado un grupo alcohólico secundario para unirse con el OH del carbono anomérico de la otra osa, y el disacárido resultante sigue siendo reductor puesto que tiene una osa con su carbono anomérico libre. Por el mismo motivo, dicha osa se puede hallar en forma anomérica α o β , y el disacárido presenta mutarrotación.

2. Si la condensación se efectúa entre los dos carbonos anoméricos de ambas osas, el azúcar resultante no es reductor ya que carece de carbono anomérico libre. El monosacárido que da su OH anomérico al enlace se denomina con la terminación *osil* u *ósido*, y el otro con su nombre habitual, tabla 14.2 y figuras 14.1 a 14.7.

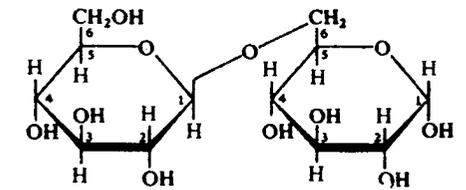
Tabla 14.2
DISACARIDOS

Disacáridos reductores	Estructura	Distribución
Celobiosa	β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 4) D-glucopiranososa	Celulosa
Gentibiosa	β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 6) D-glucopiranososa	Gentianosa (raíz de genciana) Amigdalina (almendra amarga)
Lactosa	β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 4) D-glucopiranososa	Leche 71 g/l - mujer 48 g/l - vaca
Maltosa	α -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 4) D-glucopiranososa	Almidón Glucógeno
Melibiosia	α -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 6) D-glucopiranososa	Vegetales (se obtiene por hidrólisis parcial de la rafinosa)
Disacáridos no reductores	Estructura	Distribución
Sacarosa (azúcar invertido)	α -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2) β -D-fructofuranosa	Vegetales y en particular en la remolacha y caña de azúcar
Trehalosa	α -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 1') α -D-glucopiranososa	Hongos Insectos



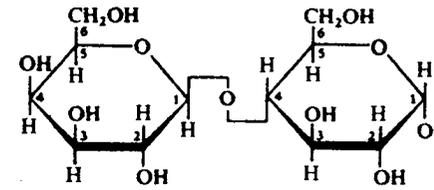
Celobiosa

Figura 14.1.



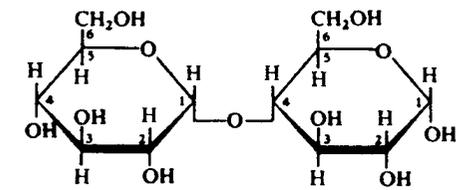
Gentibiosa

Figura 14.2.



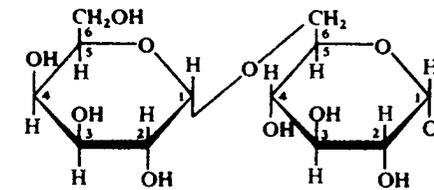
Lactosa

Figura 14.3.



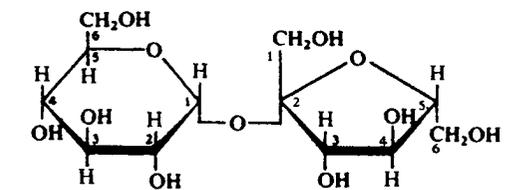
Maltosa

Figura 14.4.



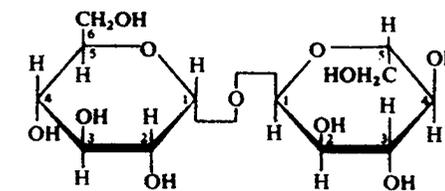
Melibiosia

Figura 14.5.



Sacarosa

Figura 14.6.



Trehalosa

Figura 14.7.

Figuras 14.1 a 14.7. Estructura de algunos disacáridos.

Trisacáridos

Los trisacáridos están formados por la condensación de tres moléculas de osas, tabla 14.3 y figura 14.8.

Tabla 14.3
TRISACARIDOS

Trisacáridos	Estructura	Distribución
Rafinosa	α -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 6) α -glucopiranosil (1 \rightarrow 2) β -D-fructofuranosido	Azúcar de remolacha incompletamente refinada
Estaquiosa	Digalactosil sacarosa	Vegetales

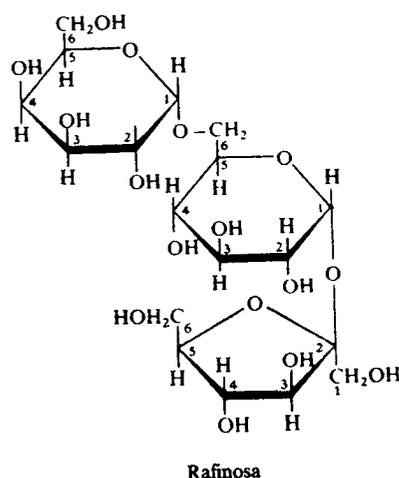


Figura 14.8. Estructura de la rafinosa.

Otros oligosacáridos

1. Oligosacáridos con actividad de grupo sanguíneo, presentes en los líquidos biológicos.

2. Oligosacáridos con carácter antibiótico, que presentan en su molécula uno o varios restos de osa o de derivados de osas, como los aminoglucósidos.

Métodos de estudio de los oligosacáridos

Comprenden las siguientes etapas: identificación del tipo de osa, determinación del modo de enlace y determinación de la configuración α o β del enlace glicosídico.

1. *Identificación del tipo de osa.* Nos limitaremos, a modo de ejemplo, al caso más simple, el de un disacárido. Mediante hidrólisis ácida, se rompe el enlace glicosídico, con lo cual quedan en libertad las osas, que se separan e identifican a continuación por cromatografía en capa fina, sobre papel, en columnas de almidón o de intercambiadores de iones, o en fase gaseosa. También se pueden identificar por su poder rotatorio específico y por sus derivados característicos, tales como hidrazonas y osazonas. Para cantidades muy pequeñas de osas, se combina la cromatografía en fase gaseosa con el análisis por espectrometría de masas.

2. *Determinación del modo de enlace.* Al someter un disacárido a una oxidación con yodo en medio alcalino y ulterior hidrólisis ácida, pueden suceder dos cosas:

a) Que no se forme un ácido aldónico, es decir, estamos en presencia de un disacárido no reductor, lo cual nos indica que el enlace glicosídico tiene lugar entre los dos carbonos anoméricos de las osas que lo constituyen.

b) Que se forme un *ácido aldónico*, lo cual indica que se trata de un disacárido reductor; según el tipo de ácido aldónico sabremos la naturaleza de la osa reductora. Así, por ejemplo, si el ácido aldónico obtenido es el ácido D-glucónico, la osa reductora es la glucosa y, por tanto, en dicho enlace glicosídico no participa el carbono anomérico de la glucosa (C_1), nos queda entonces por determinar la posición del hidróxilo de la otra osa que participa en el enlace glicosídico. En el caso de que se trate de una hexosa, no es posible que sea el hidróxilo del C_5 , pues éste ya está bloqueado por el enlace hemiacetalico con el C_1 en las aldohexosas, y con el C_2 en las cetohehexosas. Para la determinación de la posición de este hidróxilo existen varios métodos: *método de Zemplén*, que utiliza la osazona, método de metilación y métodos de oxidación. Entre los métodos de oxidación cabe citar el *método de Charlson y Perlin*, que utiliza el tetracetato de plomo, y el *método de Clancy y Whelan*, que utiliza la acción del ácido per-iódico sobre un poliol lineal. Este último método consiste en lo siguiente. En primer lugar se trata el disacárido con borohidruro sódico (H_4BNa) que actúa exclusivamente sobre la osa cuyo carbono anomérico está libre y la transforma en un poliol. Así, en el caso de la D-glucosa, se obtiene el D-sorbitol. A continuación se hace intervenir al ácido per-iódico que actúa sobre el poliol lineal rompiendo los enlaces α -glicol. Una vez conocido el número de moléculas de ácido per-iódico utilizadas y el número de moléculas de ácido fórmico ($H-COOH$) obtenidas, se deduce la posición del hidróxilo alcohólico que interviene en el enlace, siendo los más frecuentes el (1 \rightarrow 4) y el (1 \rightarrow 6).

En el caso de los enlaces (1 \rightarrow 3) y (1 \rightarrow 4), dado que obtenemos los mismos resultados, es necesario emplear otros métodos, como el del tetracetato de plomo.

3. *Determinación de la configuración α o β del enlace glicosídico.* Se pueden emplear métodos químicos o métodos enzimáticos. Comentaremos brevemente estos últimos. Ciertas enzimas hidrolizan de manera muy específica o bien el enlace α -glicosídico o bien el enlace β -glicosídico. Por ejemplo, de la almendra dulce se extrae la *emulsina*, que contiene una mezcla de β -D-glucosidasa, α -D-galactosidasa y β -D-galactosidasa. La *invertasa* de la levadura contiene una β -D-fructofuranosidasa y una α -D-glucosidasa.

POLISACARIDOS

Los *polisacáridos* también llamados *poliholósidos*, *poliósido* o *glicanos*, son holósidos que resultan de la condensación de más de 10 moléculas de osas.

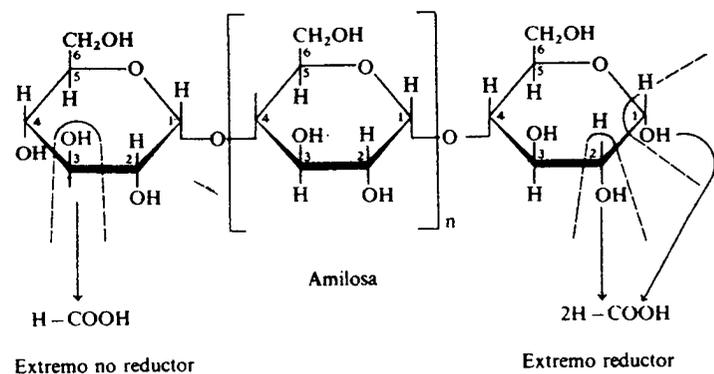


Figura 14.11. Método del ácido per-iódico.

Una molécula lineal como la de la amilosa formará tres moles de ácido fórmico. En el caso de las amilopectinas y del glucógeno, que poseen muchas ramas y grupos terminales no reductores, prácticamente todo el ácido fórmico procede de las ramas no reductoras; un mol por grupo terminal no reductor. Por consiguiente, la oxidación de estas sustancias con per-iodato, seguida de titulación del ácido fórmico formado, permite calcular el grado de ramificación. El método es mucho más rápido y cómodo que el de metilación y da esencialmente los mismos resultados. Por este método se ha hallado que la amilosa contiene un grupo terminal por cada 250 a 980 unidades y la amilopectina un grupo terminal por cada 25 a 27 unidades. La amilopectina consiste en una cadena de moléculas de glucosa unidas por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$, con puntos de ramificación con enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$. Estas ramificaciones ocurren cada 24 ó 30 residuos de glucosa aproximadamente, dependiendo de la fuente estudiada. La amilopectina da un color rojo violeta con el yodo, y su peso molecular puede ser tan alto como 100 millones (fig. 14.12).

Distribución. El almidón está presente en tubérculos como la patata y en cereales como el arroz, el maíz y el trigo fundamentalmente. Al microscopio óptico aparece en forma de gránulos que pueden ser irregulares, esféricos, ovoides o en forma de lente. Pueden estar dispuestos en capas concéntricas, como en los cereales, o en capas excéntricas, como en la patata. La forma microscópica de los gránulos es característica de su fuente de origen.

Funciones. El almidón, como carbohidrato de reserva de las plantas, interviene en su nutrición, reproducción y crecimiento.

Más de la mitad de los carbohidratos de la dieta se ingieren en forma de almidón, siendo, por tanto, la fuente de alimentación más importante de carbohidratos. En el tracto gastrointestinal es sometido a la acción de la α -amilasa, salivar y pancreática, y de la α -amiloglucosidasa, o isomaltasa, presente en el jugo intestinal. La α -amilasa hidroliza los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ de la amilosa y de la amilopectina rindiendo una mezcla de maltosa y maltotriosa libres, así como polisacáridos de cadena intermedia llamados dextrinas. Las dextrinas formadas a partir de la amilosa tienen cadenas no ramificadas, mientras que las de la amilopectina son ramificadas. La enzima desramificante $\alpha(1 \rightarrow 6)$ glucosidasa, presente en el jugo intestinal, hidroliza los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$ presentes en los puntos de ramificación de la amilopectina. La acción combinada de la α -amilasa y de la $\alpha(1 \rightarrow 6)$ glucosidasa completan la degradación de la amilopectina a glucosa y maltosa.

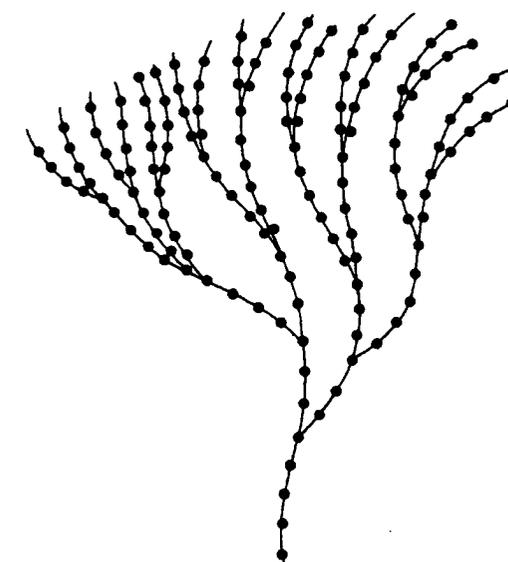
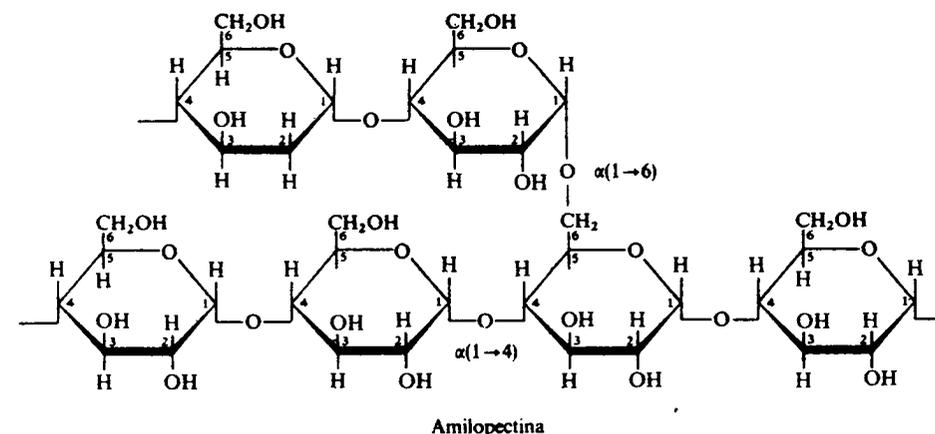


Figura 14.12. Amilopectina.

Glucógeno

Estructura. El glucógeno, como la amilopectina, es un polisacárido formado por moléculas de D-glucosa unidas por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$, pero mucho más ramificado, según se ha demostrado por los métodos de Haworth y del per-iodato. Cuando se hidroliza glucógeno metilado, se forma una mezcla de 2,3,4,6-tetrametilglucosa, 2,3,6-trimetilglucosa y 2,3-dimetilglucosa, como en el caso del almidón metilado. Sin embargo, las proporciones de 2,3,4,6-tetrametilglucosa procedentes de las unidades terminales de glucosa, y de 2,3-dimetilglucosa procedentes de las unidades de glucosa en donde ocurre ramificación, son más altas que en el almidón metilado. Estos resultados muestran que las cadenas de glucosa en el glucógeno están mucho más ramificadas que en la amilopectina. Los puntos de ramificación están presentes cada ocho o doce residuos de glucosa. El glucógeno da un color

rojo violeta con el yodo. Su peso molecular oscila entre 270.000 a 100 millones, siendo una molécula esférica y compacta. El hecho de que el glucógeno sea una molécula muy ramificada es importante por dos razones: en primer lugar porque incrementa su solubilidad, y en segundo lugar porque hace que tengan un gran número de residuos terminales no reductores; éstos son sitios de acción de la *glucógeno fosforilasa* y de la *glucógeno sintasa*. De este modo, las ramificaciones incrementan la velocidad de síntesis y de degradación del glucógeno.

Distribución. El glucógeno es el principal polisacárido de reserva de las células animales, por lo que se suele denominar almidón animal. Los dos tejidos de mayor importancia en el almacenamiento de glucógeno son el hígado y el músculo esquelético. La concentración de glucógeno es más alta en el hígado que en el músculo, pero dada la mayor masa del tejido muscular es más abundante en este último. En el tejido nervioso hay muy poco glucógeno almacenado por lo que es necesario el aporte continuo de glucosa por la sangre. El glucógeno está presente en el citoplasma de las células en forma de gránulos con diámetros que oscilan entre 100 a 400 Å. Estos contienen las enzimas que catalizan la síntesis y degradación del glucógeno así como algunas de las enzimas que regulan estos procesos.

Función. El glucógeno sirve como reservorio nutricional en los tejidos animales ya que representa una forma muy eficiente de almacenar glucosa de rápida movilización, bien en los periodos interdigestivos o durante la actividad muscular y, por otra parte, reduce al máximo los cambios de presión osmótica que la glucosa libre podría ocasionar en la célula.

Dextranos

Estructura. Los dextranos son también polisacáridos ramificados de la D-glucosa, pero difieren del glucógeno y del almidón en que sus enlaces en el esqueleto principal son $\alpha(1 \rightarrow 6)$. Varían en la naturaleza de sus puntos de ramificación, que pueden ser $(1 \rightarrow 2)$, $(1 \rightarrow 3)$ o $(1 \rightarrow 4)$ según las especies. Los dextranos forman disoluciones mucilaginosas de elevada viscosidad.

Funciones. Los dextranos son polisacáridos de reserva en levaduras y bacterias. Tienen importancia en medicina como sustitutivos o expansores del plasma (no de la sangre) en el tratamiento del choque, pues están dotados de fuerte presión coloidosmótica. El gran tamaño de la partícula de los dextranos naturales los hace inapropiados para este fin, pero se obtienen buenos preparados de dextranos por hidrólisis con ácidos o enzimas hasta obtener un peso molecular medio de 76.000 daltons aproximadamente. A título de ejemplo señalaremos que una solución de un dextrano de peso molecular alrededor de 40.000 (Rheomacrodex) a una concentración al 10 por 100 presenta y posee doble presión coloidosmótica que el mismo plasma. Estos cuerpos macromoleculares tienen como ventajas sobre las transfusiones sanguíneas las de no precisar pruebas de grupo ni controles cruzados, no presentar riesgo de producir hepatitis virales y ser compatibles con sus asociaciones a electrolitos y demás preparados que pueden utilizarse endovenosamente.

Inulina

Estructura. La inulina resulta de la condensación de un centenar de unidades de D-fructosa en forma furánica por enlaces glucosídicos $\beta(2 \rightarrow 1)$, con unas cuantas

unidades de D-glucosa en el extremo de la cadena. Tiene un peso molecular aproximado de 500 daltons.

Distribución. La inulina está presente en los tubérculos de la achicori y la dalia, y en los bulbos de la cebolla y el ajo.

Funciones. La inulina es un polisacárido de reserva de las plantas. Es usada como fuente comercial de fructosa. No es utilizada como alimento, pues no es hidrolizada por ninguna enzima del tracto gastrointestinal. Puede utilizarse para medir la tasa de filtración glomerular, pues no sufre reabsorción ni secreción tubular.

Homopolisacáridos estructurales

Celulosa

Estructura. Es un polímero lineal de residuos de D-glucosa unidos por enlaces $\beta(1 \rightarrow 4)$. Su unidad disacárida de repetición es la celobiosa (fig. 14.1), que consta de dos moléculas de glucosa unidas por un enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ y que se obtiene por hidrólisis parcial de la celulosa. Cuando la celulosa es completamente metilada y después hidrolizada, se forma sólo 2,3,6 tri-O-metilglucosa, mostrando con ello una ausencia de ramificación en la molécula de celulosa. Los residuos glucosídicos están rotados alternativamente 180° a consecuencia del enlace β glucosídico (fig. 14.13).

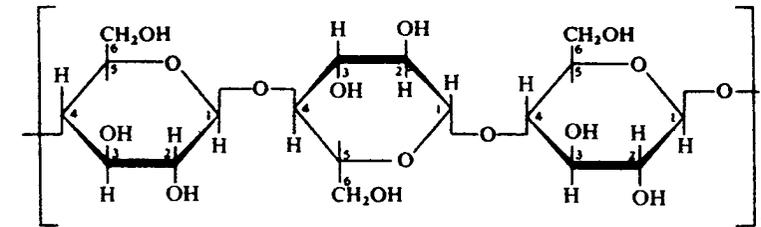


Figura 14.13. Cadena de la celulosa.

Esta estructura también se puede representar como se indica en la figura 14.14, en la que para una mayor claridad se han omitido los hidrógenos e hidroxilos de los residuos de glucosa. En la celulosa y otros polisacáridos estructurales las unidades monosacáridas se unen por enlaces β , mientras que en los carbohidratos de carácter nutricional como el almidón y el glucógeno, el enlace es de tipo α . La celulosa tiene una alta afinidad por el agua, pero es completamente insoluble en ella. Su peso molecular oscila entre 50.000 y 2.500.000, según las diferentes fuentes, lo que equivale de 300 a 15.000 moléculas de glucosa.

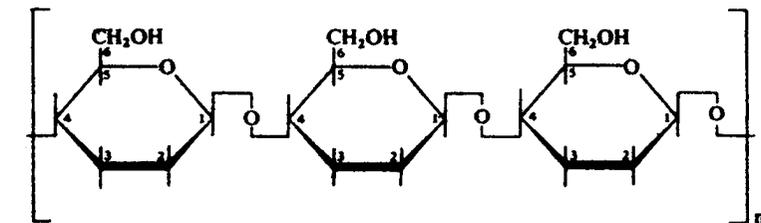


Figura 14.14. Cadena de la celulosa.

Distribución. La celulosa es el compuesto orgánico más abundante en la biosfera y el polisacárido estructural más abundante de la pared celular de las plantas. Los estudios de difracción de rayos X indican que las moléculas de celulosa están dispuestas en haces de cadenas paralelas formando fibrillas. La celulosa es el componente principal de la madera y del papel; el algodón es casi celulosa pura.

Funciones. La celulosa confiere una gran resistencia a las paredes celulares de las plantas. Los animales herbívoros utilizan la celulosa como alimento en virtud de la acción de sus celulasas. La celulosa puede dar lugar a nitratos de celulosa o nitrocelulosas, los cuales tienen una gran importancia en la manufactura de explosivos, celuloide y otras sustancias. Los acetatos de celulosa pueden ser usados en la fabricación de películas fotográficas, rayón y en varios materiales plásticos. La celulosa puede ser utilizada en terapéutica para aumentar el residuo fecal en determinados tipos de estreñimiento.

Quitina

Es el principal elemento estructural del exoesqueleto de insectos y crustáceos. Es un homopolímero de N-acetil-D-glucosamina y está estructuralmente próximo a la celulosa. El grupo hidróxilo, en posición 2 en los residuos de glucosa de la celulosa, en la quitina están sustituidos por un grupo N-acetilamino. Confiere resistencia al armazón de crustáceos e insectos.

Lignina

Presente en la madera, su estructura no se conoce todavía con certeza. Consiste en un polímero de alcoholes aromáticos. Confiere resistencia a la pared celular.

Heteropolisacáridos no nitrogenados

Agar

Estructura. Polisacárido de D y L-galactosa, algunas de las cuales se hallan esterificadas con ácidos sulfúrico.

Distribución. Algas marinas (polisacárido estructural).

Utilidad. Medio de cultivo de bacterias y aumentador del residuo fecal. El agar no es digestible y a veces se administra para aumentar el volumen de las heces fecales en el tratamiento del estreñimiento.

Goma arábiga: goma vegetal o de acacia

Estructura. D-galactosa, D-glucurónico, D-arabinosa y D-ramnosa.

Distribución. En vegetales (polisacárido estructural).

Utilidad. Preparación de productos farmacéuticos, adhesivos y dulces.

Hemicelulosas

Estructura. Las hemicelulosas no se hallan relacionadas estructuralmente con la celulosa, sino que son D-xilanos, polímeros de la D-xilosa con enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ y cadenas laterales de arabinosa y otros azúcares.

Distribución. Pared celular de las plantas (matriz).

Utilidad. Resistencia de la pared celular.

Pectinas

Estructura. Las pectinas son polímeros de metil D-galactouronato.

Distribución. Pared celular de las plantas (matriz), frutos cítricos, manzanas, remolacha, zanahorias.

Utilidad. Industria de conservación de frutas, acción dietética. La dieta de manzana, rica en pectina, es protectora de la mucosa hemostática, por vía parenteral (20 c.c. al 1,5 por 100).

Heteropolisacáridos nitrogenados: glicosaminoglucanos

Los glicosaminoglucanos resultan de la polimerización de unidades disacáridas elementales, constituidas generalmente por una molécula de hexosamina, portadora o no de grupos sulfatos, y una molécula de ácido hexurónico, presentando un marcado carácter ácido. A su vez, se pueden clasificar, atendiendo a su significación biológica, en estructurales y de secreción (tabla 14.5).

Tabla 14.5
HETEROPOLISACARIDOS NITROGENADOS

HETEROPOLISACARIDOS NITROGENADOS	
Glicosaminoglucanos	Estructurales { Acido hialurónico Condroitina Condroitina-4-sulfato Condroitina-6-sulfato Dermatán sulfato Queratán sulfato
	Secreción { Heparina y derivados Mucoítin sulfatos

Los *glicosaminoglucanos* estructurales forman parte de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo y se presentan unidos a proteínas, constituyendo así el gran grupo de los *proteoglicanos*, que se estudian más adelante. Los *glicosaminoglucanos* de secreción comprenden la heparina y sus derivados, y los mucoítin sulfatos. Desde un punto de vista químico, se pueden clasificar en sulfatados y no sulfatados (tabla 14.6).

1. Glicosaminoglucanos estructurales

Acido hialurónico

Estructura. La unidad disacárida elemental el ácido hialurónico es el ácido hialobiurónico que consta de una molécula de N-acetil-D-glucosamina unida mediante un enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ a una molécula de ácido D-glucurónico. El ácido D-

Tabla 14.6
HETEROPOLISACARIDOS NITROGENADOS

Glicosaminoglucanos	No sulfatados	<ul style="list-style-type: none"> Acido hialurónico Condroitina
	Sulfatados	<ul style="list-style-type: none"> Condroitina-4-sulfato Condroitina-6-sulfato Dermatán sulfato Queratán sulfato Heparina y derivados Mucoitín sulfatos

glucurónico de una unidad disacárida se enlaza con la siguiente unidad, a través de un enlace $\beta(1 \rightarrow 3)$ a una molécula de N-acetil-D-glucosamina.

El ácido hialurónico tiene un peso molecular del orden de diez millones y suele constar de más de 25.000 unidades disacáridas. Tiene una organización tridimensional monocatenaria o bicatenaria presentándose frecuentemente en forma de doble hélice con un paso de rosca de 33,7 Å y con cuatro unidades disacáridas por vuelta de espiral (fig. 14.15).

El ácido hialurónico es despolimerizado por acción de la enzima *hialuronidasa*, o factor de difusión presente en espermatozoides, estreptococos, gérmenes anaerobios como el *clostridium* y en venenos de abeja, avispa, cobra, serpiente y algunos arácnidos. La *hialuronidasa*, al despolimerizar el ácido hialurónico del tejido conjuntivo facilita la penetración en el organismo de medicamentos y bacterias patógenas, así como la penetración del espermatozoide dentro del óvulo.

Distribución. El ácido hialurónico está ampliamente distribuido en el organismo, encontrándose presente en la sustancia fundamental del tejido conjuntivo, en el cordón umbilical (gelatina de Wharton), en el humor vítreo, en el líquido sinovial, la piel y la sangre.

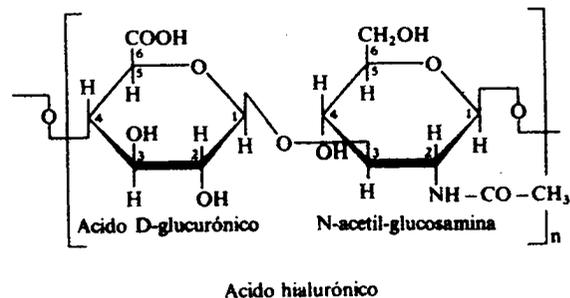


Figura 14.15. Cadena del ácido hialurónico.

Condroitina

Estructura. La unidad disacárida elemental de la condroitina es la condrosina, que consta de una molécula de N-acetil-D-galactosamina, unida mediante un enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ a una molécula de ácido D-glucurónico. La molécula de ácido D-

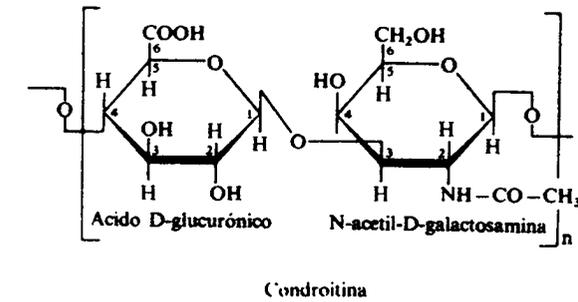


Figura 14.16. Cadena de la condroitina.

glucurónico de una unidad disacárida se enlaza con la siguiente unidad a través de un enlace $\beta(1 \rightarrow 3)$ con una molécula de N-acetil-D-galactosamina (fig. 14.16).

Distribución. La condroitina está presente en la córnea y en el cartilago embrionario.

Condroitinasulfato A o condroitina-4-sulfato

Estructura. La condroitinasulfato A es un polímero de condrosina, con un grupo sulfato unido en posición 4 a la molécula de N-acetil-D-galactosamina. La polimerización de la condrosina se lleva a cabo como en la condroitina (fig. 14.17).

Distribución. La condroitina-4-sulfato es abundante en el cartilago y en los huesos en vías de crecimiento. También se encuentra en la córnea y en la piel.

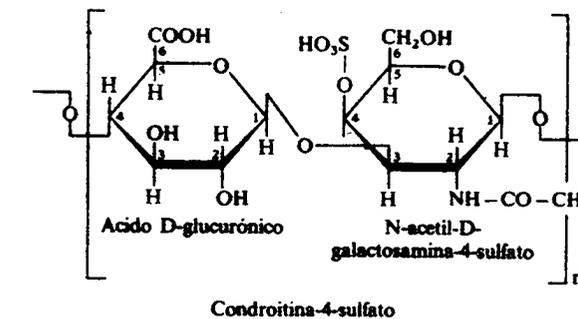


Figura 14.17. Cadena de la condroitina-4-sulfato.

Condroitinasulfato C o condroitina-6-sulfato

Estructura. La condroitinasulfato C es un polímero de condrosina, con un grupo sulfato en posición 6 en la molécula de N-acetil-D-galactosamina. La polimerización de la condrosina se lleva a cabo como en la condroitina (fig. 14.18).

Distribución. La condroitina-6-sulfato es abundante en cartilago, cordón umbilical y tendones.

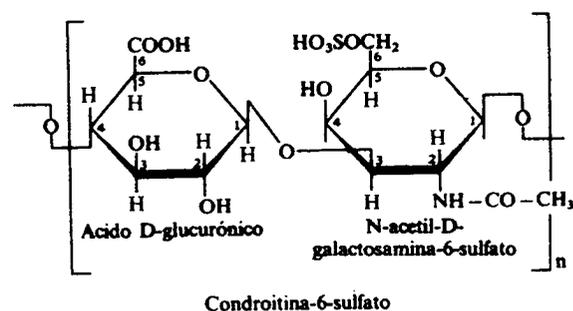


Figura 14.18. Cadena de la condroitina-6-sulfato.

Dermatán sulfato

Estructura. El dermatán sulfato está formado por una unidad disacáridica elemental que consta de una molécula de N-acetil-D-galactosamina-4-sulfato unida mediante un enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ a una molécula de ácido L-idurónico (ácido urónico que proviene de la L-idosa). El ácido L-idurónico de una unidad disacáridica se une a la siguiente unidad, a través de un enlace $\alpha(1 \rightarrow 3)$ con una molécula de N-acetil-D-galactosamina. Hay evidencias experimentales que sugieren que el dermatán sulfato es un polímero lineal sin ramificación (fig. 14.19).

Distribución. El dermatán sulfato está localizado principalmente en piel, tendones, válvulas cardíacas, aorta y vasos.

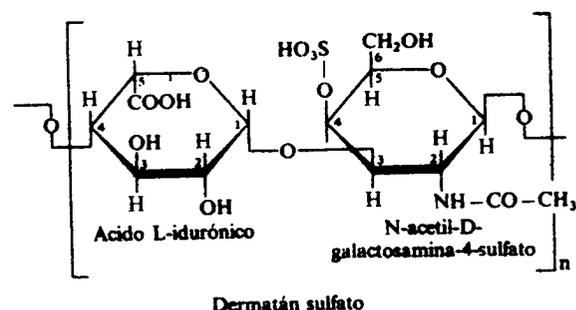


Figura 14.19. Cadena del dermatán sulfato.

Queratán sulfato

Estructura. La unidad disacárida del queratán sulfato está formada por una molécula de D-galactosa unida mediante un enlace $\beta(1 \rightarrow 4)$ a una molécula de N-acetil-D-glucosamina-6-sulfato. Esta última molécula de una unidad disacáridica se enlaza con la siguiente unidad, a través de un enlace $\beta(1 \rightarrow 3)$ con una molécula de D-galactosa. La D-galactosa puede presentar un grupo sulfato en posición 6, e incluso muchas moléculas de queratán sulfato contienen un exceso de galactosa (fig. 14.20)

Distribución. El queratán sulfato está presente en el cartilago, córnea, hueso y núcleo pulposo de los discos intervertebrales. Su cantidad, prácticamente nula al nacer, aumenta hasta los treinta años.

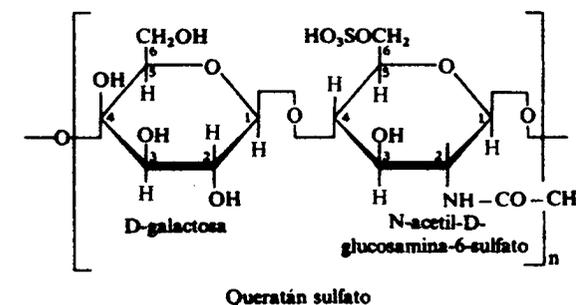


Figura 14.20. Cadena del queratán sulfato.

Funciones de los glicosaminoglucanos estructurales

Absorción de presión en el cartilago

El cartilago puede soportar peso debido a que su sustancia intercelular contiene además del colágeno, glicosaminoglucanos sulfatados.

Cemento intermolecular

Los glicosaminoglucanos forman parte de la sustancia fundamental del tejido conectivo y membranas basales. El ácido hialurónico está considerado como el componente más importante de la sustancia intercelular, siendo su función mantener las células unidas entre sí.

Criba molecular

Los glicosaminoglucanos confieren una gran viscosidad a la sustancia fundamental conjuntiva. El ácido hialurónico posee una importante viscosidad intrínseca, que le permite actuar como una criba molecular dejando fuera moléculas indeseables del área del tejido conectivo. Las soluciones de condroitin sulfato son menos viscosas que las del ácido hialurónico.

Desarrollo de estructuras fibrosas extracelulares

Los condroitin sulfatos están estrechamente asociados al colágeno y asumen un papel de sostén durante la elaboración de la estructura fibrilar del colágeno. Asimismo, el dermatán sulfato puede determinar la orientación de crecimiento de las fibras de colágeno.

Fijación de agua y cationes (Ca^{2+})

El volumen de líquido intersticial es regulado en parte por la cantidad de glicosaminoglucanos presentes en el espacio intersticial. El agua puede estar fijada a dichas macromoléculas por el carácter polianiónico que presentan, o por absor-

ción a las mismas o bien puede quedar aprisionada entre las mallas del ácido hialurónico cuando está muy polimerizado. Lactantes y niños pequeños poseen una proporción más alta de líquido intersticial que los adultos debido a que contienen concentraciones mucho más altas de glicosaminoglucanos. El ácido hialurónico fija fácilmente agua en los espacios intercelulares del tejido conjuntivo; asimismo, a nivel del cordón umbilical, retiene líquidos, interviniendo en la protección de sus vasos frente al acodamiento. Su presencia en el humor vítreo le hace responsable de la acumulación de líquido a este nivel manteniendo su transparencia y la constancia morfológica del globo ocular. La capacidad de retención de agua del condroitín sulfato es también importante. El carácter polianiónico de esta molécula explica por otra parte su papel como fijador de cationes y, particularmente de calcio. Durante la osificación, los glicosaminoglucanos y especialmente los condroitín sulfatos, se muestran como excelentes intercambiadores de cationes y participan en unión estrecha con el colágeno en la elaboración del cristal óseo. Cuando esta fijación de calcio disminuye, como resultado aparece una gran labilidad en el cemento intercelular, lo cual podría explicar la multiplicación de las células libres durante la formación de metástasis neoplásicas o también la fragilidad de los capilares.

Lubricantes

El ácido hialurónico, presente en el líquido sinovial, favorece el deslizamiento de las superficies articulares, evitando con ello su desgaste.

Materiales de gelificación

En forma extraída, los glicosaminoglucanos se usan como materiales de gelificación (gelatinas).

2. Glicosaminoglucanos de secreción

Heparina

Estructura. La heparina es un polímero en el cual la unidad disacárida básica consiste en una molécula de D-glucosamina-N-sulfato y 6-sulfato unida mediante un enlace glicosídico $\alpha(1 \rightarrow 4)$ a una molécula de ácido D-glucurónico con un grupo D-sulfato probablemente en el C₂. El enlace entre las unidades disacáridas es también $\alpha(1 \rightarrow 4)$. (fig. 14.21). Entre los derivados de la heparina se encuentran las heparinas hipersulfatadas que poseen hasta cinco grupos sulfato por unidad disacáridica elemental y una heparina hiposulfatada, la heparitina sulfato o N-acetil heparina, en la cual ha desaparecido el enlace (NH-SO₃⁻) quedando en su lugar una función N-acetilada.

Distribución. La heparina está presente en los gránulos de los basófilos circulantes y en los gránulos de las células cebadas o mastocitos presentes en muchos tejidos (hígado, pulmones y paredes de las arterias).

Funciones. La heparina tiene propiedades anticoagulantes. Asimismo, provoca la liberación de la lipoproteína lipasa (LPL) del endotelio vascular. *In vitro*, actúa como inhibidor de la ribonucleasa.

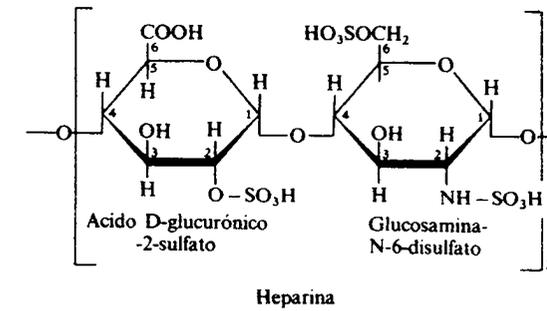


Figura 14.21. Cadena de la heparina.

Mucoítin sulfatos

Estructura. La estructura de los mucoítin sulfatos es parecida a la de los condroitín sulfatos, pero la hexosamina es la N-acetil-D-glucosamina, que tiene grupos sulfatos en posición 4 y 6.

Tabla 14.7
MUCOPOLISACARIDOSIS

Abreviatura	Epónimo	Deficiencia enzimática	Producto almacenado
MPS I-H	Hurler	α -L-iduronidasa	DS + HS
MPS I-S (antes llamado MPS V)	Scheie	α -L-iduronidasa	DS + HS
MPS I-H/S	Hurler-Scheie	α -L-iduronidasa	DS + HS
MPS II-severo	Hunter-forma severa	L-sulfoiduronato-sulfatasa	HS + DS
MPS II-benigno	Hunter-forma benigna	L-sulfoiduronato-sulfatasa	HS + DS
MPS III-A	San Filippo tipo A	Heparán sulfato sulfamidasa	HS
MPS III B	San Filippo tipo B	N-acetil α -D-glucosaminidasa	HS
MPS III C	San Filippo tipo C	Acetil CoA: α -glucosamida-N-acetil transferasa	HS
MPS IV A	Morquio forma clásica	N-acetil galactosamina-6-sulfatasa	QS + C-6-S
MPS IV B	Semejante al síndrome de Morquio	β -galactosidasa	QS + C-4-S
MPS VI	Maroteaux-Lamy severo	N-acetil-galactosamina-4-sulfatasa (arilsulfatasa B)	DS + C-4-S
MPS VI	Maroteaux-Lamy benigno	N-acetil-galactosamina-4-sulfatasa (arilsulfatasa B)	DS + C-4-S
MPS VII	Déficit de β -glucuronidasa	β -glucuronidasa	HS + DS + C-S

DS: Dermatan sulfato; HS: Heparán sulfato; QS: Queratan sulfato; C-S: Condroitín sulfato; C-4-S: Condroitina-4-sulfato; C-6-S: Condroitina-6-sulfato.

Distribución. Los mucoítín sulfatos están presentes en los mucus segregados por las glándulas del tracto digestivo y respiratorio.

Función. Los mucoítín sulfatos intervienen en la protección de los epitelios.

Alteraciones bioquímicas: mucopolisacaridosis

Las mucopolisacaridosis son un grupo de enfermedades de almacenamiento lisosomal, cada una de las cuales es producida por una deficiencia hereditaria de una enzima implicada en la degradación de los glicosaminoglucanos. Cursan con alteraciones del tejido conectivo, corazón, hueso y sistema nervioso central. Los glicosaminoglucanos están formando parte de los proteoglicanos presentes en la matriz extracelular del tejido conectivo. Esos proteoglicanos, en condiciones fisiológicas, son renovados mediante un proceso de internalización celular por endocitosis, y entregados a los lisosomas. Los lisosomas poseen *proteasas* que digieren la proteína, *endoglicosidasas* que reducen los glicosaminoglucanos a oligosacáridos de distinta longitud, y *exoglicosidasas*, que actúan secuencialmente, dando lugar a monosacáridos. Cada enzima lisosómica es específica para un determinado tipo de enlace. La deficiencia hereditaria de alguna de las enzimas implicadas en estos procesos degradativos secuenciales, induce a una acumulación de glicosaminoglucanos parcialmente degradados en los lisosomas. La acumulación es progresiva y termina provocando una desorganización de la arquitectura celular y alteraciones de su función. La intensidad de la afectación depende del grado de deficiencia enzimática y de la enzima desaparecida, ya que los glicosaminoglucanos varían individualmente en cuanto a su distribución tisular y a su tasa de recambio. En la *mucopolisacaridosis tipo II*, conocida como *síndrome de Hunter*, la enzima ausente está especificada por un gen del cromosoma X. Todas las demás mucopolisacaridosis resultan de las deficiencias de enzimas especificadas por cromosomas autosómicos (tabla 14.7).

II. HETEROSACARIDOS

Los heterosacáridos, que resultan de la combinación de una o de varias moléculas de osas con una fracción no glucídica, se pueden clasificar en peptidoglicanos, glicoproteínas y proteoglicanos.

Péptidoglicanos

Estructura. Los péptidoglicanos son macromoléculas constituidas por cadenas polisacáridas paralelas entre sí y unidas transversalmente mediante sus cadenas laterales peptídicas. La unidad básica estructural del peptidoglicano consta de:

1. Un disacárido de N-acetil-D-glucosamina y ácido N-acetilmurámico unidos por un enlace glicosídico $\beta(1 \rightarrow 4)$.
2. Un tetrapéptido de L-alanina, D-alanina, ácido D-glutámico o D-glutamina, y además ácido mesodiaminopimélico, L-lisina, L-hidroxisisina u ornitina, dependiendo de la especie bacteriana de que se trate.
3. Un puente peptídico de pentaglicina (fig. 14.22).

El resto de D-alanina terminal de la cadena lateral de una cadena polisacárida se une covalentemente con la cadena peptídica lateral de una cadena polisacárida

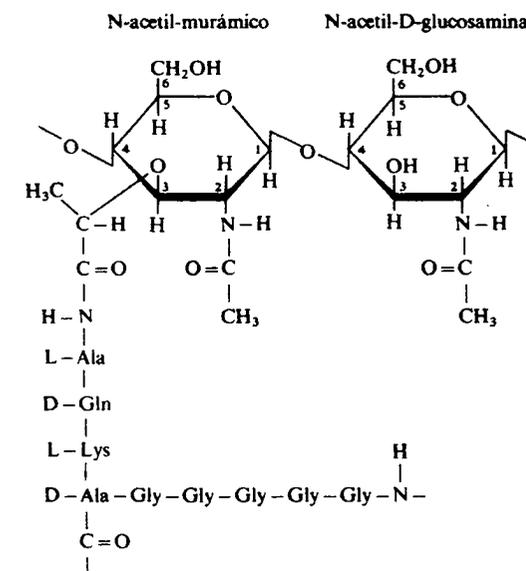


Figura 14.22. Unidad del péptidoglicano de *Staphylococcus aureus*.

adyacente, bien directamente, como en *E. coli*, o a través de un puente peptídico de pentaglicina, como en el *Staphylococcus aureus*. El tetrapéptido se caracteriza principalmente por contener D-aminoácidos, los cuales no se encuentran en las proteínas. La glicina N-terminal del puente de pentaglicina se une mediante su grupo amino al grupo carboxilo de la D-alanina, mientras que la glicina C-terminal se une mediante su grupo carboxilo al grupo ϵ -amino de la L-lisina. En las bacterias gram-positivas, además del péptidoglicano, se encuentran ácidos teicoicos, formando parte de la pared bacteriana. Estos son cadenas polímeras de moléculas de glicerina o de ribitol unidas entre sí por puentes fosfodiéster. Sus grupos hidróxilos son capaces de esterificarse con alanina o con azúcares como la

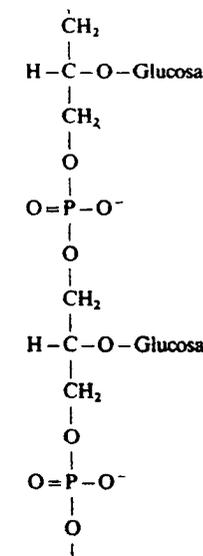


Figura 14.23. Estructura el ácido teicoico.

glucosa. El ácido teicoico se une al disacárido N-acetil-D-glucosamina y ácido N-acetil murámico del péptidoglicano por un enlace fosfodiéster (fig. 14.23).

Se distinguen tres tipos principales de péptidoglicanos: A, B y C, y sus aspectos estructurales se resumen en la figura 14.24.

Funciones. Los péptidoglicanos confieren a la pared bacteriana una forma característica y un soporte mecánico que protege a la bacteria de la lisis osmótica. La elevada concentración de metabolitos dentro de la bacteria genera una alta presión osmótica que puede llegar a alcanzar las 20 atmósferas. Asimismo, los péptidoglicanos son responsables de la especificidad antigénica bacteriana y de su virulencia. La lisis de los péptidoglicanos es catalizada por hidroxilasas específicas.

Péptidoglicano hidrolasas. Penicilina

Las bacterias contienen autolisinas que son *peptidoglicanos hidrolasas*, tales como las *glicosidasas* específicas para los enlaces glicosídicos intra o interdisacáridicos de la molécula de proteoglicano, las *amidadasas*, que liberan el tetrapéptido del ácido N-acetilmurámico, y las *endopeptidasas*, que atacan varios enlaces peptídicos de la molécula. La función de estas enzimas dentro de la bacteria es probablemente morofogenética, y han sido de gran utilidad en el análisis de la estructura de los péptidoglicanos. Fuera de la bacteria, también se ha encontrado una enzima con actividad de *peptidoglicano hidrolasa*, la *lisozima*, presente en las lágrimas y la clara de huevo, entre otras localizaciones. La *lisozima* hidroliza los enlaces glicosídicos $\beta(1 \rightarrow 4)$ del esqueleto polisacárido del péptidoglicano. Los productos de la acción de esta enzima son disacáridos de la N-acetil-D-glucosami-

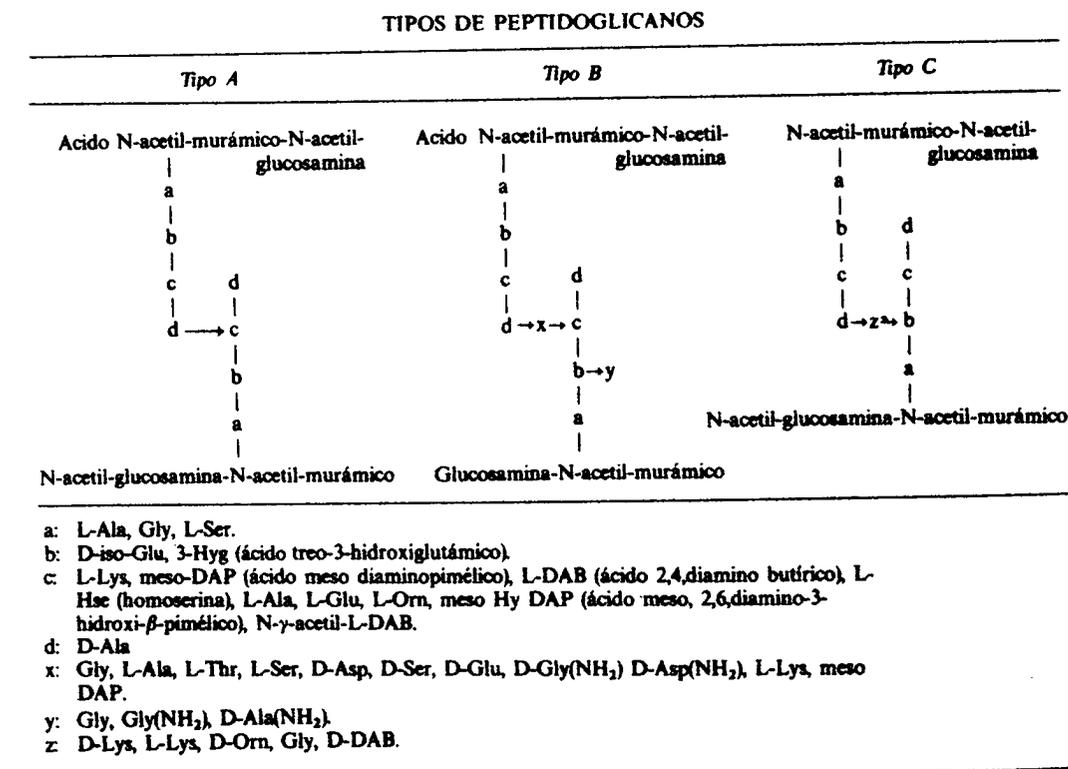


Figura 14.24. Tipos de péptidoglicanos.

na y del ácido N-acetil murámico, a los que todavía se hallan unidas las cadenas laterales peptídicas. Los péptidoglicanos no son susceptibles al ataque de L-proteasas, tales como *tripsina* y *quimotripsina*, debido a su contenido de D-aminoácidos y a la ausencia de aminoácidos aromáticos. Por otra parte, un antibiótico como la penicilina inhibe la formación de los enlaces transversales entre las cadenas polisacáridas inhibiendo de este modo la síntesis del peptidoglicano y bloqueando, por tanto, la síntesis de la pared bacteriana. La penicilina inhibe la *transpeptidasa*, que cataliza la formación de dichos enlaces transversales. Parece probable que dicha inhibición se deba a que la penicilina forma un enlace covalente con un residuo del sitio activo de la enzima. Algunas bacterias son resistentes a la penicilina porque tiene la capacidad de sintetizar una enzima, la *penicilinasas*, que rompe el anillo β -lactámico de la penicilina, con lo cual inactiva al antibiótico.

Glicoproteínas

Estructura. Las glicoproteínas resultan de la unión de una fracción glucídica con una fracción proteica a través de enlaces covalentes. La fracción hidrocarbonada está representada por una o varias cadenas glucídicas, generalmente ramificadas y de pequeño tamaño, unidas a la secuencia polipeptídica (fig. 14.25).

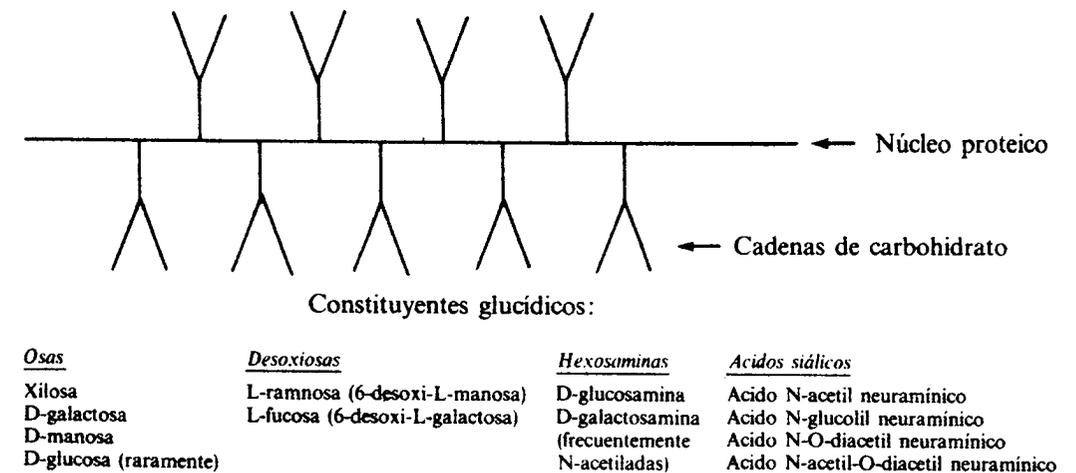


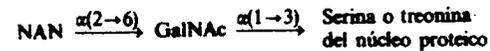
Figura 14.25. Estructura general de las glicoproteínas.

Fracción glucídica

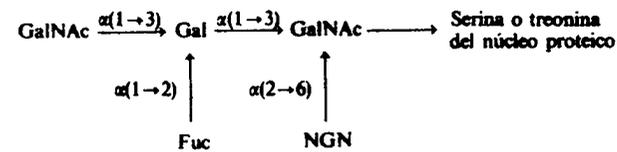
A diferencia de los glicosaminoglucanos, las glicoproteínas carecen de ácidos urónicos y ésteres sulfatos. Constan de osas, desoxiosas, hexosaminas y ácidos siálicos. El carácter ácido de las glicoproteínas se debe a la presencia de los ácidos siálicos presentes en la región terminal de la cadena polisacárida y con su grupo COOH frecuentemente libre. Este carácter ácido es el responsable de la disminución del punto isoeléctrico y de la gran solubilidad que presentan a pH neutro.

Las secuencias glucídicas de las glicoproteínas son muy variadas, según los tipos moleculares y las especies estudiadas. Sin embargo, las secuencias mejor conocidas presentan analogías en las zonas próximas a la unión con la proteína. En la figura 14.26 se muestra la estructura de una serie de glicoproteínas. Si bien

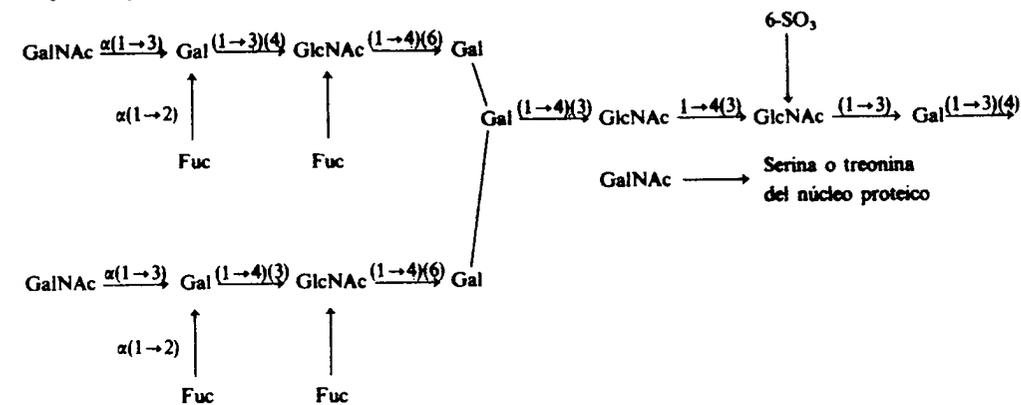
Mucus submaxilar (ovino)



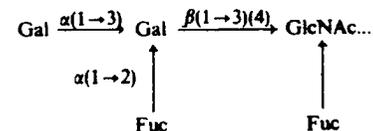
Mucus submaxilar (porcino)



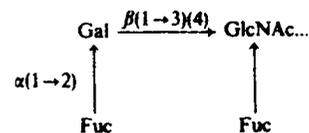
Mucus gástrico (porcino): A-secretor ()*



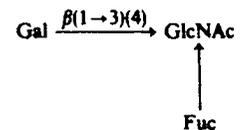
Humano: B-secretor



Humano y porcino: H(O)secretor



Humano: no secretor



* La estructura de glicoproteína del mucus gástrico humano es similar a la del mucus gástrico porcino.
Abreviaturas: Gal: galactosa; GlcNAc: N-acetil-glucosamina; GalNAc: N-acetil-galactosamina; Fuc: fucosa; NAN: Acido N-acetil-neuramínico; NGN: Acido N-glicolil-neuramínico.

Figura 14.26. Estructura de la cadena de carbohidratos de glicoproteínas del mucus gastrointestinal.

Tabla 14.8

DETERMINACION DE LA SECUENCIA GLUCIDICA*		
Método	Agente(s)	Obtención
Hidrolisis ácida	Acido mineral (HCl o H ₂ SO ₄) o resinas de poliestireno sulfonado	Osas y derivados de osas
Hidrolisis alcalina (β-eliminación)	Alcali, pH10, 20 horas a temperatura ambiente	Cadenas glucídicas separadas de la proteína
Hidrolisis enzimática	Neuraminidasa β-galactosidasa N-acetil-β-Dglucosaminidasa α-manosidasa	Acido siálico Galactosa Glucosamina Manosa
Hidrólisis con ácido per-iódico (degradación secuencial de Smith)	1. Acido per-iódico (IO ₄ ⁻) 2. Borohidruro sódico (NaBH ₄) 3. Medio ácido suave	Polialdehído unido a la proteína ↓ Poliol unido a la proteína ↓ Osas y derivados de osas
Metilación	Sulfato de metilo o yoduro de metilo	Monosacáridos metilados
Acetólisis	Acido acético en medio anhidro	Acetilglicósidos y acetilación de grupos -OH libres
Hidracinólisis-diazotación	Hidracina	Fragmentos poco numerosos
Metanolisis	Metanol anhidro 2N. 100°C. 4h.	Acido siálico Galactosa Manosa

* A través de la combinación de varios métodos de análisis es posible obtener información sobre la estructura de la cadena glucídica de una glicoproteína.

las distintas cadenas glucídicas de una glicoproteína son aparentemente iguales, se han encontrado ligeras modificaciones estructurales entre ellas. Un ejemplo de esta microheterogeneidad está representado en la α₂-macroglobulina sérica humana. Sus cadenas más cortas están constituidas por tres restos de manosa y dos de N-acetil glucosamina. Otras cadenas poseen este núcleo básico, pero tienen además fragmentos de oligosacáridos que contienen ácido siálico o fucosa, galactosa y N-acetil glucosamina. Algunas cadenas contiene incluso cuatro subunidades completas, reuniendo todas las osas o derivados de osas anteriormente mencionadas.

Fracción proteica

La composición de la fracción proteica es variable de unas glicoproteínas a otras. No está claro cuáles son los aminoácidos implicados en la unión con la cadena glucídica. En el momento actual es una cuestión controvertida. Aunque se

sabe que varios restos de asparaginil, seril, treonil, hidroxiprolil o hidroxilisil del polipéptido están unidos a una cadena glucídica, no todos la llevan, y no está claro el por qué. En el caso del asparaginil como portador de glúcidos, se sabe que está incluido en una secuencia particular del tipo asparaginil-X-serina o asparaginil-X-treonina, siendo X un aminoácido cualquiera. En las glicoproteínas del mucus gástrico, la treonina y la serina son los aminoácidos implicados en la unión de las cadenas de carbohidratos al núcleo de proteína; en las de origen porcino cada 3 ó 4 aminoácidos del núcleo de proteína puede llevar una cadena glucídica de unos 15 residuos de azúcar por término medio. El alto contenido de prolina presente en estas glicoproteínas puede reflejar el papel de este aminoácido en el mantenimiento de una conformación particular en la molécula de proteína que le permita «empaquetar» a estas grandes cadenas de carbohidratos tan próximas unas de otras. Esta cubierta protectora de glúcidos (80 por 100 del peso de estas glicoproteínas) protege a la proteína del ataque por enzimas proteolíticas.

Hay que distinguir dos regiones en la proteína de estas glicoproteínas, una región glicosilada, rica en serina, treonina y prolina, y otra región no glicosilada, la cual al no estar cubierta por esta funda de carbohidratos es accesible al ataque proteolítico.

Enlaces

La unión entre la fracción glucídica y la fracción proteica se realiza a través de un grupo reductor de la fracción polisacárida, con las siguientes funciones de los aminoácidos (figs. 14.27 a 14.29): función carboxilica de un aminoácido formando un enlace glucosídico-éster (fig. 14.27); función amida de la asparagina o de la glutamina, estableciendo un enlace N-glucosídico (fig. 14.28), y las funciones alcohólicas de los aminoácidos que las poseen (serina o treonina), obteniendo un

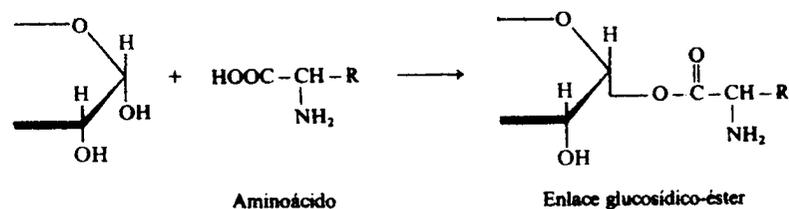


Figura 14.27. Enlace glucosídico-éster.

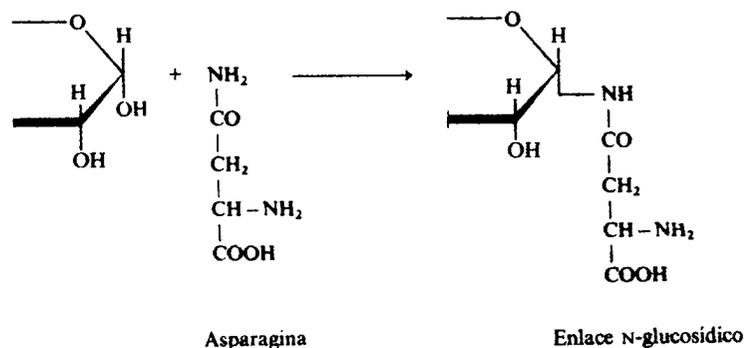


Figura 14.28. Enlace N-glucosídico.

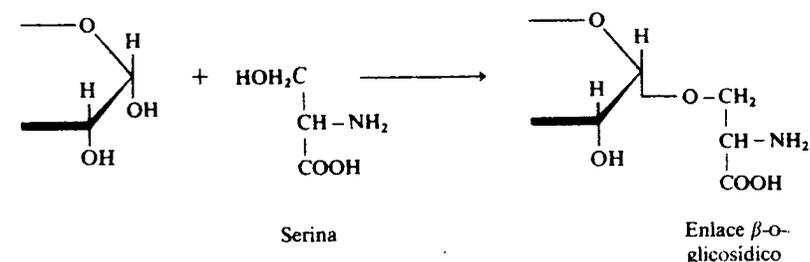


Figura 14.29. Enlace β -O-glicosídico.

enlace O-glicosídico (fig. 14.29). También existe la posibilidad de que la fracción glucídica y proteica se unan mediante un enlace peptídico entre la función amina de un aminoácido y la función ácida de un ácido murámico, como el mucopéptido de las paredes bacterianas.

Distribución. La distribución en la naturaleza de las principales glicoproteínas se resume en la tabla 14.9.

Proteoglicanos. Cartilago

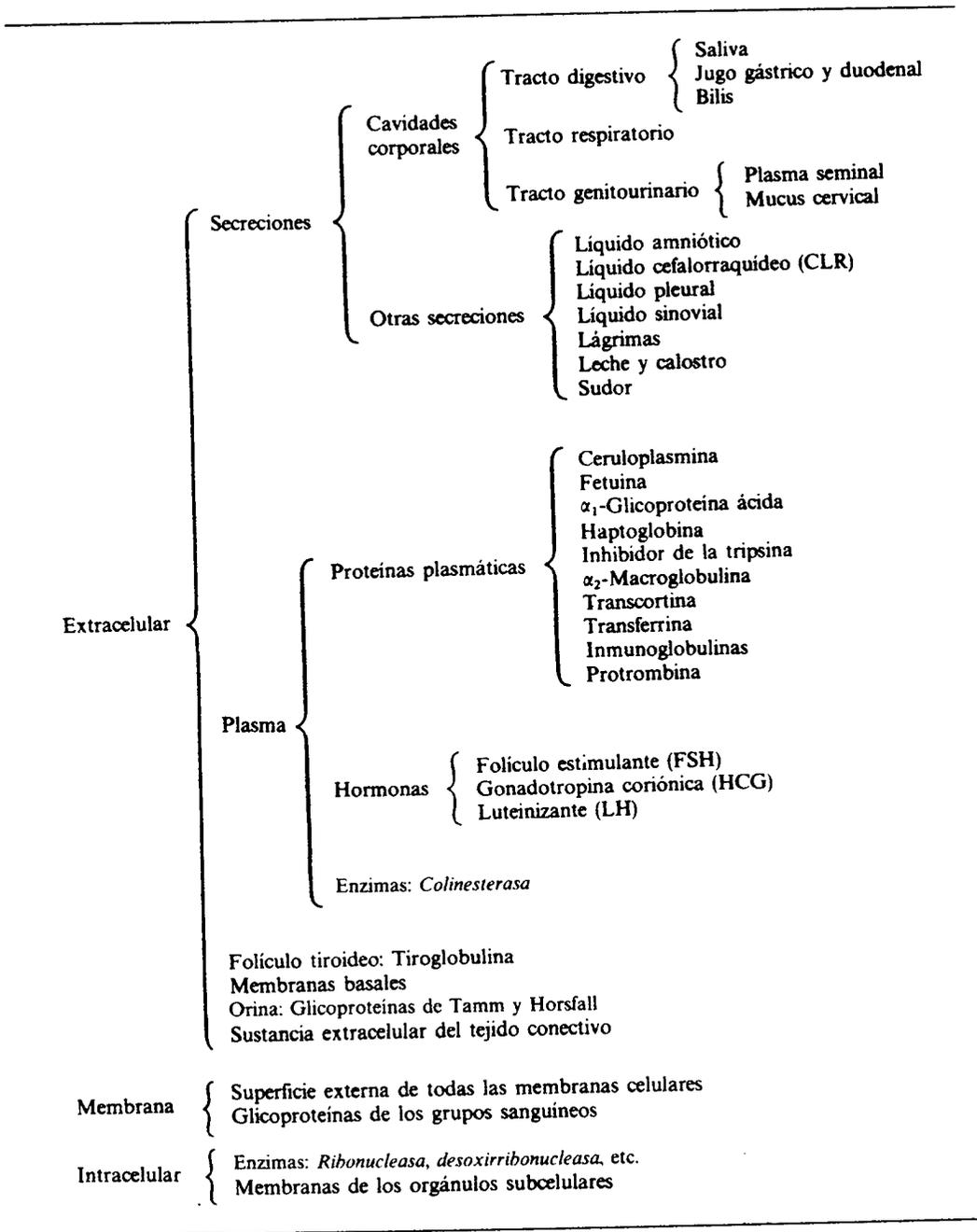
Organización molecular de la matriz del cartilago

El cartilago (tejido conectivo denso) está constituido por células, denominadas condrocitos, embebidas en una matriz formada principalmente por colágeno y proteoglicanos. Se han descrito tres tipos principales de cartilago: *hialino*, *elástico* y *fibrocartilago*. De los tres, el cartilago hialino es el más común. En el fibrocartilago las fibras de colágeno constituyen la mayor proporción de la materia orgánica, con sólo cerca de un 2 por 100 de glicosaminoglucanos. El cartilago elástico está presente principalmente en el pabellón auditivo y en la epiglotis.

El cartilago hialino maduro es avascular y no contiene fibras nerviosas ni vasos linfáticos. Los condrocitos son células metabólicamente activas, y su principal función parece ser la síntesis de la matriz. Poseen varias vías metabólicas anaeróbicas, y los nutrientes alcanzan las células por difusión a través de la matriz. Las fibras de colágeno forman haces que en la profundidad del cartilago se hallan dispuestos en ángulo recto con la superficie entre las hileras de células. Sin embargo, cuando las fibras se acercan a la superficie se separan en haces menores que terminan esparciéndose como ramilletes, para quedar dispuestos paralelamente a ella. Esto crea una densa y enmarañada red de fibras; red que probablemente sirva para resistir la erosión constantemente variable a la que está sometida la superficie articular.

El estudio de la estructura molecular del cartilago promete facilitar la comprensión del desarrollo corporal, así como el proceso de envejecimiento y la naturaleza de ciertas enfermedades, como la *osteoartritis*. Las funciones del cartilago, tales como su provisión de un marco para su sustitución por hueso y el almohadillado de articulaciones van explicándose en términos moleculares. Las propiedades químicas y estructurales del colágeno y los proteoglicanos le confieren resistencia a la tracción (la capacidad de repartir el peso y resistir la rotura) y elasticidad (la capacidad de recuperar la forma y textura original después de una deformación). La resistencia a la tracción del cartilago se debe al colágeno y la elasticidad a los proteoglicanos.

Tabla 14.9
DISTRIBUCION DE LAS GLICOPROTEINAS



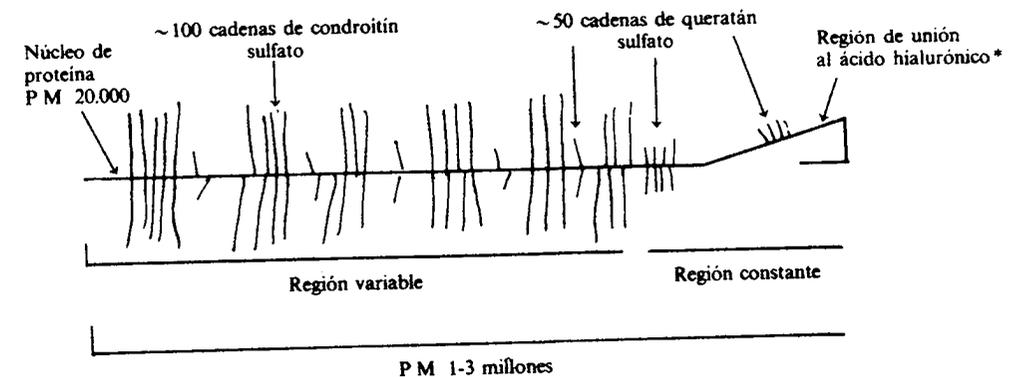
Estructura del proteoglicano del cartilago

Los glicosaminoglucanos no existen en estado libre en los tejidos, sino que están unidos a proteínas formando así los proteoglicanos. La molécula central, organizadora del proteoglicano en el cartilago, es el ácido hialurónico, disacárido

repetitivo. A partir de esta cadena central se proyectan las largas proteínas del proteoglicano, con pesos moleculares de entre 250.000 y 350.000. Estas proteínas enlazadas al ácido hialurónico sirven, a su vez, de punto de anclaje de numerosas cadenas de polisacáridos (glicosaminoglucanos), razón por la cual se las denomina «proteínas centrales» del proteoglicano (figs. 14.30 y 14.31). El peso total de un monómero de proteoglicano que está formado por una proteína central y las cadenas de polisacáridos unidas a ella de forma covalente es de 1,5 a 2,5 millones, mientras que el peso total de un proteoglicano agregado al ácido hialurónico puede alcanzar muchas decenas de millones.

La cadena de aminoácidos que forma la proteína central se pliega sobre si misma en uno de sus extremos formando una región globular que se une al ácido hialurónico. La unión no es covalente, es decir, no se establecen enlaces químicos entre ambos, sino que el extremo globular de la proteína establece un completo acoplamiento con un tramo de cinco disacáridos del ácido hialurónico. Además, otra proteína, la denominada de unión, que pesa de 40.000 a 60.000 daltons, interactúa con el ácido hialurónico y la proteína para estabilizar el engarce. En cada una de las proteínas centrales se distinguen tres regiones, atendiendo a las características de sus respectivas cadenas de polisacáridos:

1. *Extremo globular.* La primera región comprende el extremo globular donde la proteína central se une a la cadena central del ácido hialurónico. Presenta muy pocas cadenas de polisacáridos.
2. *Región rica en cadenas de queratansulfato.* A continuación hay una región rica en cadenas del polisacárido queratansulfato y en un tipo de pequeñas cadenas de oligosacáridos unidos por puente de oxígeno. Cada cadena se une a un aminoácido concreto de la proteína central, serina o treonina.
3. *Región final.* La región final es rica en cadenas de condroitínsulfato, que se enlazan a la proteína central (en particular con el aminoácido serina) por medio de regiones de unión de xilosa, galactosa y ácido glucurónico. De una cadena central de ácido hialurónico pueden proyectarse hasta 100 proteínas centrales. A su vez, cada proteína central emite unas 50 cadenas de queratansulfato y aproximadamente 100 cadenas de condroitín sulfato.



* Contiene más ácido aspártico, arginina, metionina y cistina y menos serina, glicina y prolina que el resto de la molécula. Su estructura terciaria es mantenida por 5 a 7 puentes disulfuro intramoleculares. Está desprovista de cadenas de condroitín sulfato. Se asume que la interacción con el ácido hialurónico es muy específica y está restringida a los proteoglicanos del cartilago.

Figura 14.30. Molécula de proteoglicano.

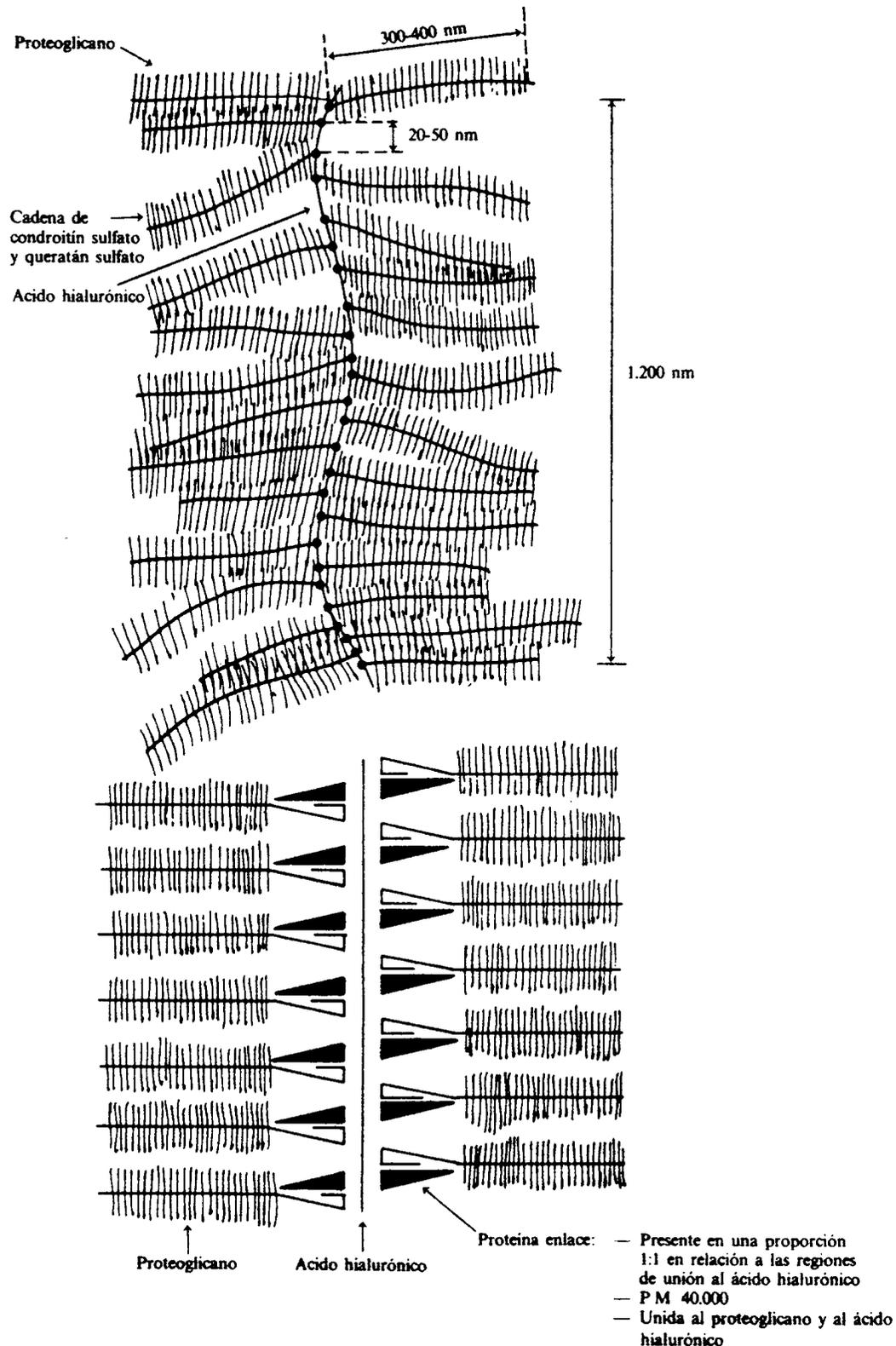


Figura 14.31. Proteoglicanos-ácido hialurónico-proteínas enlace.

Clasificación de los proteoglicanos

Si bien la mayoría de los proteoglicanos del cartilago pueden extraerse del mismo mediante determinados procedimientos, esto no es posible en una pequeña fracción de ellos. Según este criterio los proteoglicanos se pueden clasificar en extraíbles y resistentes a la extracción. Dentro de los proteoglicanos extraíbles se distinguen dos subtipos según que formen o no agregados. Cada clase de proteoglicano es heterogénea en sí misma. Aunque cada clase de proteoglicano tiene una composición distinta, el contenido de proteína y queratán sulfato de todos ellos, se incrementa con la edad. Asimismo, la proporción relativa de cada uno de ellos cambia con la edad y particularmente durante el desarrollo, así como en algunas situaciones patológicas, incluyendo la osteoartritis experimental.

I. Proteoglicanos extraíbles

1. *Proteoglicanos que no forman agregados.* Sólo una minoría de los proteoglicanos no pueden formar agregados y son incapaces de interaccionar con el ácido hialurónico. Tales proteoglicanos tienen un peso molecular relativamente bajo, $2-3 \times 10^5$, y contienen menos proteína y queratán sulfato que el resto de los proteoglicanos, siendo muy heterogéneos. Su composición de aminoácidos sugiere que la región de unión al ácido hialurónico es incompleta o está ausente. Hay evidencias experimentales que sugieren que estos proteoglicanos pueden ser producidos por células mesenquimatosas en general.

2. *Proteoglicanos que forman agregados.* Son extremadamente heterogéneos en tamaño y composición química. El contenido de condroitín sulfato aumenta con el tamaño molecular mientras que el contenido de proteína y queratán sulfato disminuye. Asimismo, el contenido de cisteína, metionina y ácido aspártico aumenta con el contenido de proteína y disminuye con el tamaño molecular. El contenido de serina y glicina cambian de manera opuesta, aumentando con el tamaño molecular y el contenido de condroitín sulfato. Las moléculas con alto contenido en condroitín sulfato contienen más serina y glicina, debido a que las cadenas de condroitín sulfato se unen a residuos de serina del núcleo de proteína y la secuencia Ser-Gly del núcleo de proteína es siempre necesaria para el reconocimiento por la *xilosiltransferasa*, enzima que inicia la síntesis de las cadenas de condroitín sulfato. Los estudios de microscopía electrónica han mostrado variaciones en la longitud de estas moléculas de 100 a 400 nm. No obstante, las regiones de unión de ácido hialurónico están presentes en las moléculas de todos los tamaños y su capacidad de interaccionar con el ácido hialurónico no está restringida a ningún tamaño particular del proteoglicano.

La longitud de las cadenas de condroitín sulfato no varía de forma apreciable entre estos proteoglicanos. Las cadenas se presentan en grupos de ocho, aproximadamente, a lo largo del núcleo de proteína, y son más largas que las de queratán sulfato. La mayor parte del queratán sulfato está localizado en la región constante del proteoglicano, y no es esencial para la unión al ácido hialurónico. Su contenido se incrementa con la edad.

II. Proteoglicanos resistentes a la extracción

Su composición puede deducirse, una vez que han sido aislados los proteoglicanos extraíbles, a partir de los glicosaminoglicanos aislados después de la proteólisis completa del cartilago. En el cartilago articular estos proteoglicanos contie-

nen una mayor proporción de queratán sulfato en relación al condroitín sulfato que los proteoglicanos extraíbles. Sin embargo, parece ser que el queratán sulfato no contribuye a su insolubilidad y mayor interacción con proteínas insolubles, particularmente colágeno, lo cual podría depender de algún rasgo estructural desconocido hasta el momento.

Interacción de los proteoglicanos y el colágeno en el cartílago

Hay evidencias experimentales que sugieren que en el cartílago, los proteoglicanos y el colágeno son biológica y mecánicamente interdependientes.

1. *Interacciones mecánicas.* Los proteoglicanos presentan íntimas interacciones con el colágeno, particularmente en el cartílago. Estas interacciones moleculares son de dos tipos: electrostáticas y estéricas. Las interacciones electrostáticas se incrementan con la densidad de carga y longitud de la cadena de los glicosaminoglucanos. Los grupos básicos del colágeno que interactúan con los grupos negativos de los proteoglicanos son principalmente los grupos ϵ -amino de la lisina e hidroxilina; cada molécula de colágeno parece tener al menos tres lugares de unión, siendo uno de ellos más débil que los otros dos. Peter y Wells sugieren que en la interacción colágeno-proteoglicano el núcleo proteico del proteoglicano es paralelo al eje de la fibra de colágeno y las cadenas de glicosaminoglucanos, fundamentalmente condroitín sulfato se presentan en disposición perpendicular o paralela al eje de las fibras de colágeno. Asimismo, hay evidencias experimentales que sugieren que sólo ciertas regiones de la fibra de colágeno toman parte en la interacción con el proteoglicano, de acuerdo con la presencia en la molécula de colágeno de tres lugares de unión para el condroitín sulfato. Una minoría de los proteoglicanos del cartílago están firmemente unidos al colágeno y representan los proteoglicanos resistentes a la extracción. Esta fracción de proteoglicanos podría pertenecer a un compartimento metabólico distinto de los anteriores y unirse a sitios de alta afinidad de la fibra de colágeno. También se postula que podrían actuar como agentes de unión entre fibras de colágeno en distancias demasiado grandes para los enlaces cruzados, y de este modo jugar un papel importante en la red de colágeno en el cartílago. La disminución de resistencia a la tensión del cartílago articular humano con el incremento de la edad puede ser debida a una reducción gradual del número de sitios de alta afinidad de la fibra de colágeno senescente.

2. *Interacciones biológicas.* Toole y Lowther sugieren que los proteoglicanos secretados en la vecindad del colágeno recién formado pueden controlar el diámetro y quizá la orientación de las fibras. Las fibras de colágeno próximas a la superficie del cartílago están más apretadas unas contra otras y tienen un diámetro menor que aquellas que están en la parte más profunda del mismo, incrementándose el grosor con la profundidad. La orientación de las fibras también cambia a través de la matriz. Al mismo tiempo, la composición de los proteoglicanos cambia gradualmente con la profundidad, incrementándose el contenido de queratán sulfato en la profundidad del cartílago desde la superficie articular. Debido a que es el condroitín, y no el queratán sulfato, el que interactúa con el colágeno, la fuerza de interacción de los proteoglicanos con el colágeno debería variar inversamente con el contenido de queratán sulfato, y esto podría afectar a la morfología de la fibra de colágeno.

Durante el desarrollo hay una considerable reorganización del colágeno a nivel fibrilar. Silberberg, Vogel y Wellstein, mediante microscopía electrónica, mostraron en el cartílago articular del ratón recién nacido, fibras delgadas de 10 nm de diámetro, las cuales desaparecían a los seis meses de edad, mientras que en

el cartílago adulto abundaban las fibras de 60-70 nm de diámetro. La formación de fibras de colágeno gruesas puede ser el resultado de cambios en la composición de los proteoglicanos durante el desarrollo. Así, el contenido de queratán sulfato de los proteoglicanos procedente de cartílago articular de feto porcino es muy bajo, pero se incrementa rápidamente durante los primeros meses después del nacimiento. Toole y Linsenmayer en 1975 demostraron que los proteoglicanos en diferentes estados del desarrollo varían en su interacción con el colágeno.

Otro aspecto de la interacción entre proteoglicanos y las fibras de colágeno tiene relación con la estabilidad de éstas. El colágeno procedente del cartílago, comparado con el colágeno de otros tejidos, es más resistente a la desnaturalización térmica y al ataque de soluciones desnaturalizantes como guanidina 5M, CaCl_2 2M o urea 6M. Ambas características parecen depender de sus interacciones con los proteoglicanos.

Base molecular de la elasticidad del cartílago

El proteoglicano es un conjunto molecular de gran tamaño y muy electronegativo. Los azúcares de las cadenas de disacáridos repetitivos del queratán sulfato y del condroitín sulfato son portadores de cargas negativas. Por ejemplo, en cada pareja de disacáridos del condroitín sulfato, uno de los azúcares, el ácido glucurónico, tiene un grupo COO^- ; y el otro azúcar, la N-acetilgalactosamina, está sulfatado, es decir, porta un grupo SO_4^{2-} .

Por otra parte, el agua es un pequeño dipolo eléctrico. El átomo de oxígeno más electronegativo atrae los electrones de los átomos de hidrógeno y origina una polarización localizada. El resultado es que cada uno de los dos átomos de hidrógeno posee una carga local parcial positiva, mientras que el átomo de oxígeno a su vez posee una carga local parcial negativa. En consecuencia, las fuerzas electrostáticas de atracción y repulsión gobiernan la interacción entre las moléculas de agua, y la interacción del agua con otras moléculas cargadas. En concreto, el agua se organiza en múltiples capas, o cubiertas, interactuantes alrededor de un foco de carga eléctrica; el número de capas depende de la fuerza de la carga. De este modo, el proteoglicano da estructura a grandes volúmenes de agua, de hecho muy superiores a su propio peso. Por otra parte, queda agua atrapada en los intersticios de la matriz extracelular de los condrocitos, algo comparable al agua que retienen los agujeros de una esponja. De estas dos maneras, el proteoglicano distribuye el agua, que es el constituyente principal del cartílago.

La elasticidad del cartílago es el resultado directo de dicha capacidad de estructuración del agua. Cuando el cartílago se somete a presión, el agua se ve forzada a apartarse de los «dominios de carga» de los grupos sulfato y carboxilo, con lo cual las cargas negativas de tales grupos se acercan mucho. Las fuerzas de repulsión de las cargas evitan una ulterior compresión, el agua vuelve a los dominios de carga. De hecho, la nutrición del cartílago de las articulaciones no se efectúa por vasos sanguíneos (que no existen), sino a través del flujo líquido que se establece con las compresiones y relajaciones fruto de los movimientos corporales. Por tanto, no es de extrañar que largos periodos de inactividad debiliten el cartílago articular, que se torna así delgado y frágil.

Base molecular del envejecimiento del cartílago

La estructura de los proteoglicanos producidos por condrocitos cultivados varía en distintas fases del desarrollo. Así, los condrocitos jóvenes sintetizan un

proteoglicano con cadenas de condroitín sulfato dos veces más largas que las producidas por las células más viejas. Estas cadenas de condroitín sulfato muestran además una proporción relativamente alta de condroitín-6-sulfato. Al envejecer los condrocitos cultivados en un periodo de dos a tres semanas, la proporción de condroitín-6-sulfato se reduce progresivamente aumentando en correspondencia la proporción de condroitín-4-sulfato, y tiene cadenas de queratán sulfato más cortas. Las células jóvenes sintetizan cadenas de queratán sulfato mucho más largas.

En resumen, tanto la longitud como la estructura química de las cadenas de polisacáridos del proteoglicano varían con la edad de las células a lo largo de las dos o tres semanas de cultivo. Es decir, las células sintetizan proteoglicanos con estructuras químicas característicamente diferentes.

Por otro lado, se ha verificado en cartílagos de humanos y reses jóvenes y viejas, las progresión de joven a viejo del proteoglicano de cartílago estudiado en cultivo de condrocitos procedentes de pollo.

Existe también una diferencia de carácter general: los proteoglicanos de los animales más viejos son más pequeños, en conjunto, y estructuran menos agua a su alrededor, principalmente debido al menor tamaño de las cadenas de condroitín sulfato. Esta diferencia puede ser responsable, por lo menos en parte, del desarrollo de ciertas formas de osteoartritis en ancianos. Si los proteoglicanos sintetizados en el cartílago por condrocitos envejecidos tienen menos capacidad de estructurar el agua, se resiste la elasticidad del cartílago y con ello el almohadillado de los huesos en las articulaciones. Si la presión sobre el cartílago excediera la capacidad de respuesta del tejido, éste se fragmentaría en los puntos de presión elevada. Tal fragmentación del tejido indicaría al sistema inmunitario la presencia de una lesión y aquél respondería iniciando un proceso inflamatorio en la zona. De lo que resultaría la hinchazón y los síntomas dolorosos de la osteoartritis.

El desarrollo y el envejecimiento del cartílago reflejan cambios en la síntesis de los proteoglicanos que, en última instancia, controla la maquinaria genética del organismo.

Quizá, las personas que envejecen sin sufrir problemas en las articulaciones tengan algo en su dotación genética que afecta beneficiosamente a la estructura del cartílago, y que enlentece el reloj que gobierna su cambio.

TEXTOS DE CONSULTA

- Allen, A.: *Structure and function of gastrointestinal mucus*, en *Physiology of the gastrointestinal tract*, Johnson L. R. (ed.), Nueva York, Raven Press, 1981, págs. 617-639.
- Aspinall, G. O. (ed.): *The polysaccharides*, Nueva York Academic Press, 1982.
- Berth, G.; Dautzenberg, H.; Lexow, D., y Rother, G.: «The determination of the molecular weight distribution of pectins by calibrated GPC. I. Calibration by light scattering and membrane osmometry», *Carbohydr Polym.*, 12:39-60, 1990.
- Bock, G., y Harnett, S.: *Carbohydrate recognition in cellular function*, Chichester, John Wiley and Sons Ltd. (eds.), 1989.
- Candy, D. J. (ed.): *Biological functions of carbohydrates*, Glasgow, Blackie, 1980.
- Casu, B.; Petitou, M.; Provasoli, M., y Sinay: «Conformational flexibility: a new concept for explaining binding and biological properties of iduronic acid-containing glycosaminoglycans», *Trends. Biochem. Sci.*, 13:221-225, 1988.
- Cummins, C. S.: *Bacterial cell wall structures*, en *CRC. Handbook of Microbiology 2nd. Microbial composition, carbohydrates, lipids and minerals*, vol. IV, A. I. Laskin y H. A. Lechevalier (eds.), Boca Raton Florida CRC Press, 1982, págs. 197-228.

- Fransson, L. A.: «Structure and function of cell-associated proteoglycans», *Trends. Biochem. Sci.*, 12:406-411, 1987.
- Ginsburg, V., y Robbins, G.: *Biology of carbohydrates*, vol. 2. Harper and Row (eds.), 1984.
- Hascall, V. C., y Kimura, J. H.: «Proteoglycans: isolation and characterization», *Methods Enzymol.* 82:769-803, 1982.
- Lechner, J., y Wieland, F.: «Structure and biosynthesis of prokaryotic glycoproteins», *Ann. Rev. Biochem.*, 58:173-194, 1989.
- McGregor, E. A., y Greenwood, C. T. (eds.): *Polysaccharides in Polymers in nature*, New York, John Wiley and Sons Ltd., 1980, págs. 240-328.
- McKusick, V. H., y Neufeld, E. F.: *The mucopolysaccharide storage diseases*, en *The metabolic basis of inherited disease*, 5.^a ed., J. B. Stambury, J. B. Wyngarden, D. S. Fredrickson, J. L. Goldstein y M. S. Brown (eds.), New York McGraw-Hill Book Company, 1983, págs. 751-777.
- Montreuil, J.: «Primary structure glucoproteinglycan: basis for the molecular biology of glycoprotein», *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 37:158-213, 1980.
- Osawa, T., y Tsuji, T.: «Fractionation and structural assessment of oligosaccharides and glycopeptides by use of immobilized lectins», *Ann. Rev. Biochem.*, 56:21-42, 1987.
- Robert, L., y Moczar, M.: *Structural glycoproteins. Methods Enzymol.*, 82:839-852, 1982.
- Scott, J. E.: «Molecules for strength and shape: our fibre-reinforced composite bodies», *Trends. Biochem. Sci.*, 12:318-321, 1987.
- Tipson, R. S., y Horton, D.: «Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry», vol. 44, Academic Press. Inc. Orlando, 1986.
- Welsh, E. J., y Morris, E. R.: *Carbohydrates. A Unilever Educational Booklet*, London Baldind and Mansell Limited, 1982.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Carbohidratos en la dieta. Digestión y absorción de carbohidratos

EMILIO HERRERA

Los carbohidratos constituyen el principal componente energético en la dieta del hombre, representando una media del 50 por 100 de todas las calorías que se ingieren en países occidentales, y llegando a alcanzar un 80 por 100 de todas las calorías de la dieta en algunos países poco desarrollados. La mayor parte de los carbohidratos está constituida por el almidón y las dextrinas, procedentes de los cereales, y la sacarosa. En menor proporción, se encuentran en la dieta glucógeno, glucosa, maltosa, fructosa y otros azúcares. Además, hay una elevada proporción de celulosa, que es el principal constituyente de la fibra no digerible.

Para su absorción intestinal, los carbohidratos han de ser digeridos a monosacáridos; cabe destacar que, de todos los presentes en la dieta, únicamente se forman tres: glucosa, fructosa y galactosa. Los demás monosacáridos absorbidos en el intestino existen como tales en la dieta, por lo que no necesitan ser digeridos.

DIGESTION DE LOS CARBOHIDRATOS

La transformación de los polisacáridos, los oligosacáridos y los disacáridos de la dieta en los monosacáridos correspondientes, se realiza de forma secuencial en el tracto gastrointestinal, mediante procesos de hidrólisis de sus enlaces glucosídicos. La acción es catalizada por una serie de enzimas hidrolíticas, que reciben en conjunto el nombre de *glucosidasas*. El proceso se resume de forma esquemática en la figura 15.1, y es llevado a cabo por dos grupos de enzimas: *α-amilasa* y *oligosacaridasas* (entre los que se incluyen las *disacaridasas*).

α-amilasas

Las *α-amilasas*, denominadas también *glucogenasas*, se encuentran en la saliva y en la secreción derivada del páncreas exocrino. Su función catalítica se circunscribe a hidrolizar enlaces glucosídicos $\alpha(1 \rightarrow 4)$, siempre que no se encuentren próximos a la terminación de una cadena (no más cerca de dos residuos terminales) o a una ramificación ($1 \rightarrow 6$). De esta forma, la *amilasa* rompe los enlaces

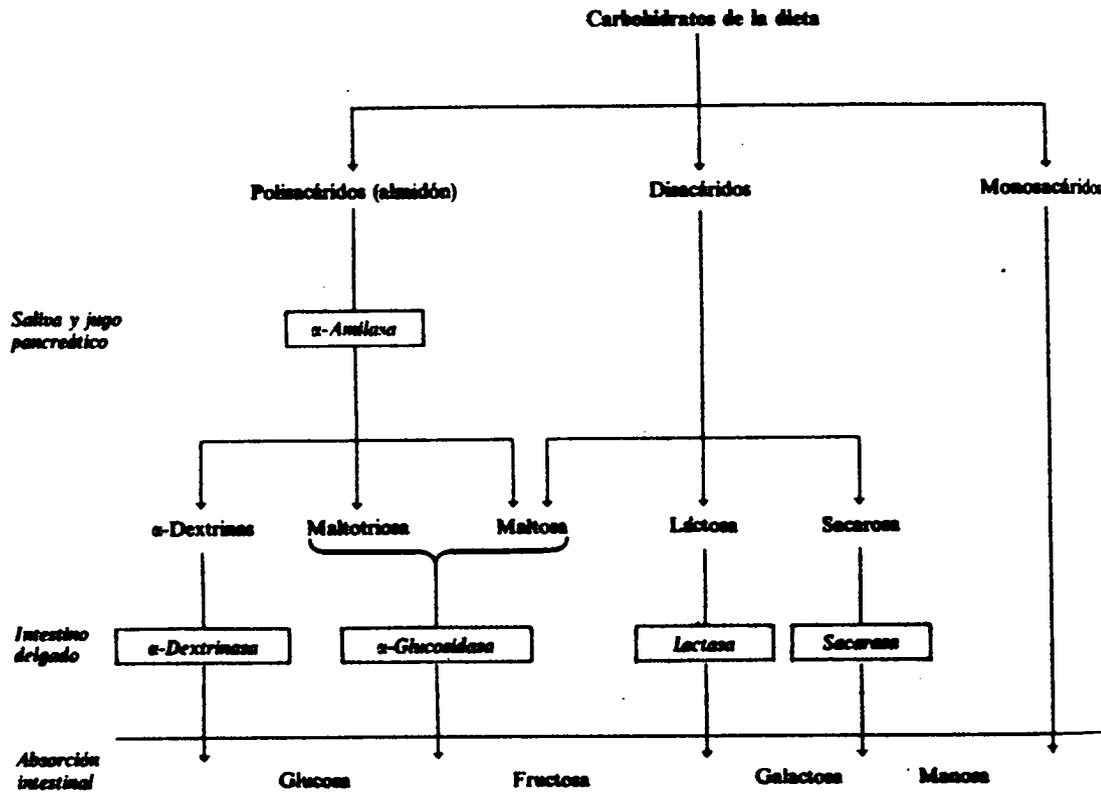


Figura 15.1. Representación esquemática de la digestión de los carbohidratos de la dieta.

alternativos 1 \rightarrow 4 de un polisacárido, a excepción de aquellos que se encuentran al final de las cadenas o próximos a las ramificaciones. Como resultado (fig. 15.2), el polisacárido se transforma en una mezcla de oligosacáridos lineales y ramificados de 2 (maltosa), 3 (maltotriosa) o incluso hasta seis residuos de glucosa. Estos últimos contienen de cinco a nueve residuos de glucosa y se denominan α -dextrinas.

Oligosacaridasas

En el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal (preferentemente en el yeyuno y el íleon) se encuentran diversas hidrolasas que actúan sobre los oligosacáridos. Son glicoproteínas de elevado peso molecular, con un pH óptimo de 6,0 aproximadamente, y que reciben el nombre global de *oligosacaridasas*.

La α -glucosidasa [*exo-1 \rightarrow 4- α -D-glucosidasa*] cataliza la hidrólisis secuencial de los oligosacáridos, iniciando su acción por el terminal no reductor (la glucosa con el hidróxilo del carbono C₄ sin ocupar), y liberando moléculas de glucosa. Esta enzima recibe también la denominación de *glucoamilasa*, y ejerce su acción catalítica únicamente sobre los oligosacáridos lineales. La α -dextrinasa (también llamada *isomaltasa*, *oligo 1-6-glucosidasa*) hidroliza los enlaces glucosídicos (1 \rightarrow 6), actuando también sobre los 1 \rightarrow 4. Como resultado de su acción, los oligosacáridos ramificados son degradados completamente a glucosa. Así pues, estas dos

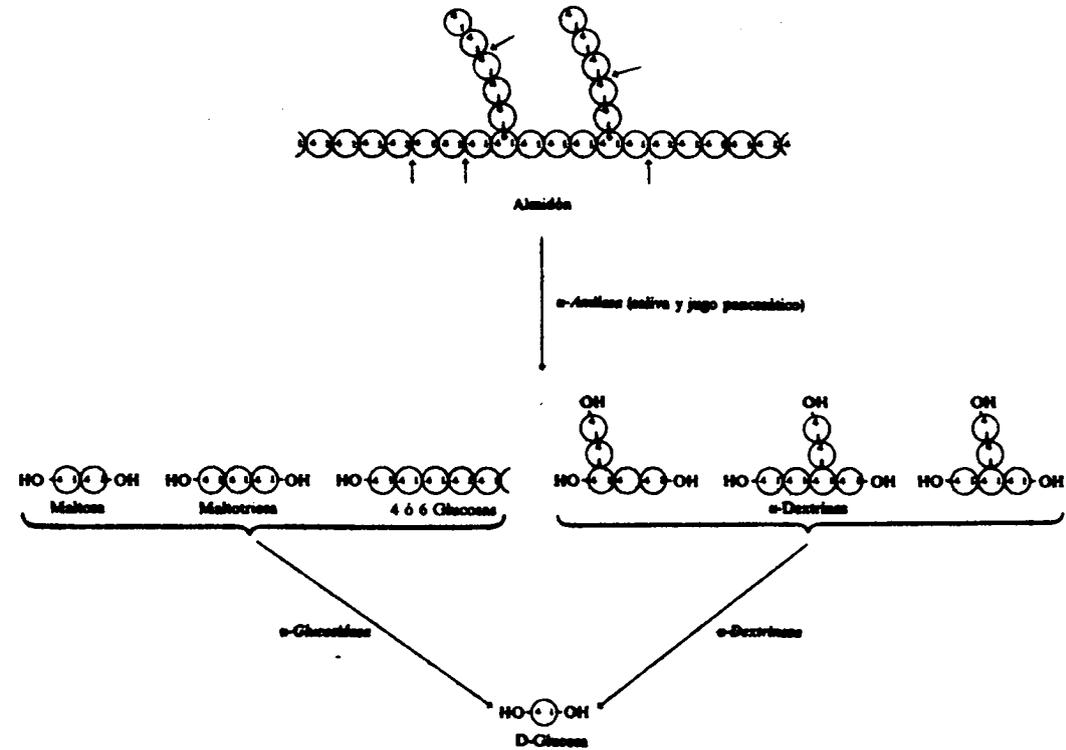


Figura 15.2. Acción catalítica de la α -amilasa, α -dextrinasa y α -glucosidasa sobre un polisacárido (almidón) de la dieta.

enzimas, la α -glucosidasa y la α -dextrinasa, llegan a completar la hidrólisis de la molécula del almidón hasta la formación de glucosa (fig. 15.2).

Existen otras hidrolasas, también ubicadas en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, que actúan sobre otros oligosacáridos: la *lactasa* o β -galactosidasa, que hidroliza específicamente la lactosa, dando lugar a galactosa y glucosa. La *sacarasa* o β -fructofuranosidasa (también denominada α -D-glucosidasa), que hidroliza la unión $\alpha(1 \rightarrow 2)$ de la sacarosa, liberando glucosa y fructosa; pero también actúa sobre uniones $\alpha(1 \rightarrow 6)$ de los fragmentos derivados de la acción de la α -glucosidasa (α -amilasa) sobre la amilopeptina. La *trehalasa* hidroliza la unión 1 \rightarrow 1 de la trehalosa, liberando moléculas de glucosa. La trehalosa es un disacárido de reserva y el azúcar de transporte en los insectos, y se encuentra también en los hongos; es posible que la presencia de trehalasa en nuestro intestino represente un vestigio evolutivo derivado de la importancia de los insectos en la dieta de algunos primates.

La α -dextrinasa y la *sacarasa* se sintetizan juntos en forma de una larga cadena polipeptídica con un terminal altamente hidrofóbico, que se enclava en la membrana en cepillo de las células de la mucosa. Las proteasas pancreáticas rompen en dos dicha cadena polipeptídica, separando así las dos enzimas.

La actividad de las *oligosacaridasas* intestinales es muy alta, y supera la capacidad de transporte de los monosacáridos formados. Ello hace que parte de éstos no puedan ser absorbidos en el mismo lugar donde se forman, por lo que avanzan con el contenido intestinal hasta el yeyuno o el íleon.

Carbohidratos no digeribles

Existen muchos carbohidratos en nuestra dieta para los que carecemos de enzimas capaces de hidrolizarlos. Entre ellos se encuentran la celulosa, la inulina, el agar y los heteropolisacáridos de origen vegetal. Estos carbohidratos tienen interés dietético, ya que su presencia en elevadas proporciones facilita el tránsito de las heces a través del intestino grueso. Algunos producen, sin embargo, trastornos intestinales, puesto que son consumidos por las bacterias intestinales dando lugar a la formación de grandes cantidades de gases, ácido láctico y productos que irritan el intestino.

La lactosa de la leche constituye también un carbohidrato no digerible para muchos adultos. Ello se debe a la pérdida de lactasa intestinal en el adulto, la cual llega a ser casi absoluta en algunas razas, como en orientales y negros americanos.

ABSORCION DE MONOSACARIDOS

Los carbohidratos de la dieta se absorben exclusivamente en forma de monosacáridos. Esta absorción conlleva su transporte a través de la membrana luminal de las células epiteliales con bordes en cepillo del intestino delgado, y su posterior transporte a través de las membranas contraluminal o basolateral de esas células y, finalmente, al interior de los capilares. El transporte de monosacáridos a través de dichas membranas se realiza mediante mecanismos de difusión pasiva, de difusión facilitada, de transporte activo, por un proceso que implica la metabolización del monosacárido en la propia célula que lo absorbe, o por una combinación de ellos. No está bien establecida la proporción de los monosacáridos que se absorben por cada uno de estos mecanismos, pero existen diferencias importantes entre ellos. Así, dando a la D-glucosa el valor 100, la capacidad aproximada de absorción intestinal para los principales monosacáridos es:

D-galactosa	110
D-glucosa	100
D-fructosa	43
D-manosa	19
D-xilosa	15
D-arabinosa	9

De ellos, evidentemente la glucosa es el que más se ha estudiado por ser el más abundante y el que tiene las mayores implicaciones metabólicas en el organismo completo. Por ello, se van a analizar los distintos mecanismos de su absorción intestinal, aunque no conozcamos con precisión la importancia relativa de cada uno de ellos.

Absorción pasiva de la glucosa

A mitad de la digestión de una comida, la hidrólisis de los oligosacáridos en el intestino delgado da lugar a una elevada concentración de glucosa en el lado luminal de la membrana de las células en cepillo. Dicha concentración es superior a la del interior de la célula, y ello favorece el paso de la glucosa por un proceso pasivo, no dependiente de energía. El proceso requiere, sin embargo, de un transportador específico de glucosa (por ello corresponde a un sistema de difusión

facilitada, cap. 39) y se mantiene únicamente tanto en cuanto existe un gradiente positivo hacia el interior de la célula. En consecuencia, al final de la digestión este sistema deja de ser operativo, ya que la concentración de glucosa en el lumen intestinal es baja y se requiere un proceso dependiente de energía para su transporte. La fructosa y la manosa también se absorben por un sistema de difusión facilitada, que utiliza una molécula transportadora, mientras que las pentosas lo hacen por difusión simple.

Absorción activa de la glucosa

El transporte activo de la glucosa por la membrana en cepillo es igual que el de la galactosa, y requiere de energía metabólica, iones sodio y una proteína transportadora. De hecho, el transporte de glucosa requiere cotransporte de iones sodio a través de la misma proteína transportadora. El mecanismo puede esquematizarse como se resume en la figura 15.3. Por el lado luminal de la membrana se lleva a cabo junto con el transporte de glucosa e iones sodio. Estos últimos lo hacen en favor de gradiente de concentración, liberando una energía que es aprovechada por las moléculas de glucosa para su transporte en contra de gradiente. Así, en la superficie luminal de la membrana en cepillo, la glucosa (o la

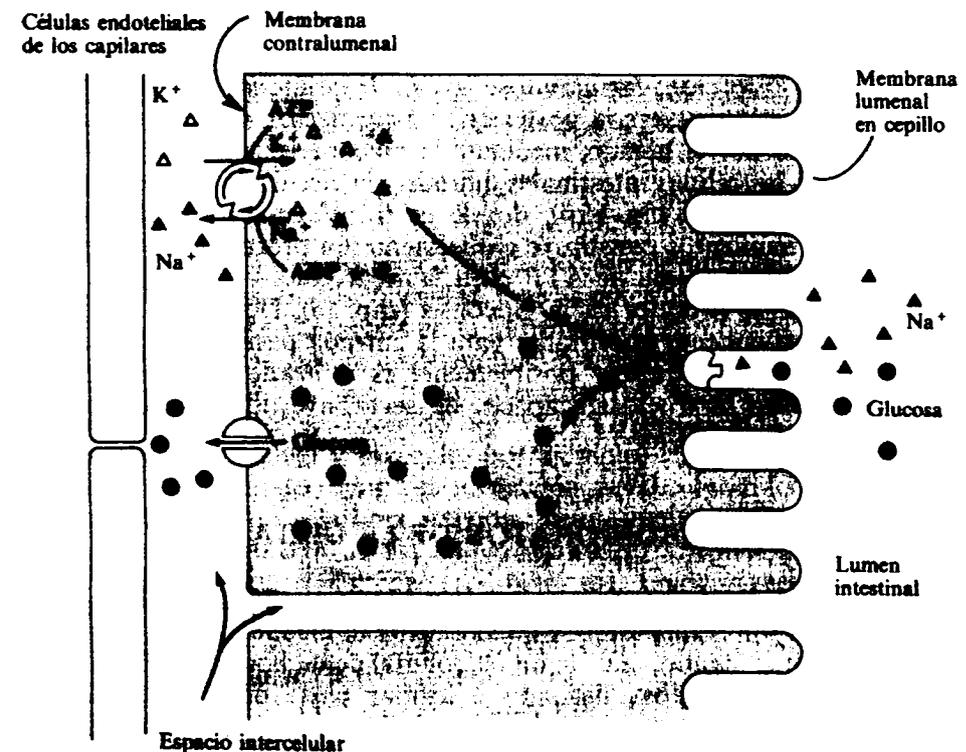


Figura 15.3. Esquema de la absorción activa de la glucosa por las células de membrana en cepillo del intestino delgado. El transporte a través de la membrana luminal de la glucosa se realiza conjuntamente con los iones sodio, que lo hacen en favor de gradiente y arrastran a la primera, utilizando un transportador común. Los iones sodio son eliminados por la membrana contraluminal mediante transporte activo, contragradiente de concentración y a expensas de energía metabólica (hidrólisis de ATP, en un sistema (bomba de sodio) que simultáneamente internaliza iones potasio. Las moléculas de glucosa son eliminadas en favor de gradiente, mediante difusión facilitada.

galactosa) se une al transportador cuando hay iones sodio unidos a él. Puesto que la concentración de dichos iones es inferior en el interior de la célula que en el intestinal, la glucosa es arrastrada hacia el interior junto con los iones sodio.

La baja concentración de iones sodio en el interior de la célula es mantenida a expensas de un segundo sistema de transporte, específico para la eliminación de dichos iones en el lado contraluminal, y que se realiza en contra de gradiente, directamente acoplado a la hidrólisis de ATP y a la entrada de iones potasio. Esta bomba de sodio (cap. 39) hace disminuir la concentración intracelular de iones sodio y, con ello, garantiza que la concentración de glucosa se mantenga más alta que en el espacio intercelular, en el lado vascular de la célula. De este modo, la glucosa es transportada hacia dicho espacio intercelular, y posteriormente a los capilares sanguíneos, de forma pasiva.

Se ha propuesto que la fructosa también es absorbida por un sistema de transporte activo similar al de la glucosa o la galactosa, aunque el proceso ha sido menos estudiado y, por consiguiente, es menos conocido.

Metabolismo de la glucosa en las células intestinales

Una considerable proporción (hasta un 50 por 100) de la glucosa que entra en la célula de la mucosa intestinal es transformada en lactato a través de la glucólisis (cap. 16), antes de pasar a la sangre. El resto de la glucosa absorbida llega como tal a la circulación. La transformación de glucosa en lactato constituye un sistema adecuado para mantener el gradiente positivo de la glucosa hacia las células encargadas de su absorción, facilitándose así su transferencia pasiva. Para ser completado, el proceso requiere la posterior transformación del lactato en glucosa. Ello es realizado por el hígado, mediante la gluconeogénesis (cap. 17). Así, el lactato formado en las células intestinales difunde a la circulación y llega al hígado a través de la vena porta (fig. 15.4), donde es transformado en glucosa. Este conjunto de acontecimientos constituye globalmente un proceso activo, ya que se requiere más energía en forma de ATP para fabricar glucosa a partir de lactato (cap. 17) que la que se produce en la glucólisis (cap. 16). De cualquier forma, el sistema es cuantitativamente importante para la entrada pasiva de glucosa en las células de la mucosa intestinal, y posiblemente es utilizado también por otros monosacáridos, como la fructosa, capaces de ser convertidos a lactato en las células epiteliales del intestino.

DESTINO DE LOS CARBOHIDRATOS DE LA DIETA

Al entrar en sangre, los monosacáridos derivados de la digestión de los carbohidratos de la dieta son transportados directamente al hígado a través del sistema portal (fig. 15.4). En el hígado, más de un 60 por 100 de dichos monosacáridos son metabolizados (transformados), llegando a formar parte de vías comunes del metabolismo. La entrada a tales vías se realiza siempre con la fosforilación directa del monosacárido, utilizando el fósforo derivado de la hidrólisis de ATP, en reacción catalizada por quinasa más o menos específicas (fig. 15.5).

Metabolismo de la fructosa

El metabolismo de la fructosa es interesante ya que en la dieta del hombre existe una elevada proporción de sacarosa, molécula cuya mitad está constitui-

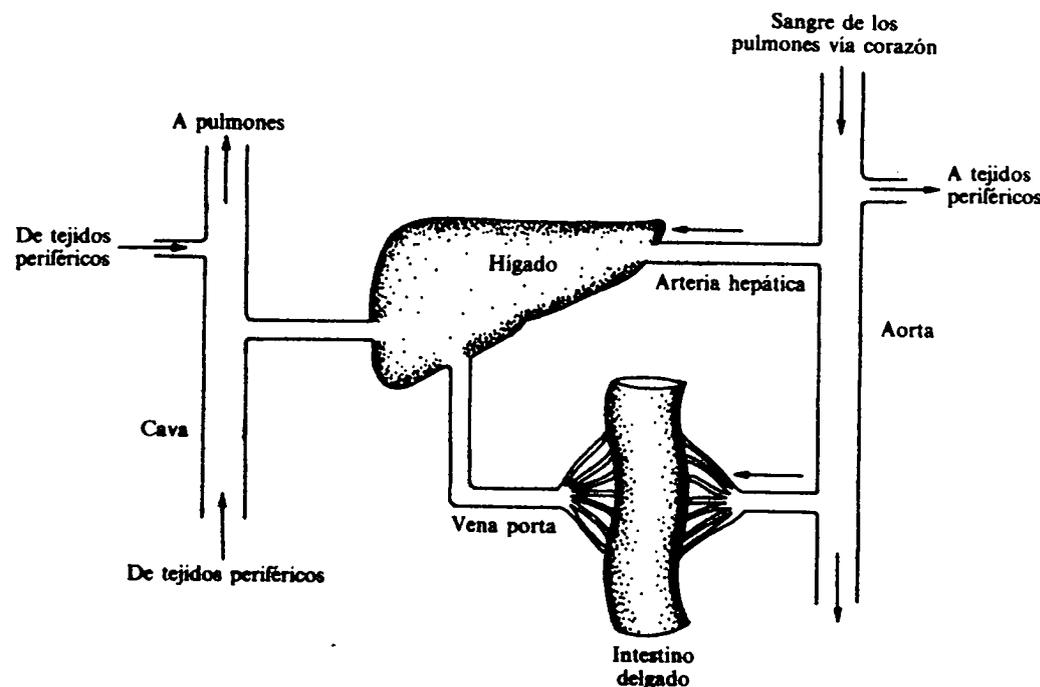


Figura 15.4. Esquema de la circulación hepática, con la que los productos absorbidos por las células de la mucosa intestinal (y los productos de su metabolismo, como el lactato formado en la glucólisis) llegan directamente al hígado, a través de la vena porta.

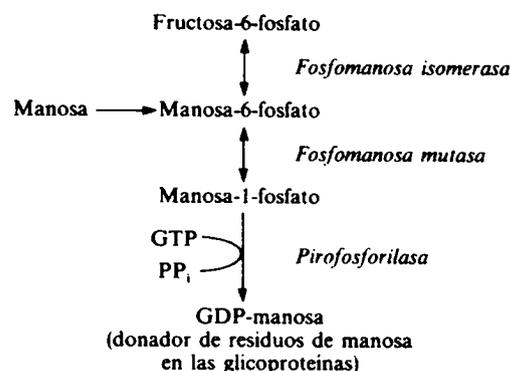
da por fructosa. Se ha considerado que el exceso de sacarosa es responsable del desarrollo de aterosclerosis, obesidad y otras enfermedades; a su vez, la sacarosa se utiliza como fuente energética en la alimentación parenteral. Todo ello pone de relieve la importancia del metabolismo de la fructosa.

En el hígado, la fructosa es preferentemente fosforilada, por una *fructoquinasa* (FK) específica, a fructosa-1-fosfato (fig. 15.5). La *hexoquinasa* (HK) hepática y la de otros tejidos (cerebro y músculo, por ejemplo) cataliza la fosforilación de la fructosa en el C₆, dando lugar a la formación de fructosa-6-fosfato. Esta reacción es minoritaria, debido a la baja actividad hexoquinasa presente en hígado y a la escasa disponibilidad de fructosa en los tejidos extrahepáticos.

La fructosa-1-fosfato se rompe en dos triosas, dihidroxiacetona-fosfato y gliceraldehído, por la *fructosa-1-fosfato aldolasa* (fig. 15.5). El gliceraldehído es fosforilado por acción de una *gliceraldehído quinasa* (o *triosa quinasa*), dando lugar a gliceraldehído-3-fosfato. De esta forma, el metabolismo hepático de la fructosa da lugar a la síntesis de dos triosas fosforiladas, la dihidroxiacetona-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato, los cuales ya participan en las vías centrales del metabolismo de la glucosa (gluconeogénesis y glucólisis), mediante su transformación reversible en fructosa-1,6-bisfosfato, catalizada por la *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa* (caps. 14 y 16).

Cuando la fructosa es fosforilada a fructosa-6-fosfato por acción de la hexoquinasa, no requiere ninguna otra transformación previa, ya que la propia fructosa-6-fosfato es un metabolito intermedio de dichas vías centrales del metabolismo de la glucosa, gluconeogénesis y glucólisis.

fosfato, pasa a monosa-1-fosfato y ésta a GDP-manosa, que constituye el donador de residuos de manosa en la síntesis de dichas glicoproteínas:



Metabolismo de la galactosa

La galactosa, junto con la glucosa, constituye el disacárido lactosa, presente en la leche. La lactosa es hidrolizada por la *lactasa* intestinal; ambos monosacáridos son transportados al hígado por la vena porta.

En el hígado, la galactosa es fosforilada a galactosa-1-fosfato por acción de la *galacto-quinasa* (GalK) (fig. 15.5). La galactosa-1-fosfato ha de transformarse a glucosa para ser metabolizada, y ello se realiza de una forma poco habitual: por acción de la *UDP-glucosa-hexosa-1-fosfato uridiltransferasa*, la galactosa-1-fosfato reacciona con UDP-glucosa, dando lugar a UDP-galactosa y glucosa-1-fosfato. La UDP-galactosa es transformada en UDP-glucosa por la *UDP-glucosa 4-epimerasa*.

La UDP-glucosa formada, así como la glucosa-1-fosfato, participan ya en el metabolismo central de la glucosa, incorporándose al mismo, bien a través de la síntesis del glucógeno, o bien mediante la transformación de glucosa-1-fosfato en glucosa-6-fosfato, por acción de la *glucosa-1-fosfato mutasa* (fig. 15.5). La glucosa-6-fosfato, a su vez, puede ser transformada en glucosa libre por la *glucosa-6-fosfatasa* o ser metabolizada a través de la glucólisis.

PAPEL DE LA GLUCOSA EN EL METABOLISMO

El esquema de intercambio de los monosacáridos de la dieta (fig. 15.5) se completa con la fosforilación de la glucosa por acción de la *hexoquinasa* (HK) o la *glucoquinasa* (GK) y con la desfosforilación de la glucosa-6-fosfato por la *glucosa-6-fosfatasa*. Estas reacciones pertenecen a la glucólisis y la gluconeogénesis, y se desarrollarán con mayor detalle en los capítulos correspondientes (caps. 16 y 17). Aquí cabe poner de manifiesto, sin embargo, el papel central que tiene la glucosa en el metabolismo del individuo. Ello se evidencia por el exquisito control de la homeostasis glucídica, que permite el mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre dentro de límites muy estrechos. Esto se consigue en el individuo sano tanto en la fase postprandial como en periodos de ayuno.

En la fase postprandial, la entrada de glucosa en el «espacio de glucosa» (sangre, líquido intersticial, etc.) procedente de la absorción intestinal es compensada por su elevado consumo por los distintos órganos y tejidos (fig. 15.6.a). En

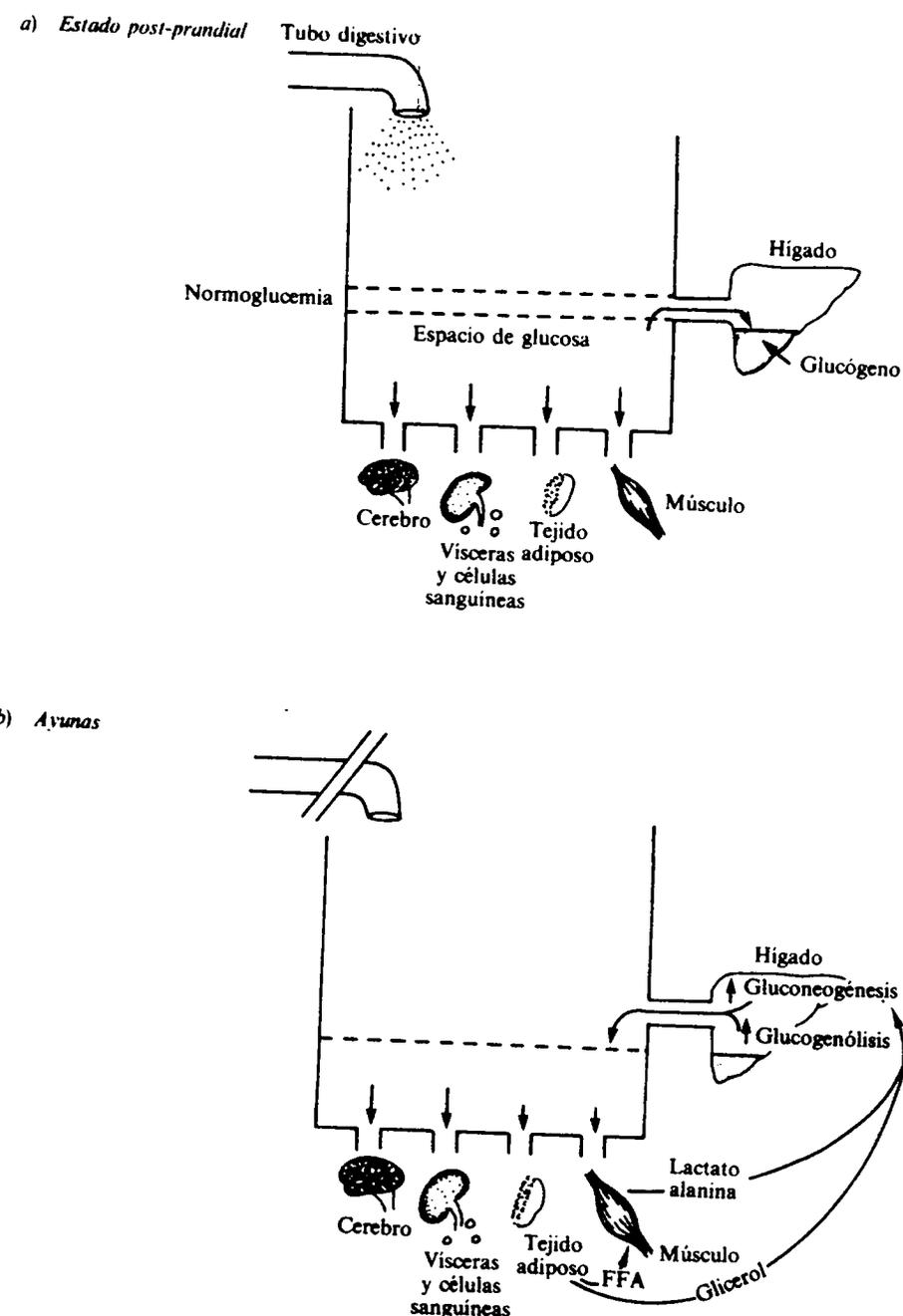


Figura 15.6. Mantenimiento de la homeostasis glucídica. En el estado postprandial, a), la entrada de glucosa a la circulación por su absorción intestinal, de los carbohidratos de la dieta, es contrarrestada por su consumo como sustrato energético preferente en todos los órganos y tejidos. El exceso de glucosa circulante es acumulado en el hígado en forma de glucógeno, y con ello se mantiene la normogluceemia. En ayunas, b), la falta de llegada de glucosa por el tubo digestivo no produce una intensa disminución de la glucemia gracias a que disminuye el consumo de glucosa por varios tejidos, a expensas de utilizar los ácidos grasos libres (FFA) liberados a la circulación del tejido adiposo, a través de la lipólisis, cuya actividad se incrementa. De esta forma, los FFA constituyen unos sustratos alternativos para esos tejidos, con lo que sus requerimientos de glucosa son más bajos. A su vez, en hígado se activan la glucogenólisis y la gluconeogénesis (esta última, a expensas de los sustratos que le llegan de otros tejidos: lactato y alanina del músculo, glicerol del tejido adiposo, etc.), con lo que el hígado aporta glucosa a la circulación, en vez de captarla.

estas condiciones, la entrada excede a la salida, debido a lo cual tiene lugar un incremento de los niveles circulantes de glucosa, que es limitado por la captación de ésta por el hígado, que la acumula en forma de glucógeno. De esta forma, el hígado constituye «el nivel» que modula la glucemia, evitando que los niveles de glucosa en sangre aumenten exageradamente, lo que causaría, entre otros efectos, su propia pérdida por el riñón.

En ayunas, la glucemia se mantiene dentro de unos límites relativamente fijos gracias a la participación de diversos factores (fig. 15.6.b). Por un lado, se activa la degradación del glucógeno acumulado en el hígado (glucogenólisis, cap. 19), aportando así glucosa a la circulación. Por otro lado, se produce también en el hígado una activación de la gluconeogénesis, con lo que se sintetiza glucosa a partir de residuos no hidrocarbonados (lactato y aminoácidos derivados del metabolismo muscular, glicerol procedente de la lipólisis del tejido adiposo). Finalmente, la movilización de reservas grasas facilita el incremento de ácidos grasos libres circulantes (FFA) y, con ello, el que gran parte de los tejidos disminuyan su consumo de glucosa a expensas de utilizar aquéllos como fuente preferencial de energía. Hay, sin embargo, algunos tejidos (tejido nervioso, algunas vísceras, células sanguíneas) que requieren seguir consumiendo necesariamente glucosa como fuente energética, por lo que, cuando los depósitos de glucógeno están disminuidos, dichos tejidos dependen de la gluconeogénesis hepática (y renal) para el aporte de glucosa.

El adecuado balance de estas vías metabólicas se consigue por el continuo intercambio de sustratos y productos entre los distintos órganos y tejidos, la actividad de las enzimas que en ellas participan y el control que sobre ellos ejercen las hormonas. El desglose de estos aspectos constituye el contenido de los capítulos posteriores (16-19).

ASPECTOS PATOLOGICOS DE LA ABSORCION Y METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS DE LA DIETA

La deficiencia en la capacidad de absorción de los carbohidratos de la dieta se produce evidentemente como consecuencia de la falta de enzimas digestivas encargadas de la hidrólisis de polisacáridos y oligosacáridos. A veces se manifiesta en niños una deficiencia de α -amilasa pancreática, lo cual les impide digerir almidón durante los primeros meses de vida. Esto no ocurre en adultos, ya que normalmente hay un exceso de dicha enzima. Hay enfermedades, como la celiaca, que dan lugar de forma secundaria a una deficiencia de oligosacaridasas, produciendo una incapacidad para digerir oligosacáridos (en particular, disacáridos). En estos casos se produce un acúmulo de disacáridos en el intestino que origina un aumento de presión osmótica, la cual es compensada parcialmente por una retención de agua (se inhibe la reabsorción de agua), dando lugar a diarrea y deshidratación. Ese acúmulo de disacáridos produce también un aumento de la actividad fermentativa de las bacterias intestinales, lo que lleva a su vez a la producción de grandes cantidades de gas y, con ello, a un mayor malestar.

Existen diversos defectos primarios (deficiencias congénitas) de las oligosacaridasas, que dan lugar a patologías bien definidas.

Deficiencia de lactasa

En la mayoría de los mamíferos, la actividad lactasa intestinal es abundante al nacimiento, se mantiene durante la lactancia y disminuye de forma notable al

destete. Esta secuencia sigue exactamente la pauta natural de ingestión de lactosa en el individuo. En algunos niños se presenta una diarrea muy intensa por deficiencia de lactasa, que no desaparece hasta que se elimina la lactosa de su dieta. Esta deficiencia puede ser congénita, con carácter hereditario autosómico recesivo, y el cuadro clínico que presenta es igual al de la deficiencia secundaria de lactasa, que se produce como consecuencia de infecciones gastrointestinales u otras enfermedades.

La falta de lactasa intestinal se detecta por varios procedimientos:

- Aparición de un azúcar reductor en la orina, distinto de la glucosa. Ello es debido a que se absorbe una pequeña proporción de lactosa por el intestino, que al no poder ser metabolizada se elimina por la orina.
- Eliminación de los síntomas al quitar la lactosa de la dieta.
- Ausencia de lactasa en biopsias de mucosa intestinal.
- Falta de incremento normal de glucosa y galactosa en plasma tras la ingestión oral de una sobrecarga de lactosa.

Los efectos más importantes que produce la falta de absorción de lactosa son consecuencia de que el acúmulo de lactosa en la luz del intestino produce una transferencia de líquido (por efecto osmótico), dando lugar a una distensión intestinal y estímulo del peristaltismo. Estos efectos no son graves en el adulto, pero sí en los niños pequeños, causando pérdida de fluido y de electrolitos.

Malabsorción de otros disacáridos

Existen otras alteraciones de malabsorción de disacáridos que producen síntomas similares a los de la falta de lactasa. En algunos esquimales de Groenlandia (aproximadamente, en el 10 por 100 de la población) se presenta una deficiencia de sacarasa y α -dextrinasa, que les impide digerir sacarosa y almidón. El defecto se presenta de forma simultánea para las dos enzimas, dada la síntesis conjunta de las mismas. Hay individuos que presentan malabsorción de glucosa y galactosa, como consecuencia de un defecto en el transporte de glucosa y galactosa a nivel de las células de la mucosa intestinal. Este defecto es grave, ya que prácticamente todas las dietas contienen glucosa o galactosa después de su hidrólisis. Dicho defecto se trata eliminando los carbohidratos de la dieta con excepción de la fructosa.

Intolerancia a la fructosa

Existen errores congénitos de deficiencia de enzimas que participan en el metabolismo de la fructosa, los cuales no impiden la absorción de este monosacárido, pero inhiben su metabolismo produciendo una intolerancia. Uno de estos errores es la deficiencia de fructoquinasa (Fructosa \rightarrow Fructosa-1-fosfato), que produce la fructosemia esencial. Este defecto es raro (su incidencia es de 1:1.300.000), pero es posible que sea más frecuente dado que no es fácilmente detectable y no tiene consecuencias graves, por lo que muchos casos pasarán desapercibidos.

Otro defecto del metabolismo de la fructosa es la deficiencia de fructosa-1-fosfato aldolasa, que produce la denominada intolerancia hereditaria a la fructosa, que da lugar al acúmulo de fructosa-1-fosfato en el hígado (Fructosa-1-fosfato \rightarrow dihidroxiacetona fosfato + gliceraldehído) (fig. 15.7). Este defecto es grave, ya

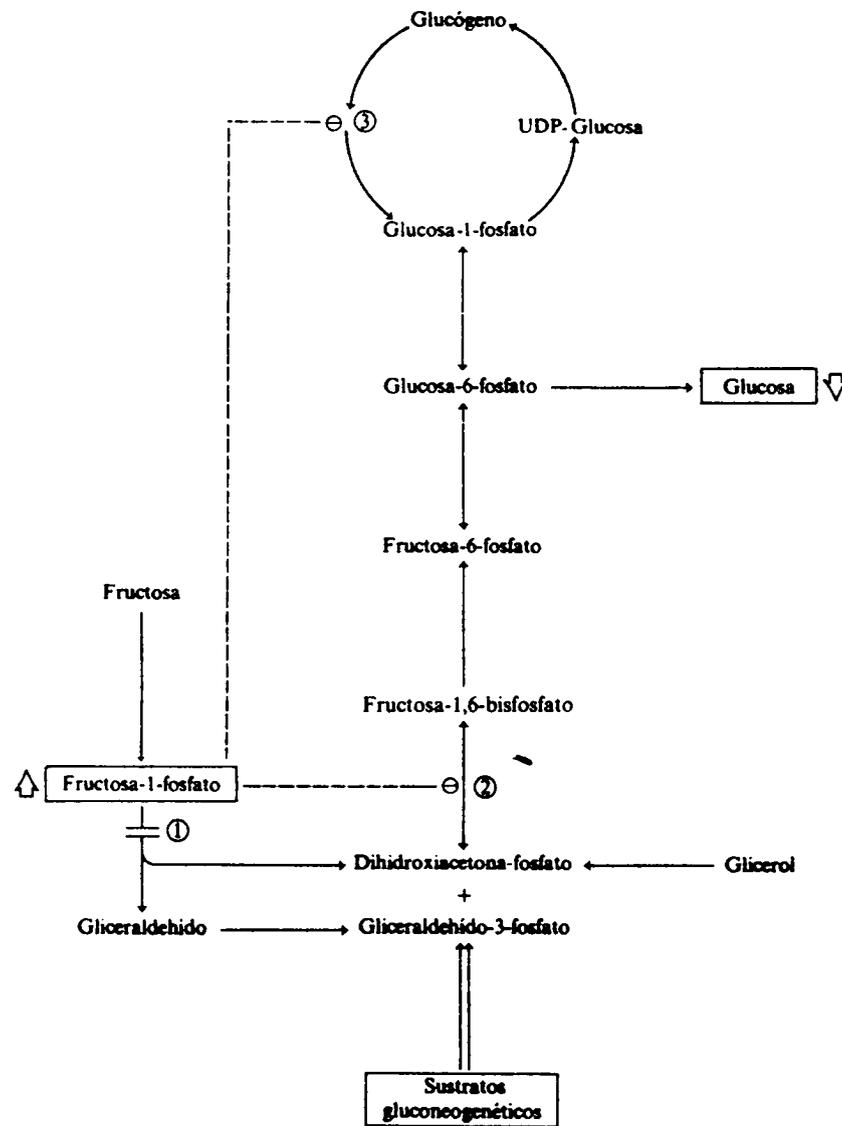


Figura 15.7. En la «intolerancia hereditaria a la fructosa», el defecto o ausencia en la *fructosa-1-fosfato aldolasa* (1) produce un acúmulo de fructosa-1-fosfato, que inhibe a la *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa* (2) y, con ello, impide la síntesis de glucosa a partir de sustratos gluconeogénicos (lactato, aminoácidos y glicerol). A este efecto se une el secuestro de iones fosfato, lo que produce una inhibición de la glucogenólisis (3), y todo ello da lugar a la hipoglucemia que presentan los individuos que padecen esta enfermedad cuando ingieren fructosa.

que lleva al desarrollo de hipoglucemia tras la ingestión de fructosa, produciendo vómitos, convulsiones e incluso coma. La enfermedad se manifiesta, por ejemplo, cuando un niño está lactando y su madre le cambia a leche de vaca, a la que le añade azúcar. Esto le causa, además de las manifestaciones antes indicadas, pérdida de peso, agrandamiento hepático e incluso ictericia. Sus niveles de monosacáridos reductores en sangre son normales, pero la glucosa se encuentra dismi-

nuida. Aparece fructosa en orina. Se observa una mejoría inmediata cuando se elimina el azúcar de la dieta. Los efectos que se producen en estos individuos tras la ingestión de fructosa son consecuencia de la hipoglucemia, la cual no es el resultado de un incremento en los niveles circulantes de insulina (la fructosa no estimula la secreción de insulina del páncreas), sino del acúmulo de fructosa-1-fosfato en el hígado. Este acúmulo produce una inhibición de la actividad de la *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa*, y con ello se impide la formación de glucosa a partir de los sustratos gluconeogénicos (lactato, aminoácidos y glicerol) (fig. 15.7). También, el acúmulo de fructosa-1-fosfato supone el secuestro de fosfato inorgánico/glucosa-1-fosfato, y ello da lugar a una inhibición de la degradación del glucógeno hepático (glucogenólisis). Así pues, la inhibición conjunta de la gluconeogénesis y la glucogenólisis tras la ingestión de fructosa hacen que la producción de glucosa por el hígado sea muy baja, desencadenándose la hipoglucemia.

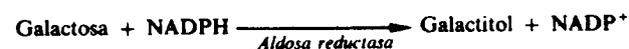
Fructosa en la alimentación intravenosa

Con frecuencia se utiliza la fructosa en sustitución de la glucosa para los pacientes sometidos a alimentación intravenosa. Ello se debe a que, aunque la glucosa es más fisiológica que la fructosa, su administración intravenosa puede presentar graves inconvenientes: puede dañar la vena donde se implanta el catéter; se metaboliza más lentamente que otros monosacáridos, y produce una exagerada elevación de los niveles circulantes de insulina, que puede producir efectos indeseables. Su administración se realiza normalmente estando el paciente en ayunas, situación en que la gluconeogénesis se encuentra aumentada. Por ello, a través de los pasos que se indican en la figura 15.5, una gran proporción de la fructosa que se administra en estas condiciones es rápidamente transformada a glucosa. A pesar de ello, los niveles plasmáticos de fructosa aumentan considerablemente en el individuo infundido con ella, y esto ocasiona un incremento en la actividad de la *fructoquinasa* hepática por un efecto de saturación por sustrato. Esta actividad es superior que la de la *fructosa-1-fosfato aldolasa* (fig. 15.5), por lo que la concentración hepática de fructosa-1-fosfato puede alcanzar valores muy altos. Este efecto tiene las mismas consecuencias que la intolerancia hereditaria a la fructosa, que se han comentado antes (fig. 15.7), incluido el secuestro de fosfato inorgánico en el hígado. Ello puede dar lugar a varios problemas metabólicos adicionales: una disminución del fosfato inorgánico intramitocondrial inhibe la actividad de la fosforilación oxidativa, disminuyendo así la concentración hepática de ATP. Este efecto puede dar lugar a una inhibición de la gluconeogénesis y una activación de la glucólisis, por la inhibición y activación respectivas de enzimas claves de estas vías. Como consecuencia, puede desencadenarse una hipoglucemia e incluso una acidosis láctica, ya que el ácido láctico es uno de los productos principales de la glucólisis (cap. 16).

Estos efectos negativos de la infusión intravenosa de fructosa dependen de la dosis y de la velocidad, de tal forma que cuando la administración es lenta no tiene por qué causarlos. De hecho, esto es lo que ocurre cuando se ingiere fructosa con la dieta, ya que su absorción intestinal es lenta y las propias células epiteliales del intestino pueden metabolizarla parcialmente a lactato o a alanina. De esta forma, la fructosa derivada de la dieta llega al hígado lentamente y a baja concentración, evitando así los efectos negativos anteriormente indicados.

Intolerancia a la galactosa

Se han descrito dos defectos hereditarios del metabolismo de la galactosa, que producen una intolerancia a este monosacárido: deficiencia o ausencia de *galactoquinasa* o de *UDP-glucosa-hexosa-1-fosfato uridiltransferasa*. Ambos defectos son independientes, con carácter autosómico recesivo y con una incidencia similar (1:40.000). Los individuos con deficiencia de *transferasa* la manifiestan con signos graves cuando comienzan a lactar (por la presencia de galactosa en la lactosa de la leche), mientras que los deficientes en *galactoquinasa* no manifiestan daño hasta adultos, con el desarrollo de cataratas. En ambos casos se acumula galactosa en la sangre (*galactosemia*). En los niños con defectos en la *transferasa* se detecta intolerancia a la leche, con vómitos y diarrea, que pueden incluso producir la muerte por deshidratación, a no ser que se elimine la leche de la dieta. Se produce también agrandamiento del hígado, ictericia y desarrollo de cataratas. En sangre y orina aparece un incremento de azúcares reductores, que corresponden a galactosa, mientras que la glucemia es normal o baja. En individuos normales, la *transferasa* se encuentra con considerable actividad en hígado, riñón, intestino delgado e incluso en células sanguíneas (glóbulos rojos y leucocitos). En los individuos con el defecto no se presenta la enzima en ninguno de estos lados, por lo que la galactosa-1-fosfato no puede ser transformada a UDP-galactosa, y se acumula. El incremento de la galactosa-1-fosfato en los tejidos inhibe la posterior fosforilación de más galactosa, y ello hace que se acumule en los tejidos, que aumente en sangre y que aparezca en orina. El cristalino de los ojos es especialmente sensible a los altos niveles de galactosa, ya que por acción de una *aldosa reductasa* se transforma en galactitol:



Esta *reductasa* tiene una alta K_m , por lo que únicamente actúa cuando la concentración de galactosa es elevada. El acúmulo de galactitol y la pérdida de NADPH son causantes de la opalescencia del cristalino y del desarrollo de las cataratas. En estos casos de galactosemia también se produce daño hepático, con agrandamiento del hígado y desarrollo de ictericia, así como disminución de la glucemia. Esto último se produce por un defecto en la degradación del glucógeno (glucogenólisis) más que por incapacidad de transformar galactosa en glucosa, posiblemente como consecuencia de secuestro del fosfato inorgánico en forma de galactosa-1-fosfato, al igual que ocurría en la intolerancia hereditaria de fructosa. Esta interpretación concuerda con el hecho de que los síntomas de glucogenólisis inhibida se producen principalmente en los defectos de la *transferasa* y no de la *galactoquinasa*, donde no hay acúmulo de galactosa-1-fosfato, sino únicamente de galactosa.

TEXTOS DE CONSULTA

- Baldwin, S. A., y Lienhard, G. E.: «Glucose transport accross plasma membranes: facilitated diffusion systems», *TIBS*, agosto, 208-211, 1981.
- Ellis, R.: *Inborn Errors of metabolism*. Croom Helm, Londres, 1980.
- Feuer, G., y de la Iglesia, F.: *Molecular biochemistry of human disease*, CRC Press, Inc., Florida, 1986.
- Gray, C. H., y Howorth, P. J. N.: *Clinical chemical pathology*, 9.ª ed., Edward Arnold Ltd., Londres, 1979.

- Henning, S. J.: «Ontogeny of enzymes in the small intestine», *Ann. Rev. Physiol.*, 47:231-245, 1985.
- Hers, H. G., y Hue, L.: «Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:617-653, 1983.
- Lennon, D. L. F.; Stratman, F. W.; Zahlten, R. N. (eds.): *Biochemistry of metabolic proceses*, Elsevier Biomedical, Nueva York, 1983.
- Schwarz, V.: *A clinical companion to biochemical students*, W. H. Freeman & Co., Reading and San Francisco, 1978.
- Shafir, E.: «Effect of sucrose and fructose on carbohydrate and lipid metabolism and the resulting consequences», en *Regulation of carbohydrate metabolism*, vol. II, Rivka Beitner, ed., CRC Press, Inc., Florida, págs. 95-140, 1985.
- Stanbury, J. B.; Wyngaarden, J. B.; Fredrickson, D. S.; Goldstein, J. L., y Brown, M. S. (eds.): *The metabolic basis of inherited disease*, McGraw-Hill Book, Co., Nueva York, 5.ª ed., 1983.
- Zorzano, A.; Soley, M., y Herrera, E.: «Rapid effects of insulin and glucose on the hepatic incorporation of gluconeogenic substrates into glyceride glycerol and glycogen», *Int. J. Biochem.*, 21:1071-1075, 1989.

● **Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU**

● **Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)**

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Glucólisis

MIQUEL LLOBERA y ANTONIO ZORZANO

La glucólisis es el conjunto de reacciones bioquímicas a través de las cuales la glucosa es metabolizada hasta producir compuestos de tres átomos de carbono, tales como el piruvato o el lactato, rindiendo energía metabólica. En los tejidos animales, la glucosa se transforma en piruvato, el cual, en presencia de oxígeno, es oxidado completamente en la mitocondria hasta CO_2 y H_2O a través del ciclo del ácido cítrico, en cuyo caso se habla de glucólisis aerobia. En ausencia de oxígeno, el piruvato generado a partir de la glucosa es transformado en lactato, en el proceso denominado glucólisis anaerobia o fermentación láctica. En ciertos organismos inferiores también es posible la conversión del piruvato en otros compuestos, tales como el etanol, o el ácido propiónico, entre otros, hablándose entonces de fermentación alcohólica o propiónica.

Büchner (1897) fue el primero en describir la capacidad de un extracto de levadura libre de células, de fermentar glucosa. Más tarde, Harden y Young (1905) comprobaron que la fermentación alcohólica en dichos extractos requería fosfato y que, bajo ciertas condiciones, se acumulaba una hexosa bisfosforilada, identificada después como fructosa-1,6-bisfosfato. En 1930, la ruta metabólica de la glucólisis quedó completamente caracterizada gracias a los trabajos de un gran número de investigadores entre los que cabe destacar a O. Meyerhoff, G. Embden y J. Parnas, debido a lo cual la vía glucolítica suele denominarse también vía de Embden-Meyerhoff o vía de Embden-Meyerhoff-Parnas.

La glucólisis desempeña un papel central en el metabolismo celular al permitir la obtención de energía a partir de glucosa, y de otros azúcares, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Sin embargo, no es éste el único papel de la glucólisis, ya que sirve también como fuente de piruvato para la síntesis de compuestos tales como los ácidos grasos o el colesterol, entre otros. Por otro lado, es posible considerar la vía glucolítica una ruta universal ya que se encuentra prácticamente en todos los tipos celulares estudiados hasta ahora.

CAPTACION DE LA GLUCOSA POR LOS TEJIDOS

Antes de iniciar el estudio de las reacciones glucolíticas, debe tenerse en cuenta que la glucosa debe ser captada desde el medio externo al interior celular. Este proceso de transporte facilitado, específico para las D-hexosas y saturable, es

llevado a cabo por transportadores de glucosa. Estos transportadores son glicoproteínas de membrana con un peso molecular que oscila entre 43.000 y 55.000 daltons, y cuya actividad resulta inhibida de forma específica por compuestos tales como la *citocalasina B*. En los últimos años se han identificado cinco especies de transportadores de glucosa distintos. Estas diferentes especies han recibido, de forma provisional, el nombre de *glut 1*, *glut 2*, *glut 3*, *glut 4* y *glut 5*. Las especies mejor caracterizadas son *glut 1*, *glut 2* y *glut 4*. La isoforma *glut 1* se encuentra en muchos tejidos y es especialmente abundante en cerebro, eritrocitos y placenta, presentando unos valores de K_m para la glucosa de 5-30 mM. La isoforma *glut 2* se expresa en hígado, células β -pancreáticas, riñón y en membrana basolateral de intestino, presentando una K_m para glucosa de aproximadamente 60 mM. El transportador de glucosa de tipo *glut 4* presenta valores de K_m para la glucosa relativamente bajos (de 2 a 5 mM) y se distribuye en tejido adiposo blanco y marrón, corazón y músculo esquelético. En este sentido, cabe decir que en estos tejidos el transporte de glucosa es rápidamente estimulado por acción de la insulina, en contraposición a la situación en otros tejidos, como, por ejemplo, el hígado, donde la insulina no ejerce ninguna acción moduladora.

La insulina estimula el transporte de glucosa en el adipocito mediante un mecanismo que se caracteriza por un incremento rápido (1-2 min) en el número de transportadores de glucosa presentes en la superficie celular; ésto es consecuencia de la translocación de transportadores de glucosa (fundamentalmente de tipo *glut 4*) desde un locus intracelular hacia la membrana plasmática. Este proceso de translocación de transportadores de glucosa es reversible y requiere que los procesos de obtención de energía celular estén intactos.

ETAPAS DE LA GLUCOLISIS

La vía glucolítica consta de una secuencia de 10 reacciones que tienen lugar en el citoplasma celular (fig. 16.1). Desde un punto de vista energético, es posible dividirla en dos fases diferenciadas. En la primera, que da nombre a la vía entera (glucólisis significa *rotura*, del griego *lysis*, de *algo dulce* o *glucosa*, *glykos*), la glucosa es convertida en dos compuestos de tres átomos de carbono, uno de los cuales, el gliceraldehído-3-fosfato, es metabolizado a continuación en una segunda fase, donde se formarán dos moléculas de ATP. A partir de una molécula de glucosa se forman, pues, dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato en la primera fase de la glucólisis y a continuación estas moléculas se transforman en dos de piruvato con la generación de cuatro moléculas de ATP.

Primera fase de la glucólisis

En la primera fase de la glucólisis se modifica la molécula de glucosa para generar fructosa-1,6-bisfosfato, la cual será escindida en dos triosas fosfato. Así pues, las reacciones iniciales de la primera fase de la glucólisis están orientadas a la obtención de un derivado de la glucosa con dos grupos fosfato.

Fosforilación de la glucosa

En la primera reacción de la glucólisis, la glucosa se fosforila en el C₆. Es una reacción termodinámicamente desfavorable ($\Delta G^{\circ} = +3,3$ kcal/mol), en la que el

GLUCOLISIS

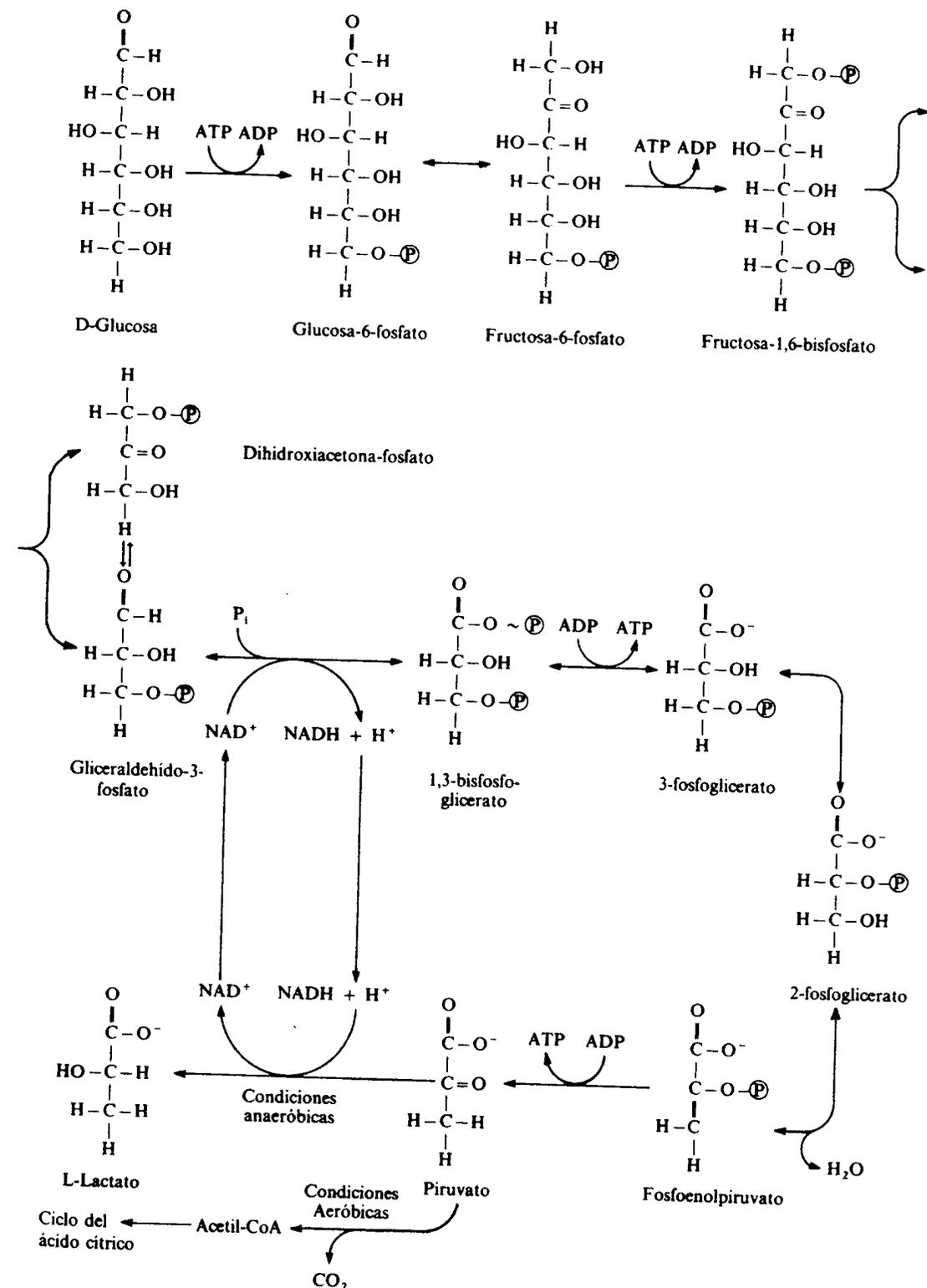
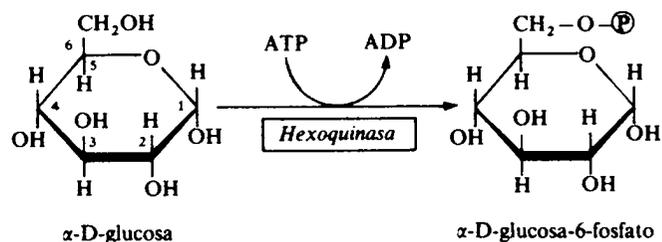


Figura 16.1. La vía glucolítica desde glucosa hasta piruvato. Se presentan dos opciones del piruvato: formación de lactato en situación anaerobia o canalización hacia el ciclo del ácido cítrico en aerobiosis.

grupo fosfato no procede del fosfato inorgánico sino de una molécula de ATP, y es transferido al grupo hidroxilo libre correspondiente del C₆ de la molécula de glucosa.



La variación de energía libre estándar de esta reacción es negativa ($\Delta G^{\circ} = -4,0$ kcal/mol), de modo que es prácticamente irreversible. Debido a ello, y asumiendo que no hay reacciones intracelulares generadoras de glucosa, prácticamente toda la glucosa que entra en la célula es convertida a glucosa-6-fosfato. Por tanto, en células carentes de actividad *glucosa-6-fosfatasa* (véase cap. 17) la concentración intracelular de glucosa es muy baja.

Esta reacción de fosforilación está catalizada por la *hexoquinasa*, enzima de la que se conocen cuatro isoenzimas distintas, la *I*, la *II*, la *III* y la *IV* (o A, B, C y D, respectivamente) que se diferencian por su comportamiento antigénico, su distribución tisular y su afinidad y especificidad de sustrato. Todas ellas requieren Mg^{2+} , y de hecho se considera que su verdadero sustrato es el complejo Mg-ATP^{2-} . Las *hexoquinasas I, II y III* son proteínas dimericas con un peso molecular próximo a 100.000 daltons, y que se encuentran ampliamente distribuidas en la mayor parte de los tejidos estudiados. Estas isoenzimas presentan valores de K_m para la glucosa que oscilan entre 40 y 170 μM y tienen capacidad de fosforilar otros monosacáridos, tales como la D-fructosa, la D-manosa y la D-glucosamina.

La *hexoquinasa IV*, o *glucoquinasa*, es una proteína monomérica cuyo peso molecular es de 58.000 daltons, y que se encuentra en el hígado. Tiene mayor especificidad por la glucosa que las restantes *hexoquinasas*, de forma que no tiene capacidad para fosforilar otros monosacáridos, y presenta valores de K_m para la glucosa dos órdenes de magnitud superiores a los observados para el resto de hexoquinasas ($K_m \approx 5\text{-}12$ mM).

Conversión de glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato

A continuación, la glucosa-6-fosfato es isomerizada a fructosa-6-fosfato por la actividad catalítica de la *glucosa fosfato isomerasa*. En esta reacción, el grupo carbonilo de la hexosa se desplaza desde el C₁ al C₂, generándose una cetosa. La isomerización representa un pequeño cambio en la energía libre ($\Delta G^{\circ} = +0,4$ kcal/mol), y es, por tanto, reversible.

El mecanismo de reacción de la *glucosa fosfato isomerasa* implica la apertura del anillo de la molécula de glucosa-6-fosfato y la formación de una forma enediol intermedia ligada a la enzima (fig. 16.2).

Formación de fructosa-1,6-bisfosfato

La fructosa-6-fosfato es ahora fosforilada en posición 1 generando fructosa-1,6-bisfosfato. Igual que en la primera reacción de la glucólisis, el fosfato proviene de la molécula de ATP.

GLUCOLISIS

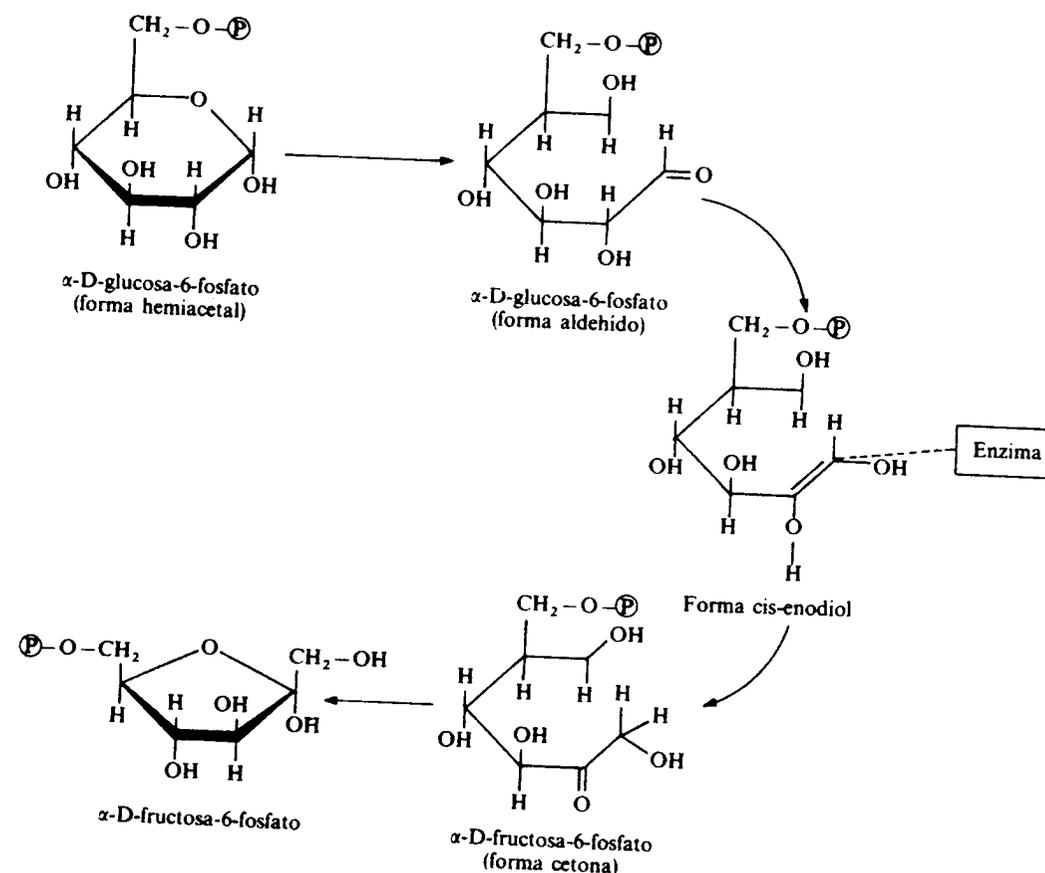
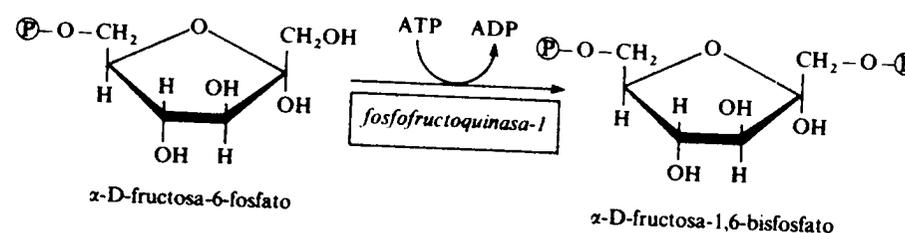


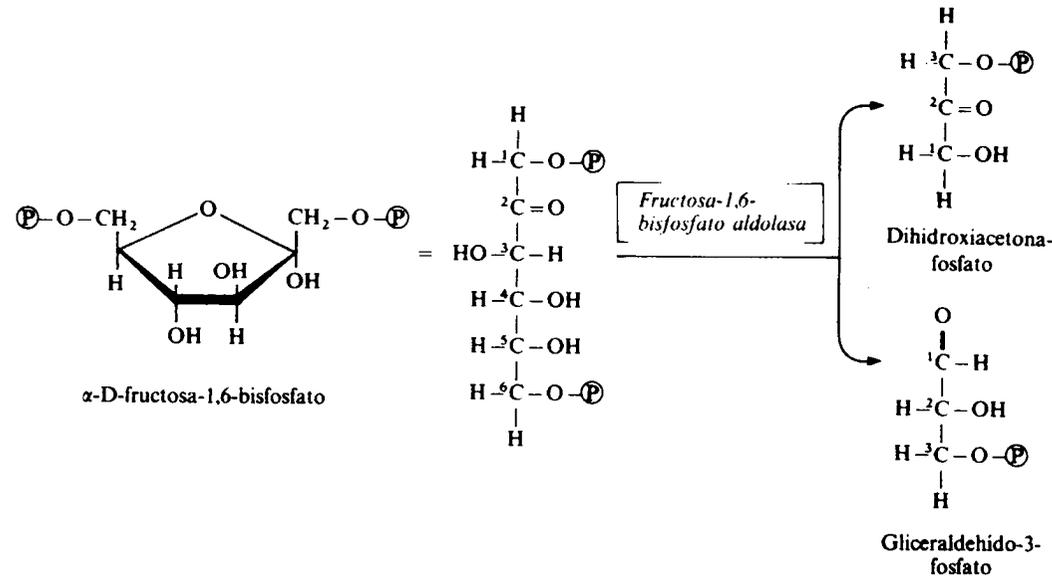
Figura 16.2. Conversión de glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato.



Esta reacción transcurre con una variación de energía libre muy negativa ($\Delta G^{\circ} = -3,4$ kcal/mol), que la hace prácticamente irreversible *in vivo*. Está catalizada por la *fosfofructoquinasa-1*, la cual requiere Mg^{2+} , probablemente el Mg-ATP^{2-} .

Escisión de la fructosa-1,6-bisfosfato

La molécula de fructosa-1,6-bisfosfato es escindida entre los átomos de carbono 3 y 4 en una reacción reversible catalizada por la *fructosa-1,6-bisfosfato aldosa*, con lo que se generan dos triosas fosfato.



Los átomos de carbono 1, 2 y 3 de la molécula de fructosa-1,6-bisfosfato se transforman, respectivamente, en los átomos 3, 2 y 1 de la molécula de dihidroxiacetona-fosfato. A su vez, los átomos de carbono 4, 5 y 6 se convierten, respectivamente, en los átomos 1, 2 y 3 del gliceraldehido-3-fosfato. En condiciones estándar, esta reacción presenta una variación de energía libre muy positiva ($\Delta G^{\circ} = +5,7$ kcal/mol). Sin embargo, en condiciones celulares está desplazada en el sentido de la formación de las triosas fosfato.

Durante la catálisis enzimática es esencial un residuo de lisina del centro catalítico de la enzima que contribuye a la formación de una base de Schiff ($-C=N-$) con el grupo carbonilo de la fructosa-1,6-bisfosfato. También parecen participar en el centro catalítico un grupo $-SH$ de un residuo de cisteína, que podría iniciar el proceso de escisión de la molécula, así como un grupo imidazol de un residuo de histidina, que actuaría como un grupo ácido general.

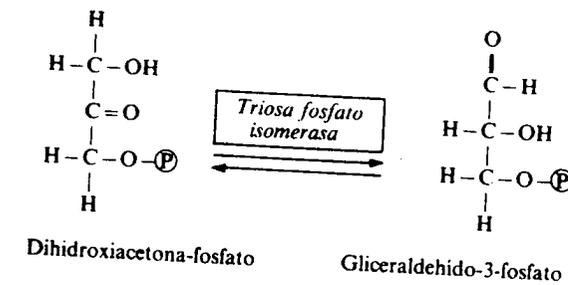
Se conocen dos grandes tipos de *aldolasas*. Las *aldolasas de clase I* son proteínas tetraméricas con un peso molecular de 160.000 daltons, que se encuentran en tejidos animales. Su mecanismo de catálisis implica la formación de la base de Schiff antes mencionada. Las *aldolasas de clase II* se encuentran en bacterias, levaduras y hongos, y son proteínas dimericas con un peso molecular aproximado de 65.000 daltons. Requieren un catión divalente, que suele ser el Zn^{2+} , y no precisan la formación de una base de Schiff en su mecanismo de catálisis.

Interconversión de triosas fosfato

Los productos resultantes de la rotura de la fructosa-1,6-bisfosfato, esto es, la dihidroxiacetona fosfato y el gliceraldehido-3-fosfato, formados en cantidades equimolares son isómeros aldosa-cetosa y pueden ser interconvertidos por la *triosa fosfato isomerasa*.

Esta reacción es del mismo tipo que la descrita antes entre la glucosa-6-fosfato y la fructosa-6-fosfato, e implica, asimismo, la formación de un intermediario enediol (véase fig. 16.2). La variación de energía libre estándar es positiva ($\Delta G^{\circ} = +1,8$ kcal/mol), pero en condiciones celulares la reacción está desplazada hacia la

GLUCOLISIS



derecha como consecuencia de la desaparición continua de gliceraldehido-3-fosfato en las siguientes etapas de la glucólisis.

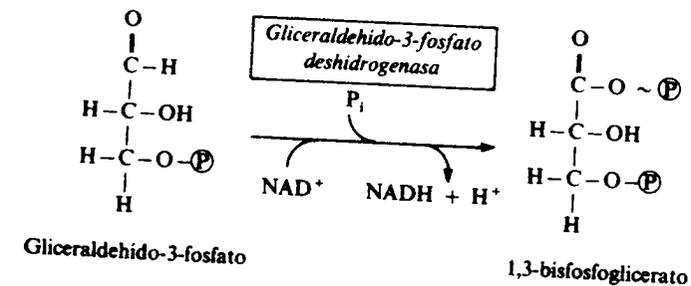
Como consecuencia de esta reacción, y teniendo en cuenta que se forman dos moléculas de gliceraldehido-3-fosfato por cada molécula de glucosa, los átomos de carbono 1 y 6 de la molécula original de glucosa se convierten en el átomo de carbono 3 del gliceraldehido-3-fosfato; los átomos de carbono 2 y 5 se convierten en el carbono 2 del gliceraldehido-3-fosfato y los átomos de carbono 3 y 4 de la glucosa se convierten en el carbono 1 del gliceraldehido-3-fosfato.

Segunda fase de la glucólisis

El resultado neto de la primera fase de la glucólisis es, por tanto, la conversión de una molécula de glucosa en dos moléculas de gliceraldehido-3-fosfato, por la transferencia de dos grupos fosfato desde dos moléculas de ATP. La segunda fase comienza con la oxidación del gliceraldehido-3-fosfato y la formación asociada de una molécula de NADH. Por otro lado, en esta segunda fase se produce energía suficiente para la síntesis de ATP en dos reacciones.

Oxidación del gliceraldehido-3-fosfato

Desde el punto de vista energético, ésta es una de las etapas más importantes de la vía glucolítica ya que conserva la energía de oxidación del grupo aldehído del gliceraldehido-3-fosfato en su producto el 1,3-bisfosfoglicerato. De hecho, la oxidación del gliceraldehido-3-fosfato impulsa tanto la reducción del coenzima NAD^+ como la posterior fosforilación del ADP. Por otro lado, tiene interés desde el punto de vista histórico al ser la primera reacción conocida en la que se utilizaba la energía liberada en la oxidación de una molécula para la formación de ATP (O. H. Warburg, años treinta).



Mediante la acción catalítica de la *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa* se genera NADH y un compuesto rico en energía, el 1,3-bisfosfoglicerato. La reacción

es ligeramente endergónica bajo condiciones estándar ($\Delta G^{\circ} = +1,5$ kcal/mol), pero se desplaza hacia la formación de 1,3-bisfosfoglicerato impulsada por la siguiente reacción de la glucólisis, que es exergónica.

La *gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa* es un tetrámero cuyas subunidades tienen un peso molecular aproximado de 45.000 daltons, y cuya actividad es inhibida por agentes alquilantes, tales como la iodoacetamida, y por metales pesados, lo que indica la participación de grupos sulfhidrilos en el sitio catalítico.

Su mecanismo de reacción es el siguiente: en primer lugar, el grupo $-SH$ de un residuo de cisteína se une al carbonilo del gliceraldehído-3-fosfato para formar un tiohemiacetal (etapa 1, fig. 16.3). A continuación, este tiohemiacetal es oxidado por el NAD^+ para generar una forma tioéster (etapa 2, fig. 16.3). La coenzima reducida permanece enlazada a la superficie de la enzima y se vuelve a oxidar pasando un H^+ a una molécula de NAD^+ libre (paso 3, fig. 16.3). Por último, la molécula de 1,3-bisfosfoglicerato se libera de la superficie de la enzima por rotura de un enlace tioéster debido a la acción de un fosfato inorgánico (etapa 4, fig. 16.3).

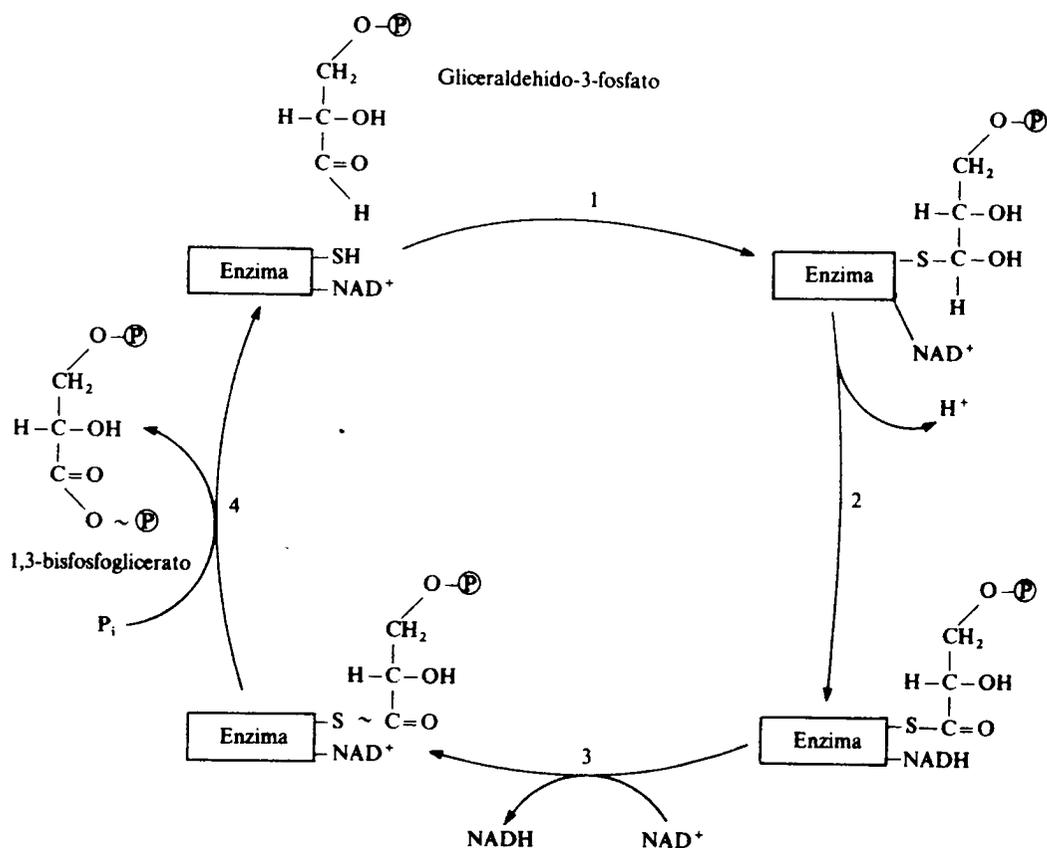
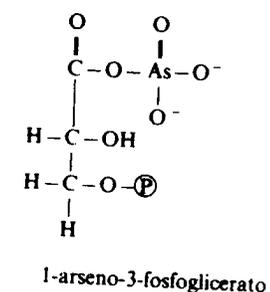


Figura 16.3. Mecanismo de reacción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

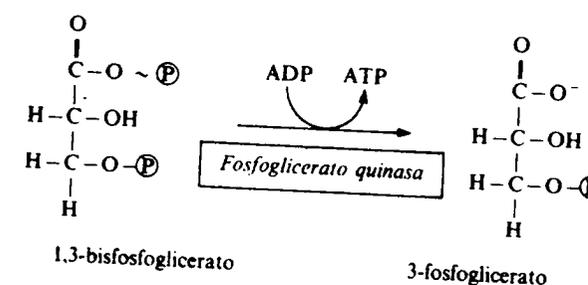
La enzima *gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa* puede utilizar arseniato en lugar de fosfato, formándose en la reacción 1-arseno-3-fosfoglicerato. Este compuesto es muy inestable y se descompone espontáneamente en gliceraldehído-3-fosfato y arseniato. Por ello, en presencia de este último no se genera un compuesto fosforilado de alta energía y, en consecuencia, no se forma ATP en la siguiente

reacción. La actuación del arseniato ilustra un ejemplo de desacoplamiento entre oxidación y fosforilación.



Transferencia de fosfato desde el 1,3-bisfosfoglicerato al ADP

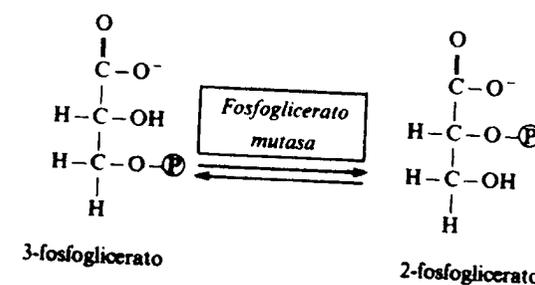
El metabolito 1,3-bisfosfoglicerato es un compuesto fosforilado rico en energía que puede transferir su grupo fosfato, unido mediante un enlace anhídrido, a la molécula de ADP generando ATP y 3-fosfoglicerato.



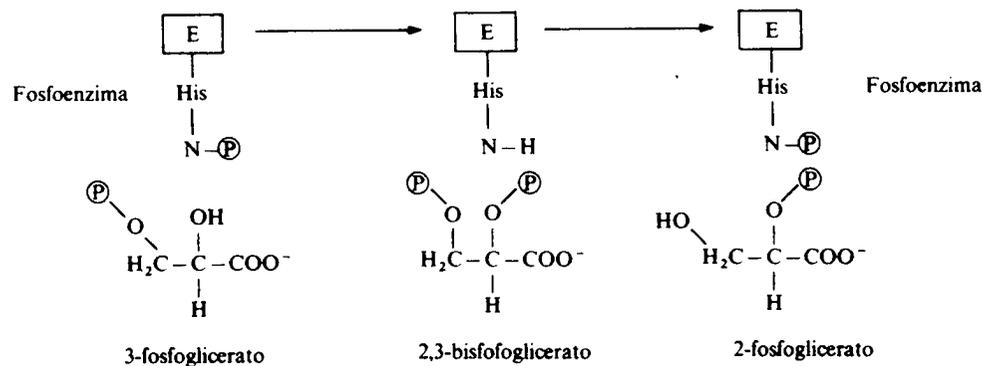
Esta reacción, catalizada por la *fosfoglicerato quinasa*, es muy exergónica ($\Delta G^{\circ} = -4,5$ kcal/mol) y, como se ha comentado antes, sirve para desplazar la reacción anterior hacia la derecha. Además, constituye un ejemplo de fosforilación a nivel de sustrato, en la que se genera ATP directamente como consecuencia de la transferencia de un grupo fosfato desde un metabolito fosforilado al ADP. En este sentido, debe distinguirse de la fosforilación oxidativa en la que se genera ATP como consecuencia de un proceso impulsado por el transporte de electrones desde coenzimas reducidas hasta el oxígeno (véase cap. 10).

Conversión de 3-fosfoglicerato a 2-fosfoglicerato

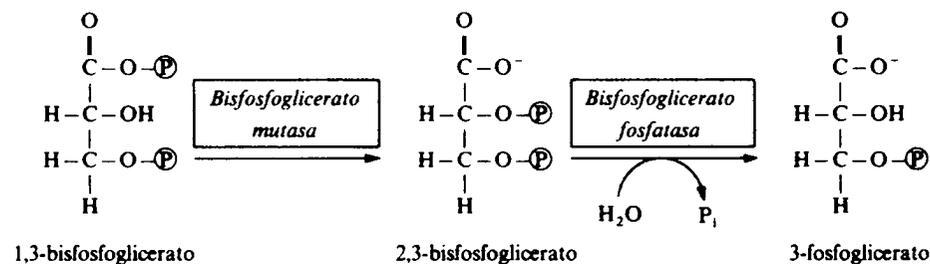
Por acción de la *fosfoglicerato mutasa*, el grupo fosfato del 3-fosfoglicerato se desplaza desde su posición original en el carbono 3 al carbono 2, generándose 2-fosfoglicerato.



Esta reacción es ligeramente endergónica en condiciones estándar ($\Delta G^{\circ} = +1,1$ kcal/mol). La enzima requiere Mg^{2+} , y en el proceso catalítico participa un residuo de histidina que en estado activo debe estar fosforilado. Un intermediario de la reacción, y a su vez cebador esencial de la misma, es el 2,3-bisfosfoglicerato.

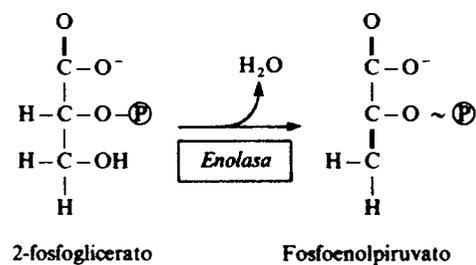


El 2,3-bisfosfoglicerato, además de desempeñar un papel de intermediario y cebador en esta reacción, tiene un papel destacado en el eritrocito en el que está presente en altas concentraciones y actúa como efector negativo, esto es, disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno al estabilizar su forma desoxigenada. En este caso, el 2,3-bisfosfoglicerato es sintetizado en una vía colateral de la glucólisis a partir del 1,3-bisfosfoglicerato por acción de la *bisfosfoglicerato mutasa* y, a su vez, es degradado a 3-fosfoglicerato por acción de la *bisfosfoglicerato fosfatasa*.



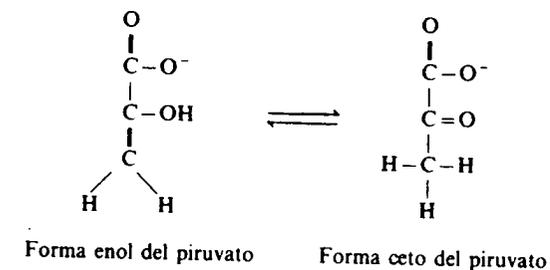
Síntesis de fosfoenolpiruvato

Siguiendo con la vía glucolítica, el 2-fosfoglicerato es deshidratado por acción de la *enolasa*, generándose fosfoenolpiruvato.



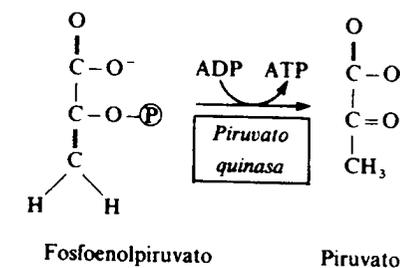
La reacción presenta una variación de energía libre estándar de $+0,4$ kcal/mol. La *enolasa* requiere iones divalentes, Mg^{2+} o Mn^{2+} para su actividad y es

inhibida por iones fluoruro. El fosfoenolpiruvato es un compuesto de alto contenido energético con una ΔG° de hidrólisis de $-14,8$ kcal/mol, muy superior a la energía de hidrólisis del 2-fosfoglicerato ($\Delta G^{\circ} = -4,2$ kcal/mol). Esta elevada energía libre de hidrólisis del fosfoenolpiruvato se explica porque el piruvato puede existir en dos formas tautoméricas, o formas enol y ceto. En el caso concreto del piruvato, el equilibrio favorece la formación de la forma ceto; mientras la forma ceto es estable, la enol es muy inestable. Como resultado de esta situación, si el piruvato queda atrapado en la configuración enol, será inestable y presentará una fuerte tendencia a tautomerizar a la forma ceto. Esto es precisamente lo que sucede en la reacción de óxido-reducción intramolecular catalizada por la *enolasa*. Cuando se elimina agua del 2-fosfoglicerato, el producto es el piruvato, pero queda atrapado en la forma enol por la presencia de un grupo fosfato en el C_2 de la molécula, evitándose así la transición a la forma ceto.



Síntesis de piruvato

En la última reacción de la glucólisis el fosfoenolpiruvato cede el grupo fosfato a una molécula de ADP, con lo que se genera ATP y piruvato. Como ya se ha mencionado, esto es posible por la elevada energía libre de hidrólisis del fosfoenolpiruvato, muy superior a la de generación del ATP.



Esta reacción es muy exergónica ($\Delta G^{\circ} = -7,5$ kcal/mol) y en condiciones intracelulares prácticamente irreversible. Está catalizada por la *piruvato quinasa*, proteína tetramérica que requiere K^+ , así como un catión divalente (Mg^{2+} o Mn^{2+}). Existen diversas isoenzimas de la *piruvato quinasa*. La isoenzima L se encuentra en hígado y riñón, la isoenzima A es característica de tejidos embrionarios y la isoenzima M es típica de músculo esquelético y cardíaco.

DESTINOS METABOLICOS DEL PIRUVATO

El piruvato ocupa una posición clave en el metabolismo intermediario; puede seguir varias vías metabólicas diferentes, y su destino final va a depender de la

situación metabólica concreta de la célula en cuestión, así como del tipo celular considerado. En el caso concreto de los animales superiores, el destino del piruvato depende en gran medida de la disponibilidad de oxígeno por parte de la célula.

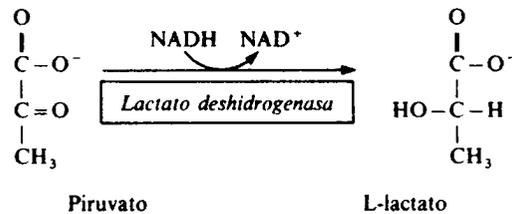
Oxidación del piruvato

En condiciones aerobias, el piruvato generado en la glucólisis sigue la vía oxidativa. Para ello debe pasar del citoplasma, donde transcurre la vía glucolítica a la matriz mitocondrial, utilizando un transportador específico localizado en la membrana mitocondrial interna. Una vez en la mitocondria, es oxidado a acetil-CoA, por acción de la *piruvato deshidrogenasa*, y a continuación entra en el ciclo del ácido cítrico (véase cap. 12).

A partir de una molécula de glucosa se generan, durante la glucólisis, dos moléculas de piruvato, dos moléculas de ATP y dos moléculas de NADH. Por tanto, para que la glucólisis no se bloquee por falta de coenzima NAD⁺, el NADH citoplasmático generado debe ser reoxidado a NAD⁺. En el apartado siguiente se comentan los distintos sistemas enzimáticos de reoxidación del NADH citoplasmático.

Síntesis de lactato

En el caso de los organismos anaerobios, o en el caso de los aerobios que se hallan en condiciones anaerobias, no es factible la oxidación del piruvato. En tales casos es esencial mantener la disponibilidad de NAD⁺, coenzima necesaria en la reacción catalizada por la *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa*, y para ello se requiere la oxidación del NADH generado en la glucólisis. Distintos organismos han seguido diversas estrategias enzimáticas para conseguir la reoxidación del NAD⁺. Una de ellas consiste en la reducción del piruvato a L-lactato. Esta reacción ($\Delta G^{\circ} = -6,0$ kcal/mol) conlleva la oxidación de NADH a NAD⁺ y está catalizada por la enzima *lactato deshidrogenasa*.



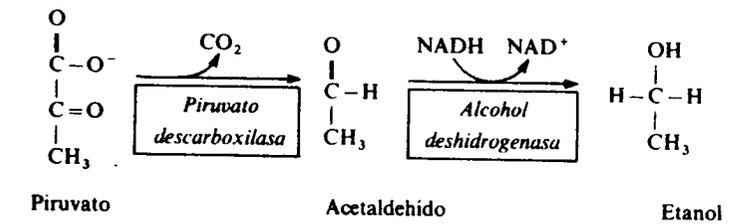
La *lactato deshidrogenasa* es un tetrámero de aproximadamente 140.000 daltons de peso molecular. En animales superiores existe en cinco formas isoenzimáticas distintas (M₄, M₃H, M₂H₂, MH₃, H₄), que representan todas las combinaciones tetraméricas posibles de dos subunidades diferentes, la M (del inglés «muscle») y la H (del inglés «heart»), codificadas por genes distintos. Las isoenzimas M₄ y M₃H tienen valores de K_m bajos para el piruvato y predominan en músculo esquelético y otros tejidos con alta capacidad glucolítica, mientras que las isoenzimas MH₃ y H₄ presentan valores de K_m superiores para el piruvato y son típicas de tejidos con elevada capacidad oxidativa, como el corazón.

El conjunto de reacciones que llevan a la síntesis de lactato a partir de glucosa constituye la *fermentación láctica*, que es característica de tejidos animales en

anaerobiosis, de organismos eucariotas tales como hongos y protozoos y de las llamadas bacterias del ácido láctico. En el caso de los animales, el lactato generado como consecuencia de la actividad glucolítica, por ejemplo en el músculo durante el ejercicio, es liberado a la circulación sanguínea.

Fermentación alcohólica

En otros organismos, tales como algas, levaduras y tejidos vegetales, existen sistemas enzimáticos alternativos para reoxidar el NADH generado durante la glucólisis. Dichos sistemas catalizan la transformación del piruvato a etanol mediante dos reacciones secuenciales. En la primera, el piruvato es descarboxilado por acción de la *piruvato descarboxilasa*, en una reacción irreversible en la que se produce acetaldehído, el cual es reducido a continuación a etanol con la consiguiente oxidación del NADH a NAD⁺, en una reacción catalizada por la *alcohol deshidrogenasa*.



La *piruvato descarboxilasa* es una enzima que requiere Mg²⁺ y pirofosfato de tiamina, coenzima clásica de reacciones de descarboxilación, y que no se encuentra en los tejidos animales. Cataliza la reacción de descarboxilación del piruvato que comienza por el ataque del carbanión en posición 2 del anillo de tiazol del pirofosfato de tiamina sobre el grupo carbonilo del sustrato, el piruvato, quedando un grupo α-hidroxietilo enlazado a la tiamina pirofosfato (fig. 16.4). Este grupo se libera finalmente como acetaldehído dejando libre el pirofosfato de tiamina y quedando en condiciones de aceptar otra molécula de piruvato.

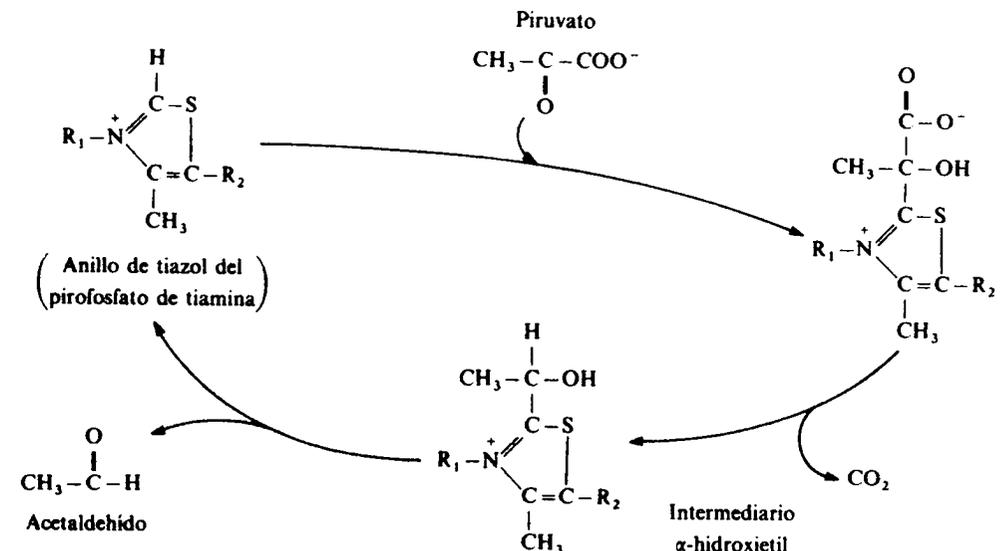


Figura 16.4. Mecanismo de acción del pirofosfato de tiamina en la descarboxilación del piruvato.

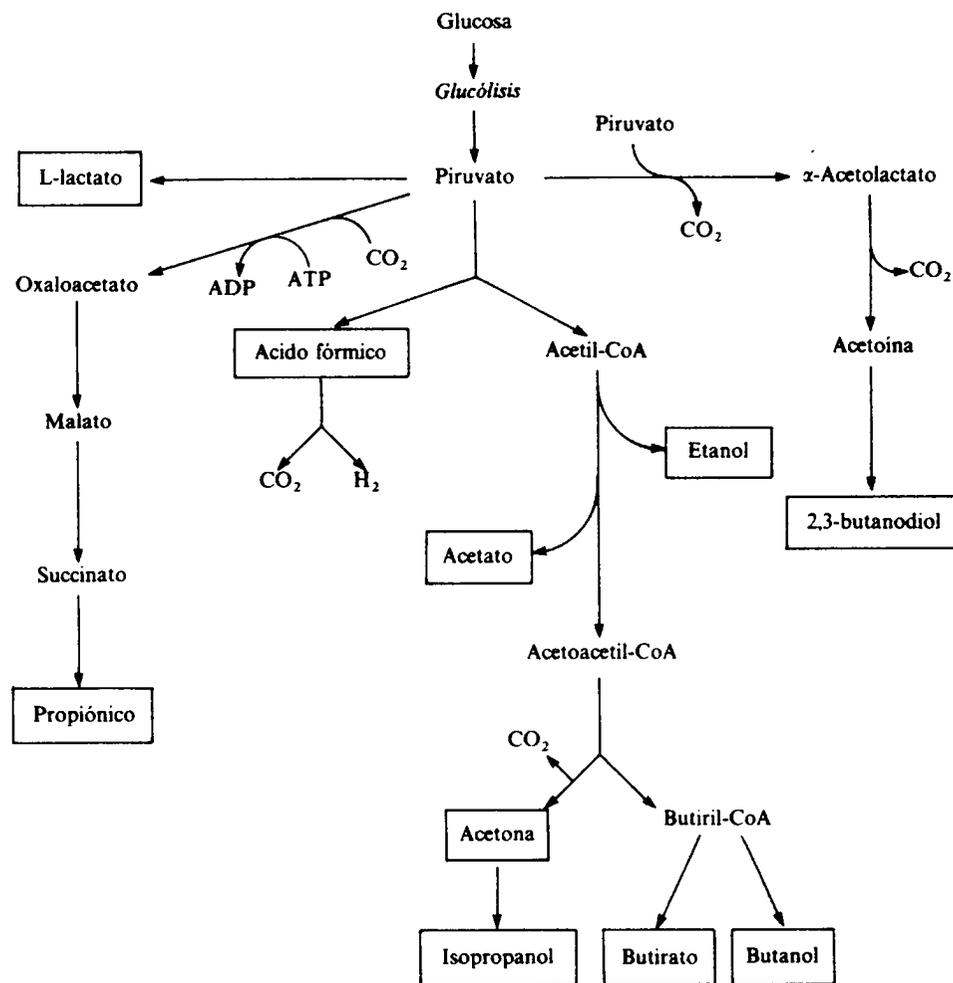


Figura 16.5. Posibles destinos del piruvato en la fermentación bacteriana. Los productos finales se muestran en un recuadro.

Otros tipos de fermentaciones

Además de la fermentación láctica y la alcohólica, en la naturaleza se producen otros muchos tipos de fermentaciones (la ácida mixta, la butanodiólica, la butírica y la propiónica, entre otras), llevadas a cabo por distintos tipos de microorganismos. Una visión general de algunas de estas transformaciones se presenta en la figura 16.5. En la *fermentación ácida mixta*, característica de *E. coli*, los productos finales son lactato, acetato, etanol, CO_2 y H_2 , pudiendo variar la relación molar de los productos finales en función de las condiciones de cultivo. En la *fermentación butanodiólica*, además de los productos de la fermentación ácida mixta se genera 2,3-butanodiol, a partir de piruvato. Muchas bacterias anaerobias llevan a cabo la *fermentación butírica* en la que los principales productos finales son los ácidos acético y butírico, CO_2 y H_2 . El acetil-CoA, el H_2 y el CO_2 se producen como consecuencia de la rotura directa del piruvato; parte del acetil-CoA se convierte en ácido acético y parte se condensa a acetoacetil-CoA para la generación de butirato. La *fermentación propiónica* es llevada a cabo por bacterias del

género, denominado por esta razón *Propionibacterium*, y en ella los productos finales son el CO_2 y los ácidos propiónico y acético.

Otros destinos del piruvato

El piruvato producido en la glucólisis es utilizado por la célula no sólo como sustrato oxidativo o fermentativo, sino como precursor de sustratos de vías anabólicas, tales como la síntesis de ácidos grasos, de colesterol o de determinados aminoácidos (véanse caps. 22, 24 y 29). Asimismo, en el músculo esquelético, el piruvato sirve para la generación de notables cantidades de alanina, aminoácido que es liberado posteriormente a la circulación sanguínea.

REOXIDACION DEL NADH CITOSOLICO

En párrafos anteriores ha quedado claro que durante la glucólisis la célula consume NAD^+ , el cual es reducido a NADH. En condiciones anaerobias, o en organismos anaerobios estrictos, este NADH es reoxidado a la vez que el piruvato generado por la glucólisis es metabolizado para dar lugar a diversos productos. Sin embargo, en condiciones aerobias, el piruvato puede ser oxidado en la mitocondria, en cuyo caso el NADH generado en el citoplasma también debe ser reoxidado a NAD^+ para evitar el bloqueo de la glucólisis en la reacción catalizada por la *gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa*. El NADH es un sustrato de la cadena respiratoria mitocondrial, el cual cede los electrones al complejo I asociado a la membrana mitocondrial interna (véase cap. 10); sin embargo, en células eucariotas no puede atravesar la membrana interna de la mitocondria para cebar la cadena respiratoria. En su lugar, el potencial reductor del NADH es transferido a un aceptor adecuado. Este aceptor llega a la mitocondria y transfiere sus equivalentes reductores a determinados componentes de la cadena respiratoria mitocondrial. Este es, en definitiva, el concepto de sistema de lanzadera, es decir, vías cerradas cíclicas mediante las cuales los equivalentes reductores se transfieren desde el NADH citoplasmático hasta el oxígeno mitocondrial. Se han postulado varios tipos de sistemas de lanzadera en células de mamíferos, pero las que han recibido mayor atención son la lanzadera del glicerol-3-fosfato y la del malato-aspartato.

Lanzadera del glicerol-3-fosfato

En la lanzadera del glicerol-3-fosfato (α -glicerofosfato), los electrones del NADH citoplasmático son transferidos a la dihidroxiacetona-fosfato, que es así reducida a glicerol-3-fosfato con intervención de la enzima citoplasmática *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa* (fig. 16.6). El glicerol-3-fosfato difunde al espacio intermembranar de la mitocondria y allí es reoxidado a dihidroxiacetona-fosfato por medio de una *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa* enlazada a FAD^+ . Esta es una proteína anclada en la membrana mitocondrial interna y orientada hacia el espacio intermembranar, capaz de transferir los electrones captados por el grupo prostético FAD^+ a la cadena respiratoria (véase cap. 10). La dihidroxiacetona fosfato formada vuelve de nuevo al citoplasma, donde puede comenzar un nuevo ciclo. La naturaleza vectorial de este sistema de lanzadera es consecuencia de que la flavoproteína *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa* mitocondrial cataliza una reacción de oxidación del glicerol-3-fosfato muy exérgica y no influenciada por el

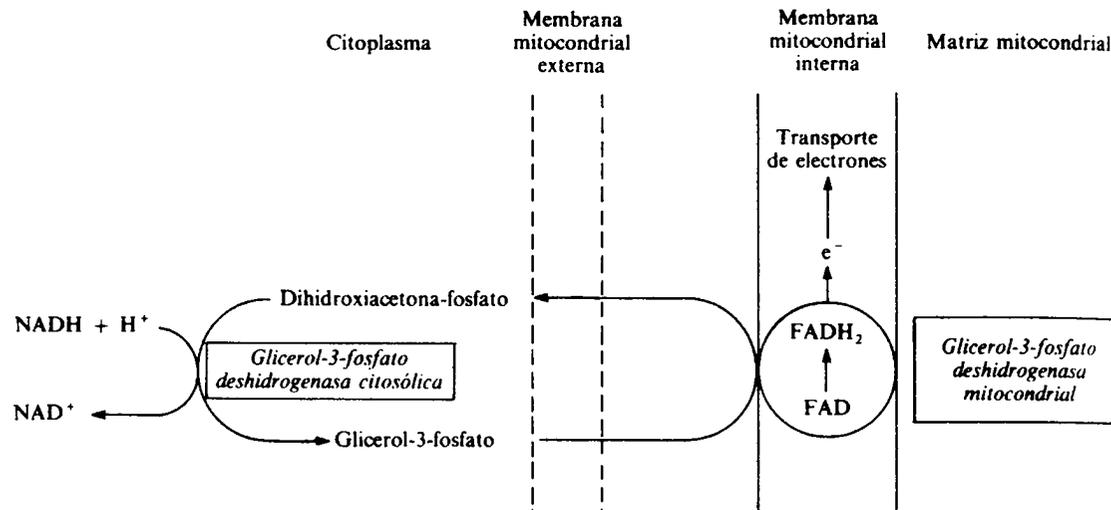


Figura 16.6. Lanzadera del glicerol-3-fosfato.

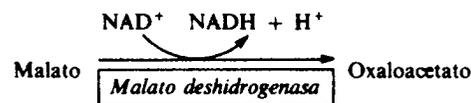
alto nivel de reducción del NAD⁺ mitocondrial. Se ha demostrado que este sistema es activo en el hígado y en los túbulos renales.

Lanzadera malato-aspartato

En este tipo de lanzadera (fig. 16.7), los electrones del NADH citoplasmático son transferidos al oxaloacetato en la reacción catalizada por la *malato deshidrogenasa*.



El malato es transportado a la matriz mitocondrial gracias a una proteína transportadora específica, y una vez en la mitocondria, puede volver a oxidarse a oxaloacetato siguiendo la misma reacción, catalizada por la misma enzima, pero en sentido opuesto debido a las particulares condiciones del ambiente mitocondrial.



El NADH mitocondrial transfiere sus electrones a la cadena respiratoria, la cual generará ATP mediante acoplamiento con la fosforilación oxidativa.

El oxaloacetato generado no puede atravesar la membrana mitocondrial interna, pero sí el aspartato en el que se convierte en una reacción de transaminación catalizada por la *aspartato aminotransferasa*:

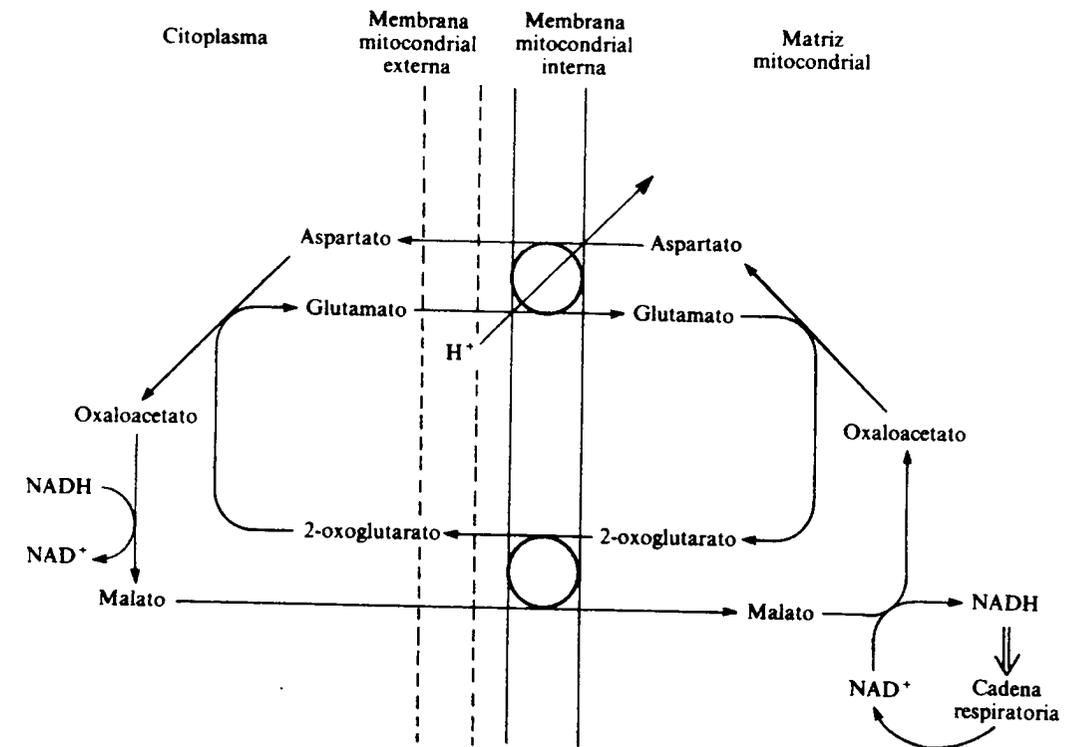
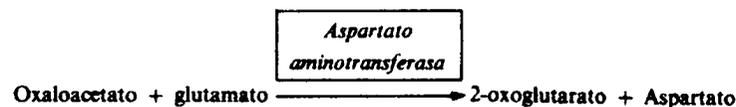
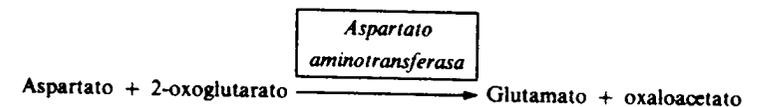


Figura 16.7. Lanzadera de malato-aspartato.

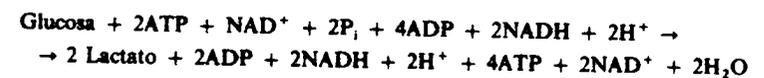
El aspartato generado sale de la mitocondria por un transportador que funciona como intercambiador, de tal modo que cuando una molécula de aspartato sale, entra un protón y una molécula de glutamato, que ceba la reacción anterior. El aspartato, una vez en el citoplasma, regenera el oxaloacetato por la reacción de transaminación inversa:



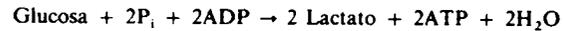
El oxaloacetato citoplasmático así regenerado puede volver a comenzar el ciclo (fig. 16.7), cuyo funcionamiento es irreversible fundamentalmente debido a que el intercambiador de glutamato por aspartato requiere energía, y ésta viene aportada por el gradiente electroquímico de protones originado por el funcionamiento de la cadena respiratoria. Los demás componentes del sistema de lanzadera son reversibles.

ESTEQUIOMETRIA Y BALANCE ENERGETICO DE LA GLUCOLISIS

En anaerobiosis, y considerando la formación de L-lactato, la estequiometría de la glucólisis, teniendo en cuenta las reacciones de óxido-reducción, y la incorporación y salida de fosfato inorgánico, ADP y ATP, es la siguiente:



simplificando, la ecuación estequiométrica queda como:



En el caso de la fermentación alcohólica, la estequiometría neta es:



Por cada molécula de D-glucosa se obtienen dos moléculas de L-lactato, o dos moléculas de etanol y dos de CO_2 . El rendimiento energético de estas fermentaciones es de 2ATP por molécula de glucosa, ya que podemos considerar que dos de los cuatro ATP generados en la última fase de la glucólisis sirven para reponer el gasto inicial de 2ATP en las reacciones catalizadas por la *hexoquinasa* y la *fosfofructoquinasa-1*.

La estequiometría global de la glucólisis aerobia es:



Al igual que en la vía anaerobia, se generan dos moléculas de ATP por molécula de glucosa; sin embargo, en este caso también se generan dos moléculas de NADH como resultado neto. Como consecuencia de la actividad de la lanzadera de malato-aspartato este NADH citoplasmático genera NADH mitocondrial, que al ceder sus electrones a la cadena respiratoria, y por acoplamiento con la fosforilación oxidativa, puede generar aproximadamente 3ATP por molécula de NADH. En este caso, a partir de los 2NADH generados en la glucólisis se formarán seis moléculas de ATP en la mitocondria.

Sin embargo, mediante la actividad de la lanzadera del glicerol-3-fosfato, por cada NADH citoplasmático reoxidado se transfieren dos electrones al CoQ en la cadena respiratoria, obteniéndose 2ATP. De este modo, los 2NADH generados en la glucólisis pueden formar indirectamente 4ATP en la mitocondria. En resumen, suponiendo la actuación de cada uno de dichos sistemas de lanzadera, los balances energéticos teóricos respectivos serían:

1)	Glucosa \rightarrow 2 Piruvato	2ATP
	2NADH \rightarrow 2NAD ⁺	6ATP
	(lanzadera de malato-aspartato)	<hr/>
		8ATP
2)	Glucosa \rightarrow 2 Piruvato	2ATP
	2NADH \rightarrow 2NAD ⁺	4ATP
	(lanzadera de glicerol-3-fosfato)	<hr/>
		6ATP

Así pues, el balance energético global teórico de la glucólisis en condiciones aerobias puede ser de ocho o de seis moléculas de ATP, dependiendo de si el NADH citoplasmático es reoxidado mediante la lanzadera del malato-aspartato o la del glicerol-3-fosfato, respectivamente.

REGULACION DE LAS ENZIMAS DE LA GLUCOLISIS

Las reacciones glucolíticas con mayor responsabilidad en la regulación de la vía (mayor coeficiente de control) son la de transporte de la glucosa y las catali-

zadas por las enzimas *hexoquinasa*, *fosfofructoquinasa-1* y *piruvato quinasa*. Estas enzimas son alostéricas.

Hexoquinasas

Al hablar de la primera reacción de la glucólisis ya se dijo que existen cuatro isoenzimas principales con actividad hexoquinasa: las *hexoquinasas I, II* y *III*, ampliamente distribuidas en los tejidos extrahepáticos, y la *hexoquinasa IV*, o *glucoquinasa*, presente en el hígado. Estas isoenzimas se diferencian no sólo en sus valores de K_m respecto a la glucosa y en su especificidad de sustrato, sino también en su capacidad de ser reguladas.

A diferencia de la *hexoquinasa IV*, las *hexoquinasas I, II* y *III* son inhibidas alostéricamente por el producto de la reacción que catalizan, la glucosa-6-fosfato. Esta inhibición podría representar un mecanismo de control de la utilización de glucosa por los tejidos periféricos. Cuando la velocidad de utilización de glucosa-6-fosfato es menor que la de su síntesis, los niveles de dicho metabolito aumentan en la célula inhibiendo las *hexoquinasas I, II*, y *III*, y, por tanto, la captación de glucosa (véase cap. 15).

Por otro lado, se ha descrito que la insulina incrementa la actividad *hexoquinasa IV* (en hígado) como resultado de un aumento de la cantidad de enzima, producido por un aumento de la velocidad de su síntesis.

Fosfofructoquinasa-1

La *fosfofructoquinasa-1* constituye uno de los casos más típicos de multimodulación; se han descrito más de 20 efectores alostéricos diferentes que modifican su actividad catalítica. Por ello, esta enzima constituye un centro clave de integración de diferentes señales metabólicas.

In vivo, la reacción catalizada por esta enzima se halla muy alejada del equilibrio, de forma que en la vía gluconeogénica (cap. 17) la transformación opuesta (de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato) debe realizarse mediante una reacción diferente catalizada por otra enzima, la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*. Así, se genera un ciclo entre sustratos (cap. 17) que realza la importancia cuantitativa de la enzima *fosfofructoquinasa-1* como reguladora, no sólo de la vía glucolítica, sino también de la vía gluconeogénica.

Los principales efectores alostéricos de la *fosfofructoquinasa-1* se muestran en la figura 16.8. En presencia de ATP, la enzima presenta cooperatividad positiva para su sustrato, la fructosa-6-fosfato. Hay que destacar que el ATP, a pesar de ser un cosustrato de la reacción, es un potente efector alostérico negativo de la enzima, aunque su efecto inhibitor disminuye en presencia de AMP, fructosa-6-fosfato, diferentes azúcares 1,6-bisfosforilados, fosfato o amoníaco.

Además, la enzima es inhibida drásticamente por el glucagón. En 1979, se comprobó que el glucagón disminuía la afinidad de la *fosfofructoquinasa-1* por la fructosa-6-fosfato y potenciaba el efecto inhibitor del ATP. En un principio se propuso que estas alteraciones eran consecuencia de la fosforilación de la enzima por medio de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. Sin embargo, poco más tarde (1980) se comprobó que la forma fosforilada de la *fosfofructoquinasa-1* no presentaba grandes diferencias de actividad respecto a la enzima desfosforilada, invalidando así la hipótesis propuesta para la acción del glucagón sobre la enzima.

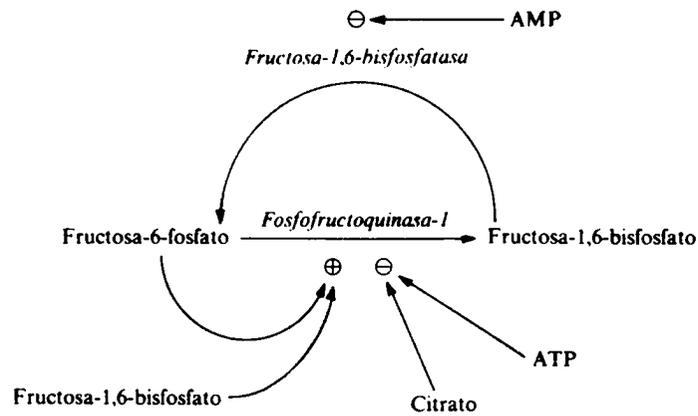


Figura 16.8. Regulación global de la fosfofructoquinasa-1

Inmediatamente se propuso que el glucagón producía la desaparición del medio de algún efector positivo, de bajo peso molecular, de la fosfofructoquinasa-1. Este efector fue pronto identificado y caracterizado como la fructosa-2,6-bisfosfato (fig. 16.9). De hecho, se trata del activador más potente conocido de esta enzima.

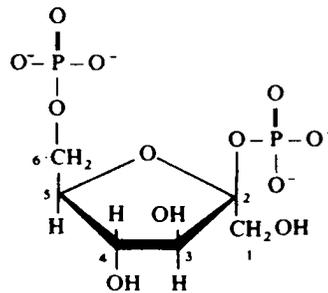


Figura 16.9. Estructura de la fructosa-2,6-bisfosfato.

La fructosa-2,6-bisfosfato se sintetiza a partir de la fructosa-6-fosfato, mediante una reacción de fosforilación con ATP semejante a la de biosíntesis de fructosa-1,6-bisfosfato. Para diferenciar las enzimas que catalizan ambas reacciones, a ésta se la denominó fosfofructoquinasa-1, mientras que a la que cataliza la biosíntesis de fructosa-2,6-bisfosfato se le llamó fosfofructoquinasa-2. También, igual que ocurre con la fructosa-1,6-bisfosfato, la fructosa-2,6-bisfosfato puede desfosforilarse en una reacción catalizada por una fosfatasa, en este caso la llamada fructosa-2,6-bisfosfatasa.

En el año 1984 se propuso que las actividades enzimáticas fosfofructoquinasa-2 y fructosa-2,6-bisfosfatasa se localizaban en la misma proteína, que correspondía así a una sola enzima bifuncional (véase fig. 16.10).

La enzima fosfofructoquinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa es alostérica, y sus actividades catalíticas se hallan reguladas por diferentes efectores, siendo los más importantes los que se resumen en la figura 16.10. La enzima expresa una u otra actividad catalítica en función de su grado de fosforilación, de forma que la proteína desfosforilada presenta mayor actividad fosfofructoquinasa-2 mientras que fosforilada presenta fundamentalmente actividad fructosa-2,6-bisfosfatasa.

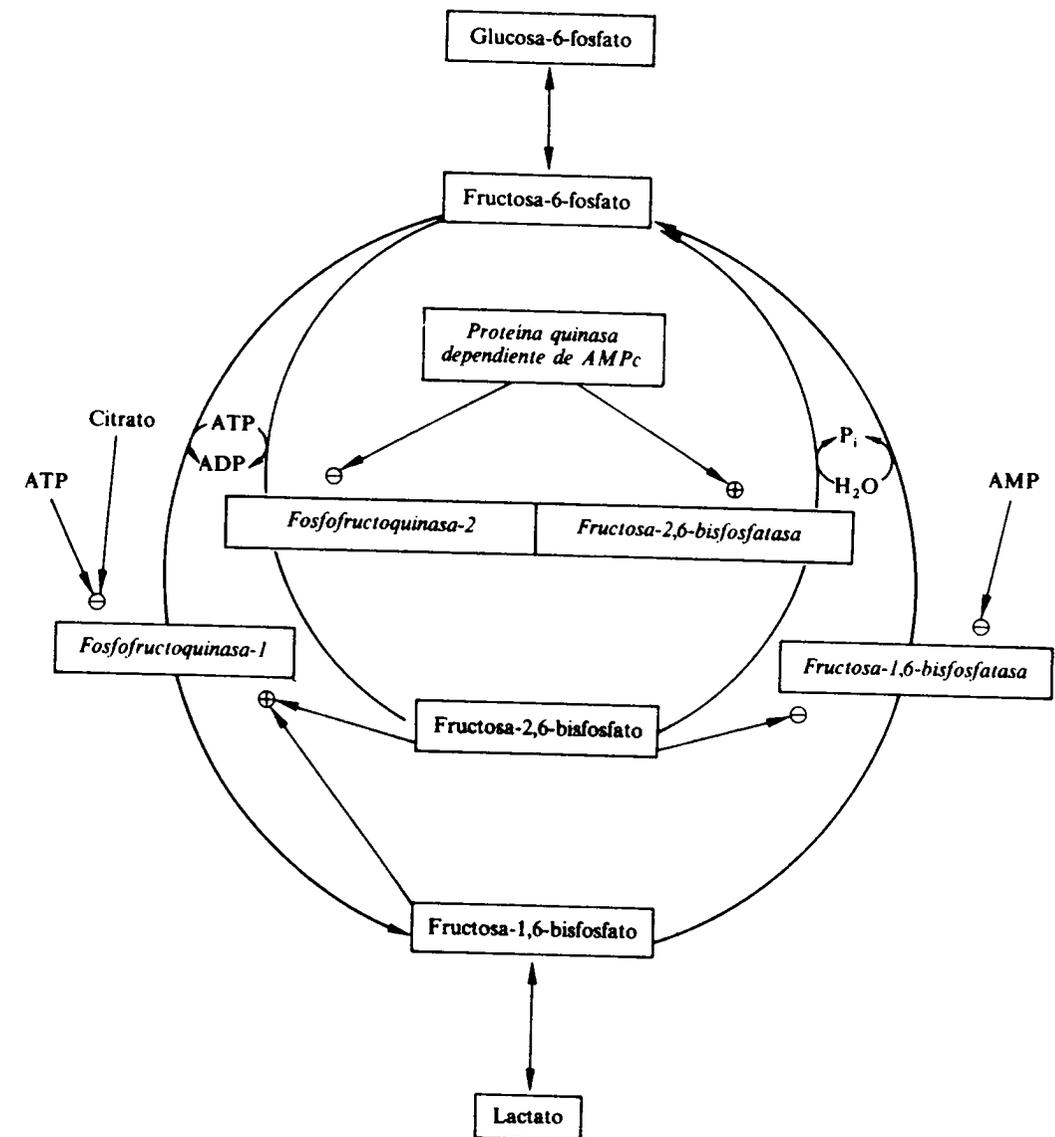


Figura 16.10. Papel de la fructosa-2,6-bisfosfato en la regulación de la fosfofructoquinasa-1 y de la fructosa-1,6-bisfosfatasa.

Debido a los potentes efectos de la fructosa-2,6-bisfosfato, activador de la fosfofructoquinasa-1 e inhibidor de la fructosa-1,6-bisfosfatasa, el control del grado de fosforilación de la enzima bifuncional fosfofructoquinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa es crucial en la regulación de la glucólisis.

Este control del grado de fosforilación viene ejercido a través de la proteína quinasa dependiente de AMPc y, probablemente, de una fosfatasa. De esta forma, aquellas hormonas que incrementen los niveles intracelulares de AMPc (como el glucagón en el hígado), activarán la proteína quinasa, la cual fosforilará la enzima bifuncional fosfofructoquinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa disminuyendo así su actividad quinasa y aumentando su actividad fosfatasa (véase fig. 16.10). Este cambio producirá una disminución de los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato, con lo cual

la *fosfofructoquinasa-1* dejará de ser activada y la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* dejará de ser inhibida por este compuesto. Así, un aumento de los niveles de AMPc inhibe la vía glucolítica y favorece la vía contraria, la gluconeogénesis (véase cap. 17). Por el contrario, disminuciones de los niveles de AMPc supondrán incrementos de los de fructosa-2,6-bisfosfato y, por tanto, una activación de la vía glucolítica.

Es interesante destacar también el hecho de que este potente activador de la glucólisis en la mayoría de tejidos, la fructosa-2,6-bisfosfato, no es un metabolito independiente de la propia vía, sino que se sintetiza a partir de un intermediario de la glucólisis. Así, cualquier incremento de la disponibilidad de fructosa-6-fosfato, de glucosa-6-fosfato (ambos metabolitos están en equilibrio a través de la *glucosa fosfato isomerasa*), o de las dos, tenderá a incrementar los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato por simple aumento de la disponibilidad de sustrato, lo cual producirá un aumento extra de la velocidad de glucólisis cuando aumente la cantidad de sustrato que va a metabolizarse por esta vía.

El significado metabólico de algunos de los moduladores alostéricos del sistema fructosa-1,6-bisfosfato/fructosa-2,6-bisfosfato será discutido más adelante en este mismo capítulo.

Piruvato quinasa

Se han aislado al menos tres isoenzimas de la *piruvato quinasa* en tejidos de mamíferos. La de *tipo M* se presenta en músculo y en cerebro; la de *tipo L* es la mayoritaria en hígado y también se presenta en riñón; y la de *tipo A* (también denominada K o M₂) se halla presente en la mayoría del resto de tejidos, incluyendo el riñón, el tejido adiposo y el pulmón.

Estas enzimas son proteínas tetraméricas, de un peso molecular aproximado de 250.000 daltons. Los tres tipos de isoenzimas pueden distinguirse por su tipo de cinética y sus propiedades inmunoquímicas. A diferencia del tipo M, el tipo A y el tipo L, están reguladas alostéricamente. La conformación más activa está favorecida por fosfoenolpiruvato y por fructosa-1,6-bisfosfato, mientras que la conformación menos activa está favorecida por ATP, alanina y algunos otros aminoácidos (fig. 16.11). Las características cinéticas de la enzima de hígado son tales que en presencia de concentraciones fisiológicas de fosfoenolpiruvato, la actividad de la enzima es muy baja y puede ser estimulada por concentraciones micromoleculares de fructosa-1,6-bisfosfato, lo cual representa, en cierta medida, una transferencia de información sobre la velocidad a la que se está desarrollando la reacción glucolítica catalizada por la *fosfofructoquinasa-1*. De esta forma, cualquier efector que produzca una activación de la *fosfofructoquinasa-1* también producirá una activación de la *piruvato quinasa* al incrementar los niveles de fructosa-1,6-bisfosfato.

La enzima de hígado se fosforila por una *proteína quinasa dependiente de AMPc*, lo cual hace disminuir la afinidad para el fosfoenolpiruvato y para la fructosa-1,6-bisfosfato, mientras que aumenta la afinidad por otros efectores alostéricos como el ATP y la alanina, sin que varíe la V_{max} . La desfosforilación revierte estos cambios. Como se indica más adelante, esta modulación de la actividad por fosfo-desfosforilación hace que la enzima sea regulable por hormonas que modifican los niveles de AMPc, como el glucagón y las catecolaminas. Los tipos A y M de la *piruvato quinasa* no son sustrato de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*.

La actividad *piruvato quinasa* también está regulada a largo plazo. El hígado de rata contiene unas 50 unidades de actividad enzimática por gramo de hígado,

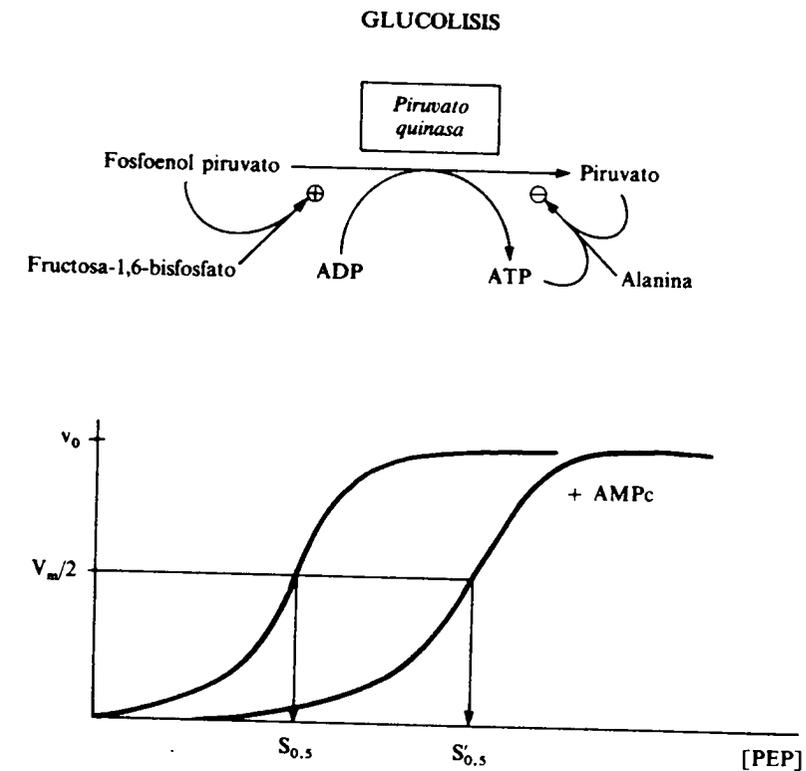


Figura 16.11. Regulación de la piruvato quinasa. PEP: fosfoenol piruvato.

lo cual significa unas cinco veces más que para el caso de la *piruvato carboxilasa* y el de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*. El contenido de *piruvato quinasa* aumenta unas cinco veces con la ingesta de una dieta rica en carbohidratos y disminuye unas tres veces durante el ayuno. Estas variaciones están relacionadas con la cantidad de mRNA que codifica para la enzima, lo cual posiblemente refleje un incremento de la velocidad de transcripción inducido por la insulina.

CONTROL DE LA GLUCOLISIS

A continuación se ofrece una visión más integrada y global de la regulación de la vía glucolítica, estudiando cómo y a través de qué mecanismos se modifica la velocidad de esta vía en diferentes situaciones celulares y por diferentes compuestos.

En la figura 16.12 se muestra un resumen de los principales moduladores de las tres actividades enzimáticas clave del control de la glucólisis. Para facilitar la comprensión del sentido de los diferentes reguladores, se indica el efecto final producido por cada modulador sin especificar el mecanismo a través del cual se produce cada efecto.

Estado energético celular

En condiciones energéticas celulares en las que disminuyen los niveles de ATP, se produce una desinhibición tanto de la *fosfofructoquinasa-1* como de la *piruvato quinasa* (fig. 16.12), lo cual repercutirá en un incremento de la velocidad de la glucólisis. El aumento de los niveles de AMP asociado a la disminución de los de

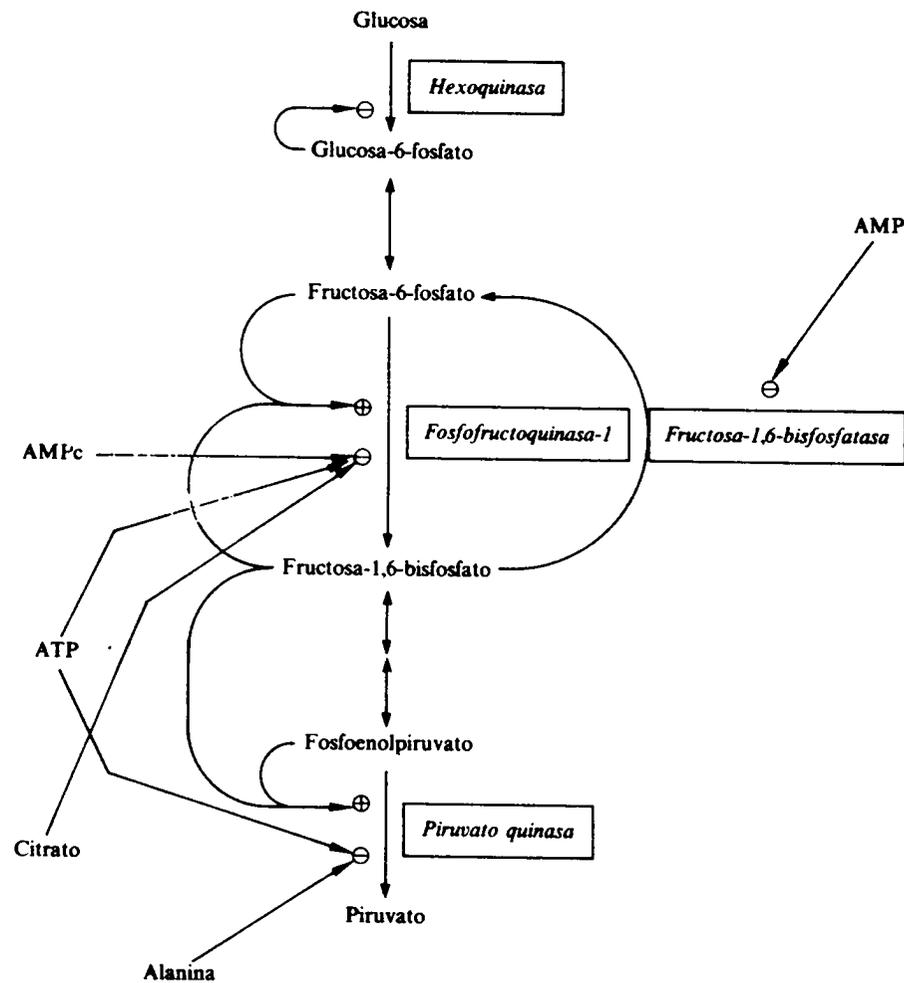


Figura 16.12. Regulación global de la glucólisis.

ATP, representa también una activación de la vía glucolítica en los tejidos con actividad *fructosa-1,6-bisfosfatasa* (véase cap. 17). En efecto, el AMP inhibe esta enzima favoreciendo así el desplazamiento del ciclo entre sustratos fructosa-6-fosfato/fructosa-1,6-bisfosfato hacia el sentido glucolítico (fig. 16.12).

Efecto Pasteur

En 1861, Luis Pasteur comprobó que, por gramo de glucosa consumida, un cultivo de levadura crece a mayor velocidad en presencia de aire que en su ausencia. Este hecho indica que, cuando hay aire, la levadura metaboliza la glucosa de forma más eficiente que en condiciones anaerobias, por lo que para obtener la misma cantidad de energía metabólica el consumo de glucosa es menor en presencia que en ausencia de aire. Así pues, el *efecto Pasteur* consiste en la disminución de la velocidad de glucólisis al aumentar la asequibilidad de oxígeno para la célula.

Se cree que son varios los mecanismos de regulación metabólica que concurren en la producción de este efecto:

1. La glucólisis puede ser inhibida por un déficit de ADP y de fosfato inorgánico. En este sentido, es interesante señalar que, en conjunto, la vía glucolítica requiere ADP y fosfato inorgánico para su funcionamiento (véase fig. 16.1). Por otro lado, la fosforilación oxidativa utiliza también (como sustratos para la síntesis de ATP) ADP y fosfato inorgánico (véase cap. 10 y fig. 16.13), de forma que puestos. Al pasar de una situación anaerobia a otra aerobia, la cadena respiratoria se activa enormemente debido a la mayor asequibilidad de oxígeno (véase cap. 10), lo cual supone una disminución inmediata de los niveles de ADP y de fosfato inorgánico, cuya disponibilidad para la vía glucolítica también disminuirá. De esta manera, cuando aumente la asequibilidad de oxígeno, la velocidad de glucólisis se verá restringida por las bajas concentraciones de ADP y de fosfato inorgánico.
2. El aumento de los niveles de ATP concomitante a este incremento de la velocidad de la fosforilación oxidativa, supondrá una inhibición de la *fosfofructoquinasa-1* (véase fig. 16.12), lo cual también contribuirá a disminuir la velocidad de la vía glucolítica.
3. Hay que tener en cuenta que al aumentar la velocidad de la cadena respiratoria también aumentará la velocidad de oxidación del NADH a NAD⁺ (fig. 16.13), lo cual producirá una disminución de los niveles tanto intramitocondriales como citoplasmáticos de NADH y un aumento de los de NAD⁺. Esta disminución de la relación NADH/NAD⁺ supondrá, por un lado, que el piruvato ya no mostrará tendencia a transformarse en lactato en el citoplasma, como ocurría en ausencia de oxígeno, con lo que se conseguía oxidar una molécula de NADH compensando así la reducción de una molécula de NAD⁺ producida en la reacción de la glucólisis catalizada por la *gliceraldehido-3-fosfato-deshidrogenasa*. Por el contrario, el piruvato tenderá ahora a dirigirse hacia la mitocondria, ya que este transporte viene potenciado por el gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna, gradiente que aumenta enormemente al activarse la cadena respiratoria (véase cap. 10). En la mitocondria, el piruvato será descarboxilado y transformado en acetil-CoA, o bien carboxilado a oxaloacetato, ambos sustratos del ciclo del ácido cítrico (véase cap. 12). En consecuencia,

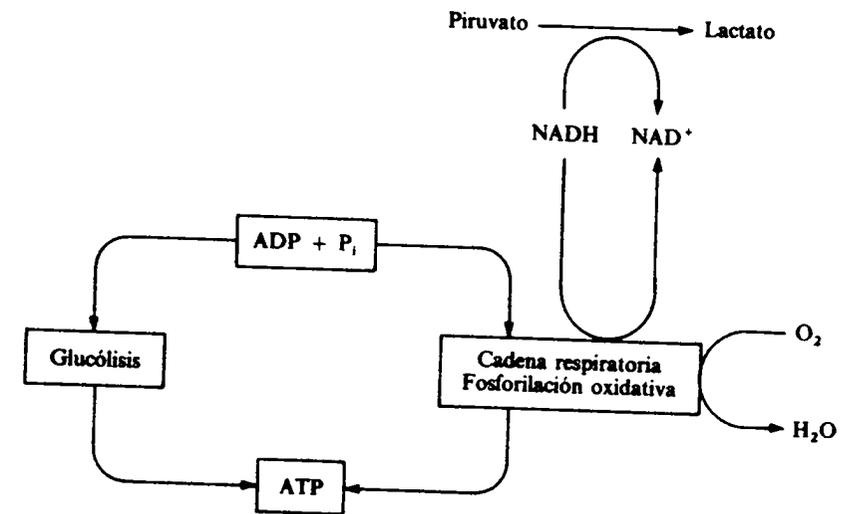


Figura 16.13. Competencia entre la glucólisis y la cadena respiratoria/fosforilación oxidativa por el ADP y el fosfato inorgánico (P_i).

tanto el incremento de la concentración de piruvato en la mitocondria como la disminución de la relación NADH/NAD^+ antes citada provocará una activación de dicho ciclo (véase cap. 12), con lo cual los niveles de citrato aumentarán en la mitocondria y, secundariamente, en el citoplasma. El citrato es un inhibidor alostérico de la *fosfofructoquinasa-1*, de forma que el incremento de sus niveles en el citoplasma potenciará la inhibición de la vía glucolítica.

Por último, hay que tener en cuenta que una disminución de la actividad de la *fosfofructoquinasa-1* supone un incremento de los niveles de fructosa-6-fosfato, sustrato de la reacción, incremento que producirá un aumento de los niveles de glucosa-6-fosfato debido a que la reacción anterior de la vía se halla muy cercana al equilibrio. La glucosa-6-fosfato es un inhibidor alostérico de la actividad de las *hexoquinasas*, de forma que la inhibición de la *fosfofructoquinasa-1*, a través de un aumento de los niveles de fructosa-6-fosfato y de glucosa-6-fosfato, repercutirá en una inhibición de la actividad de las *hexoquinasas* y, por tanto, en una disminución de la captación de glucosa por la célula.

Regulación hormonal

Todavía se conocen poco los mecanismos por los cuales las hormonas regulan la velocidad de la glucólisis en los diferentes tejidos.

En hígado, el glucagón provoca un aumento de los niveles de AMPc, el cual, a través de su acción sobre las actividades fosfofructoquinasa-2 y fructosa-2,6-bisfosfatasa produce una disminución de los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato. Esta disminución supone una desactivación de la *fosfofructoquinasa-1* y una desinhibición de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* (fig. 16.10). Además, el incremento de los niveles de AMPc también inhibe la actividad de la *piruvato quinasa* (fig. 16.11). Como consecuencia de todo ello, el glucagón produce una inhibición de la velocidad de la glucólisis y un aumento de la vía contraria, la gluconeogénesis (véase cap. 17).

Por otra parte, se ha descrito que las catecolaminas, hormonas que típicamente incrementan los niveles de AMPc en músculo, aumentan de forma notable la velocidad de la glucólisis en este tejido. Se acepta que uno de los mecanismos a través de los cuales puede producirse este efecto es el incremento que producen dichas hormonas sobre la velocidad de glucogenólisis (cap. 19), aumentando así la concentración intracelular de glucosa-6-fosfato, y provocando un aumento de la velocidad de la glucólisis al aumentar la disponibilidad de sustrato. Además, este incremento en la concentración de glucosa-6-fosfato provoca una elevación de la fructosa-6-fosfato y, en consecuencia, de la fructosa-2,6-bisfosfato, lo que provoca una activación de la *fosfofructoquinasa-1* y, por tanto, una activación de la glucólisis.

Se sabe también que la insulina estimula la velocidad de glucólisis en determinados tejidos, tales como el músculo esquelético, el corazón y el tejido adiposo blanco. Sin embargo, el mecanismo de acción de esta hormona sobre la vía glucolítica no ha sido completamente dilucidado. Uno de los factores responsables de esta activación podría ser el incremento que produce la insulina sobre la velocidad de transporte de glucosa hacia el interior de las células, lo cual coincide con el ligero aumento intracelular de glucosa-6-fosfato descrito en tales condiciones. En este caso, sin embargo, el estímulo de la velocidad de la vía por disponibilidad de sustrato no debe ser muy marcado ya que la insulina estimula también la síntesis de glucógeno a partir de glucosa-6-fosfato. Además, tanto en el músculo esquelético como en el corazón se ha descrito que la insulina eleva los niveles de

fructosa-2,6-bisfosfato, lo cual coincide con el aumento de la actividad fosfofructoquinasa-2 descrito en corazón tras la administración *in vivo* de insulina.

Ciclo de la glucosa/ácidos grasos

Bajo este nombre poco afortunado se suele describir la idea de que en algunos tejidos como el corazón, el músculo esquelético, la glándula mamaria y el cerebro, existe una relación inversa entre la utilización de glucosa y la disponibilidad de sustratos lipídicos (ácidos grasos o cuerpos cetónicos). Como se indica en el capítulo 23, la metabolización de estos compuestos lipídicos produce un incremento de los niveles de acetil-CoA y, en consecuencia, de los de citrato (fig. 16.14). Un aumento de la concentración citoplasmática de citrato provoca una disminución de la actividad de la *fosfofructoquinasa-1* y, por tanto, de la velocidad de la glucólisis. Además, el incremento concomitante a esta inhibición de los niveles de fructosa-6-fosfato, provoca un aumento de los de glucosa-6-fosfato, y éstos una inhibición de la actividad hexoquinasa, con lo cual disminuye la velocidad de utilización de glucosa por el tejido.

Así, los tejidos antes citados tienden a preservar la glucosa si existe disponibilidad de sustratos lipídicos. Asimismo, cuando existe un aumento de la disponibilidad de glucosa (por ejemplo, tras una ingesta de alimento), se estimula la secreción de insulina por el páncreas (véase cap. 42). Por una parte, la insulina provocará un incremento del consumo de glucosa por algunos tejidos, y por otra, como hormona antilipolítica (véase cap. 42), tenderá a disminuir los niveles circulantes de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos. Todo ello comportará un nuevo incremento de la utilización de glucosa por los tejidos, disminución de la glucemia y disminu-

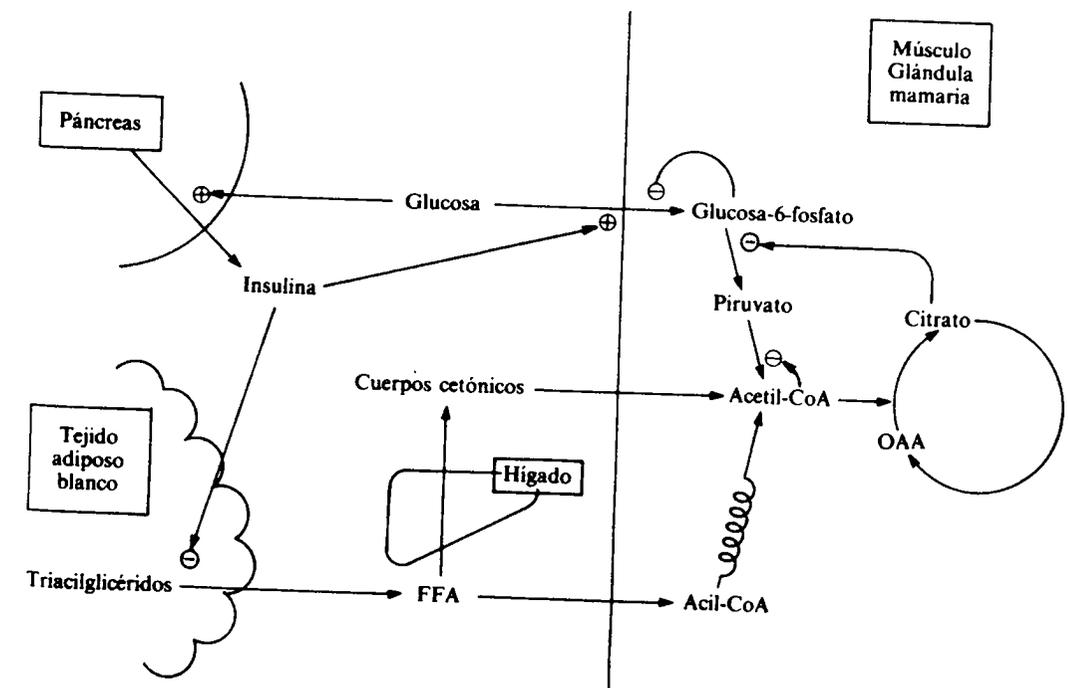


Figura 16.14. Ciclo de la glucosa/ácidos grasos (FFA).

ción de la insulinemia y, por tanto, un nuevo incremento de la lipólisis, aumento de los niveles circulantes de ácidos grasos y de cuerpos cetónicos, con lo que se cierra este ciclo de regulación (no de interconversión) metabólica.

TEXTOS DE CONSULTA

- Carruthers, A.: «Sugar Transport in Animal Cells: The Passive Hexose Transfer System», *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, 43:33-69, 1984.
- Dawson, A. G.: «Oxidation of cytosolic NADH formed during aerobic metabolism in mammalian cells», *Trends Biochem. Sci.*, 171-175, 1979.
- Gould, G. W., y Bell, G. I.: «Facilitative glucose transporters: an expanding family», *Trends Biochem. Sci.*, 15:18-23, 1990.
- Hers, H. G., y Hue, H.: «Gluconeogénesis and related aspects of glycolysis», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:617-653, 1983.
- Hue, L., y Bartrons, R.: «Role of fructose-2,6-bisphosphate in the control of glycolysis in liver, muscle and adipose tissue», en *Regulation in Carbohydrate Metabolism*, CRC Press, Inc., 1984.
- Hue, L., y Rider, M.: «Role of fructose-2,6-bisphosphate in the control of glycolysis in mammalian tissues», *Biochem. J.*, 245:313-324, 1987.
- Hue, L., y Rider, M.: «Le fructose-2,6-bisphosphate: un activateur de la glycolyse», *Medicine Sciences*, 10:568-573, 1987.
- Kahn, B. B., y Cushman, S. W.: «Subcellular translocation of glucose transporters: role in insulin action and its perturbation in altered metabolic states», *Diabetes/Metabolism Rev.*, 1:203-227, 1985.
- Mueckler, M.: «Family of glucose-transporter genes. Implications for glucose homeostasis and diabetes», *Diabetes*, 39:6-11, 1990.
- Racker, E.: «From Pasteur to Mitchell: a hundred years of bioenergetics», *Federation Proc.*, 39:210-215, 1980.
- Randle, P. J.: «Carbohydrate metabolism and lipid storage and breakdown in diabetes», *Diabetologia*, 2:237-247, 1966.
- Randle, P. J.; Sugden, P. H.; Kerbey, A. L.; Radcliffe, P. M., y Hutson, N. J.: «Regulation of pyruvate oxidation and the conservation of glucose», *Biochem. Soc. Symp.*, 43:47-67, 1978.
- Sols, A.: «El efecto Pasteur en la era alostérica», en *Avances de la Bioquímica*, Cornudella, L., Oró, J., de Heredia, C. F., y Sols, A. (eds.), págs. 451-460, Salvat Editores, Barcelona, 1977.
- Van Schaftingen, E.: «Fructose-2,6-bisphosphate», *Adv. Enzymol.*, 59:315-395, 1987.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)



Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Gluconeogénesis



ANTONIO ZORZANO

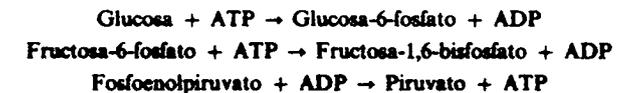
El mantenimiento de la concentración de glucosa sanguínea en los mamíferos es un proceso único. A pesar de las grandes fluctuaciones con respecto al metabolismo, a la ingesta, o a la actividad física, por ejemplo, la concentración de glucosa en sangre se mantiene entre unos estrechos límites, si se compara con las variaciones de otros parámetros metabólicos, tales como los niveles de glucógeno hepático o de cuerpos cetónicos en plasma. Parte de esta homeostasis de la glucosa depende de la síntesis de novo a partir de precursores no hexosas, proceso conocido como *gluconeogénesis*.

En mamíferos, esta vía metabólica se halla confinada al hígado y a la corteza renal. En condiciones normales, la aportación de la corteza renal a la homeostasis de la glucosa es reducida. Sin embargo, en situaciones tales como ayuno, acidosis o daño hepático, el papel de la corteza renal aumenta, llegando a representar, por ejemplo, durante el ayuno prolongado en el hombre hasta el 50 por 100 de la producción total de glucosa.

ETAPAS DE LA GLUCONEOGENESIS

El punto de partida de la vía gluconeogénica es el piruvato localizado en el compartimiento intramitocondrial y su finalidad es la generación de glucosa citoplasmática (figs. 17.1 y 17.2), por lo cual cabe considerar esta vía como el proceso inverso a la glucólisis. Desde el punto de vista de la producción de energía, la gluconeogénesis es una vía energéticamente «ascendente», a la que debe aportarse energía para que se lleve a efecto la síntesis de glucosa, en contraposición a la glucólisis, que la libera (cap. 16).

La gluconeogénesis transcurre a través de una serie de reacciones catalizadas por enzimas comunes a la glucólisis, aunque en sentido inverso. Sin embargo, las siguientes reacciones de la glucólisis están muy desplazadas del equilibrio (cap. 16):



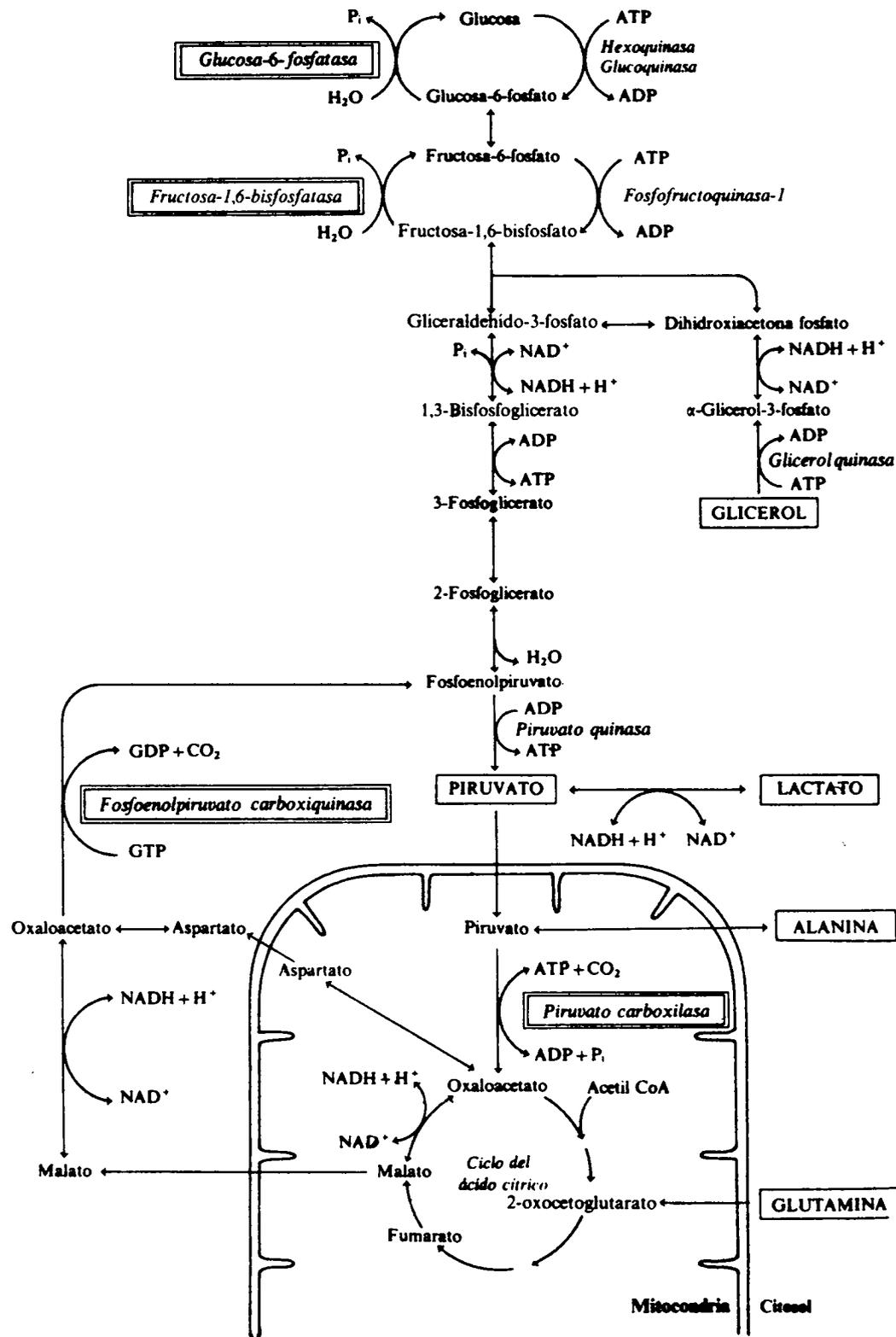


Figura 17.1. Esquema general de la gluconeogénesis en el que se indica su compartimentación intracelular. □ = Sustratos principales de la gluconeogénesis. ▢ = Enzimas que catalizan reacciones alejadas del equilibrio en la gluconeogénesis.

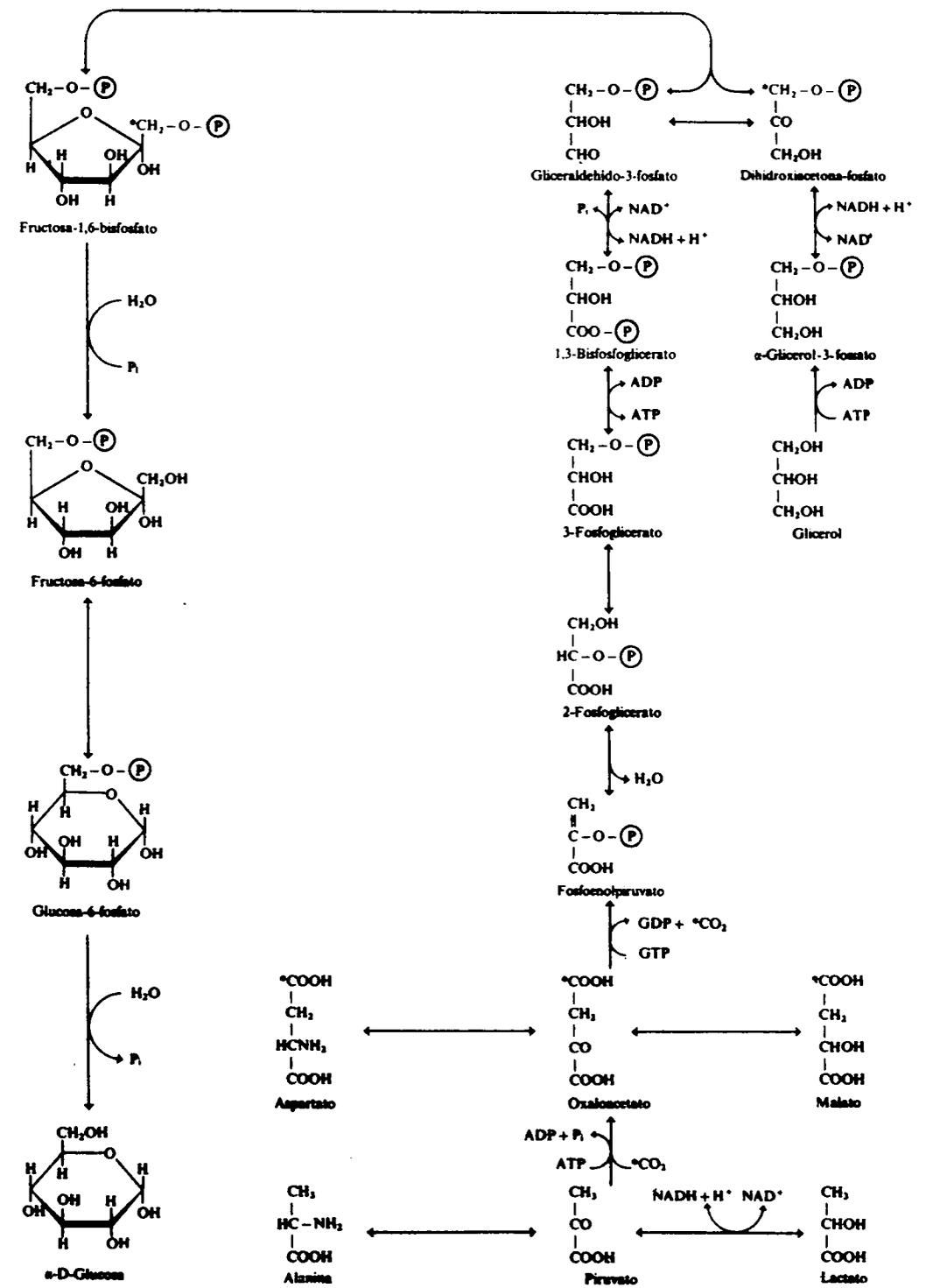


Figura 17.2. Metabolitos intermedios de la gluconeogénesis.

En consecuencia, tales reacciones no intervienen en la gluconeogénesis, en la que se siguen reacciones alternativas, termodinámicamente favorables.

Para facilitar la comprensión de la vía gluconeogénica, se considerará dividida en tres etapas distintas:

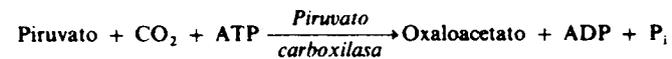
1. Transformación de piruvato en fosfoenolpiruvato.
2. Transformación de fosfoenolpiruvato en fructosa-1,6-bisfosfato.
3. Transformación de fructosa-1,6-bisfosfato en glucosa.

Transformación de piruvato a fosfoenolpiruvato

Este es uno de los pasos que no pueden transcurrir por inversión de la correspondiente reacción glucolítica; es decir, la *piruvato quinasa* no es capaz de catalizar *in vivo* la reacción en el sentido de síntesis de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato, lo cual obliga a efectuar una larga serie de reacciones, que comprometen tanto al comportamiento mitocondrial como al citoplasmático (figs. 17.1 y 17.2), y que se presentan a continuación.

Síntesis de oxaloacetato

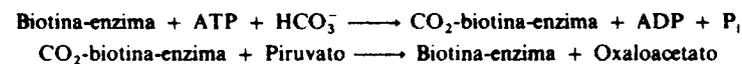
La primera reacción ($\Delta G^{\circ} = -0,5$ kcal/mol) tiene lugar en la mitocondria por intervención de la *piruvato carboxilasa*, que cataliza la conversión de piruvato en oxaloacetato.



El papel de esta enzima no es importante sólo en la gluconeogénesis, sino también en el mantenimiento de los niveles de determinados intermediarios del ciclo del ácido cítrico (cap. 12), función anaplerótica por la cual dicha enzima se encuentra no sólo en los tejidos gluconeogénicos, hígado y corteza renal, sino también en otros, tales como tejido adiposo y cerebro.

La *piruvato carboxilasa* es un tetrámero cuyo peso molecular en hígado de rata es de 440.000 a 520.000 daltons. Cada uno de sus protómeros contiene una molécula de biotina unida covalentemente mediante enlace amida con el grupo ϵ -amino de restos específicos de lisina del sitio activo. Cada subunidad se une también a un ion Mn^{2+} , necesitando además la presencia de iones K^+ y Mg^{2+} para su actividad.

La molécula de biotina actúa como transportador intermediario del CO_2 en dos etapas distintas. En la primera, se une al CO_2 (en realidad, al ion bicarbonato) utilizando la energía aportada por una molécula de ATP, y formando el intermediario carboxibiotina-enzima. El grupo carboxílico se une a la molécula de biotina en el nitrógeno N_1 de su anillo (fig. 17.3). En la segunda etapa, la biotina gira desplazando el grupo carboxilo desde este sitio activo de la enzima al sitio del piruvato, donde transfiere el carboxilo a este último, sintetizándose una molécula de oxaloacetato (fig. 17.3):



Salida del oxaloacetato de la mitocondria y generación de fosfoenolpiruvato

El oxaloacetato formado debe convertirse en fosfoenolpiruvato por intervención catalítica de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*, enzima cuya localización

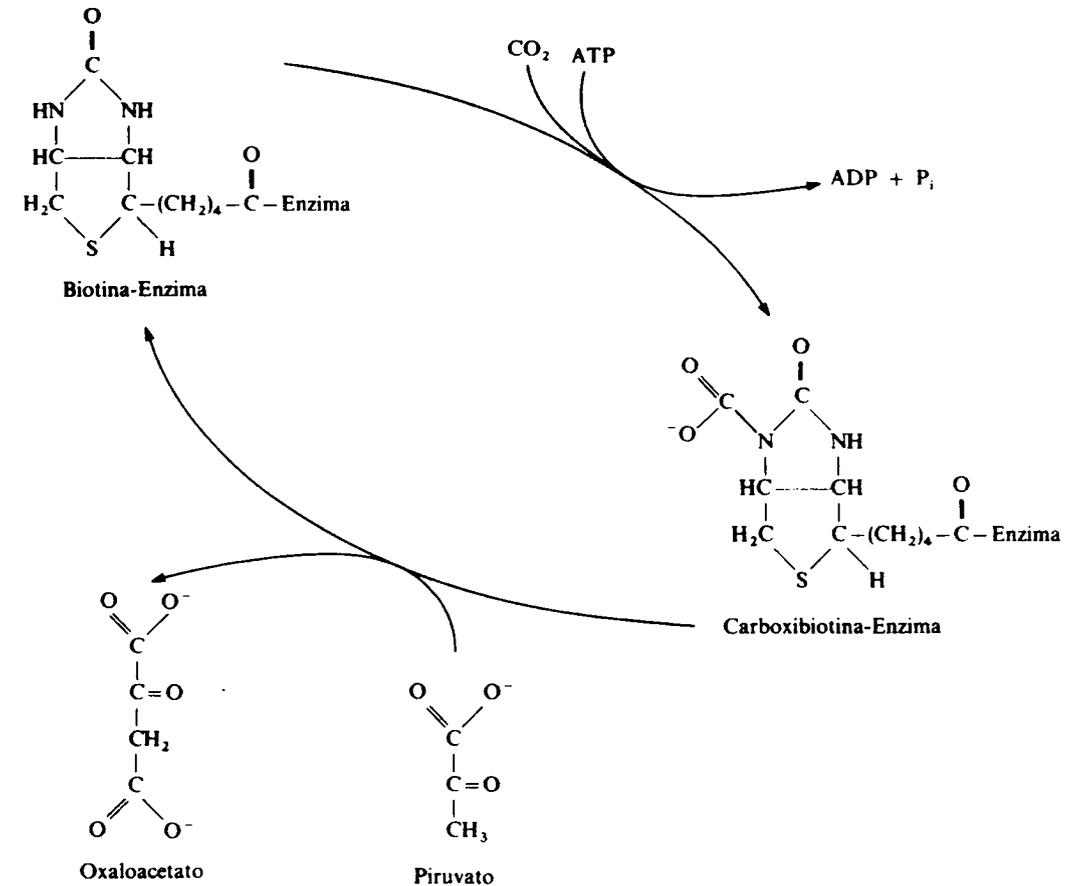


Figura 17.3. Mecanismo de acción de la *piruvato carboxilasa*.

intracelular es muy variable entre las distintas especies. Así, mientras que en la rata y el ratón sólo es citoplasmática; en el pollo, la paloma y el conejo es principalmente mitocondrial; y en el cobayo y el hombre se distribuye aproximadamente igual entre mitocondria y citoplasma.

Cuando existe sólo enzima citoplasmática, como en la rata, se plantea el problema de sacar al citoplasma el oxaloacetato formado en la mitocondria (fig. 17.1), el cual no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. Este problema se resuelve utilizando las denominadas lanzaderas del oxaloacetato, reacciones mediante las cuales se sintetizan moléculas derivadas del oxaloacetato que sí son capaces de atravesar la membrana mitocondrial y salir al citoplasma. Una vez en éste, regeneran el oxaloacetato (fig. 17.1).

Se conocen varios de estos sistemas de lanzaderas:

1. El oxaloacetato formado es reducido a malato por medio de la *malato deshidrogenasa* mitocondrial, con la intervención de NADH.



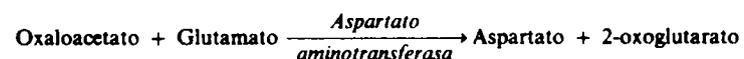
La molécula de malato puede abandonar la mitocondria por medio del siste-

ma de translocasas de dicarboxilatos situados en la membrana mitocondrial interna. Una vez en el citoplasma, el malato sufre el proceso inverso:

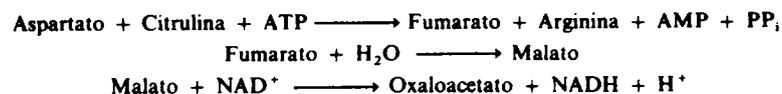


Estas dos reacciones son posibles gracias, por un lado, a la elevada relación mitocondrial NADH/NAD^+ , que favorece el paso de oxaloacetato a malato; y por otro lado, a que la relación NADH/NAD^+ es más baja en el citoplasma, lo que permite la reacción inversa.

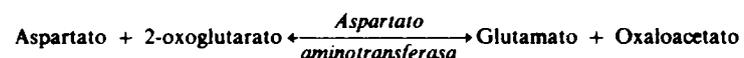
2. El oxaloacetato es convertido a aspartato en una reacción catalizada por la isoenzima mitocondrial *aspartato aminotransferasa*:



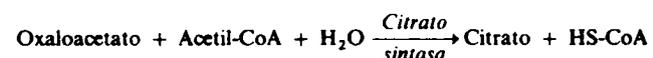
Mediante una translocasa de la membrana mitocondrial, el aspartato llega al citoplasma, donde puede seguir varios caminos. Puede incorporarse al ciclo de la urea (cap. 31), para salir de él en forma de fumarato y en las reacciones del ciclo del ácido cítrico (cap. 12), convertirse luego en oxaloacetato



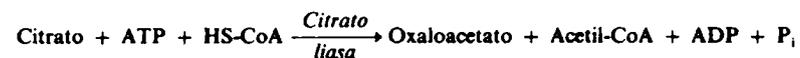
También se puede formar directamente oxaloacetato por medio de la isoenzima citoplasmática *aspartato aminotransferasa*:



3. El oxaloacetato sirve para la síntesis de citrato, proceso catalizado por la *citrato sintasa*.

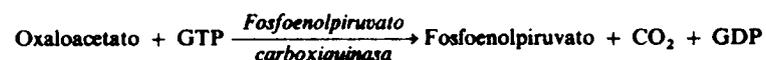


El citrato es capaz de atravesar la mitocondria por una translocasa de tricarboxilatos y allí desdoblarse en oxaloacetato y acetil-CoA mediante la *enzima liberadora de citrato*, o *citrato liasa*:



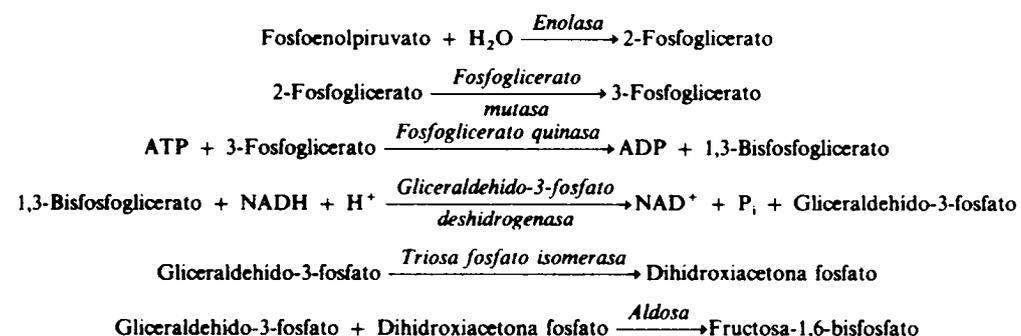
Debe señalarse que esta tercera lanzadera no parece tener mucha importancia en situaciones de elevado flujo gluconeogénico.

Una vez que el oxaloacetato ha salido al citoplasma actúa sobre él la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* localizada en el compartimiento citoplasmático, produciendo fosfoenolpiruvato en una reacción que presenta una variación de energía libre ligeramente positiva ($\Delta G^{\circ} = +1,0$ kcal/mol). Esta reacción sólo tiene lugar en el sentido de formación de fosfoenolpiruvato ya que la enzima tiene muy baja afinidad por el CO_2 :



Transformación de fosfoenolpiruvato en fructosa-1,6-bisfosfato

Esta etapa comprende una serie de reacciones reversibles comunes con la glucólisis (cap. 16) (figs. 17.1 y 17.2), y catalizadas por las mismas enzimas glucolíticas. A su vez, la velocidad máxima de estas reacciones es muy superior a la de las reacciones alejadas del equilibrio que se acaban de estudiar.

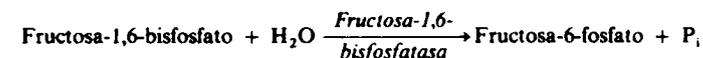


Por otro lado, el control de la velocidad de estas reacciones es ejercido de acuerdo con la ley de acción de masas, por las concentraciones conjuntas de sustratos, cosustratos y productos. Así, por ejemplo, en la reacción catalizada por la *fosfoglicerato quinasa*, un aumento en la relación ATP/ADP favorece el desplazamiento hacia la derecha (hacia la síntesis de 1,3-bisfosfoglicerato). De igual modo, en la reacción mediada por la *gliceraldehido-3-fosfatodeshidrogenasa*, un aumento en la relación NADH/NAD^+ , o en la concentración de 1,3-bisfosfoglicerato, estimula el paso de 1,3-bisfosfoglicerato a gliceraldehido-3-fosfato.

Transformación de fructosa-1,6-bisfosfato en glucosa

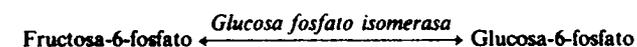
De nuevo, no pueden seguirse los pasos inversos de las reacciones catalizadas por la *fosfofructoquinasa* y la *hexoquinasa*, o la *glucoquinasa*, dada su variación de energía libre estándar desfavorable. En su lugar se utilizan otras rutas, también irreversibles, catalizadas por enzimas diferentes (figs. 17.1 y 17.2).

El primer paso corresponde a la reacción ($\Delta G^{\circ} = -4,0$ kcal/mol) catalizada por la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*:



Esta enzima es una proteína tetramérica con un peso molecular aproximado de 140.000 daltons, presente en hígado, corteza renal, músculo esquelético de contracción rápida e intestino. Aunque el sustrato de esta reacción, la D-fructosa-1,6-bisfosfato, presenta en solución una mezcla en equilibrio de formas anómericas α - (15 por 100) y β - (81 por 100), la enzima se une e hidroliza preferentemente a la forma α -D-fructosa-1,6-bisfosfato. Además, la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* tiene un requerimiento absoluto de un catión divalente, que puede ser Mg^{2+} , Zn^{2+} o Mn^{2+} .

A continuación, la fructosa-6-fosfato es convertida en glucosa-6-fosfato, por una reacción reversible y común a la glucólisis, catalizada por la *glucosa fosfato isomerasa*:



La glucosa-6-fosfato puede seguir diferentes caminos. Puede incorporarse al glucógeno hepático, o puede dar lugar a glucosa, por acción de la *glucosa-6-fosfatasa*, que cataliza la hidrólisis irreversible del grupo fosfato. Esta reacción, al igual que la hidrólisis de la fructosa-1,6-bisfosfato, presenta una variación de energía libre negativa ($\Delta G^{\circ} = -3,3$ kcal/mol):

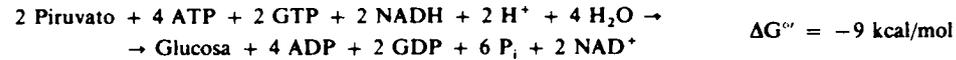


La *glucosa-6-fosfatasa* se encuentra principalmente en el retículo endoplasmático, aunque también se ha detectado su presencia en la cara externa de la membrana nuclear. Aparece fuertemente ligada a las membranas y necesita fosfolípidos específicos para su actividad, de modo que cuando disminuye la cantidad de lípidos en la membrana, se aprecia una bajada concomitante en la actividad *glucosa-6-fosfatasa*.

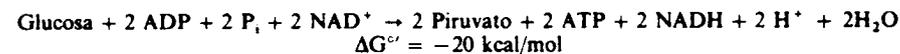
Con respecto a su localización tisular, se ha encontrado en hígado y en riñón, así como en la mucosa del intestino delgado, en las células β del páncreas y en glándula adrenal, testículos, cerebro, bazo y pulmón.

ESTEQUIOMETRIA Y BALANCE ENERGETICO DE LA GLUCONEOGENESIS

La estequiometría de la ruta gluconeogénica global considerada a partir de dos moléculas de piruvato (que dan lugar a una molécula de glucosa) es la siguiente:



Donde se aprecia que para la síntesis de una molécula de glucosa se utilizan seis enlaces fosfatos de alta energía y dos moléculas de NADH, gasto superior al rendimiento de la glucólisis, que es de dos enlaces fosfatos de alta energía y dos moléculas de NADH.



Este coste extra de cuatro enlaces fosfato de alta energía en la gluconeogénesis es el necesario para convertir un proceso termodinámicamente desfavorable ($\Delta G^{\circ} = 20$ kcal/mol) en uno favorable ($\Delta G^{\circ} = -9$ kcal/mol).

SUSTRATOS PRINCIPALES DE LA GLUCONEOGENESIS

Hasta ahora se ha considerado que el sustrato inicial de la gluconeogénesis es siempre el piruvato. Sin embargo, ello no es así y, de hecho, en el hígado los principales sustratos fisiológicos de la gluconeogénesis son el lactato, el piruvato, el glicerol y la alanina, en tanto que en la corteza renal son el lactato, el piruvato, el glicerol y la glutamina. Las concentraciones fisiológicas de los sustratos gluconeogénicos están muy por debajo del nivel de saturación de dicha vía metabólica. De esta modo, tanto la velocidad de llegada del precursor como su naturaleza van a tener una profunda influencia en la velocidad de síntesis de glucosa por parte del hígado y de la corteza renal.

Lactato y piruvato como sustratos de la gluconeogénesis. Ciclo de Cori

El lactato está considerado como el sustrato más importante desde el punto de vista cuantitativo para la síntesis de glucosa, tanto en estado posabortivo como en ayunas.

El lactato circulante deriva principalmente del músculo esquelético y, en menor proporción, de los eritrocitos y de la médula renal. En estos tejidos, el lactato se acumula, ya que la velocidad de producción de piruvato por la glucólisis excede a la velocidad de oxidación de dicho compuesto por el ciclo del ácido cítrico, lo cual se hace especialmente patente en la contracción muscular. En dichos tejidos, la velocidad de glucólisis y, por tanto, la de formación de NADH es alta, de tal modo que es necesario un eficaz sistema de regeneración del NAD^+ , para evitar un bloqueo de la glucólisis por falta de coenzima oxidada. En situaciones de elevada velocidad de glucólisis, esto se consigue fundamentalmente por acción de la *lactato deshidrogenasa*, que reduce el piruvato a lactato. Este último no puede metabolizarse en los mismos lugares donde se sintetiza, por las mismas razones que han dado lugar a su síntesis. Por ello sale a la circulación sanguínea.

Cuando el lactato llega al hígado o a la corteza renal, entra por medio de un transportador saturable (difusión facilitada) y una vez en el citoplasma celular es oxidado a piruvato. Esta reacción es posible por la baja relación NADH/NAD^+ existente en el citoplasma y, tal vez, debido a la naturaleza de la isoenzima de la *lactato deshidrogenasa* presente en los tejidos gluconeogénicos.

La glucosa formada a partir del lactato sale a la circulación sanguínea, pudiendo a su vez ser captada y utilizada por diversos tejidos, algunos de los cuales (músculo esquelético, eritrocito, médula renal) sintetizarán de nuevo lactato.

Este reciclaje continuo de carbonos de glucosa principalmente entre el músculo (y otros tejidos productores de lactato) y el hígado, se conoce desde 1931 y ha recibido el nombre de *ciclo de Cori* o *ciclo de glucosa-lactato* (fig. 17.4). Asegura que, por ejemplo, el hígado pueda reconvertir en glucosa el lactato formado cuando el músculo esquelético deriva la energía de la glucólisis anaerobia para la contracción. Dicha glucosa, a su vez, servirá para rellenar las reservas de glucógeno muscular.

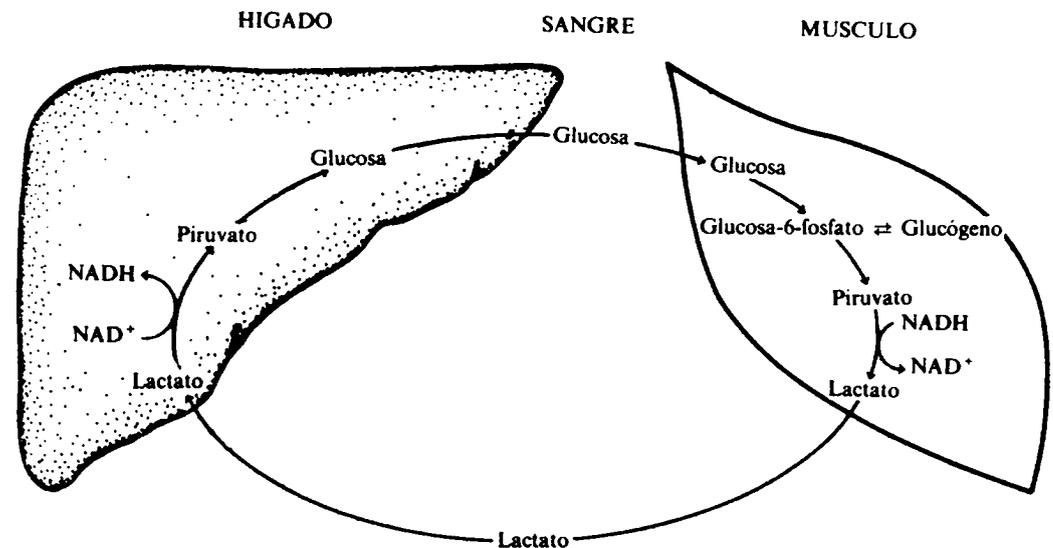


Figura 17.4. Ciclo de Cori o de glucosa-lactato.

Comentario aparte merece el mecanismo de transporte del oxaloacetato desde la mitocondria hasta el citoplasma cuando el sustrato es lactato (fig. 17.5). Ya se ha indicado que éste es oxidado a piruvato en el citoplasma con la producción directa de una molécula de NADH. De este modo, cabría pensar que para la conversión estequiométrica de lactato a glucosa, el oxaloacetato debería transportarse en forma de aspartato y no en forma de malato. En la actualidad, esta hipótesis se ha conformado gracias a la utilización de inhibidores específicos. Así, la adición de butilmalonato, inhibidor del intercambio mitocondrial de malato/fosfato, no inhibe la gluconeogénesis a partir de lactato en hígado de rata. Por el contrario, la adición de amino-oxiacetato, inhibidor de las transaminasas, causa la inhibición casi completa de la gluconeogénesis a partir de lactato.

El piruvato es un sustrato de la gluconeogénesis cuya contribución a la producción de glucosa es baja, debido a sus reducidas concentraciones circulantes en plasma. Al igual que el lactato, proviene del músculo, del eritrocito y de la médula renal. Su baja concentración circulante se explica porque el estado redox citoplasmático (relación NADH/NAD^+) de dichos tejidos es alto, lo cual impide que salga una apreciable cantidad de piruvato a la sangre.

Una vez que el piruvato llega al hígado, debe atravesar la membrana plasmática y la mitocondrial interna, lo cual parece que se realiza por medio de transportadores específicos, que son inhibidos por derivados del α -cianocinamato. El transportador del piruvato, localizado en la membrana mitocondrial interna, transporta protones a la vez que piruvato, de modo que la actividad de este transporte será dependiente del gradiente electroquímico de protones existente entre el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial. El transporte mitocondrial de piruvato parece estar sujeto a control hormonal o metabólico; así, por ejemplo, desde un punto de vista teórico sería posible estimular el transporte de piruvato por activación previa de la respiración mitocondrial y aumento consiguiente en el gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna.

Cuando se emplea al piruvato como sustrato de la gluconeogénesis hepática, el transporte de oxaloacetato desde la mitocondrial al citoplasma no se realiza por medio de aspartato, sino preferentemente en forma de malato (fig. 17.5). Esto se ha demostrado, al igual que en el caso del lactato, utilizando inhibidores específicos de la lanzadera de malato o de aspartato. De este modo, al activarse la vía del malato no sólo se proveen los carbonos sino también los equivalentes reductores para la síntesis posterior de glucosa; esto, sin embargo, ocurre a expensas de la pérdida de potencial reductor por parte de la mitocondria.

Papel de los aminoácidos como precursores de glucosa. Ciclo de glucosa-alanina

Los aminoácidos son también buenos sustratos para la síntesis hepática o renal de glucosa. Se ha observado tanto *in vivo* como *in vitro* que aminoácidos tales como alanina, serina, treonina, glicina, prolina, hidroxiprolina, glutamato, glutamina, aspartato, asparagina, histidina, cisteína, arginina, metionina, fenilalanina, tirosina, valina, isoleucina y lisina pueden incorporarse a glucosa con mayor o menor eficiencia. Se dice, por tanto, que son aminoácidos gluconeogénicos.

En el presente apartado nos ceñiremos al estudio de la alanina y de la glutamina. La alanina porque es cuantitativamente el principal aminoácido precursor de glucosa en el hígado; la glutamina porque se convierte en importante sustrato de la gluconeogénesis renal en determinadas situaciones fisiológicas. El

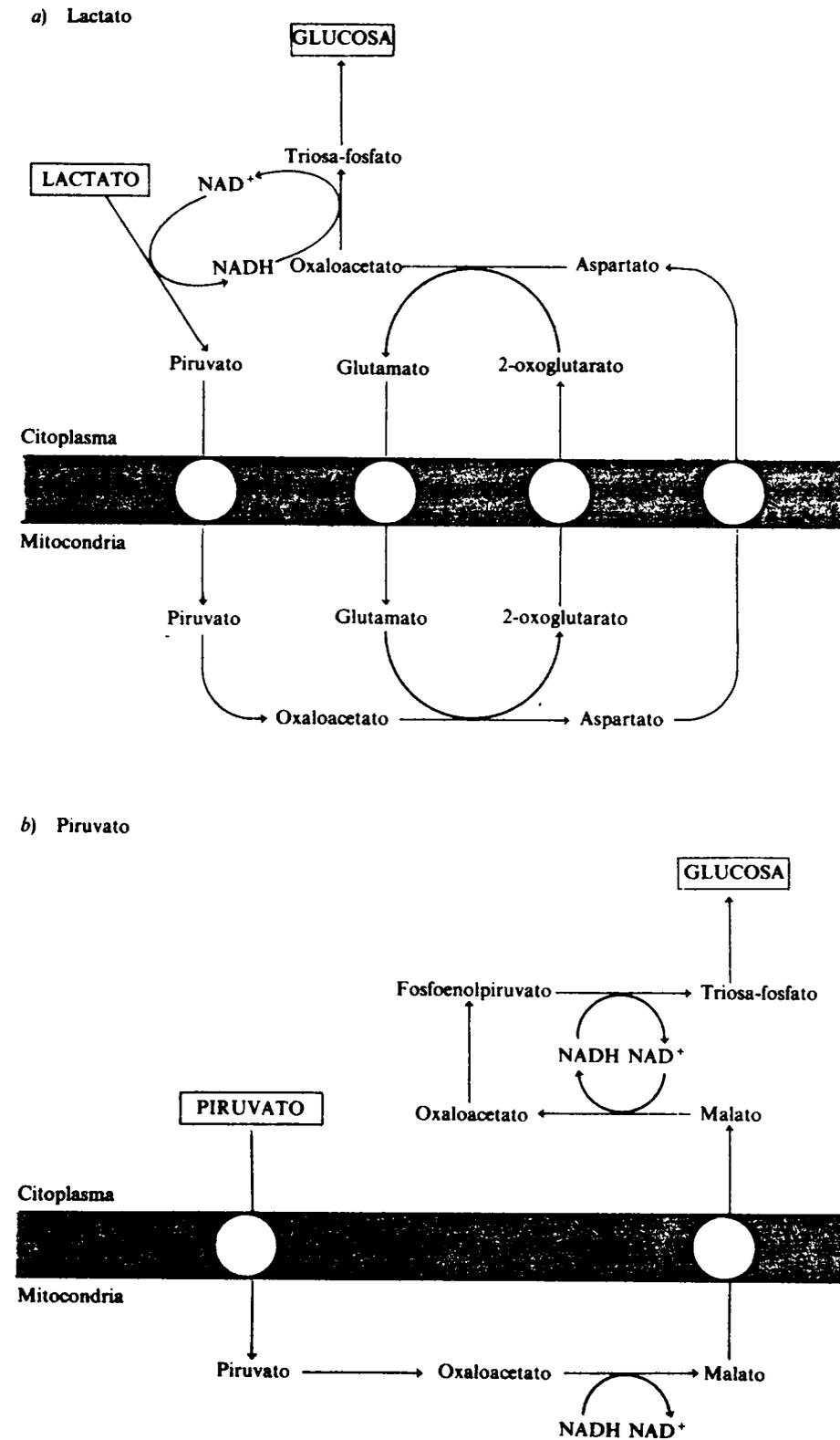


Figura 17.5. Lanzaderas de oxaloacetato utilizadas cuando los precursores gluconeogénicos son lactato (a) y piruvato (b).

metabolismo del resto de los aminoácidos gluconeogénicos será estudiado en el capítulo 30.

Por lo que se refiere a la alanina, se ha observado que es liberada a la circulación por un elevado número de tejidos entre los que se incluyen el músculo esquelético, el intestino delgado, el riñón y el tejido adiposo, entre otros, aunque sin duda alguna el más importante contribuyente es el músculo esquelético.

Una característica sorprendente es que la liberación de alanina por el músculo esquelético es superior a la esperada de acuerdo a la concentración relativa de este aminoácido en las proteínas musculares. Esto sugirió en su momento que la liberación de alanina por los tejidos musculares no era el simple resultado de la proteólisis, sino que además involucraba la síntesis de nuevas moléculas de alanina a partir de otros aminoácidos. En la actualidad se halla bien establecido que el glutamato y los aminoácidos de cadena ramificada valina e isoleucina son capaces de dar lugar a alanina.

En el proceso de síntesis de alanina en músculo, el piruvato resulta ser un metabolito limitante; esta molécula procede de la degradación de la glucosa en la glucólisis, o del glucógeno muscular, de modo que al aumentar o disminuir la velocidad de glucólisis en músculo se produce un incremento o descenso concomitante en la producción de alanina. Esto ha llevado a destacar el papel de la glucosa como fuente indirecta de alanina a través de piruvato y, al mismo tiempo a la formulación del *ciclo de glucosa-alanina* (fig. 17.6). La idea de tal ciclo supone que la glucosa captada por el músculo desde la circulación sanguínea sirve, directa o indirectamente, como fuente glucolítica de piruvato para la síntesis de alanina. Esta es liberada a la circulación, captada por el hígado y convertida de nuevo, a través de la gluconeogénesis, en glucosa, que vuelve a salir a la circulación.

Este esquema supone un continuo reciclaje de carbonos de glucosa entre el músculo y el hígado. Su velocidad se ha estimado en aproximadamente la mitad de la observada para el ciclo de Cori. Sin embargo, no debe pensarse que el único significado funcional del ciclo de glucosa-alanina es el mismo que el del ciclo de Cori. Su papel fisiológico adicional consiste en servir como sistema de transporte de nitrógeno desde el músculo esquelético hasta el hígado, donde se elimina por mediación del ciclo de la urea (cap. 31). De este modo, complementa al ciclo de los

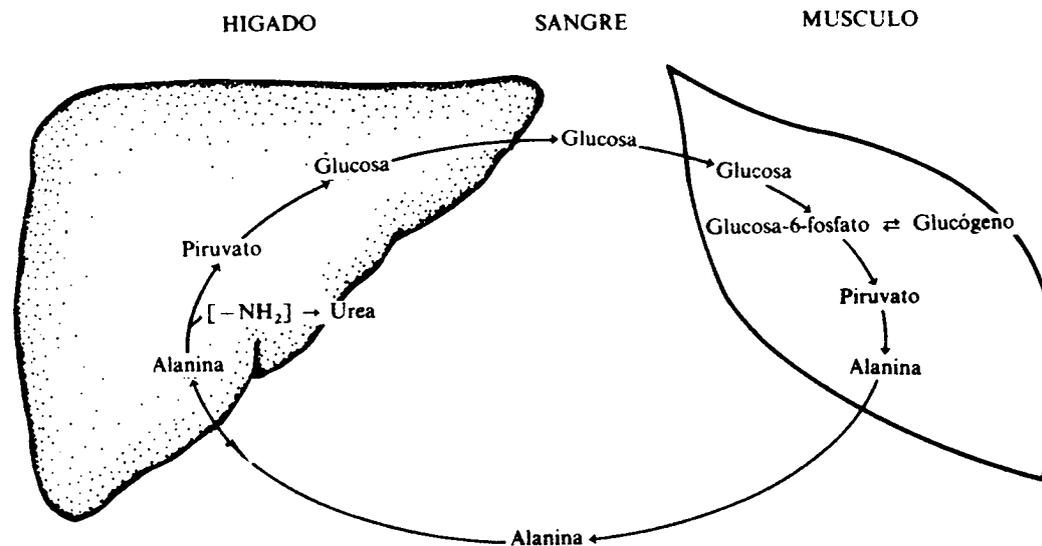


Figura 17.6. Ciclo de glucosa-alanina.

nucleótidos de purina y previene la generación excesiva de amoníaco por dicha vía (cap. 31).

La alanina circulante en sangre debe entrar en el hepatocito por transporte activo. Una vez en la célula, es transaminada a piruvato por acción de la *alanina aminotransferasa*, y este piruvato entra en la vía de la gluconeogénesis. Ahora bien, cuando el sustrato utilizado como precursor de glucosa es la alanina, el sistema de transporte del oxaloacetato, desde la mitocondria al citoplasma, se complica. Decíamos que cuando los sustratos precursores de glucosa eran lactato y piruvato, se utilizaba mayoritariamente una sola lanzadera. Sin embargo, en el caso de la alanina se han descrito dos lanzaderas que funcionan a la misma velocidad (fig. 17.7). Por un lado, funciona la lanzadera de malato, mediante la cual se generan equivalentes reductores en el citoplasma por la acción directa de la *malato deshidrogenasa* (igual que cuando el sustrato es piruvato). Por otro lado, tiene lugar un proceso por el cual el oxaloacetato pasa a aspartato por acción de la *aspartato aminotransferasa*, sale al citoplasma y, una vez allí, entra en el ciclo de la urea (cap. 31) para volver a salir en forma de fumarato, el cual, por reacciones sucesivas del ciclo del ácido cítrico, es convertido en oxaloacetato, generando así equivalentes reductores. La finalidad de esta doble vía no es otra que la de cebar el ciclo de la urea con los grupos amino necesarios para la síntesis de dicho producto de excreción.

Al igual que en el caso de la alanina, el principal tejido responsable de la liberación de glutamina es el músculo esquelético. En estado posabsortivo, el principal tejido metabolizador de glutamina es el intestino, que lo oxida liberando alanina a la circulación. En cambio, en ayuno o en acidosis metabólica, la liberación muscular de glutamina aumenta y el riñón se convierte en el principal consumidor de este aminoácido, siendo su destino la síntesis de glucosa.

La ruta que debe recorrer la glutamina en la célula renal para dar lugar a glucosa es la que se describe en la figura 17.8. En primer lugar, este aminoácido debe atravesar la membrana plasmática y la mitocondrial interna por medio de determinados transportadores. En la mitocondria, la glutamina sufre la acción secuencial de la *glutaminasa* y la *glutamato deshidrogenasa*, con lo que se produce 2-oxoglutarato. Esta molécula, a continuación, se engarza en el ciclo del ácido cítrico hasta llegar a malato. En forma de malato puede cruzar la membrana mitocondrial interna y, ya en el citoplasma, pasar a oxaloacetato por catálisis de la *malato deshidrogenasa*. A partir de oxaloacetato sigue por la vía gluconeogénica ya conocida. Así pues, la formación de glucosa a partir de glutamina produce dos moléculas de amoníaco.

Glicerol-tejido adiposo

A diferencia de los otros sustratos estudiados, el glicerol deriva fundamentalmente de la hidrólisis de los triacilglicéridos almacenados en el tejido adiposo (fig. 17.9). Los niveles de glicerol circulantes en sangre son bajos y aumentan en aquellas situaciones caracterizadas por una incrementada velocidad de lipólisis. De cualquier modo, las concentraciones sanguíneas nunca alcanzan valores muy altos porque el glicerol es rápidamente metabolizado por el hígado y la corteza renal; de hecho, la hepatectomía-nefrectomía en animales de experimentación produce un rápido e intenso incremento en la concentración sanguínea de glicerol. Al ser tan rápida la metabolización del glicerol, hasta el momento no se tiene una estima fiable de la velocidad de recambio de este metabolito, y se desconoce también cuál es la contribución de dicho sustrato en el total de la homeostasis de

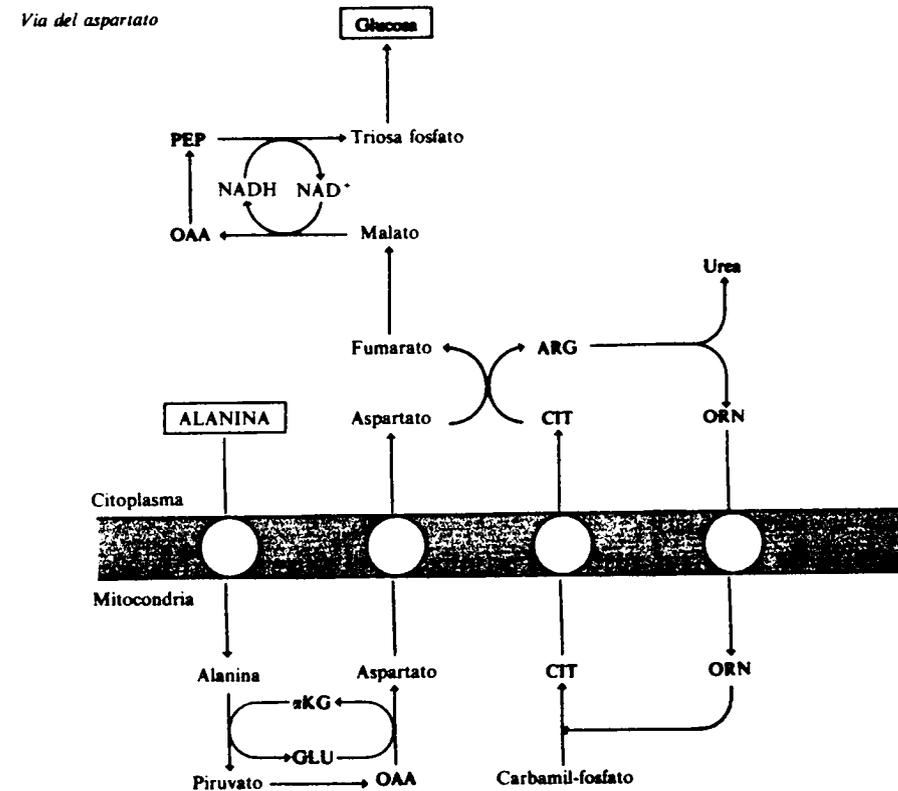
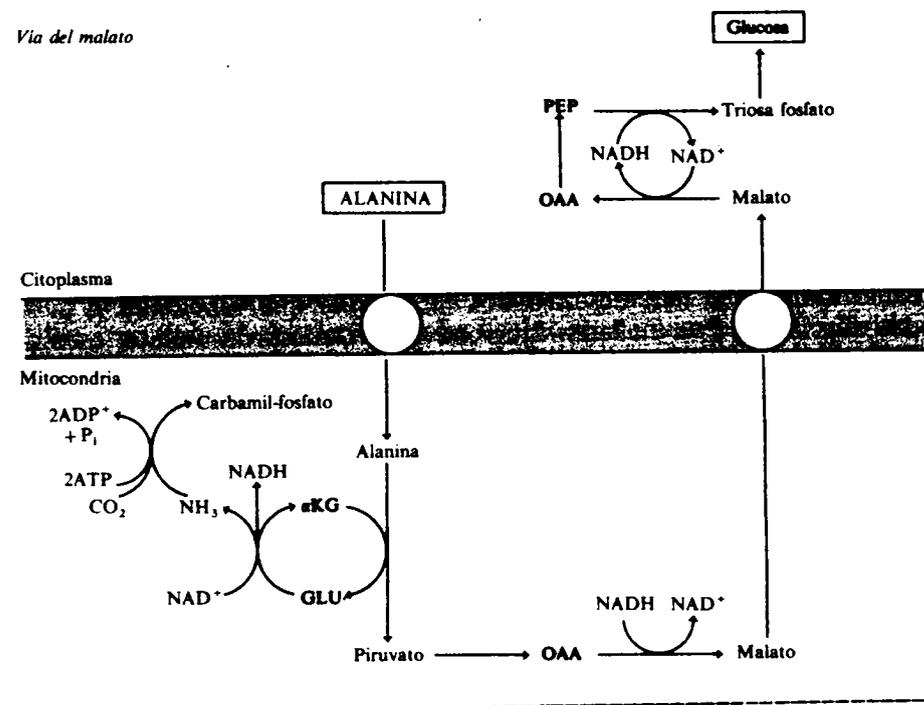


Figura 17.7. Lanzaderas de oxaloacetato utilizadas cuando el sustrato de la gluconeogénesis es la alanina. PEP: fosfoenolpiruvato; OAA: oxaloacetato; α KG: 2-oxoglutarato; GLU: glutamato; ARG: arginina; CIT: citrulina; ORN: ornitina.

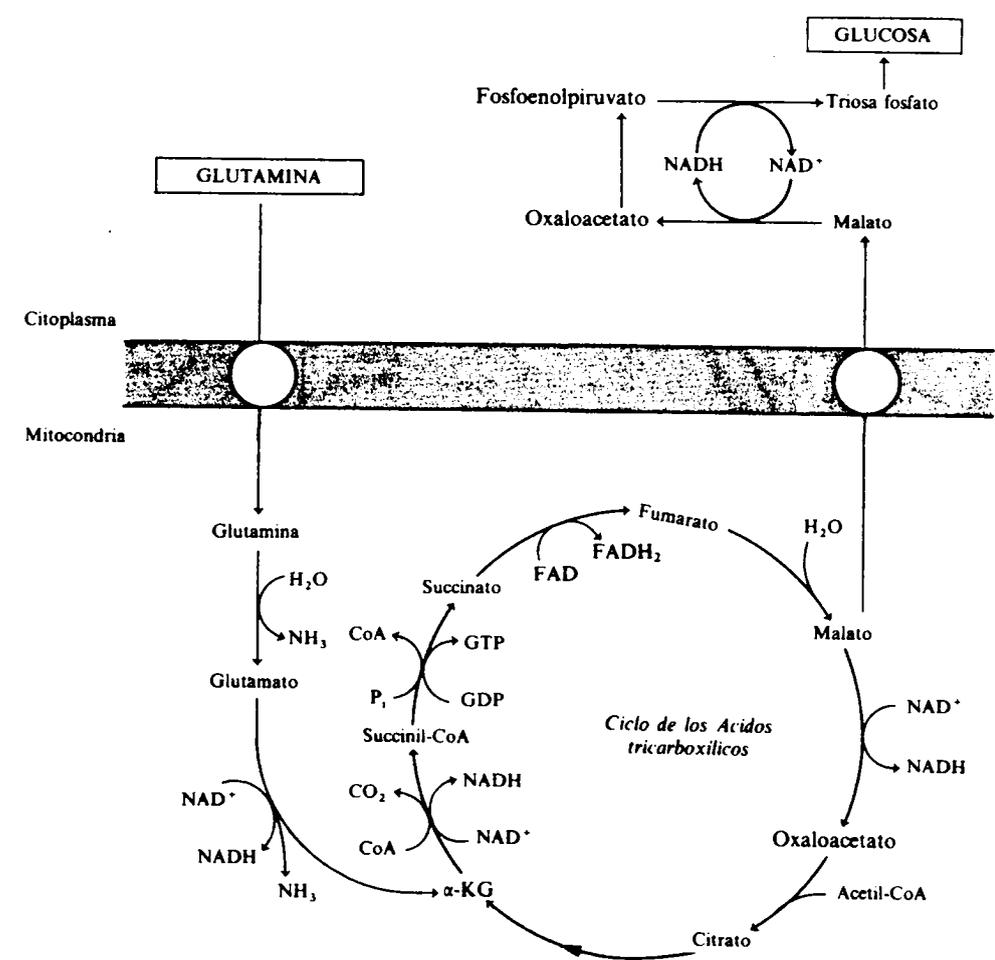


Figura 17.8. Ruta de la gluconeogénesis renal a partir de glutamina.

la glucosa. No obstante, ciertas aproximaciones sugieren que cuantitativamente puede ser un sustrato importante, casi comparable a la alanina.

En cuanto entra el glicerol en la célula, es fosforilado por acción de la enzima citoplasmática *glicerolquinasa*, dando lugar a glicerol-3-fosfato:



El hígado y la corteza renal son los tejidos con una mayor actividad glicerolquinasa, enzima que parece desempeñar un papel importante en la velocidad de flujo gluconeogénico a partir de glicerol. La actividad glicerolquinasa no varía en situaciones tales como el ayuno, la gestación o el hipotiroidismo, condiciones todas ellas caracterizadas por profundas alteraciones hormonales. La actividad de esta enzima parece depender exclusivamente de la disponibilidad de su sustrato, el glicerol.

El glicerol-3-fosfato sintetizado experimenta una posterior oxidación a dihidroxiacetona fosfato por acción catalítica de la α -glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, que requiere NAD^+ como coenzima:



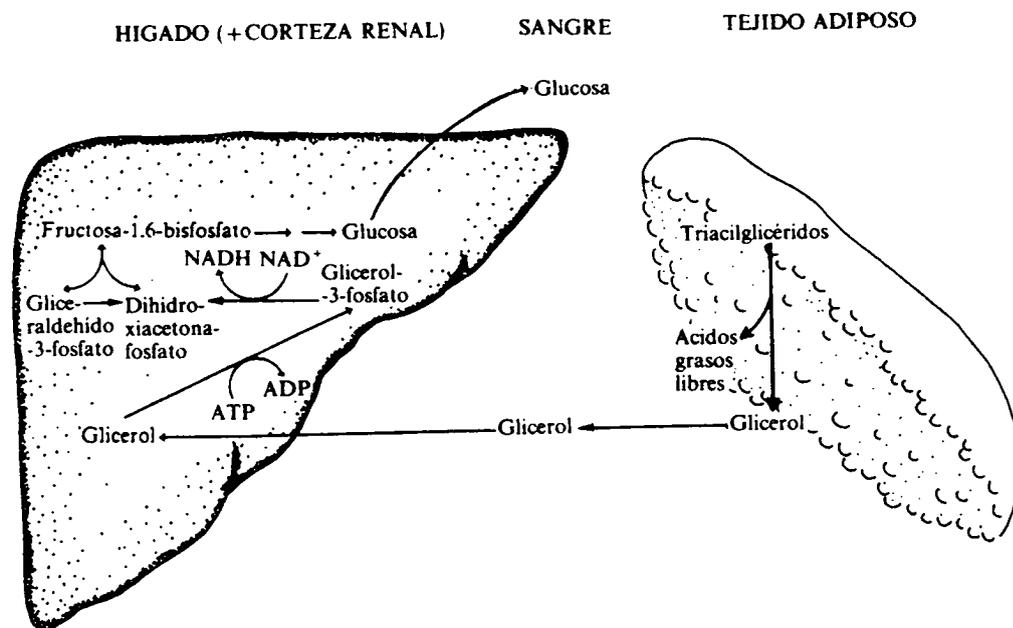


Figura 17.9. Esquema del metabolismo del glicerol.

Una vez formada la dihidroxiacetona fosfato, esta molécula ya forma parte de la vía gluconeogénica (figs. 17.1 y 17.2). Por tanto, los átomos de carbono derivados del glicerol no tienen que pasar a la mitocondria para llegar a sintetizar glucosa, lo que supone una notable diferencia con respecto a los restantes precursores de dicho metabolito.

Utilización del propionato en rumiantes

Como es bien sabido, en la panza o rumen de los rumiantes se produce la fermentación anaerobia de los azúcares de la dieta (cap. 16). Esto lleva a la síntesis de diversos ácidos grasos de cadena corta tales como el propiónico, el acético, el butírico y el fórmico, moléculas todas que atraviesan las paredes del rumen y alcanzan la circulación sanguínea. Aunque la mayor parte de estos ácidos grasos van a ser utilizados como sustrato oxidativo, el propionato se constituye además en un importante sustrato precursor de glucosa (fig. 17.10).

Para ello, una vez que el propionato llega al hígado (fig. 17.10), es convertido en propionil-CoA por mediación de una *tioquinasa*. A continuación, el propionil-CoA se carboxila para generar D-metil-malonil-CoA, proceso catalizado por la *propionil-CoA carboxilasa*, donde interviene la biotina como coenzima. El D-metil-malonil-CoA se convierte en su estereoisómero el L-metil-malonil-CoA y éste por acción de la *metil-malonil-CoA mutasa* da lugar a la formación de succinil-CoA, intermediario del ciclo del ácido cítrico. A partir de aquí, la vía de la gluconeogénesis es similar a la comentada en el caso de la glutamina.

REGULACION DE LAS ENZIMAS DE LA GLUCONEOGENESIS

La regulación de la gluconeogénesis, hepática o renal, tiene lugar, de manera directa, en el tejido gluconeogénico por factores hormonales y metabólicos e

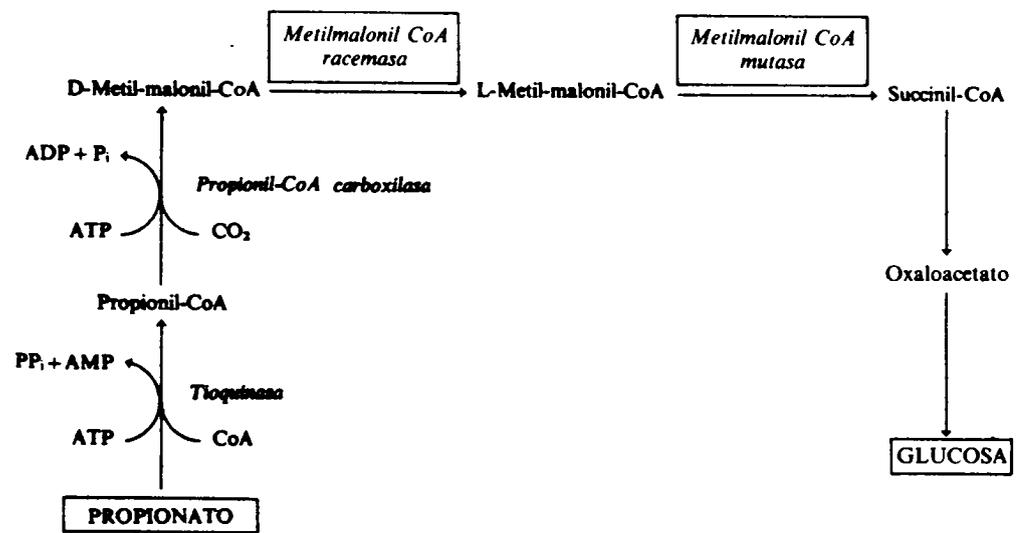
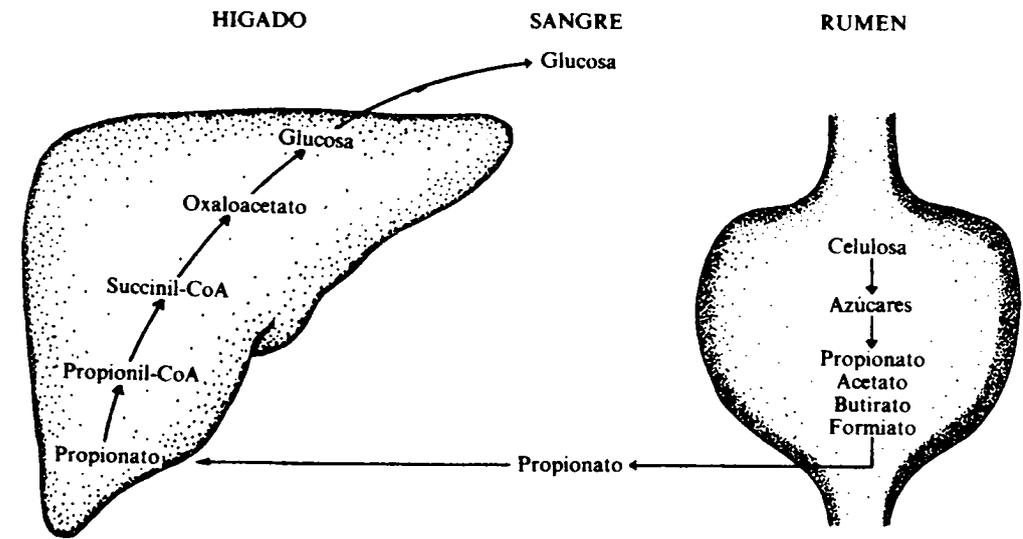


Figura 17.10. Metabolismo y ruta gluconeogénica del propionato en rumiantes.

indirectamente por el suministro de precursores gluconeogénicos desde los tejidos periféricos. A continuación se revisa la regulación conocida de algunas de las enzimas de la vía.

Piruvato carboxilasa

La *piruvato carboxilasa* es una enzima alostérica. Su actividad es casi totalmente dependiente de la presencia de acetil-CoA, y su activación muestra una dependencia sigmoide de la concentración. El acetil-CoA es un activador alostérico de tipo V ya que aumenta la actividad catalítica de la enzima. El acetil-CoA

participa en la reacción de carboxilación de la biotina, mientras que no interviene en la segunda reacción parcial de la *piruvato carboxilasa*.

Dicha enzima puede ser regulada por la relación ATP/ADP intramitocondrial, pues se ha observado que el ADP es un inhibidor competitivo con respecto al ATP. Así, un aumento en la relación ATP/ADP intramitocondrial estimula la actividad de la enzima, en tanto que una relación disminuida produce efectos inversos.

La actividad de la *piruvato carboxilasa in vivo* es dependiente de la concentración del piruvato presente. En este sentido, se ha descrito que los niveles intramitocondriales de piruvato en el hígado de rata oscilan alrededor del valor de K_m de la mencionada enzima con respecto al piruvato, es decir, alrededor de 0,15 mM. Evidencia experimental adicional apoya la hipótesis de que la concentración de piruvato controla la velocidad de la reacción de la *piruvato carboxilasa*. Así, se ha demostrado que hormonas tales como la epinefrina, el glucagón y el AMP cíclico (AMPC) inducen altas velocidades de carboxilación del piruvato en mitocondrias de hígado de rata. En esta situación, la actividad *piruvato carboxilasa* ensayada *in vitro* no se encuentra alterada, y se observa activación de la captación mitocondrial de piruvato mediada por transportador.

Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

Existen altas actividades específicas de esta enzima monomérica en hígado, corteza renal y tejido adiposo blanco, y actividades específicas más discretas en músculo esquelético de contracción rápida, pulmón, yeyuno y cerebro. Cabe destacar el hecho, ya indicado antes, de la gran variabilidad en cuanto a su localización intracelular, variación que no sólo aparece de una especie a otra, sino también de un tejido a otro. Así, en la rata adulta, la enzima es mitocondrial en la mucosa intestinal, mientras que en el tejido adiposo el 90 por 100 de su actividad radica en el citoplasma. Incluso para un determinado tejido, la localización puede variar con el desarrollo; por ejemplo, en hígado de rata, la enzima pasa de ser principalmente mitocondrial en el feto a ser soluble en el individuo adulto.

La concentración total de GTP hepático, nucleótido utilizado por la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* como donador de fosfato, es suficiente para saturar la enzima. En estas condiciones, la K_m de la enzima para el oxaloacetato es de 60 μM y la concentración citoplasmática de dicho sustrato se sitúa por debajo de este valor, lo cual hace pensar que uno de los factores determinantes de la velocidad de catálisis de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* puede ser la disponibilidad de oxaloacetato. Esta enzima tiene un requerimiento absoluto de un metal divalente, que puede ser Mg^{2+} o Mn^{2+} . Se ha postulado también un posible papel del Fe^{2+} como regulador de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*.

El mecanismo de control mejor establecido para esta enzima consiste en modificar su concentración alterando la velocidad a la que es sintetizada. Así, factores estimuladores de la gluconeogénesis tales como el ayuno, la deficiencia de insulina, la administración de glucagón, el AMPC, los glucocorticoides, la epinefrina o la norepinefrina provocan la inducción de la síntesis enzimática en el hígado de rata. Por el contrario, dicha síntesis es inhibida por el tratamiento con insulina o por alimentación con carbohidratos.

La regulación de la actividad de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* difiere entre hígado y corteza renal. Así, por ejemplo, en corteza renal el ayuno, la acidosis o los glucocorticoides inducen su actividad, pero no el glucagón o la deficiencia insulínica, como ocurre en hígado.

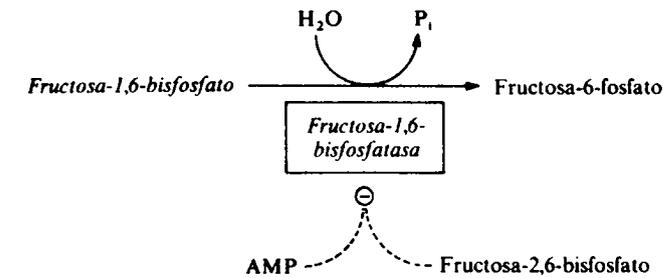


Figura 17.11. Regulación de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*.

Fructosa-1,6-bisfosfatasa

Esta enzima (fig. 17.11) muestra una alta afinidad por su sustrato, la fructosa-1,6-bisfosfato (su K_m está en el rango μM), y a la vez es inhibida por altas concentraciones del mismo (superiores a 0,1 mM).

En 1965 se descubrió que la enzima procedente de tejidos de mamíferos era inhibida alostéricamente por AMP; en la actualidad se sabe que la modificación selectiva de determinados grupos sulfhidrilos disminuye la sensibilidad de la enzima a la inhibición por AMP (sitio alostérico), sin cambio en su actividad catalítica (sitio catalítico).

El conocimiento sobre la regulación de esta enzima ha progresado mucho desde el descubrimiento de la fructosa-2,6-bisfosfato (cap. 16), que es un inhibidor de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*; este metabolito transforma la curva de saturación por sustrato de hiperbólica a sigmoidea, lo que sugiere un tipo de interacción alostérica. El efecto inhibitorio de la fructosa-2,6-bisfosfato es muy potente y presenta unos valores de K_i de 0,5 μM . Sin embargo, la afinidad de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* por la fructosa-2,6-bisfosfato es aproximadamente 10 veces inferior a la de la *fosfofructoquinasa-1* (cap. 16).

La acción de la fructosa-2,6-bisfosfato es sinérgica con el efecto inhibitorio del AMP. Así, mientras que en ausencia de fructosa-2,6-bisfosfato, la curva de inhibición debida a AMP es sigmoidea con una K_i de cerca de 175 μM , la adición de 1 μM de fructosa-2,6-bisfosfato es capaz de reducir dicho valor a 17 μM .

En algún caso se ha demostrado que la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* hepática puede ser fosforilada por la *proteína quinasa dependiente de AMPC*. Dicha fosforilación disminuye la K_m para la fructosa-1,6-bisfosfato, pero no afecta la respuesta a AMP y a fructosa-2,6-bisfosfato.

Glucosa-6-fosfatasa

La K_m de la *glucosa-6-fosfatasa* procedente de microsomas de hígado de rata es de 2 a 7 mM para glucosa-6-fosfato, y la concentración de este metabolito en el hígado está muy por debajo de dichos valores. Ello hace pensar que en la mayoría de las condiciones, la actividad catalítica de la enzima sigue una cinética de primer orden, siendo la concentración de sustrato el principal determinante de la actividad *in vivo*.

La actividad *glucosa-6-fosfatasa* es inhibida *in vitro* por glucosa, ATP, ADP, P_i y citrato. Asimismo, la actividad de la enzima aumenta, posiblemente por inducción enzimática, tras el ayuno, por dietas con alto contenido proteico o con bajo

contenido en carbohidratos, y tras la administración de glucocorticoides y tiroxina. La administración de insulina, la adrenalectomía y la hipofisectomía provocan la disminución de la actividad *glucosa-6-fosfatasa*.

CONTROL HORMONAL DE LA GLUCONEOGENESIS

La gluconeogénesis está bajo el control de hormonas tales como glucagón, insulina, catecolaminas y glucocorticoides. La regulación hormonal de la gluconeogénesis puede ser ejercida directamente en hígado o en corteza renal, o indirectamente, controlando la salida de los sustratos gluconeogénicos desde los tejidos periféricos. Con frecuencia, las hormonas ejercen sus efectos de las dos formas. Por otro lado, dichas hormonas actúan sobre esta vía metabólica o bien rápidamente, a través de modificaciones covalentes de enzimas o por cambios en los niveles de efectores alostéricos, o bien mediante transformaciones lentas a través de cambios en la síntesis o en la degradación de las enzimas. A continuación se van a revisar los efectos de las hormonas cuyo papel en la homeostasis de la glucosa se conoce mejor.

Glucagón

La acción de esta hormona se centra fundamentalmente en el hígado. El glucagón no afecta la actividad gluconeogénica en la corteza renal ni la liberación de sustratos gluconeogénicos desde los tejidos periféricos. Se acepta que su mecanismo de acción implica la activación de una *adenilato ciclasa*, con el consiguiente aumento en los niveles de AMPc y la estimulación de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*.

Las acciones del glucagón en hígado, que directa o indirectamente llevan a la estimulación de la gluconeogénesis, son múltiples. Por un lado, existe un número de acciones que involucran la actividad mitocondrial. Por ejemplo, se ha observado aumento en la respiración mitocondrial, lo que podría explicar el también detectado incremento de la captación de piruvato por este orgánulo celular, ya que el transportador mitocondrial de piruvato cotransporta protones a favor de gradiente de concentración. Asimismo, el glucagón intensifica la oxidación de la octanoilcarnitina y del octanoato, y esto, unido al hecho de que esta hormona aumenta la lipólisis de los triacilglicéridos almacenados en el tejido adiposo, y, por tanto, la disponibilidad de ácidos grasos por parte del hígado, puede aumentar la concentración mitocondrial de acetil-CoA, activador de la *piruvato carboxilasa*. En definitiva, todos estos cambios integrados podrían explicar la mayor fijación de CO₂ descrita en mitocondrias de hígado tratado con glucagón.

Al margen de estos efectos, el glucagón estimula el transporte de alanina en el hepatocito, proceso dependiente de la síntesis de RNA y de proteínas. Ello contribuye a aumentar la disponibilidad de alanina para cebar la vía gluconeogénica.

El glucagón induce la inhibición de la actividad *piruvato quinasa*, por un aumento en el nivel de fosforilación de esta enzima inducido por la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. Ello da lugar a la disminución del ciclo piruvato/-fosfoenolpiruvato, lo que hace que se dirija el piruvato hacia la síntesis de glucosa. Esta hormona provoca también una rápida disminución en los niveles hepáticos de fructosa-2,6-bisfosfato, lo cual da lugar a la activación de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* y a la inactivación de la *fosfofructoquinasa-1*. El mecanismo por el cual los niveles de fructosa-2,6-bisfosfato disminuyen por acción de la hormona, se

explican debido a la fosforilación inducida por la *proteína quinasa dependiente de AMPc* sobre la enzima bifuncional *fosfofructoquinasa-2/fructosa-2,6-bisfosfatasa* (cap. 16). La fosforilación lleva a la activación de la actividad fosfatasa y a la inhibición de la actividad quinasa.

Catecolaminas

Las catecolaminas, por ejemplo, la epinefrina, estimulan la gluconeogénesis en el hígado, si bien este efecto no es cuantitativamente tan importante como el ejercido por el glucagón. El efecto de la epinefrina sobre la gluconeogénesis no es bloqueado por antagonistas β -adrenérgicos, sino por α -adrenérgicos. Esto, unido al hecho de que agentes α_1 -agonistas (por ejemplo, fenilefrina) estimulan la gluconeogénesis, mientras que los β -agonistas (por ejemplo, isoproterenol) no ejercen efecto alguno, permite concluir que el efecto es mediado por receptores α_1 -adrenérgicos.

Los efectos que provocan las catecolaminas en la mitocondria son muy parecidos a los provocados por el glucagón. Existe incremento en la captación de piruvato por la mitocondria, tal vez como consecuencia de un aumento previo en la actividad respiratoria. También se ha descrito incremento en la oxidación de oleato, lo cual, unido a la llegada intensificada de ácidos grasos procedentes del tejido adiposo podría aumentar los niveles de acetil-CoA y explicar la mayor fijación de CO₂ tal y como se ha descrito en el caso de la acción del glucagón.

Las catecolaminas también inhiben la actividad de la *piruvato quinasa* como consecuencia de un aumento en su nivel de fosforilación.

Insulina

La insulina disminuye la disponibilidad de sustratos gluconeogénicos. Inhibe la salida de aminoácidos del músculo a través de sus efectos sobre la síntesis de proteínas y la proteólisis. Disminuye también la salida de glicerol del tejido adiposo, como consecuencia de su acción antilipolítica.

Se acepta que la insulina inhibe la actividad de las enzimas que catalizan reacciones alejadas del equilibrio en la gluconeogénesis, y que estimula las de la glucólisis, a través de mecanismos dependientes de la síntesis de proteínas. A la inversa, en situaciones de diabetes (deficiencia de insulina) inducida en animales de experimentación, la actividad de la gluconeogénesis es alta, al igual que ocurre con la actividad de las enzimas clave de dicha vía que catalizan reacciones alejadas del equilibrio.

La acción a corto plazo de la insulina sobre la gluconeogénesis es poco conocida. Esta hormona inhibe la gluconeogénesis previamente estimulada por glucagón. Ello es debido a que la insulina estimula la actividad fosfodiesterasa (degradadora de AMPc) lo que provoca la disminución de los niveles de AMPc aumentados previamente por glucagón. Sin embargo, en ausencia de pre-estimulación, la insulina no parece modificar la actividad gluconeogénica.

Glucocorticoides

Desde un punto de vista general, los efectos de los glucocorticoides pueden agruparse en dos categorías: directos y permisivos. Se habla de estos últimos,

cuando la presencia de glucocorticoides permite la respuesta a ciertos estímulos. Estos efectos permisivos podrían involucrar el mantenimiento de la respuesta de ciertas enzimas a determinados agentes efectores, pero no se conoce bien el mecanismo por el cual ello tiene lugar.

Los glucocorticoides ejercen parte de su control sobre la gluconeogénesis estimulando la liberación de aminoácidos desde los tejidos periféricos. También influyen en la gluconeogénesis en virtud de sus efectos sobre la acción de las catecolaminas, aumentando la liberación de glicerol y de lactato en tejido adiposo y en músculo, respectivamente.

El tratamiento con glucocorticoides aumenta la capacidad de fijación de CO₂ por la mitocondria hepática, efecto que es dependiente de la síntesis de proteínas. Los glucocorticoides son necesarios para la activación de la gluconeogénesis en el ayuno y en la diabetes, de tal modo que la adrenalectomía previene dicha estimulación. Las enzimas responsables del flujo gluconeogénico, que se alteran con la depleción y repleción de glucocorticoides, son la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* y la *glucosa-6-fosfatasa*, a través de mecanismos dependientes de la síntesis de proteínas y de la transcripción génica.

ALTERACIONES DE LA GLUCONEOGENESIS EN EL HOMBRE

Aquí se van a revisar brevemente algunas de las alteraciones observadas en el hombre, caracterizadas por la aparición de hipoglucemia, y atribuidas a deficiencia en la vía gluconeogénica. Estas alteraciones pueden ser debidas a las causas que se consideran a continuación.

Insuficiencia de sustratos gluconeogénicos

La hipoglucemia con cetoacidosis en niños es el desorden hipoglucémico más común durante la infancia. Aparece entre los nueve meses y los cinco años de edad, y desaparece entre los diez y doce años. Los ataques hipoglucémicos pueden llegar a ser suficientemente importantes como para producir coma y suelen tener lugar tras un período corto de ayuno, de modo que en tal situación la gluconeogénesis es esencial para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. Se ha atribuido este desorden a un insuficiente abastecimiento de alanina, tal vez como consecuencia de una disminuida liberación de este aminoácido por el músculo.

El ayuno durante el embarazo provoca una cierta reducción de la concentración de glucosa en sangre en comparación con la mujer no gestante. Esto parece ser debido a una disminución en la disponibilidad de aminoácidos gluconeogénicos, en especial de alanina, como consecuencia de un rápido drenaje por el feto, con el objeto de sostener su elevada tasa de síntesis de proteínas.

El consumo de etanol puede provocar la aparición de hipoglucemia en el individuo en ayunas, y representa un ejemplo en el que una droga impide el suministro de sustratos para la gluconeogénesis. En efecto, la metabolización hepática del etanol conlleva un aumento en la generación de NADH citoplasmático. Este exceso de NADH citoplasmático bloquea el paso de lactato a piruvato y, por tanto, la entrada de lactato en la gluconeogénesis; asimismo, bloquea el paso de malato a oxaloacetato, requerido para el funcionamiento de la lanzadera de malato-aspartato. Como consecuencia de todo ello, no hay disponibilidad ni de piruvato ni de oxaloacetato para las reacciones catalizadas por la *piruvato carboxilasa* y la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*. Por último, resulta inhibida la con-

versión de glicerol-3-fosfato a dihidroxiacetona fosfato en la vía de la gluconeogénesis a partir de glicerol.

Alteraciones enzimáticas

Las alteraciones en el aparato gluconeogénico hepático, a su vez, pueden ser debidas a errores congénitos, a inmadurez de la maquinaria enzimática, o bien a la acción de inhibidores exógenos. En cualquiera de los casos precedentes, las concentraciones circulantes de los sustratos gluconeogénicos son altas y no se ve alterada la liberación de dichos precursores desde los tejidos periféricos.

Los desórdenes de la gluconeogénesis debidos a errores congénitos son de dos tipos: aquellos en los que una enzima reguladora de la gluconeogénesis es deficiente, y aquellos en los que el error metabólico no está relacionado con la gluconeogénesis, pero lleva secundariamente a un bloqueo de la misma. En el primer caso, se han encontrado anomalías de la *piruvato carboxilasa*, de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* y de la *glucosa-6-fosfatasa* (*enfermedad de Von Gierke* o *glucogenosis de tipo I*). Ejemplos del segundo caso son la aciduria metilmalónica, la enfermedad de jarabe de arce en la orina y la intolerancia hereditaria a la fructosa.

Existe deficiencia transitoria en la gluconeogénesis en recién nacidos con un peso inferior a la media correspondiente a la misma edad gestacional. En este caso el problema no reside en una disminución de la disponibilidad de sustratos sino en una deficiencia de la concentración de enzimas gluconeogénicas.

Finalmente, ciertos inhibidores exógenos pueden producir alteraciones de la gluconeogénesis. Como ejemplo cabe citar al triptófano. Cuando una gran cantidad de triptófano llega al hígado por la vena porta, éste es degradado, y un intermediario en el proceso degradativo, el quinolinato, es un fuerte inhibidor de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*, con lo cual se produce la inhibición de la gluconeogénesis hepática.

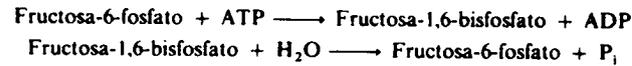
Alteraciones hormonales

Ya se ha dicho que ciertas hormonas controlan la gluconeogénesis a través de distintos mecanismos. Pues bien, alteraciones en el ambiente hormonal pueden dar lugar a la aparición de hipoglucemia subsiguiente a deficiencia en la gluconeogénesis hepática. Las principales situaciones hormonales que causan hipoglucemia son la deficiencia de glucocorticoides, por ejemplo, en la *enfermedad de Addison* (consecuencia de atrofia de la corteza suprarrenal); el déficit de ACTH y el exceso de insulina.

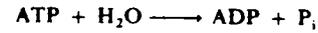
PAPEL DE LOS CICLOS DE SUSTRATOS EN LA REGULACION DE LA GLUCOLISIS Y LA GLUCONEOGENESIS

Como ya se ha visto, el hígado contiene el equipamiento enzimático para la síntesis de glucosa a través de la gluconeogénesis y para su metabolización mediante la glucólisis. Además, se ha dicho que muchas de las reacciones involucradas en esta vía son comunes y reversibles, de modo que la unidireccionalidad del flujo metabólico es asegurada por medio de unas pocas reacciones, que constituyen «barreras metabólicas»; barreras éstas que se evitan mediante otras reacciones también irreversibles, y catalizadas por enzimas distintas.

Cuando dos reacciones antagónicas operan simultáneamente, no existe flujo neto de metabolitos y sólo hay un reciclaje, cuyo balance neto es la hidrólisis de una molécula de ATP. Así, por ejemplo:

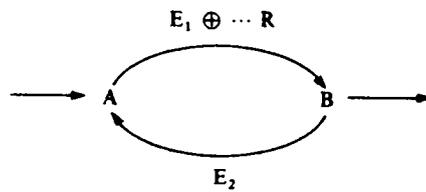


Que al sumar queda:



Se ha propuesto que los *ciclos de sustratos* (antes llamados ciclos fútiles) pueden llevar a cabo dos funciones. Por un lado, amplificar las señales metabólicas o, aumentar la sensibilidad del control metabólico. Por otro, generar calor producido como consecuencia de la hidrólisis de ATP concomitante al funcionamiento del ciclo.

Para explicar la primera función, aumento de la sensibilidad en el control metabólico, debe definirse primero este concepto. *Sensibilidad* es la relación cuantitativa existente en que el incremento relativo en una actividad biológica dada, y el cambio relativo en la concentración de un regulador responsable de la modificación en la actividad biológica. Cabe considerar, como ejemplo la existencia de un ciclo de sustratos hipotético entre un compuesto A y otro B:



así como la existencia de dos situaciones distintas: una situación basal y una situación estimulada, caracterizada por triplicación de la concentración de un efector estimulador R de la enzima E₁. En esta situación hipotética, el regulador aumenta la actividad de E₁ seis veces, sin modificar la actividad de E₂, según el siguiente esquema:

	Concentración de R	Actividad de E ₁	Actividad de E ₂	Flujo neto de A a B	Aumento Relativo
(unidades arbitrarias)					
Situación basal	1	10	9	1	
Situación estimulada	3	60	9	51	51 veces

A partir de esto se desprende que, como consecuencia de una triplicación de la concentración de un regulador, la velocidad del flujo neto de A a B habrá aumentado 51 veces. Este aumento relativo es muy superior al que se habría obtenido de no existir dicho ciclo de sustratos. En cuyo caso, una triplicación de la concentración del regulador R habría originado tan sólo un aumento de seis veces en la velocidad de paso de A a B (según el esquema la actividad de E₁ habría pasado de 10 a 60).

En la vía conjunta de glucólisis y gluconeogénesis pueden plantearse tres ciclos de sustratos distintos.

Ciclo de piruvato/fosfoenolpiruvato

Este ciclo incluye tres reacciones catalizadas, respectivamente, por la *piruvato carboxilasa*, la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* y la *piruvato quinasa*. En cada una de las dos primeras reacciones se consume una molécula de ATP y en la última se forma un ATP (fig. 17.12).

El control de este ciclo es ejercido por inhibición de la *piruvato quinasa*, la enzima más activa del mismo cuya actividad, como se ha visto en el capítulo anterior, puede ser regulada por dos mecanismos generales:

1. Por acción directa de efectores alostéricos, tales como fructosa-1,6-bisfosfato, alanina y ATP.
2. Por fosforilación de la enzima por la *proteína quinasa dependiente de AMPc*, lo que conlleva su inhibición.

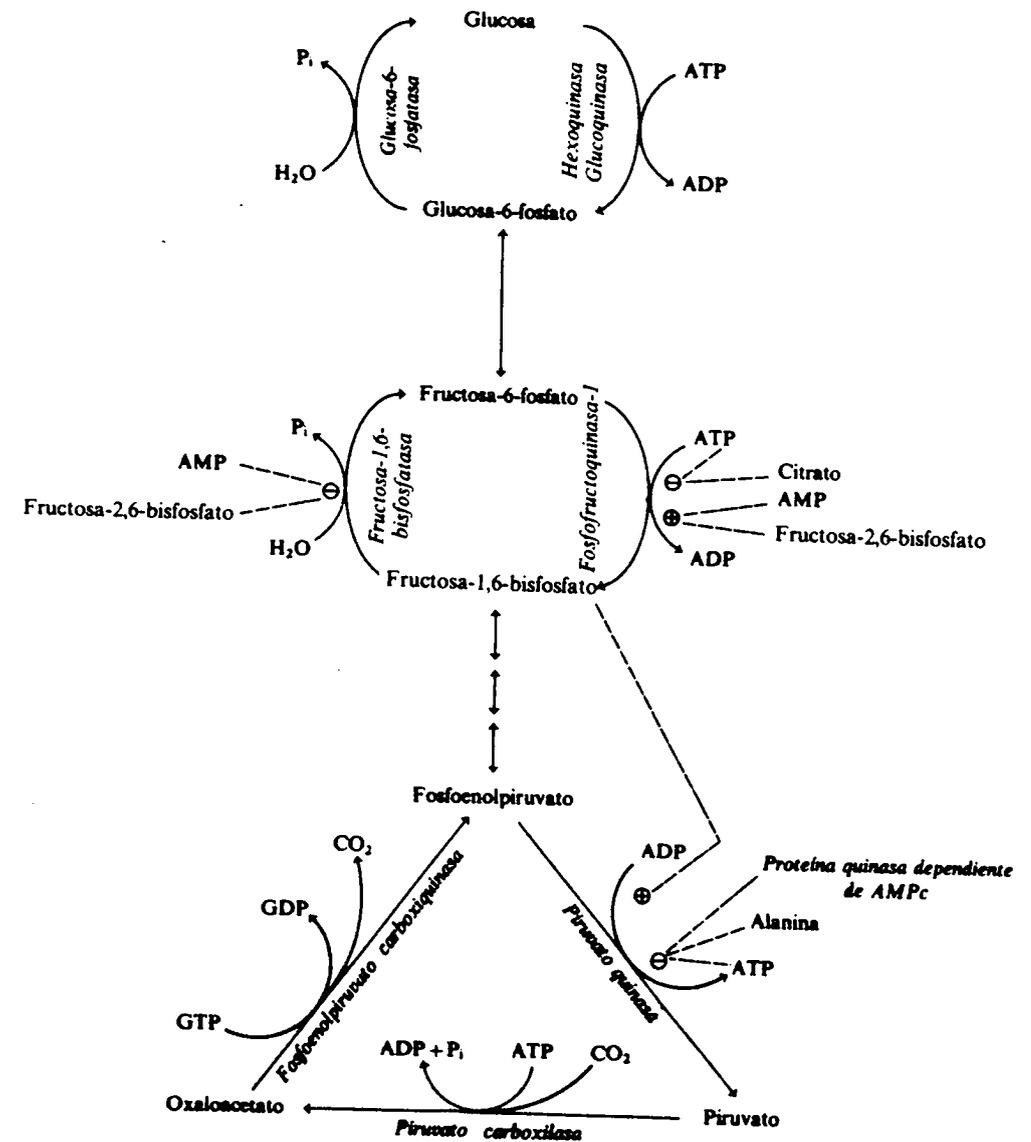


Figura 17.12. Ciclos de sustratos de glucólisis y gluconeogénesis y su regulación.

Ciclo de fructosa-1,6-bisfosfato/fructosa-6-fosfato

En el animal alimentado se ha calculado que aproximadamente un 15 por 100 de la glucosa formada por el hígado es reciclado a través de las triosas fosfato. Sin embargo, en ayunas, los valores de reciclaje no son detectables debido a que la actividad de la *fosfofructoquinasa-1* se encuentra inhibida.

Parece bien establecido que este ciclo (fig. 17.12) se halla bajo un intenso control hormonal. Así, la administración de glucagón lleva a una disminución del reciclaje como consecuencia de la inhibición de la *fosfofructoquinasa-1* y la activación de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*. Por el contrario, la vasopresina estimula el ciclo por activación de la *fosfofructoquinasa-1*.

En la actualidad sabemos que gran parte de estas alteraciones son mediadas por cambios en los niveles hepáticos de fructosa-2,6-bisfosfato, metabolito inhibidor de la *fructosa-1,6-bisfosfatasa*, y activador de la *fosfofructoquinasa-1*.

Con respecto al significado fisiológico de este ciclo, resulta útil que no funcione en situaciones de elevada actividad gluconeogénica. En cambio, en estado absorptivo o tras una carga de glucosa, su funcionamiento podría representar una especie de válvula de seguridad para prevenir una excesiva velocidad de glucólisis y, en consecuencia, evitar la posible aparición de acidosis láctica.

Ciclo de glucosa-6-fosfato/glucosa

La velocidad del reciclaje glucosa-6-fosfato/glucosa (fig. 17.12) es alta en el hígado de animales alimentados, y disminuye con el ayuno. Las enzimas que participan en este ciclo parecen no estar sometidas a control rápido, antes bien, la velocidad de cada una de las reacciones está determinada sólo por la disponibilidad del sustrato.

Se ha postulado que en el ciclo de sustrato glucosa/glucosa-6-fosfato podría residir el control de la captación y liberación de glucosa por el hígado. Así, a medida que la glucemia disminuye, también lo hace la concentración intracelular de glucosa en el hepatocito y, por tanto, la actividad de la *glucoquinasa*. Cuando la actividad de la *glucoquinasa* es menor que la de la *glucosa-6-fosfatasa*, la velocidad de hidrólisis excede a la de fosforilación de glucosa, con lo que hay liberación neta de glucosa por el hígado. Del mismo modo, aquellos factores que provoquen una disminución en la concentración de glucosa-6-fosfato, afectarán al flujo neto del ciclo favoreciendo la captación neta de glucosa. O la inversa, un aumento en la glucosa-6-fosfato conllevará un incremento en la velocidad de su hidrólisis.

TEXTOS DE CONSULTA

- Benkovic, S. J., y De Maine, M. N.: «Mechanism of action of fructose-1,6-bisphosphatase», en *Advances in Enzymology*, vol. 53, págs. 45-82, editado por A. Meister, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1982.
- Denton, R., y Halestrap, A. P.: «Regulation of pyruvate metabolism in mammalian tissues», en *Essays in Biochemistry*, vol. 15, págs. 37-77, editado por P. N. Campbell y R. D. Marshall, Academic Press, Londres y Nueva York, 1979.
- Exton, J. H.: «Mechanisms involved in effects of catecholamines on liver carbohydrate metabolism», *Biochem. Pharmacol.*, 28:2237-2240, 1979.
- Exton, J. H.: «Regulation of gluconeogenesis by glucocorticoids», en *Monographs on*

- Endocrinology*, vol. 12, «Glucocorticoid Hormone Action», págs. 535-546, editado por J. D. Baxter y G. G. Rousseau, Springer-Verlag, Berlin, 1979.
- Felig, P.: «The glucose-alanine cycle», *Metabolism*, 22:179-207, 1973.
- Hanson, R. W., y Mehman, M. A. (eds.): *Gluconeogenesis: Its regulation in mammalian species*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1976.
- Hers, H. G.: «The usefulness of futile cycles», *Biochem. Soc. Trans.*, 4:985-988, 1976.
- Hers, H. G.: «The discovery and the biological role of fructose-2,6-bisphosphate», *Biochem. Soc. Trans.*, 12:729-735, 1984.
- Hers, H. G., y Hue, L.: «Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:617-653, 1983.
- Hue, L.: «The role of futile cycles in the regulation of carbohydrate metabolism in liver», en *Microenvironments and metabolic compartmentation*, págs. 227-243, editado por P. A. Srere y R. W. Estabrook, Academic Press, Nueva York, 1978.
- Hue, L., y Rider, M. H.: «Role of fructose-2,6-bisphosphate in the control of glycolysis in mammalian tissues», *Biochem. J.*, 245:313-324, 1987.
- Kraus-Friedmann, N.: Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis», *Physiological Rev.*, 64:170-259, 1984.
- Newsholme, E. A.; Challis, R. A. J., y Crabtree, B.: «Substrate cycles: their role in improving sensitivity in metabolic control», *Trends Biochem. Sci.*, 9:277-280, 1984.
- Pilkis, S. J.; El-Maghrabi, M. R.; McGrane, M.; Pilkis, J., y Claus, T. H.: «Regulation by glucagon of hepatic pyruvate kinase, 6-phosphofructo-1-kinase, and fructose-1,6-bisphosphatase», *Federation Proc.*, 41:2623-2628, 1982.
- Schumer, W.: «Cell metabolism and lactate», en *Lactate in acute conditions*, págs. 1-9, editado por H. Bossart y C. Perret. Karger, Basel, 1979.
- Snell, K.: «Muscle alanine synthesis and hepatic gluconeogenesis», *Biochem. Soc. Trans.*, 8:205-213, 1980.
- Standbury, J. B.; Wyngaarden, J. B.; Fredrickson, D. S.; Goldstein, J. L., y Brown, M. S.: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 5.ª ed., McGraw-Hill Book, Co., Nueva York, 1983.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

La vía de las pentosas-fosfato

ENRIQUE MELÉNDEZ HEVIA

CONCEPTOS GENERALES

La vía de las pentosas-fosfato, o vía de las pentosas, también conocida como vía del fosfogluconato, es, a diferencia de otras rutas estudiadas en capítulos anteriores, tales como la glucólisis o el ciclo del ácido cítrico, una vía metabólica que no tiene una estructura determinada, sino que puede adoptar formas muy diversas, en distintos organismos, órganos e incluso situaciones fisiológicas. Cabe considerar seis estructuras o modalidades fundamentales distintas para esta ruta, sin tener en cuenta todas las posibles combinaciones cuantitativas entre ellas, ni la fase no reductora del ciclo de Calvin durante la fotosíntesis, conocida como *vía no reductora de las pentosas-fosfato*, que es otra variante, aunque muy distinta (véase el cap. 11). Además, en 1971, el equipo de Williams comunicó unos resultados que sugerían una organización hepática de las reacciones que componen esta ruta en mamíferos distinta de la que se había considerado hasta entonces, lo cual añadiría una nueva modalidad a la vía.

La ruta de las pentosas es una parte del metabolismo de carbohidratos que enlaza el de la glucosa con el de las pentosas (ribosa, ribulosa, etc.) y otros azúcares. Sus funciones metabólicas, como las de muchas otras vías del metabolismo intermediario, son muy diversas, pero se resumen en lo siguiente:

1. Es una vía alternativa de degradación de la glucosa para obtener ATP acoplada con la fosforilación oxidativa. Esta modalidad es prácticamente exclusiva de algunas bacterias.
2. Es la fuente principal, si no la única, de NADPH citoplasmático en células eucarióticas, el cual es necesario para la biosíntesis de ácidos grasos y otros procesos como la reducción del glutatión, la biosíntesis de esteroides y las reacciones de hidroxilación.
3. Es la vía de síntesis de ribosa y de desoxirribosa, necesarias para la biosíntesis de ácidos nucleicos y nucleótidos en general; además de para la síntesis de la histidina cuyo precursor, el fosforribosil pirofosfato, o PRPP, es un derivado de la ribosa.
4. Es la vía de degradación de la ribosa y la desoxirribosa, procedentes tanto de la digestión de ácidos nucleicos como del recambio metabólico de nucleótidos.

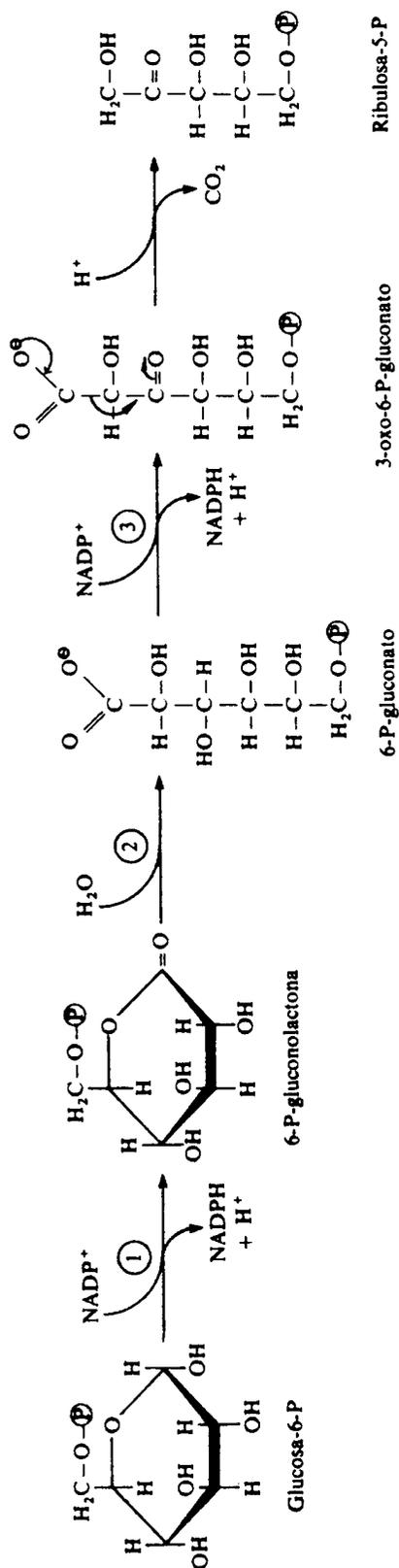


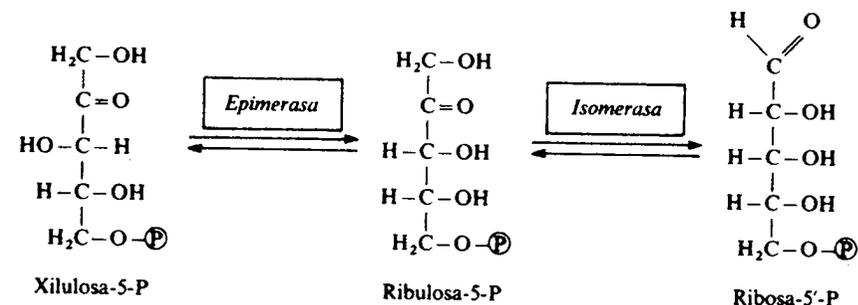
Figura 18.1. Secuencia de reacciones de la fase oxidativa. La glucosa-6-P (glucosa-6-fosfato) se convierte en ribulosa-5-P (ribulosa-5-fosfato) por la acción secuencial de tres enzimas: (1) *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*; (2) *6-fosfogluconolactonasa*; (3) *6-fosfogluconato deshidrogenasa*. El proceso incluye la reducción de dos moles de $NADP^+$ y el desprendimiento de un mol de CO_2 , por mol de glucosa convertida.

Ya se señaló antes que esta fase oxidativa es irreversible en condiciones fisiológicas, y que no es posible usar las mismas enzimas para convertir la ribulosa-5-fosfato en glucosa-6-fosfato. El proceso es unidireccional debido a que la hidrólisis de la gluconolactona ($K_{eq} = 4.600$) y la descarboxilación ($K_{eq} = 500$ con CO_2 1 mM) son reacciones muy favorecidas termodinámicamente en las condiciones celulares.

FASE NO OXIDATIVA

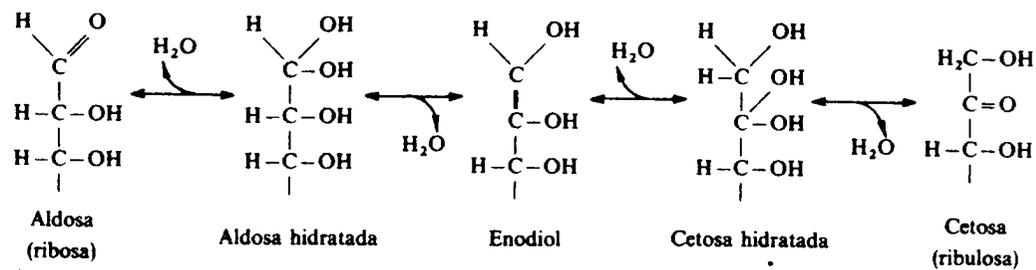
Isomerización y epimerización de pentosas

Esta etapa se lleva a cabo con la intervención de dos enzimas que no actúan de modo secuencial, sino que son dos alternativas distintas. Así, la ribulosa-5-fosfato formada en la fase anterior puede convertirse en su isómero*, la ribosa-5'-fosfato, o en su epímero en 3, la xilulosa-5-fosfato.



Estas transformaciones son absolutamente necesarias para continuar con la vía de las pentosas, o para salir de ella, según la modalidad de que se trate.

El mecanismo de la reacción catalizada por la *ribulosa-5-fosfato isomerasa* es análogo al de otras isomerasas que se han visto ya, como la *fosfogluco isomerasa* o la *triosa-fosfato isomerasa* de la glucólisis y de la gluconeogénesis. El proceso, ilustrado en el siguiente esquema, transcurre mediante etapas sucesivas de hidratación-deshidratación con formación de un enodiol intermedio. La reacción, como todas las conocidas de este tipo, es reversible en condiciones celulares, con una constante de equilibrio próxima a la unidad.



* Aunque el término isómero puede aplicarse para cualquier variante estructural de un compuesto con igual fórmula empírica, aquí se aplica en un sentido estricto, para indicar azúcares que se diferencian en, y sólo en, la función aldehído o cetona. Distinguimos, pues, los tres tipos siguientes de variantes estructurales de un azúcar, además de las formas D y L (enantiómeros): anómeros (formas α y β), epímeros (difieren sólo en la configuración de un C) e isómeros.

En este punto, la vía de las pentosas-fosfato pasa por un intermediario muy frecuente en el metabolismo, la ribosa-5'-fosfato. Por su parte, la ribulosa-5-fosfato también es un intermediario relevante para la fotosíntesis. Por tanto, en este punto existe una encrucijada con otras rutas metabólicas que condicionará modalidades distintas de la ruta de las pentosas.

La *ribulosa-5-fosfato 3-epimerasa*, como su nombre indica, cataliza la epimerización de la ribulosa-5-fosfato en el C₃, el cual pasa de configuración R a S. El azúcar que resulta es la xilulosa-5-fosfato. El mecanismo de acción de estas epimerasas no se conoce bien.

Estas dos reacciones son dos alternativas distintas para la ribulosa. De hecho, una determinada fracción de ribulosa-5-fosfato se transforma en ribosa-5'-fosfato y otra en xilulosa-5-fosfato, según sean los requerimientos del resto del metabolismo. Ya empieza a verse aquí una característica de esta ruta metabólica que no es frecuente: una ruta que no es secuencial, sino que se bifurca en varios puntos (éste es uno de ellos); bifurcaciones que, como se verá más adelante, no tienen una constante establecida de reparto: el porcentaje de moléculas de ribulosa-5-fosfato que van a ser convertidas en ribosa-5'-fosfato o en xilulosa-5-fosfato es variable y depende de la modalidad de esta vía, entre las seis señaladas al principio y sus posibles combinaciones.

Interconversiones de azúcares de distinto número de carbonos

Esta es la fase más complicada de la vía de las pentosas. Las interconversiones de azúcares se efectúan mediante transferencias de carbonos de un azúcar a otro. Hay tres enzimas que catalizan estos procesos: la *transcetolasa*, la *transaldolasa* y la *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa*. Además, puesto que cada una de ellas requiere ciertas condiciones estructurales en sus sustratos, también intervienen en esta fase *epimerasas e isomerasas*. Hay que destacar, ya en este punto, que si se tienen en cuenta los requisitos estructurales de la *transcetolasa*, la *transaldolasa* y la *aldolasa* es posible deducir directamente los puntos de intervención de las *epimerasas* y las *isomerasas*. En otras palabras, el conjunto ordenado de reacciones de esta fase, la anterior y la siguiente viene impuesto por los requisitos estructurales de la *transcetolasa*, la *transaldolasa* y la *aldolasa*.

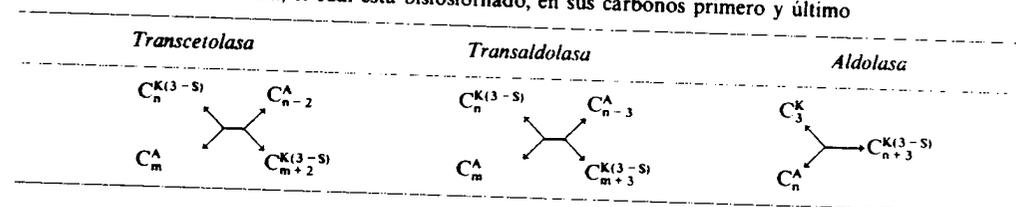
Transcetolasa. Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo glicolaldehído (dos carbonos) entre dos azúcares. La reacción tiene, pues, dos sustratos: el azúcar donador y el azúcar receptor del grupo glicolaldehído, y dos productos (véase la tabla 18.1). La reacción sigue las siguientes normas:

1. El azúcar que dona los dos carbonos tiene que ser una cetosa cuyo tercer carbono tenga configuración S; y el que los acepta debe ser una aldosa.
2. Los dos carbonos transferidos son los dos primeros de la cetosa, y se transfieren en forma de grupo glicolaldehído.
3. Los dos azúcares que participan en la reacción como sustratos deben estar fosforilados en su último carbono. Como consecuencia, también lo están los dos productos.
4. Los dos productos son también una aldosa y una cetosa, respectivamente, con las mismas características estructurales de los sustratos; esto es, como consecuencia de la reacción, la cetosa queda convertida en aldosa, con dos carbonos menos, y la aldosa queda convertida en cetosa, con dos carbonos más, y con su tercer carbono en configuración S (ambas fosforiladas en su último carbono).

En la tabla 18.1 se resumen las características de esta reacción y su mecanismo se explica en las figuras 18.2 y 18.3.

Tabla 18.1

Esquema de las características estructurales de los azúcares que participan en las reacciones de transferencia de fragmentos carbonados. Los subíndices expresan el número de carbonos en cada azúcar; otras características estructurales están indicadas como superíndices: A, aldo; K, ceto; (3-S), tercer carbono en configuración S. Todos los azúcares están monofosforilados en su último carbono, a excepción del producto de condensación de la *aldolasa*, el cual está bisfosforilado, en sus carbonos primero y último



Las reacciones catalizadas por la *transcetolasa* son perfectamente reversibles debido a su simetría, dado que el mismo conjunto de condiciones estructurales las cumplen los dos sustratos y los dos productos. La reacción puede transcurrir en cualquier sentido, según determinen las condiciones termodinámicas celulares. Aunque hay diferencias en la afinidad de la enzima por los distintos azúcares, la *transcetolasa* no tiene sustratos ni productos fijos, cualquier par de azúcares que cumpla las condiciones estructurales antes descritas puede ser convertido por esta enzima en los correspondientes productos. Las constantes de equilibrio de la reacción son, en todos los casos, próximas a la unidad.

Mecanismo de acción de la transcetolasa. La *transcetolasa* pertenece al grupo de las enzimas que utilizan el pirofosfato de tiamina como coenzima. En este

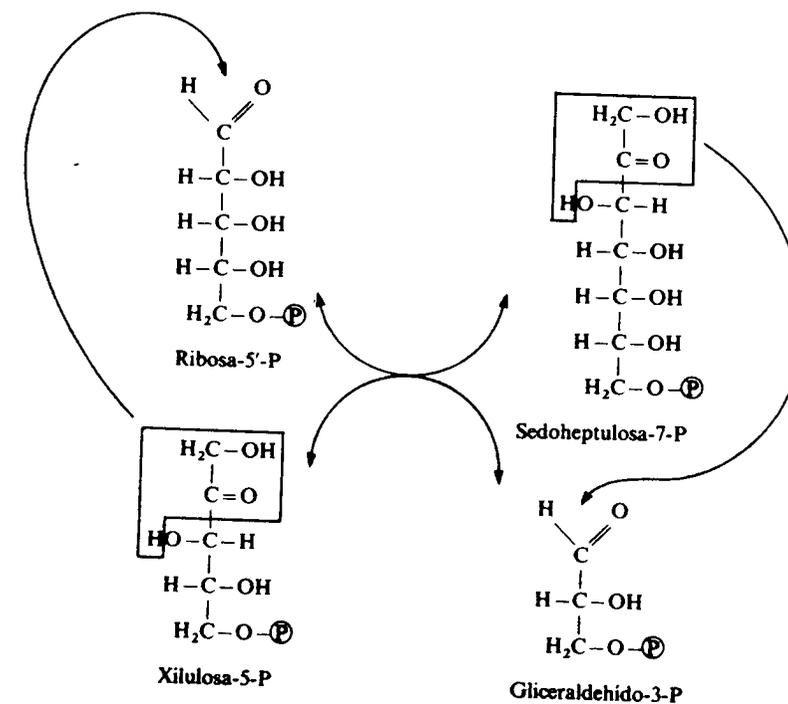


Figura 18.2. Esquema de una reacción catalizada por la *transcetolasa* que transfiere un resto de glicolaldehído desde la xilulosa-5-fosfato a la ribosa-5'-fosfato, transformando estos azúcares en gliceraldehído-3-fosfato y sedoheptulosa-7-fosfato, respectivamente. Pueden construirse esquemas similares con otros pares de azúcares siempre que cumplan las normas del mecanismo enzimático.

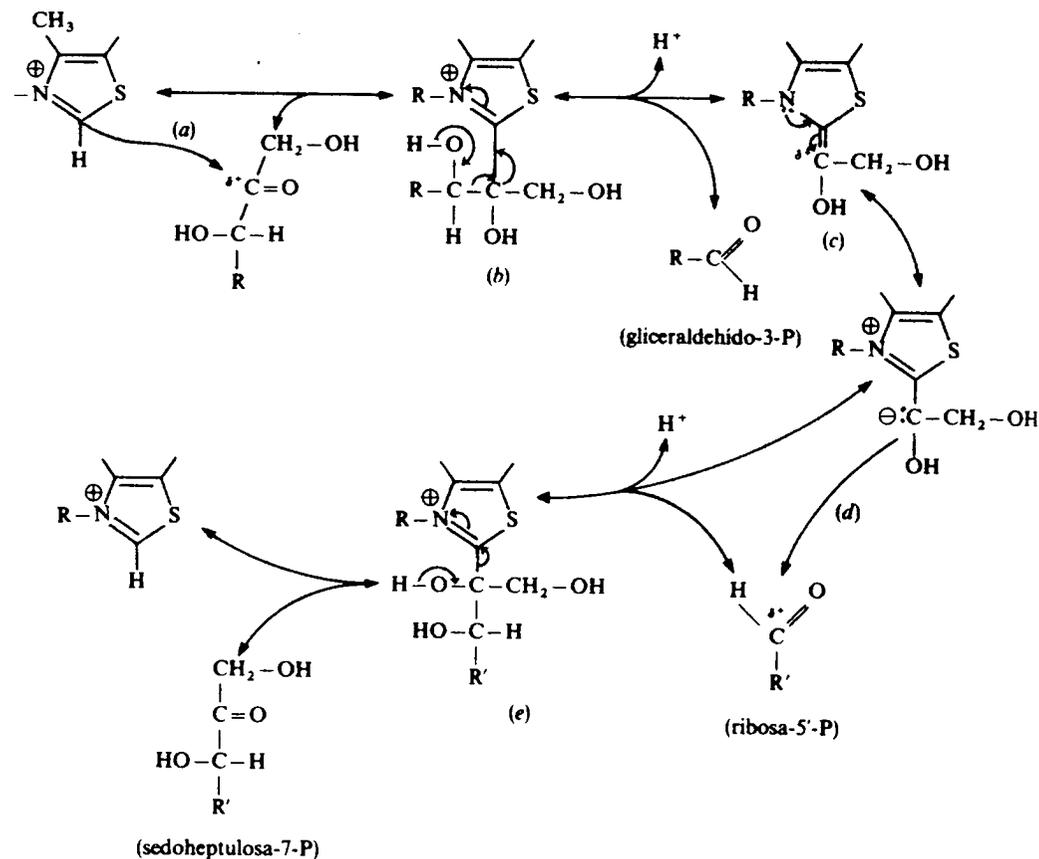
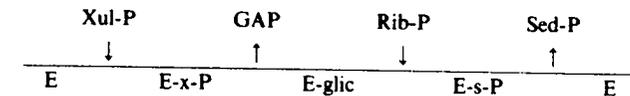


Figura 18.3. Mecanismo de la reacción de la *transcetolasa*. *a*) El carbono carbonílico (C-2) de la cetosa es atacado por el C-2 del anillo de tiazol, del pirofosfato de tiamina, fuertemente nucleofílico. *b*) El nitrógeno del anillo de tiazol, muy electrofílico, promueve un desplazamiento de electrones que causa la rotura del enlace entre el C-2 y el C-3 de la cetosa. El resto de glicolaldehído activado queda unido covalentemente, por un doble enlace, al anillo de tiazol; el resto del esqueleto carbonado de la cetosa (aldosa con dos carbonos menos) se libera como producto de la reacción. *c*) El nitrógeno del anillo de tiazol tiende a compartir los dos electrones libres; este desplazamiento de electrones se ve favorecido por el C-1 (electrófilo) del resto glicolaldehído. Se forma un carbanión, muy inestable. *d*) La aldosa que salió del centro activo en *b*) se ha intercambiado con otra aldosa. El C-1 del resto de glicolaldehído, en forma de carbanión, fuertemente nucleofílico ataca al C-1 de la aldosa. Se forma un enlace covalente entre ambos carbonos y el compuesto que resulta permanece unido mediante enlace covalente al anillo de tiazol. *e*) Por último, el nitrógeno, electrofílico, del anillo de tiazol promueve un nuevo desplazamiento de electrones que conduce a la rotura del enlace entre este anillo y el azúcar. Se libera como segundo producto de la reacción una cetosa cuyo esqueleto carbonado procede de la aldosa sustrato más los dos carbonos del glicolaldehído.

grupo se incluyen también la primera enzima de los complejos multienzimáticos α -cetoácido deshidrogenasa (2-oxoácido deshidrogenasas) (piruvato deshidrogenasa, 2-oxoglutarato deshidrogenasa, etc.); piruvato descarboxilasa de levadura; y las sintasas que condensan el piruvato con piruvato o con 2-oxobutirato en la síntesis de valina e isoleucina, respectivamente, en bacterias y plantas. La reacción se basa en el ataque nucleofílico del anillo de tiazol sobre el carbono carbonílico de la cetosa, como se muestra en la figura 18.3.

Compárese este mecanismo con el de la *piruvato deshidrogenasa*, también catalizado por pirofosfato de tiamina (cap. 16). El piruvato hace allí el papel de la cetosa sustrato; el CO_2 que se desprende allí equivale a la aldosa producto; y el resto de glicolaldehído que se transporta en esta reacción a la aldosa equivale al de acetaldehído de aquella que se transfiere al ácido lipóico.

Esta reacción tiene un típico mecanismo cinético ping-pong: la entrada de sustratos y salida de productos es alternativa, como puede apreciarse en el siguiente esquema:



Xul-P: xilulosa-5-fosfato; GAP: gliceraldehído-3-fosfato; Rib-P: ribosa-5-fosfato; Sed-P: sedoheptulosa-7-fosfato; E: enzima; E-x-P: enzima-xilulosa-fosfato; E-glic: enzima-glicolaldehído; E-s-P: enzima-sedoheptulosa-fosfato.

Transaldolasa. Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo dihidroxiacetona (tres carbonos) entre dos azúcares. La reacción tiene, pues, como en el caso de la *transcetolasa*, dos sustratos y dos productos (véase la tabla 18.1). La reacción se rige por las siguientes normas (compárense con las de la *transcetolasa* descritas en el apartado anterior).

1. El azúcar que dona los tres carbonos tiene que ser una cetosa, con su C-3 en configuración S, y el C-4 en configuración R; el azúcar que los acepta debe ser una aldosa.
2. Los carbonos transferidos son los tres primeros de la cetosa, y se transfieren en forma de un grupo dihidroxiacetona.
3. Los dos azúcares que participan como sustratos deben estar monofosforilados en su último carbono. Como consecuencia, también lo están los dos productos (idéntica condición que para la *transcetolasa*).
4. Los dos productos de la reacción son también una aldosa y una cetosa, respectivamente, con las mismas características estructurales de los sustratos; esto es, como consecuencia de la reacción, la cetosa queda convertida en aldosa, con tres carbonos menos; y la aldosa queda convertida en cetosa, con tres carbonos más, con su tercer carbono en configuración S y el cuarto en configuración R; los dos productos permanecen fosforilados en su último carbono. En la tabla 18.1 se resumen las características de esta reacción. El mecanismo detallado se explica en las figuras 18.4 y 18.5.

La reacción de la *transaldolasa* es también simétrica; el conjunto de los dos sustratos y el de los dos productos cumplen las mismas condiciones estructurales descritas antes, por lo cual la reacción es fácilmente reversible. Las constantes de equilibrio son próximas a la unidad, y aunque la afinidad de la enzima no es la misma por los distintos azúcares, tampoco tiene sustratos fijos, es decir, cualquier par de azúcares que cumpla las condiciones estructurales expuestas puede ser convertido por la *transaldolasa*.

Mecanismo de la reacción de la transaldolasa. A pesar de la estrecha semejanza entre las reacciones de la *transcetolasa* y de la *transaldolasa*, los mecanismos de las dos reacciones son muy diferentes: la *transaldolasa* no utiliza pirofosfato de tiamina, como coenzima, y su mecanismo está basado en el grupo ϵ -amino de un residuo de lisina del sitio activo de la enzima, el cual se une covalentemente a la cetosa formando una base de Schiff (fig. 18.5). Como en el caso de la *transcetolasa*, la reacción obedece a un mecanismo ping-pong.

Aldolasa. Las *aldolasas* pueden considerarse como casos particulares de la *transaldolasa*, con la salvedad de que en lugar de operar con dos sustratos y dos

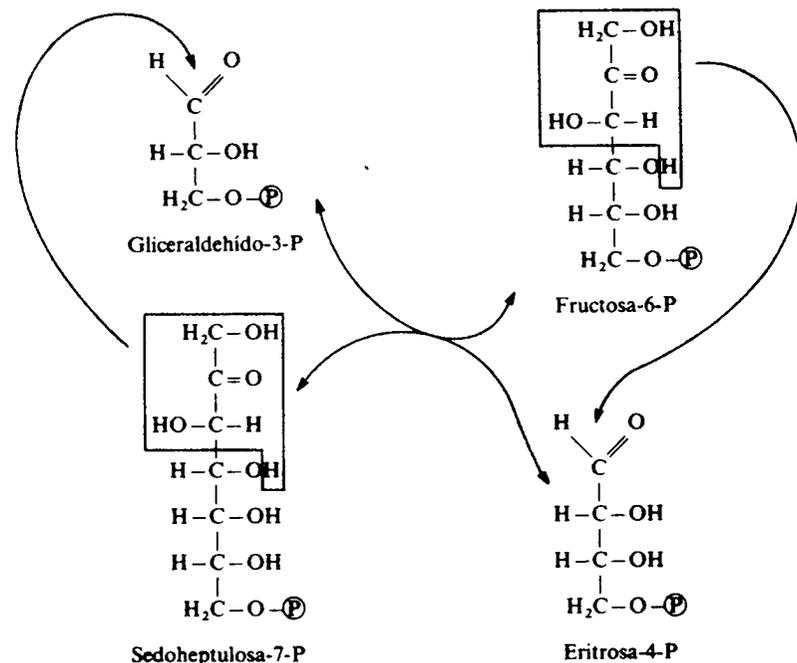


Figura 18.4. Esquema de la reacción catalizada por la *transaldolasa*. Transferencia de un resto de dihidroxiacetona desde la sedoheptulosa-7-fosfato al gliceraldehido-3-fosfato, que se convierten en eritrosa-4-fosfato y fructosa-6-fosfato, respectivamente.

productos (transfiriendo un grupo dihidroxiacetona de una cetosa a una aldosa), catalizan la condensación de la dihidroxiacetona libre con una aldosa para originar un único azúcar que es una cetosa. Hay que tener en cuenta que el tercer carbono de la dihidroxiacetona no tiene quiralidad, por lo que no es posible la configuración R o S. Por lo demás, a excepción de que no hay dos productos sino uno, el resto de las características de estas reacciones es igual al de la *transaldolasa*; es decir, los dos sustratos (la dihidroxiacetona-fosfato y la aldosa) tienen que estar monofosforilados en el último carbono y, como consecuencia, el producto de la reacción es una cetosa bisfosforilada, en el primero y último carbono. Las demás características estructurales de esta cetosa producto son iguales a las de las cetosas sustratos o productos de la *transaldolasa*, y están resumidas también en la tabla 18.1.

A diferencia de las dos anteriores, esta reacción no es simétrica y, por ello, no es posible deducir su reversibilidad de su mecanismo. La *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa* tiene una constante de equilibrio de 10^{-4} M en el sentido de la escisión, lo cual quiere decir que, en condiciones estándar está muy favorecida la condensación. En las condiciones celulares, sin embargo, la reacción puede ocurrir en los dos sentidos (la enzima escinde en la glucólisis y condensa en la gluconeogénesis). La misma enzima, la *fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa*, es la que participa en la ruta de las pentosas-fosfato y también cataliza la reacción en ambos sentidos, según la modalidad de esta ruta. La escisión aldólica es muy frecuente en el metabolismo; como ejemplos de enzimas equivalentes pueden citarse la *isocitrato liasa* del ciclo del ácido glioxílico (cap. 12), la *treonina aldolasa* y la *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa* (cap. 24), entre otras.

Mecanismo de la reacción de la aldolasa. La similitud mencionada antes entre

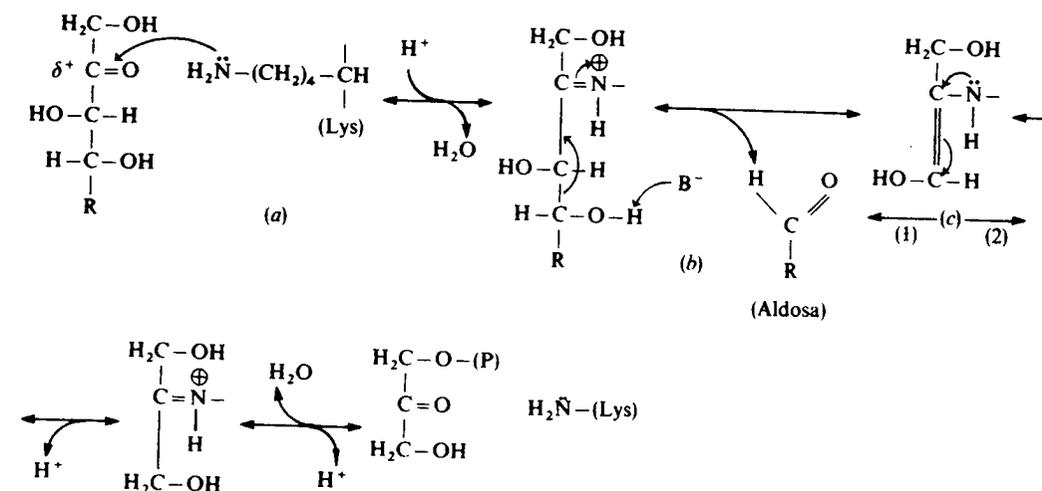


Figura 18.5. Mecanismo de la reacción de la *transaldolasa* y de las *aldolasas*. a) Ataque nucleofílico del grupo ϵ -amino de la lisina del sitio activo de la enzima al carbonilo de la cetosa, con formación de una base de Schiff. b) Un grupo básico B^- del sitio activo separa un protón del grupo hidroxilo en C-4 de la cetosa para iniciar la ruptura aldólica. El nitrógeno protonado de la base de Schiff atrae electrones, promoviendo la rotura del enlace entre el C-3 y el C-4 de la cetosa. Obsérvese que el enlace H-O del hidroxilo en C-3 debe estar estabilizado (al contrario de la *transcetolasa*), mientras que el enlace H-O del hidroxilo en C-4 debe estar debilitado. Ello se logra, posiblemente como consecuencia de sendas interacciones con residuos del sitio activo de la enzima imponiendo las condiciones estéricas de la cetosa sustrato: configuración S en C-3, y R en C-4. La rotura del enlace C-3 y C-4 de la cetosa libera una aldosa (con tres carbonos menos). c) El resto de dihidroxiacetona, unido covalentemente con la lisina, en forma de base de Schiff, puede seguir dos caminos alternativos: 1) si la enzima es la *transaldolasa*, el proceso se reverte; se capta otra aldosa-sustrato y se produce otra cetosa-producto con tres carbonos más; 2) si la enzima es una *aldolasa*, la base de Schiff se hidroliza y se libera la dihidroxiacetona. En este caso, la cetosa-sustrato está también fosforilada en C-1, y, como consecuencia, también lo está la dihidroxiacetona.

la *aldolasa* y la *transaldolasa* no es sólo aparente; el mecanismo de la reacción de la *aldolasa* es semejante al de la *transaldolasa*. Se basa en un residuo de lisina que se une covalentemente a la dihidroxiacetona que va a condensarse, o a la cetosa que va a escindir, formando una base de Schiff. En la figura 18.5 se explica este mecanismo, junto con el de la *transaldolasa*.

ORGANIZACION DE LAS REACCIONES DE LA FASE NO OXIDATIVA

La característica más destacada de la vía de las pentosas es que, al tratarse de una ruta metabólica no secuencial, tiene que existir una organización de todo el conjunto de reacciones enzimáticas disponibles para dar cuenta, en cada caso, de la transformación necesaria. El conjunto de reacciones posibles que acaban de verse puede organizarse de diversas formas, según el interés celular. Todas ellas encajan en seis modalidades básicas y sus diversas combinaciones. En primer lugar se estudiará la organización más compleja, que constituye el *ciclo de las pentosas-fosfato*, para analizar después otras variantes.

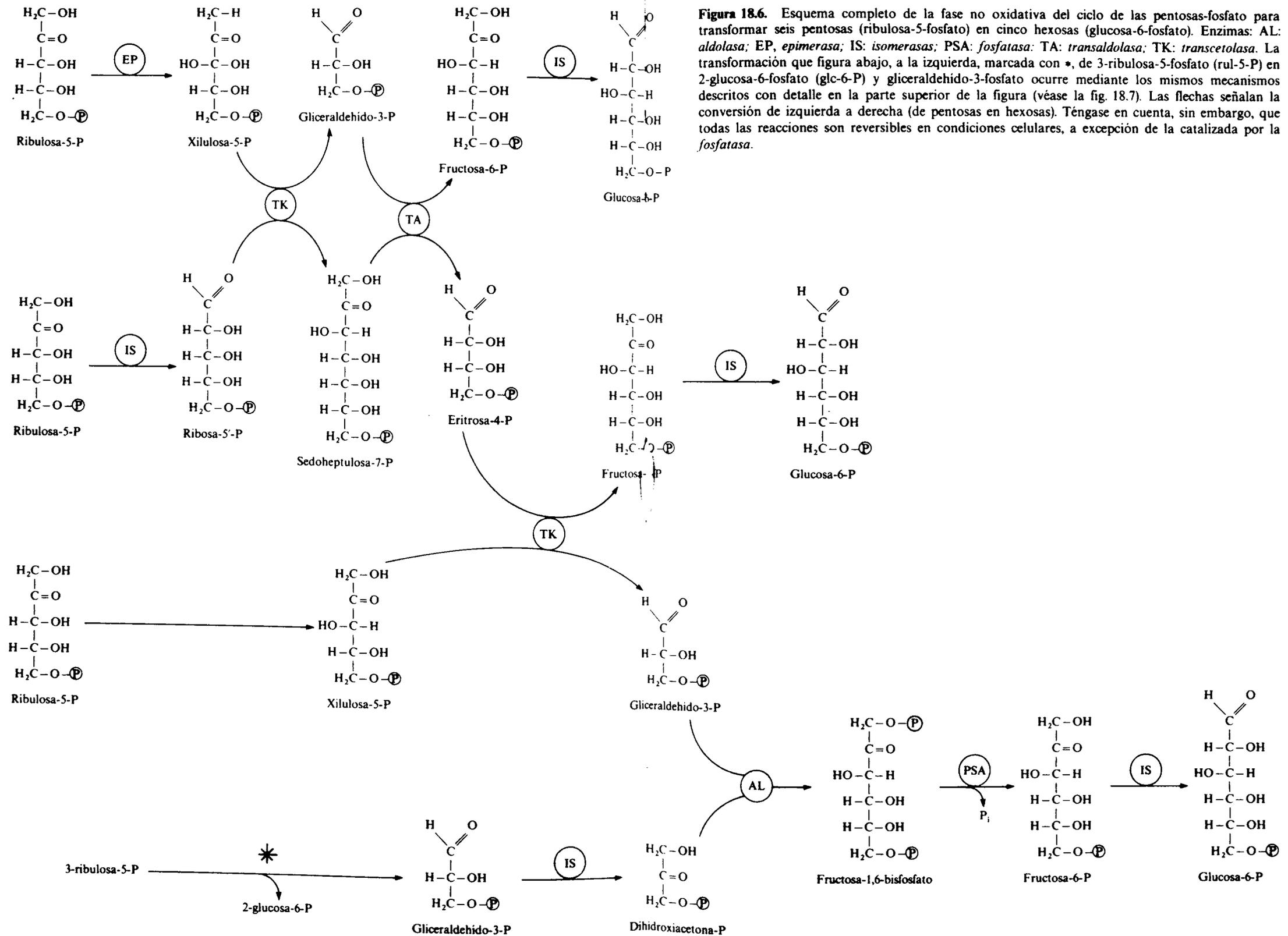
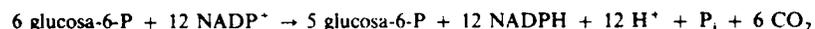


Figura 18.6. Esquema completo de la fase no oxidativa del ciclo de las pentosas-fosfato para transformar seis pentosas (ribulosa-5-fosfato) en cinco hexosas (glucosa-6-fosfato). Enzimas: AL: aldolasa; EP, epimerasa; IS: isomerasas; PSA: fosfatasa; TA: transaldolasa; TK: transcetolasa. La transformación que figura abajo, a la izquierda, marcada con *, de 3-ribulosa-5-fosfato (rul-5-P) en 2-glucosa-6-fosfato (glc-6-P) y gliceralehido-3-fosfato ocurre mediante los mismos mecanismos descritos con detalle en la parte superior de la figura (véase la fig. 18.7). Las flechas señalan la conversión de izquierda a derecha (de pentosas en hexosas). Téngase en cuenta, sin embargo, que todas las reacciones son reversibles en condiciones celulares, a excepción de la catalizada por la fosfatasa.

El ciclo de las pentosas-fosfato

Se trata de convertir la glucosa-6-fosfato en ribulosa-5-fosfato mediante la fase oxidativa; esto debe ocurrir seis veces, por lo cual se produce la conversión de doce moléculas de NADP^+ en doce de $\text{NADPH} + 12 \text{H}^+$, la liberación de seis moléculas de CO_2 y, por último, la formación de seis moléculas de ribulosa-5-fosfato. Ahora, deben convertirse estas seis pentosas (ribulosa-5-fosfato) en cinco hexosas (glucosa-6-fosfato) más un fosfato inorgánico (P_i). Cuando todo esto haya ocurrido, se habrá consumido una molécula de glucosa-6-fosfato, pues se recuperan cinco de las seis que se usaron al principio. Así, esta ruta tiene carácter cíclico: en cada vuelta completa se gasta una molécula de glucosa-6-fosfato que queda convertida en poder reductor ($12 \text{NADPH}^+ + 12 \text{H}^+$), 6CO_2 y P_i .



La esencia de la conversión de pentosas en hexosas radica en las reacciones de transferencia de carbonos llevadas a cabo por la *transcetolasa*, la *transaldolasa* y la *aldolasa*, cuyos requisitos, con respecto a la estructura de los sustratos, se han estudiado en apartados anteriores. De acuerdo con tales requisitos, obsérvese que la ribulosa-5-fosfato no puede ser sustrato de ninguna de ellas, pues es una cetosa y no tiene su tercer carbono en configuración S; por consiguiente, es necesaria la intervención de una *epimerasa* que la convierta en xilulosa-5-fosfato, o de una *isomerasa* que la convierta en ribosa-5'-fosfato. En realidad, son necesarias las dos, ya que cualquiera que sea la enzima que vaya a transferir carbonos siempre tiene que actuar sobre una cetosa y una aldosa, pasando dos o tres carbonos de una a otra.

Cabe preguntarse ahora cuál será la primera enzima que actúe transfiriendo carbonos. La respuesta es sencilla si se tiene en cuenta un requisito estructural que se deduce directamente de los mecanismos de reacción de estas enzimas: todos los intermediarios (productos de una y sustratos de la siguiente) son azúcares, y un azúcar no puede tener menos de tres carbonos; por consiguiente, la *transaldolasa* no puede tener como sustratos dos pentosas, ni una *aldolasa* puede escindir una pentosa y la siguiente reacción tiene que estar catalizada por la *transcetolasa* con dos pentosas como sustratos, la ribulosa-5-fosfato y la xilulosa-5-fosfato.

Los mecanismos de reacción de la *transcetolasa*, la *transaldolasa* y la *aldolasa* condicionan una cierta organización estructural para llevar a cabo el proceso completo. Pero, aun teniendo en cuenta todas estas condiciones, o «reglas del juego», existen muchas soluciones posibles para organizar las reacciones del proceso completo. La pregunta es, ¿cuál de ellas usa la célula?

Esta situación ha planteado un curioso problema teórico de la organización del metabolismo en relación con la *hipótesis de la simplicidad* en la evolución biológica, denominado *el juego del ciclo de las pentosas-fosfato*. El problema se analiza con más detalle en el capítulo 55; aquí se dará sólo la solución más simple, que es también la forma en que está organizada esta ruta metabólica en la célula, y que se expone en las figuras 18.6, 18.7 y 18.8. En cada vuelta del ciclo, por cada seis moléculas de glucosa-6-fosfato que intervienen se forman seis moléculas de ribulosa-5-fosfato. La *transcetolasa* actúa cuatro veces, la *transaldolasa* dos y la *aldolasa* una vez. La *epimerasa* actúa tan sólo al principio de la fase no oxidativa y las *isomerasas* lo hacen al principio, al final y antes de la *aldolasa*; por último, la *fosfatasa* libera el fosfato inorgánico sobrante.

Lo que acaba de describirse es una modalidad de la vía de las pentosas, cuyo significado metabólico es el de ser una vía alternativa de degradación de la

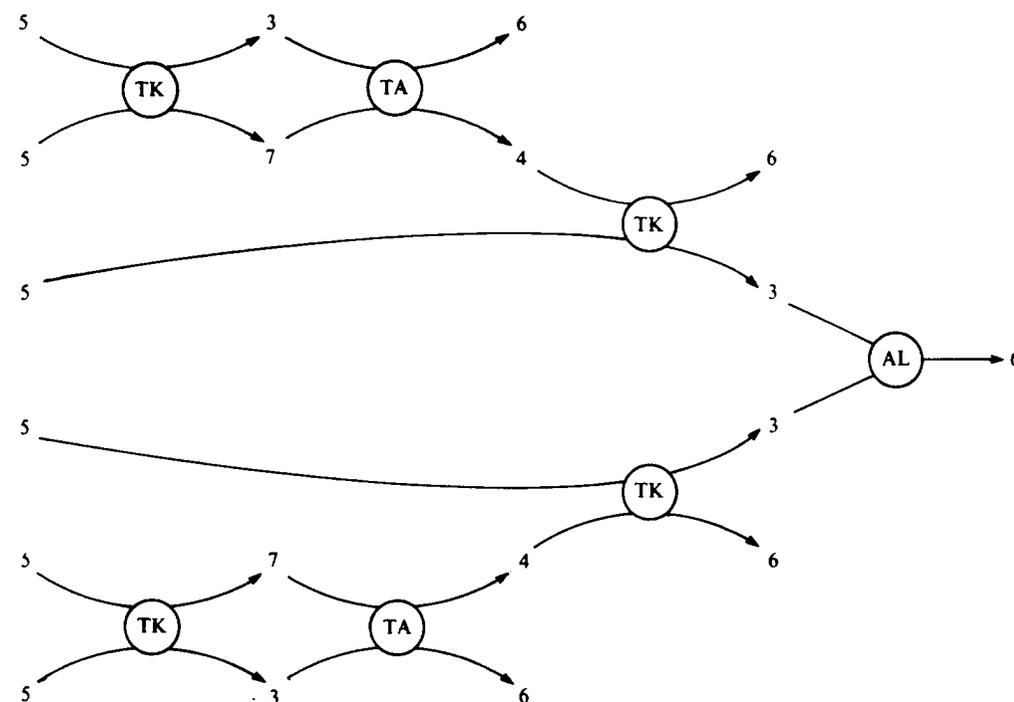


Figura 18.7. Representación esquemática de la conversión de seis pentosas en cinco hexosas en la fase no oxidativa del ciclo de las pentosas-fosfato. Todos los productos y sustratos son azúcares y cada número indica el número de carbonos del azúcar. Sólo están representadas las enzimas que transfieren carbonos de un azúcar a otro: TK, transcetolasa; TA, transaldolasa; AL, aldolasa.

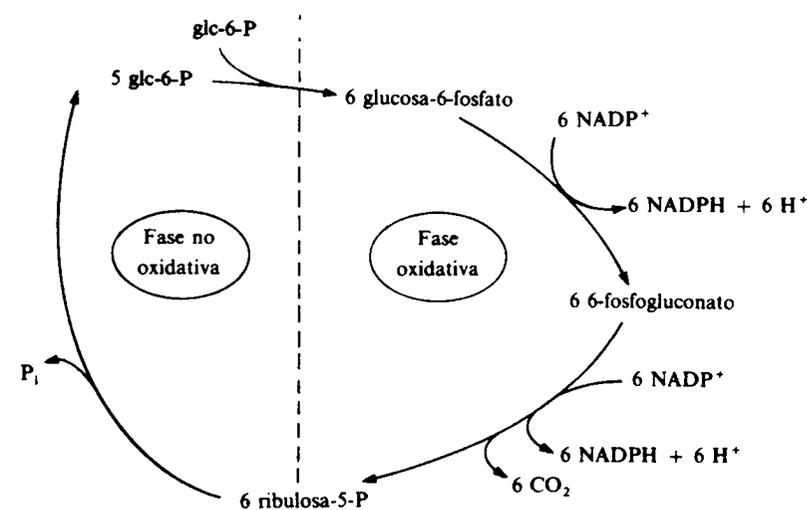


Figura 18.8. Esquema del ciclo de las pentosas-fosfato: en la fase oxidativa se convierten seis moléculas de glucosa-6-fosfato (seis carbonos) en 6 de ribulosa-5-fosfato (cinco carbonos), con pérdida de 6CO_2 y producción de 12NADPH . En la fase oxidativa las seis pentosas se convierten en cinco hexosas y se libera un fosfato inorgánico. En cada vuelta completa se consume una molécula de glucosa. La fase oxidativa es irreversible y la no oxidativa reversible, sustituyendo la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* por la *fosfofructoquinasa*.

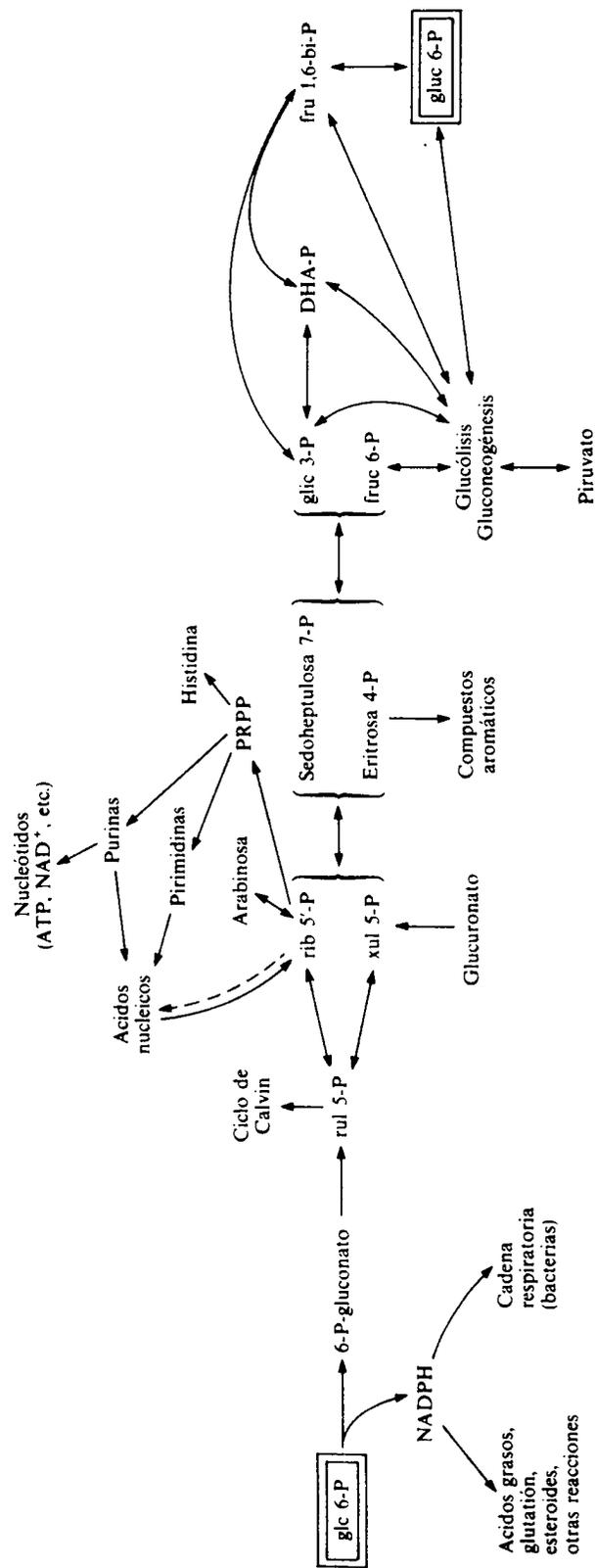


Figura 18.9. Relaciones metabólicas entre la ruta de las pentosas y otros procesos metabólicos.

glucosa, y la principal vía de suministro de NADPH. A partir de lo expuesto es posible deducir sin dificultad cualquier alternativa de organización de este sistema metabólico para usarlo con otros fines (véase la fig. 18.9).

Degradación de ribosa

En este caso se prescinde de la fase oxidativa (que genera pentosas). La ribosa procedente de la dieta o del recambio de ácidos nucleicos se incorpora en forma de ribosa-5'-fosfato a la fase no oxidativa o bien directamente o bien previa transformación en xilulosa-5-fosfato mediante la acción secuencial de la *isomerasa* y la *epimerasa*. La fase no oxidativa transcurre entera o se omiten los últimos pasos, según las condiciones particulares de la célula. Si está activada la síntesis del glucógeno, o si se trata de liberar glucosa, entonces la fase oxidativa se efectúa tal como se expone en las figuras 18.6 y 18.7. Si, por el contrario, está activada la glucólisis, se omiten los últimos pasos de la fase no oxidativa y la fructosa-6-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato se incorpora directamente a ella. No debe olvidarse que estas últimas enzimas (*glucosa-6-fosfato isomerasa*, *triosa-fosfato isomerasa*, *aldolasa* y *fructosa-1,6-bisfosfatasa*) son las mismas que intervienen en el conjunto glucólisis-gluconeogénesis. Dependiendo de que estén en marcha un conjunto u otro de reacciones, estas enzimas funcionarán en un sentido u otro, con la salvedad de los ciclos de sustrato (véase cap. 17). En definitiva, la ribosa se convierte en glucosa, glucógeno o cualquier intermediario de la glucólisis.

Biosíntesis de ribosa-5'-fosfato

Al contrario que en el caso anterior, se trata ahora de convertir glucosa en ribosa. Este proceso admite, a su vez, dos modalidades:

1. Si además de ribosa-5-fosfato se necesita NADPH, se lleva a cabo de forma exclusiva, la fase oxidativa más la isomerización de la ribulosa-5-fosfato pero no el resto de la fase oxidativa.
2. Si, por el contrario, no se necesita NADPH, ocurre tan sólo la fase no oxidativa, pero en sentido contrario al de las figuras 18.6 y 18.7. Cualquier situación intermedia puede resolverse combinando apropiadamente estas dos alternativas.

Biosíntesis de eritrosa-4-fosfato

Como ya se ha indicado, la eritrosa-4-fosfato es un precursor de la biosíntesis de compuestos aromáticos en bacterias y plantas. La conversión de glucosa-6-fosfato en eritrosa-4-fosfato obliga a una organización distinta de la fase no oxidativa, que puede deducirse sin dificultad a partir de las figuras 18.6 y 18.7.

Por último, hay que insistir de nuevo en la estrecha relación que existe entre la vía de las pentosas, el conjunto glucólisis-gluconeogénesis, el metabolismo del glucógeno y otros carbohidratos. La glucosa-6-fosfato y otros azúcares fosforilados (fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-bisfosfato, gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona-fosfato) son intermediarios comunes de estos sistemas, igual que las enzimas antes mencionadas. Hay que tener en cuenta que ninguna de las rutas estudiadas tiene una organización estructural de localización de las enzimas (como

existe, por ejemplo, en la cadena respiratoria). Todas las enzimas y los intermediarios están disueltos. Estos últimos forman un «pool» común, siendo imposible discriminar cuáles proceden de la glucólisis y cuáles de la vía de las pentosas. Debe señalarse que en las células no existen rutas metabólicas en sentido estricto, sino enzimas, las cuales se organizan según las necesidades fisiológicas configurando rutas de conversión, cuya estructura y distribución cuantitativa es variable. Muchas enzimas que participan en lo que conocemos como una ruta metabólica intervienen en el diseño de otras. El siguiente caso que se va a analizar es un ejemplo muy ilustrativo de estas características.

Relación entre la ruta de las pentosas-fosfato y la glucólisis

Ya se ha comentado que cada una de las finalidades fisiológicas de la ruta de las pentosas implica una organización distinta de las reacciones, en función de los sustratos disponibles y de los productos requeridos. Consideremos ahora uno de los casos más frecuentes: la producción de NADPH para la biosíntesis de ácidos grasos. Esto supone la utilización de glucosa para generar NADPH, pero no quiere decir que toda la glucosa deba seguir la misma vía. El esqueleto carbonado de los ácidos grasos procede del acetyl-CoA, el cual se origina en su mayor parte del piruvato, que a su vez, proviene de la glucólisis. Por consiguiente, la vía de las pentosas no es, en este caso, una vía alternativa de la glucólisis para degradar glucosa, sino una vía complementaria de ésta para hacer posible la síntesis de ácidos grasos. Las dos rutas tienen que funcionar simultáneamente, pero la contribución de cada una de ellas al metabolismo de la glucosa es variable. La glucólisis es funcional, pero una parte de la glucosa se metaboliza a través de la vía de las pentosas. En este caso, no ocurrirán las últimas reacciones que completarían el ciclo de las pentosas para reciclar las hexosas (isomerización de fructosa-6-fosfato a glucosa-6-fosfato, isomerización del gliceraldehído-3-fosfato a dihidroxiacetona-fosfato, condensación aldólica de estas dos triosas y la hidrólisis del fosfato en C-1 de la fructosa-1,6-bisfosfato), dado que en la glucólisis están ocurriendo las mismas reacciones en sentido contrario (la *fructosa-1,6-bisfosfatasa* puede estar funcionando, pero el flujo neto va de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato), y hay un flujo neto de glucosa-6-fosfato a gliceraldehído-3-fosfato.

De esta forma, resulta una organización de la vía de las pentosas que no tiene carácter cíclico, y que es una de las más frecuentes en el metabolismo celular: una parte de la glucosa-6-fosfato se desvía hacia la ruta de las pentosas, en lugar de isomerizarse a fructosa-6-fosfato en la secuencia glucolítica, para reintegrarse a la glucólisis más adelante como fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-P; de ahí el nombre que se le ha dado a esta modalidad, de «shunt» (desviación) de la hexosa-monofosfato, o HMP.

El proceso está representado en la figura 18.10. Obsérvese que, a excepción del carbono que se desprende como CO₂ en la fase oxidativa, el esqueleto carbonado de la glucosa desviada hacia la vía de las pentosas vuelve a la glucólisis para producir piruvato. Este CO₂, un mol, por mol de glucosa desviada, procede siempre del C-1 de la glucosa; el CO₂ que procede de la descarboxilación del piruvato proviene del C-3 y del C-4 de la glucosa (en el caso de que esta glucosa se haya metabolizado a través de la glucólisis exclusivamente; si se ha desviado hacia la vía de las pentosas, 1/5 del CO₂ de la descarboxilación del piruvato que proceda de ella viene del C-2 de la glucosa); por último, si el acetyl-CoA es degradado por completo en el ciclo del ácido cítrico, el CO₂ procederá de todos

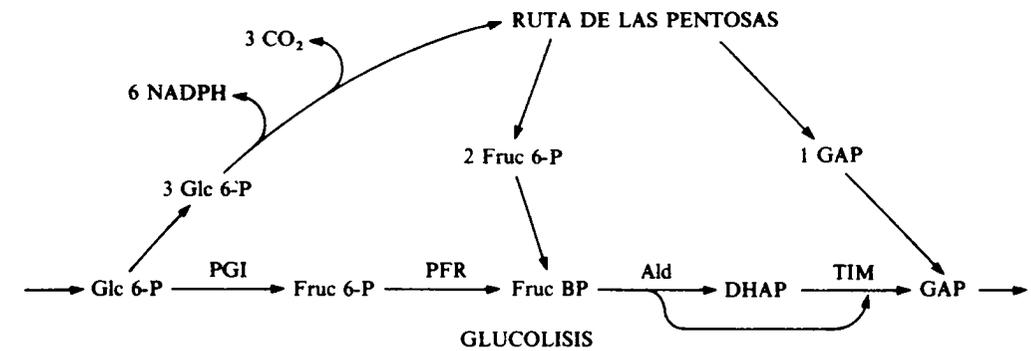


Figura 18.10. Desviación («shunt») de la ruta de las pentosas, o desviación de la hexosa monofosfato (HMP). Organización que adopta la ruta de las pentosas cuando funciona simultáneamente con la glucólisis para producir NADPH: parte de la glucosa 6-P (entre el 20 por 100 y el 30 por 100) se desvía hacia la ruta de las pentosas-fosfato. Sólo se dan los coeficientes estequiométricos de la ruta de las pentosas. Por cada tres hexosas (glc 6-P) que salen de la glucólisis hacia la ruta de las pentosas, se devuelven dos (fruc 6-P) y una triosa-P. Cada molécula de glucosa 6-P desviada origina 2 de NADPH. La proporción de la hexosa monofosfato que se desvía es variable y está regulada, posiblemente, por la relación NADPH/NADP⁺.

los carbonos de la glucosa; una parte considerable de tales carbonos estarán formando parte de los ácidos grasos, pero también una parte importante serán degradados por completo en el ciclo del ácido cítrico para alimentar la fosforilación oxidativa. Por consiguiente, el tejido desprenderá moléculas de CO₂ procedentes de todos los carbonos de la glucosa, pero el origen del CO₂ procedente de su C-1 en relación con el que procede del resto de los carbonos, permitirá conocer la importancia relativa de la glucosa metabolizada a través de la ruta de las pentosas.

Determinaciones experimentales

Sobre la base de estas consideraciones es posible determinar experimentalmente la contribución relativa de la ruta de las pentosas al metabolismo de la glucosa. Se incuban dos muestras equivalentes de un tejido, en una de ellas la glucosa se marca con ¹⁴C en C-1 y en la otra muestra en C-6. Si la vía de las pentosas no funciona en absoluto, la radiactividad encontrada en el CO₂ será la misma en los dos casos, pero si esta vía es operativa, puesto que la desviación de las pentosas sólo libera CO₂ procedente del C₁, la radiactividad del CO₂ será mayor en el tejido incubado con [1-¹⁴C]-glucosa, que en el tejido incubado con [6-¹⁴C]-glucosa. La relación

$$\frac{\% \text{ rendimiento radioquímico a partir de } [6\text{-}^{14}\text{C}]\text{-glucosa}}{\% \text{ rendimiento radioquímico a partir de } [1\text{-}^{14}\text{C}]\text{-glucosa}}$$

se conoce como relación C-6/C-1, y constituye un método para determinar la proporción de glucosa metabolizada por la glucólisis, siendo el resto la metabolizada por la vía de las pentosas. Este método es más preciso en los primeros momentos del experimento, ya que las hexosas-fosfato, producto de la vía de las pentosas, pueden reciclarse en la misma vía, lo cual ocurre de forma aleatoria,

aunque el flujo neto vaya en sentido contrario, como ya se ha visto antes. Hay que tener en cuenta que este método se basa en una serie de supuestos entre los cuales cabe destacar que se considera sólo una determinada modalidad de las muchas que puede adoptar la vía de las pentosas en su organización. Sin embargo, su aplicación ha aportado datos interesantes sobre el metabolismo de ciertos órganos y ha llevado a considerar la vía de las pentosas como una importante ruta metabólica en ciertos tejidos y células.

Los resultados obtenidos por este procedimiento señalan que hay una concordancia entre la actividad de la vía de las pentosas y la biosíntesis de ácidos grasos. Así, en el hígado, el órgano con mayor actividad de síntesis de ácidos grasos en muchos mamíferos (más incluso que el tejido adiposo) es donde se ha detectado la mayor actividad de la vía de las pentosas, la cual llega a representar un 30 por 100 o más del total de utilización de la glucosa. En el tejido adiposo, la contribución de la vía de las pentosas al metabolismo de la glucosa supone entre un 20 por 100 y un 25 por 100, dependiendo del estado nutricional y de las condiciones hormonales. En los testículos, en las glándulas mamarias en período de lactancia, en leucocitos y en la corteza adrenal, la importancia relativa de esta vía para el uso de glucosa es también muy alta. Por el contrario, en el músculo esquelético esta actividad es virtualmente nula.

La función de la ruta de las pentosas en el eritrocito merece una atención especial. Se trata aquí de una ruta metabólica fundamental, pues un defecto genético en la misma, que consiste en la deficiencia de la enzima *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*, origina una anemia hemolítica. El papel de la vía de las pentosas en estas células es el de suministrar NADPH, imprescindible para regenerar el glutatión reducido, por medio de una flavoproteína que contiene FAD. El glutatión reducido, el cual es necesario para mantener reducidos los restos de cisteína de la hemoglobina y de otras proteínas del eritrocito, así como para eliminar peróxidos tóxicos. En estas células la concentración de la forma reducida del glutatión es unas 500 veces superior a la de la forma oxidada.

Un caso muy ilustrativo lo constituye un mutante de *Salmonella typhimurium*, organismo que contiene los dos sistemas para metabolizar glucosa; el mutante carece de la enzima *fosfoglucoasa isomerasa*, por lo que se ve obligado a desviar toda la ruta de conversión de glucosa en piruvato a la vía de las pentosas, la cual, además, no puede nunca adoptar la organización cíclica (fig. 18.10). En este mutante se dan todos los supuestos comentados antes; crece sobre glucosa sólo a un 20 por 100 de la velocidad de la cepa silvestre. Cuando la cepa silvestre crece sobre $[1-^{14}\text{C}]$ -glucosa, aproximadamente el 80 por 100 del marcaje queda retenido en forma de glucosamina, la cual se sabe que procede directamente de la *glucosa-6-fosfato*. La coincidencia de estos datos indica que en este organismo el 20 por 100 de la glucosa es metabolizada por la vía de las pentosas, al tiempo que indica que esta vía no tiene una mayor capacidad de adaptación para compensar el defecto de la glucólisis.

En las bacterias existen muchos otros casos interesantes. Puesto que no poseen la barrera de permeabilidad de las células eucarióticas entre el citoplasma y la cadena respiratoria, los nucleótidos reducidos que se generan en la primera fase (oxidativa) pueden incorporarse directamente a la fosforilación oxidativa. Por ello, sólo en bacterias es donde la ruta de las pentosas resulta ser una auténtica alternativa para degradar glucosa. Además, en muchas bacterias las *deshidrogenasas* de la fase oxidativa utilizan NAD^+ como cosustrato, en lugar de NADP^+ . Como caso extremo cabe citar el de *Acetomonas oxydans*, organismo que usa exclusivamente la vía de las pentosas; en casos como éste la organización de la ruta es cíclica.

REGULACION DE LA RUTA DE LAS PENTOSAS-FOSFATO

En mamíferos existe un control de la actividad de la ruta de las pentosas-fosfato relacionado con la biosíntesis de ácidos grasos. Una dieta con exceso de carbohidratos estimula la lipogénesis en la rata, e induce un incremento simultáneo, de entre 5 y 10 veces, de la concentración de las enzimas *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* y *6-fosfogluconato deshidrogenasa* en hígado.

Por otra parte, existe una regulación de la actividad de estas enzimas que depende de la relación de concentraciones $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ en el citoplasma. El NADPH, producto final de la acción catalítica de estas dos enzimas, es un potente inhibidor competitivo con respecto al sustrato NADP^+ en las dos. *In vitro*, una relación $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ de 9:1 produce la inhibición total de la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* aislada; si se tiene en cuenta que en el hígado esta relación es del orden de 40-80:1 habría que concluir que la vía de las pentosas no debería funcionar en absoluto. El glutatión y un cofactor polipeptídico descubierto hace pocos años evitan esta inhibición. La cantidad de este cofactor en hígado se incrementa también como consecuencia de una dieta rica en carbohidratos.

EL TIPO L DEL CICLO DE LAS PENTOSAS-FOSFATO

En 1971 Williams y sus colaboradores dieron a conocer unos resultados sobre el metabolismo de las pentosas en hígado de rata que sugerían la existencia en este órgano de una variante del clásico ciclo de las pentosas-fosfato propuesto por Horecker. Por tanto, este grupo propuso una nueva organización para la vía de las pentosas en hígado que denominaron *tipo L*, para diferenciarlo de la forma tradicional, propia según estos investigadores del tejido adiposo, y denominada entonces por ellos *tipo F*. Estos autores basaron su modelo en los resultados obtenidos a partir del marcaje isotópico usando como precursores $[1-^{14}\text{C}]$ -ribosa-5'-fosfato y $[2,3-^{14}\text{C}]$ -ribosa-5'-fosfato por separado. Los resultados y su interpretación son demasiado complejos para exponerlos aquí. El mismo grupo ha continuado presentando después nuevos resultados experimentales hasta la actualidad; sin embargo, otros investigadores han comunicado resultados contrarios y han presentado interpretaciones distintas a los resultados de Williams, por lo que hoy existe una profunda controversia sobre la organización del ciclo de las pentosas en hígado y en otros órganos. Según Williams, el ciclo de tipo L sería propio no sólo del hígado sino de muchos otros órganos y tumores (a excepción del tejido adiposo), incluyendo vegetales. El tipo L del ciclo de las pentosas se diferencia del tipo F, o tradicional, en cuatro aspectos.

1. La *transaldolasa* no interviene. En consecuencia, las transferencias de carbonos entre azúcares que hacen posible la transformación de unos en otros, con distinto número de carbonos, quedan reducidas a la acción de la *transcetolasa* y las *aldolasas*.
2. Interviene una nueva enzima en la ruta, la *ribosa-5'-fosfato-2-epimerasa*, originando el intermediario arabinosa-5-fosfato.
3. Se ha identificado una segunda nueva enzima, una *fosfotransferasa*, que transfiere el fosfato en C-1 de la octulosa-1,8-bisfosfato a la sedoheptulosa-7-fosfato. Esta enzima ha sido encontrada en hígado y otros órganos y tumores de rata, así como en plantas.
4. Además de la arabinosa-5-fosfato, se forman también, como nuevos intermediarios, los azúcares de 7 y 8 carbonos sedoheptulosa-1,7-bisfosfato, octulosa-1,8-bisfosfato y octulosa-8-fosfato.

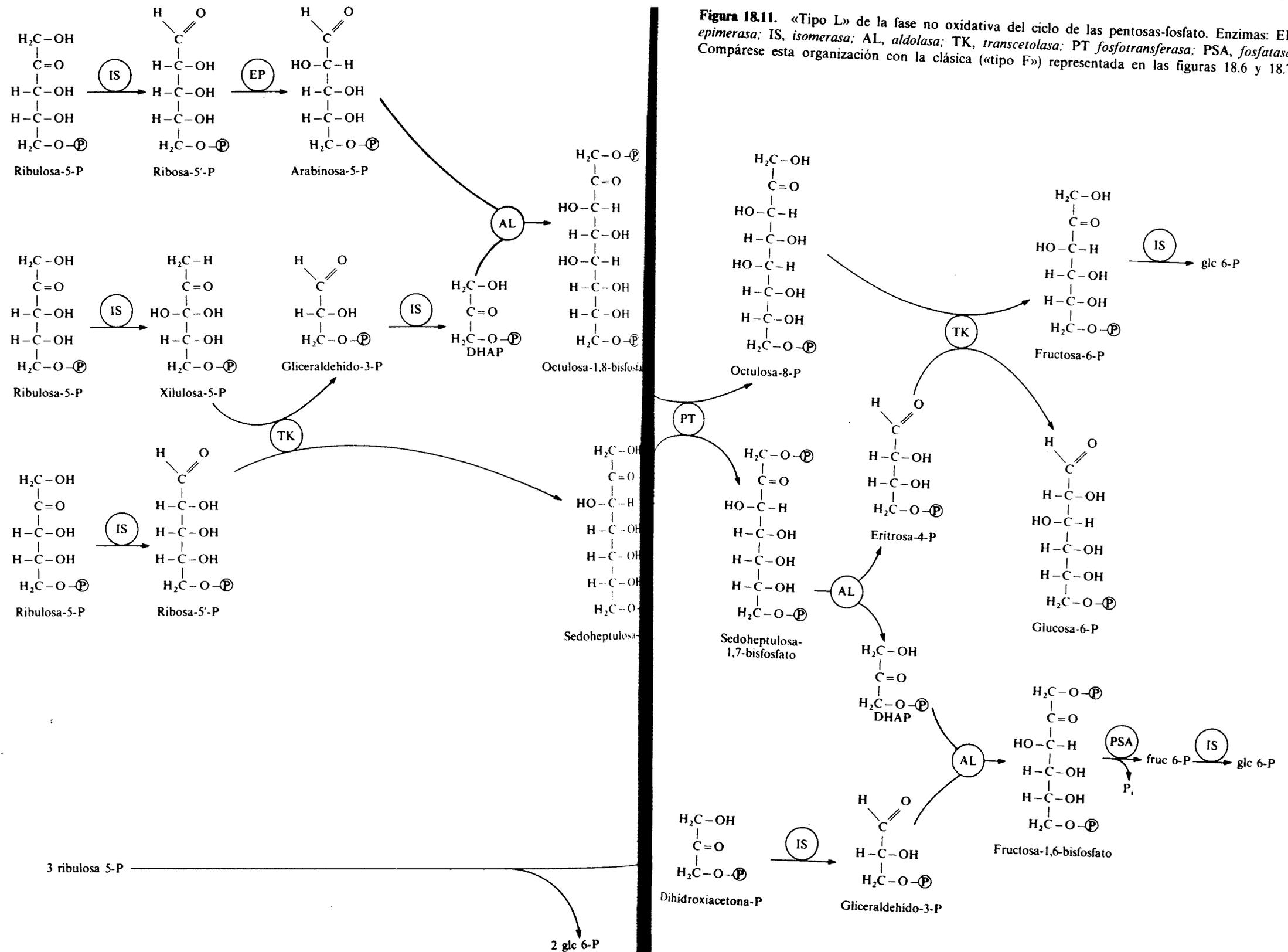


Figura 18.11. «Tipo L» de la fase no oxidativa del ciclo de las pentosas-fosfato. Enzimas: EP, epimerasa; IS, isomerasa; AL, aldolasa; TK, transcetolasa; PT fosfotransferasa; PSA, fosfatasa. Compárese esta organización con la clásica («tipo F») representada en las figuras 18.6 y 18.7.

La organización de la fase no oxidativa del ciclo de las pentosas-fosfato tipo L se muestra en la figura 18.11.

LA RUTA DE ENTNER-DOUDOROFF

En algunas especies bacterianas de los géneros *Pseudomonas*, *Zymomonas*, *Rhizobium* y otros existe una vía particular para el catabolismo de las hexosas, conocida como la *ruta de Entner-Doudoroff* (fig. 18.12), la cual puede considerarse como una desviación de la ruta de las pentosas-fosfato. Esta vía convierte la glucosa-6-fosfato en piruvato y gliceraldehído-3-fosfato, los cuales se incorporan a la glucólisis. En ella intervienen dos nuevas enzimas, la *6-fosfogluconato deshidratasa* y la *2-oxo-3-desoxi-6-fosfato gluconato aldolasa*.

LA RUTA DEL ACIDO GLUCURONICO

Otra posibilidad en el metabolismo de la glucosa-6-fosfato es su conversión en ácido glucurónico, o glucuronato. Este ácido resulta de la oxidación del C-6 de la glucosa (a diferencia del ácido glucónico que procede de la oxidación del C-1). La oxidación ocurre sobre el compuesto activado UDP-glucosa, un intermediario de la síntesis del glucógeno (cap. 17), mediante la enzima *UDP-glucosa deshidrogenasa* que utiliza dos moléculas de NAD^+ . El producto, UDP-glucuronato, es el precursor de polisacáridos complejos, tales como el ácido hialurónico, la heparina, y el condroitín sulfato, y participa en fenómenos de desintoxicación. Por otra parte, el UDP-glucuronato es el precursor del ácido ascórbico (vitamina C) y, alternativamente, de la xilulosa-5-fosfato; este último aspecto de su metabolismo representa una conexión con la ruta de las pentosas.

En la figura 18.13 se representa el conjunto de reacciones que llevan a la síntesis de ácido ascórbico y xilulosa-5-fosfato, y en la figura 18.14 se muestran las relaciones metabólicas de la UDP-glucosa y del UDP-glucuronato con oligosacáridos y polisacáridos.

La biosíntesis de ácido ascórbico no es funcional en los primates, incluido el hombre, ni en el cobayo y ciertas aves, que carecen todos de la enzima *gulono-*

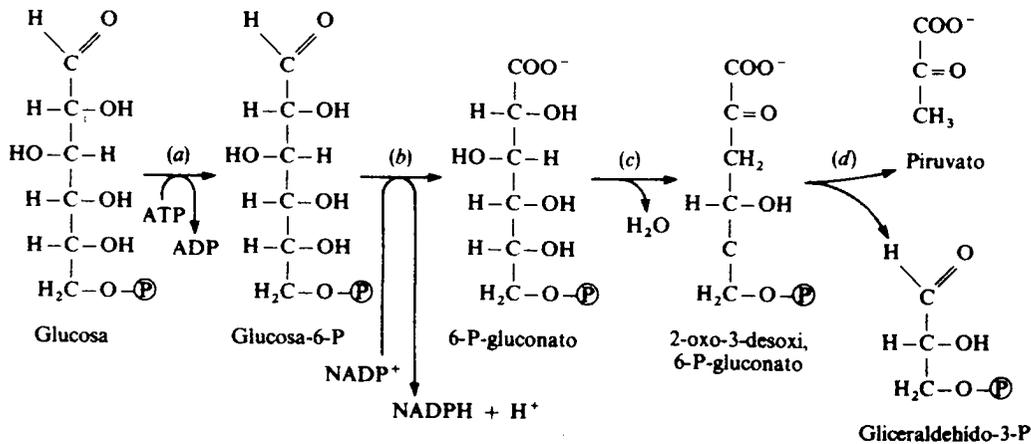


Figura 18.12. Ruta de Entner-Doudoroff: a) hexoquinasa; b) glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; c) 6-fosfogluconato deshidratasa; d) 2-ceto-3-desoxi-6-fosfogluconato aldolasa.

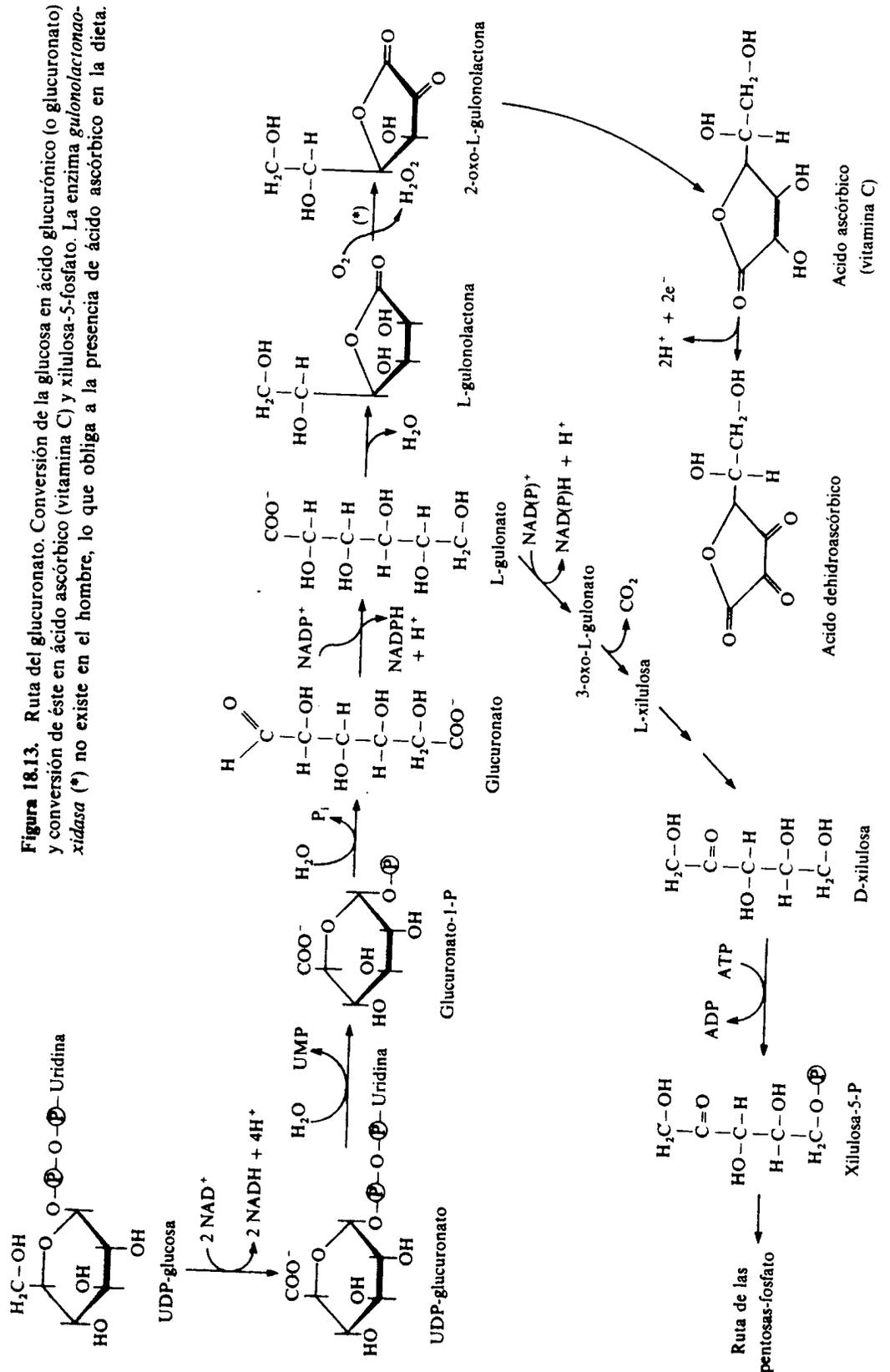


Figura 18.13. Ruta del glucuronato. Conversión de la glucosa en ácido glucurónico (o glucuronato) y conversión de éste en ácido ascórbico (vitamina C) y xilulosa-5-fosfato. La enzima *gulonolactonoxidasas* (*) no existe en el hombre, lo que obliga a la presencia de ácido ascórbico en la dieta.

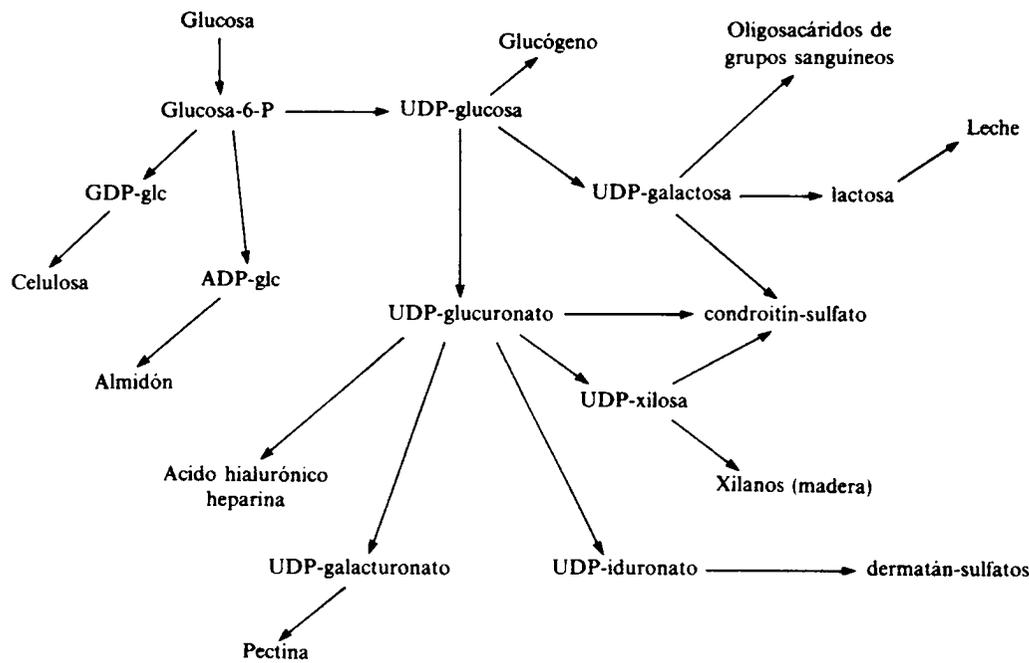


Figura 18.14. Relaciones metabólicas entre el UDP-glucuronato y diversos oligosacáridos y polisacáridos complejos.

lactona oxidasa. La carencia de ácido ascórbico en la dieta produce el *escorbuto*, enfermedad conocida desde hace siglos como típica de los marinos, y entre cuyos primeros síntomas destaca un debilitamiento general del tejido conectivo. La enfermedad se manifiesta al principio por pérdida de fuerza, depresión, agotamiento, dolores musculares y piel amarillenta o morena; luego hay ulceración de las encías, pérdida de los dientes, grandes hemorragias y muchos otros síntomas dramáticos que llevan finalmente a la muerte. Dados los estragos que producía entre la tripulación de los barcos, ya en el siglo XVI se empezó a relacionar con la carencia de frutas y verduras frescas en la dieta. A mediados del siglo XVIII Lind demostró experimentalmente que la ingestión diaria de dos naranjas y un limón curaba el escorbuto a los seis días de tratamiento. Sin embargo, hasta finales del siglo XIX el escorbuto siguió siendo común entre los marineros; en 1911 Hopkins dio a conocer pruebas experimentales que identificaban el escorbuto como el resultado de la carencia de una sustancia de la dieta. Sin conocer la estructura de tal sustancia, se le llamó vitamina C. En 1930, Szent-Györgyi aisló de tejidos vegetales una sustancia cristalina que luego él y otros, en particular Glen King, demostraron que se trataba de la vitamina C, la cual resultó ser un ácido para el que propusieron el nombre de ácido ascórbico, a fin de relacionarlo con la enfermedad que prevenía y curaba (cap. 8).

El consumo diario de 10 mg de ácido ascórbico es suficiente para evitar el escorbuto; con esta dosis, no obstante, aparecen frecuentemente deficiencias subclínicas, como fragilidad de capilares. La dosis recomendable es, pues, mayor; diversos organismos oficiales recomiendan una ingestión diaria de 30-70 mg/día, la cual se cubre de sobra en las poblaciones de los países desarrollados, por la abundancia de ácido ascórbico en la leche y frutas y verduras frescas. Sin embargo, Pauling ha señalado que esa dosis es la mínima para prevenir el escorbuto, y

que para el normal desarrollo de otros procesos se requiere una cantidad mucho mayor. Hay, además, datos que apuntan al papel del ácido ascórbico como agente antivírico, pero se desconoce el mecanismo de tal acción. Hasta hace muy pocos años, el papel de este ácido se desconocía por completo; hoy se sabe que interviene en la síntesis del colágeno y en otros procesos fisiológicos. Sin embargo, la intervención específica del ácido ascórbico (o del producto de su oxidación, el dehidroascórbico) en una reacción metabólica está aún sin esclarecer; es posible que actúe en el metabolismo como un agente de óxido-reducción en una reacción no enzimática, lo cual sería un caso singular en el metabolismo celular. Lo cierto es que la función metabólica del ácido ascórbico es hoy uno de los enigmas de la bioquímica.

La deficiencia metabólica que hace que el ácido ascórbico sea necesario en la dieta es la ausencia de la enzima *gulonolactona oxidasa* (fig. 18.13). Esta deficiencia parece ser debida a la pérdida de la capacidad de expresión del gen, más que a una mutación *estructural*, pues no se han detectado formas aberrantes de la enzima. Por otra parte, la enzima está presente en células embrionarias de ciertos animales que luego carecen de ella en estado adulto, y es posible que en algunas poblaciones de primates y humanos, como quizá algunas mujeres lactantes de la India, se haya mantenido la capacidad de síntesis de ácido ascórbico.

La incapacidad de convertir la gulonolactona en ácido ascórbico (fig. 18.13) hace que el metabolismo de L-gulonato se desvíe hacia xilulosa-5-fosfato; en esta ruta se ha detectado una enfermedad genética denominada *pentosuria esencial* o *pentosuria idiopática*, la cual se manifiesta por una excreción masiva de xilulosa en la orina (entre 1 y 4 g/día). Se trata de una enfermedad inocua que se debe posiblemente a la pérdida de la enzima que reduce la xilulosa a xilitol.

Hay que destacar, por último, el papel del UDP-glucuronato como precursor de polisacáridos complejos, tales como el condroitín-sulfato, el ácido hialurónico y la heparina, así como el de ciertos derivados tales como el UDP-galacturonato y UDP-iduronato. En la figura 18.14 se resumen algunas de estas relaciones metabólicas.

TEXTOS DE CONSULTA

- Ap Rees, T.: «The organization of glycolysis and the oxidative pentose phosphate pathway in plants», *Enciclopedia of Plant Physiology, new series*, vol. 18 (R. Douce & D. A. Day, eds.), Springer-Verlag, Berlin/Nueva York, 1985, págs 391-417.
- Horecker, B. L.; Gibbs, M.; Klenow, M., y Smirniotis, P. Z.: «The mechanism of pentose phosphate conversion to hexose monophosphate with a liver enzyme preparation», *Journal of Biological Chemistry*, 207:393-403, 1954.
- Katz, J.: «The pentose cycle in liver», *Trends in Biochemical Sciences*, 6:XIV-XV, 1981.
- Landau, B. R., y Wood, H. G.: «The pentose cycle in animal tissues: evidence for the classical and against the «L-type» pathway», *Trends in Biochemical Sciences*, 8:292-296, 1983.
- Meléndez-Hevia, E.: «The game of the pentose phosphate cycle: a mathematical approach to study the optimization in design of metabolic pathways during evolution», *Biomedica Biochemica Acta*, 49:903-916, 1990.
- Meléndez-Hevia, E., y Isidoro, A.: «The game of the pentose phosphate cycle», *Journal of Theoretical Biology*, 117:251-263, 1985.
- Meléndez-Hevia, E., y Torres, N. V.: «Economy of design in metabolic pathways: further remarks on the game of the pentose phosphate cycle», *Journal of Theoretical Biology*, 132:97-111, 1988.

- Nogueira, M.; García, G.; Mejuto, C., y Freire, M.: «Regulation of the pentose phosphate cycle. Cofactor that controls the inhibition of glucose 6-phosphate dehydrogenase by NADPH in rat liver», *Biochemical Journal*, 239:553-558, 1986.
- Rongstad, R.; Waals, P., y Katz, J.: «Further evidence for the classical pentose phosphate cycle in the liver», *Biochem. J.*, 208:851-855, 1982.
- Williams, J. F., y Clark, M. G.: «An error in metabolism: the pentose phosphate cycle», *Search*, 2:80-88, 1971.
- Williams, J. F.: «A critical examination of the evidence for reactions of the pentose pathway in animal tissues», *Trends in Biochemical Sciences*, 5:315-320, 1980.
- Wood, T.: *The pentose phosphate pathway*, Academic Press, Nueva York, 1985.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Metabolismo del glucógeno y su regulación

JOAN J. GUINOVART

RESERVA DE GLUCOGENO EN EL ORGANISMO Y SU PAPEL FUNCIONAL

El mantenimiento de la vida animal depende de la disponibilidad de energía química en forma de alimentos. Sin embargo, la ingesta de alimentos por los organismos no es constante, ni tampoco lo es la demanda de energía. Ello obliga a almacenar el exceso de sustancias metabolizables cuando son abundantes para ser utilizadas en casos de necesidad. La glucosa se almacena en los animales en forma de glucógeno, en tanto que las plantas lo hacen como almidón. El papel funcional del glucógeno es constituir una reserva de glucosa capaz de ser movilizada rápidamente.

En el músculo, el glucógeno aparece en forma de partículas de peso molecular superior a 2×10^7 daltons; en el hígado, estas partículas forman agregados que pueden llegar a superar los 10^9 daltons. Esta variabilidad en el tamaño indica que las moléculas de glucógeno no son homogéneas. Dichos agregados (gránulos de glucógeno) contienen las enzimas reguladoras de las vías de síntesis y degradación del polisacárido. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en los complejos multienzimáticos, en el gránulo de glucógeno las enzimas no están presentes en proporciones definidas y constantes.

Desde un punto de vista cuantitativo, la mayor parte del glucógeno del organismo se encuentra en el hígado y en los músculos, aunque existe en todos los tejidos. En general, el contenido de glucógeno hepático varía en gran medida con la dieta, mientras que el del músculo lo hace con el ejercicio. En un animal bien alimentado el contenido de glucógeno hepático es de aproximadamente 65 g/kg de tejido. Este valor puede ser mayor después de la ingestión de gran cantidad de carbohidratos. Por el contrario, disminuye en los períodos comprendidos entre las ingestas, sobre todo después del ayuno nocturno, llegando a ser muy bajo en el ayuno prolongado.

El músculo esquelético suele contener alrededor de 14 g de glucógeno por kg de tejido. Este valor no varía apenas con el ayuno nocturno o con una dieta rica en carbohidratos; sin embargo, el contenido disminuye hasta valores 100 veces inferiores después del ejercicio prolongado.

A pesar de que el hígado tiene una concentración de glucógeno mayor que el

músculo, el conjunto total de tejido muscular contiene más cantidad de glucógeno que el hígado debido a su mayor masa. Así, un hombre que pesa 70 kg tiene aproximadamente 28 kg de músculo esquelético y sólo 1,6 kg de hígado. Considerando las concentraciones indicadas, resulta que el contenido de glucógeno es de 392 g en los músculos y 104 g en el hígado. La cantidad total de glucógeno, teniendo en cuenta todos los órganos, será de algo más de 500 g en un individuo bien alimentado, y de unos 400 g después del ayuno nocturno.

El sentido fisiológico del almacenamiento de glucógeno es también distinto en los dos órganos, tal como puede deducirse de los datos presentados. El glucógeno muscular constituye esencialmente una reserva energética para la contracción y sólo puede ser utilizado por la fibra muscular que lo ha almacenado. Ello es debido, sobre todo, a que el músculo no posee la enzima *glucosa-6-fosfatasa*, como se verá más adelante. Por el contrario, el glucógeno hepático no es utilizado para el consumo propio, sino que constituye una reserva de glucosa para el resto de los tejidos y para compensar las disminuciones de glucosa sanguínea que se producen en condiciones en las que aumenta la demanda (como durante el ejercicio) y en los periodos de ayuno entre las comidas. La reserva de glucógeno hepático es limitada y se agota rápidamente con el ayuno, desapareciendo después de 24 horas de no ingerir alimentos y en condiciones extremas de ejercicio prolongado no dura más de 90 minutos. Por otro lado, las reservas de glucógeno muscular no son suficientes para proporcionar por sí solas toda la energía que el músculo necesita durante el ejercicio. Cuando éste es moderado, el músculo obtiene su energía de la oxidación de la glucosa y los ácidos grasos presentes en la sangre. Sin embargo, cuando la demanda excede la velocidad de entrada de sustratos dentro de la célula, el glucógeno se moviliza muy rápidamente y, en condiciones en las que la necesidad de energía supera la capacidad oxidativa, el glucógeno se utiliza para la glucólisis anaerobia. En estas circunstancias, las reservas de glucógeno pueden mantener la contracción por uno o dos minutos. En general, el músculo blanco tiene poca capacidad oxidativa; el número de mitocondrias es bajo y el suministro de oxígeno es relativamente pobre. En consecuencia, en este tipo de músculo tanto las reservas de glucógeno como la capacidad para movilizarlo suelen ser mayores que en el músculo rojo que depende más del metabolismo oxidativo. Las reservas de glucógeno son, pues, limitadas, y, una vez agotadas, el organismo debe utilizar las reservas de ácidos grasos almacenados en forma de triacilglicéridos.

METABOLISMO DEL GLUCOGENO

Vía de síntesis del glucógeno

El almacenamiento del glucógeno se produce mediante la adición de unidades de glucosa (restos glucosilo) a una molécula de glucógeno preexistente. Las cadenas de *amilosa* que se van formando son reorganizadas por la *enzima ramificante*, que confiere al glucógeno su peculiar estructura.

Para su almacenamiento, las moléculas de glucosa deben ser activadas en forma de UDP-glucosa (fig. 19.1). Las reacciones que conducen a la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa son las siguientes:

1. *Fosforilación de la glucosa.* La glucosa es fosforilada a glucosa-6-fosfato, ya sea por la *hexoquinasa*, presente en todos los tejidos, o por la *glucoquinasa* del hígado. Si la molécula que va a ser almacenada proviene de la gluconeogénesis, lo cual sólo es posible en el hígado o en el riñón, este paso no es necesario, puesto que dicha vía proporciona directamente glucosa-6-fosfato (cap. 17).

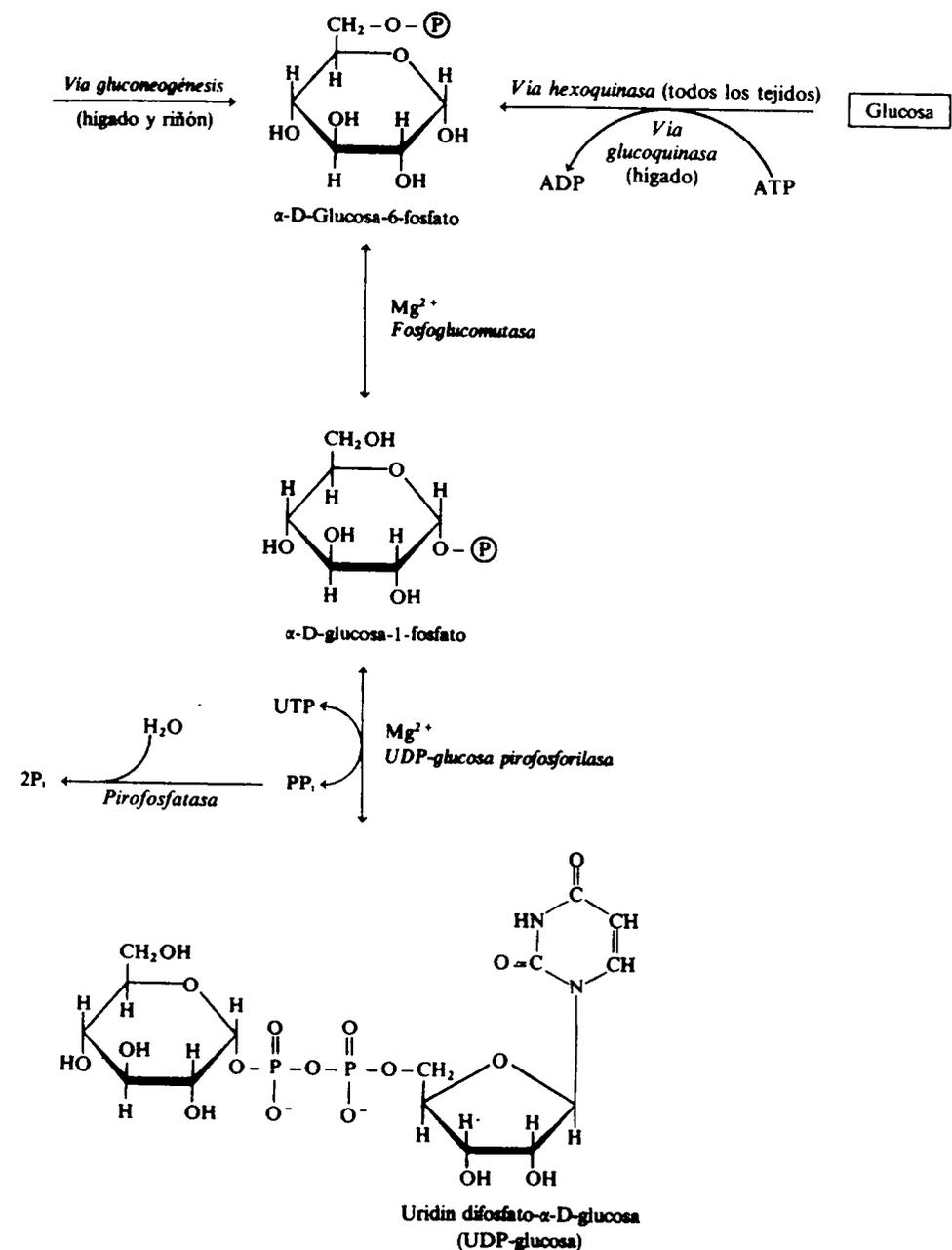


Figura 19.1. Conversión de glucosa en UDP-glucosa.

2. *Conversión de glucosa-6-fosfato en glucosa-1-fosfato.* Esta reacción reversible es catalizada por la *fosfoglucomutasa*, enzima que utiliza como intermediario, en pequeñas concentraciones, la glucosa-1,6-bisfosfato.

3. *Formación de UDP-glucosa.* La glucosa-1-fosfato reacciona con el UTP para formar UDP-glucosa y pirofosfato, en una reacción catalizada por la *UDP-glucosa pirofosforilasa*. La hidrólisis del pirofosfato por la *pirofosfatasa* mantiene baja la concentración del pirofosfato, de forma que la reacción transcurra en el sentido de la formación de UDP-glucosa.

Dado que la reacción de la *glucógeno sintasa* sólo causa el alargamiento de cadenas preexistentes, cabe preguntarse cómo se sintetizan las primeras moléculas que actúan como cebadoras. Este papel parece corresponder a una proteína, llamada *glicogenina*, que contiene un oligosacárido de glucosa que podría actuar como aceptor de las unidades glucosilicas.

Vía de degradación del glucógeno

Degradación por la fosforilasa

La reacción principal de movilización del glucógeno está catalizada por la *glucógeno fosforilasa* (fig. 19.4). Esta enzima acorta las cadenas de glucógeno eliminando los restos glucosilos terminales, los cuales aparecen en forma de glucosa-1-fosfato. Esta reacción es muy ventajosa desde el punto de vista energético ya que si la ruptura fuera hidrolítica, sería necesario fosforilar a la glucosa formada a expensas del ATP. La reacción es reversible y, de hecho, la *fosforilasa* puede catalizar *in vitro* la síntesis de glucógeno a partir de glucosa-1-fosfato. Por ello, y hasta el descubrimiento de la *glucógeno sintasa*, se aceptaba que la *fosforilasa* era responsable tanto de la síntesis como de la degradación del glucógeno. Sin embargo, la relación entre las concentraciones de fosfato inorgánico y de glucosa-1-fosfato es muy alta, lo que hace que *in vivo* la reacción siempre ocurra en el sentido de la degradación del glucógeno. Efectivamente, la constante de equilibrio para la reacción catalizada por la *fosforilasa* es:

$$K = \frac{[\text{Glucógeno}_n]}{[\text{Glucógeno}_{n+1}]} \times \frac{[\text{Glucosa-1-fosfato}]}{[\text{Fosfato}]}$$

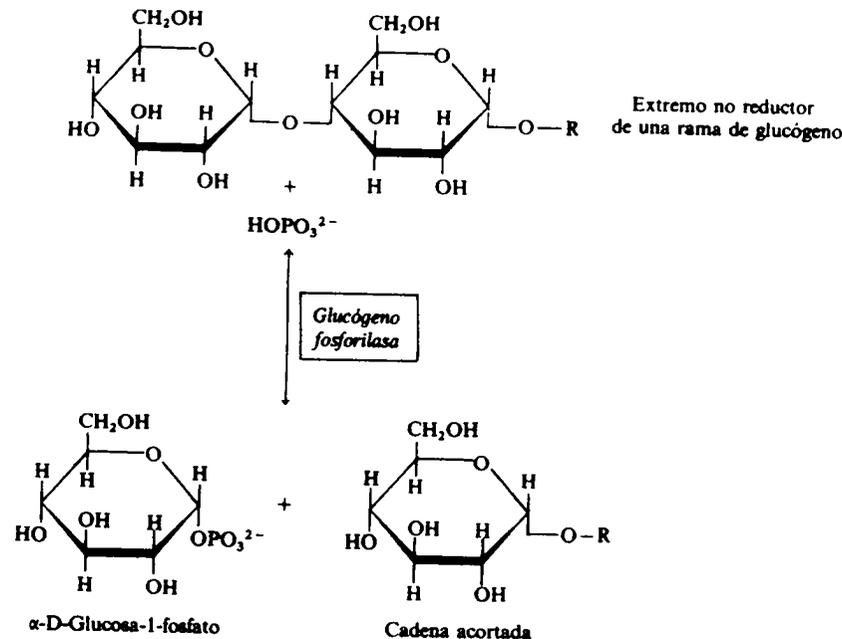


Figura 19.4. Eliminación del residuo glucosílico en el extremo no reductor por la *fosforilasa*. Este aparece como glucosa-1-fosfato.

Es imposible determinar el primer término de la relación, pero es razonable suponer que sea prácticamente uno, por lo que es posible escribir:

$$K = \frac{[\text{Glucosa-1-fosfato}]}{[\text{Fosfato}]}$$

En el equilibrio, esta relación es de 0,3, pero en el músculo es unas 100 veces inferior, lo cual se debe a que la concentración de fosfato es alta, mientras que la de glucosa-1-fosfato es baja en dicho tejido. A ello contribuye la reacción de la *fosfoglucomutasa*, en la que el equilibrio entre glucosa-1-fosfato y glucosa-6-fosfato está desplazado en un 95 por 100 hacia la glucosa-6-fosfato. En consecuencia, la *fosforilasa* muscular actúa solamente degradando el glucógeno. Efectivamente, en todos los casos en los que se produce la activación de la fosforilasa aumenta siempre la degradación del glucógeno y nunca su síntesis. Los pacientes de la *enfermedad de McArdle* ofrecen otra prueba fehaciente de este hecho. Dichos pacientes, los cuales no poseen actividad *fosforilasa* muscular, sintetizan glucógeno que se acumula en grandes cantidades, ya que no pueden degradarlo, lo cual prueba que la *fosforilasa* no es la enzima responsable de la síntesis *in vivo*.

La acción de la *fosforilasa* se repite de forma consecutiva, de modo que se van eliminando los restos glucosilo uno tras otro (fig. 19.4). Sin embargo, la enzima no es capaz de actuar sobre los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ cuya distancia a los enlaces que constituyen la ramificación, es decir, $\alpha(1 \rightarrow 6)$, sea inferior a cuatro restos glucosilo. Dicho de otra forma, la *fosforilasa* no es capaz, por sí sola, de reducir las ramificaciones que tengan menos de cuatro restos glucosilo. El glucógeno que ha sido degradado por la *fosforilasa* hasta este límite de cuatro restos por rama se denomina *dextrina limite*.

Eliminación de las ramificaciones

Para que la degradación pueda continuar se requiere la *enzima desramificante* o *amiló-1,6-glucosidasa* (fig. 19.5), enzima que contiene dos sitios catalíticos en una única subunidad de 160.000 daltons, que cataliza dos reacciones sucesivas. En la primera actúa como una *glucosiltransferasa*, y transfiere una cadena de tres restos glucosilo desde una de las cadenas acortadas al extremo de otra. Una de ellas tendrá entonces un solo resto glucosilo unido por un enlace $\alpha(1 \rightarrow 6)$, mientras que la otra tendrá siete restos glucosilo y, en consecuencia, podrá ser atacada de nuevo por la fosforilasa.

La segunda reacción que cataliza la *enzima desramificante* es la hidrólisis del residuo que permanecía unido por enlace $\alpha(1 \rightarrow 6)$, produciendo glucosa libre. Esta actividad es específica para un solo residuo, de manera que la enzima no puede atacar las ramas más largas.

La acción conjunta de la *fosforilasa* y la *enzima desramificante* hace que todas las moléculas de glucosa que forman el glucógeno sean liberadas como glucosa-1-fosfato, excepto aquellas que constituyen los puntos de ramificación, las cuales aparecen como glucosa libre. El nivel de ramificación es tal que, por cada molécula que se libera como glucosa libre, de 11 a 14 aparecen como glucosa-1-fosfato.

REGULACION DEL METABOLISMO DEL GLUCOGENO

Si las reacciones de síntesis y degradación funcionaran de modo simultáneo, el resultado sería un ciclo fútil que continuamente iría hidrolizando ATP, lo cual resulta evidente al sumar las reacciones correspondientes:

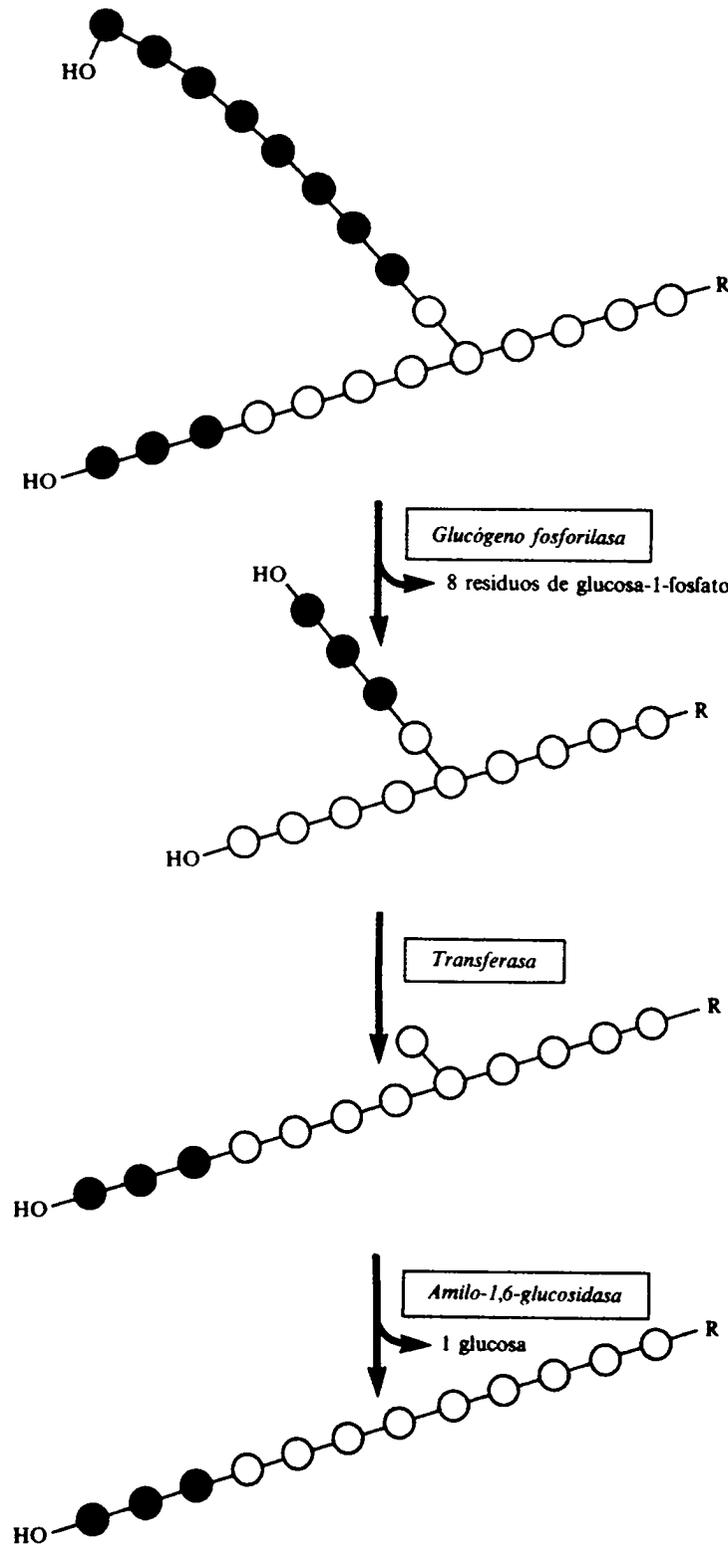
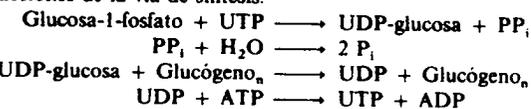
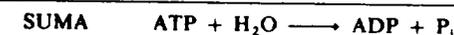


Figura 19.5. Degradación del glucógeno por la acción combinada de la *glucógeno fosforilasa* y la enzima *desramificante*.

Reacciones de la vía de síntesis:



Reacciones de degradación:



Por tanto, las dos vías deben ser reguladas de tal manera que no actúen al mismo tiempo. Las enzimas clave en los procesos de regulación son la *glucógeno sintasa* para la vía de síntesis, y la *glucógeno fosforilasa* para la de degradación. La estrategia se basa en controlar las dos enzimas, de modo que cuando la *sintasa* esté activa, la *fosforilasa* sea inactiva, y viceversa.

Existen dos importantes mecanismos de control, por efectores alostéricos y por modificación covalente a través de fosfo- y desfosforilación (fig. 19.6). Ambos mecanismos están integrados, ya que la sensibilidad a los efectores alostéricos es distinta según el grado de fosforilación de las enzimas.

La fosforilación se consigue por transferencia de grupos fosforilo del ATP a restos de serina o de treonina, mediante la acción de *quinasas*. Dichos grupos fosforilo pueden ser eliminados por la acción de *fosfatasas*. A su vez, tanto *quinasas* como *fosfatasas* están sometidas a control.

La fosforilación activa la *fosforilasa* e inactiva la *sintasa*, mientras que la desfosforilación activa la *sintasa* e inactiva la *fosforilasa*. Puesto que, en general, la fosforilación o desfosforilación de las dos enzimas ocurre de forma simultánea, la fosforilación provoca la degradación de glucógeno, mientras que la desfosforilación lleva a su síntesis.

Sistema de la glucógeno fosforilasa

La *fosforilasa* muscular es un dímero formado por dos subunidades idénticas, constituida cada una de ellas por 841 aminoácidos (fig. 19.7). Cada uno de los

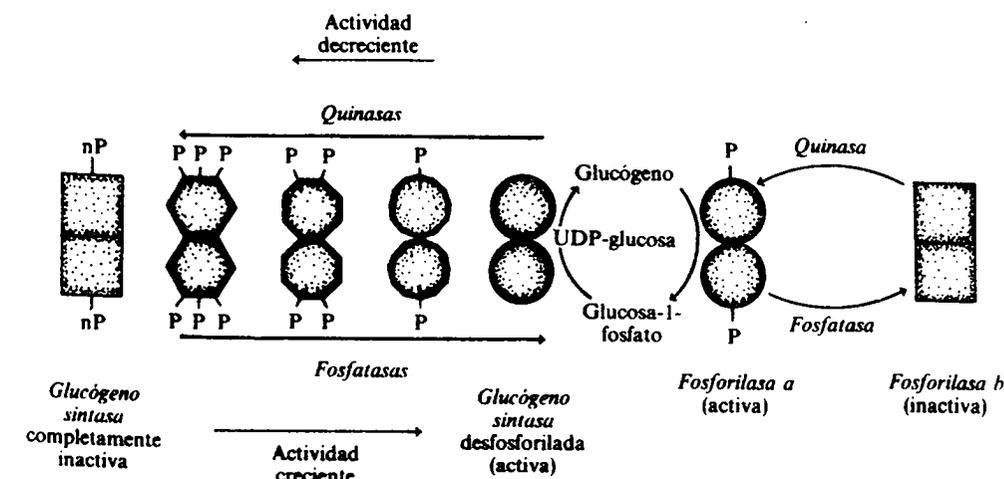


Figura 19.6. Regulación por fosforilación y desfosforilación de la *glucógeno sintasa* y la *glucógeno fosforilasa*.

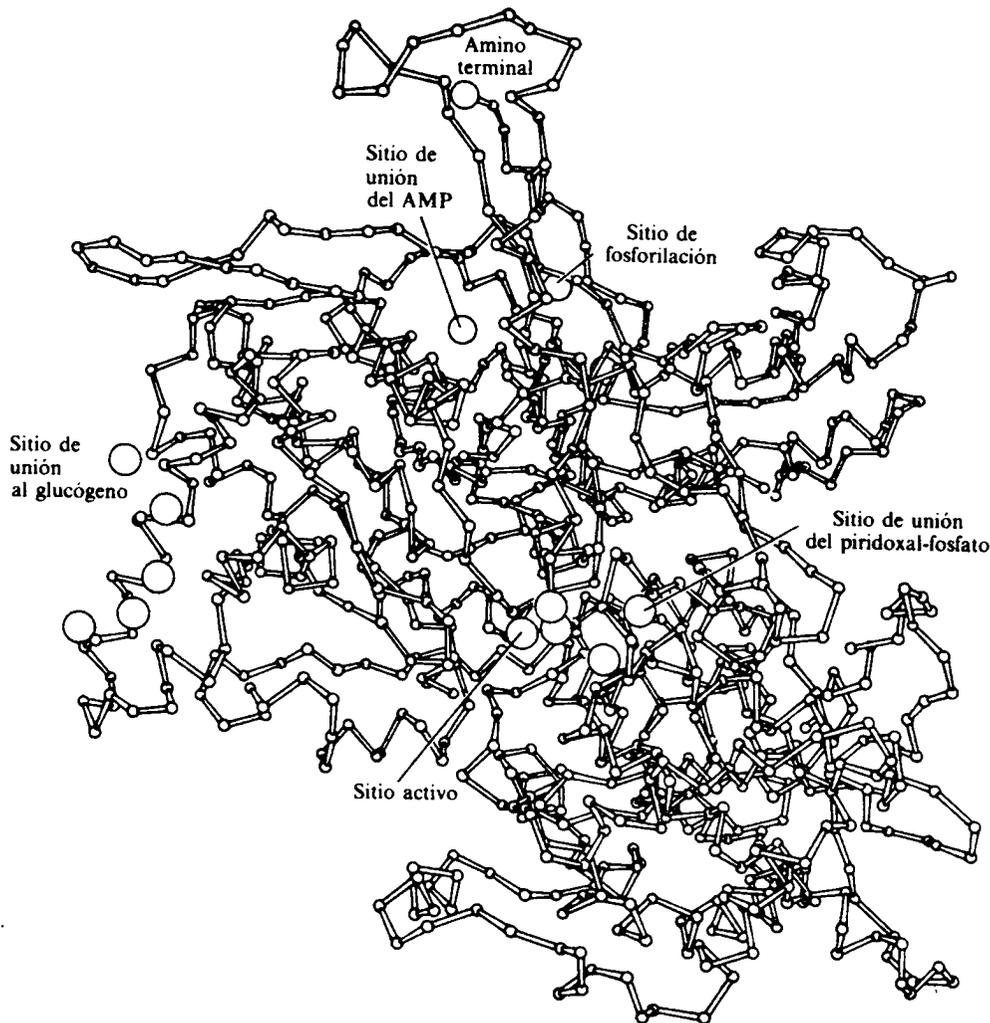


Figura 19.7. Estructura del monómero de la glucógeno fosforilasa a. (Tomado de S. Sprang y R. J. Fletterick: *J. Mol. Biol.*, 131:538, 1979.)

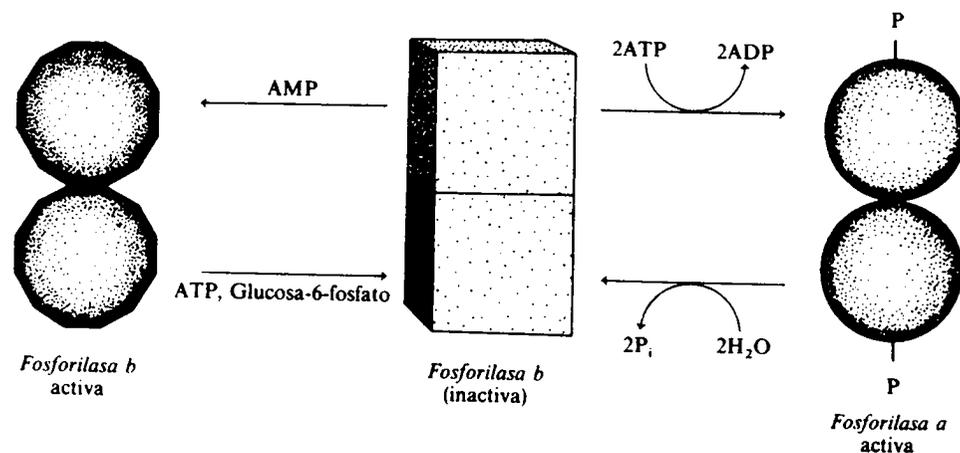


Figura 19.8. Control de la fosforilasa muscular por fosforilación y por metabolitos.

monómeros puede ser fosforilado en un solo sitio, la serina-14, la fosforilación convierte la forma *b* o inactiva, en la forma *a* o activa (fig. 19.8). Además de este control por fosforilación, la actividad enzimática resulta afectada por una serie de metabolitos. El AMP es el principal activador alostérico, llegando a activar la forma *b* hasta un 80 por 100 de la actividad máxima. El ATP y la glucosa-6-fosfato antagonizan el efecto del AMP; la glucosa es también un inhibidor de esta enzima. La fosforilación de la serina-14 permite que la enzima escape de los controles ejercidos por el AMP y el ATP, pero no del ejercido por la glucosa. La inhibición por glucosa probablemente no tiene importancia en el caso del músculo, en el que no existe glucosa libre; en tanto que en el hígado la fosforilasa actúa como el centro receptor de glucosa, representando así un importante papel en el control del metabolismo del glucógeno por glucosa en dicho órgano.

Estructura de la fosforilasa

Los estudios cristalográficos de la fosforilasa muscular han aportado mucha información sobre dicha enzima. El sitio activo se encuentra en una cavidad profunda, que le protege del medio acuoso exterior, favoreciendo así la transferencia de los restos de glucosa al fosfato en lugar de la formación de glucosa libre. Junto al sitio activo hay una molécula de piridoxal-fosfato, situada de tal modo que su grupo fosfato queda próximo al ortofosfato sustrato, con el que interactúa durante el proceso catalítico en el que, por tanto, participa. Este es el único caso conocido en que el piridoxal-fosfato actúa de esta forma.

Además, la fosforilasa tiene un segundo sitio de unión al glucógeno, distinto del sitio activo y separado de él por unos 30 Å, que la permite mantenerse unida a la partícula de glucógeno, de forma tal que siempre hay una alta concentración local de sustrato, lo cual aumenta su eficacia.

Por otro lado, la fosforilasa contiene también sitios de control alostérico. Las purinas interaccionan con un sitio inhibidor situado a 12 Å del sitio activo. La glucosa se une al sitio activo aunque de manera distinta que el sustrato. El sitio de unión del AMP está formado por restos aminoacídicos de ambas subunidades. Se encuentra, pues, en la zona de interacción entre los dos monómeros, a unos 30 Å del sitio catalítico. El ATP se une al mismo sitio, bloqueando la unión del AMP, aunque es demasiado grande para promover los cambios inducidos por este último y que causan la activación de la enzima. La unión del AMP altera la interacción entre las subunidades de tal manera que los sitios activos, a pesar de su lejanía, cambian su conformación hacia la catalíticamente activa.

La fosforilación de la serina-14, también situada en la zona de contacto entre las subunidades, provoca alteraciones dramáticas en la conformación de los 19 aminoácidos N-terminales, que pasan de ser móviles en la fosforilasa *b* a adquirir una estructura rígida en la fosforilasa *a*. Estos cambios, de forma semejante a los que ocurren tras la unión del AMP, se transmiten hasta el sitio catalítico, haciéndole adoptar su conformación activa.

Sentido fisiológico de la activación por AMP

Como se ha indicado, en el caso del músculo, la conformación activa de la fosforilasa es la fosforilasa *a*, por lo que su combinación con AMP afecta poco a su actividad. Por el contrario, la fosforilasa *b* es la conformación inactiva en ausencia de AMP. Sin embargo, un aumento de la concentración de AMP despla-

za el equilibrio hacia la conformación activa, aunque la enzima no esté fosforilada. Puesto que la concentración de AMP es un indicador muy sensible de la disminución del nivel de energía celular, y dado que además activa la glucólisis, su efecto sobre la *fosforilasa* debe ser interpretado como una contribución para que la glucosa almacenada en forma de glucógeno muscular se ponga a disposición de la vía glucolítica. Es interesante hacer notar que la *fosforilasa b* hepática no es, sin embargo, activable por AMP.

Fosforilasa quinasa

La enzima capaz de fosforilar la *fosforilasa* es la *fosforilasa quinasa*. La enzima muscular está formada por cuatro tipos de subunidades distintas que dan lugar a un complejo de fórmula $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$, cuyo peso molecular es de 1.200.000 daltons. La subunidad δ es la *calmodulina*, una proteína que también existe por separado y que desempeña un importante papel regulador en muchos tipos de células. La calmodulina liga cuatro iones calcio por monómero y su conformación activa sólo aparece cuando todos los sitios de unión están ocupados.

Cuando las subunidades de calmodulina de la *fosforilasa quinasa* están activadas, la molécula entera cambia a la conformación activa y es entonces capaz de fosforilar a la *glucógeno fosforilasa*. De esta manera (fig. 19.9) el incremento en la concentración de iones calcio que se produce al estimular la fibra muscular, provoca al mismo tiempo la contracción muscular y la degradación del glucógeno, lo que aporta restos de glucosa para ser oxidados, y obtener así la energía necesaria para mantener la contracción.

La conformación activa de la *fosforilasa quinasa* puede estabilizarse, aun a bajas concentraciones de calcio, por fosforilación de un resto de serina presente en las subunidades β . También las subunidades α tienen restos de serina fosforilables aunque su fosforilación no afecta de forma directa la actividad de la enzima.

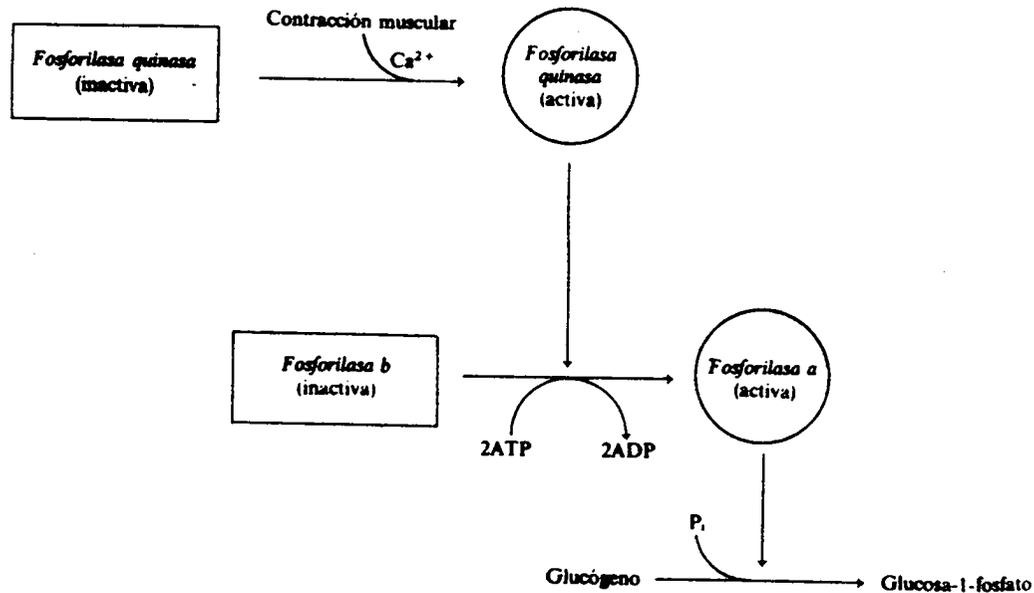


Figura 19.9. Activación de la glucogenólisis acoplada a la contracción muscular.

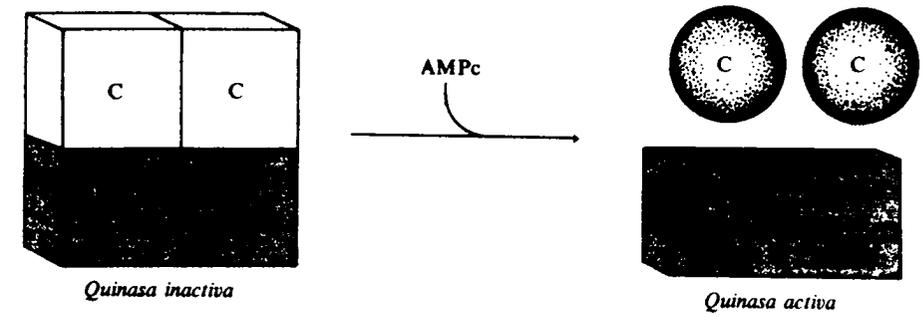


Figura 19.10. Activación de la proteína quinasa dependiente de $AMPc$.

Proteína quinasa dependiente de AMP cíclico ($AMPc$)

La enzima capaz de fosforilar a las subunidades β y α de la *fosforilasa quinasa* es la *proteína quinasa dependiente de $AMPc$* .

Esta enzima está formada por dos tipos de subunidades; las R o reguladoras y las C o catalíticas (fig. 19.10), y en muchos órganos se presenta en forma de tetrámero R_2C_2 . El tetrámero es inactivo, ya que las subunidades R bloquean la capacidad catalítica de las subunidades C. Sin embargo, las subunidades R presentan una gran afinidad por el $AMPc$, el cual se forma en respuesta a determinados estímulos hormonales. Cuando las subunidades R se combinan con el $AMPc$, se debilita su unión con las subunidades C, las cuales quedan libres como monómeros plenamente activos. En las células eucariotas, las acciones del $AMPc$ se ejercen a través de la activación de *proteína quinasas* específicas.

Sistema de la glucógeno sintasa

La *glucógeno sintasa* está formada por dos o más subunidades cuyo peso molecular es de 85.000 daltons. No contiene ningún grupo prostético y, como la mayoría de las enzimas del metabolismo del glucógeno, se encuentra asociada a las partículas del polisacárido.

Regulación por fosforilación

Esta enzima puede ser fosforilada por diversas quinasas en múltiples sitios, lo que le confiere uno de los más sofisticados sistemas de regulación conocidos. La fosforilación siempre lleva a la inactivación, si bien la de alguno de los sitios tiene mayor efecto inactivador que la de otros.

Las quinasas capaces de fosforilar a la *glucógeno sintasa* pertenecen a las categorías que se detallan a continuación:

1. *Dependientes de $AMPc$* . La *quinasa dependiente de $AMPc$* fue la primera *glucógeno sintasa quinasa* descubierta. Como hemos visto, esta enzima también puede fosforilar la *fosforilasa b quinasa* y otras proteínas, por lo que se la conoce como *proteína quinasa dependiente de $AMPc$* . Es capaz de fosforilar tres centros de la *glucógeno sintasa*.

2. *Dependientes de calcio y calmodulina*. En este grupo se incluye la *fosforila-*

sa quinasa, que también es capaz de fosforilar la *glucógeno sintasa* en un único sitio, y otras *glucógeno sintasa quinasa* reguladas por calcio-calmodulina.

3. *Proteína quinasa C*. Esta enzima dependiente de calcio y fosfolípidos es activada por diacilglicerol. Puede fosforilar la *sintasa* en por lo menos dos sitios. No debe ser confundida con la subunidad C (catalítica) de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*.

4. *Independientes*. Estas enzimas, cuyo mecanismo de regulación se desconoce, son capaces de fosforilar entre uno y siete centros de la *sintasa*.

De la misma manera que son varias las *quinasas* capaces de fosforilar a la *glucógeno sintasa*, son por lo menos dos las *fosfatasas* capaces de desfosforilarla. La consecuencia de todo ello es que el grado de fosforilación de esta enzima, que es lo que determina mayoritariamente su actividad, estará en función de un delicado equilibrio entre las actividades de las *quinasas* y las *fosfatasas*, que en cada instante permitirán ajustar la velocidad de la vía de síntesis a las necesidades celulares del momento. La *glucógeno sintasa* a través de sus múltiples sitios de fosforilación, actúa como un integrador muy sensible de distintas señales, cada una de las cuales responde a un parámetro distinto (niveles de AMPc, calcio, etc.).

Regulación por metabolitos

La actividad de la *glucógeno sintasa* varía en función de las concentraciones de diversos metabolitos. La glucosa-6-fosfato es un poderoso activador de la enzima, mientras que el ATP, el ADP y el UDP (producto de la reacción) son inhibidores. La intensidad del efecto activador o inhibidor de estos metabolitos varía con el estado de fosforilación, de modo que las formas desfosforiladas resultan más activadas por glucosa-6-fosfato, y menos inhibidas por ATP, que las formas más fosforiladas. Por otra parte, la fosforilación aumenta la K_m para el sustrato UDP-glucosa. De hecho, es este cambio en las propiedades cinéticas la razón por la que las formas fosforiladas son menos activas *in vivo* que las desfosforiladas.

El control por metabolitos y el control por fosforilación deben interpretarse desde un punto de vista integrado. Efectivamente, para un determinado estado de fosforilación, la actividad que se expresa dependerá de los niveles de los metabolitos, y viceversa: para unos determinados niveles de activadores e inhibidores su acción sobre la actividad de la enzima dependerá del grado de fosforilación de ésta.

Por otra parte, los metabolitos actúan como efectores de las enzimas convertidoras (*quinasas* y *fosfatasas*), con lo cual pueden influir sobre el grado de fosforilación de la *glucógeno sintasa*. En este aspecto es importante mencionar el efecto del glucógeno que es capaz de inhibir en el músculo, y a altas concentraciones, la desfosforilación de la enzima. Este efecto permite explicar por qué los animales no almacenan grandes cantidades de glucógeno en sus músculos cuando se les alimenta con una dieta rica en carbohidratos.

Regulación hormonal del metabolismo del glucógeno en el músculo

Efectos de la adrenalina. Cascada glucogenolítica muscular

Cuando la médula adrenal es estimulada por el sistema nervioso central en respuesta a una emergencia, libera al torrente sanguíneo dos hormonas llamadas adrenalina y noradrenalina (cap. 41). Estas hormonas favorecen la movilización

de glucógeno (*glucogenólisis*) muscular, ya que ante una situación de emergencia es conveniente que el músculo disponga de abundante combustible para su contracción.

La estimulación de la glucogenólisis por la adrenalina es un proceso complicado y altamente ilustrativo de lo que ha dado en llamarse una cascada enzimática, dado que se produce una activación consecutiva de todas las enzimas de la vía glucogenolítica. Los pasos de este proceso de activación son los siguientes:

1. Unión de la adrenalina a su receptor. La adrenalina circulante no penetra en el interior de las células sino que se une a un receptor proteico específico, presente en la cara exterior de la membrana celular, llamado receptor adrenérgico.

2. Activación de la *adenilato ciclasa*. Cuando la adrenalina está unida al receptor, y mediante la colaboración de una proteína transdutora de la señal, o proteína G, en un proceso que requiere GTP (cap. 40) se produce la activación de la *adenilato ciclasa*. Ésta enzima cataliza la síntesis de AMPc a partir de ATP (fig. 19.11). En la reacción de ciclación, el grupo hidroxilo 3' desplaza al pirofosfato en 5'. Este pirofosfato es rápidamente hidrolizado por la *pirofosfatasa*, lo que favorece la síntesis de AMPc, el cual es un segundo mensajero que transmite la señal (llegada a la membrana plasmática en forma de adrenalina) a las correspondientes enzimas del interior de la célula.

El AMPc es rápidamente hidrolizado por la *fosfodiesterasa*. Tal hidrólisis asegura que sus potentes efectos se ejerzan solamente durante el periodo en que son necesarios.

3. Activación de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. El AMPc se combina con las subunidades reguladoras (R) de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*, con lo que quedan libres las subunidades catalíticas (C). La enzima volverá a asociarse cuando disminuyan los niveles de AMPc hasta sus valores basales.

4. Activación de la *fosforilasa quinasa*. Las subunidades C, libres, producen la activación de la *fosforilasa quinasa*. Las cuatro subunidades β de la enzima son fosforiladas. A menor velocidad se fosforilan también las subunidades α , que podrán volver después a su estado inicial por desfosforilación.

5. Activación de la *fosforilasa* y degradación del glucógeno. La activación de la *fosforilasa quinasa* causa, a su vez, la activación de la *fosforilasa* convirtiendo la forma *b* en forma *a*, que cataliza la degradación del glucógeno, poniendo a disposición de la fibra muscular energía en forma de glucosa-1-fosfato. Más tarde, la *fosforilasa* podrá volver a su forma inactiva por desfosforilación.

Ventajas de la cascada glucogenolítica

Esta activación secuencial produce una amplificación del sistema (fig. 19.12), que responde así a cambios en los niveles de AMPc, el cual se encuentra en la célula a una concentración muy pequeña. Por otra parte, ya se ha visto que el sistema glucogenolítico responde a multitud de metabolitos, cada uno de los cuales interacciona en sitios específicos, y actúa como integrador de todos ellos. De esta manera, el sistema ofrece muchos más puntos de control de los que caben en una sola molécula. Evidentemente, sería muy difícil construir una sola proteína que fuera capaz de poseer sitios sensibles a todas y cada una de estas señales.

Regulación de la glucógeno sintasa por adrenalina

Las mismas señales que han llevado a la activación de la *fosforilasa* conducen a la inactivación de la *glucógeno sintasa*. En efecto, tanto la *proteína quinasa*

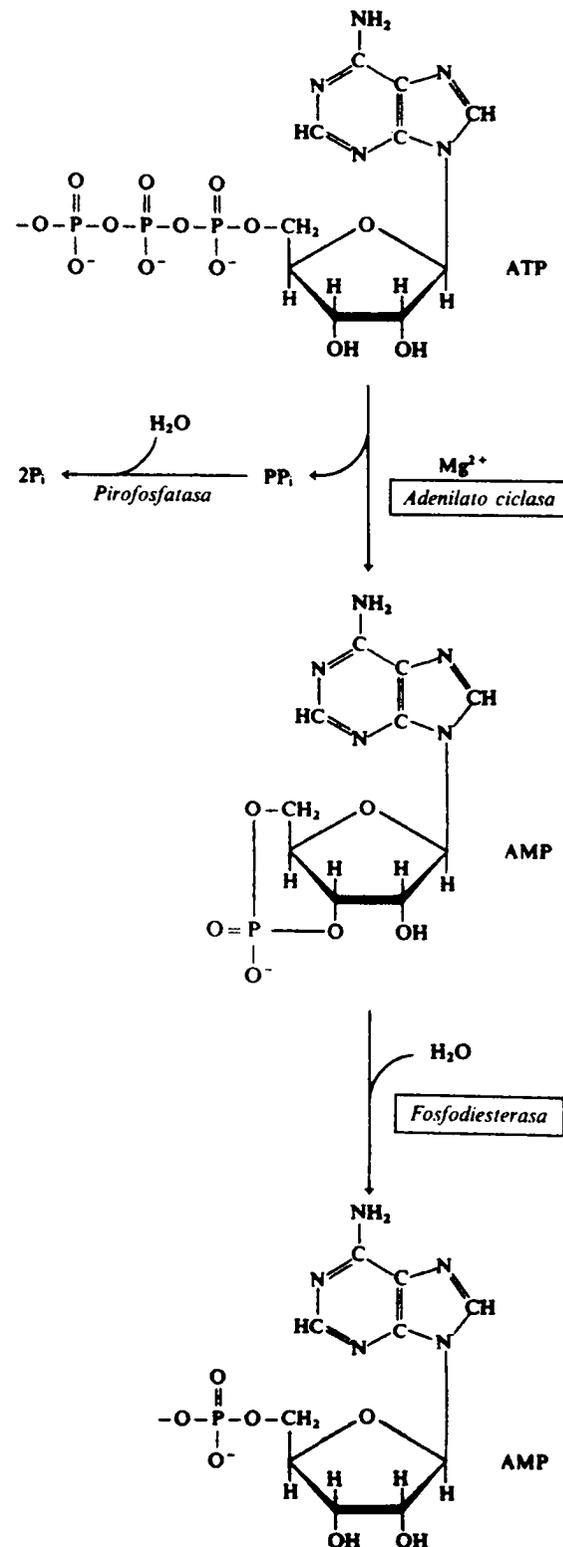


Figura 19.11. Formación del AMPc a partir del ATP por la *adenilato ciclasa* y posterior hidrólisis por la *fosfodiesterasa*.

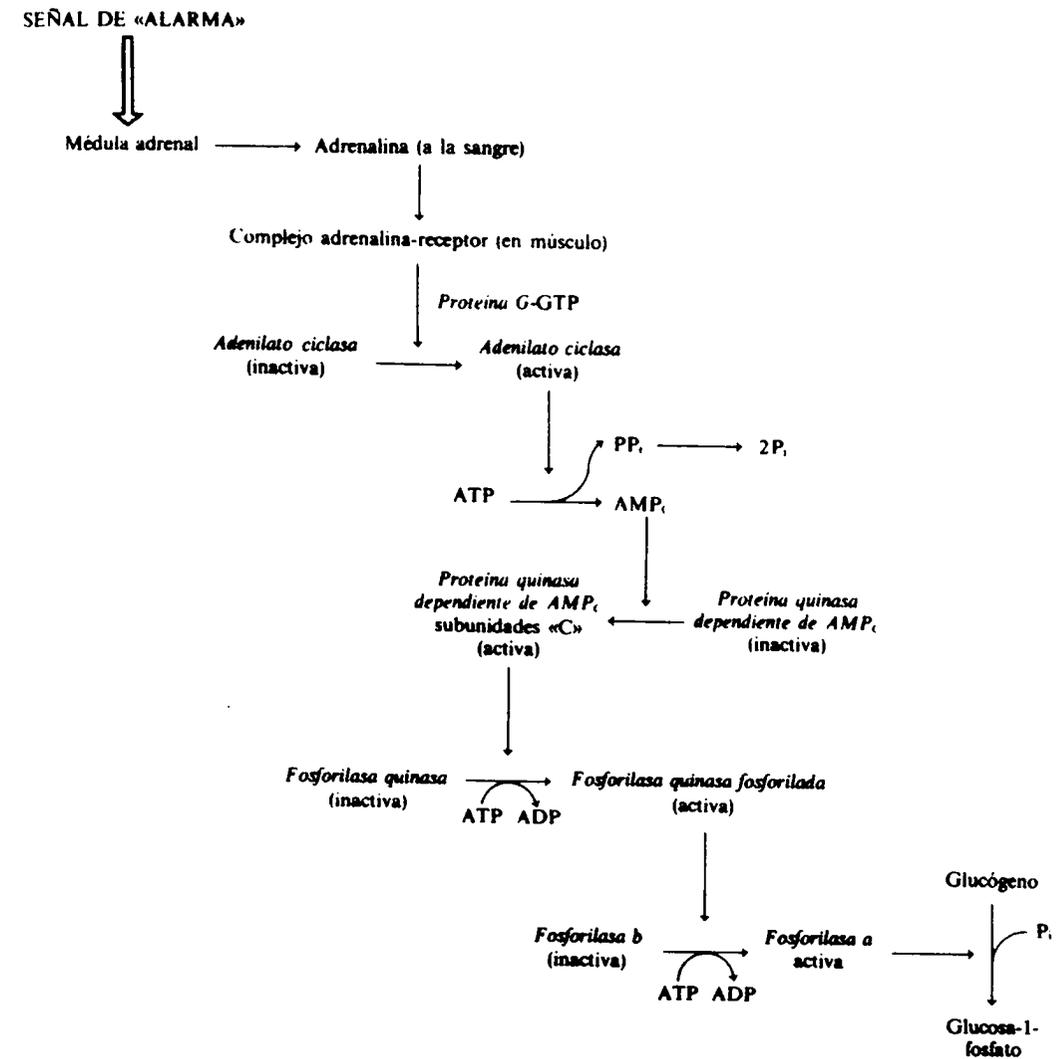


Figura 19.12. Cascada enzimática de activación de la glucogenólisis muscular en respuesta a la adrenalina.

dependiente de AMPc como la *fosforilasa quinasa* son capaces de inactivar la *glucógeno sintasa*. El hecho de que estas *quinasas* sean comunes a la vía de síntesis y de degradación permite que el control de ambas vías esté coordinado (fig. 19.13).

La fosforilación por *fosforilasa quinasa* y otras *quinasas* que contienen calmodulina hace que la inactivación de la *glucógeno sintasa* sea también sensible a las variaciones en los niveles de calcio que se producen durante la contracción. Se desconoce el papel que representan *in vivo* las *quinasas independientes de AMPc* y de calcio.

Regulación del metabolismo del glucógeno en el músculo por insulina

La insulina, hormona segregada por las células de los islotes de Langerhans del páncreas en respuesta a altos niveles de glucosa en sangre (cap. 42), promueve

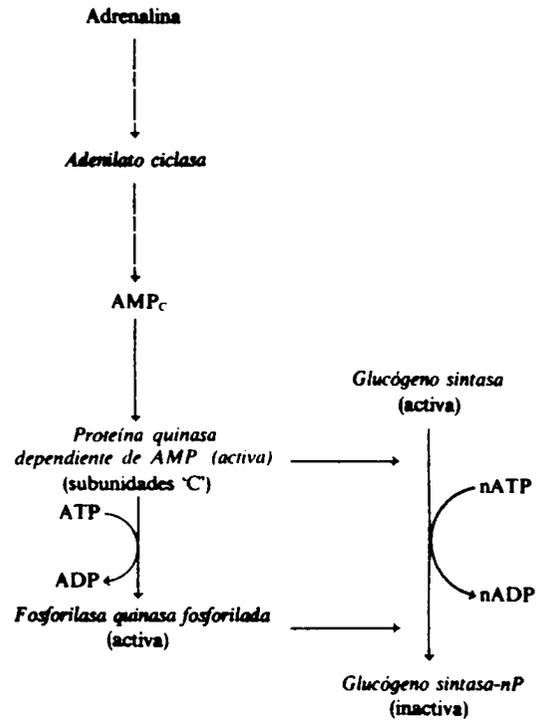


Figura 19.13. Cascada enzimática de la inactivación de la *glucógeno sintasa* muscular en respuesta a la adrenalina.

la síntesis de glucógeno tanto en el músculo como en otros tejidos. No sólo facilita el transporte de glucosa hacia el interior del músculo y de los otros tejidos sensibles a la hormona, sino que también causa la desfosforilación y, en consecuencia, la activación de la *glucógeno sintasa*. Esta activación se produce aun en ausencia de glucosa.

El mecanismo de acción de la insulina es aún oscuro. Por una parte, contrarresta los incrementos en los niveles de AMP_c que se producen tras la acción de la adrenalina, este mecanismo, sin embargo, no puede explicar la activación de la vía de síntesis. La insulina, al combinarse con sus receptores de membrana, podría estar causando la formación de un mensajero secundario que sería capaz de inactivar la *quinasa dependiente de AMP_c* y de activar determinadas *fosfoproteína fosfatasas*, lo que conduciría a la activación de la *glucógeno sintasa* y a la deposición de glucógeno. En el mecanismo de acción de la insulina desempeña un papel importante la autofosforilación del receptor que se produce como consecuencia de su interacción con la hormona. No se conoce, sin embargo, la relación entre dicha fosforilación y las acciones intracelulares de la hormona.

Regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado

La regulación del metabolismo del glucógeno hepático es ejercida a través de los mismos mecanismos que hemos visto en el caso del músculo, si bien algunas de las enzimas hepáticas son isoenzimas de las formas musculares y presentan diferencias en cuanto a su regulación.

La glucogenólisis hepática responde a los aumentos en los niveles de AMP_c y de calcio, aunque en este caso los agentes que causan dichos incrementos son distintos que en el músculo. En el hígado, la *adenilato ciclasa* es activada por glucagón. De hecho, esta enzima es regulada por distintas hormonas en diferentes tejidos, dependiendo del receptor hormonal al que esté acoplada. En el caso del hígado la *adenilato ciclasa* está asociada a los receptores del glucagón, hormona segregada por las células α de los islotes de Langerhans en respuesta a un descenso en los niveles de glucosa sanguínea (cap. 42). En consecuencia, la secreción de glucagón causa la glucogenólisis hepática mediante la activación de la misma cascada que se ha visto en el músculo para la adrenalina (fig. 19.14). La mayor

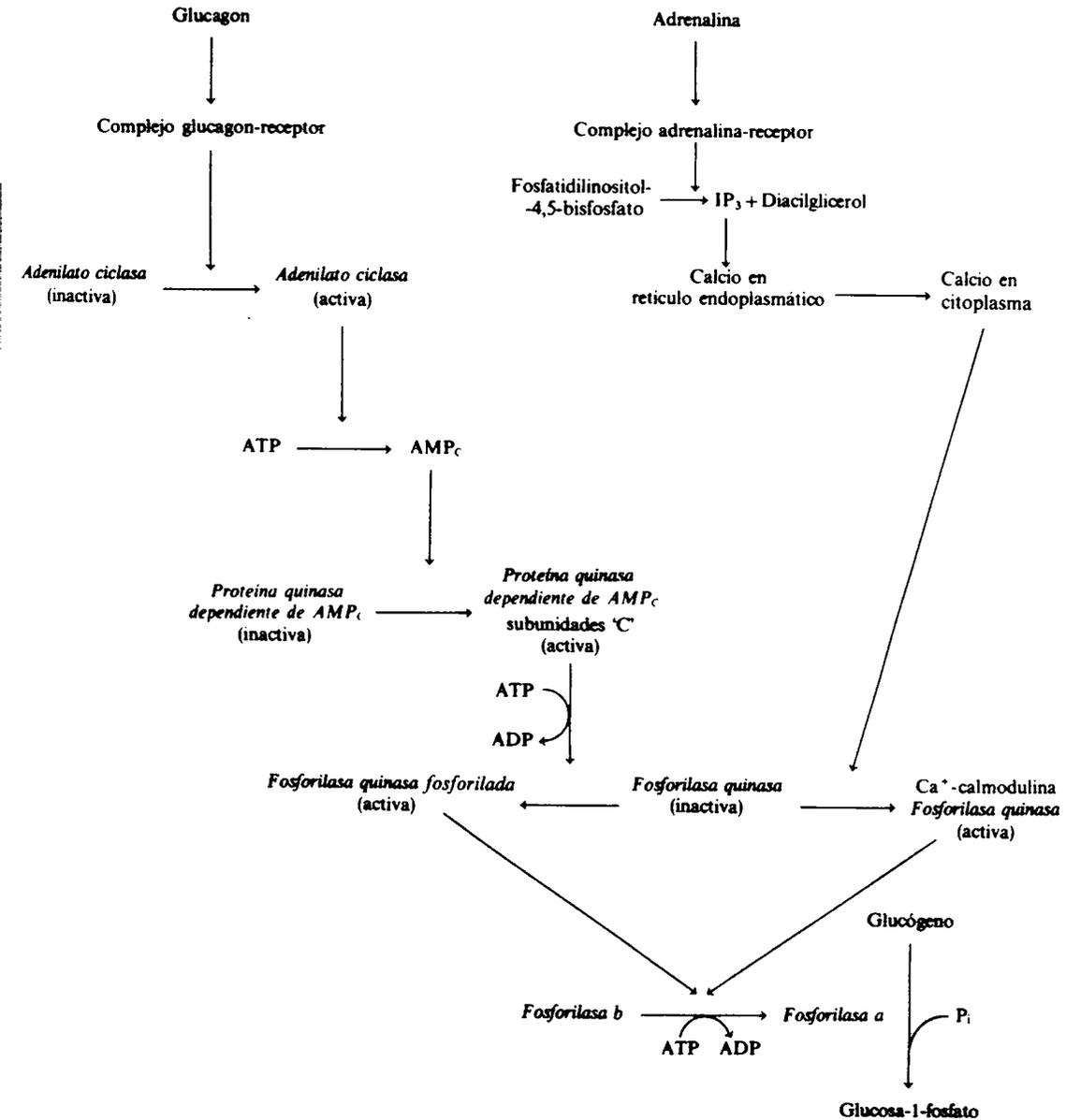


Figura 19.14. Activación de la glucogenólisis en el hígado en respuesta al glucagón y a la adrenalina.

parte de la glucosa-6-fosfato formada es, sin embargo, hidrolizada a glucosa por acción de la *glucosa-6-fosfatasa*. La glucosa puede ahora salir al torrente sanguíneo y ser transportada hacia los otros tejidos donde será metabolizada. Este es un punto importante de diferenciación respecto del músculo, que no posee *glucosa-6-fosfatasa*, y cuya glucosa-6-fosfato, procedente de la glucogenólisis, sólo puede ser utilizada, por tanto, por las propias fibras en que estaba almacenado el glucógeno.

En el hígado, los niveles de calcio están bajo control hormonal; la vasopresina, hormona segregada por la hipófisis y que se une a receptores específicos, y la adrenalina, mediante su unión a los receptores α -adrenérgicos, causan un incremento en los niveles citoplasmáticos de calcio. Puesto que este incremento proviene de la movilización del Ca^{2+} de los reservorios intracelulares, y dado que los receptores están localizados en la superficie celular, es necesario que la unión de la hormona al receptor genere un mensajero capaz de difundir y provocar la liberación del calcio almacenado. Dicho mensajero se forma a partir del fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato, un lípido presente en la cara interna de la membrana celular. La unión de la hormona al receptor provoca la activación de una *fosfodiesterasa* que cataliza la hidrólisis de este compuesto formando 1,2-diacilglicerol y mio-inositol-1,4,5-trisfosfato (IP_3). El IP_3 es capaz de liberar el Ca^{2+} del retículo endoplasmático con el consiguiente incremento en los niveles citoplasmáticos de Ca^{2+} (fig. 19.15). Esto lleva a la activación de la *fosforilasa quinasa* y, por tanto, a la de la *fosforilasa* (fig. 19.14).

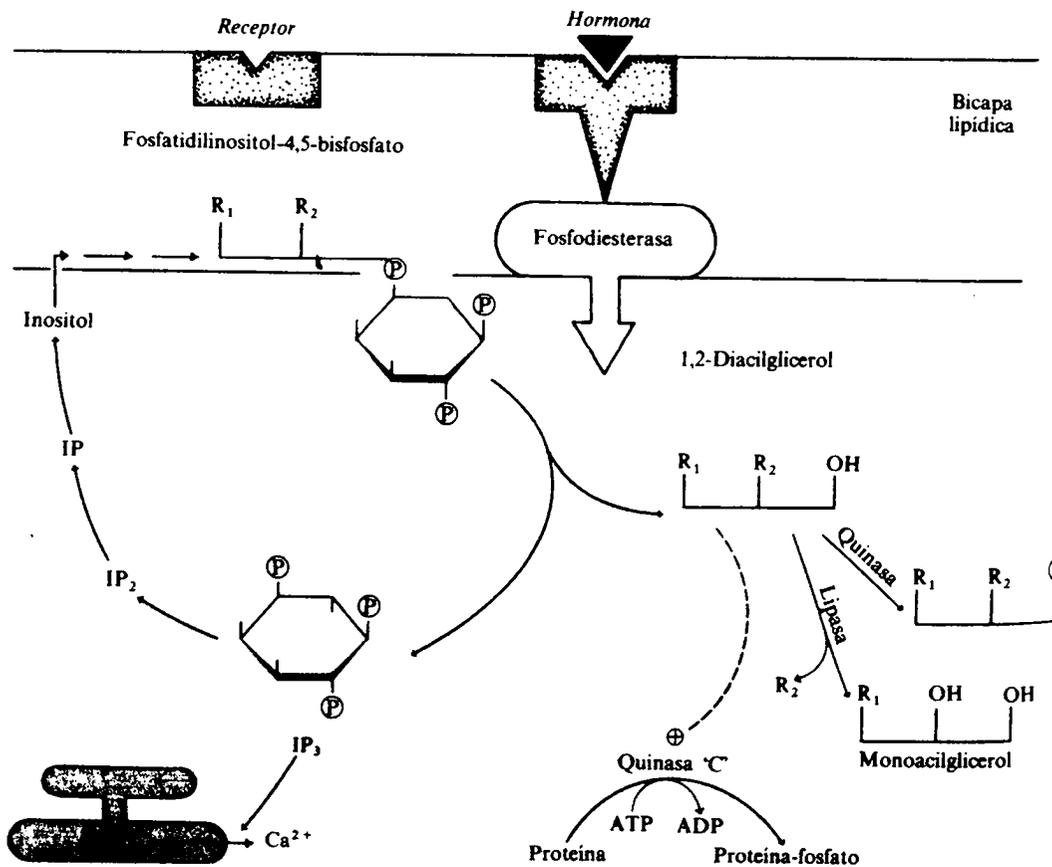


Figura 19.15. Formación y degradación de los mensajeros de la acción de la adrenalina en el hígado.

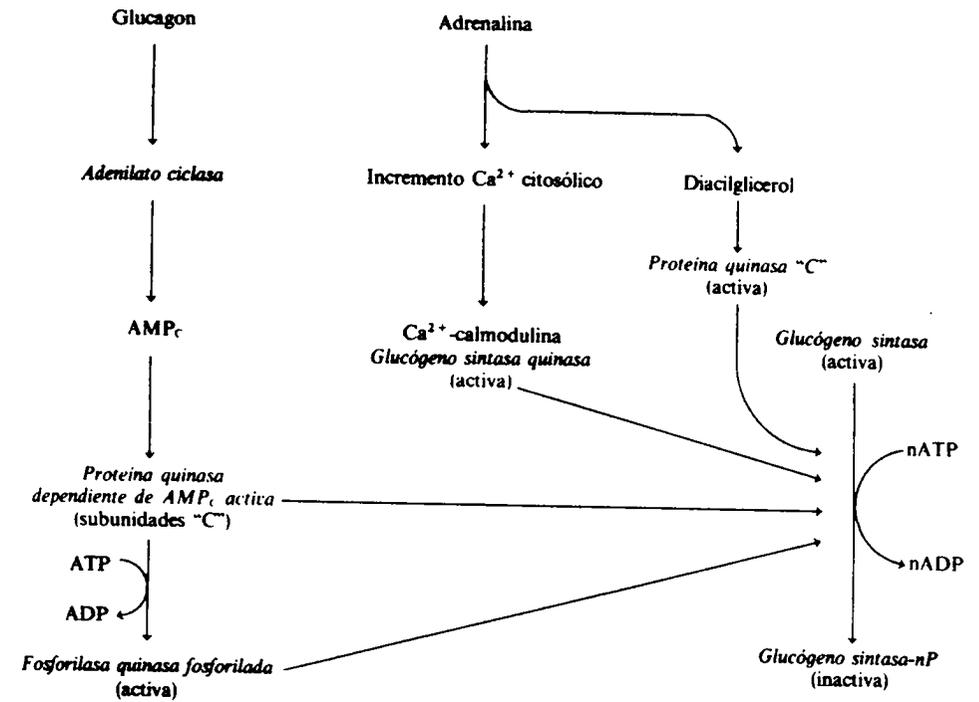


Figura 19.16. Inactivación de la *glucógeno sintasa* hepática por glucagón y adrenalina.

Por otra parte, el 1,2-diacilglicerol formado es un activador de la *proteína quinasa C*. La activación simultánea de esta enzima por el 1,2-diacilglicerol y de la *fosforilasa quinasa* y de otras *glucógeno sintasa quinasa* que contienen calmodulina, por el calcio, conducirá a la fosforilación e inactivación de la *glucógeno sintasa* (fig. 19.16).

Los dos mensajeros formados son rápidamente metabolizados hacia compuestos inactivos. El IP_3 es hidrolizado de forma secuencial por fosfatasa específicas hasta inositol-1,4-bisfosfato, inositol-1-fosfato e inositol, que puede ser recuperado para la síntesis de nuevo fosfatidil-inositol. El 1,2-diacilglicerol es eliminado por uno de dos mecanismos: fosforilado por una quinasa hasta ácido fosfatídico o hidrolizado por una lipasa hasta monoacilglicerol (fig. 19.15).

Puesto que las células del parénquima hepático (hepatocitos) son permeables a la glucosa, durante mucho tiempo se consideró que la insulina no tenía efecto sobre el metabolismo del glucógeno hepático. Sin embargo, se sabe que favorece la síntesis de glucógeno hepático mediante la activación de la *glucógeno sintasa*.

Además del control hormonal, el metabolismo del glucógeno hepático está sometido a control por los niveles de glucosa, de tal manera que una concentración elevada del azúcar inhibe la degradación del glucógeno hepático, evitando así la formación de más glucosa. La glucosa se combina con la *fosforilasa* a convirtiéndola en un sustrato aún mejor para las *fosfatasa*, que la inactivan. La *fosforilasa* actúa así como el sensor de los niveles de glucosa en el hígado. Por otra parte, la glucosa lleva a la activación de *glucógeno sintasa* a través de un incremento en los niveles de glucosa-6-fosfato.

La paradoja de la glucosa

Si bien se ha venido considerando que el hígado utiliza la glucosa «directamente» (figs. 19.1 y 19.2) para la síntesis de glucógeno, se ha observado que dicho metabolito es un mal precursor del glucógeno hepático. En realidad, muy inferior a otros sustratos gluconeogénicos, tales como la fructosa, el glicerol o el lactato. Este hecho ha sido designado como la paradoja de la glucosa. Se plantea entonces la posibilidad de que el glucógeno hepático (aunque no el muscular, que seguiría la vía «directa») se sintetice en el estado posprandial siguiendo un mecanismo «indirecto» que incluya la secuencia glucosa → unidades de 3C → glucógeno. Esta teoría plantea dos grandes problemas para los que aún no existen respuestas definitivas: ¿dónde se realiza la conversión de la glucosa en unidades de 3C y cómo se logra mantener el flujo gluconeogénico hepático después de la ingesta de carbohidratos?

Desfosforilación de los sistemas. Fosfatasa

Cuando la demanda de glucosa desaparece debe cesar la glucogenólisis, debe restablecerse la conformación inactiva de la *glucógeno fosforilasa* y, en su caso, proceder a la activación de la *glucógeno sintasa*.

Hemos visto que los procesos de activación presentaban una serie de mecanismos de seguridad para limitar su duración. Sin embargo, la inactivación de la vía glucogenolítica y la reactivación de la vía de síntesis implican la eliminación de fosfatos unidos covalentemente a las enzimas. Esta acción corresponde a las *fosfoproteína fosfatasas*.

La *fosfatasa* más importante en la desfosforilación de las enzimas del metabolismo del glucógeno es la llamada *fosfoproteína fosfatasa-1*. Esta enzima puede desfosforilar la *glucógeno sintasa*, la *fosforilasa* y las subunidades β de la *fosforilasa quinasa*. A su vez, está regulada por otra proteína conocida como *proteína inhibidor-1*. Sin embargo, esta proteína sólo es capaz de inhibir la *fosfatasa-1* cuando está fosforilada, y es precisamente la *proteína quinasa dependiente de AMPc* la quinasa capaz de fosforilarla.

Así pues (fig. 19.17), la *proteína quinasa dependiente de AMPc* no sólo fosforila la *glucógeno sintasa* y la *fosforilasa quinasa*, sino que también fosforila la *proteína inhibidor-1* que se combina con la *fosfoproteína fosfatasa-1*, inactivándola. Mediante este mecanismo, la *proteína quinasa dependiente de AMPc* previene la desfosforilación de las proteínas que ha fosforilado. De esta manera, las proteínas permanecen fosforiladas durante un tiempo que asegura una mínima respuesta a la señal hormonal. Una segunda fosfatasa, la *fosfoproteína fosfatasa-2*, puede desfosforilar al inhibidor, retornando su actividad a la *fosfoproteína fosfatasa-1*, quien es ahora capaz de desfosforilar las subunidades β de la *fosforilasa quinasa* y la *fosforilasa*, inactivando así la vía glucogenolítica, y desfosforilar la *sintasa*, activando, por tanto, la vía de síntesis. La *fosfoproteína fosfatasa-2* también puede desfosforilar las subunidades α de la *fosforilasa quinasa* retornándola a su estado inicial.

EFICIENCIA DEL ALMACENAMIENTO DE GLUCOSA

La principal ventaja del almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno es la facilidad con que puede ser recuperada como glucosa-1-fosfato. Cabe pregun-

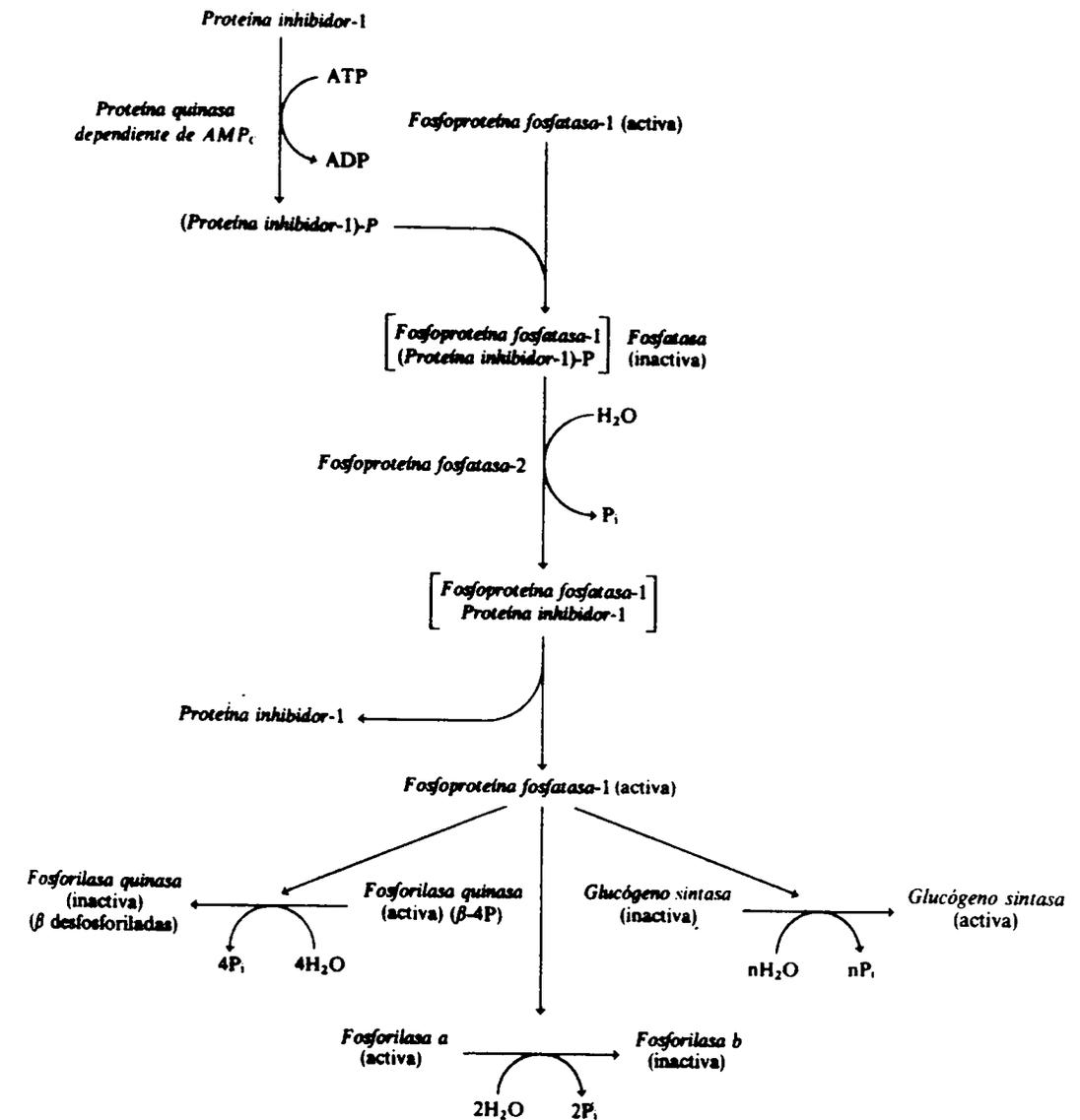
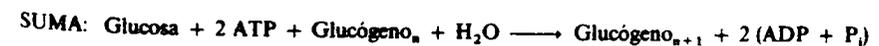
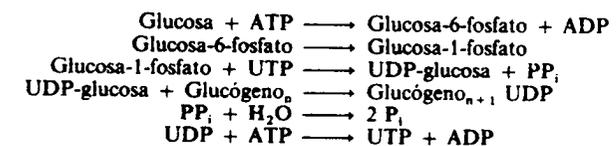


Figura 19.17. Esquema de cómo la *proteína quinasa dependiente de AMPc* inhibe a la *proteína fosfatasa-1* y posterior reactivación de ésta.

tarse cuál es el precio por almacenar glucosa en forma de glucógeno para luego volver a utilizarla.

El almacenamiento de una molécula de glucosa en forma de glucógeno requiere dos ATP, lo cual es evidente si se consideran todas las reacciones que intervienen en el proceso:



Sin embargo, cuando este resto glucosilo se metaboliza de nuevo, aparece en forma de glucosa-1-fosfato, lo cual ahorra una molécula de ATP (excepto para aquellas moléculas situadas en los puntos de ramificación, que son liberadas como glucosa). En consecuencia, el coste neto del almacenamiento de una molécula de glucosa en forma de glucógeno es de un ATP, al menos en el músculo en el que la glucosa-6-fosfato formada no es hidrolizada. Teniendo en cuenta que de una molécula de glucosa se obtienen en el músculo 38 ATP, el coste del almacenamiento es de 1/38; es decir, de aproximadamente un 3 por 100 de su valor energético potencial. Este es un precio muy bajo, considerando las ventajas que conlleva el hecho de disponer de una sustancia rápidamente metabolizable, almacenada. Puesto que el glucógeno es un material muy hidrófilo, su almacenamiento implica necesariamente la inmovilización de una cantidad importante de agua. Si el glucógeno se acumulara en grandes cantidades, el peso del agua asociada sería notable. Esta es una de las razones por las que las reservas de glucógeno son limitadas y el exceso de glucosa ingerida se almacena, a partir de un cierto punto, en forma de triacilglicéridos muy hidrófobos, que no requieren agua de hidratación.

Perspectiva global de la homeostasis de la glucosa

Estamos ahora en condiciones de mostrar una visión de conjunto de todos los procesos que ocurren cuando se producen cambios en la concentración sanguínea de glucosa.

Abundancia de glucosa

Después de una dieta rica en carbohidratos, la concentración sanguínea de glucosa aumenta, provocando los cambios que se especifican a continuación:

1. En el páncreas, los islotes de Langerhans segregan menos glucagón y más insulina. La disminución en los niveles de glucagón implica una menor producción de AMPc y, en consecuencia, una inactivación de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. La inactivación de esta *quinasa* conlleva a su vez una menor activación de la *fosforilasa* y una menor inactivación de la *sintasa*. Por otra parte, un incremento en los niveles de insulina implicará una mayor activación de la *sintasa*, tanto muscular como hepática, y un aumento del transporte de glucosa hacia el interior del músculo.

2. La glucosa, por sí misma, puede causar la inactivación de la *fosforilasa* hepática. Por otra parte, aumentará la producción de glucosa-6-fosfato por la *glucoquinasa*, ya que esta enzima hepática está controlada por los niveles de glucosa sanguínea, lo que acabará provocando la activación de la *glucógeno sintasa*. Este conjunto de acontecimientos indica que una elevación de los niveles de glucosa sanguínea es una señal capaz de provocar la acumulación de glucógeno tanto en el músculo como en el hígado.

Carencia de glucosa

Cuando la concentración de glucosa disminuye, lo que ocurre, por ejemplo, en el ayuno, se producen los siguientes fenómenos:

1. El páncreas segrega más glucagón y menos insulina. El incremento en la concentración sanguínea de glucagón implica la formación de más AMPc en el hígado y, en consecuencia, la activación de la *proteína quinasa* dependiente del nucleótido. La *proteína quinasa*, inactiva la *glucógeno sintasa*, activa la *glucógeno*

fosforilasa y fosforila el *inhibidor-1*, lo que inactiva la *fosfoproteína fosfatasa-1*. Al disminuir la secreción de insulina, se frena la síntesis de glucógeno y decrece el transporte de glucosa hacia el interior del músculo.

2. La disminución de la glucosa protege a la *fosforilasa* hepática de su desfosforilación, ya que la *fosforilasa a* es peor sustrato para la *fosfoproteína fosfatasa-1* que el complejo *fosforilasa a-glucosa*. Por otra parte, al disminuir la concentración de glucosa, el equilibrio entre *glucoquinasa* y *glucosa-6-fosfatasa* se desplaza en favor de esta última, con lo que el hígado aporta glucosa a la sangre.

El resultado neto es que en el hígado se detiene la síntesis de glucógeno y se acelera su degradación. La glucosa-6-fosfato resultante es hidrolizada y difunde hacia la sangre para evitar que la glucemia siga disminuyendo; así se consigue mantener el adecuado suministro de glucosa al cerebro. Por otra parte, la disminución del consumo de glucosa por parte de los músculos, causada por la disminución de los niveles de insulina, contribuye a preservar la glucosa para que pueda ser utilizada por el cerebro.

GLUCOGENOPATIAS

Se han descrito una serie de enfermedades congénitas en humanos que afectan a la síntesis o degradación del glucógeno (tabla 19.1). Estos defectos han contribuido al conocimiento del metabolismo del glucógeno en los individuos normales. Algunos de estos defectos afectan a todos los órganos que poseen un metabolismo del glucógeno activo; otros sólo afectan algún tejido en particular, ya que en los demás se expresan genes no alterados, por codificar diferentes formas isoenzimáticas. Los defectos pueden afectar a enzimas relacionadas con la degradación del glucógeno, en cuyo caso se acumula gran cantidad del polisacárido con estructura normal, o con defectos en las *enzimas ramificante* o *desramificante*, en cuyo caso el glucógeno acumulado es anormal. Solamente se han descrito unos pocos casos relacionados con defectos en la síntesis del polisacárido.

Se conocen dos defectos relacionados con el déficit de *fosforilasa* y ambos causan la acumulación de glucógeno. Uno de ellos es la *enfermedad de McArdle*, que afecta al músculo, mientras que el otro, *enfermedad de Hers*, afecta al hígado. Esto es, los defectos de la *fosforilasa* pueden afectar al hígado o al músculo por separado, ya que en estos dos órganos se expresan diferentes isoenzimas de la *fosforilasa*. En algunos casos, aunque aparentemente se observa una falta de *fosforilasa* hepática, el defecto es debido a un déficit en la *fosforilasa quinasa*, sin cuya acción no puede existir la forma activa de la *fosforilasa*.

Los pacientes sin *fosforilasa* muscular no son capaces de degradar el glucógeno en respuesta a la contracción, lo cual produce debilidad muscular. Ello indica que la utilización de glucógeno es conveniente para el músculo, pero no absolutamente necesaria. Esta idea viene reforzada por la existencia de individuos a los que falta la *fosfofructoquinasa* y que, sin embargo, sobreviven. Como es lógico, estas personas no sólo no pueden utilizar el glucógeno acumulado, sino que tampoco pueden utilizar la glucosa circulante.

A pesar de que el defecto de *fosforilasa* hepática no es muy grave, el déficit de *glucosa-6-fosfatasa*, que no permite compensar la caída en los niveles de glucosa producida en los periodos de ayuno, tiene consecuencias fatales si no se instaura un tratamiento adecuado. La hipoglucemia acompañada de acidosis que se produce, acaba dañando el cerebro. El tratamiento consiste en administrar pequeñas cantidades de alimentos cada dos o tres horas. Si el niño logra sobrevivir de esta manera los primeros años de su vida, tiene buenas posibilidades de llegar a adulto.

Tabla 19.1
ENFERMEDADES DE ALMACENAMIENTO DE GLUCOGENO (GLUCOGENOSIS O GLUCOGENOPATIAS)

Tipo	Nombre	Enzima deficiente	Organo afectado	Tipo de glucógeno	Características clínicas
I	Enfermedad de Von Gierke	Glucosa-6-fosfatasa	Hígado y riñón	Normal	Hepatomegalia, hipogluceemia, acidosis, cetosis, hiperuricemia, hipetilipemia. Falta de desarrollo
II	Enfermedad de Pompe	α -1,4-Glucosidasa lisosomal	Todos	Normal, acumulado en lisosomas	Muerte antes de los dos años por paro cardiorrespiratorio
III	Enfermedad de Cori Dextrinosis límite	Enzima desramificante	Músculo e hígado	Ramificaciones cortas	Igual que el tipo I, pero con un curso más benigno
IV	Enfermedad de Anderson Amilopectinosis	Enzima ramificante	Todos, Especialmente hígado y bazo	Ramificaciones muy largas	Cirrosis. Muerte antes de los dos años
V	Enfermedad de McArdle	Fosforilasa	Músculo	Normal	Fuertes dolores musculares al realizar ejercicio físico y vigoroso. Los pacientes crecen y se desarrollan normalmente
VI	Enfermedad de Hers	Fosforilasa	Hígado	Normal	Igual que el tipo I, pero con un curso más benigno
VII		Fosfofructoquinasa	Músculo	Normal	Igual que el tipo V
VIII		Fosforilasa quinasa	Hígado	Normal	Hepatomegalia moderada. Ligera hipogluceemia. Aparentemente ligado al cromosoma-X

Uno de los defectos con peores consecuencias es el de la α -glucosidasa ácida lisosómica. Esta enzima, que no participa en las rutas normales del glucógeno, destruye el polisacárido atrapado en los lisosomas. En su ausencia se acumulan grandes cantidades de glucógeno en estos orgánulos. Todos los tejidos del organismo se ven afectados, si bien las lesiones que se producen en el corazón suelen ser la causa inmediata de la muerte, que tiene lugar en la infancia.

El fallo de la enzima desramificante causa la acumulación de un glucógeno anormal tipo dextrina límite, y no se trata de un defecto fatal. Por el contrario, el fallo de la enzima ramificante, que conduce a la formación de largas cadenas semejantes a la amilopectina produce cirrosis hepática, lo cual indica que la acumulación de este tipo de glucógeno es incompatible con el mantenimiento de la estructura y funcionamiento normal de la célula hepática.

Finalmente, debe mencionarse que se han descrito algunos casos de deficiencia de la proteína quinasa dependiente de AMPc y de la adenilato ciclasa.

TEXTOS DE CONSULTA

- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K., y Watson, J. D.: *Biología molecular de la célula*, cap. 13, Omega, Barcelona, 1986.
- Berridge, M. J.: «Inositol Trisphosphate and Diacylglycerol as Second Messengers», *Biochem. J.*, 220:345, 1984.
- Cohen, P. (ed.): *Recently Discovered Systems of Enzyme Regulation by Reversible Phosphorylation*, Elsevier, 1980.
- Cohen, P. (ed.): «Molecular Aspects of Cellular Regulation», vol. 3, *Enzyme Regulation by Reversible Phosphorylation-Further Advances*, Elsevier, 1984.
- Curnow, R. T., y Larner, J.: *Hormonal and Metabolic Control of Phosphoprotein Phosphatases*, en *Biochemical Action of Hormones*, G. Litwack Editor, Academic Press, 6:77, 1979.
- Fletterick, R. J., y Madsen, N. B.: «The Structures and Related Functions of Phosphorylase a», *Ann. Rev. Biochem.*, 49:31, 1980.
- Howell, R. R., y Williams, J. J.: *The Glycogen Storage Diseases*, en *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Scriver, 1989.
- Ingebritsen, T. S., y Cohen, P.: «Protein Phosphatases: Properties and Role in Cellular Regulation», *Science*, 221:331, 1983.
- Kleen, C. B.; Crouch, T. H., y Richman, P. G.: «Calmodulin», *Ann. Rev. Biochem.*, 49:489, 1980.
- Krebs, E. G.: «Phosphorylation and Dephosphorylation of Glycogen Phosphorylase. A Prototype for Reversible Enzyme Covalent Modification», *Curr. Top. Cell. Regul.*, 18:401, 1981.
- Larner, J., y otros: «Insulin Mediators and Their Control of Metabolism through Protein Phosphorylation», *Rec. Prog. Horm. Res.*, 38:511, 1982.
- Majerus, P. W.; Wilson, D. B.; Connolly, T. M.; Bross, T. E., y Neufeld, E. J.: «Phosphoinositide turnover provides a link in stimulus-response coupling», *TIBS*, 10:168, 1985.
- Newsholme, E. A., y Leech, A. R.: *Biochemistry for the medical sciences*, cap. 16, John Wiley & Sons, 1983.
- Nishizuka, Y.: «The Role of Protein Kinase C in Cell Surface Signal Transduction and Tumor Promotion», *Nature (Londres)*, 308:693, 1984.
- Reingart, P. H.; Taylor, W. M., y Bygrave, F. L.: «The Role of Calcium Ions in the Mechanism of Action of α -Adrenergic Agonists in Rat Liver», *Biochem. J.*, 223:1, 1984.
- Roach, P. J.: «Protein Kinases», *Methods in Enzymology*, 107:81, 1984.
- Villar Palasi, C., y Guinovart, J. J.: «Mecanismos de Control de la Actividad de la Glucógeno Sintasa», *Bioquímica y Biología Molecular para graduados*, Leloir, L.; Ochoa, S.; Oró, J.; y Sols, A. Editores, Salvat, Barcelona, 1985.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Estructura de lípidos

MIGUEL ANGEL LASUNCIÓN

DEFINICION Y CLASIFICACION DE LOS LIPIDOS

Los lípidos son un conjunto heterogéneo de moléculas orgánicas, cuya característica fundamental es ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos apolares, como cloroformo, éter o benceno. Dada la amplitud de esta definición, dicho grupo comprende sustancias de muy diversa estructura. Suelen ser moléculas de número relativamente alto de átomos de carbono, con abundancia de hidrógeno y pocos átomos de oxígeno. Algunos lípidos poseen también átomos de fósforo, nitrógeno o azufre.

Su función biológica es, asimismo, muy diversa. La de algunos es fundamentalmente energética, dado su alto valor calórico (alrededor de 9,3 kcal/g), determinado por su elevado contenido de enlaces C-H. Este grupo está representado por los ácidos grasos de cadena larga, que son los más abundantes y que se almacenan en forma de ésteres del glicerol (triacilglicéridos), constituyendo depósitos en tejidos especializados (por ejemplo, tejido adiposo).

Otros lípidos desempeñan funciones estructurales, por ejemplo, en membranas, como los fosfoglicéridos, los esfingolípidos y el colesterol. Las propias hormonas esteroideas, las prostaglandinas y sus precursores son lípidos. Numerosas vitaminas pertenecen también al grupo de los lípidos (son las vitaminas liposolubles).

Cualquier clasificación de los lípidos presenta limitaciones, y la nomenclatura elegida para denominar cada uno de los grandes grupos puede incluso conducir a falsas interpretaciones. Además, los distintos autores utilizan idéntica terminología para denominar diferentes grupos de lípidos. En el presente texto se subdividen los lípidos en *simples* y *compuestos* (tabla 20.1). Los lípidos simples son aquellos cuya estructura molecular es unitaria. Este grupo incluye los ácidos grasos, los terpenoides, los esteroides y las prostaglandinas. En contraposición a los lípidos simples, los compuestos son aquellos cuya molécula presenta dos o más componentes claramente diferenciados, de los cuales al menos uno manifiesta propiedades de lípido cuando se considera por separado.

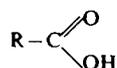
Los ácidos grasos se tratarán independientemente de los otros lípidos simples, dado que son los más abundantes y que forman parte de la estructura de los lípidos compuestos.

Tabla 20.1
CLASIFICACION DE LOS LIPIDOS

Lípidos simples	Lípidos compuestos
Ácidos grasos	Acilglicéridos
Terpenoides	Fosfoglicéridos
Carotenoides	Esfingolípidos
Esteroides	Ceras
Prostaglandinas	Estéridos

Ácidos grasos

Los ácidos grasos suelen encontrarse formando parte de otros lípidos, si bien aparecen también en pequeñas cantidades en forma libre. Son ácidos monocarboxílicos cuya estructura responde a la fórmula



donde R es una cadena carbonada de estructura muy variada (lineal, ramificada, alicíclica). Según que dicha cadena contenga o no dobles enlaces, son insaturados y saturados, respectivamente. Los hay también que presentan en su molécula otras funciones orgánicas, como hidroxilo, ceto o epoxi. Asimismo, el número de átomos de carbono de los ácidos grasos es muy variado (los ácidos micólicos, por ejemplo, contienen hasta 80 átomos de carbono).

Dentro de la enorme variedad de ácidos grasos existente en la naturaleza, los más abundantes son los de cadena lineal con número par de átomos de carbono, entre 12 y 24.

La nomenclatura sistemática de los ácidos grasos deriva de la de los hidrocarburos. Así, por ejemplo, el de 16 átomos de carbono se denomina hexadecanoico; el de 18, octadecanoico, y así sucesivamente. Cuando se trata de ácidos grasos insaturados, la posición del doble enlace se indica mediante el número de orden del primer carbono que interviene (por ejemplo, n-9-octadecenoico). Cada vez se utiliza más una fórmula abreviada para la nomenclatura de los ácidos grasos (en particular los de cadena lineal), en la cual figura el número de átomos de carbono separado por dos puntos del número de dobles enlaces y la posición de éstos en exponente (tabla 20.2). Con esta nomenclatura, los tres ácidos grasos mencionados antes se denominarían, respectivamente, 16:0, 18:0 y 18:1⁹. En determinadas ocasiones, el doble enlace se identifica también con el símbolo Δ y un exponente que corresponde a la posición del mismo en la cadena carbonada con relación al grupo carboxílico. En la tabla 20.2 figuran diversos ácidos grasos con su nomenclatura respectiva.

El número de átomos de carbono determina varias de las propiedades físicas de los ácidos grasos. Así, mientras que los de cadena larga muestran una solubilidad típica de lípidos, a medida que disminuye el número de átomos de carbono de su molécula, aumenta su solubilidad en el agua. Del mismo modo, los puntos de fusión y ebullición aumentan paralelamente al número de carbonos, de manera que, por ejemplo, los de cadena corta se encuentran en estado líquido a temperatura ambiente, mientras que los de cadena larga se hallan en estado sólido. Además de por la longitud de la cadena, el punto de fusión de los ácidos grasos

Tabla 20.2
ACIDOS GRASOS NATURALES

Nombre común	Fórmula abreviada	Observaciones
Butírico	C 4:0	
Capríco	C 6:0	
Caprílico	C 8:0	
Cáprico	C 10:0	
Láurico	C 12:0	
Mirístico	C 14:0	
Palmitico	C 16:0	Muy abundante
Estearico	C 18:0	Muy abundante
Araquídico	C 20:0	Precursor eicosanoides
Behénico	C 22:0	
Lignocérico	C 24:0	En esfingolípidos
Cerótico	C 26:0	En ceras
Montánico	C 28:0	En ceras
Melítico	C 30:0	En ceras
Lacerótico	C 32:0	En ceras
Palmitoleico	C 16:1 ⁹	
Oleico	C 18:1 ⁹	Muy abundante
Elaídico	C 18:1 ⁹ (trans)	
Erúxico	C 22:1 ¹²	
Nervónico	C 24:1 ¹⁴	En esfingolípidos
Linoleico	C 18:2 ^{9,12}	Esencial para el hombre
Linolénico	C 18:3 ^{9,12,15}	
Araquidónico	C 20:4 ^{5,8,11,14}	Esencial para el hombre
Undecilénico	C 11:1 ¹⁰	Antifúngico
Cerebrónico	α-Hidroxlignocérico	En esfingolípidos
Hidroxinervónico	α-Hidroxinervónico	En esfingolípidos
Chaulmoógrico	Ciclopentenitridecanoico	Tratamiento de la lepra

viene determinado también por su grado de insaturación y por la presencia de ramificaciones en la cadena, de forma que los insaturados y los ramificados tienen un punto de fusión inferior al de los saturados y los lineales respectivos (con el mismo número de carbonos que aquéllos), ya que las cadenas lineales y sin giros en su molécula permiten un mejor empaquetamiento entre sí.

El doble enlace de los ácidos grasos insaturados puede adoptar dos configuraciones espaciales distintas, si bien éstas no son interconvertibles de forma espontánea. Son las llamadas configuraciones *cis* y *trans*. El doble enlace en *trans* distor-

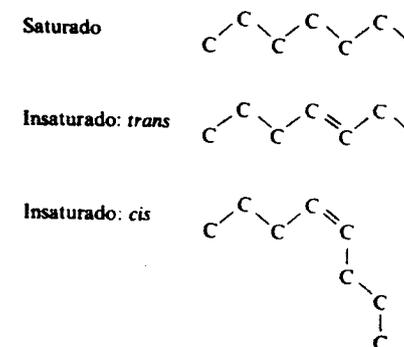
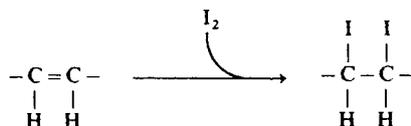


Figura 20.1.

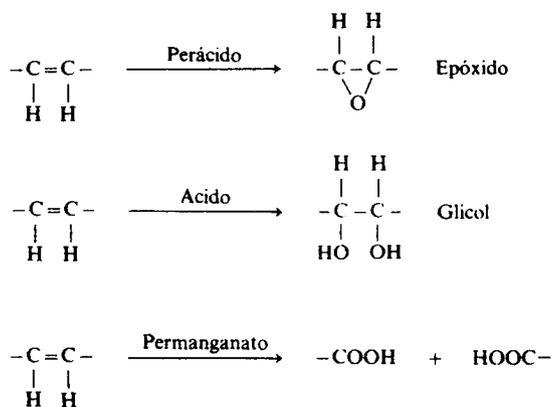
siona sólo ligeramente la estructura regular quebrada de la cadena del ácido graso. El enlace en *cis*, sin embargo, determina un marcado giro o desviación del eje longitudinal de la molécula, tal como se esquematiza en la figura 20.1.

La configuración del doble enlace repercute sensiblemente en las propiedades físicas del ácido graso; así, por ejemplo, el punto de fusión del ácido eláidico (C 18:1⁹ *trans*) es muy superior al del ácido oleico (C 18:1⁹ *cis*). En la naturaleza, a diferencia de lo que ocurre en los procesos de síntesis química no enzimática, los ácidos grasos insaturados adoptan preferentemente la configuración *cis*.

La presencia de dobles enlaces confiere a los ácidos grasos diversas propiedades químicas. Entre ellas cabe destacar la adición de halógenos, por ejemplo, yodo, que sigue utilizándose para determinar el grado de insaturación de aceites o mezclas de ácidos grasos. Este parámetro recibe el nombre de *índice de yodo*:



El doble enlace puede también oxidarse para formar epóxidos, glicoles o incluso promover la rotura del ácido graso a dicho nivel.



Una de las propiedades químicas más característica de los ácidos grasos es la formación de *jabones*, que son las sales obtenidas por el tratamiento de aquéllos con hidróxidos de metales alcalinos (sosa, potasa).



Los jabones son solubles en agua, en la cual se disocian, apareciendo el radical ---COO^- fuertemente hidrófilo. El carácter anfipático de los jabones (un extremo polar y una cadena hidrófoba) determina que, en disoluciones acuosas, las moléculas se agrupen orientando sus cabezas polares hacia el disolvente, disposición que permite englobar dentro de ella otras partículas insolubles en agua (propiedad de la que derivan las aplicaciones prácticas de los jabones) (fig. 20.1).

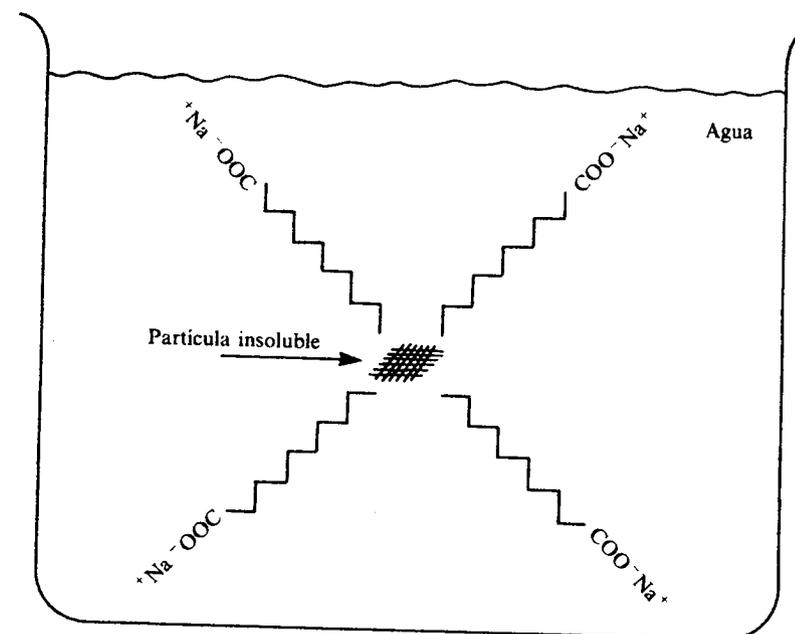


Figura 20.2. Disposición esquemática de moléculas de jabón englobando partículas insolubles.

LIPIDOS COMPUESTOS

Acilglicéridos

Los acilglicéridos (también llamados acilgliceroles o, simplemente, grasas neutras) son ésteres del glicerol con ácidos grasos. Son, por tanto, lípidos compuestos, y los más abundantes en la naturaleza. Constituyen la forma de almacenaje de los ácidos grasos para fines energéticos. Los aceites y grasas son fundamentalmente mezclas de acilglicéridos.

El glicerol permite establecer tres enlaces éster. Según el número de ácidos grasos que contenga, el compuesto se denomina mono, di o triacilglicérido (o triglicérido).

Cuando se hace referencia a la estereoquímica de estos derivados del glicerol se le asigna el número 1 al átomo de carbono que queda en la parte superior en las representaciones de Fischer (proyectándose el grupo alcohol secundario hacia la izquierda). Para diferenciar esta nomenclatura de la convencional que no hace referencia a la configuración espacial, se utiliza el prefijo *sn* (que corresponde a las iniciales de «stereospecifically numbered»). Así, por ejemplo, si en la figura 20.3



Figura 20.3.

el sustituyente R es el ácido oleico, el compuesto de la izquierda se denominará *sn*-glicerol 1-oleato.

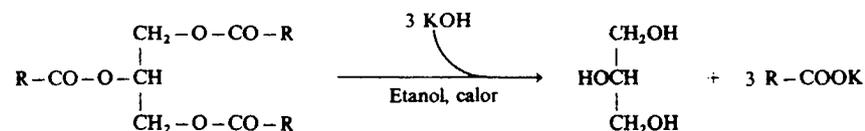
Los triacilglicéridos raramente son homogéneos, en el sentido de que los tres radicales acilo suelen ser diferentes. Por lo general, existe una combinación de saturados e insaturados. La distribución de los ácidos grasos en las grasas de depósito animales varía con las distintas especies y, dentro de la misma especie, se modifica con la dieta, la edad y el clima. En orden decreciente, los ácidos grasos mayoritarios en los acilglicéridos del tejido adiposo humano son: oleico, palmítico, linoleico y esteárico.

En el tejido adiposo, los triacilglicéridos se encuentran en estado líquido o bien semisólido, carácter que viene determinado por su particular composición en ácidos grasos. Del mismo modo, los aceites comestibles son líquidos a temperatura ambiente porque los ácidos grasos que contienen son mayoritariamente insaturados. Lo contrario ocurre en las grasas.

Los triacilglicéridos constituyen la forma molecular de reserva energética más eficaz por cuanto los ácidos grasos pueden ser almacenados de esta forma en grandes cantidades en el tejido adiposo y en virtual ausencia de agua. Por otra parte, es bien conocida la función aislante térmica y mecánica de los depósitos grasos en los animales superiores.

Los di y triacilglicéridos son altamente insolubles en agua, mientras que los monoacilglicéridos, por su carácter anfipático, llegan a dispersarse formando agregados.

Los acilglicéridos en general son hidrolizados enzimáticamente por acción de las lipasas. Químicamente pueden hidrolizarse tanto por acción de ácidos (por ejemplo, sulfúrico) como de bases fuertes. La hidrólisis alcalina, conocida como *saponificación*, se suele realizar con potasa (KOH) en solución etanólica y en caliente, y como productos de los acilglicéridos se obtiene el glicerol libre y las sales potásicas de los ácidos grasos (jabones):



No sólo los acilglicéridos, sino cualquier otro lípido que contenga ácidos grasos unidos mediante enlaces éster es susceptible de ser saponificado. Esta propiedad se utiliza para clasificar los lípidos en *saponificables* y *no saponificables* (entre estos últimos se encuentran, por ejemplo, el colesterol y los esfingolípidos).

Fosfoglicéridos

Los fosfoglicéridos son típicamente lípidos de membrana, y son derivados acilados del *sn*-glicerol-3-fosfato (fig. 20.4). Estrictamente, esta definición corresponde a la estructura de los ácidos fosfatídicos (fig. 20.5), los cuales se dan en los seres vivos, aunque en pequeña proporción. Los fosfoglicéridos más abundantes contienen a su vez un radical hidrófilo unido mediante enlace éster al grupo fosfato del ácido fosfatídico. Según la naturaleza de dicho radical (X) se distinguen las distintas familias de fosfoglicéridos (tabla 20.3).

La estructura de los fosfoglicéridos muestra dos polos claramente diferenciados: uno hidrófobo, representado por los restos acilo y otro hidrófilo, constituido

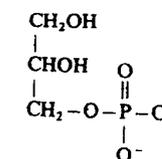


Figura 20.4. Ejemplo del *sn*-glicerol 3-fosfato.

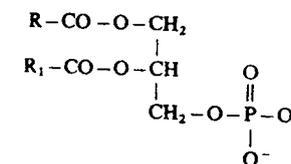


Figura 20.5. Ejemplo de un ácido fosfatídico (1,2-diacil-*sn*-glicerol-3-fosfato).

por el grupo fosfato y el radical X. Son, pues, moléculas con carácter anfipático, que contienen al menos una carga negativa. Por otra parte, cuando se encuentran en medios acuosos de pH próximo a 7, algunos de ellos manifiestan también una carga positiva (del nitrógeno), por lo que se comportan como iones mixtos.

Otros, como los fosfatidilinositoles y los fosfatidilgliceroles, pueden contener ésteres fosfóricos unidos a los grupos hidroxilo del inositol o del glicerol, manifestando, por tanto, una alta carga eléctrica negativa.

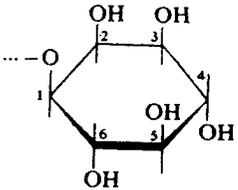
Esta estructura anfipática y la carga eléctrica permiten a los fosfoglicéridos formar fácilmente dispersiones coloidales en medio acuoso. Por otro lado, su solubilidad es algo diferente a la de los otros lípidos, por cuanto, si bien son solubles en la mayoría de solventes orgánicos, no lo son en acetona fría. Esta propiedad se utiliza para la separación química de los fosfoglicéridos cuando se encuentran mezclados con otros lípidos. La naturaleza de los ácidos grasos de los fosfoglicéridos es muy diversa, más que en los acilglicéridos. Palmítico y esteárico son los más abundantes en los fosfoglicéridos de mamíferos, pero también se encuentran ácidos grasos insaturados y ramificados. Respecto a los insaturados, se ha observado que esterifican preferentemente el C₂ del glicerol.

Los fosfoglicéridos son constituyentes mayoritarios de las membranas celulares. También se encuentran en el plasma como integrantes de las lipoproteínas, desempeñando, asimismo, un papel fundamentalmente estructural. En los últimos años, sin embargo, a ciertos fosfoglicéridos de membrana se les ha atribuido un papel en la transmisión de señales bioquímicas, ya que su metabolismo se activa en gran medida, y precede a otros procesos metabólicos, tras la unión de diferentes hormonas a sus receptores específicos de membrana.

Por acción de las *fosfolipasas A* o *B* los fosfoglicéridos pierden uno de sus ácidos grasos, dando lugar, respectivamente, a los 2 ó 1-lisofosfoglicéridos. La lisofosfatidilcolina (fig. 20.6.a) se produce también por acción de la *lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT)* sobre la lecitina de las lipoproteínas plasmáticas, en una reacción encaminada a la esterificación del colesterol lipoproteico.

También pueden considerarse derivados de los fosfoglicéridos los *plasmalógenos* (fig. 20.6.b). En ellos, el ácido graso en posición 1 está reemplazado por un radical alquilo o alquenilo de cadena larga.

Tabla 20.3
FOSFOGLICERIDOS

<i>Naturaleza de X</i>		<i>Nombre</i>
$\begin{array}{c} \text{R}-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{R}_1-\text{CO}-\text{O}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{P}(\text{O})-\boxed{\text{X}} \\ \\ \text{O}^- \end{array}$		
$\begin{array}{c} \dots-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \\ \text{Colina} \end{array}$	Fosfatidilcolinas (lecitinas)	
$\dots-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$ <p style="text-align: center;">Etanolamina</p>	Fosfatidiletanolaminas (cefalinas)	
$\begin{array}{c} \dots-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COO}^-)-\text{NH}_3^+ \\ \text{Serina} \end{array}$	Fosfatidilserinas	
 <p style="text-align: center;">Mioinositol</p>	Fosfatidilinositoles	
$\begin{array}{c} \dots-\text{O}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{Glicerol} \end{array}$	Fosfatidilgliceroles	
$\begin{array}{c} \dots-\text{O}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\dots \\ \text{Glicerol} \end{array}$	Cardiolipinas	

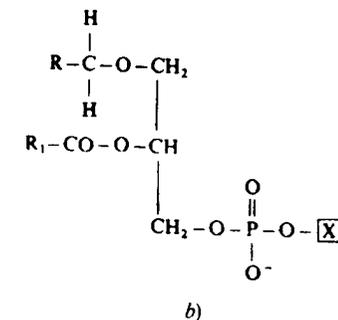
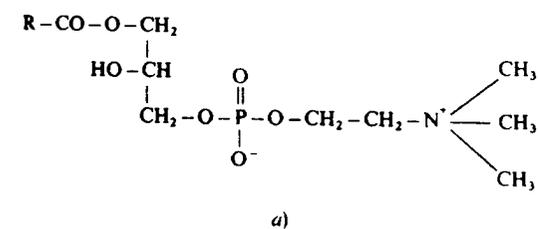


Figura 20.6. a) Ejemplo de 2-lisofosfatidilcolina. b) Ejemplo de plasmalógeno.

Esfingolípidos

Los esfingolípidos son lípidos compuestos que contienen en su molécula un alcohol aminado de cadena larga, la *esfingosina* (también llamada *esfingenina*) (fig. 20.7.a) u otros análogos o derivados de ella, y un ácido graso, unidos mediante enlace amida. Esta estructura básica corresponde a las *cerámidas*.

Como puede observarse, la estructura global de las cerámidas es muy semejante a la de los diacilglicéridos.

En los esfingolípidos en general, y en las cerámidas en particular, los ácidos grasos predominantes son los saturados, como el lignocérico (C 24:0), el esteárico

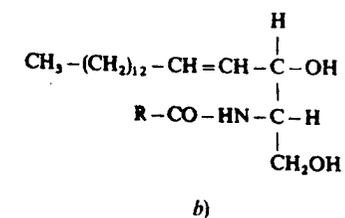
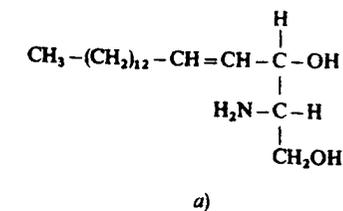


Figura 20.7. a) Esfingosina. b) Ejemplo de cerámida.

(C 18:0) y el palmítico (C 16:0). En cerebro es considerable la presencia del nervónico (C 24:1⁴) y otros derivados hidroxilados de 24 átomos de carbono.

El grupo hidroxilo terminal de las cerámidas permite la unión de otros compuestos; estos derivados son los esfingolípidos más abundantes en los seres vivos.

Esfingofosfolípidos

Son derivados de las cerámidas, que contienen un grupo fosfato enlazado al C₁ de la esfingosina, y otro radical orgánico esterificando a su vez al fosfato:

Los esfingofosfolípidos más abundantes son las llamadas *esfingomielinas*, que contienen colina (fig. 20.8) o etanolamina. Su estructura es similar a las fosfatidilcolinas y fosfatidiletanolaminas, respectivamente, y son componentes principales de las vainas de mielina.

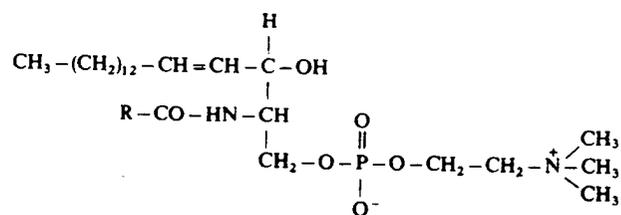


Figura 20.8. Ejemplo de esfingofosfatidilcolina.

Esfingoglicolípidos

Son derivados de las cerámidas, que incorporan mono u oligosacáridos, unidos mediante enlace glicosídico al C₁ de la esfingosina. Dependiendo de la naturaleza del carbohidrato, se distinguen diversos esfingoglicolípidos: cerebrósidos, sulfátidos y gangliósidos.

Los *cerebrósidos* presentan un resto de galactosa o de glucosa, o bien una combinación de ellas unidas entre sí por enlace glicosídico (raramente exceden el número total de 4). Como su nombre indica, son especialmente abundantes en las envolturas lipídicas de las células nerviosas, aunque también se encuentran en el resto de células. Los de cerebro son exclusivamente cerebróglicosidos (fig. 20.9), es decir, contienen una sola molécula de galactosa. En el resto de tejidos (músculo, hígado, bazo, sangre), la naturaleza de los cerebrósidos es muy variada.

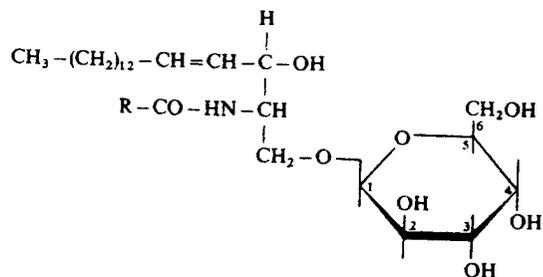
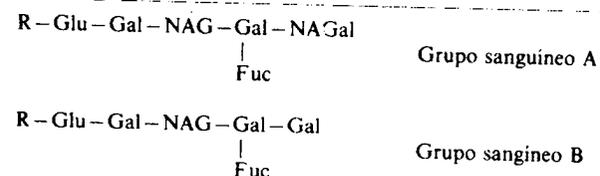


Figura 20.9. Ejemplo de cerebróglicosido.

Debe mencionarse un grupo especial de cerebrósidos; es decir, aquellos que constituyen en los hematíes, junto con diversas glicoproteínas, los aglutinógenos determinantes de los grupos sanguíneos. En la tabla 20.4 se esquematiza la estructura de los esfingolípidos de los grupos sanguíneos A y B.

Tabla 20.4
ESFINGOGLICOLIPIDOS DE LOS AGLUTINOGENOS
DE LOS GRUPOS SANGUINEOS A Y B



En donde:

R = Cerámida.

NAG = N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina, indistintamente.

NAGal = N-acetilgalactosamina.

Glu = Glucosa.

Gal = Galactosa.

Fuc = Fucosa.

Los *sulfátidos* son los ésteres sulfúricos de los cerebrósidos. Los más frecuentes son los derivados de los cerebróglicosidos, donde el grupo sulfato esterifica el C₃ de la hexosa. Son especialmente abundantes en cerebro, aunque su distribución es universal (fig. 20.10).

Los *gangliósidos* se diferencian del resto de esfingoglicolípidos en que contienen una o varias moléculas de ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico). El número de hexosas que presentan varía también entre uno y cuatro. Se localizan no sólo en las células ganglionares (de donde deriva su nombre), sino en la mayor parte de los otros tejidos. Los mejor estudiados han sido los de tejido nervioso, cuya estructura se esquematiza en la tabla 20.5. Su nomenclatura abreviada hace referencia al número de ácidos siálicos que contienen (M: monosializados; D: disializados; etc.), y el número arábigo, a su posición relativa de migración en cromatografía de capa fina.

En ciertas enfermedades moleculares, la composición en gangliósidos cambia notablemente, lo cual se correlaciona con profundas alteraciones en la función

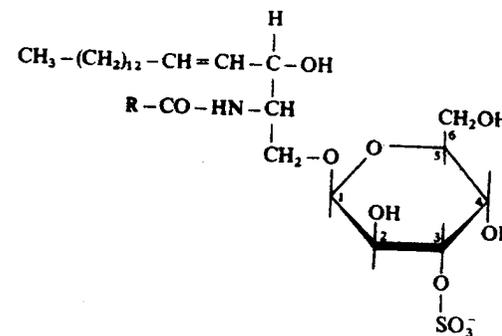


Figura 20.10. Ejemplo de sulfátido.

Tabla 20.5

ESTRUCTURA DE ALGUNOS GANGLIOSIDOS DE CEREBRO

G_{M4}	R - Gal - NANA
G_{M3}	R - Glu - Gal - NANA
G_{M2}	R - Glu - Gal - NAGal NANA
G_{M1}	R - Glu - Gal - NAGal - Gal NANA
G_{D3}	R - Glu - Gal - NANA - NANA
G_{D2}	R - Glu - Gal - NAGal NANA - NANA
G_{D1a}	R - Glu - Gal - NAGal - Gal NANA NANA
G_{T1b}	R - Glu - Gal - NAGal - Gal NANA - NANA NANA

En donde:

R = Ceramida.

Glu = Glucosa.

Gal = Galactosa.

NAGal = N-acetilgalactosamina.

NANA = Acido N-acetilneuramínico.

cerebral, como es el caso, por ejemplo, de la *enfermedad de Tay-Sachs*, donde por ausencia de una enzima que cataboliza el G_{M2} éste llega a constituir más del 90 por 100 del total de gangliosidos, cuando en sujetos normales existen sólo trazas.

Ceras

Las *ceras* o *céridos* son ésteres de ácidos grasos con alcoholes de elevado peso molecular (fig. 20.11). Estos alcoholes alifáticos suelen ser monohidroxílicos y de número par de átomos de carbono, muchos de los cuales derivan de ácidos grasos de cadena larga por reducción de su función carboxílica. La naturaleza de los ácidos grasos que forman parte de las ceras es también variada; los hay saturados e insaturados, pero todos ellos de número par de átomos de carbono y de cadena larga.

Las ceras se encuentran muy distribuidas en los seres vivos, y su función biológica difiere de unas a otras. Su punto de fusión normalmente elevado y su insolubilidad las convierte en excelentes sustancias de revestimiento para protección y aislamiento. En general, los animales superiores no pueden metabolizar estos compuestos.

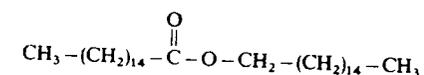


Figura 20.11. Palmitato de la hexadecanilo (una cera).

LIPIDOS SIMPLES

Terpenoides

Los *terpenoides* son un grupo amplio de compuestos con naturaleza lipídica, que pueden considerarse derivados del *isopreno* (fig. 20.12.a); de ahí que también se denominen lípidos isoprenoides.

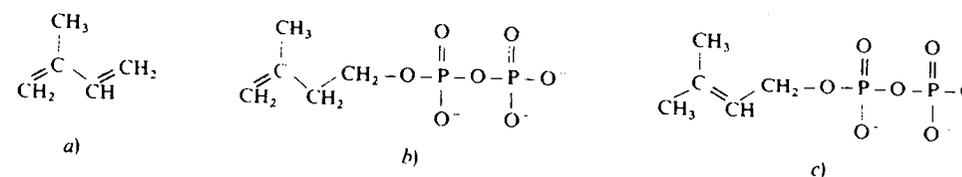


Figura 20.12. a) Isopreno. b) Isopentenilpirofosfato. c) Dimetilalilpirofosfato.

En los seres vivos no se encuentra isopreno como tal, sino sus derivados fosforilados: isopentenilpirofosfato y dimetilalilpirofosfato (fig. 20.12.b.c), isómeros entre sí, que proceden de la fosforilación del ácido mevalónico.

Por condensación de varias unidades de isopreno activo (isopreno fosforilado), se sintetizan los diferentes lípidos isoprenoides. Se distinguen los *monoterpenos*, *sesquiterpenos*, *diterpenos*, etc., según que contengan, respectivamente, dos (unidad de terpeno), tres, cuatro, etc., isoprenos. Entre ellos, además, los hay acíclicos, ramificados y cíclicos, que pueden contener otras funciones orgánicas (cetona, alcohol).

Entre los monoterpenos figuran diversos compuestos volátiles con aromas característicos, como el *limoneno* (fig. 20.13) del limón y el alcanfor.

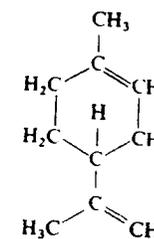
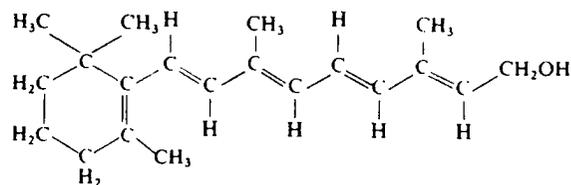
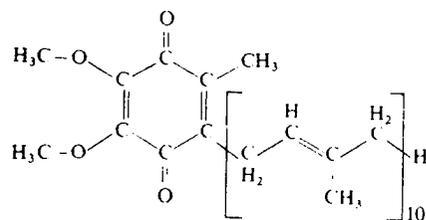


Figura 20.13. Limoneno.

El *retinol* o vitamina A₁ (fig. 20.14) y el *deshidro-3-retinol* o vitamina A₂ son diterpenos parcialmente ciclados, mientras que el *fitol* es un diterpeno lineal.

Son también terpenoides la vitamina E o *α-tocoferol* y los derivados quinónicos, como las ubiquinonas (fig. 20.15), la plastoquinona y las vitaminas K.

Figura 20.14. Vitamina A₁.Figura 20.15. CoQ₁₀ (una ubiquinona).

Carotenoides

Los *carotenoides* son derivados poliisoprenicos de 40 átomos de carbono (tetraterpenos). En su mayoría son moléculas simétricas, lineales (por ejemplo, el licopeno), o parcialmente cicladas. Entre estas últimas se encuentran los *carotenos* (fig. 20.16), que poseen un ciclo ionona en cada uno de sus extremos, y las *xantofilas*, en las que los ciclos ionona se encuentran hidroxilados.

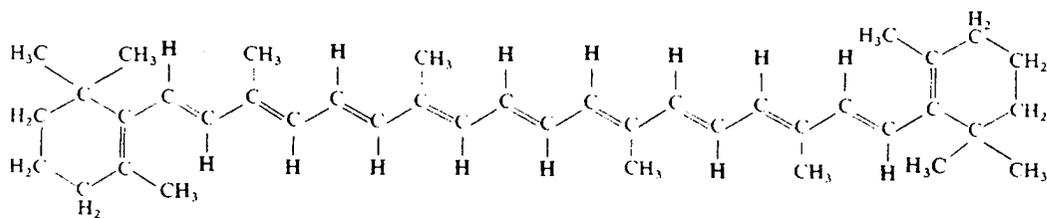


Figura 20.16. β-caroteno.

Los carotenoides son compuestos intensamente coloreados, debido a la profusión de dobles enlaces conjugados.

Esteroides

Los *esteroides* pueden considerarse también lípidos isoprenoides, puesto que en último término proceden del isopentenilpirofosfato. Su estructura está relacionada con la del anillo *esterano* o ciclopentanoperhidrofenantreno (fig. 20.17), de cuya molécula debe destacarse el carácter saturado de cada uno de los anillos que la componen.

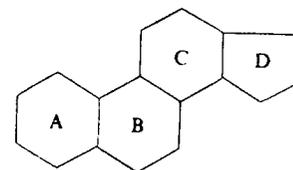
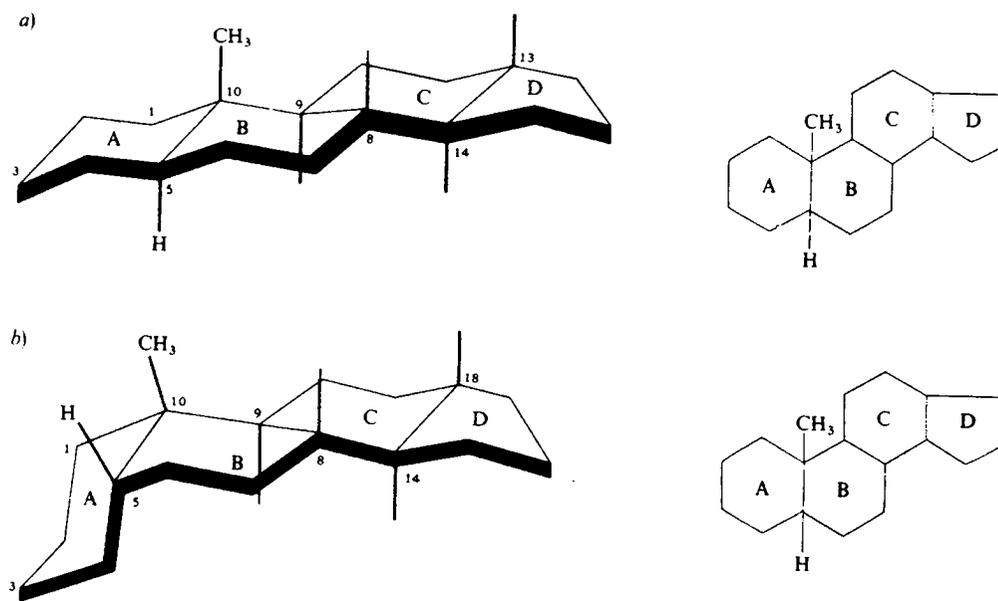


Figura 20.17. Esterano.

En los esteroides naturales, cada uno de los ciclohexanos se presenta en la configuración de «silla», que es más estable que la de «nave». La unión entre cada dos de los cuatro anillos puede adoptar potencialmente la configuración *cis* o la *trans* (fig. 20.18). Sin embargo, en la mayoría de los esteroides de los seres vivos, dos de las tres uniones presentan configuración *trans*, mientras que sólo la que implica los anillos A y B presenta estereoisomería.

Figura 20.18. a) A y B en configuración *trans* (5-α-esteroide). b) A y B en configuración *cis* (5-β-esteroide).

Habitualmente los esteroides están metilados en el C₁₀. Cualquier otro sustituyente en la molécula puede adoptar la configuración *trans* o la *cis* con respecto a aquél. En el caso particular de los esteroides, dichas configuraciones reciben el nombre de α o β, respectivamente. En la representación plana de estas moléculas, un sustituyente α se indica con trazo de puntos, y el sustituyente β, con trazo continuo. Como se observa en la figura 20.18, en un 5-α-esteroide la unión entre los anillos A y B es siempre *trans*, mientras que en un 5-β-esteroide es en *cis*.

Los esteroides naturales presentan diversos sustituyentes, como grupos metilo (típicamente en C₁₀ y C₁₃); grupos hidróxilo, carboxilo o carbonilo; radical isoprenoide (en C₁₇), etc.

Los esteroides que contienen uno o más grupos hidroxilo se denominan

esteroles. Estos son los esteroides mayoritarios y están ampliamente distribuidos entre los organismos. Todos ellos pueden considerarse derivados del *colesterol* o bien de su precursor, el 7-deshidrocolesterol.

El *colesterol* (fig. 20.19) o 3-hidroxi-5,6-colesteno es un esteroles de 27 átomos de carbono, cuyo grupo hidroxilo adopta configuración β . Se encuentra también en ciertas algas, pero se considera como un esteroles típicamente animal. Abunda en el tejido nervioso, pero se encuentra en las células de todos los tejidos y en el plasma, como componente de las lipoproteínas.

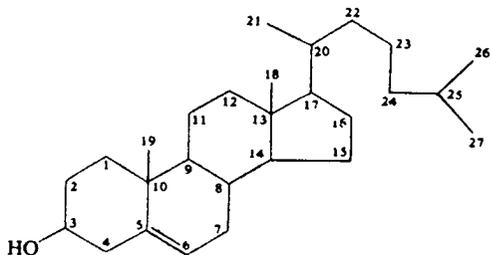


Figura 20.19. Colesterol.

En las membranas aparece en su estado libre de esteroles. Se encuentra también en vesículas de reserva, en forma esterificada (ésteres de colesterol) (fig. 20.20).

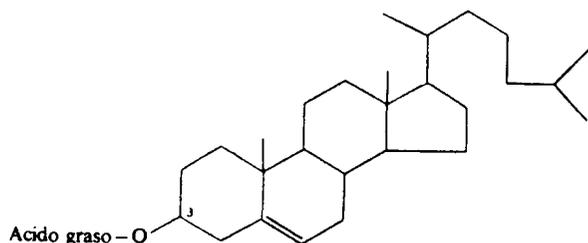


Figura 20.20. Ester de colesterol.

En plantas y levaduras se encuentran otros esteroides (fig. 20.21), como el β -sitosterol (plantas superiores), el ergosterol (hongos), el campesterol, así como

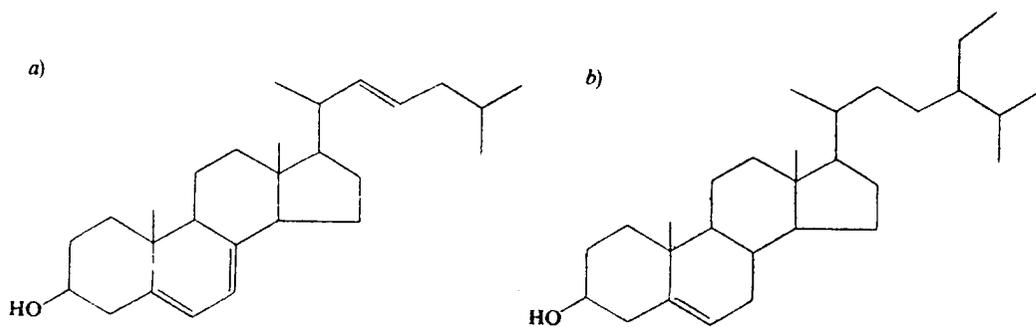


Figura 20.21. a) Ergosterol (C 28). b) β -sitosterol (C 29).

sus ésteres respectivos con ácidos grasos. Los ésteres de los esteroides con ácidos grasos reciben el nombre genérico de *ésteridos*.

Los derivados del colesterol son muy numerosos: los *estanoles* de las heces, el *colecalfiferol* o vitamina D_3 , los *ácidos biliares* y sus sales, y las diversas *hormonas esteroideas* (véase cap. 41) (corticoides, estrógenos, andrógenos y gestágenos).

TEXTOS DE CONSULTA

- Ansell, G. B.; Wawthorne, J. N., y Dawson, R. M. C.: *Form and function of phospholipids*, 2.^a ed., Elsevier, Nueva York, 1973.
- Cabezas, J. A., y Calvo, P.: «Gangliósidos», *Investigación y Ciencia*, 94:86-96, 1984.
- Chapman, D.: *Lípidos*, Editorial Alhambra, Madrid, 1973.
- Christie, W. W.: *Lipid Analysis*, 2.^a ed., Pergamon Press, Oxford, 1982.
- Gibbons, G. F.; Mitropoulos, K. A., y Myant, N. B.: *Biochemistry of cholesterol*, Elsevier Biomedical, Amsterdam, 1982.
- Gurr, A. I., y James, A. Y.: *Lipid Biochemistry: An introduction*, 3.^a ed., Methuen, Nueva York, 1980.
- Louisot, P.: *Bioquímica estructural*, Editorial AC, Madrid, 1977.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Digestión y absorción de los lípidos de la dieta

MIGUEL ANGEL LASUNCIÓN



LIPIDOS EN LA DIETA

En las comunidades industrializadas, la ingesta diaria de grasas es de unos 100 g, que aportan del 40 al 45 por 100 de las calorías totales de la dieta. Alrededor de un tercio de ellas provienen de la carne; otro tercio, de productos grasos propiamente dichos (aceite, mantequilla, margarina); un quinto, de productos lácteos, y el resto, de una variedad de productos manufacturados o naturales (frutos secos, chocolates, pastelería). El contenido graso de los diferentes alimentos se muestra en la tabla 21.1.

Aproximadamente el 90 por 100 de los lípidos de la dieta son triacilglicéridos y el resto está constituido por ésteres de colesterol, esteroides vegetales, diversos fosfolípidos y otros en menor proporción. La mayoría de los triacilglicéridos contienen ácidos grasos de cadena larga, saturados o insaturados. Cabe señalar, por ejemplo, que el oleico y el linoleico representan el 34 y el 19 por 100, respectivamente, del aceite comestible producido por el hombre (tabla 21.2).

Tabla 21.1
CONTENIDO GRASO APROXIMADO
DE LOS ALIMENTOS

Alimento	% grasa
Manteca	99
Margarina	81
Mantequilla	81
Quesos	30-50
Salchichas	32
Arenque	18
Magro de vacuno	17
Huevos	11
Leche	4
Pan	2
Arroz	1
Patatas	0

Tabla 22.2

CONTENIDO EN ACIDOS GRASOS DE CIERTOS ACEITES Y GRASAS
(% del total)

Aceite o grasa	Mirístico	Palmitico	Estéarico	Oleico	Linoleico
Palma	1	40	4	45	8
Cacahuete	—	12	5	57	23
Oliva	1	6	4	80	10
Manteca de cerdo	1	28	8	56	5
Sebo de vacuno	3	25	24	42	2
Ballena	8	17	1	14	37
Mantequilla	10	30	11	30	3

Los ácidos grasos de cadena media, que se encuentran sobre todo en los aceites vegetales, constituyen un porcentaje relativamente pequeño en la dieta humana habitual. Estos ácidos grasos, debido a que son absorbidos de forma rápida y encauzados directamente hacia el sistema porta, se utilizan como fuente calórica alternativa en pacientes con alteraciones en el transporte de ácidos grasos de cadena larga.

Los ácidos grasos de cadena corta tienen escaso significado nutricional para los mamíferos no rumiantes, puesto que, aunque son absorbidos y transportados de forma eficaz, su contribución al metabolismo es pequeña en términos cuantitativos. Se encuentran en algunos alimentos y en la mayoría de ellos probablemente se producen por fermentación intestinal de los carbohidratos de la dieta. En rumiantes, sin embargo, el significado nutricional de estos ácidos grasos es considerable y ha sido extensamente investigado.

La composición lipídica de la dieta repercute aparentemente muy poco en la composición lipídica de los organismos. Esto es así porque la mayor parte de nuestros lípidos son sintetizados *de novo* en los tejidos a partir de diferentes precursores. La composición de ácidos grasos de un determinado organismo es en cierto grado característica de la especie y es reflejo, por un lado, de su capacidad de síntesis de ácidos grasos y, por otro, de su adecuada utilización, junto con los ácidos grasos provenientes de la dieta, para la formación de lípidos compuestos. Por tanto, los ácidos grasos exógenos se depositan en los tejidos en la medida en que son necesarios para configurar la estructura de sus lípidos.

Ahora bien, una manipulación profunda de la composición lipídica de la dieta o, lo que es equivalente, el cambio de una dieta a otra con marcadas diferencias en la naturaleza de sus lípidos, puede traducirse en una alteración de los depósitos grasos de nuestro organismo. En adultos, esta influencia es débil a la vez que lenta en el tiempo. En niños, sin embargo, es rápida y apreciable. De ahí, por ejemplo, que la composición en ácidos grasos de las leches sustitutivas de la materna sea un factor a considerar en la nutrición del lactante. Se ha observado que el tejido graso de niños alimentados con productos elaborados con aceite de maíz presenta un contenido en ácido linoleico muy superior al de los alimentados con leche de vaca o de pecho. Dicho aumento se produce a expensas de una disminución en el contenido de ácidos grasos saturados como mirístico, palmitico y esteárico.

Las dietas ricas en grasas, y las compuestas fundamentalmente de ácidos grasos saturados, conllevan un aumento de la concentración plasmática de triacilglicéridos y de colesterol. Por el contrario, el consumo de ácidos grasos insaturados tiende a bajar la colesterolemia. Así, los niños alimentados con derivados de aceite de maíz presentan unos niveles de colesterol disminuidos con respecto a los

alimentados con leche materna, lo cual no se sabe si es beneficioso o perjudicial para el niño.

Es conocida la correlación existente entre altos niveles de triacilglicéridos y colesterol en sangre y el desarrollo de aterosclerosis y enfermedades coronarias. La trascendencia de dicha relación ha hecho prudente la recomendación de que se reduzca la ingesta de grasas al 30-35 por 100 de los requerimientos energéticos totales y que se reemplacen en cierto grado los ácidos grasos saturados por los insaturados.

DIGESTION Y ABSORCION DE LOS LIPIDOS DE LA DIETA

La absorción intestinal de los lípidos ha sido uno de los grandes campos de estudio dentro del metabolismo lipídico y, como tal, ha merecido numerosas investigaciones a lo largo de un dilatado periodo de tiempo, y ha estado sometido a controversias e intenso debate. A partir de las pioneras observaciones anatómicas y funcionales acerca de los vasos linfáticos intestinales, realizadas por Gaspare Aselli a principios del siglo XVII, y de la aportación de Claude Bernard, en 1856, que demostró de forma inequívoca que los lípidos de la dieta llegaban al sistema linfático, la cuestión central en la digestión de éstos quedó circunscrita a cómo los lípidos de la luz intestinal atravesaban la pared del intestino para llegar a la linfa. A comienzos del presente siglo dos hipótesis contrapuestas eran intensamente debatidas. Immanuel Munk, en su *teoría particularada*, sostenía que la mayor parte de los triacilglicéridos de la dieta eran absorbidos intactos en forma de una fina emulsión, y así transportados a través de la mucosa intestinal hacia los vasos linfáticos. Por el contrario, la *teoría lipolítica* de E. F. Pflüger afirmaba que los triacilglicéridos eran hidrolizados totalmente a ácidos grasos y glicerol, y que estos últimos eran los compuestos absorbidos. En 1936, Verzar y McDougall demostraron que la degradación de los triacilglicéridos por acción de la *lipasa pancreática* y su emulsificación con las sales biliares eran procesos esenciales para su absorción. Este último trabajo y las aportaciones matizadas de Frazer, Bollman y otros autores, apoyaron definitivamente la teoría lipolítica de Pflüger.

Aunque debe convenirse que la digestión de los lípidos es un proceso dinámico que ocurre a lo largo de todo el tubo digestivo, es posible diferenciar fases caracterizadas por el lugar anatómico donde se realizan y por las enzimas hidrolíticas que intervienen.

Digestión en el estómago: lipasas lingual y gástrica

Como respuesta a la ingestión oral de grasas, a la masticación y a estímulos nerviosos, un grupo de glándulas serosas localizadas por debajo de las papilas circunvaladas de la lengua segregan a la boca la *lipasa lingual* (también llamada de la saliva).

A pesar de que lipasas linguales de diferentes rumiantes se han venido utilizando de forma popular para la obtención de la cuajada de la leche y la fabricación de quesos, y de que su conocimiento científico fue relativamente temprano, hasta el momento no ha sido posible purificar dicha enzima en homogeneidad. Por tanto, queda por caracterizar con precisión sus propiedades fisicoquímicas y cinéticas, y lo comentado a continuación se refiere a preparaciones más o menos puras de la enzima.

Se sabe que la *lipasa lingual* es una glicoproteína hidrofóbica, poco soluble en

agua, que muestra especificidad para la hidrólisis de los triacilglicéridos. Se trata de una verdadera lipasa y no de una esterasa en general, ya que actúa sobre sustratos en forma de agregados insolubles. La enzima es parcialmente inhibible por sales biliares y muestra un pH óptimo ácido, lo que, junto con su marcada resistencia a la hidrólisis por la *pepsina*, pone de manifiesto la adaptación de la *lipasa lingual* para actuar en el estómago.

Al igual que la *lipasa pancreática* (que se tratará más adelante), la *lipasa lingual* se muestra más activa sobre triacilglicéridos de ácidos grasos de cadena corta que sobre los de cadena larga, ignorándose su trascendencia fisiológica. Presenta especificidad por los enlaces éster primarios de los triacilglicéridos (preferentemente el *sn*-3), mientras que no hidroliza los enlaces en posición *sn*-2, ni los enlaces éster de fosfoglicéridos y de colesterol.

La acción de la *lipasa lingual*, componente mayoritario de la llamada «actividad lipolítica gástrica», determina el comienzo de la digestión de los lípidos de la dieta en el estómago. Las contracciones musculares producen las fuerzas suficientes para la emulsificación de los lípidos en el estómago (condición necesaria para una eficaz acción de la enzima), aunque también parecen participar otros agentes presentes en el propio alimento, como ciertos péptidos, polisacáridos complejos y fosfolípidos. De cualquier modo, la emulsificación que se da en el estómago es más bien grosera y no puede calificarse de verdadera emulsión. La *lipasa lingual* hidroliza los triacilglicéridos de la superficie de estas gotitas de grasa y, como resultado de su acción, se obtienen principalmente diacilglicéridos y ácidos grasos.

Debido a la actividad relativamente baja de la *lipasa lingual*, durante algunos años se consideró poco importante su contribución a la digestión de los lípidos de la dieta. Sin embargo, hay que reconocer a esta enzima una función central en la hidrólisis de algunos de estos lípidos. Esta afirmación tiene su origen en la observación de que los triacilglicéridos de la leche debían ser parcialmente hidrolizados en el estómago para que la acción sobre ellos de la *lipasa pancreática* en el intestino, y su posterior absorción, fueran eficaces. Resulta ilustrativo el hecho de que en los triacilglicéridos de la leche (productos lácteos en general), los ácidos grasos de cadena corta o media se encuentran esterificando principalmente el enlace *sn*-3. Así, la *lipasa lingual* actúa sobre estos triacilglicéridos liberando ácidos grasos de cadena corta o media en el estómago, ácidos grasos que son hidrofílicos y relativamente solubles en medio acuoso, tanto en su estado ionizado como en el no ionizado, de manera que pueden escapar de la superficie de aquellas gotitas grasas y estar en disposición de ser absorbidos. De hecho, se ha demostrado que la mucosa gástrica absorbe pasivamente ácidos grasos de cadena corta o media, los cuales son liberados con posterioridad a la circulación portal. Los ácidos grasos de cadena larga que hayan podido ser liberados en el estómago por acción de la *lipasa lingual* permanecen en el interior de las gotitas grasas y, por tanto, inasequibles para su absorción en el estómago, debido a su carácter altamente hidrofóbico y a las condiciones ácidas del medio.

Por otra parte, en la rata y en rumiantes adultos (especies en que la *lipasa lingual* es la única lipasa preduodenal) se ha observado que la desviación quirúrgica de las secreciones orales mediante fistulas esofágicas, para que no lleguen al estómago, produce un marcado descenso de la hidrólisis intragástrica de los triacilglicéridos. Además, se sabe que los pacientes con deficiencia de *lipasa pancreática* de origen diverso llegan a absorber más del 40 por 100 de los lípidos de la dieta, incluidos los triacilglicéridos.

Todo esto indica que las lipasas no pancreáticas, concretamente la *lingual*, contribuyen de una manera significativa a la digestión de los lípidos, aunque adquieren mayor relevancia en el recién nacido. En esta etapa se presenta una

insuficiencia pancreática fisiológica que es compensada por la acción de la *lipasa lingual*, hasta el punto de que, durante la lactancia, la mitad de los lípidos de la ingesta llegan a ser hidrolizados en el estómago.

Recientemente se ha demostrado la existencia de una *lipasa gástrica* que es segregada por las glándulas gástricas en respuesta a diferentes secretagogos. Esta lipasa muestra características (pH óptimo, especificidad por sustrato e interacción con sales biliares) muy similares a las de la *lingual*, y no se sabe todavía si se trata de dos proteínas distintas o de la misma sintetizada en diferentes sitios. Por otra parte, existen notables diferencias entre las especies respecto a las actividades relativas de una y otra enzima: el conejo y la cobaya carecen de *lipasa lingual*, pero poseen mucha *lipasa gástrica*, al contrario de lo que ocurre en la rata, mientras que los primates presentan las dos. A pesar de que la contribución real de cada enzima a la digestión lipídica en el estómago está aún por cuantificar, en la situación fisiológica normal su acción es ya importante, y es fundamental en las situaciones de insuficiencia pancreática.

Emulsificación y digestión en el intestino: sales biliares y enzimas pancreáticas

El contenido del estómago es vaciado al intestino delgado de una forma regular, controlada tanto por el volumen como por la composición del alimento. Cuando el quimo es forzado a pasar por la pequeña abertura del píloro, las grandes fuerzas en cizalla ejercidas sobre él ayudan a desgarrar las interfases de las gotitas de grasa. Los ácidos grasos de cadena larga no esterificados, presentes en dichas gotitas, se ionizan parcialmente, ionización favorecida por el drástico aumento de pH al pasar del estómago al duodeno, y difunden hacia la superficie, donde interactúan entonces con los fosfolípidos y los péptidos con propiedades anfipáticas procedentes de la hidrólisis de las proteínas del alimento, lo que disminuye la tensión superficial de las gotitas. A su vez, las fuerzas de compresión y estiramiento que se dan en el duodeno aumentan el área de la interfase de dichas gotitas. Todo ello lleva a su ruptura y a la formación de gotitas de grasa cada vez más pequeñas.

Acción emulsionante de las sales y lípidos biliares

La absorción de los primeros ácidos grasos de cadena larga en el duodeno, además de otros factores (pH, ciertos aminoácidos, etc.), desencadena la secreción de *colecistoquinina* por la mucosa intestinal. Esta hormona induce a su vez la secreción de la bilis (por contracción de la vesícula biliar y relajación del esfínter de Oddi) y la del jugo pancreático. Es entonces, a la altura de la ampolla de Vater, cuando aquellas gotitas de grasa se encuentran y mezclan con estas secreciones.

La acción emulsionante de las sales y lípidos biliares y la hidrolítica a cargo de las enzimas pancreáticas ocurren de forma aparentemente simultánea. Los componentes de las micelas de la bilis se integran, por transferencia o por fusión, en las partículas de emulsión (gotitas de grasa), permaneciendo en la superficie las sales biliares y los fosfolípidos, y repartiéndose el colesterol entre la superficie y el núcleo de las partículas. Ello supone una alteración en la relación área/volumen que, junto con la emulsificación mecánica, lleva a la formación de partículas aún más pequeñas (alrededor de 0,5 μm de diámetro) y relativamente estables.

Al encontrarse el jugo pancreático en presencia de esta emulsión y a un pH

cada vez más alto, que lo favorece, las enzimas pancreáticas hidrolizan los componentes tanto superficiales como del núcleo de las partículas de emulsión, a lo que sigue la aparición de una gran diversidad de productos. Estos son más polares que sus predecesores, por lo que migran hacia la interfase de las partículas provocando presiones laterales que acaban formando «brotes» con estructura en bicapa. Estos «brotes» se desprenden de la partícula de emulsión, dando lugar a liposomas unilamelares o a grandes micelas, dependiendo de su riqueza relativa en sales biliares. Tanto los unos como las otras se enriquecen progresivamente de los productos hidrolíticos que se van formando en las anteriores partículas de emulsión por acción de las lipasas pancreáticas, por transferencia desde éstas a aquellas micelas y/o liposomas. Los lípidos así dispersados en presencia de las sales biliares se encuentran entonces en disposición de ser absorbidos por la mucosa intestinal.

Enzimas pancreáticas

La secreción pancreática que vierte al intestino contiene al menos tres actividades enzimáticas distintas, la *lipasa pancreática*, la *fosfolipasa A₂* y la *colecilol esterasa*, y una coenzima, la *colipasa*. Las acciones catalíticas de estas enzimas se resumen en la figura 21.1.

La actividad de la *lipasa pancreática* es cuantitativamente la más importante

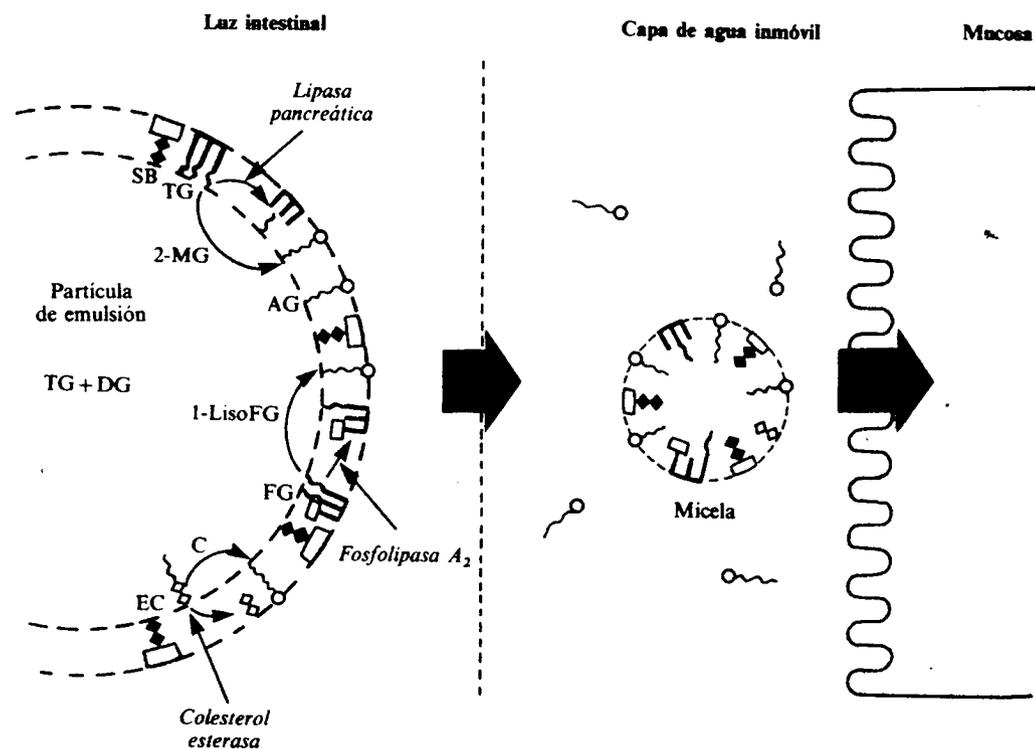


Figura 21.1. Representación esquemática del proceso de hidrólisis de los lípidos en la luz del duodeno a cargo de las enzimas pancreáticas, formación de micelas con las sales biliares y absorción por la mucosa intestinal. TG: triacilglicérido; DG: diacilglicérido; MG: monoacilglicérido; AG: ácido graso; FG: fosfolípidos; EC: éster de colesterol; C: colesterol libre; SB: sal biliar.

de las tres y, de hecho, en el intestino es de 100 a 1.000 veces mayor que la necesaria para la hidrólisis completa de los triacilglicéridos en el intestino delgado superior, tras una ingesta habitual. La actividad de la *fosfolipasa A₂* es bastante menor y la hidrólisis de los fosfolípidos requiere un trayecto en la luz intestinal más dilatado en el tiempo y en el espacio, llegando a ocurrir incluso en el íleo.

Lipasa y colipasa pancreáticas

La *lipasa pancreática* es una de las primeras enzimas reconocida como tal, cuya acción fue descrita por Claude Bernard en 1856. Se trata de un polipéptido de 449 aminoácidos y un peso molecular de 50.000 daltons que hidroliza los enlaces éster en posición *sn*-1 de los triacilglicéridos, dando lugar a monoacilglicéridos y ácidos grasos libres. Al menos *in vitro*, la enzima es capaz de hidrolizar también los enlaces éster de otros tipos de sustratos. Como lipasa, su acción se limita a la hidrólisis de los triacilglicéridos situados en la superficie de las partículas de emulsión, de modo que la velocidad de hidrólisis es función de la superficie en que el sustrato es ofrecido a la enzima. De ahí que la adecuada dispersión del sustrato (emulsión de los lípidos) sea esencial para la acción eficaz de la lipasa pancreática.

En estudios *in vitro* se ha determinado que el pH óptimo de la reacción es alcalino y que la enzima no requiere la presencia de sales biliares para su acción. De hecho, en ausencia de estas sales y de fosfolípidos, la lipasa se liga ávidamente a las interfases triacilglicérido-agua por interacciones hidrofóbicas, mientras que la adición de sales biliares (u otros detergentes) hace que se desprenda la enzima de dicha interfase (probablemente por repulsión electrostática) y se inhiba su acción por separación física de su sustrato.

Estos resultados son paradójicos si se tiene en cuenta la presencia de sales biliares en el medio fisiológico donde actúa la *lipasa pancreática*. Estudios de laboratorio han esclarecido este punto al demostrar que la *colipasa* (proteína pancreática de 96 aminoácidos que se segrega junto con la lipasa) se une a la superficie de las partículas de emulsión de triacilglicéridos recubiertas de sales biliares (similares a las fisiológicas en el intestino delgado) y se enlaza con alta afinidad a la lipasa, de modo que se forma un complejo ternario lipasa-colipasa-sales biliares, que permite restablecer el contacto físico de la lipasa con su sustrato. La traslación de estos resultados a la situación fisiológica es inmediata, y dan pie a suponer que en la luz del intestino delgado la *colipasa* permite y asegura la acción de la lipasa en un medio con una concentración de sales biliares relativamente alta (13-46 mM en la situación postprandial).

Un dato interesante en este mismo sentido es que *lipasa* y *colipasa* son segregadas en proporciones equimoleculares al jugo pancreático (alcanzando una concentración en el duodeno de 1 a 2×10^{-7} M cada una), si bien la *lipasa* es segregada ya en su forma activa mientras que la *colipasa* lo es en forma de procoenzima, que requiere ser parcialmente hidrolizada por la *tripsina pancreática* para adquirir su actividad fisiológica.

La formación del complejo lipasa-colipasa tiene además otras implicaciones: el pH óptimo de la reacción de hidrólisis cambia a 6 (más próximo al fisiológico en la luz intestinal que el obtenido con la enzima purificada). Además, la propia actividad lipásica es más resistente a la inactivación por enzimas proteolíticas en presencia que en ausencia de la coenzima, hecho que tiene indudable trascendencia si se considera la elevada actividad proteolítica presente en la luz intestinal.

Fosfolipasa A₂

La *fosfolipasa pancreática*, al igual que la *colipasa*, se segrega en forma de precursor inactivo (proenzima), que se activa al llegar al duodeno por acción de la *tripsina*, la cual hidroliza un enlace arginina-glicina situado cerca del extremo NH₂-terminal.

La enzima activa cataliza la hidrólisis de los ácidos grasos esterificados en la posición *sn*-2 de diversos fosfoglicéridos y no tiene efecto, por ejemplo, sobre los esfingolípidos. Los productos de su acción son 1-acil-2-lisofosfoglicéridos y ácidos grasos. Tiene un requerimiento absoluto de iones Ca²⁺ que parecen asegurar la fijación y estabilización del complejo enzima-sustrato. Para una hidrólisis efectiva y específica, el sustrato debe presentarse en forma de agregados (liposomas, micelas, emulsión). El tipo de éstos y la presencia simultánea de otros lípidos modifican la velocidad de hidrólisis de los fosfoglicéridos por la *fosfolipasa A₂*. En este sentido se ha descrito que las sales biliares son esenciales para la acción de la enzima, ya que aseguran la adecuada presentación física del sustrato.

Colesterol esterasa

Aunque descrita por primera vez bajo el nombre de *colesterol esterasa*, esta enzima pancreática parece tratarse de una *carboxil-éster hidrolasa* de acción más general. De hecho, se llegó a describir otra *lipasa pancreática* calificada de *no específica* (distinta de la primera), pero hoy se admite que son actividades de una misma enzima. La *colesterol esterasa* se ha llegado a purificar y caracterizar. Se sabe que en la rata se segrega al intestino en forma monomérica inactiva, pero que, en presencia de las sales biliares, se polimeriza (probablemente a forma dimerica) adquiriendo su actividad característica. La enzima cataliza la hidrólisis de los ésteres carboxílicos solubles en agua (por ejemplo, lisolecitina, metilbutirato, tripropionina, etc.) y de los insolubles (colesterol, vitaminas liposolubles e incluso glicéridos de ácidos grasos de cadena larga) cuando están dispersados en micelas de sales biliares, pero muestra poca actividad sobre estos mismos sustratos cuando se presentan en dispersión simple. De todos modos, la enzima muestra su máxima actividad frente a los ésteres de colesterol y de retinol, por lo que se supone que éstos son sus sustratos fisiológicos principales. El pH óptimo de la reacción oscila entre 6,6 y 8,5, pero, como ocurre para el resto de las enzimas lipolíticas, este parámetro viene determinado fundamentalmente por el estado y presentación física del sustrato.

Lipasa estimulada por sales biliares

Se trata de una enzima que se encuentra en la leche humana (también se ha identificado en la de gorilas). No pertenece, por tanto, al grupo de las enzimas pancreáticas propiamente dichas, pero interesa describirla aquí por su significado en la digestión intestinal de los lípidos de la leche durante la lactancia.

Estudios bioquímicos e inmunológicos recientes apuntan a que esta enzima es idéntica a la *colesterol esterasa* (o *lipasa pancreática no específica*). Se supone, por tanto, que su origen es pancreático y que aparece en la leche materna por migración desde el páncreas hasta la glándula mamaria a través de la sangre. La enzima, que se ha purificado, es una glicoproteína que hidroliza enlaces éster de sustratos solubles en agua y de sustratos insolubles, pero dispersados. Su actividad

aumenta en presencia de sales biliares, probablemente porque éstas permiten mejor contacto físico entre la enzima y el sustrato. Además, una característica de esta enzima descubierta en fecha reciente puede esclarecer su significado fisiológico: a diferencia de la *lipasa pancreática*, la *lipasa estimulada por sales biliares* carece de especificidad posicional, es decir, cataliza la hidrólisis tanto de los enlaces *sn*-1 y *sn*-3 como del *sn*-2 de los glicéridos. De hecho, por la acción conjunta de ambas enzimas, los triacilglicéridos, debidamente emulsionados con sales biliares, son hidrolizados hasta glicerol y ácidos grasos.

Es bien sabido que los niños recién nacidos, y en especial los prematuros (en los cuales la concentración intraduodenal de sales biliares y la actividad lipásica son bajas), asimilan de forma más eficaz los lípidos de la leche materna que los de las leches de otras especies de mamíferos o las manufacturadas. Este hecho concuerda con la presencia en la leche materna, y no en otras, de la *lipasa estimulada por sales biliares*.

Hoy día se le atribuye a esta lipasa un papel complementario al de la *lipasa pancreática*, en la medida en que puede hidrolizar hasta glicerol y ácidos grasos libres los monoacilglicéridos, productos de la acción de esta última. En presencia de bajas concentraciones de sales biliares (como es el caso del recién nacido), es difícil que los monoacilglicéridos alcancen la mucosa intestinal y, por tanto, sean absorbidos de forma eficaz, a diferencia de los ácidos grasos libres. Así pues, cabe concluir que la *lipasa estimulada por sales biliares* de la leche humana, actuando junto con la *lipasa pancreática*, garantiza la absorción de los lípidos durante las primeras etapas de la vida extrauterina.

Absorción intestinal

Se ha calculado que una persona sana absorbe más del 98 por 100 de los lípidos que se encuentran en la luz del intestino delgado en un momento dado. Dichos lípidos incluyen los procedentes de la dieta (alrededor de 100 g/día), y los que podemos llamar endógenos (lípidos biliares, los procedentes de secreción de la mucosa y los correspondientes a las células de descamación, que en total son unos 15-40 g/día). Así pues, la asimilación de los lípidos, entendida como la integración de la digestión y la absorción intestinales, es un proceso muy eficaz en situaciones de normalidad fisiológica.

La acción conjunta de las enzimas pancreáticas y de las sales biliares lleva a la formación de liposomas, o micelas, o ambos, con estructura unilamelar, que progresivamente se enriquecen en productos hidrolíticos más polares que sus precursores (fig. 21.1), y que a través de un mecanismo fisicoquímico aún no esclarecido totalmente alcanzan el glucocálix de los enterocitos y son absorbidos por ellos.

La captación por la mucosa intestinal de cualquier soluto presente en la luz del intestino delgado viene determinada por la velocidad de penetración de dicho soluto a través de dos barreras: la membrana del enterocito y una capa de agua inmóvil que recubre los microvilli de la mucosa. Aunque la existencia de esta capa de agua era conocida, no fue hasta los años sesenta cuando se reconoció su importancia en el proceso de absorción.

En realidad, el flujo (J) pasivo de moléculas de soluto desde la luz intestinal hasta el interior del enterocito, responde a la ecuación

$$J = (D/d)(C_1 - C_2) + P(C_2 - C_3)$$

Donde D es el coeficiente de difusión de la molécula a través de la capa de agua; d , el espesor de esta capa; C_1 y C_2 , las concentraciones de soluto en la luz intestinal y en la capa de agua, respectivamente; P , el coeficiente de permeabilidad a través de la membrana apical del enterocito, y C_3 , la concentración de soluto en el interior de la célula.

Para la absorción de solutos polares, altamente solubles en agua y difusibles, la capa de agua inmóvil no representa de hecho una barrera, al contrario de lo que ocurre para los solutos de carácter lipídico. Por otro lado, para los ácidos grasos, la velocidad de absorción viene determinada precisamente por la capa de agua inmóvil, ya que cruzan con facilidad la membrana del enterocito.

En condiciones de reposo intestinal, el grosor de la capa de agua inmóvil se ha cifrado en unos 200 μm , que ha conseguido reducirse experimentalmente por agitación vigorosa del quimo (o quilo). Se supone que en condiciones fisiológicas el grosor de dicha capa es considerablemente menor, al menos en las puntas de los microvilli, favoreciendo la difusión de los productos lipídicos a través de ella.

Los lípidos altamente apolares (triacilglicéridos, ésteres de colesterol) no pueden difundir a través de esta capa de agua inmóvil, de modo que no pueden ser absorbidos como tales por la mucosa. Los productos derivados de su hidrólisis logran difundir a través de ella y más cuando van asociados con sales biliares. Una vez en contacto con la membrana del enterocito, aquellos productos son rápidamente absorbidos, puesto que su permeabilidad es muy alta debido a su carácter lipídico.

Estudios con soluciones micelares de monoacilglicéridos y ácidos grasos libres marcados con isótopos radiactivos han mostrado que ambos compuestos son rápidamente captados por trozos de intestino *in vitro*; el proceso no se afecta por la presencia de inhibidores metabólicos, ni por bajas temperaturas, ni por temperaturas tan altas como las que inactivan las enzimas, por lo que se considera que la captación física de aquellos compuestos por el enterocito es un fenómeno pasivo, independiente de sistemas enzimáticos o energéticos.

La velocidad de absorción de los ácidos grasos depende de la longitud de su cadena (número de átomos de carbono) y de su grado de saturación. Así, los insaturados de cadena larga son absorbidos más eficazmente que los saturados.

Como ya se ha indicado, el flujo de absorción de un determinado lípido es función de su concentración intraenterocítica, que, a su vez, depende no sólo de lo que capta el enterocito desde la luz intestinal, sino también de la capacidad de secreción de estos productos desde el enterocito al medio interno (linfa). De hecho, este último factor puede convertirse en limitante en ciertas situaciones patológicas, por ejemplo, en los pacientes de *abetalipoproteinemia*, los cuales no pueden formar ni segregar quilomicrones debido a su incapacidad para sintetizar apoproteína B (cap. 25). En estos pacientes se produce un acúmulo intraenterocítico de lípidos muy característico y el flujo neto de éstos desde la luz intestinal hacia el enterocito se reduce considerablemente.

En condiciones fisiológicas, la captación de ácidos grasos y monoacilglicéridos es muy eficaz y la capacidad de absorción muy elevada en las distintas especies. La capacidad del intestino delgado para absorber el colesterol varía entre las especies. El perro absorbe aproximadamente el 50 por 100 de colesterol de su dieta, que suele ser rica en este elemento. La rata lo hace en una proporción similar, pero el conejo llega a absorber hasta el 90 por 100, aunque debemos tener en cuenta que la dieta de este lagomorfo es muy pobre en colesterol. Se ha aprovechado experimentalmente esta característica del conejo para lograr con relativa facilidad animales hipercolesterolémicos, alimentándolos con una dieta rica en colesterol. En humanos, la absorción intestinal de colesterol es más limitada, situándose alrede-

dor del 45 por 100 para una ingesta habitual (de 200 hasta 900 mg colesterol/día). Cuando la ingesta es anormalmente alta en colesterol, la eficacia del proceso disminuye (10-20 por 100 para una ingesta de 2.500-3.000 mg colesterol/día). Esto significa que la absorción de colesterol es limitada, lo cual probablemente se deba a una limitación en la capacidad del enterocito para incorporar este colesterol a los quilomicrones en formación.

Respecto a la absorción del colesterol, se sabe también que se ve favorecida cuando la dieta es rica en lípidos en general y que los esteroides vegetales la inhiben, probablemente por competencia de éstos con el colesterol.

Un caso particular de lípidos que tienen también interés nutricional o dietético son los glicéridos de ácidos grasos de cadena media (o *MCT*, del inglés «medium chain triglycerides»). Estos triacilglicéridos son absorbidos como tales por la mucosa intestinal, incluso en ausencia de sales biliares y lipasas pancreáticas. Aparte de sus especiales propiedades de permeabilidad y difusibilidad, otra característica de estos lípidos es que son segregados por el enterocito hacia el torrente sanguíneo directamente (sistema porta), sin necesidad de ser incorporados a lipoproteínas para su secreción. Los *MCT* constituyen, por tanto, un suplemento nutricional, energético, útil en estados de deficiencia de sales biliares, de *lipasa pancreática*, o de ambos, y también en la mencionada abetalipoproteinemia.

Otro de los productos derivados de la hidrólisis de los acilglicéridos, el glicerol, que difunde con facilidad a través de la capa de agua inmóvil, y es captado por el enterocito por difusión facilitada. El proceso es saturable, y es realizado por un transportador específico, distinto del de glucosa-galactosa. La absorción del glicerol ocurre de forma preferente en el íleo, precisamente donde se da una alta actividad glicerolquinásica (requerida para la metabolización del glicerol).

Las sales biliares son absorbidas también de forma muy eficaz, a nivel distal del íleo. Son segregadas a la vena porta para llegar al hígado y de ahí, a través de la bilis, vuelven al intestino. Están sometidas, por tanto, a una recirculación enterohepática. En humanos se ha estimado que el paso de sales biliares a través de esta circulación enterohepática es de 20-30 g/día, cuando el acervo total es solamente 2-4 g. Ello significa que una misma molécula recircula entre el hígado y el intestino unas 10 veces al día. Las cifras de pérdida de sales biliares a través de las heces se sitúan entre 600-800 mg/día.

Metabolismo y transporte de los lípidos en el enterocito

Los progresos en el conocimiento del transporte de los lípidos en el interior del enterocito se ha conseguido en buena manera gracias a la integración de los estudios bioquímicos y morfológicos. Cada uno de los mecanismos bioquímicos a que son sometidos los lípidos en el interior del enterocito ocurre en estructuras celulares específicas, y la concatenación de estos procesos posibilita y determina el trasiego de los lípidos captados desde la luz del intestino hasta su secreción al medio interno (bien directamente al sistema porta, bien a los vasos linfáticos mesentéricos para su posterior salida a la circulación sanguínea).

El enterocito, célula absorptiva intestinal, es una célula prismática que muestra una acentuada polaridad (fig. 21.2). Su membrana apical presenta un espeso plegamiento que constituye el microvilli (microvellosidades), cuya finalidad es aumentar la superficie de absorción. Inmediatamente debajo se hace patente una estrecha región con numerosos microfilamentos que conectan las microvellosidades al citoplasma.

Esta región se denomina *malla terminal* (del inglés «terminal web») y en ella

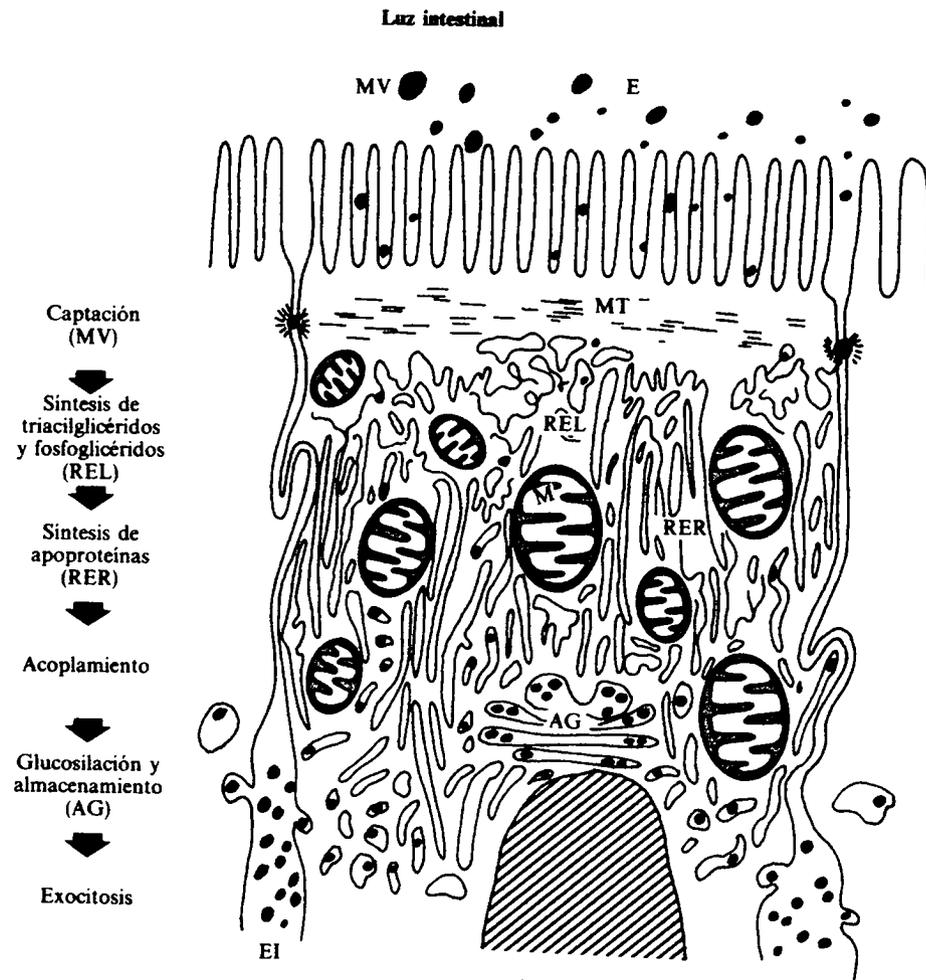


Figura 21.2. Representación esquemática de la región apical de un enterocito activo. E: emulsión lipídica; MV: microvellosidades; MT: malla terminal; REL: retículo endoplasmático liso; RER: retículo endoplasmático rugoso; M: mitocondria; AG: aparato de Golgi; N: núcleo; EI: espacio intersticial (vaso linfático mesentérico). Los puntos negros en el interior del enterocito representan partículas ricas en lípidos en general.

existen pocos orgánulos subcelulares. El citoplasma subyacente se extiende hasta las proximidades del núcleo celular y contiene el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi. Estos son los orgánulos que participan morfológicamente en el transporte de los lípidos. El retículo endoplasmático rugoso —salpicado de ribosomas— aparece al microscopio electrónico como líneas membranosas pareadas cuya situación característica es paralela al eje longitudinal de la célula. Intercaladamente, aparecen mitocondrias y retículo endoplasmático liso, aunque éste es más visible justo debajo de la malla terminal. El aparato de Golgi se sitúa más cerca del núcleo y consiste en agrupaciones paralelas de sáculos aplanados, pequeñas vesículas (en estado de maduración) y grandes vacuolas. El núcleo presenta un aspecto alargado, y el resto del citoplasma (en la región más basal de la célula) parece no participar en el transporte de los lípidos.

Reesterificación en el enterocito

Desde el punto de vista cuantitativo, los lípidos más importantes que llegan al citoplasma del enterocito a través de los microvilli son ácidos grasos libres, monoacilglicéridos y lisofosfoglicéridos. Como norma, todos ellos participan o son sometidos a un proceso de esterificación para la formación de triacilglicéridos, fosfoglicéridos, o de ambos, proceso que tiene lugar en el retículo endoplasmático liso (fig. 21.3).

Las reacciones bioquímicas precisas serán desarrolladas en el capítulo 26, por lo que aquí se tratarán brevemente, mencionando, en todo caso, las particularidades del enterocito. Los ácidos grasos se activan mediante su conversión en los respectivos derivados de la coenzima A (acil-CoA), reacción que es catalizada por el *ácido graso: CoA ligasa* (o *tioquinasa*). Los acil-CoA pueden esterificar entonces el *sn*-glicerol-3-fosfato o la dihidroxiacetona-fosfato para la formación de ácidos fosfatídicos, que finalmente se convertirán en triacilglicéridos o en fosfoglicéridos (fig. 21.3). Se ha observado un comportamiento diferente de los ácidos grasos saturados con respecto a los insaturados en cuanto a su incorporación a los lípidos y se ha sugerido también la incorporación preferente de los ácidos grasos de cadena larga (cap. 26).

El enterocito presenta otra vía alternativa para la síntesis de triacilglicéridos (no para fosfoglicéridos) que, de hecho, es cuantitativamente la más importante. En ella, los acil-CoA esterifican directamente los monoacilglicéridos absorbidos por la célula. La reacción está catalizada por una *monoacilglicerol-aciltransferasa*, que presenta mayor afinidad por los 2-monoacilglicéridos que por los otros.

La formación de fosfoglicéridos (por ejemplo, fosfatidilcolina) se da por reación de la lisofosfatidilcolina absorbida o bien por síntesis *de novo*. El colesterol penetra al interior de la célula en su forma libre y allí es esterificado con ácidos grasos de cadena larga, mediante la acción de una *colesterol esterasa*, aún no perfectamente caracterizada.

Como resultado de la absorción de los lípidos de la dieta y de la actividad del retículo endoplasmático liso, van formándose innumerables vesículas que contienen los lípidos resintetizados (fundamentalmente triacilglicéridos), y que migran desde la región apical hacia la basal. En su tránsito se incorporan a ellas otros lípidos y proteínas (apoproteínas). A nivel del aparato de Golgi, y por participación del mismo, se estructuran adecuadamente todos aquellos componentes, dando lugar a los quilomicrones, cuya formación se trata a continuación.

Formación de quilomicrones

Los *quilomicrones* son lipoproteínas ricas en triacilglicéridos que, por definición, se sintetizan en el intestino a partir de los lípidos de la dieta. Al microscopio electrónico son esféricos, con un diámetro muy variable (750-6.000 Å), el cual parece depender del flujo de triacilglicéridos a través del enterocito, ya que los más grandes se sintetizan simultáneamente al periodo de máxima absorción de lípidos. Están compuestos de triacilglicéridos (86-92 por 100), ésteres de colesterol (0,8-1,4 por 100), colesterol libre (0,8-1,6 por 100), fosfolípidos (6-8 por 100) y proteína (1-2 por 100) (otros componentes minoritarios, aunque no menos importantes, son, por ejemplo, las vitaminas liposolubles y algunos carbohidratos asociados a las proteínas).

Durante periodos de ayuno, el intestino segrega a la linfa lipoproteínas de tamaño menor (200-800 Å), similar al de las lipoproteínas de muy baja densidad

indica la importante contribución del intestino a la síntesis de estas lipoproteínas diferentes de los quilomicrones.

LIPIDOS EN LAS HECES

Si bien la absorción de los lípidos en el intestino delgado es un proceso muy eficaz, algunos de ellos llegan al colon y son excretados con las heces. La mitad aproximadamente proceden de la dieta y el resto son endógenos, es decir, proceden de las células de descamación de la mucosa, de las bacterias intestinales y de remanentes de los lípidos biliares.

No parece haber absorción de lípidos de cadena larga en el colon, pero sí se absorben los llamados ácidos grasos volátiles —acetato, propionato y butirato— que proceden de la fermentación de polisacáridos por la flora intestinal.

Durante su tránsito por el colon los lípidos sufren la acción bacteriana, que incluye: hidrólisis de enlaces éster de glicéridos, fosfoglicéridos, ceras y colesterol; hidroxilación de dobles enlaces de los ácidos grasos, y deshidrogenación, epimerización y desconjugación de las sales biliares.

Los lípidos que aparecen finalmente en las heces son de estructura muy variada y en diferentes estados físicos. Alrededor de un 70 por 100 está constituido por ácidos grasos y el resto son esteroides y algunos fosfolípidos. Los triacilglicéridos suelen estar ausentes, aunque en situaciones patológicas (por ejemplo, insuficiencia pancreática) se excretan en grandes cantidades.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bisgair, C. L., y Glickman, R. M.: «Intestinal synthesis, secretion, and transport of lipoproteins», *Ann. Rev. Physiol.*, 45:625-636, 1983.
- Carey, M. C.; Small, D. M., y Bliss, C. M.: «Lipid digestion and absorption», *Ann. Rev. Physiol.*, 45:651-677, 1983.
- Friedman, H. I., y Nylund, B.: «Intestinal fat digestion, absorption and transport. A review», *Amer. J. Clin. Nutr.*, 33:1108-1139, 1980.
- Hamosh, M.: «Lingual Lipase», *Gastroenterology*, 90:1290-1292, 1986.
- Kane, J. P.: «Apolipoprotein B: Structural and Metabolic heterogeneity», *Ann. Rev. Physiol.*, 45:637-650, 1983.
- Lasserre, M., y Jacotot, B.: «Dietary fats, serum lipoprotein composition, and latent dyslipoproteinemias», en *Latent dyslipoproteinemias and Atherosclerosis*, eds. J. L. de Gennes, J. Polonovski y R. Paoletti, Raven Press, Nueva York, págs. 37-39, 1984.
- Léger, C.: «Données récentes sur la lipase et la colipase pancréatiques», *Diab. Metab.*, 10:52-62, 1984.
- Lindström, M. B.; Sternby, B., y Borgström, B.: «Concerted action of human carboxyl ester lipase and pancreatic lipase during lipid digestion in vitro: importance of the physicochemical state of the substrate», *Biochim. Biophys. Acta*, 959:178-184, 1988.
- Miller, J. P., y Gotto, A. M., Jr.: «The plasma lipoproteins. Their formation and metabolism», en *Comprehensive Biochemistry*, eds. A. Neuberger y L. L. M. van Deenen, vol. 19B, parte II («Protein metabolism»), Elsevier Scientific Publ. Co., Amsterdam, págs. 419-506, 1982.
- Robinson, J. W. L., Dowling, R. H., y Riecken, E. O. (eds.): «Mechanism of intestinal adaptation», MTP Press Limited, Lancaster, Boston, The Hague, 1982.
- Snyder, F.: *Lipid Metabolism in mammals-1*, Plenum Press, Nueva York, 1977.

Formación de grasas: biosíntesis de ácidos grasos y triacilglicéridos

EMILIO HERRERA

Los ácidos grasos se encuentran en todas las células, generalmente esterificados, constituyendo, desde el punto de vista cuantitativo, el principal componente de los lípidos. Son, a su vez, la mejor forma de acumular energía para el organismo, ya que su estructura carbonada está más reducida que los demás componentes de nuestros tejidos: sus átomos de carbono poseen dos átomos de hidrógeno potencialmente oxidables, mientras que, por ejemplo, los carbohidratos tienen sólo uno y la otra valencia del carbono está ocupada por un grupo hidroxilo (fig. 22.1). Esto hace que, por unidad de peso, mientras que de un gramo de carbohidrato se obtienen 4 kilocalorías, de uno de triacilglicérido se obtienen 9,4 kilocalorías. Si tenemos en cuenta que en la estructura de un triacilglicérido, los átomos de carbono correspondientes a sus ácidos grasos constituyen aproximadamente el 95 por 100 de la molécula, resulta que toda esta energía corresponde precisamente a los ácidos grasos.

El paso de vegetales a animales ha supuesto la necesidad de transportar las propias reservas energéticas, por lo que la síntesis de ácidos grasos ha sido un proceso fundamental para la supervivencia. Realmente las grasas (y de ellas, los ácidos grasos) son la única forma en que podemos llevar con nosotros grandes

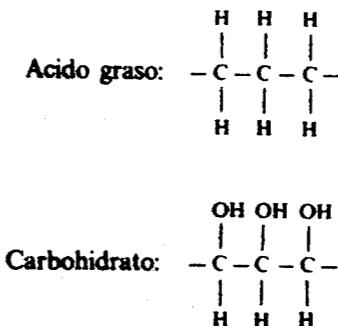


Figura 22.1. La estructura de los ácidos grasos está más reducida que la de los carbohidratos, ya que en los primeros todos los átomos de carbono poseen dos átomos de hidrógeno, mientras que en los carbohidratos hay grupos hidroxilos, por lo que están más oxidados.

depósitos de energía, y llegar a sobrevivir en periodos prolongados en los que no disponemos de calorías nutritivas del exterior.

Otro aspecto a destacar en la importancia cuantitativa de las grasas como depósito de energía para el organismo es que, a diferencia de los carbohidratos de reserva (el glucógeno), requieren muy poco agua celular para su acúmulo, lo que supone que un tejido rico en grasas, como el adiposo, llegue a acumular hasta ocho veces más energía que otro especializado en la reserva de carbohidratos, como el hígado.

Todo ello hace que, por ejemplo, en un hombre de 70 kg de peso, con 10 kg de triacilglicéridos (acumulados en su mayor parte en el tejido adiposo), la reserva energética en forma de ácidos grasos sea equivalente a 93.000 kilocalorías, mientras que la del glucógeno sea solamente 513 kilocalorías.

Estas consideraciones han llevado a creer durante muchos años que los lípidos del organismo constituyen un material estático de reserva energética, que se moviliza únicamente en casos de desequilibrio metabólico, como el ayuno, para volverse a sintetizar en cuanto hay nuevo acceso a sustratos. Sin embargo, ahora sabemos que se encuentran en un estado dinámico, de continuo intercambio de síntesis y degradación. De hecho, parte de los carbohidratos de la dieta se transforman en triacilglicéridos antes de ser utilizados como fuente energética, y los ácidos grasos derivados de esos triacilglicéridos constituyen carburantes preferentes para muchos tejidos.

El metabolismo de los ácidos grasos presenta, sin embargo, el importante problema de su irreversibilidad en la vía catabólica (fig. 22.2). A diferencia de los carbohidratos y las proteínas, que pueden interconvertirse, la síntesis de ácidos grasos constituye una vía sin retorno para los mamíferos. Nosotros no podemos sintetizar carbohidratos o aminoácidos a partir de ácidos grasos, de tal forma que una vez éstos han sido sintetizados y acumulados, la única vía posible para utilizarlos es su degradación irreversible hasta CO_2 y agua.

BIOSINTESIS DE ACIDOS GRASOS SATURADOS (LIPOGENESIS) Y SU REGULACION

Cuando se descubrió la vía de la oxidación de los ácidos grasos, se supuso que su síntesis se llevaría a cabo por un proceso inverso. Sin embargo, en 1958 Gibson,

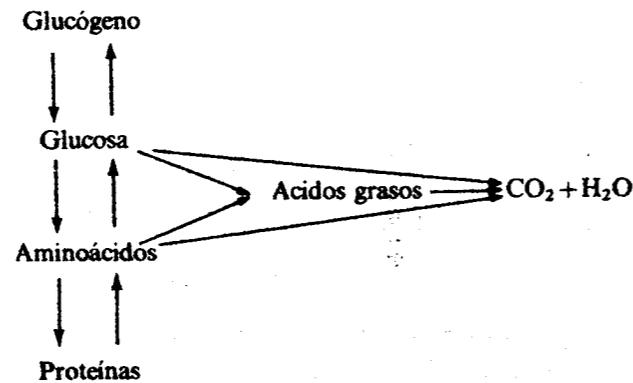
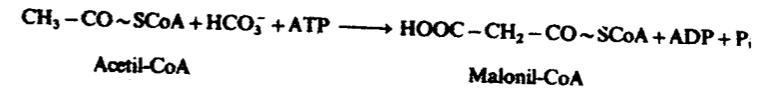


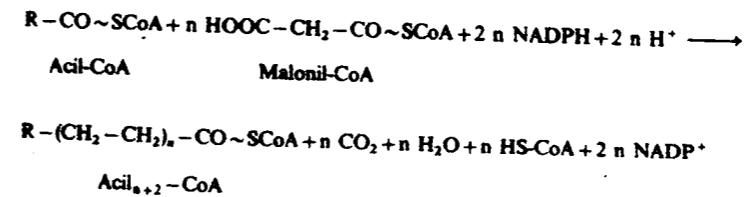
Figura 22.2. Mientras que carbohidratos y proteínas pueden intercambiarse a través de sus constituyentes elementales, glucosa y aminoácidos, y llegar a sintetizar ácidos grasos, el metabolismo de éstos es irreversible. Los ácidos grasos pueden ser oxidados a CO_2 y agua, pero sus átomos de carbono no pueden ser utilizados para la síntesis de glucosa o aminoácidos.

Titchener y Wakil, demostraron que la síntesis de ácidos grasos requería ATP y CO_2 , los cuales no eran productos finales de su oxidación. Ahora sabemos también que, mientras la β -oxidación de los ácidos grasos es mitocondrial, la biosíntesis es extramitocondrial, por lo que ambos procesos se encuentran incluso físicamente separados en la célula.

La biosíntesis de los ácidos grasos (denominada genéricamente *lipogénesis*) se realiza en dos etapas. En la primera, una molécula de acetil-CoA es carboxilada para formar malonil-CoA, en una reacción dependiente de la energía liberada en la hidrólisis de ATP, y catalizada por la *acetil-CoA carboxilasa*:



En la segunda etapa, dos carbonos derivados del malonil-CoA se añaden de forma sucesiva a moléculas de acil-CoA, de las cuales la primera es el propio acetil-CoA. El proceso requiere de NADPH como coenzima reductora, y está catalizado todo él por un complejo multienzimático denominado *ácido graso sintasa*. El bicarbonato incorporado en la primera etapa se libera de nuevo en forma de CO_2 , por lo que todos los átomos de carbono del ácido graso que se forma proceden del acetil-CoA:



En el hígado, el producto final del proceso es el ácido graso libre ($\text{R} - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2)_n - \text{COOH}$) y no el derivado acil-CoA, que es, sin embargo, el obtenido en levaduras.

Paso de acetil-CoA a través de la membrana mitocondrial y procedencia del NADPH para la lipogénesis

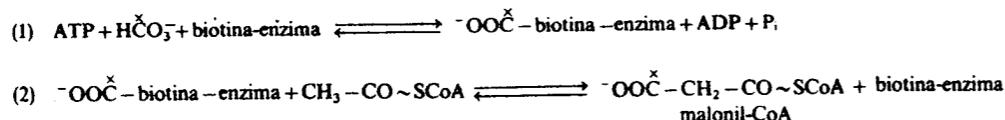
La principal fuente de acetil-CoA para la lipogénesis se encuentra en el interior de las mitocondrias, ya que es aquí donde se sintetiza a partir del piruvato procedente de la glucólisis, en la reacción catalizada por la *piruvato deshidrogenasa* (cap. 16), o a partir de algunos aminoácidos (cap. 30). También se forma acetil-CoA dentro de las mitocondrias como producto final de la oxidación de ácidos grasos (cap. 23), pero cuando ésta es activa, la lipogénesis se encuentra inhibida, y viceversa. Por ello, normalmente las moléculas de acetil-CoA derivadas de los ácidos grasos no se utilizan para su síntesis.

La membrana mitocondrial es impermeable al acetil-CoA, por lo que la salida de los radicales acetato de la mitocondria se realiza por vías alternativas, que permiten la disponibilidad del acetil-CoA formado intramitocondrialmente para la lipogénesis en el citoplasma. Una de estas vías es la formación de acetil-carnitina, a partir de acetil-CoA, que sí atraviesa la membrana mitocondrial interna, por medio de la reacción catalizada por la *carnitina acetil-CoA transferasa*:

conjunto, el NADPH formado a partir de la glucosa en la vía de las pentosas (fig. 22.3, paso 2), se une al derivado de la transhidrogenación del NADH procedente de la glucólisis (fig. 22.3, paso 1). A su vez, en ésta se forma el piruvato, que es posteriormente oxidado a acetil-CoA (fig. 22.3, paso 5) y/o carboxilado a oxaloacetato (fig. 22.3, paso 6). En el acoplamiento del acetil-CoA y el oxaloacetato se forma citrato por acción de la *citrato sintasa* (fig. 22.3, paso 7). La salida de éste al citoplasma permite la disponibilidad de acetil-CoA para la lipogénesis, así como la del oxaloacetato (fig. 22.3, paso 8) que se requiere para la indicada transhidrogenación del NADH al NADP⁺. Esta salida del citrato de la mitocondria supone un «escape» del ciclo del ácido cítrico, que no implica un perjuicio energético para la célula, ya que cuando la lipogénesis está aumentada, la célula se encuentra en «descanso energético», en el que sus demandas energéticas están siendo satisfechas por otros procesos metabólicos (incluida la propia glucólisis). Al mismo tiempo, en los tejidos en que la lipogénesis es más activa (tejido adiposo e hígado), las demandas para oxidar sustratos a través del ciclo del ácido cítrico no son elevadas, como, sin embargo, ocurre en músculo, en el que la lipogénesis es más limitada.

Acetil-CoA carboxilasa

La primera reacción de la lipogénesis está catalizada por la *acetil-CoA carboxilasa*, enzima que contiene biotina, y cataliza la carboxilación del acetil-CoA, formando malonil-CoA. La reacción ocurre en dos etapas sucesivas, la primera de las cuales es dependiente de ATP:



Existen dos formas de *acetil-CoA carboxilasa*: una activa, constituida por un agregado molecular que llega a pesos moleculares muy elevados (de 4 a 8 × 10⁶ daltons), asociado a 20 moléculas de biotina, y una forma inactiva, constituida por los protómeros derivados de la disociación del agregado, con pesos moleculares de 4-5 × 10⁵ daltons, que contienen una molécula de biotina cada uno.

La formación del agregado enzimático y, por tanto, la activación de la *acetil-CoA carboxilasa* es facilitada por la presencia de citrato, y en menor grado por el isocitrato. El primero actúa como un efector alostérico positivo de la enzima, cambiando la conformación de la proteína en la región del grupo prostético (biotina) y facilitando la polimerización de los protómeros inactivos a filamentos activos. La K_m para esta activación es alta (2-6 mM), y muy superior a las concentraciones de citrato presentes en el citoplasma celular, lo que indica que la enzima no llega a activarse totalmente.

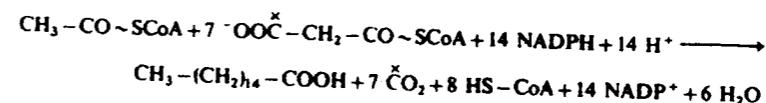
La *acetil-CoA carboxilasa* es también controlada, aunque de forma negativa, por un producto final de la lipogénesis, el palmitil-CoA. A diferencia de otras inhibiciones producidas por los acil-CoA sobre determinadas enzimas debidas a sus características detergentes, la inhibición de la *acetil-CoA carboxilasa* por el palmitil-CoA es específica, y compite con la activación producida por el citrato, con una K_i de alrededor de 1 mM, que se encuentra dentro del rango fisiológico.

Recientemente se ha descrito también que la *acetil-CoA carboxilasa* es controlada por mecanismos de fosforilación y desfosforilación, dependientes de proteína

quinasa y fosfatasa, respectivamente. La fosforilación de la enzima causa su despolimerización y, por tanto, su inactivación. Dicha fosforilación es facilitada por un aumento en los niveles de AMPc, mientras que es impedida por concentraciones altas de citrato. Posiblemente es a través de variaciones en los niveles de AMPc, y sus consecuentes cambios en el grado de fosforilación de la enzima, como las hormonas modulan la actividad de la *acetil-CoA carboxilasa*. La enzima es activada por la insulina e inhibida por el glucagón, aunque el mecanismo por el que la insulina ejerce este efecto no está claro, ya que facilita la fosforilación de esta enzima (véase pág. 603).

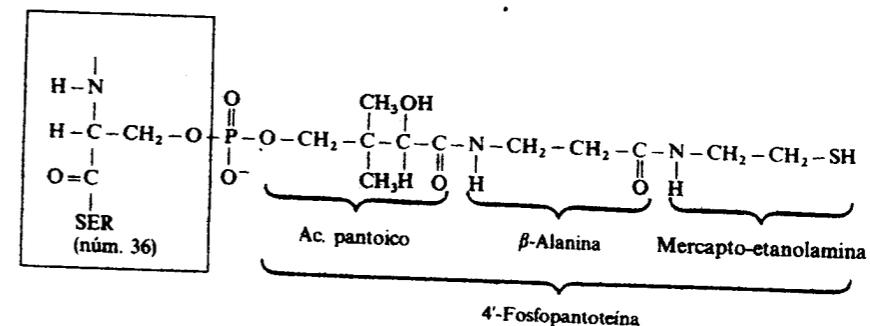
Acido graso sintasa

La síntesis de ácidos grasos a partir de malonil-CoA puede resumirse de la siguiente forma:



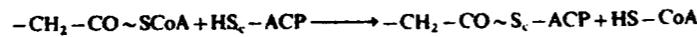
El proceso está catalizado por siete enzimas acopladas, que constituyen un agregado multienzimático, denominado *ácido graso sintasa*. Mientras que las reacciones que cataliza son comunes en todos los organismos, la organización de la *ácido graso sintasa* difiere de unos a otros. La que se encuentra en la fracción soluble del citoplasma de células eucarióticas constituye el *tipo I*, y es la principal responsable de la síntesis *de novo* de ácidos grasos en los tejidos animales.

Goldman y Vagelos descubrieron que el producto de la primera reacción de condensación en la síntesis de ácidos grasos en *E. coli* se encontraba ligado por un éster tiol a una proteína, que se denomina *ACP* (del inglés *acyl carrier protein*, *proteína transportadora de grupos acilo*). Esta proteína ha sido purificada, y su estructura primaria completamente caracterizada. Está formada por 77 aminoácidos, con un peso molecular de 9.500 daltons. En el aminoácido número 36 (serina) de su cadena posee un grupo prostético, la 4'-fosfopantoteína, que es igual al que se presenta en la molécula de la coenzima A (cap. 8):



En levaduras, aves y mamíferos, la proteína ACP forma parte integral del agregado multienzimático de la *ácido graso sintasa*. Se cree que en el proceso de la síntesis de ácidos grasos, los grupos acilos de los ácidos grasos son transportados de una enzima a otra del agregado, como si se tratara de una cadena de fabricación industrial en serie, unidos a la ACP mediante un enlace tioéster formado entre el grupo -SH de dicha proteína y el carboxilo del ácido graso que se va formando.

El esquema de la síntesis de un ácido graso se representa en la figura 22.4, el cual es una versión actualizada del modelo ya propuesto por Lynen en 1967 para el funcionamiento de la *ácido graso sintasa*. El desglose de las reacciones correspondientes aparece en la figura 22.5. El proceso se inicia con la unión del acetilo de un acetil-CoA «iniciador» al grupo -SH de una de las dos moléculas de ACP de la *ácido graso sintasa*. A dicho grupo -SH se le ha denominado central, aunque su localización real en el agregado multienzimático no ha sido aún establecida. Este paso es catalizado por la *acetil-CoA transacilasa* (o *acetil transferasa*) (fig. 22.5, reacción 1), la cual liga el radical acetilo a un grupo hidroxilo del aminoácido serina o treonina de su cadena peptídica, y lo transfiere al grupo -SH central (-S_cH) de la ACP en la *ácido graso sintasa*:



A continuación, y mediante un mecanismo similar de unión al hidroxilo de serina o treonina, el radical malonilo del malonil-CoA (formado, a su vez, a partir del acetil-CoA sustrato, por acción de la *acetil-CoA carboxilasa*) es también transferido a un grupo -SH de la *ácido graso sintasa*. Este paso es catalizado por la *malonil-CoA ACP transacilasa* (o *malonil transferasa*) (fig. 22.5, reacción 2) y en él queda formada la unión malonil-ACP, precisamente en el grupo -SH central:

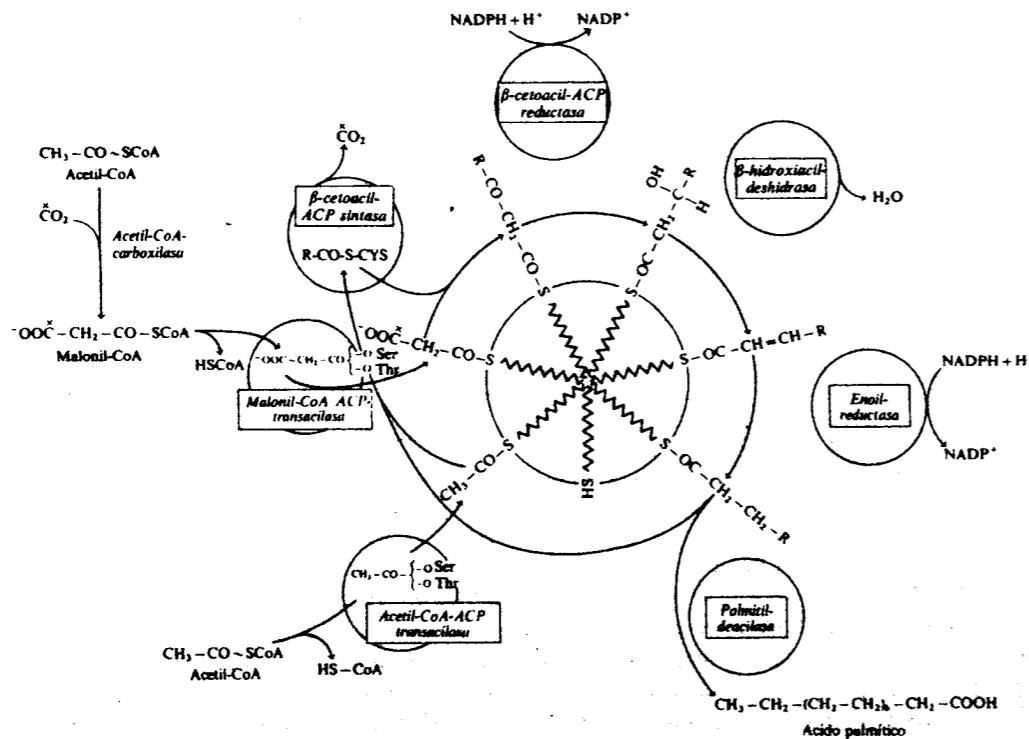
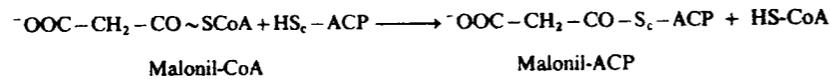


Figura 22.4. Esquema de la biosíntesis de ácidos grasos, basado en el modelo de la *ácido graso sintasa* propuesto por Lynen. Véase texto.

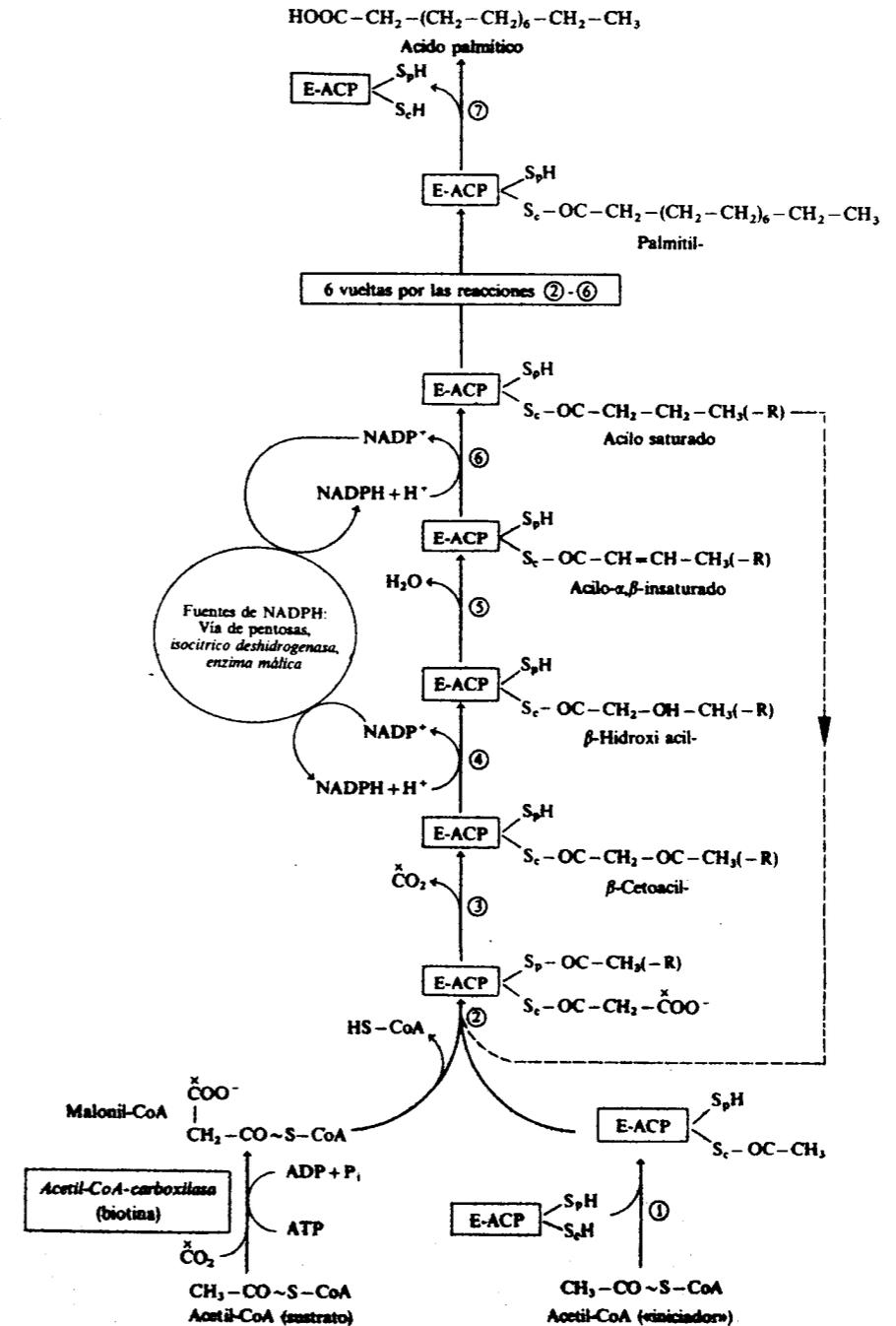
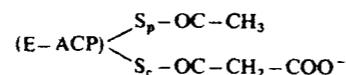


Figura 22.5. Desglose de las reacciones de la biosíntesis del ácido palmítico. Véase texto para identificación de las reacciones correspondientes.

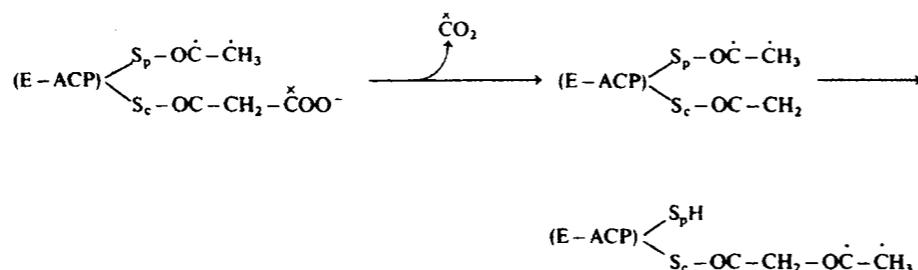


Representa a la molécula ACP unida al agregado multienzimático (E), con los grupos SH periférico (-S_pH) y central (-S_cH).

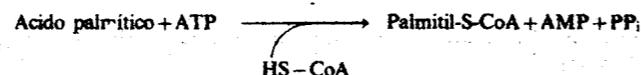
Para ello, el acetilo procedente del acetil-CoA iniciador ha tenido que dejar libre dicho grupo -SH central, saltando al -SH periférico (-S_pH) mediante su transferencia a un residuo cisteína de la siguiente enzima del agregado multienzimático, la *β-cetoacil-ACP sintasa* (o *enzima condensante*) (fig. 22.5, reacción 3). En este momento, y antes de que la *β-cetoacil-ACP-sintasa* realice su función catalítica, ambos radicales, el acetilo y malonilo, han quedado unidos a las dos subunidades de la *ácido graso sintasa* a través de los grupos -SH (central y periférico) correspondientes a sus respectivas moléculas de ACP:



En esta disposición, la *β-cetoacil-ACP sintasa* cataliza la descarboxilación del radical malonilo y la transferencia del acetilo al grupo metileno libre, dando lugar a la formación de un radical *β-cetoacilo*, unido al -SH central de la *ácido graso sintasa*. Esta descarboxilación tiene su equilibrio desplazado a la derecha y, además de permitir que la reacción se realice completamente, sirve para desplazar todas las reacciones de la síntesis de ácidos grasos en este sentido.



El *β-cetoacilo* es reducido por una *β-cetoacil-ACP reductasa* con intervención de NADPH (fig. 22.5, reacción 4), y el *β-hidroxiacil-ACP* formado es deshidratado por la *β-hidroxiacil deshidrasa* (fig. 22.5, reacción 5), dando lugar a un radical *α, β-insaturado*. El doble enlace formado es reducido por la acción catalítica de la *enoil reductasa* (o *α, β-insaturado-acil reductasa*), que también utiliza el NADPH como coenzima (fig. 22.5, reacción 6). El acilo saturado que se forma salta al SH periférico de la *ácido graso sintasa* a través de un residuo cisteína de la *β-cetoacil sintasa*, para así dejar libre el -SH central, que recibirá una nueva molécula de malonato. De esta forma, los dos grupos -SH de la enzima vuelven a estar ocupados por sus respectivos radicales, y se repite toda la secuencia de reacciones de condensación, reducción, deshidratación y reducción. En cada vuelta de este ciclo se van añadiendo dos nuevos átomos de carbono en la cadena del radical acilo que se va formando. Al cabo de seis vueltas, cuando se ha llegado a formar un radical acilo de 16 átomos de carbono (el correspondiente al ácido palmítico), éste se libera por la acción de la séptima enzima del agregado multienzimático, denominada *palmitil deacilasa* (o *tioesterasa*) (fig. 22.5, reacción 7). Así pues, el ácido palmítico constituye el producto final de la lipogénesis, pero su concentración intracelular es normalmente baja, ya que es fácilmente activado a palmitil-CoA por acción de una *tioquinasa* dependiente de ATP:



El palmitil-CoA formado es utilizado para su posterior desaturación y/o elongación, en la síntesis de ácidos grasos insaturados y/o de cadena más larga, o para su esterificación, en la síntesis de acilglicéridos o de ésteres de colesterol.

Recientemente se han descubierto diversos aspectos de la estructura de la *ácido graso sintasa* que ponen de manifiesto que, aunque de forma global la síntesis de los ácidos grasos se desarrolla de la forma antes indicada, el proceso molecular es aún más complejo.

En levaduras, la *ácido graso sintasa* está constituida por seis grupos de dos subunidades no idénticas, la *α* y la *β*, de 213.000 y 203.000 daltons de peso molecular, respectivamente. Por ello, la fórmula global de este complejo se representa como *α₆β₆*. Las subunidades *α* contienen las *β-cetoacil sintasa* y *reductasa* y la 4'-fosfopantoteína, mientras que las *β* poseen las *acetil* y *malonil-transacilasas*, la *β-hidroxiacil deshidrasa*, la *enoil reductasa* y la *palmitil transferasa tioesterasa I* (o *deacilasa*). Funcionalmente este complejo parece estar organizado en forma de placas (cadenas *α*) y arcos (cadenas *β*), como se indica en la figura 22.6. Esta configuración funcional permite explicar la existencia de una yuxtaposición entre los grupos tiólicos de la pantoteína y residuos de cisteína, los cuales participan de forma alternativa en la unión de los radicales acilos que se van formando.

En el caso de la *ácido graso sintasa* de hígado, la molécula está formada por dos subunidades idénticas de 250.000 daltons de peso molecular. El grupo de Wakil ha logrado identificar recientemente la localización de los siete sitios catalíticos y de la proteína transportadora de grupos acilo (ACP). Existen tres dominios para cada subunidad de la enzima. El dominio I contiene el terminal -NH₂, la *β-cetoacil sintasa* y las *acetil* y *malonil-transacilasas*. El dominio II contiene las *β-cetoacil* y *enoil-reductasas*, y probablemente la *deshidrasa* y la ACP. El dominio III contiene la actividad *tioesterasa* y el terminal carboxílico (-COOH) de la molécula. En la figura 22.7 se muestra un esquema funcional de estas dos subunidades, orientadas entre sí de cabeza a cola. De esta forma, la unidad funcional de la *ácido graso sintasa* de hígado consiste en el dominio I de una de las subunidades y los dominios II y III de la otra, y ello explica la necesidad de las dos subunidades idénticas, conteniendo todos los sitios catalíticos para constituir el complejo activo.

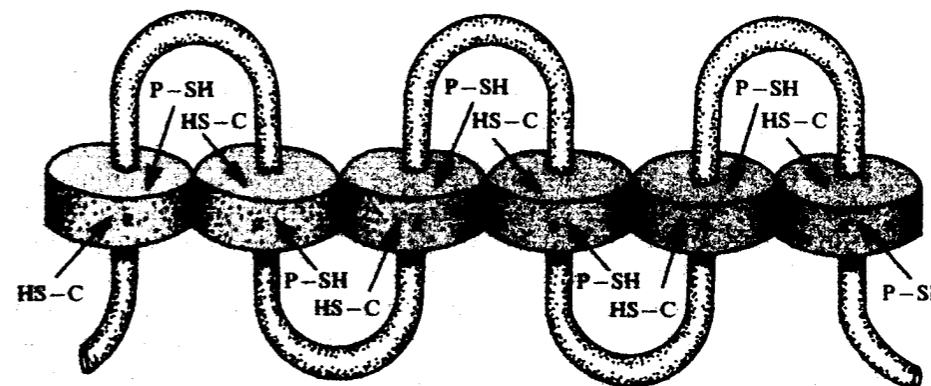


Figura 22.6. Representación esquemática de la relación entre estructura y función en la *ácido graso sintasa* de levaduras, según Stoops y Wakil (Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 77, 4544, 1980). P-SH: grupo sulfhidrilo de la 4'-fosfopantoteína; C-SH: grupo sulfhidrilo de cisteína.

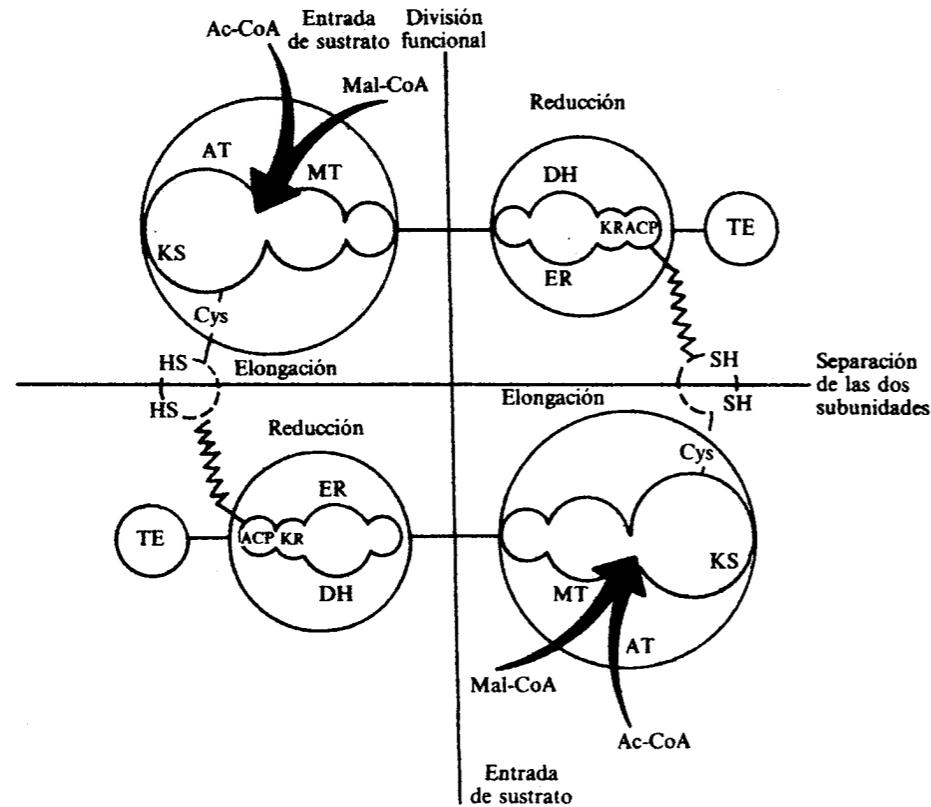


Figura 22.7. Representación esquemática de la relación funcional entre las dos subunidades de una molécula de *ácido graso sintasa* de hígado de mamífero, orientadas de cabeza a cola, según Tsukamoto y col. (*J. Biol. Chem.*, 258, 15312, 1983). En el proceso se van sintetizando dos moléculas de ácido palmítico (división funcional). AT: *acetil-CoA ACP-transacilasa*; MT: *malonil-CoA ACP-transacilasa*; KS: β -*cetoacil-ACP sintasa*; KR: β -*cetoacil-ACP reductasa*; DH: *deshidrasa*; ER: *enoil reductasa*; TE, *tioesterasa (palmitil deacilasa)*, y ACP: proteína transportadora de grupos acilo. Las líneas zigzagueantes representan los grupos prostéticos de 4'-fosfopantoteína de las moléculas de ACP.

No se sabe con exactitud si hay un control a corto plazo de la *ácido graso sintasa*. Se ha propuesto que los monosacáridos fosforilados, y en particular la fructosa-1,6-bisfosfato, actúan como activadores alostéricos del agregado multienzimático; a su vez, se ha sugerido también que el aporte o la eliminación de radicales del cofactor 4'-fosfopantoteína podrían constituir otro sistema reversible de control. Sin embargo, el principal control de la *ácido graso sintasa* tiene lugar a largo plazo, mediante cambios en las velocidades de su síntesis o de su degradación. Una dieta rica en carbohidratos o dieta libre de grasas estimulan la síntesis de la enzima, mientras que una dieta rica en grasas o el ayuno producen el efecto opuesto.

Regulación de la biosíntesis de los ácidos grasos

De las dos enzimas que participan en la biosíntesis de los ácidos grasos, se ha propuesto que la *acetil-CoA carboxilasa* constituye la enzima limitante del proce-

so, ya que su actividad es inferior a la de la *ácido graso sintasa*, además de ser una enzima más regulable a corto plazo y catalizar la primera reacción de toda la vía. Es lógico pensar, por tanto, que el primer control de la biosíntesis de los ácidos grasos se realiza en la disponibilidad del sustrato para la *acetil-CoA carboxilasa*, el acetil-CoA.

La principal fuente del acetil-CoA utilizado en la lipogénesis es el piruvato derivado de la glucólisis, aunque también puede derivar del metabolismo de ciertos aminoácidos (fig. 22.8). Este acetil-CoA se forma dentro de las mitocondrias, y sale al citoplasma en forma de citrato, el cual, además de aportar acetil-CoA, activa alostéricamente a la *acetil-CoA carboxilasa* y forma oxaloacetato, que sirve para generar NADPH a partir del NADH derivado de la glucólisis. Como se observa en la figura 22.8, todos estos procesos son facilitados por el metabolismo de la glucosa, la cual aporta también NADPH a través de la vía de las pentosas. Un factor limitante de la lipogénesis es el acúmulo intracelular de sus productos finales, y en particular de los acil-CoA de cadena larga, ya que inhiben el proceso por un mecanismo feedback, al actuar sobre la *acetil-CoA carboxilasa*. Este acúmulo es también evitado cuando hay un metabolismo activo de la glucosa, ya que se forma glicerol-3-fosfato, que es cosustrato con los acil-CoA en la síntesis de los acilglicéridos (fig. 22.8).

Todo lo anterior sirve para documentar el importante papel que ejerce la glucosa como activador de la lipogénesis; sus efectos se producen a corto plazo, sin necesidad de que tengan que ocurrir cambios en la síntesis o degradación de las enzimas correspondientes.

Otro mecanismo de regulación de la *acetil-CoA carboxilasa* lo constituye un sistema de fosforilación y desfosforilación, controlado por una *proteína quinasa dependiente de AMPc* y de una *fosfatasa*. Tanto factores hormonales, que incrementan la actividad de la enzima, tales como la insulina, como los que la disminuyen, catecolaminas y glucagón, estimulan la fosforilación de la *acetil-CoA carboxilasa*. Ello hace pensar que el control por fosforilación de esta enzima se ejerza no sólo por el número de grupos fosfato que se incorporan a ella, sino por el lugar de la molécula en que tiene lugar esta fosforilación. Conviene señalar también aquí que éste es uno de los pocos ejemplos en que la insulina estimula la actividad de una enzima incrementando su fosforilación, ya que normalmente esta hormona actúa sobre otros sistemas enzimáticos facilitando su desfosforilación (véase cap. 42).

El control a largo plazo de la biosíntesis de los ácidos grasos se realiza como consecuencia de cambios en la concentración de las enzimas, directa o indirectamente, relacionadas con la vía. Esos cambios tienen lugar con variaciones en la dieta o en la situación endocrina del individuo. Así, el ayuno, una dieta rica en grasas o la diabetes, inhiben la lipogénesis al disminuir las actividades *acetil-CoA carboxilasa* y *ácido graso sintasa*, las enzimas del metabolismo de la glucosa (glucólisis y vía de pentosas), la *ATP-citrato liasa* y la *enzima málica*, mientras que la realimentación, una dieta rica en carbohidratos o la insulina ejercen los efectos opuestos.

MODIFICACION DE LA CADENA DE LOS ACIDOS GRASOS

Si dependiéramos de la lipogénesis como única fuente endógena de ácidos grasos, los lípidos de nuestro organismo contendrían solamente ácido palmítico y los ácidos grasos de la dieta. Ello supondría que el número y cantidad de ácidos grasos esenciales nutricionales tendrían que ser enormes. Esto no ocurre gracias a

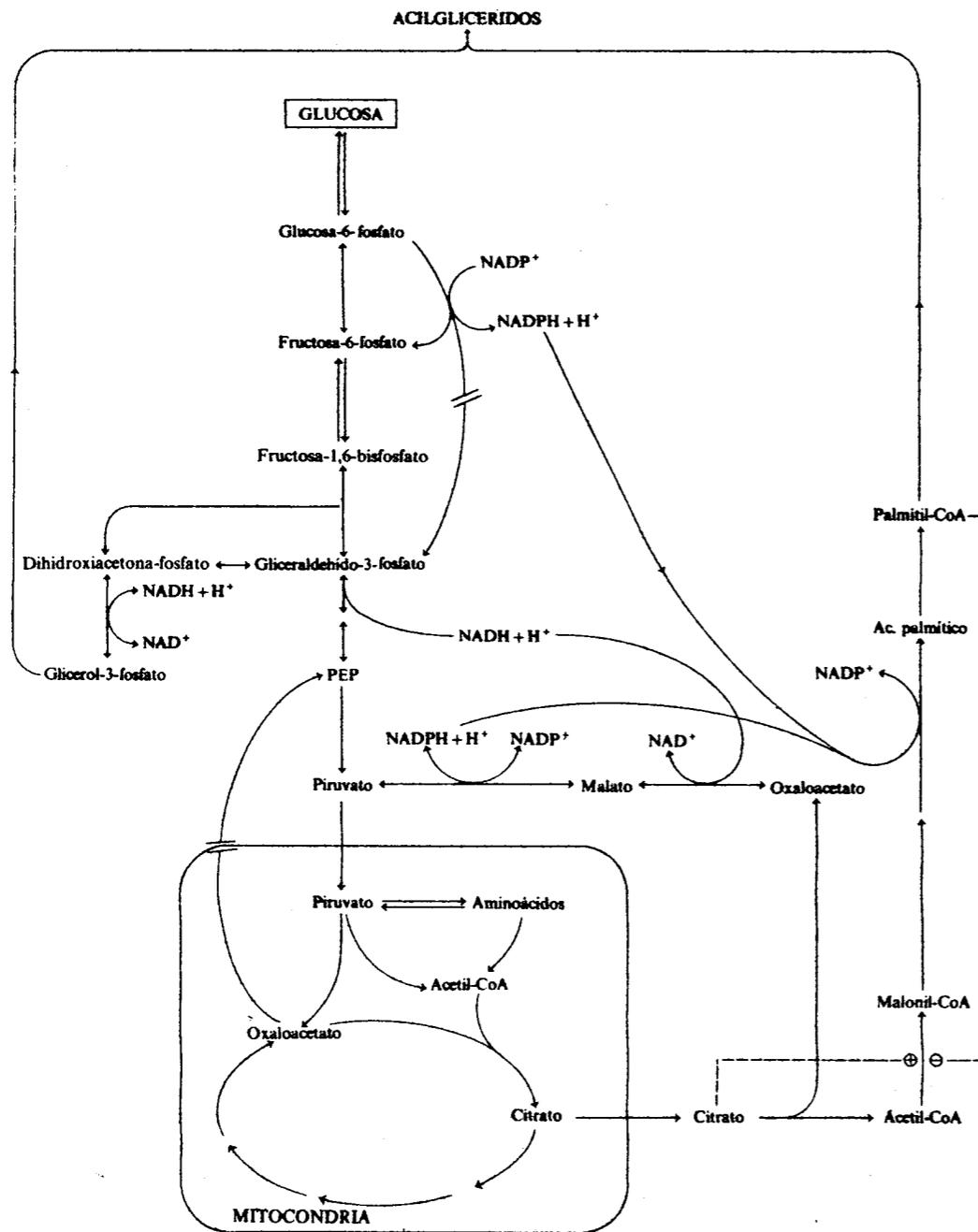


Figura 22.8. Interacción entre el metabolismo de la glucosa y de los acilglicéridos, y control de la lipogénesis por la disponibilidad de sustrato (acetil-CoA), coenzima reducida (NADPH) y efectores alostéricos (citrateo y palmitil-CoA). PEP: fosfoenolpiruvato.

que podemos modificar la cadena de ácidos grasos (tanto de síntesis endógena como de la dieta), aumentando su número de carbonos (elongación) e introduciendo dobles enlaces (desaturación). La modificación más frecuente es la transformación de ácido palmítico en ácido oleico (18:1; Δ^9), que es el ácido graso más abundante en la grasa animal. También es común la formación del ácido palmito-

leico (16:1; Δ^9) a partir del mismo sustrato. Otros ácidos grasos presentes en los depósitos grasos son el ácido linoleico (18:2; $\Delta^9, 12$) y el linolénico (18:3; $\Delta^9, 12, 15$), que proceden de la dieta y son sintetizados originariamente en vegetales. A partir de ellos, nosotros fabricamos ácidos grasos poliénoicos de 20, 22 y hasta 24 átomos de carbono, mediante el proceso de elongación.

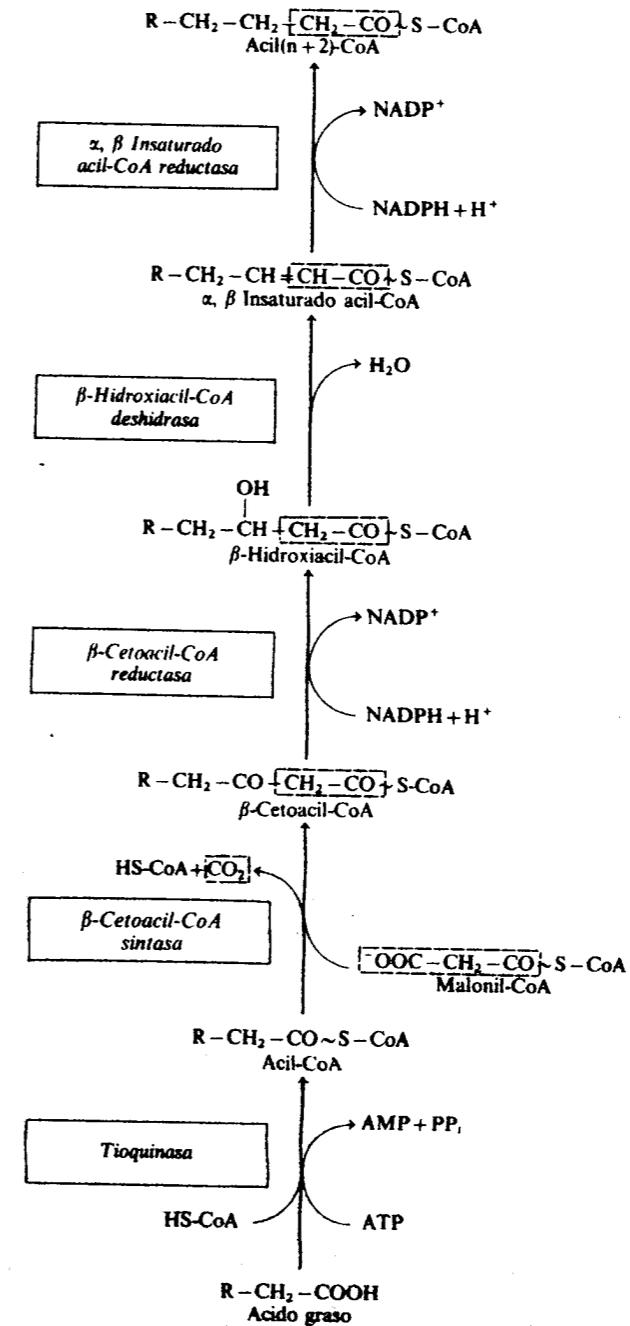


Figura 22.9. Elongación de un ácido graso en el retículo endoplasmático.

Elongación de la cadena

Sistema en el retículo endoplasmático

El retículo endoplasmático parece ser el lugar de la célula donde tiene lugar con más frecuencia la elongación de los ácidos grasos. Estos han de ser convertidos en sus acil-CoA correspondientes, y su cadena es elongada de dos en dos átomos de carbono, derivados de una o más moléculas de malonil-CoA (fig. 22.9). La secuencia de reacciones es similar a la de la *ácido graso sintasa* y, de igual forma, utiliza NADPH como coenzima reductora. Por este procedimiento pueden aumentar de tamaño tanto ácidos grasos saturados como insaturados, pero el sistema funciona mejor para los insaturados. Por ello, en el caso de los ácidos grasos saturados es difícil elongar por encima de 18 carbonos la cadena, siendo el ácido esteárico el principal producto saturado (18:0); sin embargo, en los insaturados se llega hasta la formación de ácidos grasos de 24 carbonos.

La elongación de los ácidos grasos es inhibida durante el ayuno, posiblemente como consecuencia secundaria de la disminución que produce en la lipogénesis.

Sistema mitocondrial

El sistema de elongación en las mitocondrias se diferencia del existente en el retículo endoplasmático en que es el acetil-CoA, y no el malonil-CoA, la fuente de los dos átomos de carbono. Las enzimas son probablemente las mismas que participan en la β -oxidación de los ácidos grasos (cap. 23), a excepción de la transformación del α, β -insaturado acil-CoA en su forma saturada, que requiere de NADPH y es catalizada por la α, β -insaturado acil-CoA reductasa (fig. 22.10). Este proceso es cuantitativamente menos importante que la elongación en el retículo endoplasmático, y tiene lugar sólo cuando el potencial reductor intramitocondrial es alto, como ocurre en situaciones de anoxia o cuando en el hígado se oxidan grandes cantidades de etanol.

Desaturación y otras modificaciones de la cadena de los ácidos grasos

La formación de dobles enlaces en la cadena de los ácidos grasos ocurre tanto en plantas como en animales, aunque en estos últimos se realiza con mayores limitaciones. El proceso está catalizado por sistemas enzimáticos denominados *desaturasas*, las cuales funcionan como *oxidases* y utilizan NADH (o NADPH), citocromo b_5 y oxígeno molecular, y actúan sobre los derivados acil-CoA del correspondiente ácido graso:

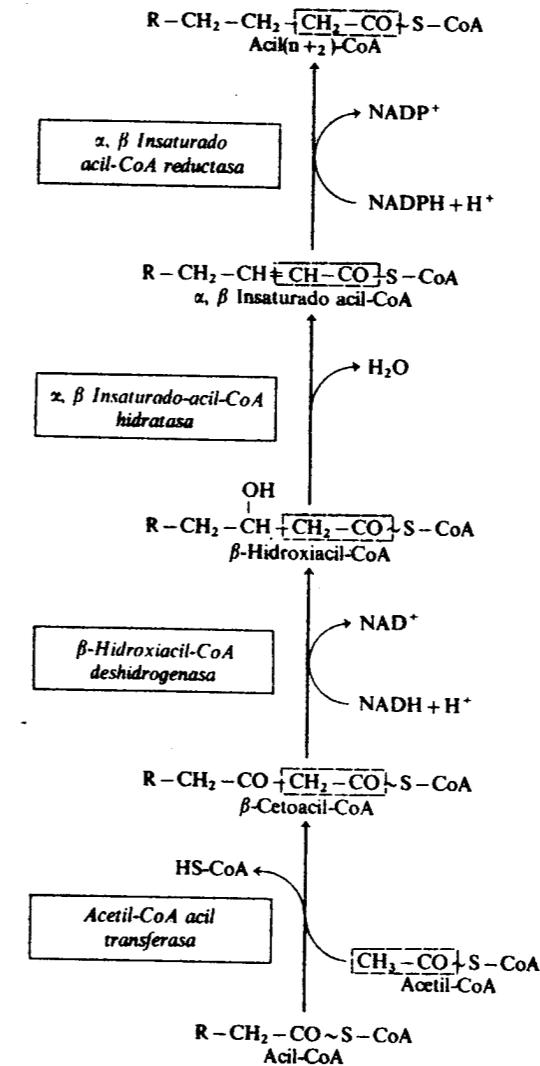
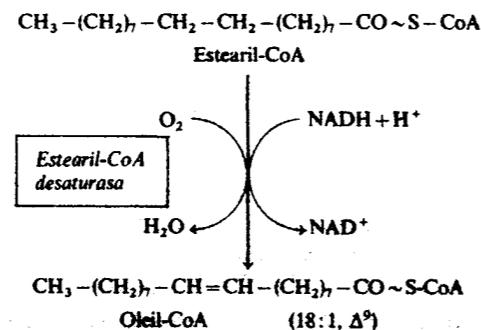
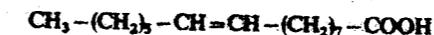


Figura 22.10. Elongación de un ácido graso en el interior de las mitocondrias.

Los animales disponemos de *desaturasas* capaces de introducir un doble enlace en las posiciones 5 y 6 (Δ^5 y Δ^6), además de la 9 (Δ^9), de los ácidos grasos saturados, contando a partir del terminal carboxílico. Sin embargo, no podemos introducir dobles enlaces en posiciones posteriores al carbono 9, cosa que sí realizan las plantas, que cuentan con *desaturasas* para Δ^{12} y Δ^{15} , además de Δ^9 . En todos los casos conviene destacar que los dobles enlaces de los ácidos grasos naturales presentes en mamíferos poseen siempre la configuración *cis*.

La especificidad de la acción catalítica de la *desaturasa* obliga a determinados condicionamientos dietéticos. Así, el ácido palmítico es el sustrato más corto sobre el que actúa la Δ^9 *desaturasa* de origen animal, dando lugar a la formación de ácido palmítoleico (Δ^9):



Esto supone que hay siete átomos de carbono detrás del doble enlace. Nosotros podemos elongar el ácido palmítico introduciendo átomos de carbono en el extremo terminal, pero aunque esta elongación se combine con la desaturación, siempre tendremos siete carbonos detrás del último doble enlace. Ello implica que cualquier ácido graso de nuestro organismo que tenga menos de siete átomos de carbono por detrás del último doble enlace, ha de proceder de la dieta de origen vegetal. Esto hace que los ácidos linoleico (18:2; $\Delta^{9,12}$) y linolénico (18:3; $\Delta^{9,12,15}$) sean esenciales, y su deficiencia en la dieta produzca manifestaciones patológicas. Animales experimentales sometidos a dietas pobres en ácidos grasos esenciales presentan retraso en el crecimiento, dermatitis, disminuida capacidad reproductora, baja resistencia a las situaciones de estrés y problemas en sus sistemas de transporte de lípidos en sangre. En el hombre también aparecen situaciones de deficiencia en estos ácidos grasos esenciales (en niños alimentados con dietas artificiales pobres en grasa, en pacientes mantenidos durante tiempos prolongados con nutrición intravenosa, etc.), que se manifiestan en problemas cutáneos.

De todas formas, las limitaciones que tiene el hombre para modificar la cadena de los ácidos grasos no impiden ciertas transformaciones de interés. Así, el ácido linoleico de la dieta puede ser convertido en ácido araquidónico (sustrato en la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, cap. 27), mediante la combinación de desaturación y elongación (fig. 22.11). Los lípidos de membrana requieren ácidos

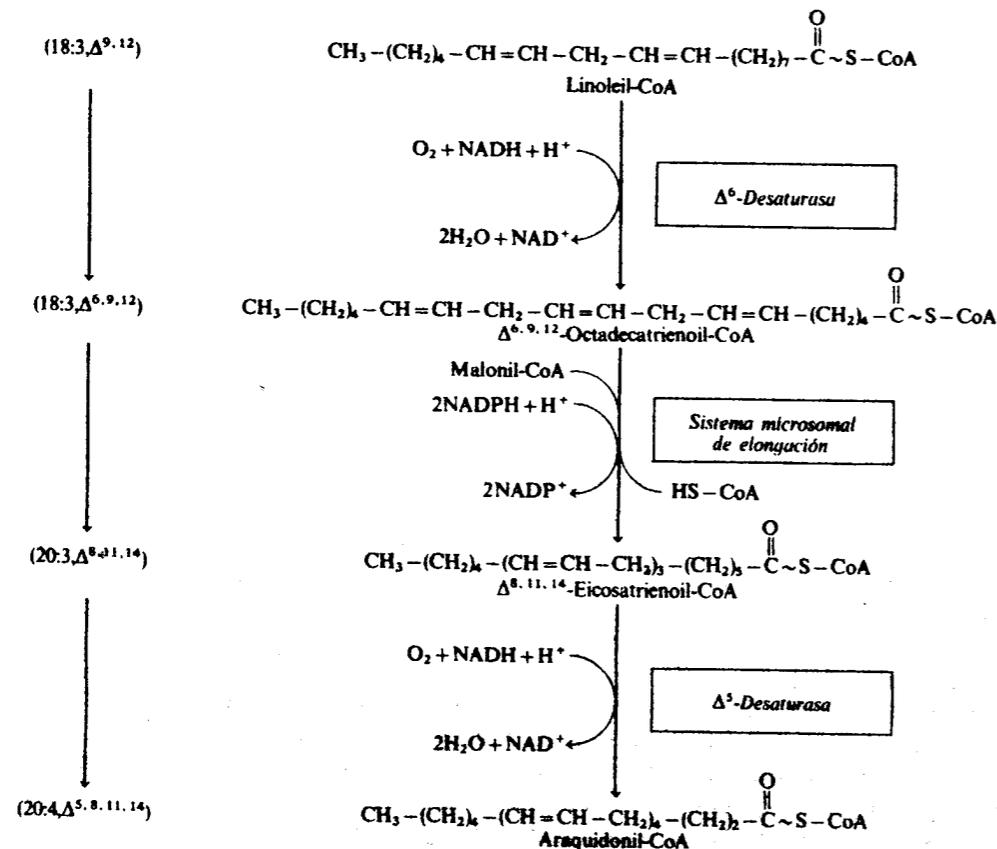


Figura 22.11. Transformación del linoil-CoA en araquidoniil-CoA, mediante la combinación de sistemas de desaturación y elongación, en el hombre.

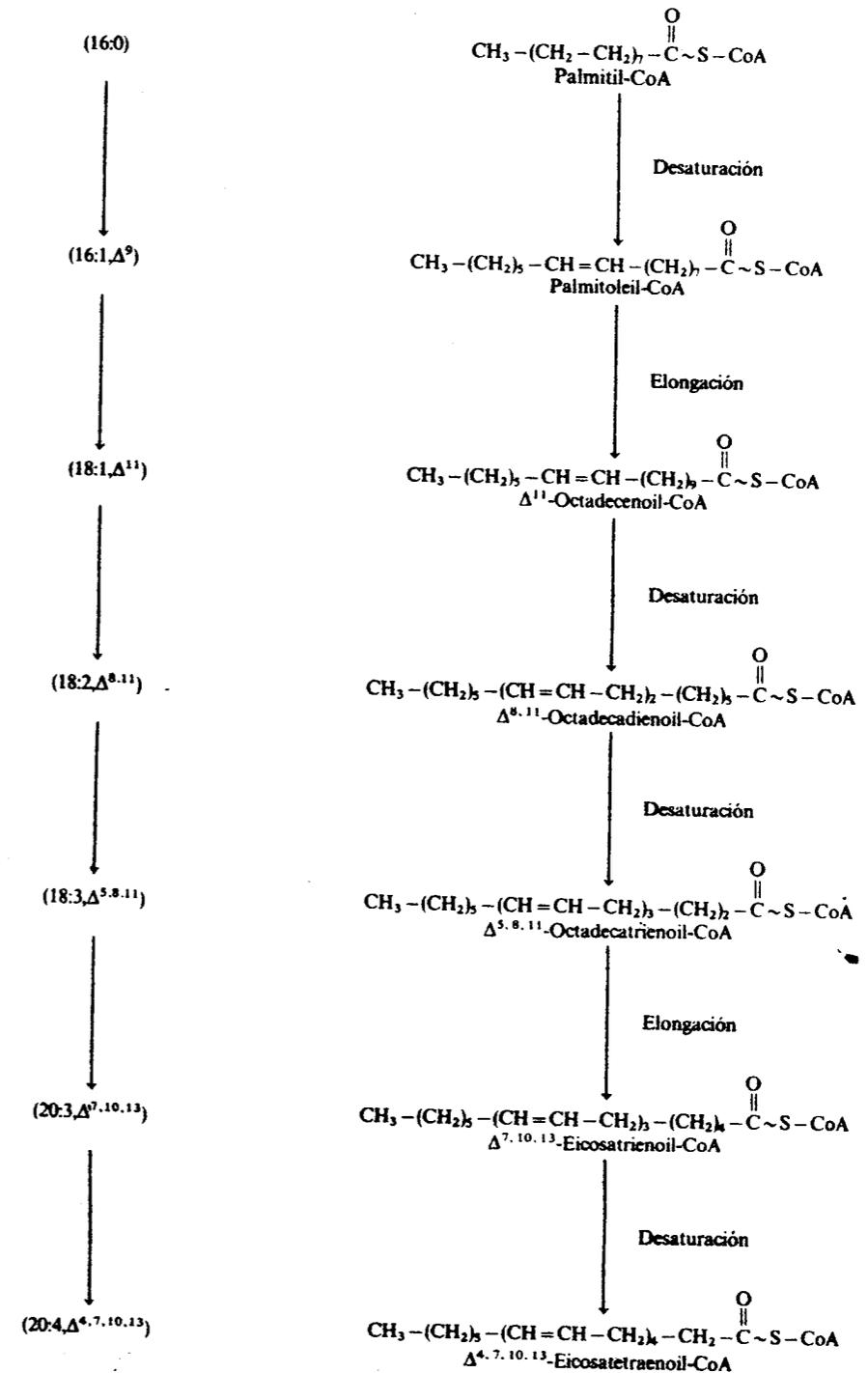


Figura 22.12. Formación de ácidos grasos con colas de 7 ó 9 carbonos detrás del último doble enlace, a partir del palmitil-CoA, en el hombre.

grasos poliinsaturados con cadena larga, de hasta 20 carbonos. Cuando en la dieta hay deficiencia de ácido linoleico como precursor de estos ácidos grasos, nuestro organismo llega a sintetizar, a partir del producto de la lipogénesis, el ácido

palmitico, ácidos grasos de esas características, con colas de 7 ó 9 carbonos detrás del último doble enlace (fig. 22.12).

El organismo necesita, con fines estructurales o funcionales, pequeñas cantidades de ácidos grasos con características distintas a las antes comentadas, que sintetiza en órganos específicos mediante pequeñas modificaciones del proceso catalizado por la *ácido graso sintasa*. Como ejemplo, destaquemos la formación de ácidos grasos con cadena más corta que la del ácido palmitico en las glándulas mamarias, o la síntesis de ácidos grasos de cadena ramificada en determinadas glándulas endocrinas.

Para constituir la estructura de algunos lípidos de la mielina del sistema nervioso se requieren ácidos grasos hidroxilados en el C₂. La hidroxilación se realiza por la acción catalítica de sistemas enzimáticos denominados *oxidases de función mixta*, que requieren de oxígeno molecular y NADH o NADPH.

La formación de ácidos grasos de cadena corta en las glándulas mamarias ha sido estudiada en ratas, conejos y rumiantes, pero también parece tener lugar en el hombre. La misma *ácido graso sintasa* que forma ácido palmitico sintetiza ácidos grasos con cadena más corta. Esto tiene lugar mediante la hidrólisis del tioéster formado por el ácido que aún no ha alcanzado los 16 carbonos, unidos a la proteína ACP de dicho agregado multienzimático, por acción de una *tioesterasa* del citoplasma, cuya actividad es controlada por hormonas.

Los ácidos grasos de cadena ramificada que existen en tejidos animales son normalmente derivados metilados de ácidos grasos saturados, los cuales se sintetizan también por acción de la *ácido graso sintasa*. La ramificación se forma cuando se utiliza el metil-malonil-CoA, en vez del malonil-CoA, como sustrato (fig. 22.13). El proceso tiene lugar en muchos tejidos, aunque a una velocidad más lenta que la síntesis del palmitato. Esta velocidad depende de las disponibilidades relativas de malonil-CoA y metil-malonil-CoA, habiéndose observado que en algunas situaciones patológicas, como la deficiencia en vitamina B₁₂, aumenta la concentración del segundo, produciéndose una síntesis excesiva de ácidos grasos ramificados.

FORMACIÓN DE TRIACILGLICERIDOS

Los acilglícéridos más abundantes del organismo humano son los triacilglícéridos, cuya biosíntesis tiene lugar prácticamente en todos los tejidos, aunque el

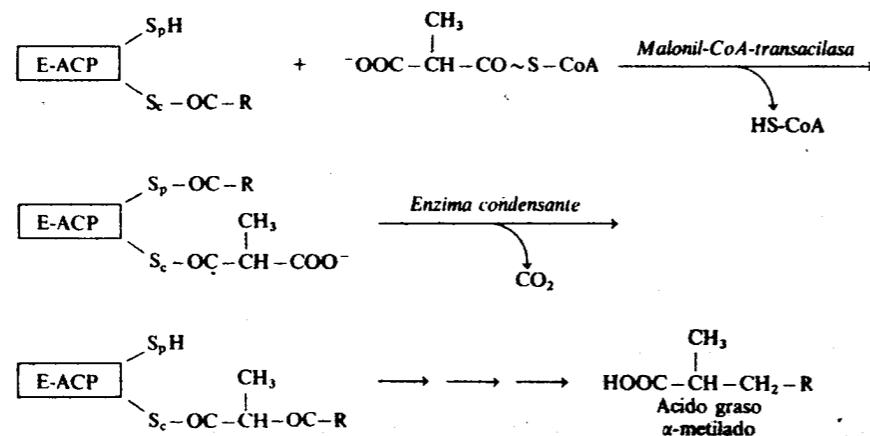
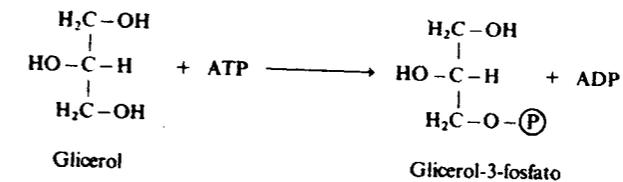


Figura 22.13. Formación de ácidos grasos α-metilados mediante la incorporación de metilmalonil-CoA como sustrato de la *ácido graso sintasa*.

hígado y el tejido adiposo la llevan a cabo con mayor eficacia. Los triacilglícéridos sintetizados en hígado son utilizados, en su mayor parte, para la formación de lipoproteínas que salen a la circulación, aunque también los productos de su metabolismo son utilizados para otras funciones hepáticas. Los triacilglícéridos sintetizados en tejido adiposo se unen a los de procedencia exógena (de las lipoproteínas circulantes) para ser acumulados como reserva energética del organismo. Este acúmulo es relativamente corto, ya que en condiciones normales, en el tejido adiposo hay una continua síntesis y movilización (lipólisis) de los triacilglícéridos.

Los ácidos grasos que se utilizan para la síntesis de los triacilglícéridos proceden de los lípidos de la dieta o de su biosíntesis en el propio organismo. Esta no tiene necesariamente que ocurrir en el mismo lugar donde se lleva a cabo la de los triacilglícéridos, ya que los ácidos grasos son fácilmente transportados de unos tejidos a otros, incorporados a las lipoproteínas o en forma de ácidos grasos libres. En cualquier caso, los ácidos grasos han de ser activados a acil-CoA para poder participar en la síntesis de los acilglícéridos, y esta activación sí tiene lugar en el mismo sitio donde se realiza dicha síntesis.

El otro sustrato principal en la formación de acilglícéridos es el glicerol-3-fosfato. Puede formarse como una derivación del metabolismo de la glucosa, mediante la reducción de la dihidroxiacetona-fosfato por la *glicerol-3-fosfato deshidrogenasa*, tanto a partir de glucosa (glucólisis, principalmente) como de sustratos gluconeogénicos (aminoácidos, piruvato, lactato) (fig. 22.6). El glicerol-3-fosfato también se forma en la fosforilación directa del glicerol a partir de ATP, por acción de la *glicerolquinasa*:



Esta enzima es especialmente activa en hígado, pero también se encuentra en cantidades considerables en riñón, intestino, tejido adiposo marrón y glándula mamaria durante la lactancia. Debido a problemas metodológicos, no se había logrado encontrar actividad *glicerolquinasa* en el tejido adiposo blanco. Esto ha hecho que se haya considerado clásicamente que este tejido no utiliza el glicerol como sustrato para la síntesis de los acilglícéridos, por lo que para ello dependería de glucosa como única fuente de glicerol-3-fosfato. Ahora sabemos que no es así, y que en tejido adiposo también hay actividad de *glicerolquinasa*. La cantidad de la enzima se encuentra aumentada en el tejido adiposo de los individuos obesos, considerándose que esto contribuye eficazmente a su mayor acúmulo de grasas.

Biosíntesis de triacilglícéridos

En la primera etapa de la biosíntesis de triacilglícéridos, un ácido graso es activado a acil-CoA por acción de la *tioquinasa*, a expensas de ATP y coenzima-A (como ejemplo de esta reacción puede considerarse la transformación de ácido palmitico en palmitil-CoA, por una *tioquinasa*, pág. 600). El grupo acilo del acil-CoA se esterifica con el hidróxilo del C₁ del glicerol-3-fosfato. En el proceso se forma el 1-acilglicerol-3-fosfato (o lisofosfatidato), y puede llevarse a

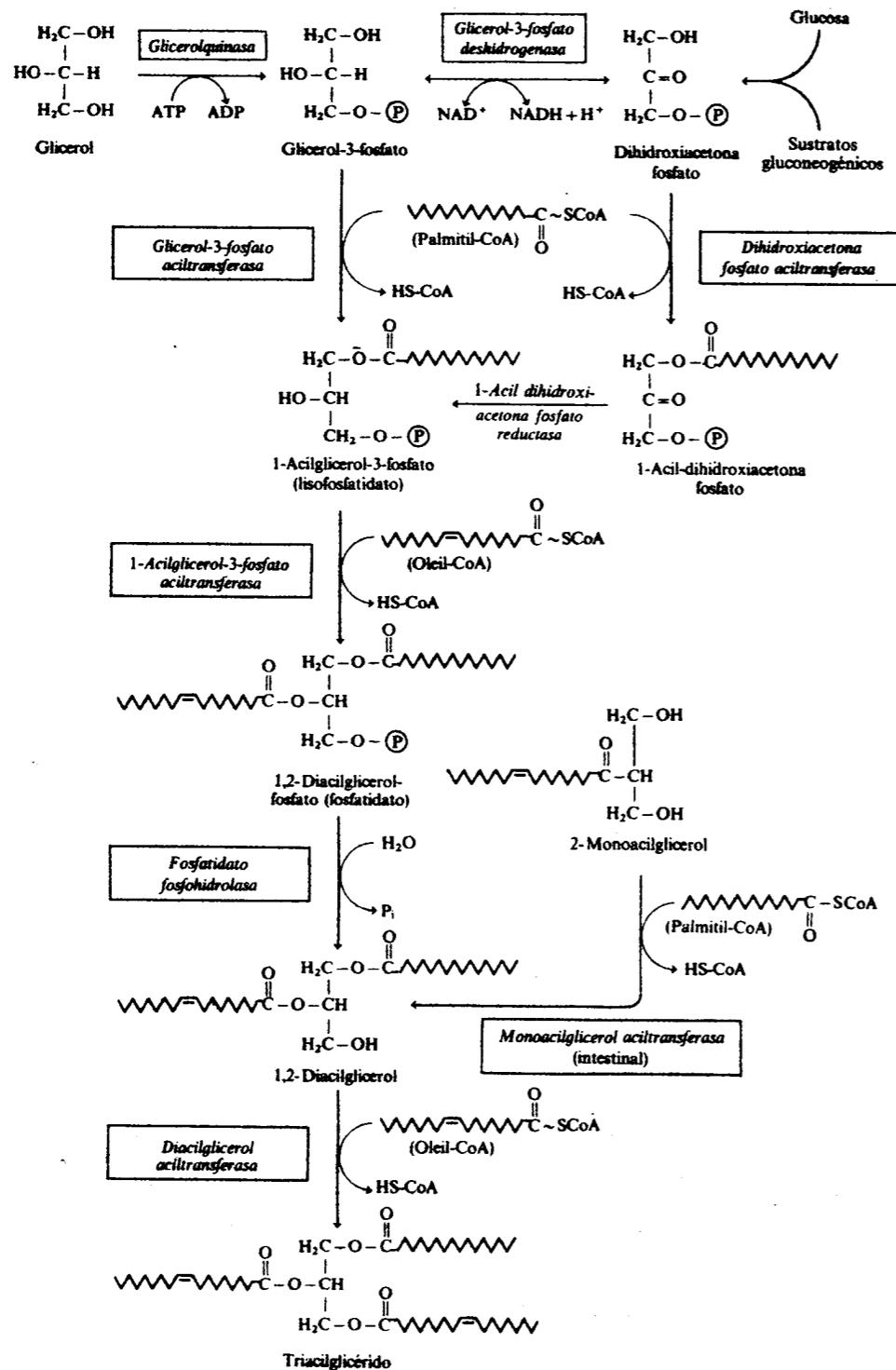


Figura 22.14. Biosíntesis de los triacilglicéridos. (La utilización de palmitil-CoA y oleil-CoA en el esquema constituye únicamente un ejemplo de la participación de derivados acil-CoA de ácidos grasos saturados e insaturados, respectivamente.)

cabo por dos caminos diferentes. En uno de ellos, el grupo acilo es transferido a la molécula de dihidroxiacetona-fosfato antes de que ésta se haya reducido para formar el glicerol-3-fosfato. En el otro, la transferencia se realiza directamente sobre el glicerol-3-fosfato, formado precisamente en la reducción previa de la dihidroxiacetona-fosfato o de la fosforilación directa del glicerol por la *glicerolquinasa* (fig. 22.14). Las enzimas que catalizan estas transferencias de grupos acilos en la formación del lisofosfatidato se denominan *dihidroxiacetona fosfato-aciltransferasa* o *glicerol-3-fosfato-aciltransferasa*, según el residuo que utilicen, y en ambos casos esterifican preferentemente radicales de ácidos grasos saturados. Esto explica que sea el radical palmitoilo el que aparece más comúnmente en la posición 1 de los acilglicéridos.

En la segunda etapa, un residuo de ácido graso insaturado procedente del acil-CoA correspondiente es transferido al hidroxilo en posición 2 del 1-acilglicerol-3-fosfato por una *1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa* (o *lisofosfatidato-aciltransferasa*), formándose el 1,2-diacilglicerol-3-fosfato (o fosfatidato). En escasas ocasiones (por ejemplo, en las glándulas mamarias del hombre), esta segunda transferencia se realiza con el palmitil-CoA, debido a la presencia de una proteína que se asocia a la aciltransferasa y modifica su especificidad.

El fosfatidato es transformado por acción de una *fosfatasa* (*fosfatidato fosfodirolasa*) en un 1,2-diacilglicerol. Esta misma molécula se llega a formar en la mucosa intestinal a partir de 1 monoacilglicerol, por la presencia en ella de una *monoacilglicerol aciltransferasa* (véase cap. 21). Finalmente, una *diacilgliceroltransferasa* transfiere otro residuo de ácido graso al 1,2-diacilglicerol, formando la molécula de triacilglicérido. Esta última transferencia tiene lugar indistintamente con residuos de ácidos grasos saturados o insaturados.

El resultado de todo el proceso es la formación de triacilglicéridos con una composición heterogénea de ácidos grasos. La naturaleza de éstos no es un reflejo directo de las actividades de sus respectivas síntesis endógenas, ya que en muchos casos son de procedencia de la dieta, sin modificación de la cadena. Esto hace que la composición de la dieta determine parcialmente la naturaleza de nuestros acúmulos grasos.

Las enzimas que participan en la síntesis de los triacilglicéridos se localizan tanto en el retículo endoplasmático como en las mitocondrias, y no está bien definido en cuál de estos compartimentos se lleva a cabo más eficazmente todo el proceso.

TEXTOS DE CONSULTA

- Angel, A.; Hollenberg, C. H., y Roncari, D. A. K.: *The adipocyte and obesity: cellular and molecular mechanisms*, Raven Press, Nueva York, 1983.
- Bell, R. M., y Coleman, R. A.: «Enzymes of glycerolipid synthesis in eukaryotes», *Ann. Rev. Biochem.*, 49:459-487, 1980.
- Beynen, A. C.: «Short-term regulation of hepatic carbohydrate and lipid metabolism by insulin and glucagon», *Endokrinologie*, 80:238-252, 1982.
- Brownsey, R. W., y Denton, R. M.: «Acetyl-CoA carboxylase», en *The Enzymes*, 3.ª ed., vol. XVIII, Boyer, P. D., y Krebs, E. G., eds., Academic Press, págs. 123-146, 1987.
- Donaldson, W. E.: «Regulation of fatty acid biosynthesis», *Federation Proc.*, 38:2617-2621, 1979.
- Eibl, H.: «Synthesis of glycerophospholipid», *Chem. Phys. Lipids.*, 26:405-429, 1980.
- Geelen, M. J. H.; Harris, R. A.; Beynen, A. C., y McCune, S. A.: «Short-term hormonal control of hepatic lipogenesis», *Diabetes*, 29:1006-1022, 1980.

- Gurr, M. I., y James, A. T.: *Lipid biochemistry, an introduction*, 3.^a ed., Chapman and Hall, Londres y Nueva York, 1980.
- Hahn, P.: «Development of lipid metabolism», *Ann. Rev. Nutr.*, 2:91-111, 1982.
- Herrera, E., y Lamas, L.: «Utilization of glycerol by rat adipose tissue "in vitro"», *Biochem. J.*, 120:433-434, 1970.
- Jeffcoat, R.: «The biosynthesis of unsaturated fatty acids and its control in mammalian liver», en *Essays in Biochemistry*, vol. 15, P. N. Campbell and R. D. Marshall, Academic Press, Londres y Nueva York, págs. 1-36, 1979.
- Kanoh, H.; Yamada, K., y Sakane, F.: «Diacylglycerol kinase: a key modulator of signal transduction 2», *TIBS*, febrero, 47-50, 1990.
- Love, M., y Tubbs, P. K.: «3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthase from ox liver», *Biochem. J.*, 227:591-607, 1985.
- Lynen, F.: «Fatty acid biosynthesis and its regulation», *Perspectives in Inherited Metabolic Diseases*, vol. 3, 1-23, 1979.
- McCarthy, A. D., y Hardie, D. G.: «Fatty acid synthase —an exemple of protein evolution by gene fusion», *TIBS-February*, 60-63, 1984.
- Mead, J. F.; Alfin-Slater, R. B.; Howton, D. R., y Popják, G.: *Lipids: Chemistry, Biochemistry and Nutrition*, Plenum Press, Nueva York, 1986.
- Munday, M. R., y col.: «Molecular aspects of fatty acid synthesis», *Biochem. Soc. Trans.*, 14:559-574, 1986.
- Roncari, D. A. K.: «Pre-adipose cell replication and differentiation», *TIBS-November*, 486-489, 1984.
- Wakil, S. J.; Stoops, J. K., y Joshi, V. C.: «Fatty acid synthesis and its regulation», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:537-579, 1983.

◆ Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

◆ Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Acúmulo y movilización de grasas. Oxidación de ácidos grasos. Cetogénesis

EMILIO HERRERA

METABOLISMO DEL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo es el que más se ha especializado en el acúmulo de lípidos: su contenido en agua nunca supera el 25 por 100, mientras que el de lípidos excede al 90 por 100 de su peso seco. La mayor parte de ellos (del 90 al 98 por 100) son triacilglicéridos, lo que, unido a la gran masa del tejido adiposo, que llega a ser un 18 por 100 del peso corporal en el hombre, hace que este tejido represente la principal reserva energética del organismo.

Existen dos tipos de tejido adiposo bien diferenciados: el marrón y el blanco. El *tejido adiposo marrón* es muy escaso, más rico en mitocondrias, y con menor contenido en triacilglicéridos que el blanco. Su papel es principalmente termogénico, respondiendo con rapidez a una disminución de la temperatura externa mediante un aumento en la oxidación de sus ácidos grasos y la consiguiente producción de calor. En los primeros años de vida, este tipo de tejido adiposo desempeña un papel fundamental en el control de la temperatura corporal. Su masa va disminuyendo en el hombre con la edad, aunque siempre permanece una cierta cantidad.

El *tejido adiposo blanco* representa un papel cuantitativamente más importante que el marrón en el metabolismo general del individuo adulto. Sus células están constituidas por una gran vacuola de grasa, rodeada de un citoplasma con elevada densidad de mitocondrias, y un núcleo bien diferenciado. Las principales vías metabólicas que tienen lugar en este tejido son (fig. 23.1): lipogénesis, glicerolgénesis, esterificación, lipólisis y captación de triacilglicéridos derivados de las lipoproteínas circulantes ricas en ellos (quilomicrones y VLDL).

La *lipogénesis* (biosíntesis de ácidos grasos y de los derivados acilados del coenzima A a partir de acetil-CoA) y la *glicerolgénesis* (biosíntesis de glicerol-3-fosfato) tienen lugar a partir de sustratos procedentes de la circulación, principalmente de la glucosa derivada de la dieta o la síntesis hepática. Su captación por el tejido adiposo es facilitada por la insulina e inhibida en situaciones en las que los niveles circulantes de esta hormona son bajos, como en el ayuno o en la diabetes. Los derivados acilados de la coenzima A (acil-CoA) y el glicerol-3-fosfato pueden proceder también del interior del propio tejido: de la fracción de ácidos grasos libres (también denominados FFA, por su nombre inglés) y del glicerol procedente

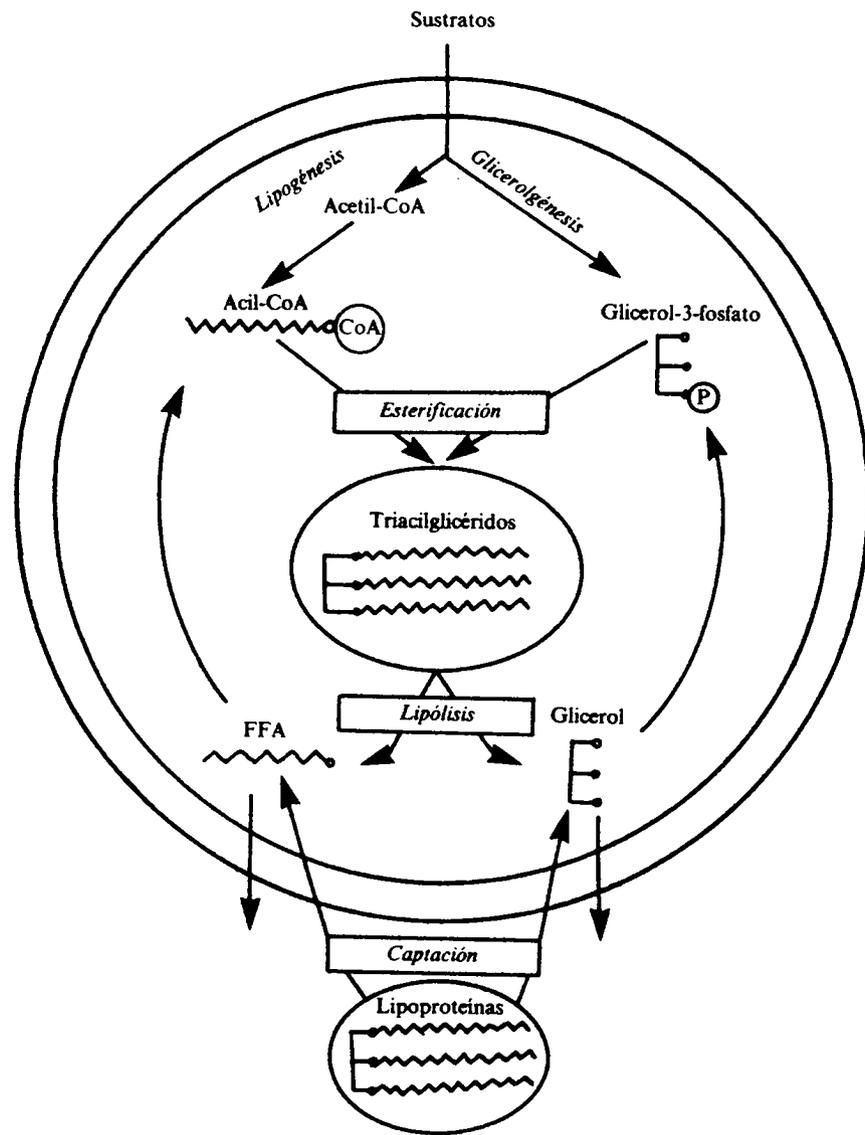


Figura 23.1. Principales vías metabólicas del tejido adiposo blanco.

de la lipólisis que no salen a la sangre, o de los que son captados por el tejido tras la acción de la *lipoproteína lipasa* sobre los triacilglicéridos de los quilomicrones y las VLDL del plasma. Independientemente de su procedencia, la esterificación de las estructuras activas de los ácidos grasos (acil-CoA) con la del glicerol (glicerol-3-fosfato) constituye la forma en que se sintetizan los triacilglicéridos para su acúmulo en tejido adiposo como principal depósito energético del organismo.

Para completar la descripción de las principales vías metabólicas que tienen lugar en el tejido adiposo, queda por tratar la *lipólisis*. En el tejido adiposo existe, en realidad, un equilibrio entre las diferentes vías, equilibrio que es modulado por la disponibilidad de sus respectivos sustratos y por las hormonas. De él depende que el organismo forme sus depósitos de grasa o los movilice, aunque, de hecho,

en todo momento tiene lugar un continuo recambio de los triacilglicéridos del tejido adiposo.

Lipólisis

La hidrólisis de triacilglicéridos a ácidos grasos libres y glicerol (lipólisis) ocurre en todos los tejidos del organismo, aunque desde el punto de vista cuantitativo es en el intestino y en el tejido adiposo donde se realiza con mayor eficacia. En el intestino, la lipólisis se ejerce sobre los acilglicéridos de la dieta por acción de las *lipasas pancreática e intestinal*, y forma parte del proceso de la digestión intestinal de las grasas (cap. 21). En el tejido adiposo, la lipólisis facilita la movilización de ácidos grasos libres y glicerol a la circulación, y, de hecho, el tejido adiposo constituye la principal fuente de estos metabolitos para el plasma.

La lipólisis del tejido adiposo se realiza en tres etapas, en las que se forman como productos intermedios los 1,2-diacilgliceroles y 2-monoacilgliceroles, terminando con la formación de glicerol; en cada una de ellas se va desprendiendo una molécula de ácido graso libre (FFA) (fig. 23.2). En consecuencia, los productos finales del proceso son tres moléculas de FFA y una de glicerol. La lipasa que cataliza esta hidrólisis es un sistema enzimático formado por dos enzimas distintas: la *triacilglicérido lipasa*, también denominada *lipasa sensible a las hormonas*, que cataliza las dos primeras etapas de la reacción, y la *monoacilglicérido lipasa*, que cataliza la última etapa del proceso (fig. 23.2).

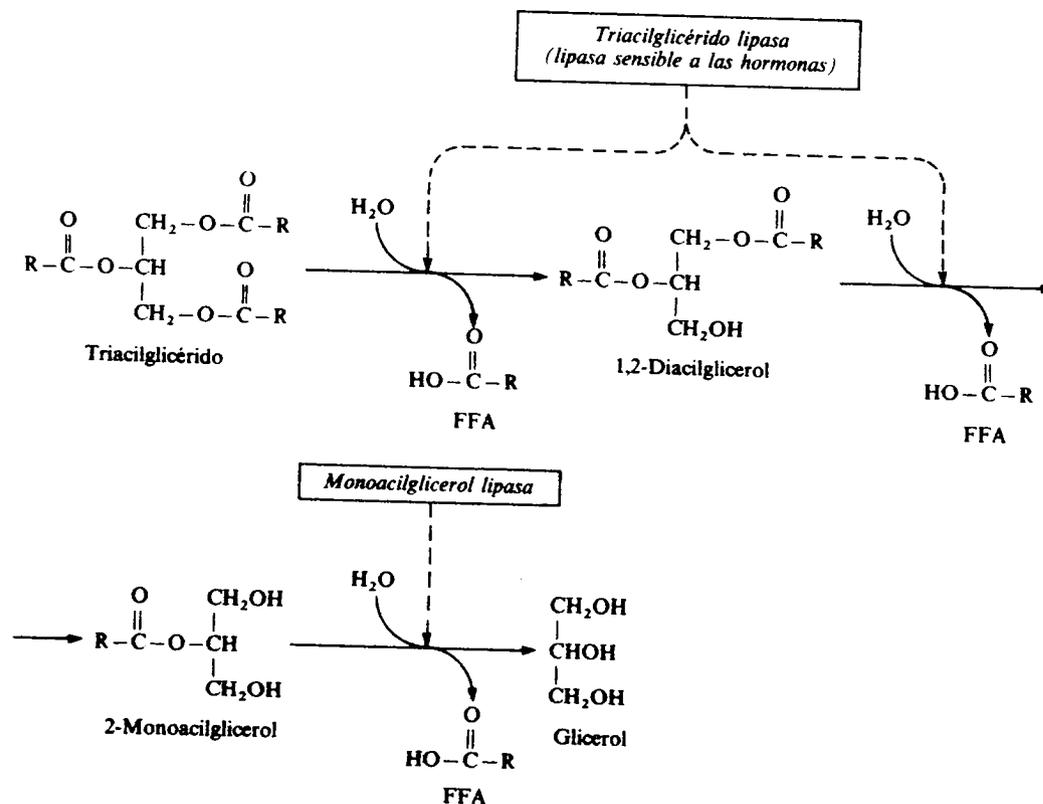


Figura 23.2. Secuencia de reacciones de la lipólisis en el tejido adiposo.

En un principio se pensó que la *triacilglicérido lipasa* era exclusiva del tejido adiposo, pero ahora se sabe que existe también en otros tejidos, de entre los que cabe destacar los tejidos productores de hormonas esteroideas (por ejemplo, la corteza de las cápsulas suprarrenales y la placenta). Su especificidad no es muy alta, de forma que, mientras en el tejido adiposo ejerce la función limitante de la lipólisis, en los tejidos esteroideogénicos, además de ejercer como hidrolasa de los triacilglicéridos, hidroliza los ésteres de colesterol para dar lugar a ácido graso libre y colesterol. Por tanto, en dichos tejidos, la *triacilglicérido lipasa* participa en el aporte del principal sustrato (colesterol) para la síntesis de las hormonas esteroideas.

Control de la lipólisis

De la modulación de la lipólisis realizada en el tejido adiposo depende nuestra capacidad de retener o movilizar las reservas grasas, que, como se indicó antes, constituyen a su vez la forma más eficaz de acúmulo de energía para el organismo. Es lógico, por tanto, que a pesar de la sencillez de esta vía metabólica, en el proceso evolutivo hayamos logrado un sistema enormemente preciso (y también sofisticado y complejo) para controlarla. Es muy similar al descrito para el control de la glucogenólisis (cap. 19) y, de hecho, ambos procesos tienen también un papel fisiológico similar; recordemos que la glucogenólisis es la forma que tiene la célula de controlar sus reservas hidrocarbonadas.

La *triacilglicérido lipasa* es controlada por diversos factores, entre los que destacan las hormonas, y por ello se le ha dado el nombre de *lipasa sensible a las hormonas*. No ha sido purificada todavía, pero parece ser que esta enzima tiene una estructura dimerica. Es interconvertible por fosforilación, siendo inactiva en su forma menos fosforilada. Precisamente las hormonas la controlan por un sistema en cascada, dependiente de AMPc, y en el que, en última instancia, se modifica su grado de fosforilación. Así, tal como se resume en la figura 23.3, el efecto de una hormona que estimula la lipólisis (*hormona lipolítica*, como catecolaminas, ACTH, glucagón, etc.), se inicia uniéndose a su receptor, lo que da lugar a la activación de la enzima *adenilato ciclasa*, cuya acción catalítica consiste en activar la síntesis de AMPc a partir de ATP. El AMPc, a su vez, activa una *proteína quinasa* mediante su unión a la subunidad reguladora y dejando libre la subunidad catalítica, la cual cataliza la fosforilación de la *triacilglicérido lipasa* a expensas de la hidrólisis de ATP. En esta forma más fosforilada, la *triacilglicérido lipasa* se encuentra en una configuración activa, y ejerce su acción hidrolítica sobre los triacilglicéridos y los ésteres de colesterol. Una *proteína fosfatasa* hidroliza los grupos fosfato que se habían unido para configurar la forma activa de la *triacilglicérido lipasa*, dando lugar a la forma inactiva de la enzima. Las *hormonas* y *agentes antilipolíticos* (insulina, prostaglandinas, FFA, ácido nicotínico) ejercen su acción desfosforilando parcialmente a la forma activa de la enzima; eliminan los fosfatos incorporados en los sitios reguladores de la misma, convirtiéndola en su configuración inactiva (fig. 23.3).

El proceso de la acción antilipolítica es complejo y no es aún conocido en su totalidad, pudiendo diferir de unas hormonas o agentes a otros. El caso de la insulina ha sido estudiado con especial atención, debido a las implicaciones fisiológicas y patológicas de esta hormona. Se ha propuesto que su acción antilipolítica tiene lugar tal como se resume en la figura 23.4. La insulina disminuye la velocidad de fosforilación de los sitios reguladores de la *triacilglicérido lipasa* al inhibir la actividad de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*, lo cual es, a su

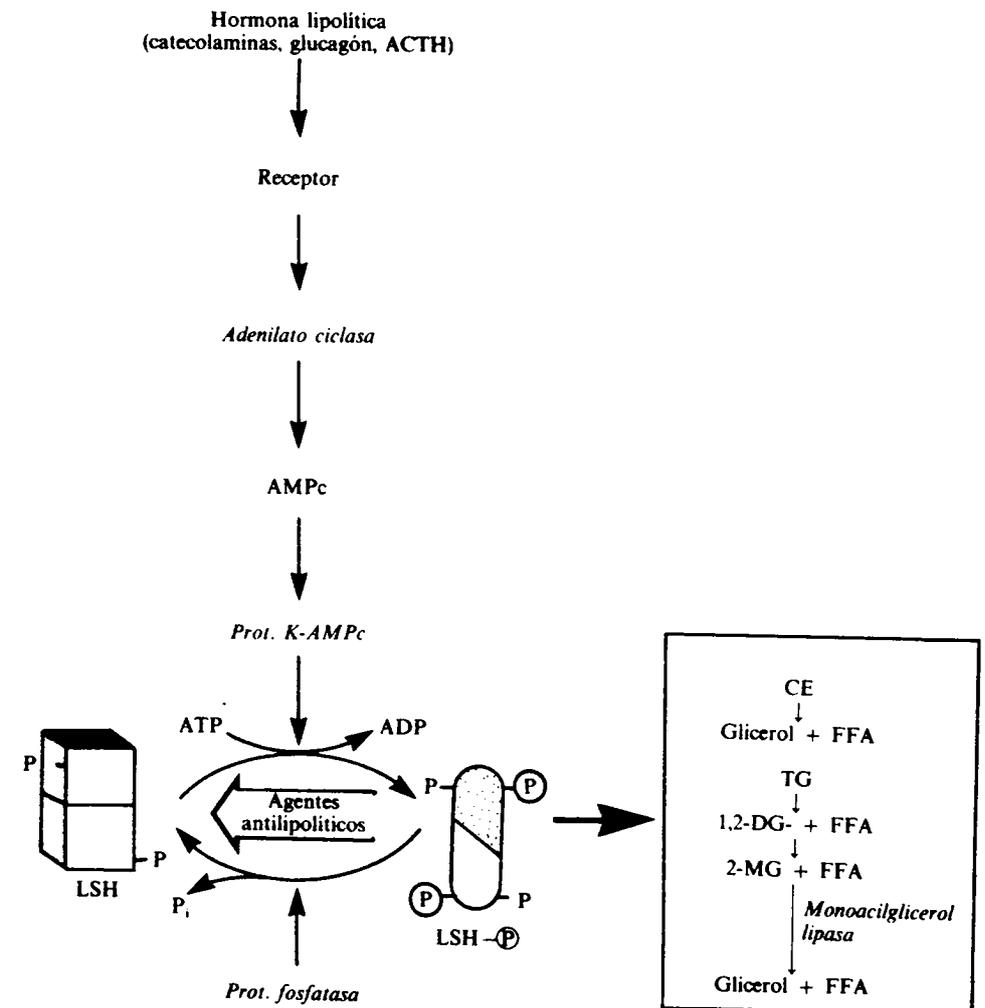


Figura 23.3. Control de la lipólisis en el tejido adiposo por acción de las hormonas lipolíticas o de los agentes antilipolíticos (incluida la insulina), mediante la modificación del grado de fosforilación de la *lipasa sensible a las hormonas* (LSH). La letra P dentro de un círculo representa al fosfato unido a los sitios reguladores de la enzima. Prot.K-AMPC: *Proteína quinasa dependiente de AMPc*; CE: colesterol esterificado; TG, DG y MG: tri, di y monoacilglicéridos; FFA: ácido graso libre.

vez, consecuencia secundaria de una disminución de los niveles intracelulares de AMPc. Es probable que este efecto se produzca al activar la enzima que cataliza la transformación de AMPc en 5'-AMP (*fosfodiesterasa*) y al inhibir la que cataliza la síntesis de dicho nucleótido cíclico (*adenilato ciclasa*). La insulina ejerce también su acción antilipolítica activando la *proteína fosfatasa* que cataliza la desfosforilación parcial de la *triacilglicérido lipasa*, lo cual parece realizarse de forma directa sobre esta enzima, o como consecuencia indirecta de la disminución de la concentración intracelular de AMPc y la consecuente inactivación de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. La actividad reducida de esta enzima impide que se fosfore un factor inhibidor de la *proteína fosfatasa* que es de naturaleza proteica, y se conoce con el nombre de *inhibidor-1*. De esta manera, al disminuir la acción inhibidora de dicho factor sobre la *proteína fosfatasa*, ésta queda activada y facilita la desfosforilación (inactivación) de la *triacilglicérido lipasa* (fig. 23.4).

A pesar de la complejidad del proceso descrito, es conveniente resaltar que la modulación de la lipólisis en el organismo completo es aún más compleja, ya que

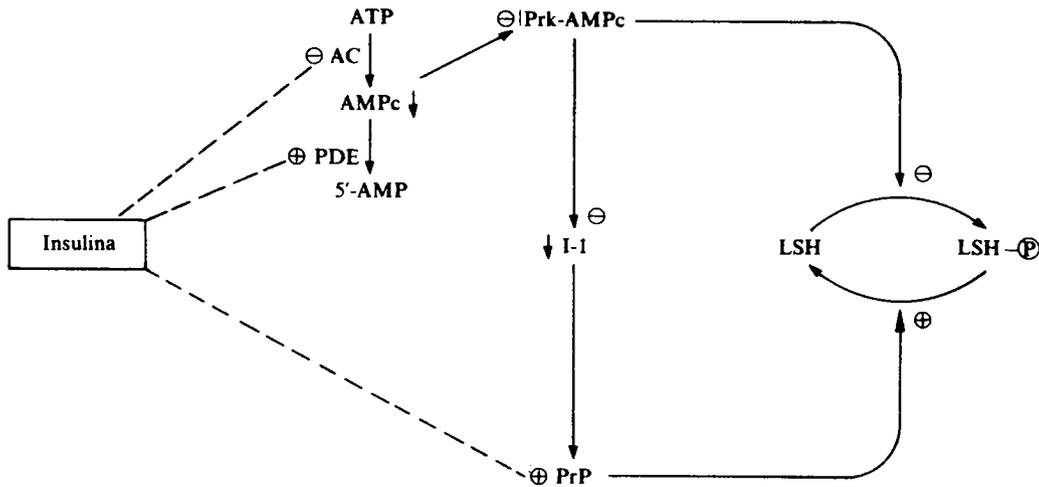


Figura 23.4. Mecanismo que se ha propuesto para explicar el efecto antilipolítico de la insulina. AC: adenilato ciclasa; PDE: fosfodiesterasa; Prk-AMPC: proteína quinasa dependiente de AMPc; PrP: proteína fosfatasa; I-1: inhibidor-1 de la proteína fosfatasa; LSH: lipasa sensible a las hormonas.

es el resultado de las acciones lipolíticas y antilipolíticas de las distintas hormonas y agentes, en función de sus respectivos niveles en sangre. Es difícil lograr un esquema global, pero en la figura 23.5 se hace una aproximación de esta integración, en la que puede observarse cómo, mientras que hay hormonas o agentes que ejercen su acción moduladora directamente sobre la cascada de regulación descrita antes, otras lo hacen de forma indirecta, realizando una acción permisiva, sinérgica o inhibidora, según el caso, sobre las primeras. Así, en dicha figura vemos que en algunos casos, como el de las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina), el glucagón, la ACTH y la TSH, al unirse a su receptor específico estimulan la *adenilato ciclasa*, iniciando así el proceso de regulación. En otros casos, como el de las hormonas tiroideas y los bloqueantes β -adrenérgicos, el efecto tiene lugar de forma indirecta, modulando (estimulando o inhibiendo) la efectividad de las catecolaminas sobre la *adenilato ciclasa*. También hay hormonas, como es el caso de la hormona del crecimiento, que ejercen su acción lipolítica estimulando la síntesis de regulación (*adenilato ciclasa*, *proteína quinasa*, etc.), por lo que dicha acción es inhibida por inhibidores de proteínas. Hay agentes, como las metil-xantinas (cafeína, por ejemplo), que activan la lipólisis inhibiendo la degradación de AMPc a 5'-AMP, por ser inhibidores de la *fosfodiesterasa* que cataliza esta reacción (fig. 23.5). Por ello, en presencia de estos agentes, se incrementa la acción de las hormonas lipolíticas sobre el proceso, ya que la confluencia de ambos factores da lugar a un máximo incremento de la concentración celular de AMPc.

Los ácidos grasos libres son productos finales de la lipólisis, pero también la modulan. Así, aunque el mecanismo no se conoce bien, se sabe que un acúmulo intracelular de ellos produce una inhibición de las actividades de la *adenilato ciclasa* y de la *triacilglicérido lipasa* y, por tanto, de la lipólisis. Los ácidos grasos libres son desacopladores de la fosforilación oxidativa; por tanto, independientemente de que ejerza una acción directa sobre las enzimas indicadas, pueden reducir la disponibilidad de ATP para la síntesis de AMPc, inhibiendo así el inicio de la cascada de activación de la lipólisis. El proceso tiene también interés

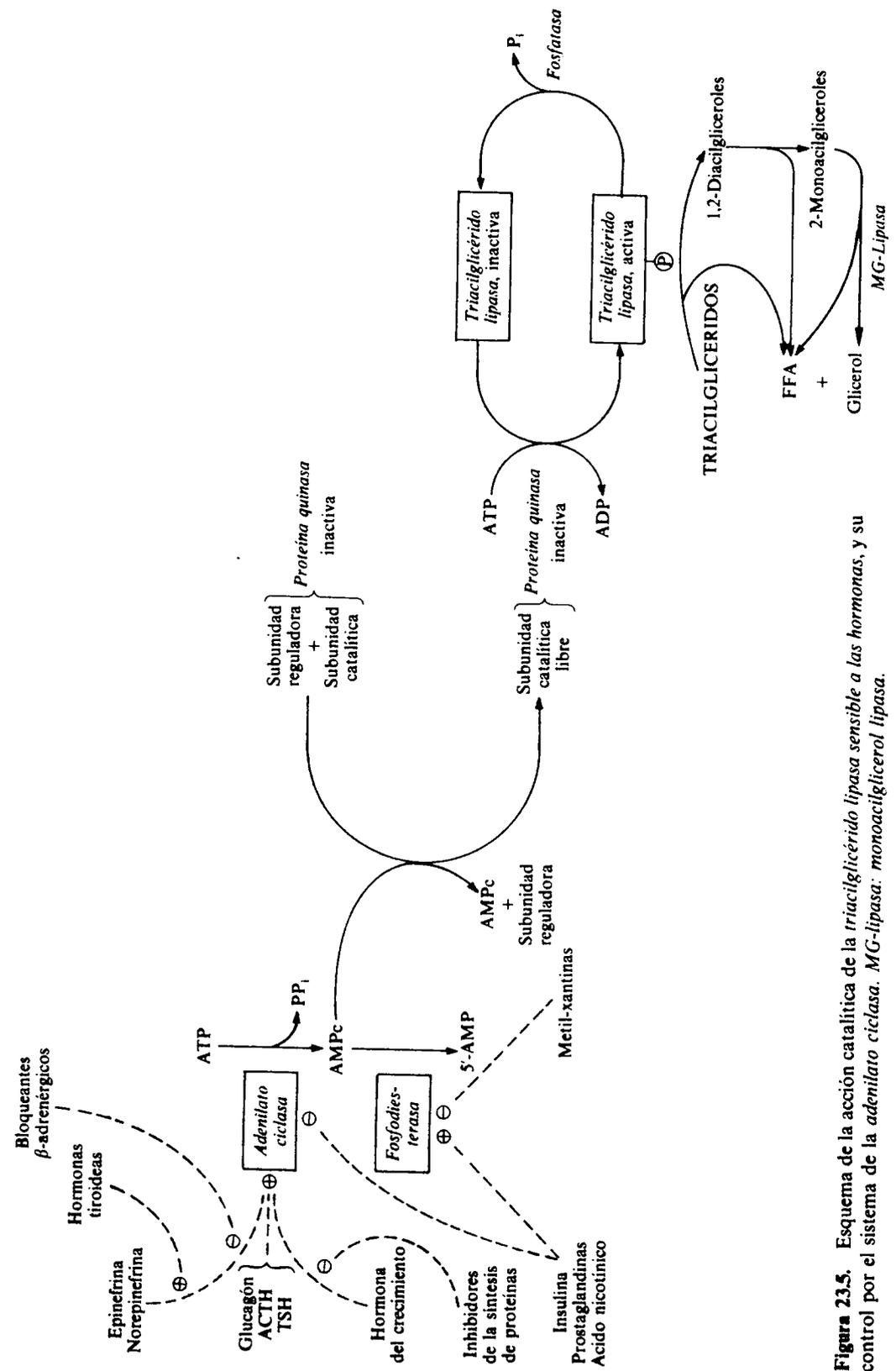


Figura 23.5. Esquema de la acción catalítica de la triacilglicérido lipasa sensible a las hormonas, y su control por el sistema de la adenilato ciclasa. MG-lipasa: monoacilglicérido lipasa.

fisiológico, ya que en determinadas circunstancias, los ácidos grasos libres llegan a acumularse intracelularmente (por ejemplo, cuando disminuye la concentración de albúmina circulante, que es la responsable de su transporte en la sangre), inhibiendo consecuentemente la efectividad de las hormonas lipolíticas.

Es interesante destacar el papel que tiene el propio metabolismo del tejido adiposo en la movilización de sus triacilglicéridos. Los ácidos grasos libres de su interior (procedentes de la lipólisis, de la captación de los triacilglicéridos de las lipoproteínas circulantes o de la síntesis endógena) pueden ser reesterificados a triacilglicéridos y, de esta forma acumulados, o pueden ser liberados a la circulación (fig. 23.1). En el equilibrio de estas dos posibilidades representa un papel importante la disponibilidad de glicerol-3-fosfato para su esterificación. La concentración de este metabolito en el tejido adiposo va a depender en gran parte de la glucosa que le llega de fuera (el tejido adiposo no hace gluconeogénesis, por lo que toda la glucosa la recibe de la circulación), de forma que disminuirá en condiciones de hipoglucemia (por ejemplo, en el ayuno, facilitándose así la movilización neta de los ácidos grasos libres), o aumentará cuando la dieta es rica en carbohidratos, induciéndose el acúmulo de grasa. La disponibilidad de glicerol-3-fosfato en el tejido adiposo es también dependiente de la actividad *glicerolquinasa*, que cataliza la fosforilación directa del glicerol.

Esta capacidad del tejido adiposo para fosforilar el glicerol ha sido muchas veces desestimada, ya que el hígado, debido a su elevada actividad *glicerolquinasa* y al alto flujo sanguíneo que le llega, metaboliza rápidamente el glicerol, y pocas posibilidades quedan para que algunas moléculas de glicerol circulante alcancen el tejido adiposo. La presencia de actividad *glicerolquinasa* en tejido adiposo es, sin embargo, fisiológicamente importante al permitir la reutilización de parte del glicerol derivado de la lipólisis dentro del propio tejido. En homocigotos que sufren hiperinsulinismo se incrementa la actividad *glicerolquinasa* del tejido adiposo, y se desarrolla obesidad: la mayor reutilización del glicerol por el tejido que se produce cuando aumenta la actividad de dicha enzima, hace que el balance neto entre esterificación y lipólisis (fig. 23.1) se desequilibre a favor de la primera vía, favoreciéndose el mayor acúmulo de triacilglicéridos.

DESTINO DE LOS PRODUCTOS DE LA LIPOLISIS

Como se resume en la figura 23.6, el hígado es el principal receptor de los productos de la lipólisis, el glicerol y los ácidos grasos libres. En él estos compuestos se reúnen con los procedentes de los glicéridos que capta el órgano asociados a las lipoproteínas que los transportan por sangre (cap. 25). El glicerol es inmediatamente transformado en glicerol-3-fosfato, gracias a la alta actividad *glicerolquinasa* presente en el hígado. Tras su oxidación a dihidroxiacetonafofosfato, es utilizado junto con los otros sustratos gluconeogénicos (por ejemplo, alanina, lactato o piruvato, derivados del músculo) para la síntesis de glucosa, aunque también puede ser transformado en acetyl-CoA y, en consecuencia, ser oxidado por el ciclo del ácido cítrico o utilizado en la síntesis de ácidos grasos. También el glicerol-3-fosfato puede ser esterificado en el hígado con los acil-CoA formados de los ácidos grasos libres que llegan de la sangre o que son sintetizados en el propio órgano. Como resultado de ello se forman triacilglicéridos que, junto con los procedentes de la captación de las lipoproteínas circulantes, son temporalmente acumulados en el hígado para su posterior utilización. La capacidad del hígado para acumular triacilglicéridos es limitada, y cuando se supera se produce un daño del tejido, que

puede terminar en el desarrollo de cirrosis hepática, como ocurre en muchos casos de alcoholismo crónico. Los triacilglicéridos formados son canalizados por el hígado para la formación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y para ser segregados a la circulación, o son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres por acción de las *triacilglicérido lipasas hepáticas*, las cuales son distintas a las del tejido adiposo y de otros tejidos. Una de ellas es la denominada *triacilglicérido hidrolasa hepática* (o *lipasa hepática*), cuyas características funcionales serán descritas en el capítulo 25. Otra es la *triacilglicérido lipasa lisosómica*, denominada así por su localización dentro de los lisosomas, la cual facilita la hidrólisis de los triacilglicéridos que llegan al interior de los lisosomas por medio de autofagocitosis celular, en un proceso modulado por hormonas (es facilitado por el glucagón e inhibido por la insulina), cuyo mecanismo molecular no está del todo establecido, pero que tiene un papel importante en la lipólisis hepática.

El glicerol formado en esta lipólisis hepática se une al procedente de la circulación para ser utilizado por las vías metabólicas antes indicadas. Los ácidos grasos libres también se unen a los que llegan al hígado procedentes de la sangre, en su mayor parte derivados de la lipólisis del tejido adiposo (fig. 23.6). Al igual que el glicerol, también ellos tienen varias alternativas de utilización: una vez se han activado a acil-CoA, pueden ser reesterificados para la síntesis de acilglicéridos (tanto triacilglicéridos como fosfoacilglicéridos) y su posterior liberación del hígado en forma de VLDL, o pueden ser oxidados hasta la formación de acetyl-CoA para su oxidación completa a CO₂ a través del ciclo del ácido cítrico, para la formación de cuerpos cetónicos, o incluso para su utilización como sustrato en otras vías metabólicas (por ejemplo, la síntesis del colesterol).

La canalización comparativa de los productos de la lipólisis, glicerol y ácidos grasos libres, hacia las distintas vías metabólicas indicadas va a depender de muchos factores, entre los que destacan la disponibilidad de sustratos de otras procedencias (por ejemplo, la dieta o la síntesis endógena) y la situación endocrina del individuo.

OXIDACION DE ACIDOS GRASOS

β -oxidación en mitocondrias

La principal vía en el catabolismo de los ácidos grasos se denomina β -oxidación, y en ella se van liberando secuencialmente unidades de dos átomos de carbono en forma activa (acetyl-CoA), comenzando por el terminal carboxílico. La oxidación posterior de las moléculas de acetyl-CoA a través del ciclo del ácido cítrico y el aprovechamiento del potencial reductor que se forma en el proceso para la síntesis de ATP, supone un alto rendimiento de energía aprovechable para la célula.

La secuencia de la β -oxidación de los ácidos grasos fue ya propuesta en 1904 por Knoop, como resultado de los experimentos que realizó utilizando ácidos grasos marcados en su metilo terminal con un anillo benzoico, no metabolizable. Cuando estos ácidos grasos eran ingeridos por animales experimentales aparecían en su orina compuestos orgánicos derivados de los ácidos benzoico y fenilacético, del tipo de los ácidos hipúrico y fenacetúrico. Esto dependía del número de carbonos del ácido graso marcado, de manera que si era de número impar aparecía en orina ácido hipúrico, mientras que si era par lo hacía el ácido fenacetúrico:

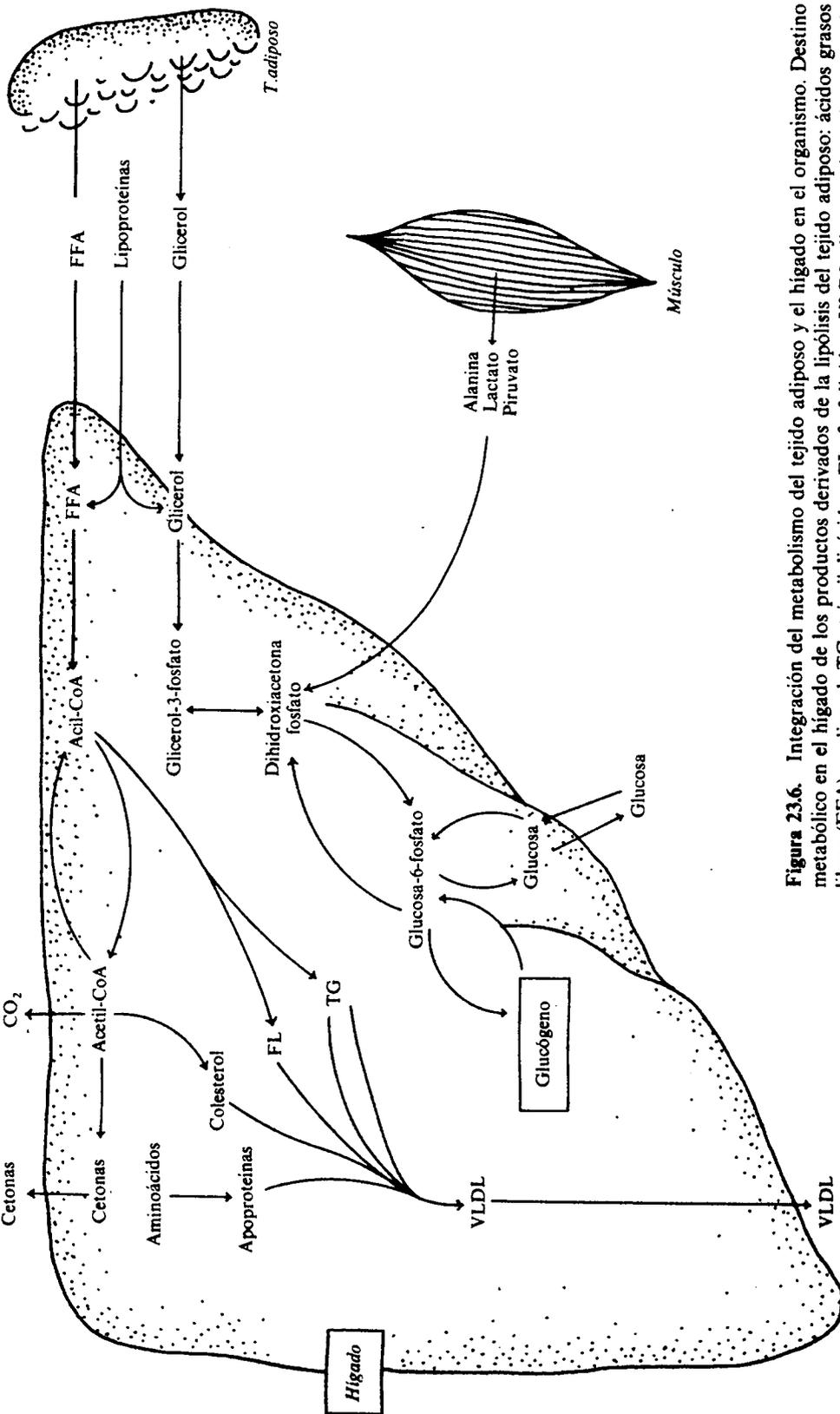
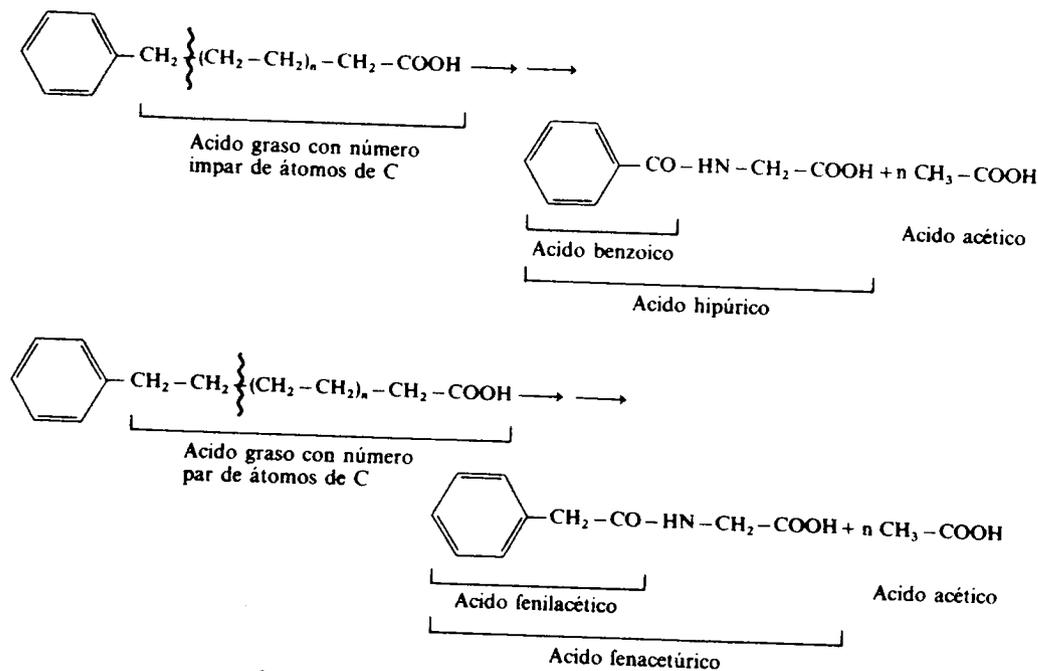
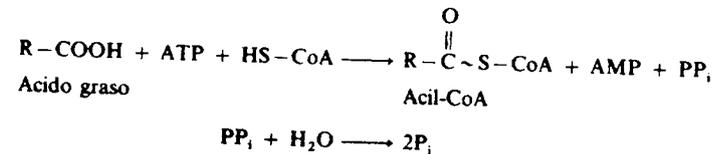


Figura 23.6. Integración del metabolismo del tejido adiposo y el hígado en el organismo. Destino metabólico en el hígado de los productos derivados de la lipólisis del tejido adiposo: ácidos grasos libres (FFA) y glicerol. TG: triacilglicéridos; FL: fosfolípidos; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.



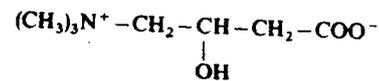
Estos hallazgos permitieron a Knoop proponer el fundamento de la β -oxidación de ácidos grasos, aunque la vía completa no se ha conocido hasta época más reciente.

Para entrar en la β -oxidación, los ácidos grasos han de activarse a acil-CoA por acción de la *acil-CoA sintetasa* (también denominada *tioquinasa* o *ligasa de ácido graso de cadena larga-CoA*) citoplasmática, que es similar a la descrita en la absorción intestinal de los lípidos (cap. 21) y en la biosíntesis de los acilglicéridos (cap. 22). Esta reacción tiene lugar en el retículo endoplasmático o en la cara externa de la membrana de las mitocondrias, y es la única de todo el proceso que requiere ATP. En ella se forma una molécula de pirofosfato inorgánico, que es posteriormente hidrolizada a dos fosfatos, lo que facilita que la reacción se desplace totalmente a la derecha, ya que en ella se liberan dos enlaces fosfato ricos en energía, haciéndola prácticamente irreversible:

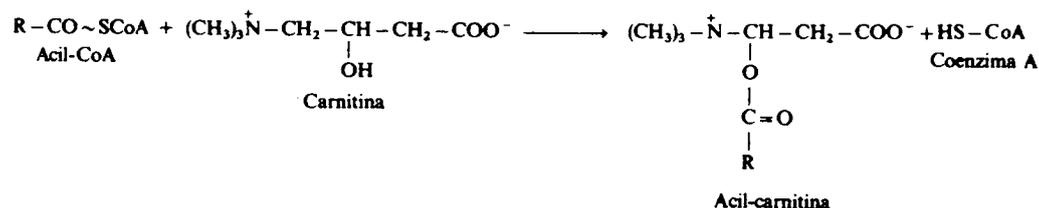


Entrada de los acil-CoA dentro de las mitocondrias

Los siguientes pasos de la β -oxidación tienen lugar dentro de las mitocondrias y, sin embargo, la membrana mitocondrial es impermeable tanto a los ácidos grasos libres como a sus derivados acil-CoA. Por ello se requiere un sistema de transporte a través de dicha membrana; la molécula que actúa como transportador es la *carnitina* (β -hidroxi- γ -trimetilaminobutirato):



Esta molécula se encuentra en la práctica totalidad de los tejidos, pero es particularmente abundante en el músculo. Por acción de la *acil-carnitina transferasa I*, localizada en la cara externa de la membrana interna de las mitocondrias, los acil-CoA reaccionan con la carnitina para formar acilcarnitina y coenzima A (fig. 23.7):



La actividad de la *acilcarnitina transferasa I* es inhibida por el malonil-CoA, metabolito intermedio de la lipogénesis, lo que supone un importante punto de control para la β -oxidación (cap. 22).

Los derivados acilcarnitina penetran la membrana mitocondrial y, en su cara interna, vuelven a convertirse en acil-CoA por acción de la *acil-carnitina transferasa II*, que cataliza la misma reacción, pero en dirección opuesta, aunque utilizando coenzima A procedente del interior de las mitocondrias.

Una vez dentro de las mitocondrias, los acil-CoA entran ya en la β -oxidación (fig. 23.7). El paso de los acil-CoA al interior de las mitocondrias podría estar limitado por una insuficiente cantidad de carnitina fuera o de coenzima A dentro. Esto no ocurre, ya que el sistema de transferencia de los acil-CoA hacia dentro se encuentra acoplado con otro de salida de acetil-CoA (y otros derivados acilados del CoA, de cadena corta). Este proceso se lleva a cabo por acción de otra enzima, la *acetil-CoA carnitina transferasa I*, que forma acetilcarnitina y coenzima A a

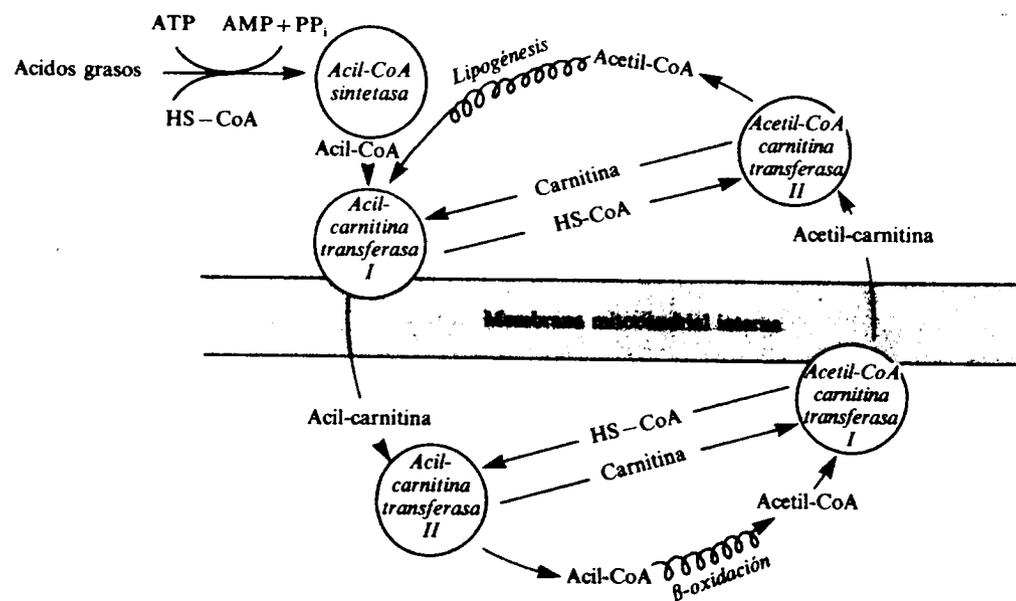


Figura 23.7. Transferencia de grupos acilo y acetilo a través de la membrana interna de las mitocondrias, mediante el sistema dependiente de la carnitina.

partir de acetil-CoA y carnitina. La acetilcarnitina sale de la mitocondrial, y por medio de la *acetil-CoA carnitina transferasa II* se transforma en acetil-CoA y carnitina. En la figura 23.7 se esquematiza el conjunto de estas reacciones, mostrando el acoplamiento de las mismas con la lipogénesis, que tiene lugar fuera de las mitocondrias, y la β -oxidación, del interior. Lógicamente, este acoplamiento no funciona de una forma cerrada, ya que cuando la lipogénesis está activada, la β -oxidación se encuentra inhibida, y viceversa, pero permite garantizar la continua disponibilidad de carnitina y coenzima A a ambos lados de la membrana mitocondrial para facilitar la transferencia de acilos.

Reacciones de la β -oxidación de ácidos grasos

Una vez dentro de la mitocondria, los acil-CoA sufren la acción sucesiva de cuatro enzimas localizadas en la matriz mitocondrial, próximas a las de la cadena respiratoria, que reciben el nombre global de *oxidasa de ácidos grasos*, y cuyas reacciones se resumen en la figura 23.8.

La primera de estas enzimas, la *acil-CoA deshidrogenasa*, es una flavoproteína (Fp), que contiene FAD como grupo prostético. En la reacción que cataliza se forma FADH₂, que es reoxidado mediante la transferencia de sus electrones a la cadena respiratoria, por acción de otra flavoproteína (flavoproteína transferidora de electrones) a nivel de la coenzima Q. El doble enlace del Δ^2 (trans)-enoilacil-CoA formado en esta primera reacción es hidratado por la Δ^2 -*enoil-CoA hidratasa* (*crotonasa*), la cual no es totalmente específica para la configuración *trans*, y a veces puede actuar sobre formas *cis*. El derivado β -hidroxilado que se forma es deshidrogenado en su carbono β por la *L(+)*- β -*hidroxiacil-CoA deshidrogenasa*, la cual es específica para el estereoisómero L. El NAD⁺, que se reduce en la reacción, transfiere también su potencial reductor a la cadena respiratoria, pero en este caso la entrada se realiza en la porción inicial de la misma. En la última reacción, la *tiolasa* (β -*ketotiolasa* o *acetil-CoA acil transferasa*) da lugar a acetil-CoA y un acil-CoA con dos átomos de carbono menos que el sustrato inicial. Esta reacción es muy exergónica, y su desplazamiento hacia la derecha facilita que toda la secuencia de la β -oxidación se desplace en esta dirección. El acil-CoA formado en la reacción de la *tiolasa* vuelve a entrar en la secuencia oxidativa de las cuatro reacciones. De esta forma, un ácido graso saturado de cadena larga es completamente degradado de dos en dos átomos de carbono, correspondientes a unidades de acetil-CoA (fig. 23.8). Cuando el ácido graso es de un número impar de átomos de carbono, el último residuo que se forma es el propionil-CoA.

Las moléculas de acetil-CoA formadas en la β -oxidación pueden ser completamente oxidadas a CO₂ a través del ciclo del ácido cítrico. El propionil-CoA también puede ser completamente oxidado a través del ciclo del ácido cítrico, mediante su transformación previa en succinil-CoA, que es un metabolito intermedio del mismo.

Rendimiento energético de la β -oxidación

La entrada inmediata en la cadena respiratoria de los electrones liberados en los distintos pasos de la β -oxidación de un ácido graso, y la oxidación completa de sus productos finales a través del ciclo del ácido cítrico permiten un máximo aprovechamiento energético para la célula en forma de moléculas de ATP. En la β -oxidación de una molécula de palmitato se forman ocho de acetil-CoA

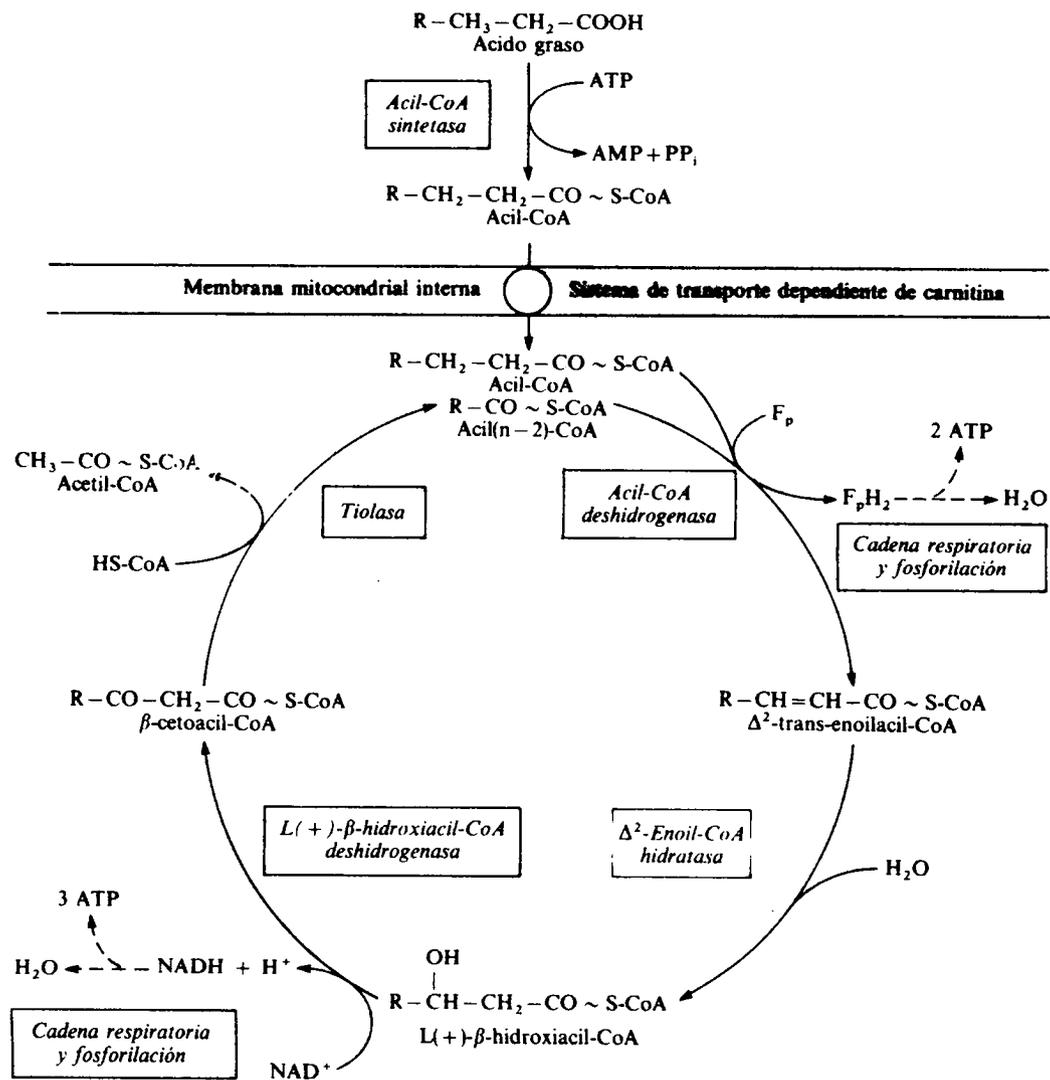


Figura 23.8. Esquema de la β -oxidación en mitocondrias. El proceso se inicia con la activación de los ácidos grasos a acil-CoA y la transferencia de éstos a través de la membrana interna de las mitocondrias, mediante el sistema de transporte dependiente de carnitina. En cada vuelta se van perdiendo dos átomos de carbono en forma de acetil-CoA, que constituye el producto final del proceso.

(fig. 23.9); en la oxidación completa de cada acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico (cap. 12) se llegan a generar 12 moléculas de ATP, por lo que de cada palmitato se forma un total de $8 \times 12 = 96$ ATP. El transporte de los electrones procedentes de los siete NADH formados en la β -oxidación del ácido palmítico dará lugar a $7 \times 3 = 21$ moléculas de ATP, y de las siete F_pH_2 , a $7 \times 2 = 14$ ATP. Todo ello suma 131 enlaces fosfato ricos en energía formados, a los que hay que restar los dos que se consumen en la activación inicial del ácido graso, para dar un balance total de 129 enlaces ricos en energía por cada molécula de ácido palmítico completamente oxidada a CO_2 y H_2O . Este rendimiento energético es

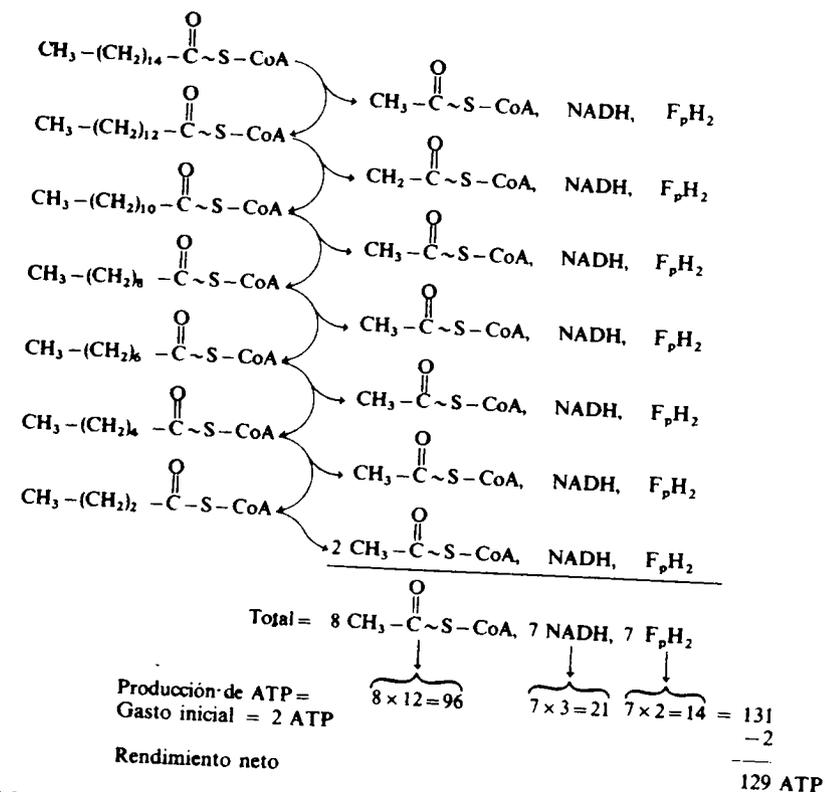


Figura 23.9. Esquema de la β -oxidación intramitocondrial del palmitil-CoA, y su rendimiento energético.

superior al de la oxidación de cualquier otro principio inmediato en el organismo, y en unidades de energía representa alrededor de un 40 por 100 de toda la energía que se libera cuando una molécula de ácido palmítico se quema en una bomba calorimétrica. El resto de la energía producida por la oxidación de los ácidos grasos en el organismo se desprende en forma de calor, y contribuye activamente al mantenimiento de la temperatura corporal.

β -oxidación de ácidos grasos en peroxisomas. Comparación con la β -oxidación mitocondrial

Además de en las mitocondrias, la β -oxidación de ácidos grasos hasta la formación de acetil-CoA tiene también lugar en los peroxisomas, tanto de células vegetales como de animales, incluidos los mamíferos.

La β -oxidación que ocurre en los peroxisomas se realiza en ácidos grasos saturados o insaturados, de 10 a 22 átomos de carbono, siendo especialmente activa en ácidos monoinsaturados del tipo del ácido erúrico (C22:1). Al igual que en mitocondrias, la β -oxidación peroxisomal se inicia a partir de las formas activas de los ácidos grasos, los acil-CoA. Sin embargo, a diferencia de ellos, los peroxisomas carecen de *acil carnitina transferasa*, por lo que le llegan los ácidos grasos en forma libre. No parece que esta transferencia se realice de forma pasiva, sino mediante la unión del ácido graso a una proteína específica que aún no ha sido identificada. Los peroxisomas poseen *acil-CoA sintetasa*, que cataliza directa-

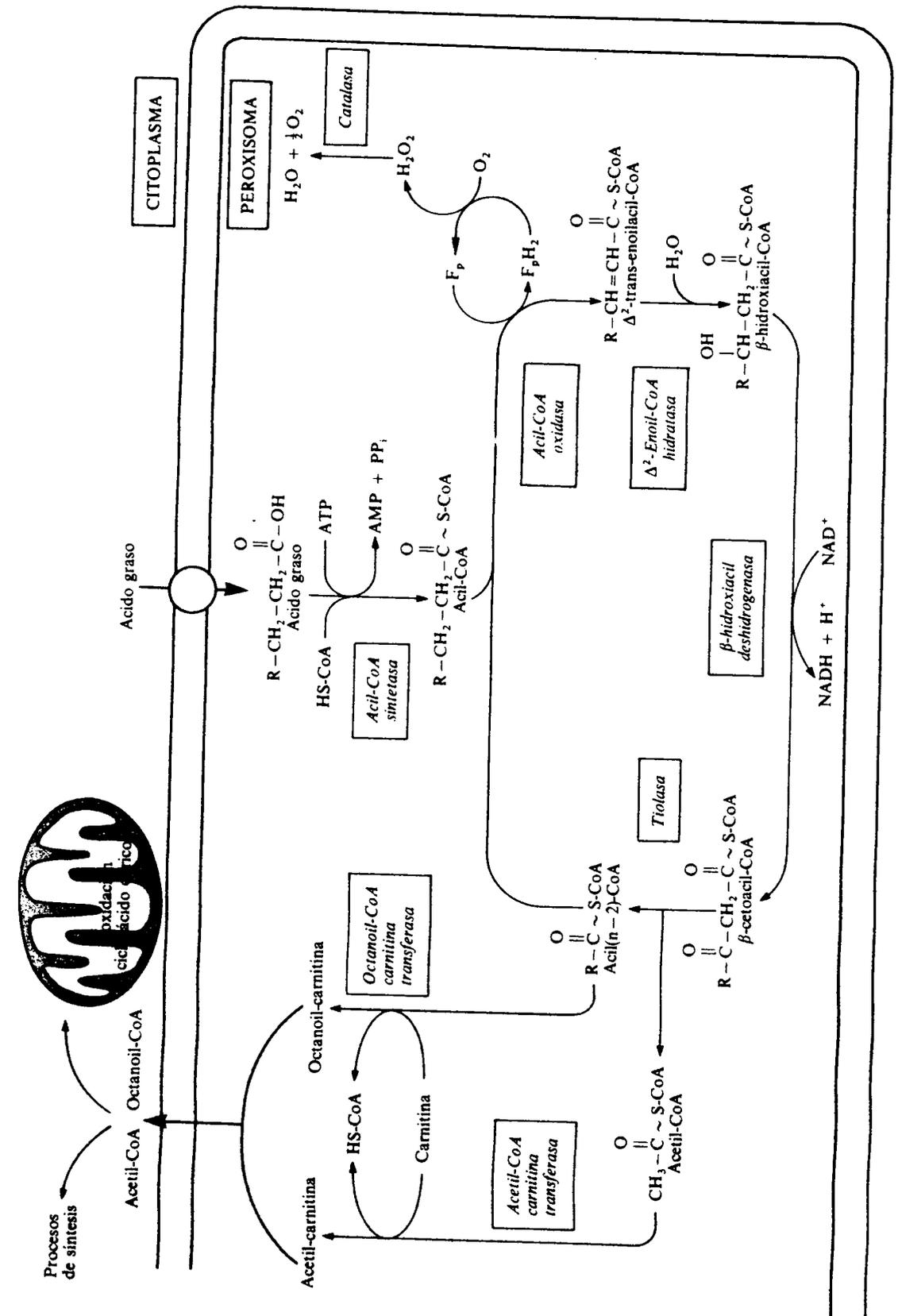
mente la formación de acil-CoA a partir de los ácidos grasos que le llegan. También presentan dos carnitina transferasas: la *acetil-CoA carnitina transferasa* y la *octanoil-CoA carnitina transferasa*, que utilizan para sacar al citoplasma los productos de su β -oxidación, octanoil-CoA y acetil-CoA. Dichos compuestos pueden ser utilizados en otras partes de la célula, pero en particular pueden entrar en las mitocondrias, donde el octanoil-CoA se incorpora a la β -oxidación intramitocondrial y el acetil-CoA es oxidado a través del ciclo del ácido cítrico. De esta forma, la oxidación peroxisomal de los ácidos grasos puede terminar en los mismos productos que la mitocondrial, aunque el camino es más indirecto.

En la figura 23.10 se resumen las reacciones que participan en la β -oxidación peroxisomal, las cuales son cíclicas y se inician con la activación de un ácido graso a acil-CoA por acción de la *acil-CoA sintetasa*, y su oxidación a trans-enoilacil-CoA. Esta última reacción es catalizada por una *acil-CoA oxidasa*, flavoproteína que se reduce con los electrones derivados de la oxidación del acil-CoA. Es una reacción similar a la que tiene lugar en la β -oxidación mitocondrial, catalizada por la *acil-CoA deshidrogenasa*, pero entre ellas hay una diferencia importante, que es interesante destacar. La *acil-CoA deshidrogenasa* mitocondrial es una flavoproteína acoplada a la cadena respiratoria, de forma que el potencial reductor del FADH_2 producido, es rápidamente utilizado como fuente de electrones para la cadena respiratoria, que en su acoplamiento con la fosforilación permite la síntesis de ATP (fig. 23.8). En el caso de los peroxisomas, la enzima que cataliza la oxidación del acil-CoA es una oxidasa que contiene FAD, y la reoxidación de la flavina reducida se produce con el oxígeno molecular, sin intervención de la cadena respiratoria. Por consiguiente, no se produce ATP y los átomos de hidrógeno del FADH_2 de la enzima, al pasar al oxígeno, forman peróxido de hidrógeno (fig. 23.10), que es descompuesto por acción de una *catalasa*, también presente en los peroxisomas. De forma alternativa, el complejo catalasa-peróxido de hidrógeno puede oxidar a un segundo sustrato, como el etanol o el metanol, en caso de que se encuentren presentes, participando así en los procesos de desintoxicación del hígado.

En las etapas posteriores de la vía de oxidación peroxisomal de los ácidos grasos, las siguientes enzimas se diferencian también de las mitocondriales. En las mitocondrias, la Δ^2 enoil-CoA hidratasa y la $L(+)\beta$ -hidroxiacil-CoA deshidrogenasa eran enzimas distintas, mientras que en los peroxisomas ambas están asociadas en una única enzima bifuncional. En las mitocondrias, el NADH formado por la acción de la deshidrogenasa podía entrar en la cadena respiratoria para su aprovechamiento energético en la formación de tres moléculas de ATP. El NADPH formado en los peroxisomas, sin embargo, ha de ser derivado hacia el exterior para la eventual transferencia de su potencial al interior mitocondrial mediante las lanzaderas correspondientes.

Otra diferencia entre los dos procesos radica en la ruptura del β -cetoacil-CoA por la *tiolasa* correspondiente para la liberación de acetil-CoA, ya que ambas enzimas tienen especificidades y características diferentes, y ello condiciona preci-

Figura 23.10. Esquema de la β -oxidación en peroxisomas. Los ácidos grasos entran directamente al peroxisoma mediante su unión a una proteína, y es dentro del orgánulo donde pasan a formar acil-CoA. Al igual que en mitocondrias, en cada vuelta se van perdiendo dos átomos de carbono en forma de acetil-CoA, pero una vez que el radical acilo llega a tener 8 átomos de carbono (octanoil-CoA), se transforma en octanoil-carnitina por acción de la *octanoil-carnitina transferasa*, para salir al citoplasma, donde en forma de octanoil-CoA, y al igual que el acetil-CoA, participa en procesos de síntesis o es transferido a las mitocondrias para su oxidación completa.



samente el que la β -oxidación peroxisomal sea específica de los acil-CoA de cadena larga, mientras que la mitocondrial utiliza tanto los de cadena larga como los de corta. La oxidación peroxisomal se detiene a nivel del octanoil-CoA, mientras que la mitocondrial llega hasta la formación del acetoacetil-CoA. Cuando la oxidación peroxisomal llega al nivel del octanoil-CoA, interviene una *octanoil-CoA carnitina transferasa*, que permite la formación de octanoil-carnitina para su difusión del peroxisoma al citoplasma, donde, después de pasar a octanoil-CoA, puede ser utilizado en procesos de síntesis, o ser transferido al interior de las mitocondrias para su oxidación a través de la β -oxidación y el ciclo del ácido cítrico (fig. 23.10). Las moléculas de acetil-CoA que van siendo formadas en cada vuelta del proceso peroxisomal son también liberadas al citoplasma mediante su transformación previa a acetil-carnitina, por acción de la *acetil-CoA carnitina transferasa* (fig. 23.10). Una vez transformadas estas moléculas en acetil-CoA, pueden participar en el citoplasma como sustratos en la síntesis de diferentes compuestos (ácidos grasos, colesterol, ácidos biliares, aminoácidos), o ser transferidas a las mitocondrias para su oxidación a través del ciclo del ácido cítrico.

Balance energético y posible significado funcional de la β -oxidación peroxisomal

Dadas estas diferencias en ambos procesos, es lógico que el balance energético de la β -oxidación peroxisomal difiera de la mitocondrial. En los peroxisomas, la oxidación de una molécula de ácido palmítico (^{16}C) da lugar a la formación de una molécula de octanoil-CoA, cuatro de acetil-CoA y cuatro de NADH. Estos compuestos salen de los peroxisomas y llegan a las mitocondrias, donde su oxidación completa da lugar a la formación de 121 ATP, en vez de los 129 formados en la oxidación mitocondrial del mismo sustrato (véase fig. 23.9). Las ocho moléculas de ATP de diferencia entre ambos procesos se deben a la pérdida del potencial reductor formado en la oxidación de los acil-CoA por la *acil-CoA oxidasa* peroxisomal, debido a su acoplamiento con la formación de peróxido de hidrógeno, y corresponden precisamente a las cuatro vueltas que ha de dar el proceso. De hecho, para lograr la formación del octanoil-CoA (^8C) a partir del ácido palmítico (^{16}C), en cada una de las cuatro vueltas, se desaprovecha el potencial de la flavoproteína reducida que se forma (fig. 23.10), mientras que si el proceso tiene lugar en las mitocondrias, de cada una de dichas flavoproteínas reducidas llegan a formarse dos ATP (fig. 23.8). De ahí las ocho moléculas de ATP de diferencia en el rendimiento energético de ambos procesos.

La pequeña diferencia de rendimiento energético de la β -oxidación peroxisomal frente a la mitocondrial no supondría una desventaja importante para la primera, si por el contrario, ella supusiera alguna ventaja funcional para el organismo. Realmente no conocemos aún cuál puede ser el beneficio de esta vía peroxisomal, pero, desde un punto de vista cuantitativo, llega a representar hasta un 30 por 100 de, por ejemplo, la oxidación del ácido palmítico por la célula hepática, y ello hace pensar que tenga un papel funcional importante. Podría ser la forma de que se vale la célula para producir acetil-CoA fuera de la mitocondria sin perder moléculas de citrato, que es la vía principal de salida de acetil-CoA de la mitocondria para su utilización como sustrato en la lipogénesis.

Por otro lado, la β -oxidación peroxisomal supone una «escapatoria» del estricto control de la β -oxidación mitocondrial por la cadena respiratoria, para el aporte de acetil-CoA para reacciones anabólicas. Así, por ejemplo, cuando la cadena respiratoria es inhibida en las mitocondrias, la β -oxidación de ácidos

grasos también se inhibe, debido al íntimo acoplamiento de ambos procesos para la transferencia de electrones. La β -oxidación en peroxisomas se encuentra fuera de este control, y además es exorgónica, por lo que en estas condiciones constituye una fuente de acetil-CoA para la síntesis de colesterol y ácidos biliares, o de distintas reacciones de acetilación.

Se sabe que las dietas ricas en grasas y la mayoría de los fármacos hipolipemiantes producen una inducción de la actividad peroxisómica (véase cap. 25), por lo que es posible que esta vía constituya también una forma de perder energía como respuesta a un aumento en la llegada de lípidos de la circulación al hígado. A su vez, la formación de peróxido de hidrógeno y su subsiguiente utilización por la *catalasa* en la oxidación de otras sustancias tales como etanol, puede formar parte de los procesos de desintoxicación hepática.

La función de la β -oxidación peroxisomal en vegetales está mejor definida. En ellos, estos orgánulos subcelulares reciben el nombre de *glioxisomas*, y como se describió en el capítulo 12, la vía permite la conversión de ácidos grasos en glucosa gracias a su acoplamiento con el ciclo del glioxilato. Las moléculas de acetil-CoA formadas en la β -oxidación glioxisomal son transferidas a las mitocondrias en forma de isocitrato que, a través del ciclo del ácido cítrico, llega a convertirse en oxaloacetato y éste es canalizado hacia la síntesis de glucosa. La ausencia de este ciclo en nuestro hígado y la irreversibilidad de la transformación del piruvato en acetil-CoA, catalizada por la *piruvato deshidrogenasa*, impide que los animales superiores aprovechemos la β -oxidación peroxisomal como fuente de carbonos procedentes de los ácidos grasos para la síntesis de glucosa.

Oxidación de los ácidos grasos insaturados

Los ácidos grasos insaturados son tan abundantes o más que los saturados, tanto en los lípidos de la dieta como en los de los propios tejidos animales. Por ello, contribuyen de forma activa e importante como sustratos energéticos en el metabolismo.

La degradación de los ácidos grasos insaturados se realiza, al igual que la de los ácidos grasos saturados, por medio de la β -oxidación hasta llegar a la formación de compuestos de naturaleza Δ^3 (cis)-enoilacil-CoA o Δ^2 (cis)-enoilacil-CoA, que no pueden servir como sustratos para la *acil-CoA deshidrogenasa* (que cataliza la formación de un doble enlace en posición Δ^2 de las formas trans) o para la Δ^2 *enoil-hidratasa* (que incorpora agua a los Δ^2 (trans)-enoil-CoA).

En el caso de la formación de compuestos Δ^3 (cis)-enoilacil-CoA, como ocurre, por ejemplo, en la β -oxidación del ácido oleico (Δ^9 (cis)-octadecanoico) (fig. 23.11), actúa la Δ^3 (cis)- Δ^2 (trans) *enoil-CoA isomerasa*, que cataliza de forma reversible la conversión del doble enlace en posición 3-4 a la posición 2-3, dando lugar al Δ^2 (trans)-enoilacil-CoA. Este compuesto ya es intermediario de la β -oxidación, y puede ser hidratado por la Δ^2 -*enoil-CoA hidratasa* a L(+)- β -hidroxiacil-CoA, hasta completar la vía (véase fig. 23.8).

Cuando se trata de compuestos Δ^2 (cis)-enoilacil-CoA, como sucede en la β -oxidación del ácido linoleico ($\Delta^{9,12}$ (cis)-octadecadienoico) (fig. 23.12), dicho compuesto es hidratado por la Δ^2 *enoil-CoA hidratasa*, formándose el D(-)- β -hidroxiacil-CoA. Por acción de la D(-)- β -*hidroxiacil-CoA epimerasa*, dicho compuesto es transformado en el L(+)- β -hidroxiacil-CoA, que ya es un intermediario de la β -oxidación, pudiendo proseguir ésta hasta su finalización.

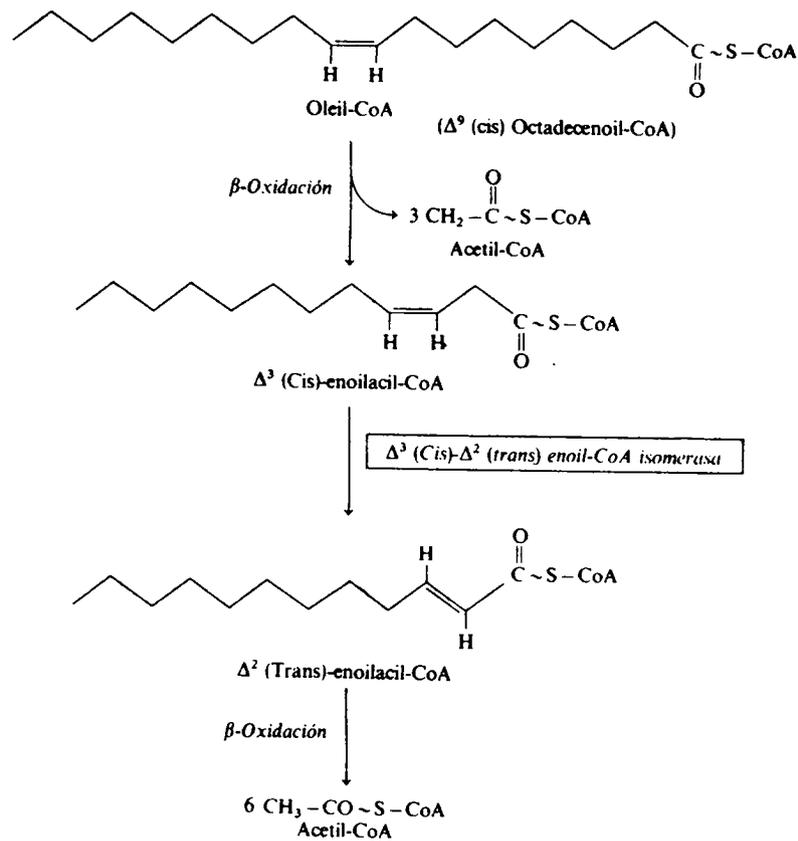


Figura 23.11. Oxidación de los ácidos grasos insaturados. Esquema de la β -oxidación del oleil-CoA.

Formas alternativas de degradación de los ácidos grasos

La β -oxidación es la principal vía de degradación de los ácidos grasos, pero hay otras que son también importantes en determinados tejidos o para determinado tipo de ácidos grasos.

La α -oxidación tiene lugar en el retículo endoplasmático de cerebro e hígado de mamíferos, y supone la hidroxilación directa del carbono en posición α de un ácido graso (sin necesidad de su activación a acil-CoA), dando lugar a su forma α -hidroxilada. Mediante la descarboxilación oxidativa, el ácido graso α -hidroxilado pierde un átomo de carbono, transformándose en ácido graso de número impar de átomos de carbono:

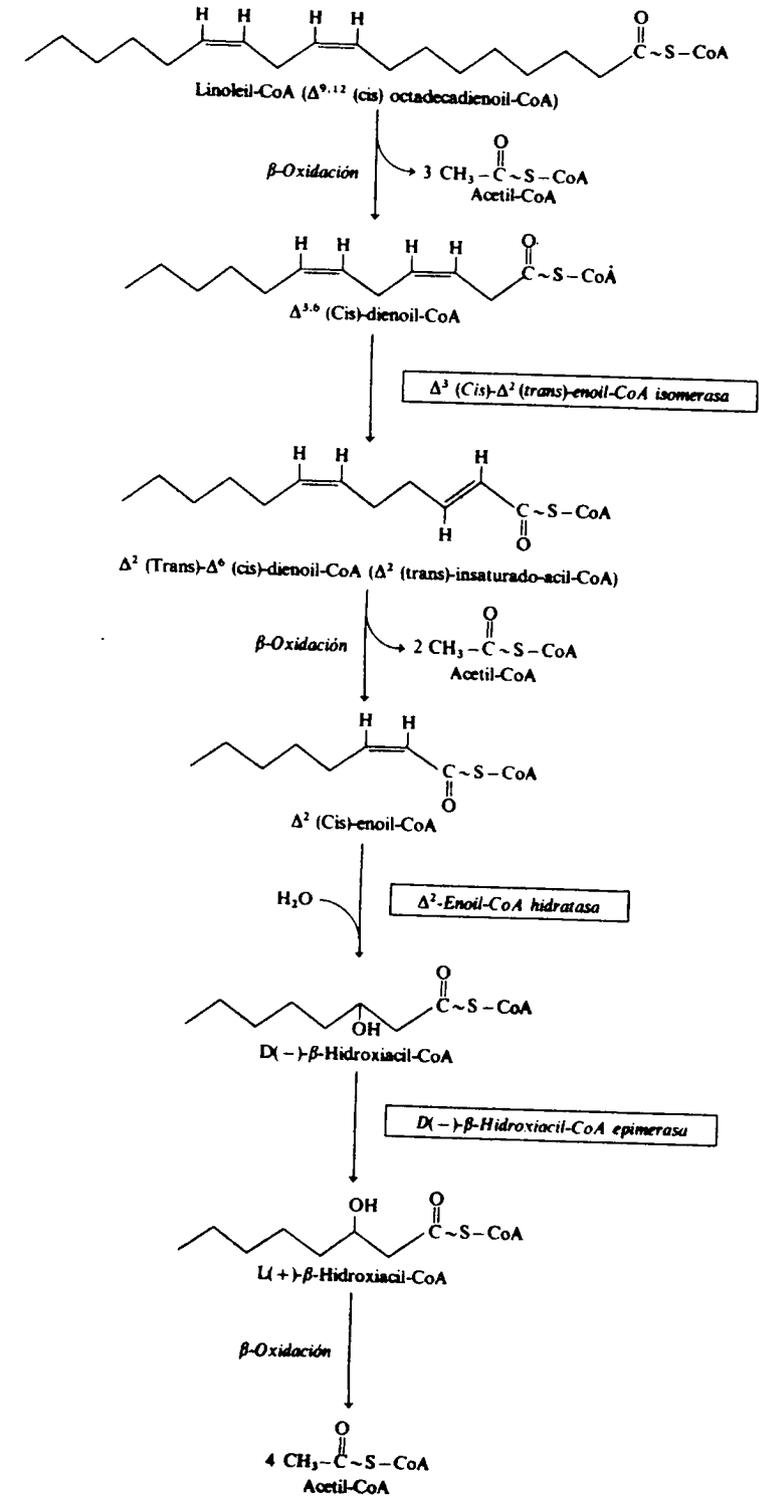
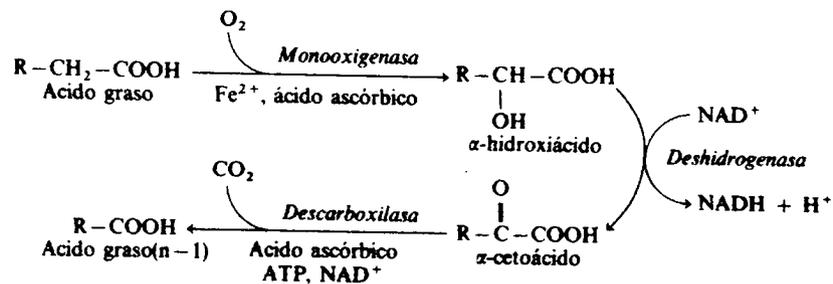
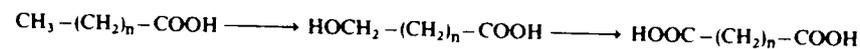


Figura 23.12. Oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. Esquema de la β -oxidación del linoleil-CoA.

El ácido fitánico (3,7,11,15-tetrametilhexanoico), de origen vegetal, únicamente puede ser oxidado por la α -oxidación, ya que la presencia de un grupo metilo en su carbono β impide la β -oxidación. Hay personas que carecen del sistema de α -oxidación, por lo que acumulan en sangre y tejidos dicho ácido, produciéndoseles un defecto neurológico (*enfermedad de Refsum*).

La ω -oxidación se ha detectado en retículo endoplasmático de células hepáticas, e implica la oxidación del carbono más alejado del carboxílico (carbono ω) de los ácidos grasos, dando lugar a un ω -alcohol y, posteriormente, a un ácido dicarboxílico:



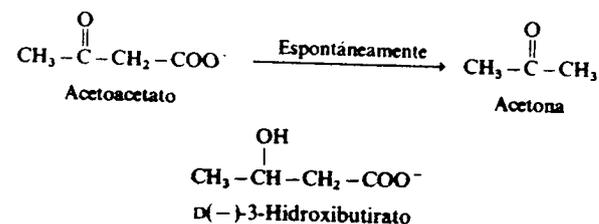
En la ω -oxidación se requiere citocromo P_{450} , oxígeno molecular, NADPH y los sistemas enzimáticos correspondientes (*monooxigenasa* y *NADPH-citocromo P_{450} reductasa*). El ácido dicarboxílico formado puede ser oxidado por la β -oxidación, dando lugar a ácidos grasos dicarboxílicos de cadena más corta.

La *peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados* también es una forma alternativa de su degradación, catalizada por enzimas presentes en retículo endoplasmático con la liberación de un átomo de hidrógeno y formación de radicales libres, que reajustan las posiciones de sus dobles enlaces. A estos dobles enlaces se incorpora oxígeno molecular, dando lugar a la formación de hidroperóxidos o endoperóxidos, que terminan rompiéndose en aldehídos de cadenas cortas.

METABOLISMO DE LOS CUERPOS CETONICOS

La principal vía de degradación de los ácidos grasos es la β -oxidación, cuyo producto final, el acetyl-CoA, entra en el ciclo del ácido cítrico para su completa oxidación a CO_2 y H_2O . Así pues, la β -oxidación supone la degradación completa de los ácidos grasos dentro de la misma célula, aportando una gran cantidad de energía, la cual es de enorme importancia para determinados tejidos, como el músculo (incluido el cardíaco), para la contracción o, como el tejido adiposo marrón, para la termogénesis.

Existe también la posibilidad de degradar parcialmente los ácidos grasos, en una vía derivada de la β -oxidación, con la formación de compuestos que no se oxidan completamente en el tejido (la célula) donde se sintetizan, sino que salen a la circulación para ser utilizados en otros lugares del organismo. Este es el caso de los denominados *cuerpos cetónicos* (acetoacetato y D(-)-3-hidroxiacetato), que se forman en el hígado en condiciones en que la β -oxidación de los ácidos grasos es alta, y difunden a la sangre para su utilización como sustratos energéticos por tejidos extrahepáticos. La acetona es considerada también un cuerpo cetónico (y de ella se deriva el nombre de estos compuestos), pero su formación se realiza de forma espontánea (sin interacción de ninguna enzima), por descarboxilación del acetoacetato, cuando los niveles de éste son muy altos en sangre:



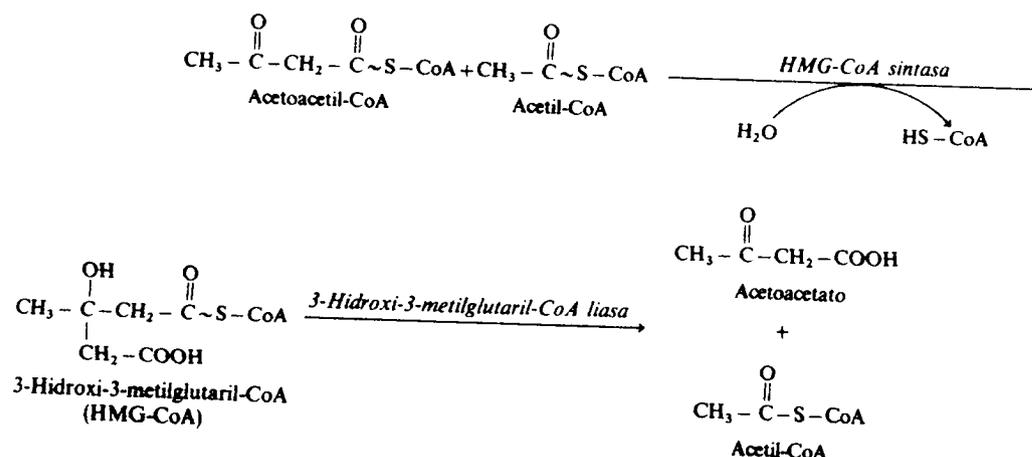
Los cuerpos cetónicos son los componentes de la sangre cuya concentración experimenta mayores cambios. Son casi indetectables en el individuo normal alimentado, pero aumentan enormemente en circunstancias en las que disminuyen las disponibilidades de sustratos hidrocarbonados para los tejidos, y se produce un aumento en la movilización de los ácidos grasos a partir de los triacilglicéridos del tejido adiposo (cuando se activa la lipólisis), como en el ayuno, el ejercicio severo o en la diabetes. También aumentan en sangre con una dieta rica en grasas.

La acidez del acetoacetato y del 3-hidroxiacetato (β -hidroxiacetato) normalmente es tamponada en la sangre y tejidos, pero cuando sus concentraciones se elevan mucho, llega a disminuir la reserva alcalina y se desencadena la cetoacidosis.

Cetogénesis

La síntesis de cuerpos cetónicos tiene lugar en el hígado, aunque en otros tejidos, como el riñón, también se encuentran enzimas de esta vía; enzimas que se localizan dentro de las mitocondrias, donde también tiene lugar la β -oxidación. De hecho, la cetogénesis se inicia a partir de acetoacetyl-CoA o de acetyl-CoA, que son productos de la β -oxidación mitocondrial, por lo que ambas vías se encuentran funcionalmente conectadas (fig. 23.13). Cuando el sustrato para la síntesis de cuerpos cetónicos es el acetyl-CoA, dos moléculas de este compuesto se condensan para formar una de acetoacetyl-CoA, mediante la reacción en sentido inverso catalizada por la *acetoacetyl-CoA tiolasa*, en el último paso de la β -oxidación.

La síntesis del acetoacetato se realiza por la condensación de acetoacetyl-CoA y acetyl-CoA, catalizada por la *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa (HMG-CoA sintasa)*, que da lugar a la formación de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Este compuesto es roto por la *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa (HMG-CoA liasa)*, produciendo acetoacetato libre y acetyl-CoA, en una reacción prácticamente irreversible:



El acetyl-CoA formado puede ser reutilizado para nueva síntesis de acetoacetyl-CoA. Existe también una vía alternativa para la formación de acetoacetato, que implica la deacilación del acetoacetyl-CoA por acción de la *acetoacetyl-CoA deacilasa*, pero la importancia cuantitativa de ésta parece ser inferior a la catalizada por la *3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa (β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA-sintasa)*.

Parte del acetoacetato del hígado es convertido a D(-)-3-hidroxiacetato en la

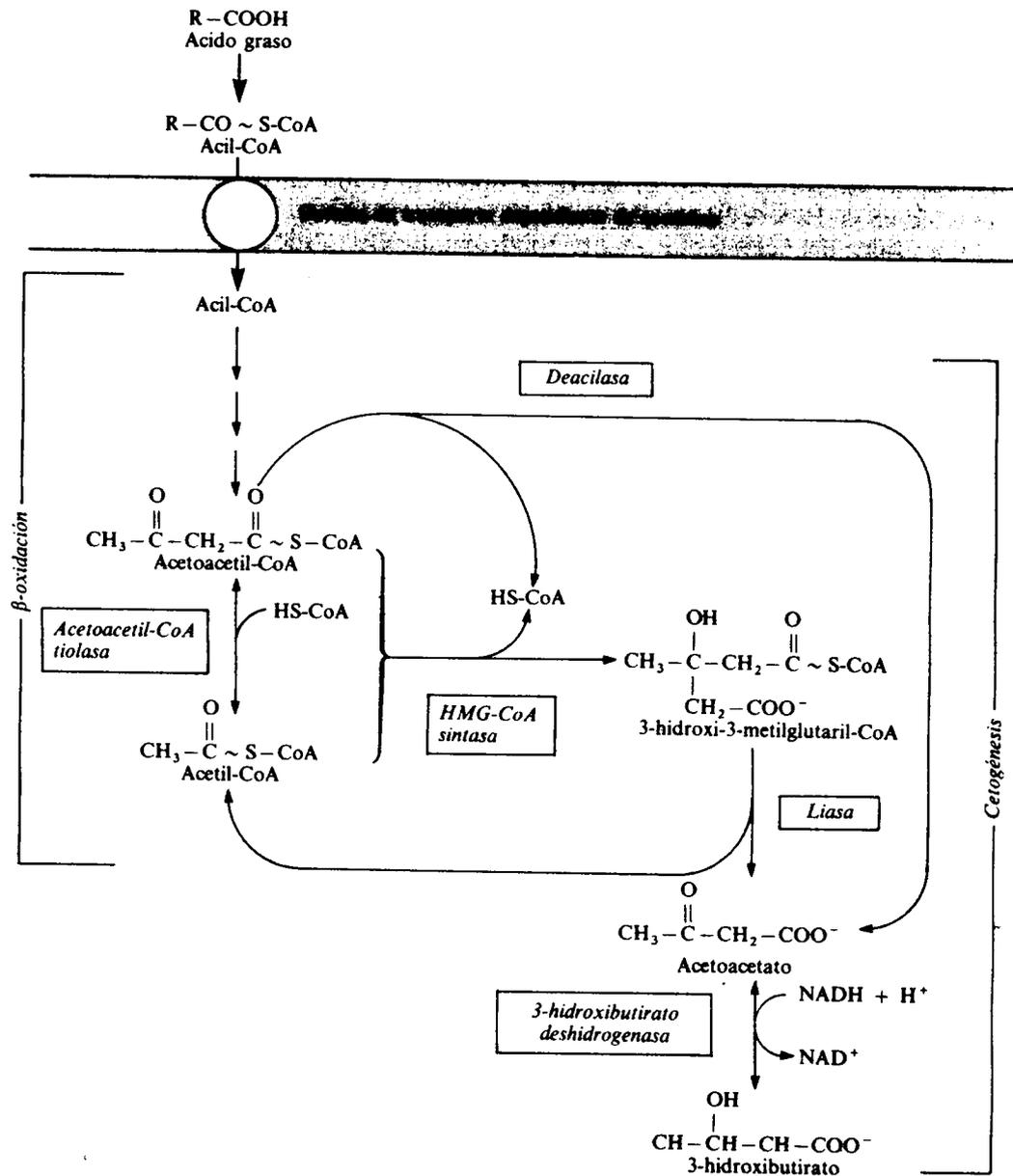


Figura 23.13. Reacciones de la síntesis de los cuerpos cetónicos, como derivación de la β -oxidación de los ácidos grasos.

propia mitocondria por acción de la *D(-)-3-hidroxi-3-metilglutarato deshidrogenasa*, que es reversible y utiliza como coenzima el NADH. De hecho, la proporción relativa de acetoacetato y *D(-)-3-hidroxi-3-metilglutarato* en el hígado es utilizada como índice del estado de reducción de NAD^+ en las mitocondrias:



de donde

$$\frac{\text{Acetoacetato}}{\text{D(-)-3-Hidroxi-3-metilglutarato}} = \frac{\text{NAD}^+}{\text{NADH} + \text{H}^+}$$

Utilización de cuerpos cetónicos por tejidos extrahepáticos

El hígado carece de enzimas para la activación del acetoacetato a acetoacetyl-CoA. Por ello, una vez formados, tanto acetoacetato como *D(-)-3-hidroxi-3-metilglutarato* difunden del hígado a la sangre y son captados por otros tejidos para su metabolización, que se realiza por dos posibles vías. Una de ellas implica la acción de la *acetoacetyl-CoA sintetasa* (o *acetoacetato tioquinasa*) que, con ATP y coenzima A, cataliza la síntesis de acetoacetyl-CoA a partir del acetoacetato directamente captado de la sangre, o formado del *D(-)-3-hidroxi-3-metilglutarato* por la *3-hidroxi-3-metilglutarato deshidrogenasa* (fig. 23.14). El acetoacetyl-CoA formado es roto en dos moléculas de acetyl-CoA por la acción de una *tiolasa*, y de esta forma puede entrar en el ciclo del ácido cítrico. La segunda vía implica la reacción del acetoacetato con el succinil-CoA por la acción catalítica de la *succinil-CoA acetoacetyl-CoA transferasa* (*tioforasa*). En ella, la coenzima A del succinil-CoA es transferida al acetoacetato, formándose acetoacetyl-CoA y succinato.

Con esta reacción se produce un salto en el ciclo del ácido cítrico, evitando el paso de succinil-CoA a succinato, que es catalizado por la *succinato tioquinasa*. Sin embargo, a partir de la molécula de acetoacetyl-CoA formada, se llegan a producir dos de acetyl-CoA, y con ello el consiguiente aporte de sustrato para nutrir el ciclo del ácido cítrico (fig. 23.14).

REGULACION DE LA OXIDACION DE ACIDOS GRASOS Y DE LA CETOGENESIS

Dada la íntima asociación entre estas dos vías, su regulación se realiza de forma simultánea y, de hecho, una activación de la β -oxidación de los ácidos grasos en el hígado va asociada normalmente a un incremento en la producción de cuerpos cetónicos.

Un factor importante que controla la actividad de estas dos vías es la disponibilidad de sus sustratos, los ácidos grasos libres. Como se ha discutido en el capítulo anterior, éstos llegan al hígado procedentes de la movilización de los triacilglicéridos del tejido adiposo (lipólisis), a través de la sangre. Por ello, condiciones que favorecen la lipólisis normalmente facilitan un incremento de la β -oxidación y la cetogénesis. Sin embargo, esto no ocurre así siempre, ya que los ácidos grasos pueden ser esterificados para la síntesis de triacilglicéridos hepáticos y de esta forma ser utilizados para la formación de VLDL, que vuelven a la circulación. Este proceso va a depender, entre otros factores, de la disponibilidad de glicerol-3-fosfato, de tal manera que cuando aumenta, se ve favorecida la esterificación de los acil-CoA, que son desviados de su entrada a las mitocondrias, impidiendo así su oxidación (fig. 23.15).

Un factor importante que controla la entrada de ácidos grasos dentro de las mitocondrias es la *acil-carnitina transferasa I*, cuya actividad es inhibida por el malonil-CoA (fig. 23.15). Este metabolito es un intermediario de la lipogénesis, y precisamente su aumento en la célula ocurre cuando esta vía está activada. Por este mecanismo, al inhibir a la *acil-carnitina transferasa I*, hace que cuando la actividad de lipogénesis es alta, la entrada de ácidos grasos (y, por tanto, su oxidación) a la mitocondria sea baja, y viceversa. Este control inverso de lipogé-

Mitochondrias de tejidos extrahepáticos

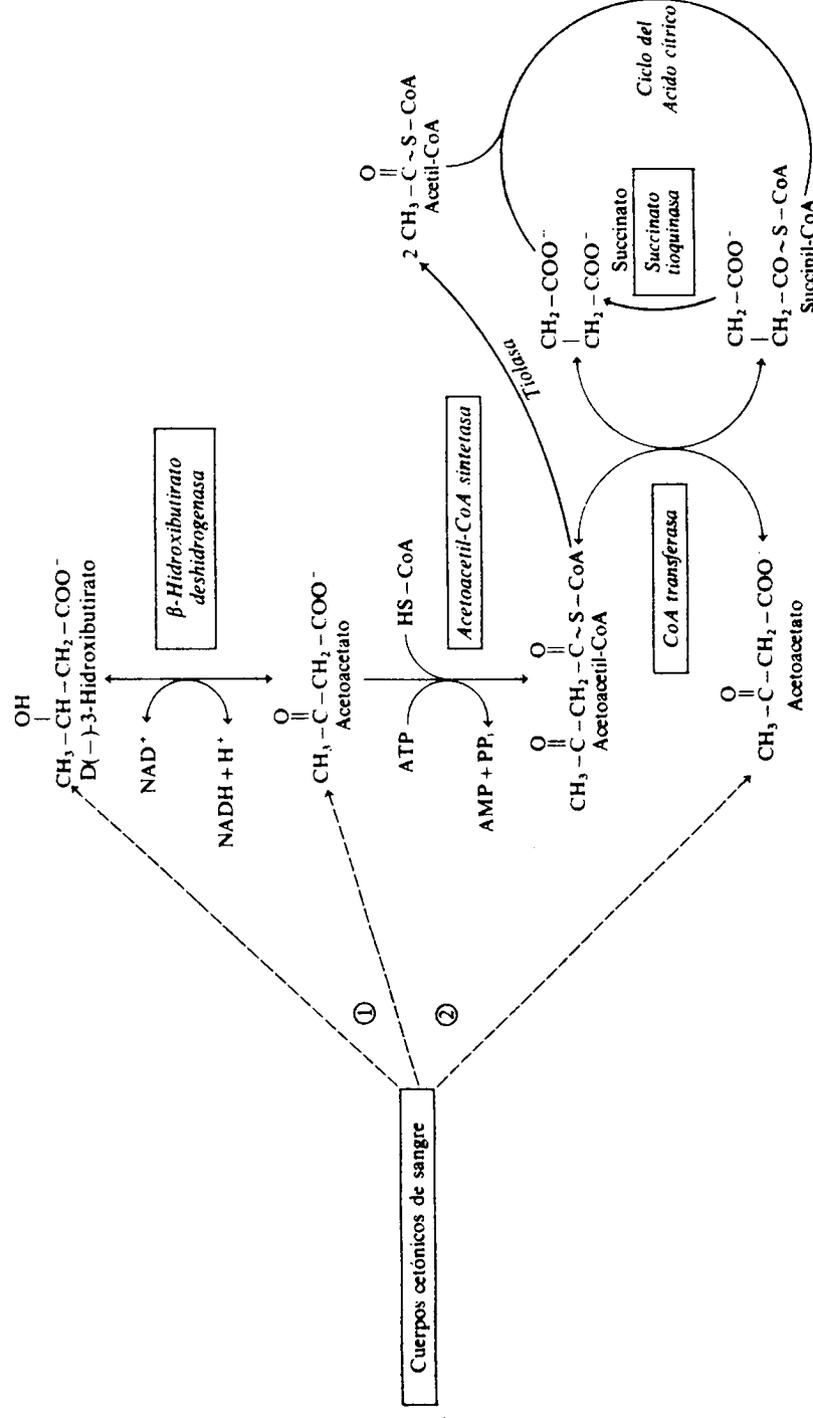


Figura 23.14. Utilización de los cuerpos cetónicos por los tejidos extrahepáticos por acción de la acetoacetil-CoA sintetasa (1) o la succinil-CoA acetoacetil-CoA transferasa (2).

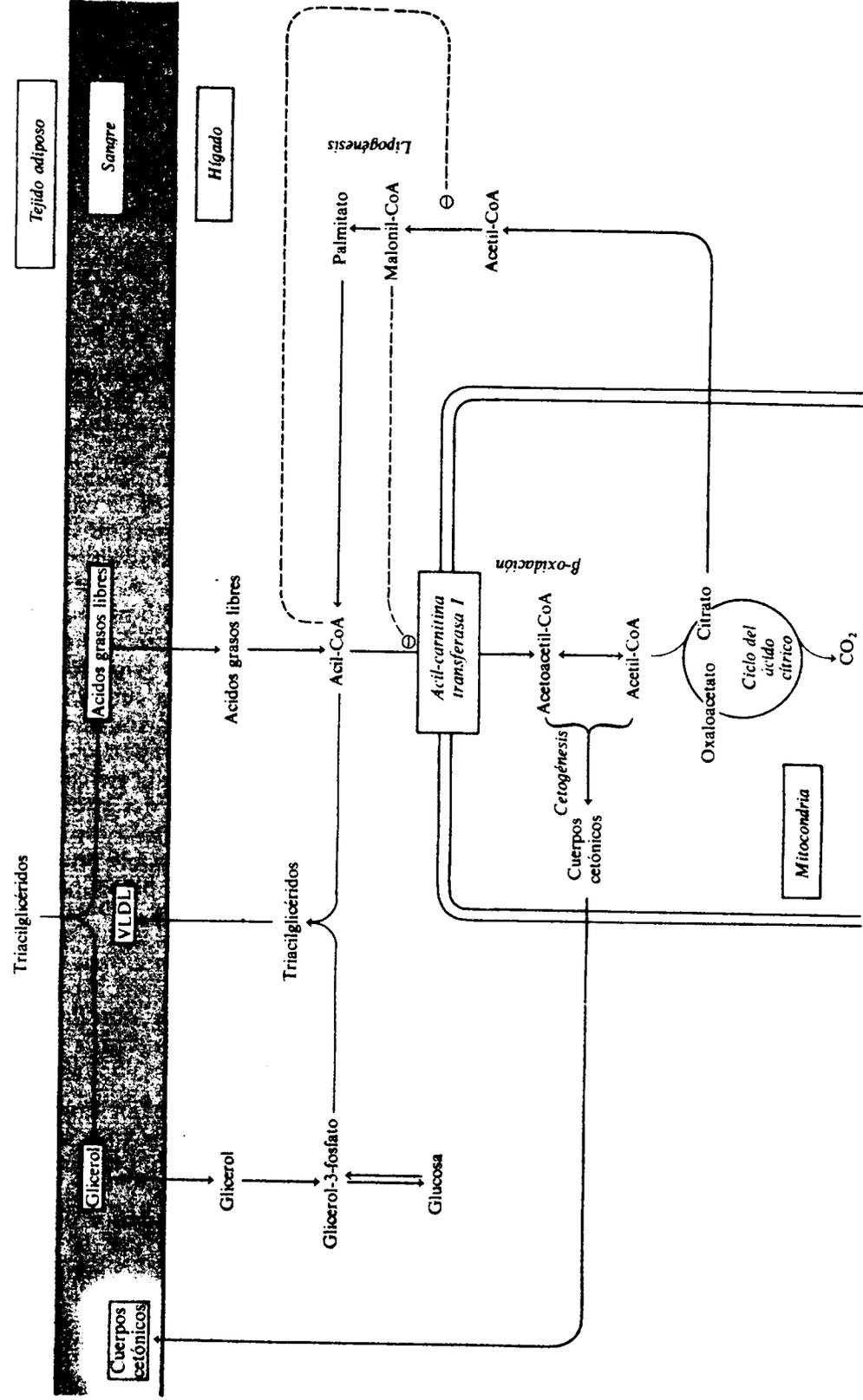


Figura 23.15. Regulación de la β-oxidación de ácidos grasos y cetogénesis. Véase texto.

sis y β -oxidación de ácidos grasos a nivel de la disponibilidad de éstos para su entrada a las mitocondrias o para su esterificación en el citoplasma, conviene contemplarlo con relación a los propios mecanismos de regulación de la lipogénesis (cap. 22). Así, un aumento en la utilización de carbohidratos (por ejemplo, por alimentación o por aumento de los niveles de insulina plasmática) favorece tanto la síntesis de ácidos grasos como la de glicerol-3-fosfato, activando la esterificación e inhibiendo el sistema de transferencia de grupos acilos a las mitocondrias. Por el contrario, una disminución de la disponibilidad de carbohidratos (por ejemplo, en ayunas o en la diabetes) inhibe la lipogénesis y la esterificación de los ácidos grasos, favoreciendo su entrada dentro de las mitocondrias.

También dentro de las mitocondrias hay un control de la β -oxidación y la cetogénesis. Tanto la degradación de ácidos grasos a acetyl-CoA como su subsecuente oxidación a CO_2 y H_2O por el ciclo del ácido cítrico, requieren ADP para su acoplamiento con la fosforilación oxidativa. Si la relación ATP/ADP en la mitocondria es alta (es decir, si no hay demanda de ATP), no funciona la cadena respiratoria y se inhibe la oxidación de ácidos grasos por imposibilidad de transferir a aquélla los electrones producidos en ésta. La inhibición de la β -oxidación por este mecanismo conlleva la consiguiente inhibición de la cetogénesis.

Otro control mitocondrial de estas vías se realiza a nivel de la disponibilidad de oxaloacetato para su acoplamiento con el acetyl-CoA en la síntesis de citrato. Cuando aumenta la gluconeogénesis, disminuye la concentración mitocondrial de oxaloacetato, ya que éste es canalizado hacia el citoplasma por las vías alternativas correspondientes (cap. 17) para la formación de fosfoenolpiruvato en la gluconeogénesis. Dicha disminución de oxaloacetato inhibe la síntesis de citrato, ya que junto al acetyl-CoA, es sustrato para esta reacción. De esta forma se impide la entrada en el ciclo del ácido cítrico del acetyl-CoA derivado de la β -oxidación de los ácidos grasos, por lo que se ve favorecida su utilización para la cetogénesis. Posiblemente este control tiene una importancia limitada en la regulación de estas vías, pero su acción coincide con las situaciones en las que está favorecida la entrada de ácidos grasos a las mitocondrias (por ejemplo, en ayunas, el ejercicio o la diabetes), sumando sus efectos a los otros mecanismos antes descritos. Al mismo tiempo, la menor formación de citrato por falta de oxaloacetato contribuye también al control inverso entre lipogénesis y β -oxidación, ya que para la primera función se requiere que el acetyl-CoA salga fuera de la mitocondria precisamente en forma de citrato (fig. 23.15).

ALGUNOS ASPECTOS PATOLOGICOS

Deficiencia de carnitina

Cuando el contenido muscular de carnitina es patológicamente bajo, se manifiesta una baja tolerancia al ejercicio y debilidad en las extremidades. Esta situación se acompaña de la aparición de vacuolas grasas en el músculo, que corresponden a un acúmulo de triacilglicéridos.

La carnitina participa en la transferencia de ácidos grasos al interior de las mitocondrias, para su oxidación, a través del sistema catalizado por la *acil-carnitina transferasa*. La deficiencia muscular de carnitina impide el funcionamiento de la reacción catalizada por esta enzima para la formación de acil-carnitina, por lo que los ácidos grasos del músculo no pueden entrar dentro de la mitocondria para ser oxidados. La β -oxidación es una fuente principal de energía para muchos tejidos, incluyendo el muscular. Ello justifica que estos pacientes presen-

ten debilidad muscular e intolerancia al ejercicio, por su incapacidad para lograr suficiente cantidad de energía derivada de la β -oxidación. Esto lo compensan parcialmente utilizando una mayor proporción de glucosa, ya que la entrada del piruvato derivado de la glucólisis a las mitocondrias no es dependiente de carnitina y lo pueden oxidar a acetyl-CoA para «alimentar» el ciclo del ácido cítrico, con la consiguiente producción de energía. La mayor utilización de glucosa en el músculo de estos pacientes favorece la formación de glicerol-3-fosfato para la esterificación de los ácidos grasos que le llegan (y que no pueden oxidar). Al mismo tiempo, la inhibición de la β -oxidación y la activa formación de citrato a partir de glucosa favorecen la síntesis de ácidos grasos, y todo ello contribuye al acúmulo de triacilglicéridos que existe en el músculo de estos pacientes.

Cetoacidosis diabética

El primer defecto metabólico que se manifiesta en los individuos diabéticos es un aumento en los niveles plasmáticos de glucosa, lo cual es consecuencia de una disminución de su captación por los tejidos y un aumento de su producción (la gluconeogénesis se encuentra activada). Todo ello, como resultado de una falta (o disminución) de insulina circulante, de una menor sensibilidad a esta hormona o de los dos procesos.

La menor disponibilidad de glucosa por los distintos tejidos desencadena una serie de efectos metabólicos, entre los que se encuentra la activación de la lipólisis del tejido adiposo (inducida también por la falta de insulina y aumento de las hormonas lipolíticas, tales como glucagón o la hormona del crecimiento). Esto hace que aumente la llegada de ácidos grasos libres al hígado, los cuales desencadenan, a su vez, un incremento en la concentración de sus formas activas (acil-CoA). Los acil-CoA inhiben la lipogénesis, por mecanismo *feed-back*, a nivel de la *acetyl-CoA carboxilasa*, con lo que producen una disminución en la concentración del producto de la reacción catalizada por esta enzima, el malonil-CoA. Este metabolito es inhibidor de la *acil-carnitina transferasa I* (fig. 23.15), por lo que su disminución favorece la actividad de esta enzima, que participa en la entrada de los ácidos grasos dentro de la mitocondria para su oxidación. El acetyl-CoA formado en la β -oxidación de los ácidos grasos debería acoplarse con el oxaloacetato para ser oxidado en el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, en la diabetes la gluconeogénesis está activada, y el oxaloacetato intramitocondrial está siendo canalizado al citoplasma para la formación de fosfoenolpiruvato, en dicha vía. La baja concentración de oxaloacetato dentro de las mitocondrias impide su condensación con el acetyl-CoA en la síntesis de citrato. Ello hace que el acetyl-CoA sea derivado hacia la síntesis de acetoacetato que, por reducción enzimática, se transforma en 3-hidroxiacetato, y por descarboxilación espontánea en acetona. Estos tres cuerpos cetónicos llegan a aumentar enormemente en la sangre de individuos con diabetes descompensada (alcanzan valores de hasta 350 mg/dl, cuando los niveles normales oscilan entre 0-3 mg/dl). La acetona, debido a su alta presión de vapor, es eliminada en forma gaseosa por los pulmones, produciendo un olor característico en el aliento. Acetoacetato y 3-hidroxiacetato son moderadamente ácidos y disminuyen el pH de la sangre y la orina. Al aumentar la acidez de la sangre se forma ácido carbónico en mayor proporción, lo que estimula el centro respiratorio para eliminar el exceso de CO_2 , y produce una respiración profunda en el paciente. Este conjunto de efectos se une a la hiperglucemia y glucosuria, desencadenando una diuresis osmótica y un desequilibrio iónico, con pérdida de

Na⁺ por la orina para neutralizar los ácidos orgánicos (cuerpos cetónicos, excretados por ella).

Los efectos combinados de deshidratación y acidosis, con pérdida de electrolitos, producen graves trastornos en el metabolismo y función cerebral, que en situaciones extremas desencadenan la aparición del coma.

TEXTOS DE CONSULTA

- Angel, A.; Hollenberg, Ch. H., y Roncari, D. A. K. (eds.): *The adipocyte and obesity*, Raven Press, Nueva York, 1983.
- Arias, I. M.; Jakoby, W. B.; Popper, H.; Schachter, D., y Shafritz, D. A. (eds.): *The liver, Biology and Pathobiology*, 2.ª ed., Raven Press, Nueva York, 1988.
- Bancks, P.; Bartley, W., y Birt, L. M.: *The biochemistry of the tissues*, 2.ª ed., John Wiley & Sons, Chichester y Nueva York, 1978.
- Borst, P.: «Animal peroxisomes (microbodies), lipid biosynthesis and the Zellweger syndrome», *TIBS-Agosto*, págs. 269-272, 1983.
- Debeer, L. J.; Beynen, A. C.; Mannaerts, G. P., y Geelen, M. J. M.: «Lipolysis of hepatic triacylglycerol stores», *FEBS Letters*, 140:159-164, 1982.
- Foster, D. W.: «From glycogen to ketones, and back», *Diabetes*, 33:1188-1199, 1984.
- Greenwood, M. R. C.; Cleary, M.; Steingrimsdottir, L., y Vasselli, J. R.: «Adipose tissue metabolism and genetic obesity: the LPL hypothesis», *Recent Advances in Obesity Research*, vol. III, 75-79, 1982.
- Herrera, E.: «Regulación del metabolismo del tejido adiposo», *Annals de Medicina*, LXVII, 415-427, 1981.
- Herrera, E., y Ayanz, L.: «Calculation of lipolysis and esterification from glycerol metabolism in rat adipose tissue», *J. Lipid Res.*, 13:802-809, 1972.
- Lane, M.-D., y Mooney, R. A.: «Tricarboxylic acid cycle intermediates and the control of fatty acid synthesis and ketogenesis», en *Current Topics in Cellular Regulation*, Academic Press, Inc., Londres y Nueva York, vol. 18, 221-241, 1981.
- Lazarow, P. B.: «Compartmentation of β -oxidation of fatty acids in peroxisomes», en *Metabolic Compartmentation*, H. Sies, ed., Academic Press, Londres y Nueva York, 1982, págs. 317-329.
- Lin, E. C. C.: «Glycerol utilization and its regulation in mammals», *Ann. Rev. Biochem.*, 46:765-795, 1977.
- McGarry, J. D., y Foster, D. W.: «Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production», *Ann. Rev. Biochem.*, 49:395-420, 1980.
- Mead, J. F.; Affin-Slater, R. B.; Howton, D. R., y Popják, G. (eds.): *Lipids. Chemistry, Biochemistry and Nutrition*, Plenum Press, Nueva York y Londres, 1985.
- Pohl, S. L.: «Cyclic nucleotides and lipolysis», *Intern. J. Obesity*, 5:627-633, 1981.
- Rery, F., y Balasse, E. O.: «Ketone body production and disposal in diabetic ketosis», *Diabetes*, 34:326-332, 1985.
- Sims, E. A. H.: «Syndromes of obesity», en *Endocrinology*, L. S. Decroot (ed.), Grune & Stratton Inc., Nueva York, págs. 1941-1962, 1979.
- Strålfors, P.; Olsson, H., y Belfrage, P.: «Hormone sensitive lipase», en *The Enzymes*, vol. XVIII, Boyer, P. D., y Krebs, E. G. (eds.), Academic Press Inc., Nueva York y Londres, págs. 147-177, 1987.
- Thorpe, C.: «Green enzymes and suicide substrates: a look at the acyl-CoA deshydrogenases in fatty acid oxidation», *TIBS*, abril, págs. 148-151, 1989.
- Thurman, R. G.; Kauffman, F. C., y Jungerman, K. (eds.): *Regulation of hepatic metabolism, Intra- and Intercellular compartmentation*, Plenum Press, Nueva York y Londres, 1986.
- Treble, D. H., y Mayer, J.: «Glycerolkinase activity adipose tissue of obese hyperglycaemic mice», *Nature*, 200:363-364, 1963.
- Zammit, V. A.: «Intrahepatic regulation of ketogenesis», *TIBS-Febrero*, págs. 46-49, 1981.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)



Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares

EMILIO HERRERA

El *colesterol* es un componente esencial de todos los tejidos, ya que forma parte de la estructura de las membranas celulares y es precursor inmediato de una serie de sustancias esenciales tales como vitaminas, hormonas esteroideas y ácidos biliares. Es por ello por lo que todas las células tienen colesterol o compuestos que se asemejan mucho a él, como el hopano y sus derivados, que reciben globalmente el nombre de *hopanoides*, y proceden de la misma molécula precursora, el *escualeno* (fig. 24.1). Estos hopanoides se han encontrado en bacterias y algunas plantas, así como en petróleos crudos y sedimentos de más de quinientos millones de años, en proporciones considerablemente altas (del orden del 5 por 100 de la materia orgánica de tales sedimentos), creyéndose en la actualidad que constituyen las biomoléculas más abundantes del planeta. Tanto los hopanoides como el colesterol se forman mediante la ciclación del escualeno, pero mientras que en el primer caso el proceso se realiza en ausencia de oxígeno, en el del colesterol se requiere oxígeno molecular. Debido a esta diferencia, el colesterol no apareció en el proceso evolutivo de los seres vivos hasta que la atmósfera fue aerobia, lo que justifica que su presencia se circunscriba a las células eucarióticas, mientras que las procarionóticas disponen de hopanoides.

El colesterol del organismo procede de su absorción intestinal del presente en la dieta o de su síntesis *de novo* a partir de acetyl-CoA. Dicha síntesis tiene lugar prácticamente en todos los tejidos, pero es especialmente activa en hígado, corteza renal, piel, intestino y aorta. La proporción de colesterol procedente de la síntesis endógena suele ser mayor que la absorbida de la dieta, y el conjunto de los dos supera a la cantidad de colesterol consumida por el organismo, lo que obliga a metabolizar o excretar, o ambas cosas, el exceso de colesterol para lograr mantener un equilibrio. Por desgracia, los mamíferos carecemos de las enzimas necesarias para degradar el núcleo de la molécula del colesterol, por lo que sólo podemos modificar ligeramente su estructura. Debido a ello, el colesterol es excretado del organismo en forma inalterada o tras su transformación en otros productos esteroideos tales como los *ácidos biliares* o las hormonas esteroideas.

La cantidad de colesterol de la dieta varía notablemente de un día a otro, lo que obliga a la existencia de mecanismos de control que permitan mantener el equilibrio entre las velocidades de síntesis y excreción en relación con el que es absorbido. Tales mecanismos de control suelen funcionar correctamente, y garan-

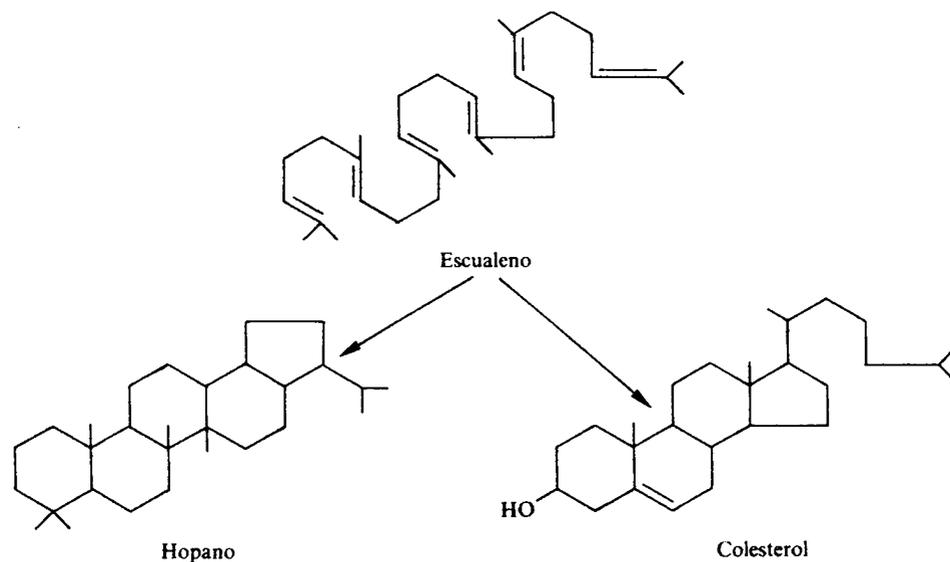


Figura 24.1. Diagrama simplificado de la formación del hopano y el colesterol a partir de una molécula común, el escualeno.

tizan la disponibilidad de las cantidades adecuadas de colesterol que satisfacen las necesidades de los distintos tejidos. En situaciones patológicas tiene lugar un desequilibrio de dichos procesos, lo que lleva a un incremento en los niveles circulantes de colesterol o a un exceso del mismo, que es eliminado por vía biliar. En el primer caso, los ésteres de colesterol pueden llegar a acumularse en las células de la pared arterial y originar el desarrollo de la *aterosclerosis*. En el segundo, la bilis puede llegar a sobresaturarse de colesterol, que al final precipita, dando lugar a *cálculos biliares*.

Tabla 24.1

PREMIOS NOBEL CONCEDIDOS POR ESTUDIOS REALIZADOS SOBRE EL COLESTEROL

En Química, por estudios sobre su estructura:

Wieland, H. O., 1927
Windaus, A. O. R., 1928
Ruzicka, L., 1939
Robinson, R., 1947
Diels, O. P. H., 1950
Barton, D. H. R., 1965
Hassel, O., 1965
Conforth, J. W., 1975

En Fisiología y Medicina, por estudios realizados sobre su biosíntesis:

Bloch, K. E., 1964
Lynen, F., 1964

En Química, por estudios sobre su síntesis:

Woodward, R. B., 1965

En Fisiología y Medicina, por estudios sobre su transporte y captación celular:

Brown, M. S., 1985
Goldstein, J. L., 1985

Tanto la abundancia y universalidad del colesterol y sus derivados en los seres vivos como sus implicaciones clínicas, ponen de manifiesto la importancia y el interés de esta molécula. De hecho constituye el compuesto más galardonado de toda la bioquímica: hasta la fecha se han concedido ya 13 premios Nobel a investigadores que han dedicado sus esfuerzos a estudiar distintos aspectos de la estructura y metabolismo del colesterol (tabla 24.1).

BALANCE DE COLESTEROL EN EL ORGANISMO

Como se indica en la figura 24.2, existen cinco aspectos o procesos funcionales que participan en el balance general del colesterol en el organismo, y que contribuyen a mantener prácticamente constante el acervo (o *pool*) de colesterol en el individuo adulto. El contenido de colesterol varía de unos tejidos a otros; por ejemplo, es de 0,5 g/kg en el músculo y de 15 g/kg en el cerebro, pero en el individuo completo es de aproximadamente 1,4 g/kg.

Como también se puede observar en la figura 24.2, hay sólo dos fuentes de colesterol en el organismo: el absorbido de la dieta y el de síntesis endógena. De forma similar, hay también dos vías principales de eliminación del colesterol del organismo: una, su excreción en forma inalterada a través de las secreciones y pérdidas celulares de la piel, de la descamación de las células del tracto gastrointestinal y de las secreciones pancreática, gástrica, intestinal y de los canaliculos hepáticos. La otra es su eliminación después de haber sido transformado en sales biliares u hormonas esteroideas, las cuales son a su vez excretadas a través del tracto gastrointestinal o la orina.

Existe una tercera vía de eliminación de colesterol del pool general, del organismo, que es su incorporación a los tejidos nuevos. Esta vía en el adulto puede considerarse minoritaria, pues aunque existe un progresivo acúmulo de colesterol en determinadas zonas, como la pared de los vasos sanguíneos y el plasma, la cantidad de colesterol permanece prácticamente inalterada en la mayoría de los tejidos durante períodos muy prolongados. Sin embargo, en el individuo en fase de crecimiento dicha vía es cuantitativamente importante, ya que debe incrementarse una media aproximada de 1,4 g de colesterol por cada kilogramo de peso

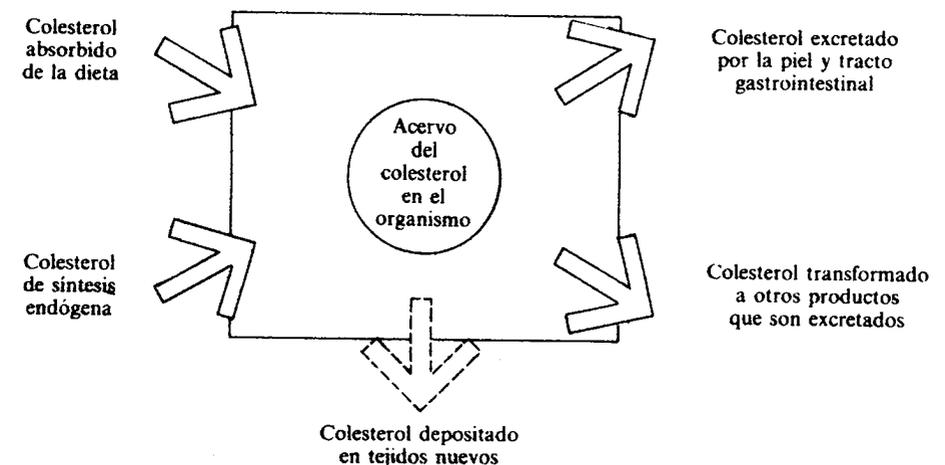


Figura 24.2. Esquema general del balance de colesterol en el organismo.

corporal ganado. Ello implica que, bajo tales circunstancias, la entrada de colesterol al organismo debe superar a su excreción, para mantener así el adecuado balance positivo.

ABSORCION DE COLESTEROL

El colesterol que se encuentra en la luz del intestino delgado procede de dos fuentes: 1) exógena, de la dieta, y 2) endógena, de la bilis y de la descamación de las células epiteliales.

La absorción del colesterol procedente de la dieta no es más que un caso particular de la digestión y absorción de los demás lípidos, comentados en el capítulo 21, por lo que aquí vamos a limitarnos a resumir sus aspectos más específicos. El colesterol de la dieta es muy variable, pudiendo oscilar entre 2 g y un valor medio de 200 a 700 mg por día. Llega al estómago junto con los demás lípidos en forma de una emulsión elemental (fig. 24.3), cuya composición varía con la de la dieta. En el duodeno, estas partículas de emulsión son modificadas por dos secreciones: el jugo pancreático y la secreción biliar. Las enzimas lipolíticas del jugo pancreático (*lipasa pancreática* y *fosfolipasa A₂*) convierten algunos lípidos presentes en dichas partículas en «detergentes» (los triacilglicéridos en monoacilglicéridos y los fosfoglicéridos en lisofosfoglicéridos) (véase fig. 21.1), y de esta forma facilitan su emulsificación, disminuyendo el tamaño de las partículas de emulsión (fig. 24.4). Al mismo tiempo, la *colesterol esterasa* (*colesterol éster hidrolasa*), también presente en el jugo pancreático, transforma los ésteres de colesterol en colesterol y ácido graso libre, y es precisamente en esta forma libre como es absorbido el colesterol.

El colesterol intestinal de origen endógeno es incluso más abundante que el de la dieta; el procedente de la bilis llega a superar 1 g/día, y a éste se une el de las células epiteliales, que poseen una elevada actividad sintética y una rápida velocidad de intercambio, aunque no ha podido determinarse con precisión la cantidad de colesterol que liberan. El colesterol biliar se encuentra casi por completo en forma libre. Por otro lado, la bilis contiene también fosfolípidos y sales biliares, moléculas anfipáticas (con regiones hidrofóbicas e hidrofílicas), y, por tanto, con características de detergente; por lo que al mezclarse con las partículas de emulsión facilitan su emulsificación, transformándolas en micelas (fig. 24.3). El colesterol libre, debido a su insolubilidad en el medio acuoso, se ubica en el interior de estas partículas, cuyos componentes lipídicos se encuentran en equilibrio dinámico (es decir, saltan con facilidad de la capa externa al interior, y viceversa), y precisamente por medio de ellas se absorbe el colesterol.

En las vellosidades de la mucosa intestinal hay glicoproteínas con mucopolisacáridos sulfatados y agua, que constituyen la denominada *capa de agua inmóvil* (fig. 24.3). Esto hace que las micelas no sean captadas *in toto*, sino que vayan cediendo paulatinamente sus componentes al borde en cepillo de dichas células epiteliales. En el caso concreto del colesterol, la absorción se realiza de forma preferente en el yeyuno, y precisamente en la región media de dichas vellosidades. El paso del colesterol libre de la micela a la célula intestinal es pasivo, y depende del gradiente de concentración del propio colesterol libre, aunque el mecanismo intrínseco del proceso no se conoce bien.

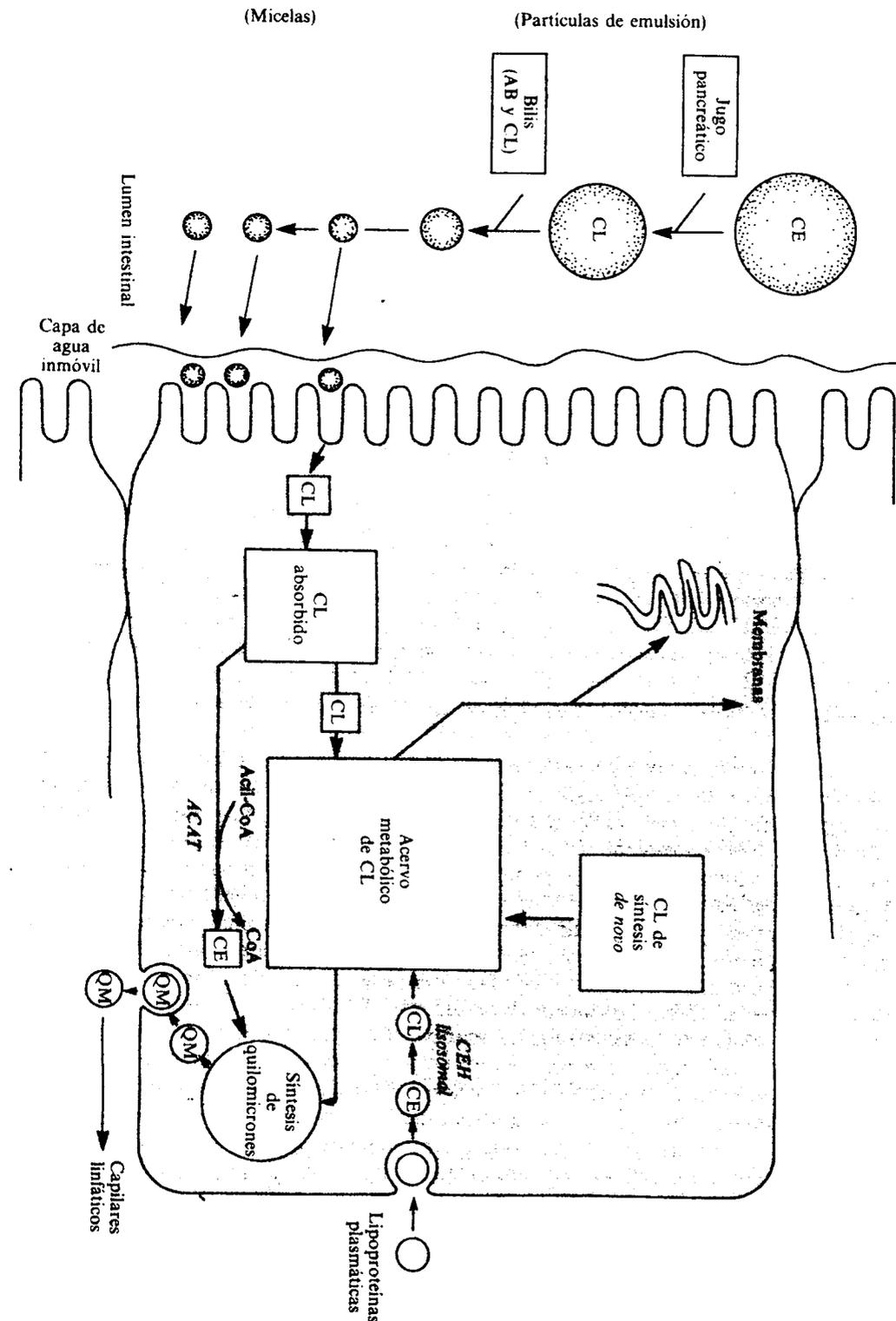


Figura 24.3. Proceso de la absorción del colesterol. CE: colesterol esterificado; CL: colesterol libre; ACAT: acilcoenzima-A, colesterol acil transferasa; CEH: colesterol éster hidrolasa; QM: quilomicrones.

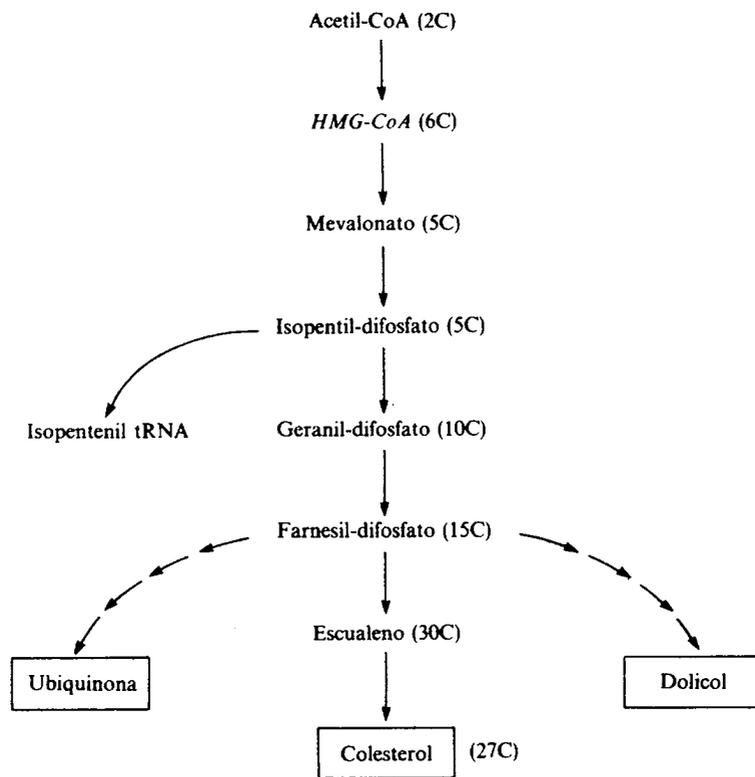
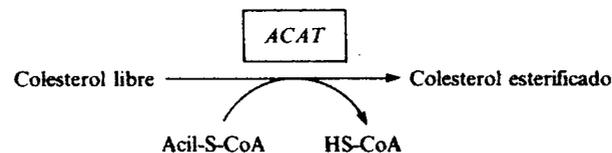


Figura 24.4. Esquema simplificado de la síntesis de colesterol en el hombre.

Dentro de la mucosa intestinal, el colesterol procede también de la propia síntesis celular; de hecho, hasta un 25 por 100 de todo el colesterol sintetizado en el organismo proviene de la mucosa intestinal. Además, las células intestinales captan también colesterol de la sangre, que les llega preferentemente en forma esterificada asociado a las lipoproteínas circulantes. Sin embargo, por acción de una *colesterol éster hidrolasa* lisosómica, es hidrolizado a colesterol libre, uniéndose al de síntesis y al absorbido, para constituir el denominado acervo o «pool» metabólico intracelular de colesterol libre. Para mantener un gradiente positivo de colesterol libre hacia el interior celular, que permita la absorción del existente en la luz intestinal, dicho colesterol debe ser esterificado activamente.

En las células de la mucosa intestinal hay dos enzimas capaces de esterificar el colesterol, la *colesterol esterasa* (*colesterol éster hidrolasa*) y la *acil-coenzima A: colesterol acil-transferasa* (*ACAT* o *colesterol aciltransferasa*). La primera es citosólica, depende del pH y de las concentraciones de sustratos y productos, y cataliza la reacción en ambas direcciones, por lo que tiene escasa importancia cuantitativa en este proceso. La *ACAT*, sin embargo, desempeña un papel fundamental; de hecho, su actividad es máxima en el yeyuno, lo que justifica que sea precisamente aquí donde ocurra de forma preferente la absorción del colesterol. Es microsómica y cataliza la siguiente reacción:



Su actividad aumenta cuando las cantidades de colesterol de la dieta son elevadas, lo que, junto a su ubicación intestinal y al hecho de que su inhibición por distintos agentes reduce la absorción del colesterol, permiten atribuirle un papel modulador del proceso. Por ello, una de las estrategias farmacológicas que se están utilizando para reducir la absorción intestinal de colesterol en situaciones patológicas es la administración de sustancias inhibitoras de la *ACAT*, tales como las amidas aciladas. A pesar de esta estrecha relación entre la absorción del colesterol y la actividad de la *ACAT* en la mucosa intestinal, la participación de la enzima en el proceso es indirecta. Como se observa en la figura 24.3, la *ACAT* disminuye el acervo intracelular de colesterol libre, facilitando la esterificación del colesterol y favoreciendo así su gradiente hacia el interior. Una pequeña proporción del colesterol libre y todo el esterificado formado en la mucosa intestinal, se une a otros lípidos absorbidos o de síntesis endógena y a las apoproteínas correspondientes para la síntesis de los quilomicrones, que fue descrita ya en el capítulo 21. Dichos quilomicrones salen a los vasos linfáticos y finalmente llegan a la circulación sistémica, a través de la cual transportan el colesterol procedente de la dieta a distintos tejidos, y en particular al hígado (véase cap. 25).

SINTESIS DEL COLESTEROL

La segunda fuente principal de colesterol en el organismo es su síntesis *de novo*, la cual varía de unas especies a otras, y dentro de una misma especie en función de la edad, el estado nutricional y otros muchos factores, pudiendo superar a veces al colesterol de la dieta. De cualquier manera, parece existir una relación inversa entre la cantidad total de colesterol sintetizado por kilogramo de peso corporal y la masa corporal total. Así, mientras que en el hombre adulto se sintetizan aproximadamente 9 mg/kg/día, en el conejo son unos 30 mg y en la rata 110 mg. De todos modos, incluso en condiciones de alto contenido de colesterol en la dieta, la cantidad de colesterol sintetizada en el hombre puede superar en 2 ó 3 veces la absorbida, mientras que en la rata ocurre lo contrario, ya que el colesterol de síntesis es muy inferior al absorbido cuando la dieta es rica en este compuesto.

Prácticamente todos los tejidos con células nucleadas están capacitados para sintetizar colesterol, en un proceso que se lleva a cabo de forma escalonada y que ocurre en su totalidad fuera de las mitocondrias, con participación de las fracciones microsómica y soluble del citoplasma. Sin embargo, el sustrato es el acetil-CoA, que procede en su mayor parte del interior de las mitocondrias, de las que sale por los mecanismos descritos en el capítulo 22 para la síntesis de ácidos grasos.

La síntesis global del colesterol puede considerarse dividida en las siguientes etapas:

1. Formación de mevalonato a partir de acetil-CoA.
2. Transformación de mevalonato en escualeno.
3. Transformación del escualeno en colesterol.

Estas etapas están esquematizadas en la figura 24.4, donde vemos que en los pasos comprendidos entre mevalonato y escualeno existen tres derivaciones: una a nivel del isopentil-difosfato, para la síntesis del isopentil-tRNA, que participa en la síntesis de proteínas, y dos a nivel del farnesil-difosfato, para su transformación en dolicol, un alcohol de cadena larga que participa en la síntesis de glicoproteínas, o en ubiquinona, que es una coenzima de la cadena respiratoria.

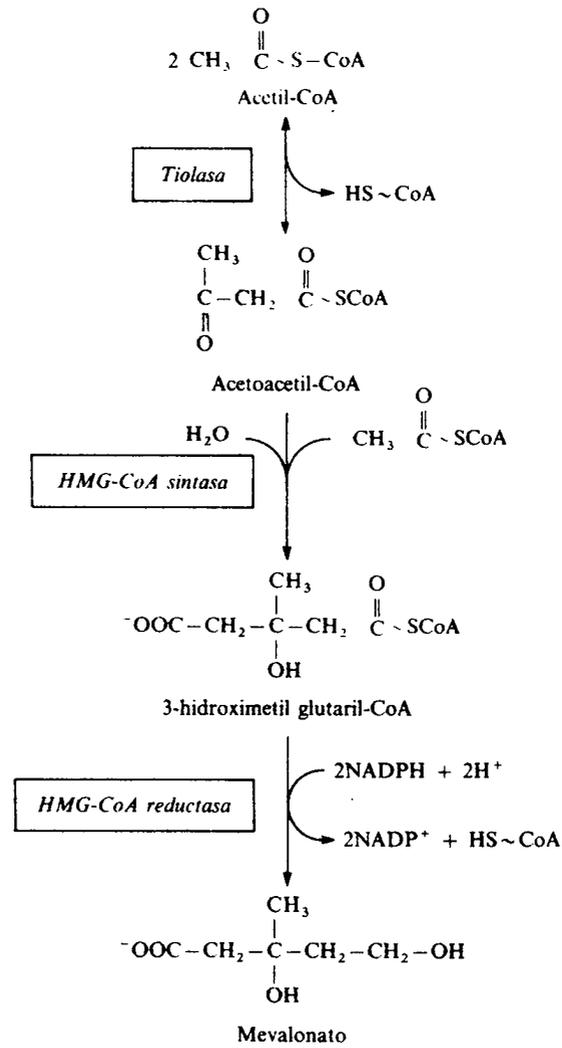


Figura 24.5. Formación de mevalonato a partir de acetil-CoA, en la biosíntesis de colesterol.

Formación de mevalonato

Se conocen dos vías para la síntesis de mevalonato a partir de acetil-CoA: una a través de la 3-hidroximetil glutaril-coenzima A (HMG-CoA), y otra mediante la formación de un complejo en el que el 3-hidroximetil-glutarilo se une a la enzima por un puente sulfuro (-S-). La primera de estas vías se considera prioritaria, y transcurre por las mismas reacciones que las de síntesis de los cuerpos cetónicos, con la diferencia de ser extra en vez de intramitocondrial, por lo que ambas vías están claramente diferenciadas dentro de la célula. Como se observa en la figura 24.5, dos moléculas de acetil-CoA se fusionan por acción de una *tiolasa* para dar lugar al acetoacetil-CoA, dejando libre una molécula de coenzima A. Por acción de la *3-hidroximetil glutaril-CoA sintasa* (*HMG-CoA sintasa*) se incorporan al acetoacetil-CoA dos átomos de carbono procedentes de una nueva molécula de acetil-CoA, formándose el 3-hidroximetil glutaril-CoA, que es reducido a

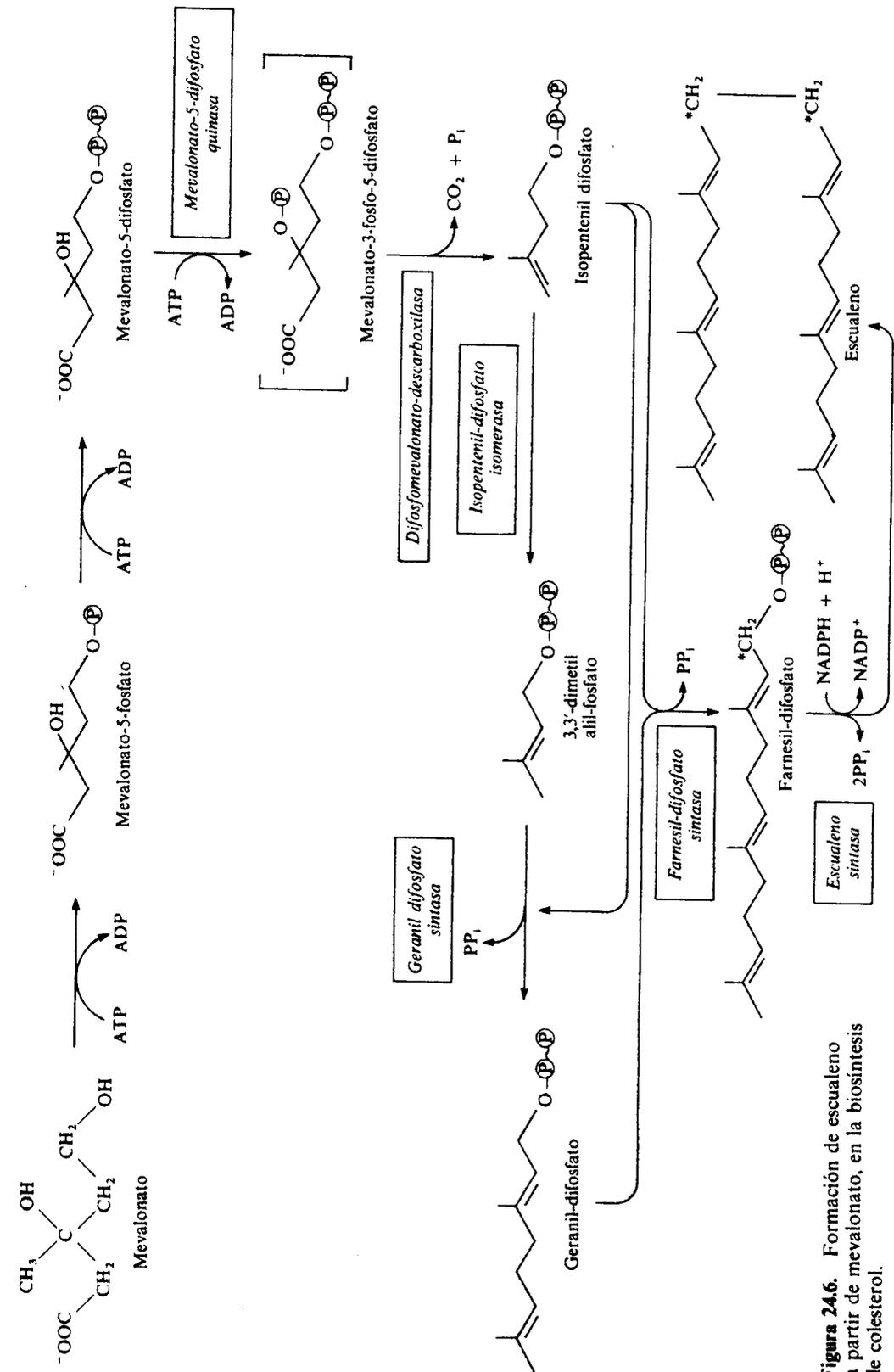


Figura 24.6. Formación de escualeno a partir de mevalonato, en la biosíntesis de colesterol.

mevalonato por acción de la *3-hidroximetil glutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa)* y oxidación de dos moléculas de NADPH. Esta última reacción es clave en la síntesis del colesterol, y es inhibida por los productos finales de la vía, en particular por el propio colesterol.

Transformación de mevalonato en escualeno

El proceso se resume en la figura 24.6, donde, de entrada, queda patente su dependencia de gran cantidad de ATP. Por otro lado, la síntesis de escualeno necesita 6 moléculas de mevalonato, cada una de las cuales ha sido formada a partir de tres acetil-CoA y 2NADPH. Todo ello pone de manifiesto el enorme costo energético de esta vía.

Mediante la participación secuencial de 3 quinasas, el mevalonato es fosforilado hasta la formación de mevalonil-3-fosfo-5-difosfato (fig. 24.6). Por acción de la *difosfomevalonato descarboxilasa* se pierde un carbono en forma de CO_2 y un fosfato, formándose isopentenil-difosfato. Ahora, tres moléculas de este compuesto se condensan (es decir, se consumen 3 moléculas de mevalonato que han dado lugar a los 3 isopentenil-difosfato). Para que ocurra la condensación se produce isomerización de una molécula de isopentenil-difosfato en 3,3-dimetilalil-difosfato, lo que supone tan sólo un salto en la posición del doble enlace (fig. 24.6), mediante la acción catalítica de la isomerasa correspondiente. La condensación del 3,3-dimetilalil-difosfato con una segunda molécula de isopentenil-difosfato origina geranyl-difosfato (10 átomos de carbono), el cual se condensa a su vez con la tercera molécula de isopentenil-difosfato, dando lugar al farnesil-difosfato (15 átomos de carbono). Estas dos reacciones de condensación son catalizadas por las correspondientes sintasas, y en cada una de ellas se libera una molécula de pirofosfato (PP_i). Dos moléculas de farnesil-difosfato (procedentes cada una de ellas de 3 mevalonatos) se condensan entre sí formando el escualeno (30 átomos de carbono), en una reacción catalizada también por una sintasa, la *escualeno sintasa*, pero en la que, a diferencia de las anteriores, ocurre una reducción a expensas de NADPH (fig. 24.6).

Existe una vía alternativa de transformación del 3,3-dimetilalil-difosfato, denominada la *derivación del transmetilglutaconato*, a través de la cual una cierta proporción (del orden del 20 por 100) del 3,3-dimetilalil-difosfato es transformado a trans-3-metilglutaconatil-CoA, y éste a HMG-CoA, que iniciaría el proceso. No se conoce el papel funcional de esta derivación, que en principio resulta poco rentable desde el punto de vista energético, pero se cree que puede tener importancia en cuanto al control global de la síntesis del colesterol.

Transformación de escualeno en colesterol

La representación espacial de la molécula de escualeno recuerda ya a la del núcleo esteroideo (fig. 26.7). Las etapas posteriores del proceso van dirigidas a cerrar los correspondientes anillos de la molécula. Para ello, el grupo metílico unido al carbono en posición 14 es transferido a la posición 13, y el del C_8 al C_{14} . A su vez, el carbono en posición 3 es hidroxilado con participación de oxígeno molecular y, seguidamente, tiene lugar la ciclización con formación de lanosterol. La reacción es catalizada por un complejo enzimático no bien conocido todavía, denominado *escualeno oxidociclasa*, formado por, al menos, dos enzimas, una *epoxidasa* o *monooxigenasa* y una *ciclasa* (la *lanosterol ciclasa*). La *epoxidasa* o

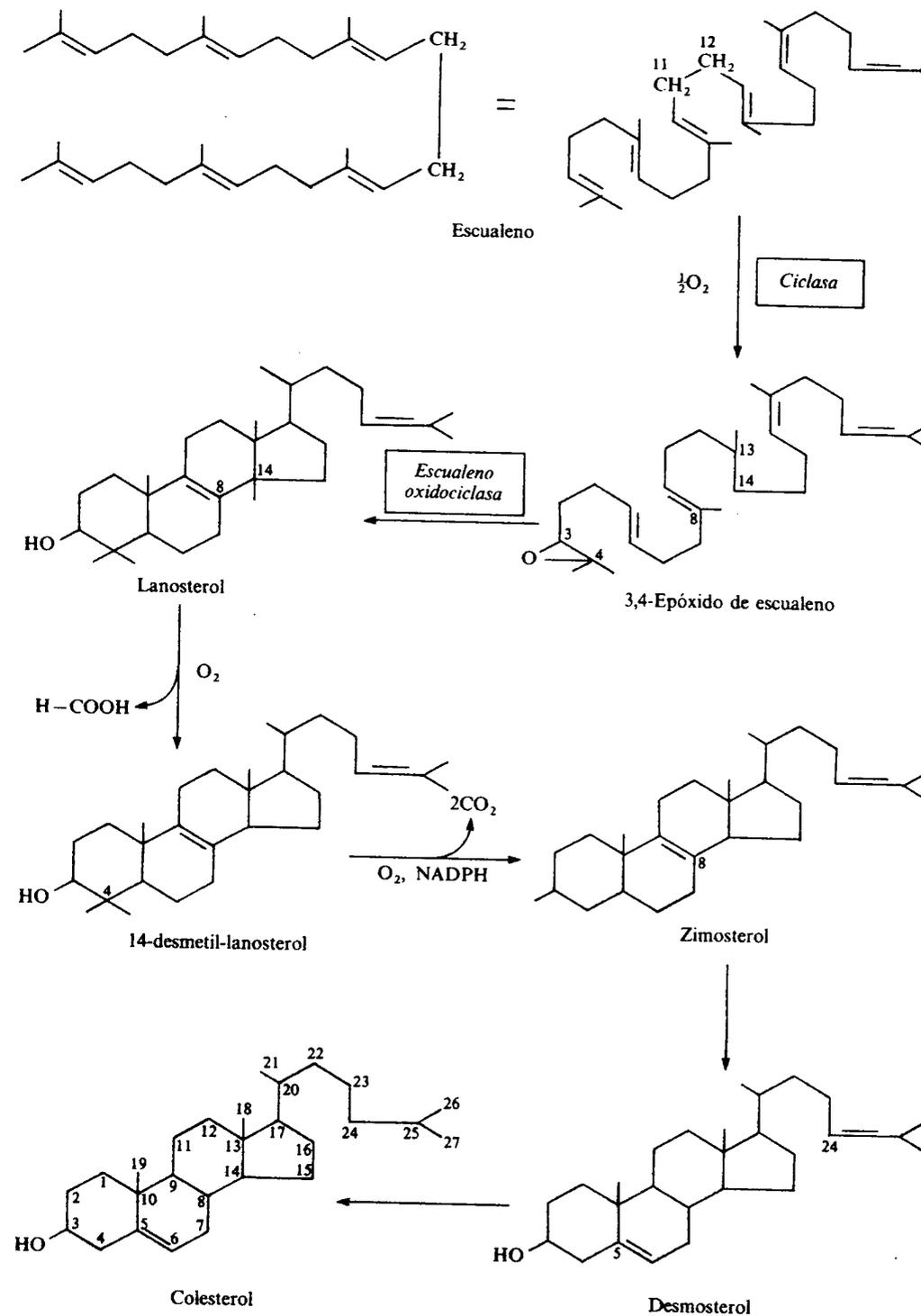


Figura 24.7. Biosíntesis de colesterol a partir de escualeno.

monooxigenasa cataliza la formación de un epóxido entre los carbonos 2 y 3, con utilización de NADPH y oxígeno molecular, dando lugar al 3,4-epóxido de escualeno (fig. 24.7). Realmente, la formación de este epóxido va seguida de la hidroxilación espontánea del carbono en posición 3, lo que parece ser la señal para iniciar el proceso de ciclización en el que se produce la migración de dos átomos de hidrógeno y dos grupos metílicos a sus posiciones vecinas. De esta manera queda configurada la molécula de lanosterol, a partir de la cual se forma el colesterol.

La transformación de lanosterol en colesterol tiene lugar a través de numerosos pasos intermedios, catalizados por enzimas microsómicas, dependientes también algunas de ellas de oxígeno molecular y NADPH. Dichas etapas (fig. 24.7) son los siguientes pasos:

1. Pérdida del grupo metílico unido al C_{14} , con formación del 14-desmetil-lanosterol.
2. Eliminación de los dos grupos metílicos del C_4 y formación del zimosterol.
3. Salto del doble enlace de la posición C_8 a la C_5 (desmosterol).
4. Reducción del doble enlace en el C_{24} .

En realidad, la secuencia en que tienen lugar estas reacciones no se conoce con certeza, e incluso parece que el orden puede ser variable.

Los compuestos intermedios entre el escualeno y el colesterol están asociados a una proteína transportadora (*proteína transportadora de esteroides* o *SPC*, por su nombre en inglés), lo que permite que compuestos liposolubles reaccionen y difundan con facilidad en el medio acuoso celular. Se cree que el colesterol se transforma en otros compuestos (hormonas esteroideas o ácidos biliares), e incluso ejerce su control sobre la *HMG-CoA reductasa* asociada a dicha proteína transportadora.

Control de la síntesis de colesterol. La *HMG-CoA reductasa*

El propio colesterol ejerce un control muy fino sobre su balance en el organismo. Así, cuando se reduce la cantidad de colesterol en la dieta o cuando se acelera su eliminación (por ejemplo, por interrupción de la circulación enterohepática de ácidos biliares), aumenta su síntesis en hígado e intestino, mientras que un incremento en su llegada a los distintos tejidos por la captación de lipoproteínas circulantes, da lugar a una inmediata inhibición de la vía. Hay, sin embargo, condiciones en las que se rompe esta relación inversa entre las disponibilidades de colesterol y su síntesis, como ocurre durante el ayuno, en el que se inhibe la síntesis a pesar de no haber fuente exógena de colesterol, o en la diabetes, en la que se mantiene activa la vía sintética incluso ante la presencia de niveles altos de colesterol.

El punto clave de control de la síntesis del colesterol es la *HMG-CoA reductasa*, sobre la que él o sus metabolitos (por ejemplo, las formas oxigenadas de los esteroides, formadas por acción de hidroxilasas mitocondriales sobre el colesterol, o los ácidos biliares), o los dos, ejercen una inhibición indirecta, bien a través de un complejo sistema de control en cascada, bien modulando la velocidad de su síntesis o la de enzimas que controlan su degradación.

Dadas las importantes repercusiones patológicas que tiene en el organismo el desequilibrio en el balance de colesterol, vale la pena profundizar en el mecanismo de regulación de dicha enzima. La *HMG-CoA reductasa* es una glicoproteína integral de la membrana del retículo endoplasmático, formada por dos subunidades de unos 100.000 daltons. Tiene una parte altamente hidrofóbica orientada al

lumen de dicho retículo, donde se encuentra la porción hidrocarbonada y el terminal $-NH_2$, y una parte hidrofílica orientada al citoplasma, que es donde se encuentran sus sitios activo y regulador (fig. 24.8).

Se conocen tres formas de control de la *HMG-CoA reductasa*:

1. A largo plazo, mediante cambios en su concentración a nivel de síntesis o degradación.
2. Por variación en la fluidez de la membrana en que se encuentra anclada, de forma que la incorporación de colesterol u otros esteroides a la misma la distorsionan, y hacen que disminuya su actividad.
3. A corto plazo, por mecanismos de fosforilación y desfosforilación.

El control de la *HMG-CoA reductasa* a largo plazo se realiza a nivel de la transcripción de los genes que codifican su síntesis o la de las enzimas que controlan su degradación. En la figura 24.9 se resumen los factores que controlan la actividad de la *HMG-CoA reductasa* a largo plazo, y el efecto que tienen sobre su síntesis y degradación, pero aún se desconocen los mecanismos precisos que participan en cada una de estas formas de control.

El control a corto plazo de la *HMG-CoA reductasa* se conoce mejor, y se han descrito tres sistemas distintos de proteínas quinasas que modulan la fosforilación de la molécula, y facilitan así su inactivación. Por acción de una fosfatasa, la enzima se desfosforila, pasando a su forma activa. En la figura 24.10 se esquematizan los tres sistemas de control a corto plazo de la *HMG-CoA reductasa*. El primero consiste en una cascada formada por dos ciclos, uno que corresponde a la intervención de la *reductasa quinasa* y otro a la de la propia *HMG-CoA reductasa*. Esta cascada bicíclica es sensible a hormonas, de forma que la insulina facilita el proceso de la desfosforilación de la *HMG-CoA reductasa* y el glucagón su fosforilación. También es sensible al colesterol y al mevalonato, que facilitan la fosforilación, y por consiguiente la inactivación de la enzima. El lugar donde actúan estos

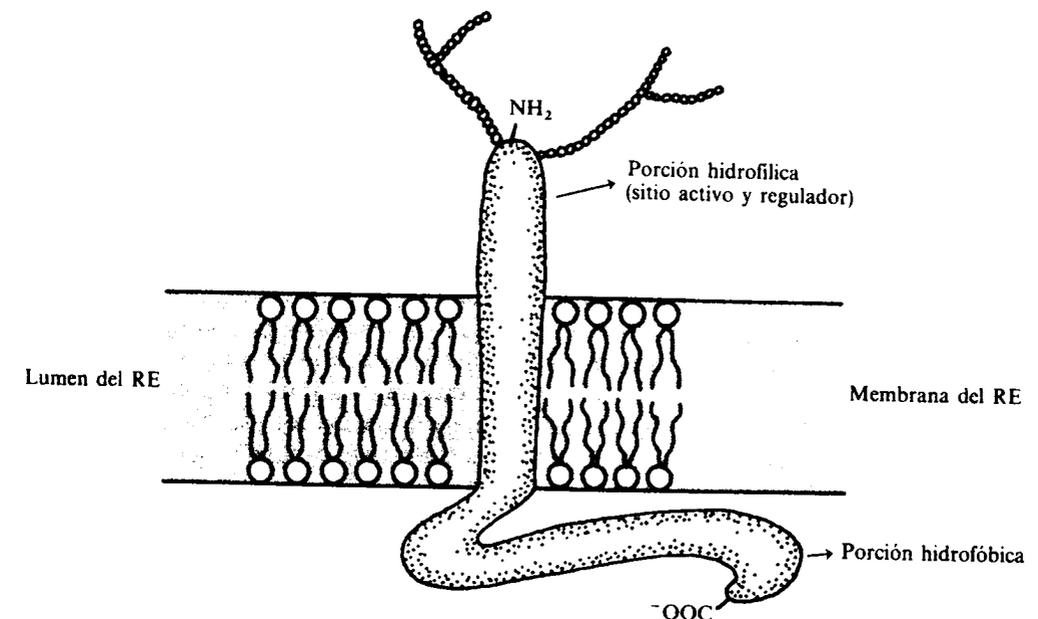


Figura 24.8. Esquema del anclaje de la *HMG-CoA reductasa* en la membrana del retículo endoplasmático.

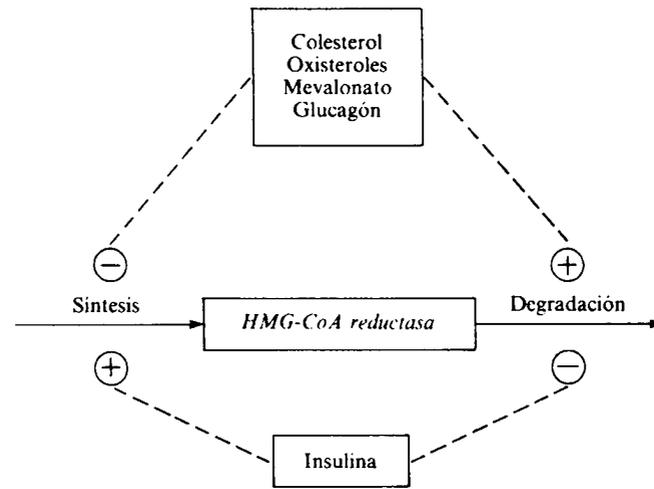


Figura 24.9. Factores que controlan la actividad de la *HMG-CoA reductasa* a largo plazo modificando la velocidad de su síntesis o de su degradación. En el caso del mevalonato, el efecto se realiza preferentemente sobre la degradación, mientras que los demás factores actúan de forma opuesta sobre una y otra vía.

moduladores sobre la cascada bicíclica difiere de unos a otros, y en algunos casos no se conoce con precisión.

El segundo sistema de control de la fosforilación de la *HMG-CoA reductasa* implica la participación de una *proteína quinasa C*, que es activada por el diacilglicerol formado a partir de los fosfatidil-inositoles, por los iones Ca^{2+} y los ésteres de forbol. Todos ellos, al activar a la *proteína quinasa C*, facilitan su acción estimulando la fosforilación de la *HMG-CoA reductasa* y, en consecuencia, su inhibición.

El tercer sistema de control por fosforilación de la *HMG-CoA reductasa* es dependiente de iones Ca^{2+} y de la proteína *calmodulina*, que activan a una proteína quinasa de bajo peso molecular (la *calmodulina quinasa*), que cataliza la fosforilación de la *HMG-CoA reductasa*.

De estos tres sistemas de control, el primero es el mejor conocido hasta la fecha, pero parece que los otros dos son también importantes, ya que constituyen los mecanismos por medio de los cuales muchas hormonas y señales extracelulares modulan la actividad de la *HMG-CoA reductasa*.

Cabe también señalar que el grado de fosforilación o desfosforilación de la *HMG-CoA reductasa* modifica su susceptibilidad para ser degradada por *endopeptidasas*, por lo que aquél determina no sólo la actividad de la enzima, sino también su cantidad química. A su vez, el colesterol, al modular la fluidez de la membrana del retículo endoplasmático, donde se encuentra enclavada la enzima, puede cambiar la orientación de su terminal hidrofílico hacia el espacio citosólico, y con ello afectar también su grado de fosforilación.

Así pues, vemos cómo el organismo dispone de sistemas complejos y enormemente sensibles para controlar la síntesis del colesterol. Algunos de dichos sistemas son semejantes a los que modulan otros puntos claves del metabolismo, tales como los depósitos de glucógeno en hígado y músculo (cap. 19) o la movilización de las reservas de triacilglicéridos del tejido adiposo (lipólisis) (cap. 23), pero la diversidad en el control de la síntesis del colesterol supera con mucho a todos ellos. Desconocemos a qué se debe, aunque podría tratarse de una compensación

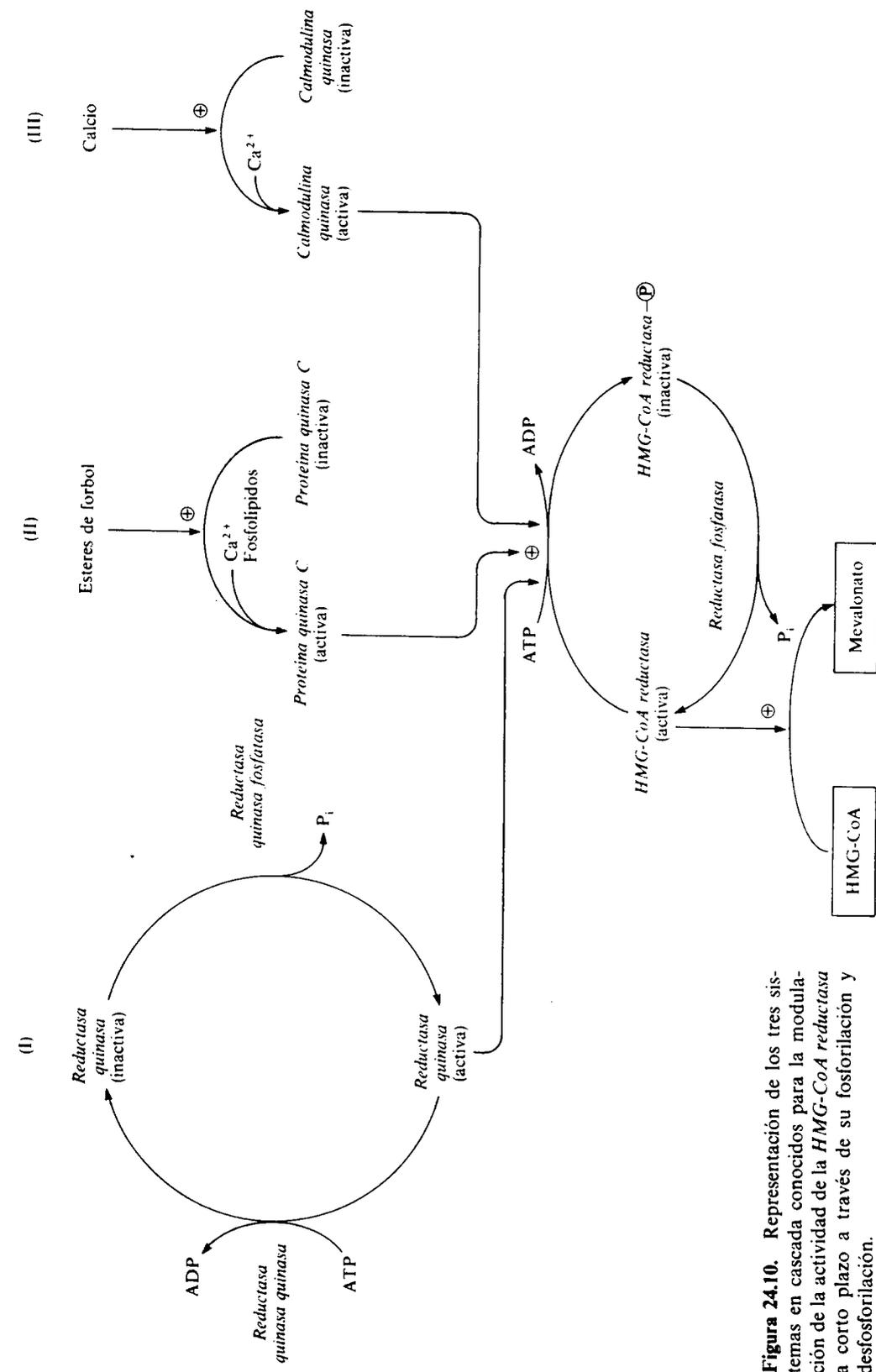


Figura 24.10. Representación de los tres sistemas en cascada conocidos para la modulación de la actividad de la *HMG-CoA reductasa* a corto plazo a través de su fosforilación y desfosforilación.

metabólica que aporta la naturaleza a nuestra incapacidad de degradar el colesterol, garantizando así la ausencia de errores en el control de su síntesis.

ACIDOS BILIARES

Precisamente, debido a nuestra incapacidad para oxidar el colesterol hasta CO_2 , el organismo humano sólo puede excretarlo en la bilis, bien en forma de colesterol libre, bien tras su conversión a ácidos biliares, a través de la vesícula biliar y el intestino. Por otro lado, los ácidos biliares evitan también la precipitación del colesterol libre en la vesícula biliar y contribuyen, como agentes emulsionantes, al proceso de absorción intestinal de las grasas (incluida la del propio colesterol) y de las vitaminas liposolubles, en particular la vitamina D.

Los ácidos biliares más abundantes en el hombre son los derivados del *ácido colánico* (fig. 24.11), entre ellos los más comunes son el *ácido cólico* y *quenodeoxicólico*. Los denominados ácidos biliares primarios son aquellos sintetizados en las células parenquimatosas del hígado, y están constituidos por 24 átomos de carbono, 2 ó 3 grupos hidroxílicos y una cadena unida al carbono 17, que termina en un grupo carboxílico, el cual está ionizado al pH fisiológico (de ahí que se les dé el nombre de sales biliares). Dicho grupo carboxílico suele encontrarse unido

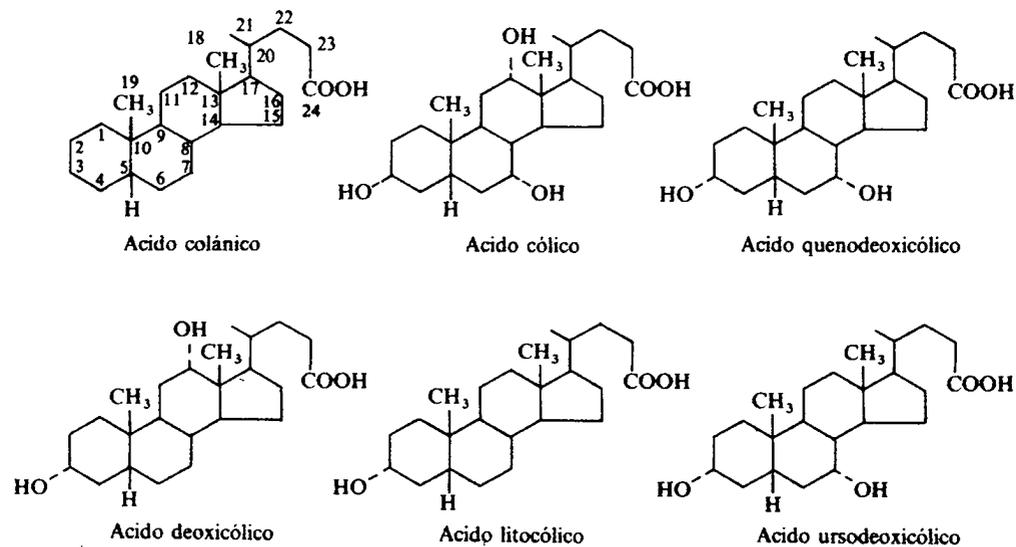
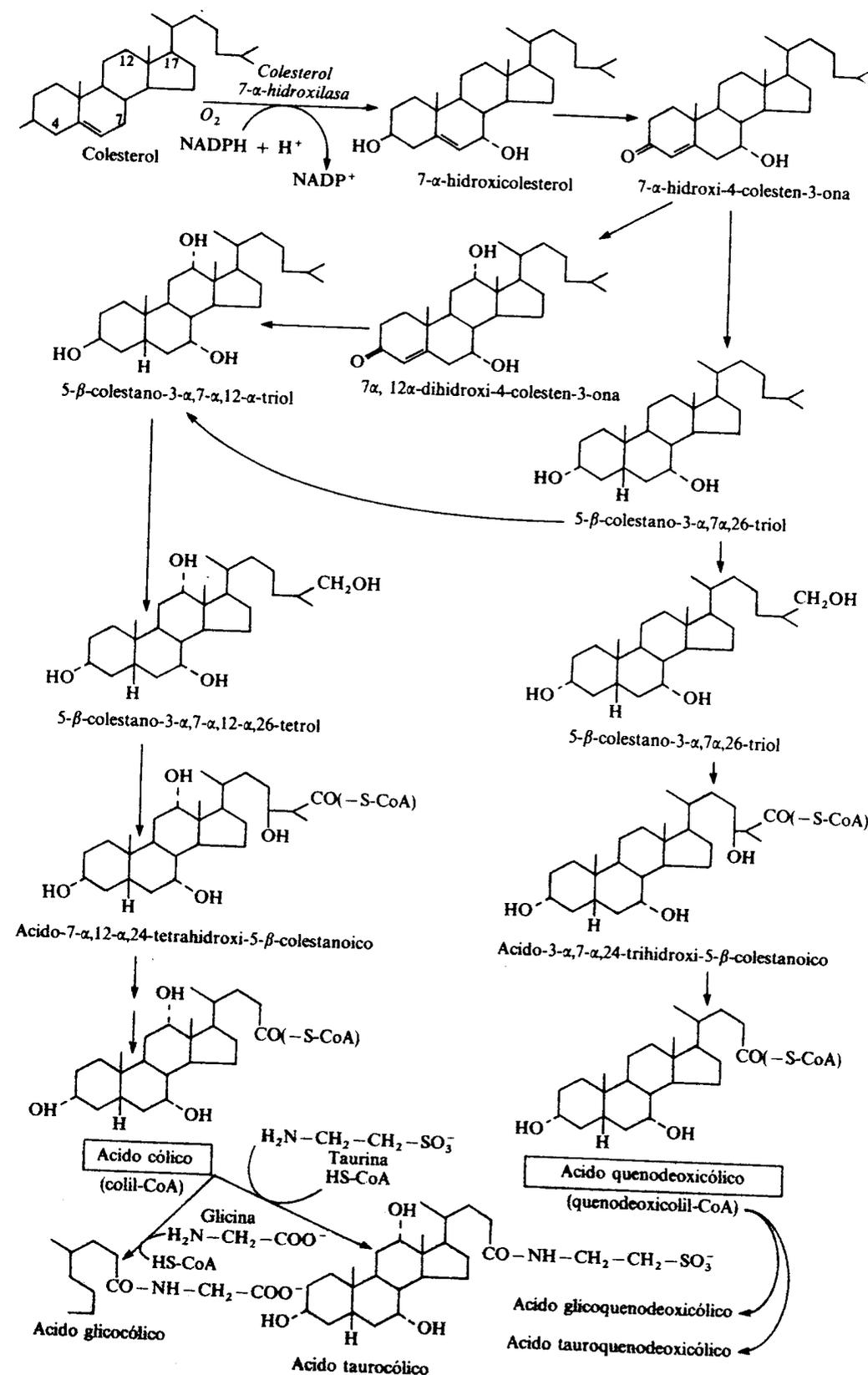


Figura 24.11. Estructura de los ácidos biliares más abundantes en el hombre. El ácido colánico constituye el esqueleto estructural de los ácidos biliares. Los ácidos cólico y deoxicólico son primarios, por sintetizarse directamente en el hígado a partir del colesterol. La configuración completa de estos ácidos biliares implica su conjugación a nivel del grupo carboxílico con el aminoácido glicina o taurina. Los ácidos deoxicólico y litocólico son secundarios, por sintetizarse en el intestino tras la acción de las bacterias intestinales sobre los ácidos primarios. El ácido ursodeoxicólico es terciario, por formarse en el hígado a partir de los ácidos biliares secundarios que retornan a este órgano a través de la circulación enterohepática.

Figura 24.12. Esquema de la síntesis de los ácidos biliares primarios. Las distintas reacciones de hidroxilación están catalizadas por *monooxigenasas* dependientes de citocromo P-450, NADPH y oxígeno molecular. De entre ellas se ha destacado la primera, la *colesterol-7- α -hidroxilasa*, por constituir la enzima clave de la vía.



mediante un enlace amida a una molécula de glicina ($\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) o de taurina ($\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_3\text{H}$), dando lugar a los *ácidos taurocólico, glicocólico, tauroquenodeoxicólico* o *glicoquenodeoxicólico*. Cuando estos ácidos biliares primarios sufren modificaciones químicas por acción de los microorganismos intestinales, se transforman en los ácidos biliares secundarios, que mantienen los 24 átomos de carbono, pero presentan algunas características estructurales diferenciales, tales como la pérdida de un grupo hidroxilo y la desconjugación del aminoácido (por ejemplo, los *ácidos deoxicólico* y *litocólico*, fig. 24.11).

En la figura 24.12 se muestran las principales etapas de transformación del colesterol en la síntesis de los ácidos biliares, cólico y quenodeoxicólico. Como puede observarse, en el proceso existen pasos alternativos. El precursor común de todos ellos es el colesterol, y la primera reacción del proceso es su 7- α -hidroxilación, que constituye la reacción clave de toda la vía. Viene seguida de sucesivas hidroxilaciones en las posiciones C_{12} , C_{25} y C_{26} , todas ellas catalizadas por sistemas de *monooxigenasas* dependientes del citocromo P-450, del NADPH y del oxígeno molecular, que se encuentran en microsomas, mitocondrias e incluso peroxisomas hepáticos. Los ácidos formados (cólico y quenodeoxicólico, e incluso los intermediarios de la vía) se asocian al coenzima A para formar el acil-CoA correspondiente. Es precisamente en esta forma cómo los ácidos cólico y quenodeoxicólico se acoplan a los aminoácidos glicina o taurina para dar lugar a los ácidos biliares primarios respectivos (ácidos glicocólico, taurocólico, glicoquenodeoxicólico y tauroquenodeoxicólico) (fig. 24.12). El citocromo P-450 es una hemoproteína, y su participación en los procesos de hidroxilación de los esteroides se resume en la figura 24.13, aunque el mecanismo no está completamente dilucidado.

Regulación de la síntesis de los ácidos biliares

Cuando disminuye la cantidad de ácidos biliares en el hígado, aumenta su síntesis. Esto se ha interpretado como el resultado de un control de tipo feed-back de la vía, ejercido por su producto final, los ácidos biliares, sobre la primera enzima que se considera clave de todo el proceso, la *colesterol-7- α -hidroxilasa*. Esta enzima es microsómica y con características funcionales similares a las demás monooxigenasas que participan en la vía. Sin embargo, a diferencia de las demás, es inhibida específicamente por los ácidos biliares y su actividad varía de forma paralela a como lo hace la síntesis global de ácidos biliares, aumentando, por ejemplo, cuando se incrementa la cantidad de colesterol en la dieta o disminuyendo en situaciones de deficiencia en vitamina C. Aunque su control no está suficientemente claro, se están realizando importantes esfuerzos para ello, ya que al margen de su interés básico, podría aportar nuevas perspectivas en el tratamiento farmacológico de las hipercolesterolemias y, por consiguiente, en la prevención de la aterosclerosis.

Un mecanismo alternativo de control de la síntesis de los ácidos biliares es la disponibilidad de colesterol. Aunque el colesterol sintetizado en el propio hígado constituye el principal sustrato para la síntesis de los ácidos biliares, el captado en las lipoproteínas circulantes también puede ser utilizado en esta vía. Mediante estudios en cultivos celulares de hepatocitos aislados, se ha demostrado que la síntesis de ácidos biliares varía en función de la disponibilidad de colesterol, tanto procedente de síntesis endógena como del medio de cultivo. Por ello se piensa que cambios en la cantidad del sustrato disponible, independientemente de su proce-

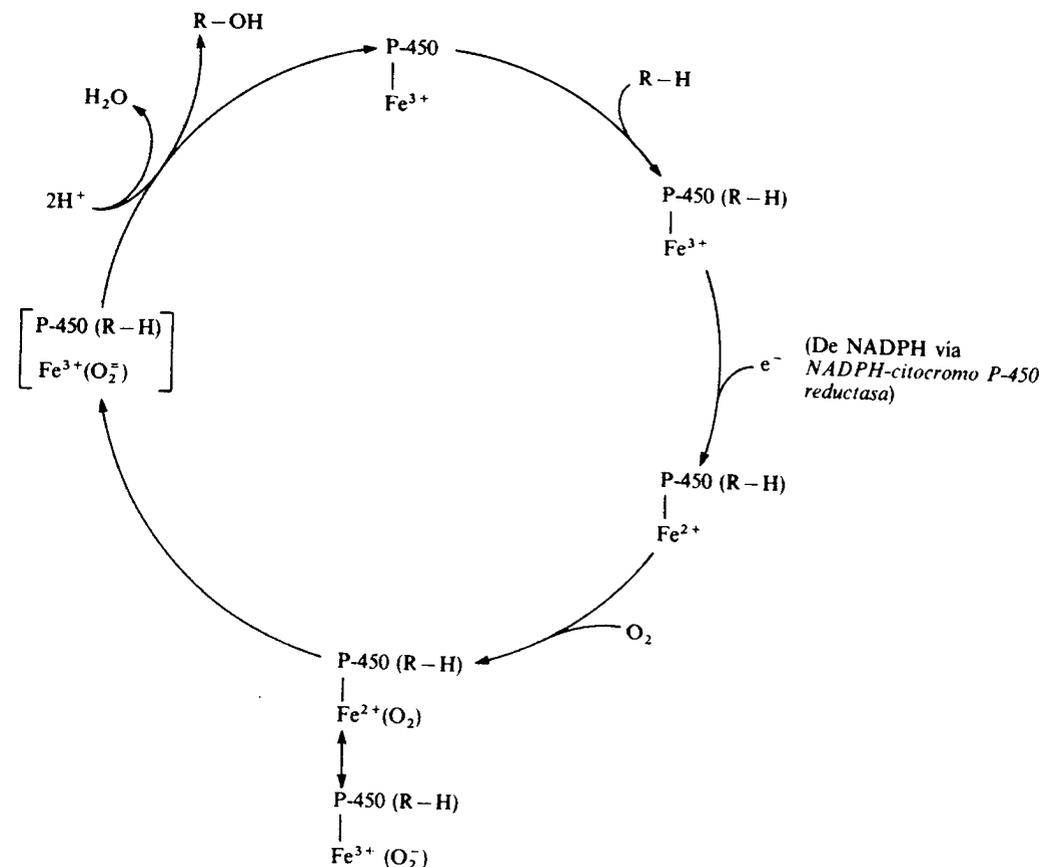


Figura 24.13. Secuencia de reacciones que muestran la participación del citocromo P-450 en la acción de las monooxigenasas, donde R-H representa el sustrato y R-OH el producto.

dencia, puedan también constituir un importante sistema de control para la síntesis de ácidos biliares.

Circulación enterohepática y excreción del colesterol

La cantidad de ácidos biliares sintetizados por el hígado es insuficiente para satisfacer las necesidades fisiológicas. Por ello, una proporción considerable de los ácidos biliares primarios, una vez se han liberado de los residuos de glicina o taurina, son reabsorbidos mediante un proceso activo dependiente de ATP e iones Na^+ a nivel del íleo, y transportados de nuevo al hígado unidos a la albúmina plasmática, a través del sistema venoso portal (fig. 24.14). En el proceso, los distintos ácidos biliares compiten entre sí por ser absorbidos. Los ácidos biliares primarios que no son reabsorbidos sufren la acción de las bacterias intestinales, y son transformados en ácidos biliares secundarios (principalmente deoxicólico y litocólico), que también son reabsorbidos en una gran proporción, pero de forma pasiva y preferentemente a nivel del colon. Sin embargo, al igual que los primarios, son transportados hasta el hígado, de donde salen a la vesícula biliar para su vuelta al intestino.

El continuo reciclaje de ácidos biliares a través del circuito compuesto por el

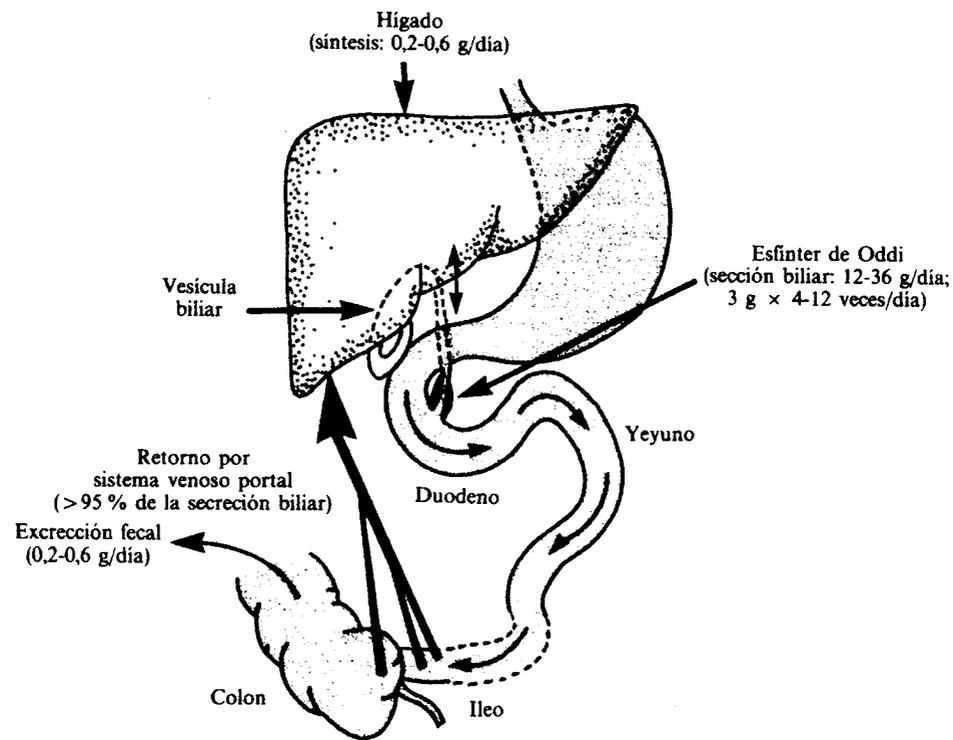


Figura 24.14. Representación diagramática de la circulación enterohepática de las sales biliares, mostrando los valores cinéticos que se observan en el hombre sano.

hígado, la vesícula biliar, el conducto biliar, el tracto gastrointestinal y el sistema venoso portal, para volver de nuevo al hígado (fig. 24.14), recibe el nombre de *circulación enterohepática*, a través de la cual regresan al hígado más del 95 por 100 de los ácidos biliares que son segregados al intestino; si bien dicho porcentaje puede alcanzar el 99 por 100. Sólo el 1 por 100 restante se escapa de la absorción intestinal y es eliminado por las heces. Aunque este porcentaje parece escaso, desde el punto de vista cuantitativo constituye la vía principal de eliminación del colesterol por el organismo. Ello se debe, por un lado, a que el acervo total de ácidos biliares es alto (del orden de 3-5 g) y a que dicha circulación enterohepática es muy activa, realizándose de 4 a 12 ciclos completos al día. Así pues, la cantidad total de ácidos biliares que llegan a eliminarse cada día puede alcanzar los 0,2-0,6 g, que es precisamente la cantidad de ácidos biliares que sintetiza a diario el hígado a partir de las correspondientes moléculas de colesterol.

La propia síntesis hepática de colesterol también es controlada por la circulación enterohepática de los ácidos biliares. De hecho, normalmente existe un paralelismo entre la síntesis de ácidos biliares y la de colesterol en el hígado. A pesar de ello, y aunque los cambios de actividad de sus respectivas enzimas claves, la *colesterol-7- α -hidroxilasa* y la *HMG-CoA reductasa*, se realizan por lo general en paralelo, no se cree que haya una relación directa en el control de estas dos enzimas.

Una pequeña proporción de colesterol es excretado también en forma libre al intestino por la bilis. Su concentración biliar es baja (del orden del 0,06 por 100 en la bilis completa), pero dada su insolubilidad en medio acuoso, necesita asociarse a los fosfolípidos más abundantes de la bilis, las lecitinas, y a las sales biliares para

constituir micelas, las cuales son ya hidrosolubles y permiten, por tanto, el transporte del colesterol al intestino a través de la bilis. La formación de dichas micelas y, en consecuencia, la solubilidad del colesterol en la bilis dependen de las proporciones relativas de colesterol, sales biliares y lecitinas en aquella, e incluso de su contenido en agua. Una descompensación de estas proporciones da lugar a la supersaturación de colesterol en la bilis, lo que produce su precipitación en forma de cristales. Si éstos no llegan a salir con la bilis al intestino, aumentan progresivamente de tamaño y se convierten en los cálculos biliares.

El colesterol del intestino procedente de la bilis o de la descamación celular también participa en la circulación enterohepática, pero al igual que los ácidos biliares, una determinada proporción se escapa de ser reabsorbido, llegando a eliminarse por las heces del orden de 0,5 g por día.

En condiciones bajo las que disminuye la actividad de la enzima clave de la síntesis de ácidos biliares, la *colesterol-7- α -hidroxilasa*, baja la concentración de aquéllos. Dado que algunos ácidos biliares, como, por ejemplo, los *ácidos quenodeoxicólico* y *ursodeoxicólico* son inhibidores de la síntesis del colesterol a nivel de la *HMG-CoA reductasa*, la reducida concentración de aquéllos puede dar lugar a un incremento de la actividad de esta vía. Como consecuencia, la bilis se enriquece en colesterol con relación al contenido de sales biliares, con lo que se induce la formación de cálculos. Precisamente este tipo de hallazgos ha llevado a utilizar la administración crónica del ácido quenodeoxicólico para el tratamiento de pacientes con *colecistitis*, ya que al inhibir la síntesis de colesterol y disminuir su contenido en la bilis, se previene la formación de nuevos cálculos o incluso se facilita la disolución de los existentes.

TEXTOS DE CONSULTA

- Beg, Z. H.; Stonik, J. A., y Brewer, Jr., H. B.: «Modulation of the enzymatic activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by multiple kinase systems involving reversible phosphorylation: a review», *Metabolism*, 36:900-917, 1987.
- Brown, M. S., y Goldstein, J. L.: «Multivalent feedback regulation of HMG-CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth», *J. Lipid Res.*, 21:505-511, 1980.
- Carey, M. C., y Cahalane, M. J.: «Enterohepatic circulation», en *The Liver, Biology and Pathobiology*, I. Arias, W. B. Jakoby, H. Popper, D. Schachter y D. A. Shafritz, eds., Raven Press, Nueva York, 573-616, 1988.
- Garfield, E.: «The 1985 Nobel Prize in Medicine —Michael S. Brown and Joseph L. Goldstein have revolutionized our knowledge about cholesterol metabolism and heart disease», *Current Contents*, 38:3-13, 1986.
- Goldstein, J. L., y Brown, M. S.: «Regulation of the mevalonate pathway», *Nature*, 343:425-430, 1990.
- Grundy, S. M.; Mok, H. Y. I., y von Bergmann, K.: «Regulation of biliary cholesterol secretion in man», en *The liver. Quantitative Aspects of Structure and Function*, R. Preisig, J. Bircher y G. Paumgartner, eds., Editio Cantor, Aulendorf, págs. 393-403, 1976.
- Heider, J. G.: «Agents which inhibit cholesterol esterification in the intestine and their potential value in the treatment of hypercholesterolaemia», en *Pharmacological Control of Hyperlipidaemia*, R. Feras, ed., J. R. Prous Publ., Barcelona, 1986.
- Kennelly, P. J., y Rodwell, V. W.: «Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by reversible phosphorylation-dephosphorylation», *J. Lipid Res.*, 26:903-914, 1985.
- Lidstroöm-Olsson, B.: «Studies on the modulation of hydroxylase activities in bile acid biosynthesis by intracellular proteins», *Acta Univers. Upsaliensis*, 14:1-52, 1986.

- Mead, J. F.; Alfin-Slater, R. B.; Howton, D. R., y Popják, G.: *Lipids: Chemistry, Biochemistry and Nutrition*, Plenum Press, Nueva York y Londres, 1986.
- Prince, R. C.: «Hopanooids: the world's most abundant biomolecules?», *TIBS-Diciembre*, 455-456, 1987.
- Schroepfer, G. J.: «Sterol biosynthesis», *Ann. Rev. Biochem.*, 50:585, 1981, y *Ann. Rev. Biochem.*, 51:555, 1982.
- Somjen, E. L., y Gilant, T.: «Contribution of vesicular and micellar carriers to cholesterol transport in human bile», *J. Lipid. Res.*, 26:699-704, 1985.
- Stange, E. F., y Dietschy, J. M.: «Cholesterol absorption and metabolism by intestinal epithelium», en *Sterols and Bile Acids*, H. Danielsson y J. Sjoval, eds., Elsevier Science Publ. B. V., Nueva York, págs. 121-149, 1985.
- Thurnhofer, H., y Hauser, H.: «Uptake of cholesterol by small intestinal brush border membrane is protein-mediated», *Biochemistry*, 29:2142-2148, 1990.
- Turley, S. D., y Dietschy, J. M.: «The metabolism and excretion of cholesterol by the liver», en *The Liver: Biology and Pathobiology*, 2.^a ed., I. M. Arias, W. B. Jakoby, H. Popper, D. Schachter y D. A. Shafritz, eds., Raven Press Ltd., Nueva York, págs. 617-641, 1988.
- Whiting, M. J.: «Bile acids», *Advanc. Clin. Chemistry*, 25:169-232, 1986.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Metabolismo de las lipoproteínas

EMILIO HERRERA
y MIGUEL A. LASUNCIÓN

La insolubilidad de los lípidos en agua les obliga a asociarse a proteínas en forma de agregados moleculares para su transporte a través del torrente circulatorio. En consecuencia, los triacilglicéridos, el colesterol y los fosfolípidos, unidos a una o varias proteínas específicas, denominadas *apolipoproteínas*, o más comúnmente, *apoproteínas* o *apos*, constituyen unas partículas pseudomicelares, solubles en agua, que reciben el nombre de *lipoproteínas*, y que son el vehículo de transporte de dichos lípidos de unos tejidos a otros a través de la sangre. Los ácidos grasos libres se asocian también a una proteína, la albúmina plasmática, para su transporte en la sangre, pero la estructura de este agregado es mucho más simple que la de las lipoproteínas propiamente dichas, y no se considera una de ellas.

Además de su función transportadora, las lipoproteínas representan un papel fundamental en todo el metabolismo lipídico del organismo, incluido el intracelular. Desde el punto de vista clínico, se ha atribuido a determinadas lipoproteínas el papel de factores esenciales directos en el desarrollo o en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. De hecho (fig. 25.1), un incremento en los niveles plasmáticos del colesterol asociado a una de estas lipoproteínas, las LDL, o de baja densidad, significa un mayor riesgo de padecer coronariopatía, como principal manifestación de enfermedad cardiovascular, mientras que un incremento del colesterol plasmático asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) supone una disminución de dicho riesgo (fig. 25.1). Así pues, las personas con niveles elevados de LDL-colesterol y bajos de HDL-colesterol presentan un mayor riesgo de padecer coronariopatías (fig. 25.1). Esto hace que, dentro de unos determinados márgenes de niveles de colesterol plasmático, exista un solapamiento en la población general entre los individuos que padecen o no algún tipo de tales enfermedades (o que tienen riesgo de padecerla), y todo ello muestra la importancia de conocer la forma de transporte del colesterol en sangre, más que sus niveles absolutos. A su vez, en la actualidad estas enfermedades constituyen la principal causa de mortalidad e invalidez en la mayoría de los países occidentales, lo que ha despertado un enorme interés por conocer las características estructurales y funcionales de las lipoproteínas.

El conocimiento de las lipoproteínas es muy reciente. Fueron descubiertas en 1920 por Macheboeuf en el suero de caballo, de donde las separó mediante precipitación de las proteínas plasmáticas con sulfato amónico. En los años

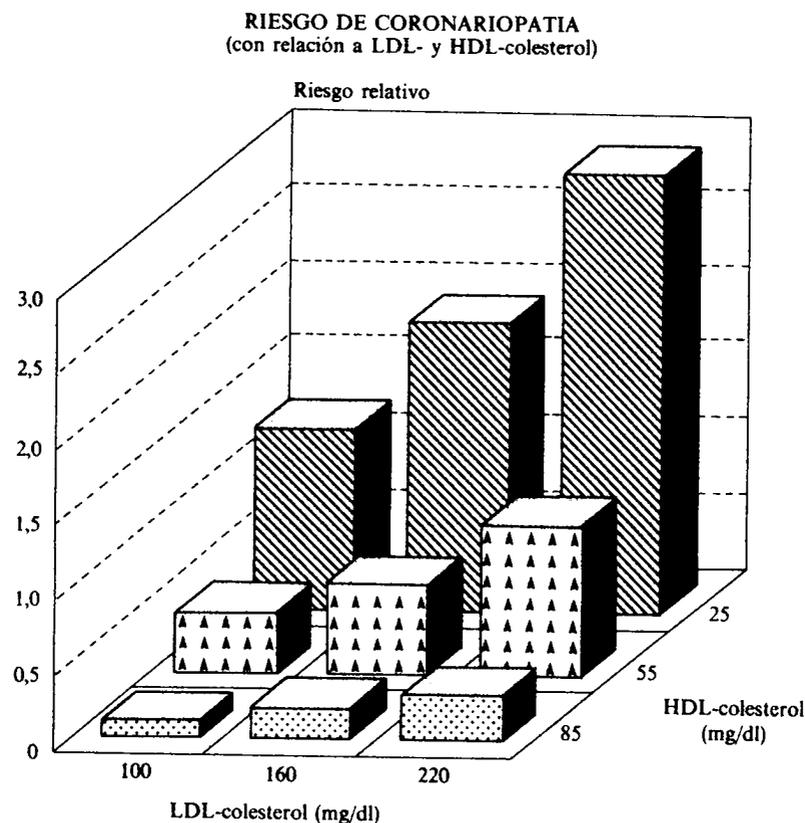


Figura 25.1. Riesgo relativo de desarrollar coronariopatía en función de los niveles plasmáticos de HDL-colesterol y LDL-colesterol en hombres de 50 a 70 años de edad, seguidos durante cuatro años en el «Estudio de Framingham». (Tomado de Kannel, W. B.: *Am. Heart, J.*, 110:1100-1107, 1985.)

cuarenta se aplicaron métodos de ultracentrifugación analítica para separarlas por flotación, en función de sus distintas densidades, y a partir de los años cincuenta se utilizó esta técnica de forma preparativa, junto a la separación mediante electroforesis en papel y a la precipitación con polianiones, para lograr su purificación y caracterización. En los últimos años se han aplicado otros métodos electroforéticos, en gel de agarosa o de poliacrilamida e isoelectroenfoque, así como la cromatografía de afinidad y los métodos inmunológicos, que han permitido mejorar considerablemente dichos procesos de purificación y caracterización.

Las diversas lipoproteínas del plasma tienen estructura y composición muy distinta, según su origen y la función que realizan. En consecuencia, sus características fisicoquímicas difieren de unas a otras, lo que, junto a su distinto comportamiento en los métodos de purificación, han determinado la clasificación y denominación.

ASPECTOS ESTRUCTURALES, COMPOSICIÓN Y NOMENCLATURA

Las lipoproteínas son esféricas, con una parte interior (conocida también como «núcleo» o «corazón») de naturaleza hidrofóbica y oleosa, y constituida por

lípidos apolares (ésteres de colesterol y triacilglicéridos), recubierta por una monocapa de lípidos anfipáticos (fosfolípidos y colesterol libre), que como tales tienen características surfactantes o detergentes, y por las apoproteínas específicas. Algunas de estas apoproteínas presentan también características anfipáticas, con los aminoácidos polares orientados hacia el exterior de la lipoproteína y los apolares hacia el núcleo, lo cual contribuye a dar una mayor estabilidad a la partícula. En la figura 25.2 se esquematiza la estructura de una lipoproteína, aunque lógicamente existen diferencias sustanciales de unas a otras en función de su respectiva composición.

La unión de los lípidos del núcleo a la superficie exterior de fosfolípidos y apoproteínas no es covalente, sino mediante puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, lo que hace que sea relativamente lábil y permita el intercambio de lípidos y apoproteínas entre las distintas lipoproteínas séricas y entre éstas y los tejidos.

En el plasma se han identificado cinco clases principales de lipoproteínas (tabla 25.1), de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas y las consecuentes diferencias de comportamiento en los métodos de separación por ultracentrifugación y electroforesis:

1. *Quilomicrones.*
2. *Lipoproteínas de muy baja densidad*, también conocidas como *VLDL*, por su abreviatura en inglés, o *lipoproteínas pre-β*, por su desplazamiento electroforético.
3. *Lipoproteínas de densidad intermedia*, conocidas también como *IDL*.
4. *Lipoproteínas de baja densidad*, *LDL* o *lipoproteínas β*.
5. *Lipoproteínas de alta densidad*, *HDL* o *lipoproteínas α*. Las HDL se subdividen a su vez en *HDL₂* y *HDL₃*, subfracciones que se diferencian por sus características funcionales e incluso sus implicaciones clínicas.

La distinta densidad de cada una de las lipoproteínas se debe a la diferente proporción de lípidos y proteínas de que constan. Así, las lipoproteínas con mayor proporción lipídica son los quilomicrones, seguidas de las VLDL (tabla 25.1), y de sus lípidos los más abundantes son los triacilglicéridos, por lo que estas dos

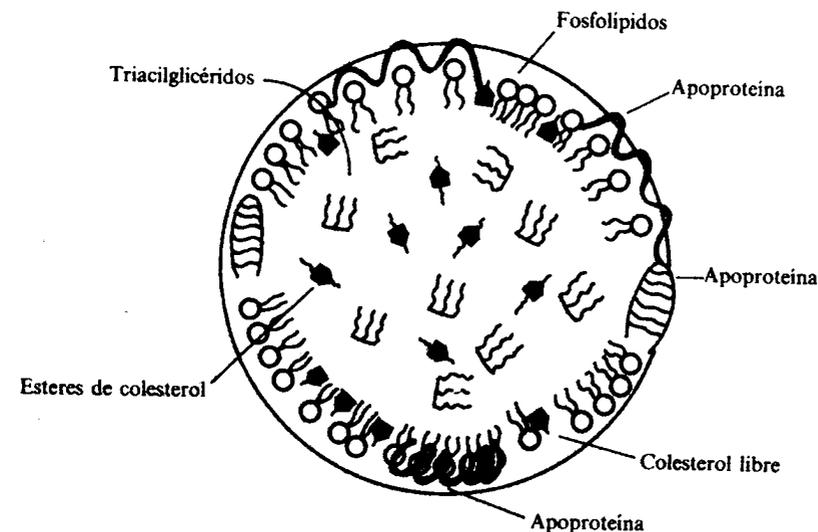


Figura 25.2. Representación esquemática de la estructura de una lipoproteína.

Tabla 25.1

CARACTERISTICAS DE LAS PRINCIPALES LIPOPROTEINAS DEL PLASMA HUMANO

	Quilomicrones	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densidad (g/ml)	< 0,95	0,95-1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,210
Movilidad electroforética	Origen	Pre- β	Entre β y pre- β	β	α
Diámetro (nm)	> 70	25-70	22-24	19-23	4-10
Peso molecular (daltons)	$0,4-30 \times 10^9$	$5-10 \times 10^6$	$4-5 \times 10^6$	$2,75 \times 10^6$	$1,8-3,6 \times 10^5$
Relación lípido/proteína	99:1	90:10	85:15	80:20	50:50
Lípidos más abundantes	TG exógenos	TG endógenos y CE	TG endógenos	CE y FC	PhL y CE
Principales apoproteínas	A-I, B-48, C-I, C-II, C-III	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100, E	B-100	A-I, A-II

TG: triacilglicéridos; CE: ésteres de colesterol; FC: colesterol libre; PhL: fosfolípidos.

lipoproteínas reciben el nombre genérico de *lipoproteínas ricas en triacilglicéridos*. No obstante, los presentes en los quilomicrones proceden de la dieta (véase cap. 21), en tanto que los de las VLDL son de síntesis endógena. De ahí que a las dos a cuatro horas después de una ingesta de grasa abunden los quilomicrones, mientras que en ayunas sean las VLDL las únicas lipoproteínas ricas en triacilglicéridos presentes en el plasma. Las lipoproteínas más ricas en colesterol son las LDL, que llegan a transportar hasta el 70 por 100 de todo el colesterol plasmático, mientras que las HDL son las que tienen en proporción menor contenido en lípidos (tabla 25.1), entre los que predominan los fosfolípidos y el colesterol.

El componente proteico (apolipoproteínas o apoproteínas) de las lipoproteínas induce también diferencias en su punto isoeléctrico; de ahí que su desplazamiento en la electroforesis sea distinto de unas a otras (fig. 25.3; tabla 25.1). Precisamente la denominación que a veces se utiliza de lipoproteínas pre- β (VLDL), β (LDL) o α (HDL) se debe a su migración respectiva en relación con las globulinas del plasma. Las IDL migran entre las globulinas pre- β y β , mientras que los quilomicrones permanecen en el punto de aplicación de la muestra, también denominado origen de la electroforesis.

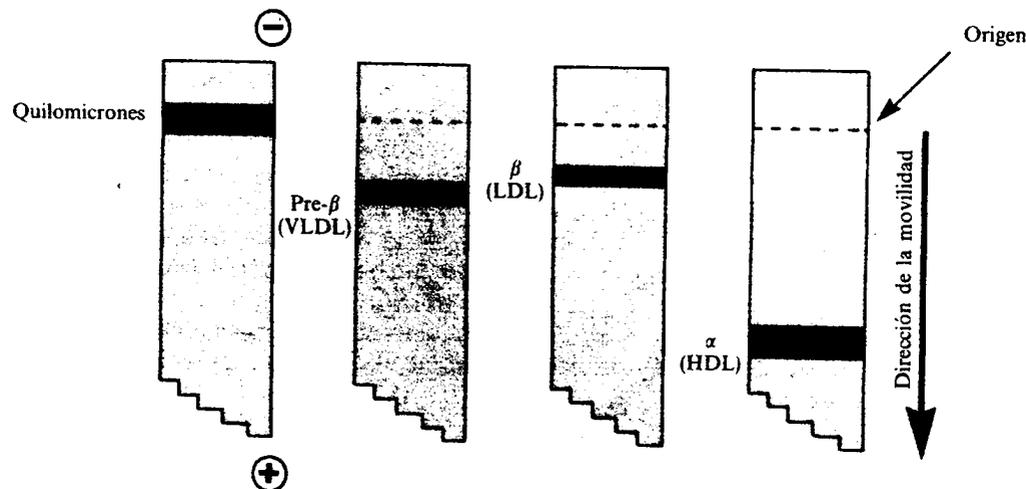


Figura 25.3. Movilidad electroforética en agarosa o en papel de las principales lipoproteínas del plasma humano.

Las apoproteínas varían de unas lipoproteínas a otras, y se denominan por las letras del alfabeto, de acuerdo con la secuencia en que han sido descubiertas. Como se observa en la tabla 25.1, mientras que las LDL contienen un único tipo de apoproteína, la *apo B*, las demás lipoproteínas tienen una mezcla de varias de ellas. Las *apo A* son las más abundantes en HDL, mientras que las *apo C* y *apo E* están presentes en todas las lipoproteínas, a excepción de las LDL. Cada una de estas apoproteínas principales (A, B, C, E) está formada a su vez por una familia de dos o más proteínas, con características inmunológicas, estructurales y funcionales distintas, que se resumen en la tabla 25.2.

Apoproteínas

La *apo A-I* es la apoproteína más abundante de las HDL. Se sintetiza en intestino e hígado. La intestinal sale a la circulación asociada a los quilomicrones, pero una vez en la sangre es transferida a las HDL, mientras que la hepática sale directamente a la circulación unida a las partículas nacientes de HDL, constituyendo una parte estructural fundamental de estas lipoproteínas. Dicha apoproteína es activadora de la *lecitina-colesterol acil-transferasa (LCAT)*, enzima plasmática que actúa sobre las HDL catalizando la formación de ésteres de colesterol y lisofosfatidilcolina a partir de colesterol libre y lecitinas.

La *apo A-II* es la segunda apoproteína más abundante de las HDL, pero aparece también en menor proporción en otras lipoproteínas. Se sintetiza en hígado, y además de representar un papel estructural en las HDL, se ha propuesto que activa la *LCAT* e inhibe otra enzima, que también participa en el metabolismo de las lipoproteínas, denominada *lipasa hepática*. La *apo A-IV* se sintetiza tanto en intestino como en hígado; aunque se encuentra en los quilomicrones recién sintetizados, es minoritaria en todas las lipoproteínas y no se conoce todavía su papel funcional.

La *apo B* es una apoproteína cuya estructura no es bien conocida debido a su

Tabla 25.2

CARACTERISTICAS DE LAS PRINCIPALES APOPROTEINAS DEL PLASMA HUMANO

	Lipoproteína en que aparece más abundante	Peso molecular aproximado (kdal)	Función	Principales sitios de síntesis
A-I	HDL	28	Activa <i>LCAT</i> Estructural	Hígado, intestino
A-II	HDL	18	¿Inhibe <i>LCAT</i> ? ¿Activa <i>HL</i> ?	Hígado
A-IV	Quilomicrones	45		Intestino
B-48	Quilomicrones	250	Estructural	Intestino
B-100	VLDL, IDL, LDL	500	Aclaramiento de colesterol Estructural	Hígado
C-I	Quilomicrones, VLDL, HDL	6,5	¿Activa <i>LCAT</i> ?	Hígado
C-II	Quilomicrones, VLDL, HDL	10	Activa <i>LPL</i>	Hígado
C-III	Quilomicrones, VLDL, HDL	10	¿Inhibe <i>LPL</i> ?	Hígado
E2-4	Quilomicrones, VLDL, HDL	34	¿Activa <i>LCAT</i> ? Aclaramiento	Hígado, macrófagos

LCAT: lecitina-colesterol aciltransferasa; *LPL*: lipoproteína lipasa; *HL*: lipasa hepática; Aclaramiento de colesterol: factor de reconocimiento por receptores específicos.

gran tamaño, a su alta insolubilidad en medio acuoso y a que forma agregados y se oxida con facilidad. Existe en dos formas, la *B-100* y la *B-48*, que son importantes para la eliminación o «aclaramiento» del colesterol circulante. La *apo B-100* es una proteína de 4.536 aminoácidos, en tanto que la *B-48* posee unos 2.400; es decir, su peso molecular es aproximadamente el 48 por 100 del de la anterior. La secuencia de los primeros 2.371 aminoácidos de la *B-48* es homóloga a la de la *B-100*, y se ha demostrado que proceden de un mismo gen, que, sin embargo, se expresa de manera diferente según el tejido; así, la *apo B-100* se sintetiza en el hígado, y se encuentra en las VLDL, IDL y LDL, mientras que la *apo B-48* procede del intestino, y se encuentra asociada en el plasma a los quilomicrones. Las dos son esenciales para la síntesis y secreción de las correspondientes lipoproteínas, pero la *apo B-100* constituye además el factor de reconocimiento de las LDL por receptores específicos que se encuentran tanto en el hígado como en tejidos extrahepáticos, y de esta forma desempeña un papel fundamental en la captación del colesterol transportado en dichas lipoproteínas por los tejidos.

Las *apo C* son apoproteínas de bajo peso molecular (tabla 25.2); existen en tres formas diferentes: *apo C-I*, *apo C-II* y *apo C-III*, y aparecen en todas las lipoproteínas circulantes, a excepción de las LDL. Se sintetizan principalmente en el hígado, y en menor proporción en el intestino. La *apo C-I* parece activar la *LCAT*, lo que permite explicar la presencia de niveles normales de colesterol esterificado en pacientes con deficiencia en *apo A-I*, principal activador de esta enzima. La *apo C-II* es el cofactor de activación de la *lipoproteína lipasa (LPL)*, enzima que cataliza la hidrólisis de los triacilglicéridos en las VLDL y los quilomicrones, donde son muy abundantes. Por ello, los pacientes con deficiencia en *apo C-II* desarrollan intensas hipertrigliceridemias como consecuencia del reducido catabolismo de dichas lipoproteínas. La *apo C-III* es la más abundante de las *apo C*, y se presenta en distintas formas polimórficas en función de su contenido en ácido siálico. Se conocen las *apo C-III-0*, *C-III-1* y *C-III-2*, según tengan 0, 1 ó 2 moléculas de ácido siálico incorporadas al final de su residuo hidrocarbonado. Su función no se conoce aún, aunque se ha propuesto que activan la *LCAT* e inhiben la acción activadora de la *apo C-II* sobre la *LPL*.

Las *apo E* forman parte de los quilomicrones, las VLDL y las HDL, y se sintetizan en hígado y en macrófagos. Son también polimórficas, pues se sintetizan a partir de alelos determinados genéticamente, procedentes de un *locus* único, y sufren además distintos grados de sialización postransduccional. Ello da lugar a la aparición de tres fenotipos homocigotos (E2/2, E3/3, E4/4) y otros tres heterocigotos (E4/2, E3/2 y E4/3) en la población. El fenotipo E3/3 es el más abundante, y aunque no se conocen sus implicaciones clínicas, los pacientes con hiperlipoproteíemia del tipo III presentan una especial frecuencia del fenotipo E2/2. Las *apo E* facilitan el reconocimiento de las lipoproteínas formadas durante el catabolismo de los quilomicrones y las VLDL (los *remanentes* y las IDL, respectivamente) por receptores tisulares específicos, y de esta forma contribuyen también al aclaramiento del colesterol transportado por aquellas lipoproteínas.

Existen otras apoproteínas, como las *apo D*, *apo F* y la *apo(a)*, pero aún no se conocen en detalle sus características estructurales y funcionales.

ENZIMAS QUE PARTICIPAN EN EL METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS

Ya en el capítulo anterior se describieron varias enzimas que participan en el metabolismo intracelular del colesterol: la *colesterol esterasa* o *colesterol éster*

hidrolasa, que cataliza la hidrólisis de ésteres de colesterol en la formación de colesterol y ácidos grasos libres; la *acil-coenzima A colesterol acil transferasa* o *ACAT*, que cataliza la síntesis de ésteres de colesterol a partir de acil-CoA y colesterol libre, y la *3-hidroxiacetilglutaril-CoA reductasa* o *HMG-CoA reductasa*, que cataliza el paso clave de la síntesis del colesterol (reducción del 3-hidroxiacetilglutaril-CoA a ácido mevalónico, con oxidación de dos moléculas de NADPH y formación de coenzima A). Puesto que en el metabolismo de las lipoproteínas se produce la descarga de colesterol en los distintos tejidos, estas enzimas participan activamente en su destino, en su metabolismo intracelular, o en los dos, por lo que deben considerarse también enzimas participantes en el metabolismo de las lipoproteínas. Además, hay otras enzimas y proteínas que actúan más directamente sobre las lipoproteínas circulantes en sangre: la *lipoproteína lipasa* o *LPL*, la *lipasa hepática* o *HL*, la *lecitina-colesterol acil-transferasa* o *LCAT*, y las *proteínas transferidoras de lípidos plasmáticos*.

Lipoproteína lipasa (LPL)

La *LPL* es una acilglicerol éster hidrolasa que se encuentra en el endotelio vascular de diversos tejidos, donde se ancla por medio de interacciones electrostáticas con moléculas de heparán sulfato. De esta forma, la *LPL* posibilita la hidrólisis de grandes partículas lipoproteicas del plasma, que por su tamaño no pueden atravesar las paredes endoteliales. Desempeña un papel clave en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos, los quilomicrones y las VLDL. Se ha encontrado en tejido adiposo, músculos esquelético y cardíaco, hipotálamo y glándula mamaria, y aunque en condiciones normales está ausente en hígado, hay circunstancias en las que también se encuentra actividad *LPL* en este órgano durante la etapa perinatal y la lactancia. La enzima se sintetiza en forma de proenzima inactiva en las células parenquimatosas de todos estos tejidos, y a través de un mecanismo aún no esclarecido es transportada al endotelio vascular de los capilares sanguíneos que los irrigan. Durante el transporte, la proenzima va madurando, y manifiesta su plena actividad cuando queda anclada en el endotelio vascular (fig. 25.4).

La *LPL* es una glicoproteína dimérica, con un contenido en carbohidratos que oscila entre un 3-10 por 100. Su peso molecular es de alrededor de 70.000 daltons, y aunque parecen existir semejanzas estructurales entre las *LPL* procedentes de distintos tejidos y especies, hay aspectos funcionales que las diferencian, como el hecho de tener distintas afinidades a anticuerpos monoclonales o de responder de forma distinta ante determinados estímulos, dependiendo de su ubicación. Así, por ejemplo, mientras en el tejido adiposo disminuye su actividad con el ayuno, en el músculo cardíaco aumenta.

Las principales características de la *LPL* son:

1. Resulta inhibida por altas concentraciones de cloruro sódico y sulfato de protamina.
2. Posee un pH óptimo alcalino (pH = 8,0-8,5).
3. Para realizar su función requiere la presencia de un activador específico, la *apo C-II*, que es precisamente un componente natural de sus sustratos, los quilomicrones, las VLDL y las HDL (tabla 25.2).
4. Actúa preferentemente sobre los ácidos grasos esterificados en posición sn - 1 de los triacilglicéridos, dando lugar a 2,3-diacilglicerol o 2-monoacilglicerol:

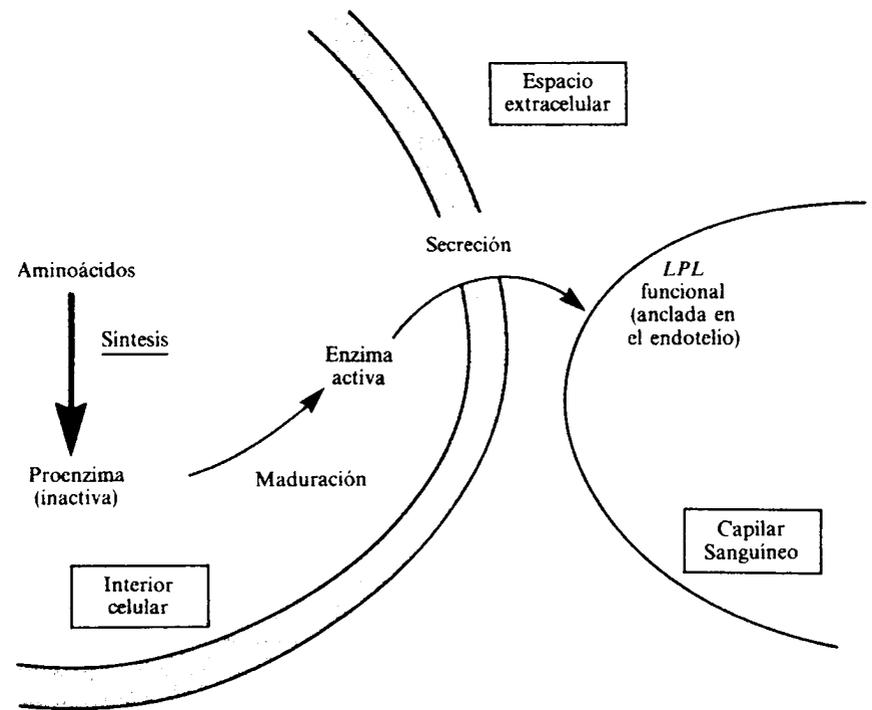
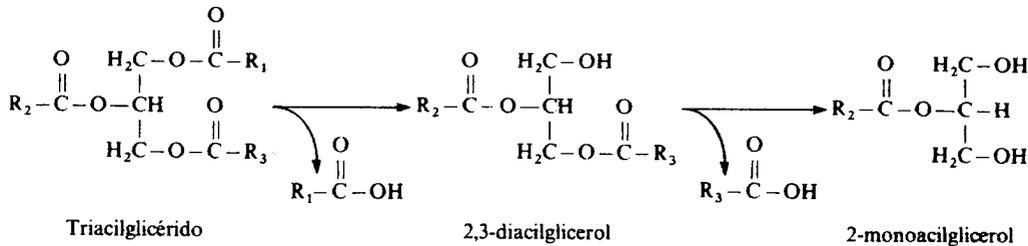


Figura 25.4. Esquema de la formación de la lipoproteína lipasa (*LPL*) funcional mediante su síntesis y maduración intracelular, y su secreción al endotelio capilar, donde queda anclada por moléculas de heparán sulfato.



En preparaciones *in vitro* se ha observado que tiene también actividad hidrolítica sobre monoacil y diacilgliceroles, así como sobre fosfoglicéridos (fosfatidilcolinas y fosfatidiletanolaminas). No se conoce con precisión el papel funcional de estas actividades, pero llevan a pensar que *in vivo* la *LPL* llega a hidrolizar completamente una gran proporción de los triacilglicéridos presentes en quilomicrones y VLDL, hasta formar glicerol y ácidos grasos libres, productos que son captados en parte por el tejido subyacente para su acúmulo, metabolismo, o los dos procesos. En la figura 25.5 se muestra cómo varias unidades de *LPL* activas, una vez ancladas al endotelio capilar, reconocen a su sustrato (VLDL o quilomicrones), con el que interactúan a través de las moléculas de apo C-II, e inician su acción catalítica hidrolizando los triacilglicéridos situados en el centro de dichas lipoproteínas. De esta forma, al perder parte de los componentes lipídicos de su interior, dichas lipoproteínas aumentan de densidad y modifican su configuración, transformándose en remanentes, en el caso de los quilomicrones, o en IDL, y luego en LDL en el caso de las VLDL.

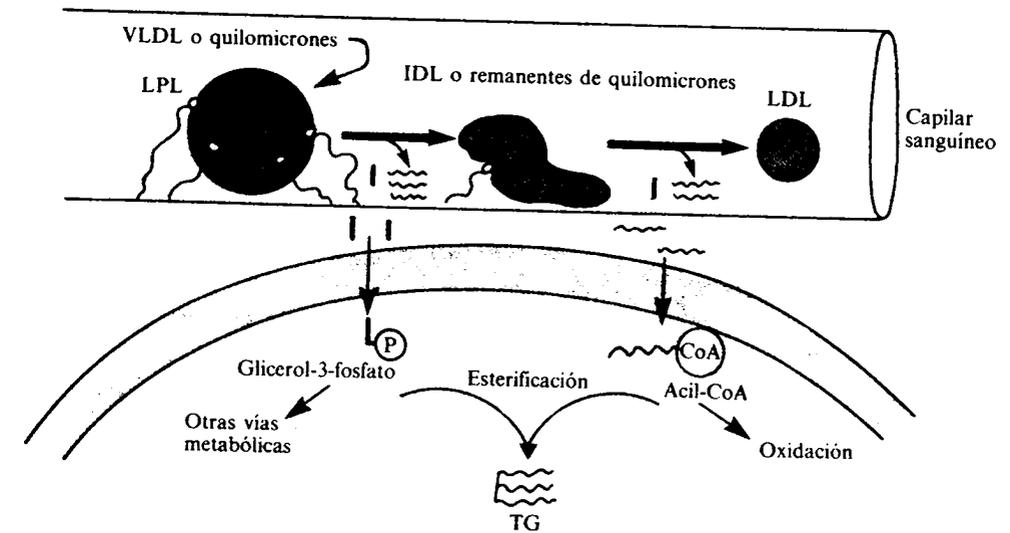


Figura 25.5. Esquema de la acción de la lipoproteína lipasa (*LPL*) al hidrolizar los triacilglicéridos (⊞) de las lipoproteínas ricas en ellos (VLDL y quilomicrones), que las convierte en lipoproteínas de mayor densidad (IDL y LDL en el caso de las VLDL, y remanentes en el de los quilomicrones), y utilización metabólica de los productos de la hidrólisis, ácidos grasos libres (⋈) y glicerol (|). Las moléculas de *LPL* (representadas por estructuras esféricas) reconocen al sustrato correspondiente mediante las moléculas de apo C-II, representadas por la zona sombreada próxima a las esferas de *LPL*.

Una vez anclada en el endotelio vascular, en su forma activa, la molécula de *LPL* presenta varios sitios funcionales, distintos entre sí y que contribuyen a su efectividad catalítica, o la modulan (fig. 25.6):

1. Un sitio de unión a la porción lipídica de la superficie del sustrato.
2. Un sitio de unión a la apo C-II.
3. Un sitio de unión a las cadenas largas de ácidos grasos de los triacilglicéridos sobre los que actúa.
4. Un sitio catalítico.
5. Un sitio de unión electrostática a las moléculas de glicosaminoglicanos (heparán sulfato), que le anclan al endotelio vascular.
6. Un sitio de interacción entre sus dos subunidades.

Dado el importante papel de la *LPL* en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos, y puesto que determinadas situaciones de hipertriglicéridemia son producidas por deficiencia de esta enzima, tiene interés diagnóstico determinar su actividad. No suele haber actividad *LPL* en plasma, debido a la forma en que ésta se encuentra anclada al endotelio vascular, pero puede ser liberada mediante la administración intravenosa de pequeñas cantidades de heparina, que compite con las moléculas de heparán sulfato, a las que está unida la enzima. Por ello, la actividad plasmática *LPL* postheparínica constituye una prueba clínica de importante valor para el diagnóstico de determinados tipos de hiperlipoproteinemias.

Lipasa hepática (HL)

No toda la actividad lipásica que se libera al plasma tras la administración de heparina tiene características de *LPL*. De hecho, hay una fracción que no es

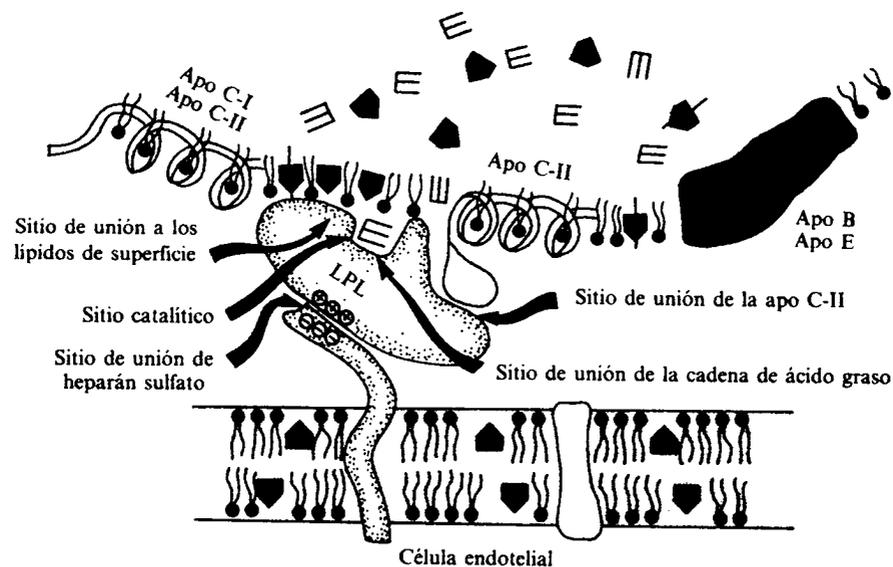


Figura 25.6. Sitios de unión de la molécula de lipoproteína lipasa (*LPL*) a la fracción lipídica y a la apo C-II del sustrato, así como a una molécula de heparán sulfato de la membrana de la célula endotelial. Las moléculas de triacilglicéridos sobre los que actúa la *LPL* se encuentran en el corazón de la lipoproteína, y migran a su superficie para interactuar con la enzima. En la figura también se muestra una de tales moléculas de triacilglicérido unida al sitio catalítico de la *LPL*. (Tomada de Larry, R.; McLean, R. M.; Demel, R. A.; Socorro, L.; Shinomiya, M., y Jackson, L.: «Methods in Enzymology», vol. 129, Albers, J. J., y Segrest, J. P. (eds.), Academic Press, Nueva York, págs. 738-763, 1986.)

inhibida por concentraciones altas de cloruro sódico y sulfato de protamina, que está también implicada en el metabolismo de las lipoproteínas y que, por su procedencia específica del hígado, recibe el nombre de *lipasa hepática*, *triacilglicérido lipasa hepática*, *lipasa endotelial hepática*, o *HL*. Se ha demostrado también la existencia de actividad *HL* en la corteza de las cápsulas suprarrenales y en ovarios, aunque es de procedencia hepática, pues sólo en este tejido se ha detectado el mRNA correspondiente. Una vez sintetizada en las células parenquimatosas del hígado, es trasladada al exterior, y se ancla también al endotelio capilar, de manera semejante a la *LPL*, mediante moléculas de heparán sulfato u otros aminoglicanos sulfatados.

La *HL* es una glicoproteína monomérica de 62.000 daltons de peso molecular, cuyas características funcionales se conocen peor que las de la *LPL*. Hidroliza las uniones acil-ésteres de triacilglicéridos, diacil y monoacilglicéridos, de fosfoacilglicéridos, y las uniones tioéster de los acil-CoA. Su actividad catalítica no requiere la acción activadora de la apo C-II, como ocurría en el caso de la *LPL*, pero parece estar modulada por otras apoproteínas tales como las apo C-III, A-I y A-II, que disminuyen su efectividad.

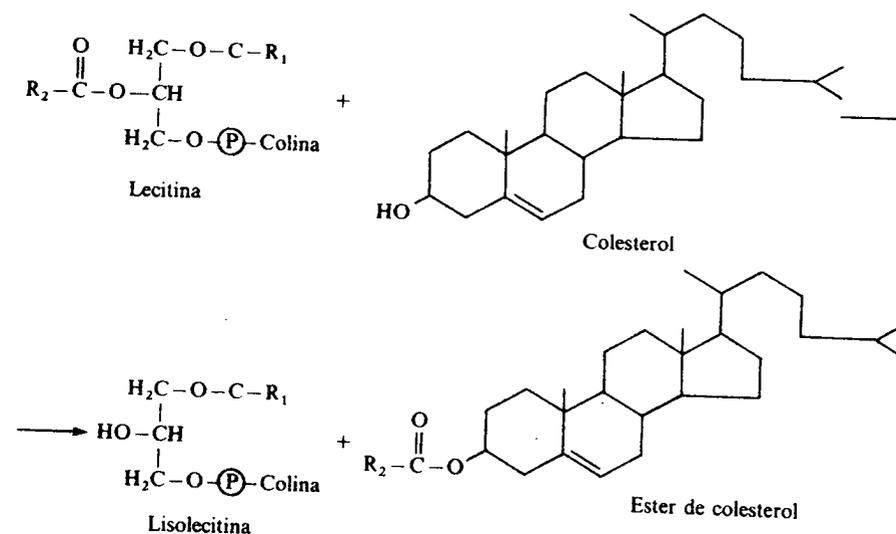
El papel funcional de la *HL* no está suficientemente establecido, aunque parece implicada en distintos aspectos concretos del metabolismo de las lipoproteínas:

1. En la transformación de HDL₂ en HDL₃, a través, especialmente, de su acción fosfolipásica.
2. En la eliminación de la circulación de los remanentes de los quilomicrones y de las IDL, en los que facilitan la exposición de las apo E al hidrolizar

3. En la transformación de IDL en LDL. De hecho, en individuos con deficiencia en *HL* se ha observado un acúmulo de IDL en plasma.

Lecitina-colesterol aciltransferasa (*LCAT*)

Esta enzima procede del hígado, y es segregada a la circulación, donde actúa en la superficie de las HDL, catalizando la siguiente reacción:



Esta es la principal fuente de colesterol esterificado del plasma, y es por ello que la *LCAT* constituye un factor esencial para la salida de colesterol de los tejidos y su transporte al hígado; para la interconversión de las subfracciones de HDL, y para el mantenimiento de la estructura de otras lipoproteínas circulantes.

La *LCAT* es también una glicoproteína, con 59.000 daltons de peso molecular y un contenido relativamente alto en ácido siálico (aproximadamente un 5 por 100 de su molécula), el cual parece constituir un sistema de protección para evitar la rápida eliminación de la enzima circulante por el hígado. Su actividad catalítica es modulada por distintas apoproteínas: la apo A-I es un cofactor imprescindible para su actividad, mientras que las apo C-II, C-III y D, así como un exceso de apo A-II, la inhiben por desplazamiento de la primera. Para su acción catalítica, la *LCAT* posee dos sitios activos, uno de ellos típico de una serina hidrolasa, en el que la apo A-I facilita la interacción covalente entre el grupo N-terminal de una molécula de histidina y el fosfolípido que actúa como primer sustrato de la reacción (fig. 25.7), y otro donde se produce la transacilación; en este caso, la esterificación propiamente dicha del colesterol.

Desde el punto de vista funcional, y dada su dependencia de la apo A-I, la *LCAT* actúa únicamente sobre las lipoproteínas que contienen dicha apoproteína, las HDL. Sin embargo, el colesterol libre utilizado como segundo sustrato de la reacción procede de lipoproteínas distintas de las HDL, e incluso de las membranas celulares. Esta transferencia del colesterol libre tiene lugar mediante un gradiente de concentración, por lo que se ve favorecida por la propia actividad

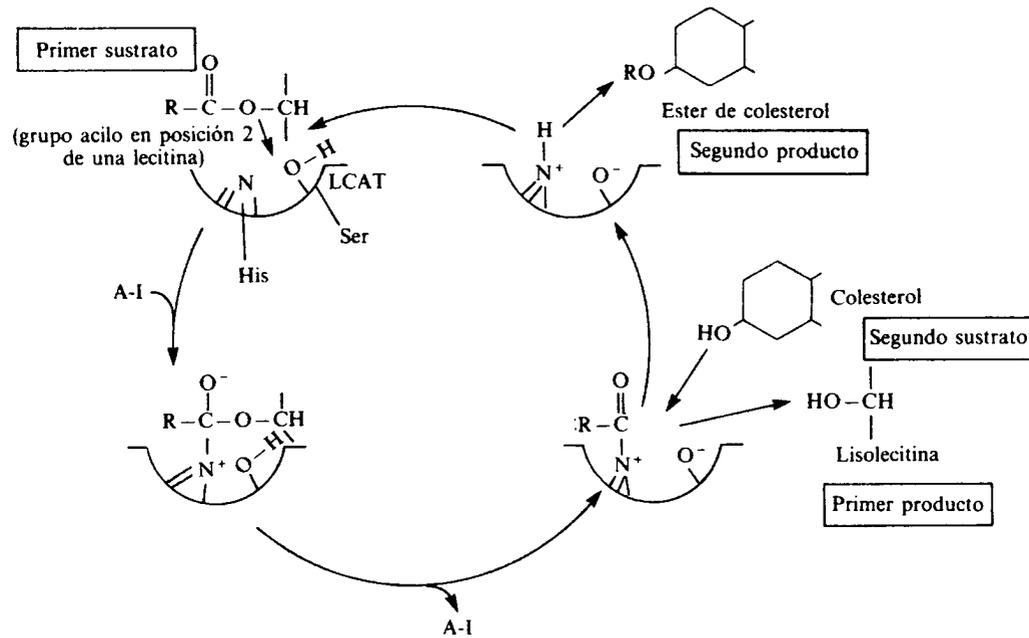


Figura 25.7. Modelo propuesto para la acción catalítica de la LCAT, y lugar donde participa la apo A-I en el mismo.

LCAT, que mantiene el gradiente al esterificar el colesterol (fig. 25.8). A su vez, como describiremos más adelante (fig. 25.8), las HDL ceden su colesterol esterificado, por acción de la LCAT, a otras lipoproteínas, y ello contribuye también al mantenimiento del gradiente, que favorece la transferencia del colesterol libre hacia las primeras.

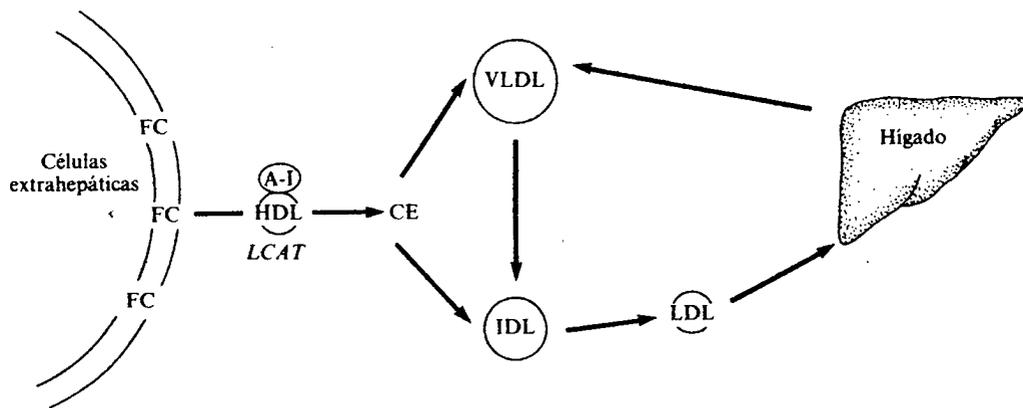


Figura 25.8. Papel de la LCAT en su acción sobre las HDL, al ser éstas las lipoproteínas que llevan apo A-I. Dicha acción favorece el gradiente de colesterol libre (FC) y su transferencia de las células extrahepáticas a las lipoproteínas circulantes en forma de colesterol esterificado (CE). El esquema se ha completado con la producción de VLDL por el hígado y la captación por éste de las LDL circulantes, formándose así un ciclo que favorece el aclaramiento del colesterol de los tejidos periféricos hacia el hígado.

Proteínas transferidoras de lípidos plasmáticos (LTP)

En el plasma existen proteínas que facilitan el intercambio de ésteres de colesterol, de triacilglicéridos y de fosfolípidos entre distintas lipoproteínas. Su función no está aún suficientemente clara, pero considerando el intercambio de colesterol libre y esterificado entre lipoproteínas y células, se sabe que tienen un papel fundamental en el transporte del colesterol libre, procedente de los tejidos extrahepáticos y de la dieta, al hígado. En la figura 25.9 se amplía la figura 25.8 para incluir la participación de las proteínas transferidoras de lípidos (LTP) en el transporte del colesterol, de los distintos tejidos y de la dieta, al hígado. En resumen, el proceso es el siguiente: el colesterol libre extrahepático es captado por las HDL, en función del gradiente de concentración ya comentado, y esterificado en ellas por la acción catalítica de la LCAT, que actúa sobre las HDL gracias a su componente apo A-I. Una vez esterificado, el colesterol es transferido, por medio de las LTP, desde las HDL hasta las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos (VLDL y quilomicrones), así como a las lipoproteínas derivadas de éstas, resultantes de su transformación, durante sus catabolismos respectivos, por acción de la LPL; es decir, las IDL y LDL, derivadas de las VLDL, y los remanentes derivados de los quilomicrones. IDL, LDL y remanentes, que transportan el colesterol esterificado, recibido por medio de la LTP, son reconocidas por receptores hepáticos específi-

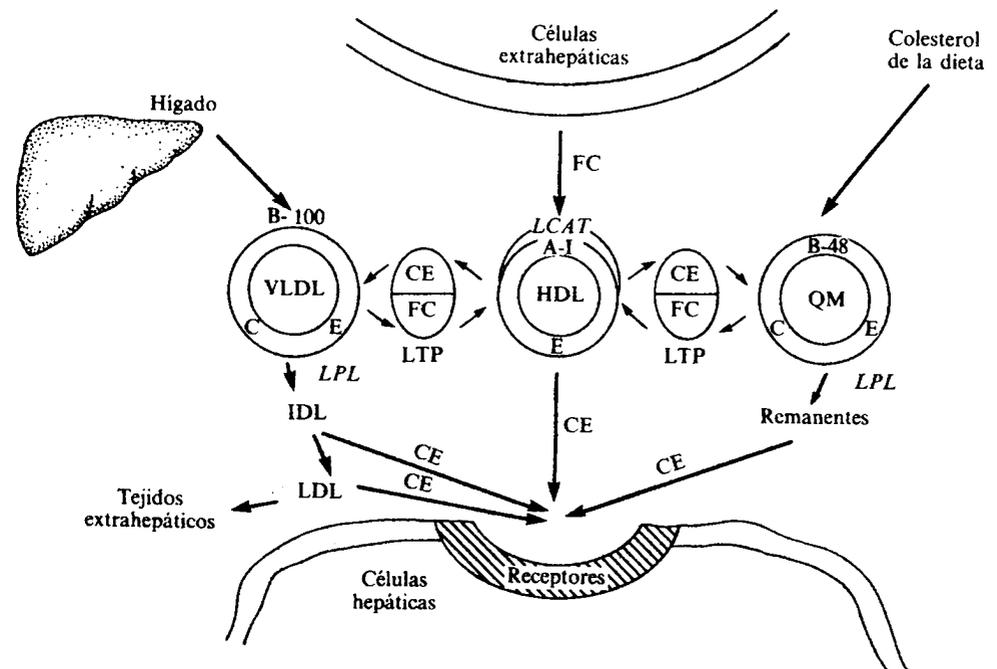


Figura 25.9. Las proteínas transportadoras de lípidos plasmáticos (LTP) facilitan el paso de los ésteres de colesterol (CE) formados a nivel de las HDL por acción de la lecitina-colesterol aciltransferasas (LCAT) sobre el colesterol libre (FC) derivado de las células extrahepáticas, a lipoproteínas aceptoras (preferentemente VLDL de procedencia hepática, y quilomicrones que transportan colesterol derivado de la dieta). Estas lipoproteínas, a su vez, aportan colesterol libre a las HDL por mediación de la LTP y, por acción de la lipoproteína lipasa (LPL), se transforman en IDL y LDL o en remanentes, cuyo principal destino es el hígado, donde existen receptores específicos que reconocen a las apoproteínas de superficie de estas lipoproteínas.

cos e internadas en el hígado. Todo este proceso permite mantener un gradiente de concentración de colesterol libre entre los tejidos periféricos y las HDL, que facilita el denominado *transporte inverso del colesterol*. El proceso es verdaderamente importante, ya que previene el acúmulo de colesterol en los tejidos extrahepáticos y, por tanto, retrasa el desarrollo de la aterosclerosis.

Parece que las proteínas transferidoras de lípidos tienen también un papel importante en la transferencia de componentes de la superficie de VLDL y quilomicrones (fosfolípidos, colesterol libre e incluso apoproteínas) a otras lipoproteínas (en particular a las HDL), cuando actúa sobre las primeras la *LPL* y distorsiona su estructura. Por otro lado, dichas proteínas transferidoras de lípidos facilitan la redistribución de lípidos neutros no sólo entre las distintas lipoproteínas del plasma, sino también entre las lipoproteínas y las membranas plasmáticas de las células sanguíneas.

Hasta ahora se han identificado dos proteínas transferidoras de lípidos (las denominadas *LTP-I* y *LTP-II*), con pesos moleculares de alrededor de 50.000 daltons, y que se diferencian, además de por sus características estructurales, por su respectiva especificidad con relación a los lípidos que transportan. Existen además diferencias entre especies en cuanto a la presencia o no de estas proteínas, a su estructura y a su funcionalidad, y ello parece ser importante para las diferencias en el metabolismo de las lipoproteínas existentes entre unas especies y otras. Pero desconocemos aún muchos de los aspectos que condicionan tales diferencias, e incluso del papel funcional de estas proteínas.

METABOLISMO DE QUILOMICRONES

El metabolismo global de los quilomicrones se resume en la figura 25.10 de forma muy esquemática. Como ya se indicó en el capítulo 21, los quilomicrones se sintetizan en las células de la mucosa intestinal a partir de los lípidos obtenidos, tras la digestión en el intestino, de las grasas de la dieta. Estas, una vez absorbidas y reestructuradas, se asocian a otros lípidos y a las apoproteínas sintetizadas en las mismas células, y son descargadas a los canaliculos linfáticos para terminar siendo cedidas a la sangre. Así pues, los quilomicrones constituyen la forma de transporte de los lípidos de la dieta a los distintos tejidos, a través de la sangre. Su tamaño depende de la cantidad de triacilglicéridos que contienen, cuyo contenido en ácidos grasos es función, a su vez, de los de la dieta, de forma que cambios en ésta modifican la naturaleza de aquéllos. En las fases de ayuno, el intestino sintetiza también quilomicrones, pero de pequeño tamaño, y utilizando probablemente los lípidos biliares y los de las células de descamación, que son reabsorbidos. A estos quilomicrones se les ha dado el nombre de *VLDL intestinales* porque su tamaño se asemeja a las VLDL de origen hepático, pero esta denominación ha caído en desuso por prestarse a confusión.

En la fase de absorción, el intestino sintetiza quilomicrones de gran tamaño, en forma de *partículas nacientes*, que contienen apo B-48, imprescindible para la configuración estructural del quilomión. Contienen también otras apoproteínas, en particular las del tipo A (apo A-I, A-II y A-IV). Cabe destacar que las partículas nacientes de quilomicrones tienen muy poco contenido en colesterol libre, y precisamente por ello constituyen buenos aceptores del colesterol libre derivado de las membranas celulares y de otras lipoproteínas. Las partículas nacientes son descargadas, a través de los espacios intersticiales, a los capilares linfáticos del plexo mesentérico, de donde pasan a los vasos linfáticos y finalmente al torrente circulatorio, a través del conducto torácico. En este trasiego, dichas partículas

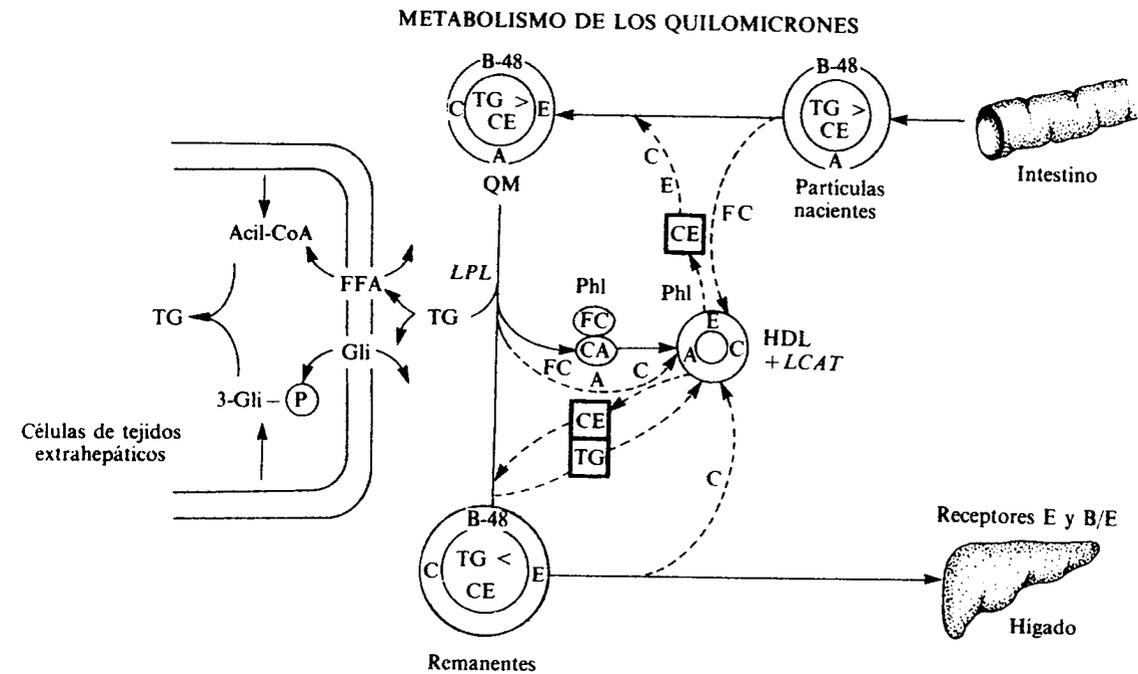


Figura 25.10. Esquema general del metabolismo de los quilomicrones (QM). Los componentes incluidos en recuadros indican la transferencia mediada por la *LTP*. Phl: fosfolípidos; resto de abreviaturas, igual a las figuras anteriores.

nacientes van madurando; en la linfa recogen colesterol libre y algunas apoproteínas, pero su principal transformación tiene lugar cuando llegan al plasma, donde se enriquecen de colesterol libre y apoproteínas C y E y, por tanto, aumentan sus componentes de superficie, lo que hace, a su vez, que aumente la presión lateral de ésta. Como consecuencia, se desprende una cierta proporción de fosfolípidos y toda la apo A-IV de la superficie. Durante su maduración, el quilomión recibe también, a través de un mecanismo mediado por la *LTP*, colesterol esterificado, que se incorpora al centro de la partícula (véase fig. 25.9). Estos intercambios se realizan preferentemente con las HDL, sustratos donde actúa la *LCAT* que, como ya se ha comentado, facilita la formación del colesterol esterificado a partir del colesterol libre y a expensas de la hidrólisis parcial de los fosfolípidos. De hecho, se conoce que la actividad de la *LCAT* favorece el proceso de maduración de los quilomicrones nacientes a sus formas definitivas.

La adquisición de las apoproteínas C-II y E por los quilomicrones les permite completar dos pasos fundamentales de su metabolismo: su transformación en partículas residuales o remanentes y el reconocimiento de éstos por receptores hepáticos para su posterior catabolismo. La presencia de apo C-II hace que los quilomicrones maduros puedan ser reconocidos como sustratos por la *LPL*, enzima ubicada en el endotelio capilar, que hidroliza la mayor parte de los triacilglicéridos de los quilomicrones, y facilita la captación de los productos de la hidrólisis, ácidos grasos libres y glicerol, por el tejido subyacente para su oxidación y depósito, o su liberación a la sangre (véase fig. 25.5). Al perder la mayor parte de los componentes lipídicos que transportaba en su interior, el quilomión disminuye de tamaño, y su superficie queda distorsionada, de modo que de ella se desprenden componentes tales como fosfolípidos, colesterol libre y apoproteínas C y A, en forma de partículas discoidales sobre las que actúa la *LCAT*, transformán-

dolos en HDL. Por ello, dichas partículas constituyen realmente formas nacientes de HDL. De esta manera, los quilomicrones quedan transformados en remanentes, que son lipoproteínas de menor tamaño que aquéllos, con mayor densidad y proporcionalmente enriquecidas en colesterol y en apo E. Esta configuración les permite ser reconocidos por *receptores* hepáticos específicos de la apo E y por los denominados *receptores B/E*, también llamados *receptores de LDL*, por reconocer además a estas lipoproteínas. Después de su unión a estos receptores, los remanentes son internados en los hepatocitos por endocitosis, y mediante la acción de las enzimas hidrolíticas lisosómicas es liberado el colesterol que transportaban, el cual va a participar activamente en los distintos aspectos del metabolismo hepático del colesterol: influye en la síntesis y esterificación del colesterol, en la síntesis de ácidos biliares, y en la de los propios receptores B/E. Así pues, los remanentes de quilomicrones participan en el transporte inverso del colesterol (véase fig. 25.9) al facilitar la vehiculación de una considerable proporción del colesterol circulante hacia el hígado, y contribuir así a su posterior eliminación por la vía biliar.

METABOLISMO DE VLDL

El metabolismo de las VLDL se resume en la figura 25.11, en la que se observa la semejanza de algunas de sus etapas con el de los quilomicrones, si bien hay diferencias importantes. La primera es que las VLDL se forman en el hígado a partir de los lípidos sintetizados en él o de los que le llegan de la circulación. En la figura 25.12 se representan de forma esquemática las etapas que llevan a la formación de VLDL en los hepatocitos. Los lípidos (triacilglicéridos, fosfolípidos y colesterol) son canalizados a través del retículo endoplasmático liso hasta llegar a fusionarse con las apoproteínas (principalmente apo B-100) sintetizadas en el

METABOLISMO DE LAS VLDL

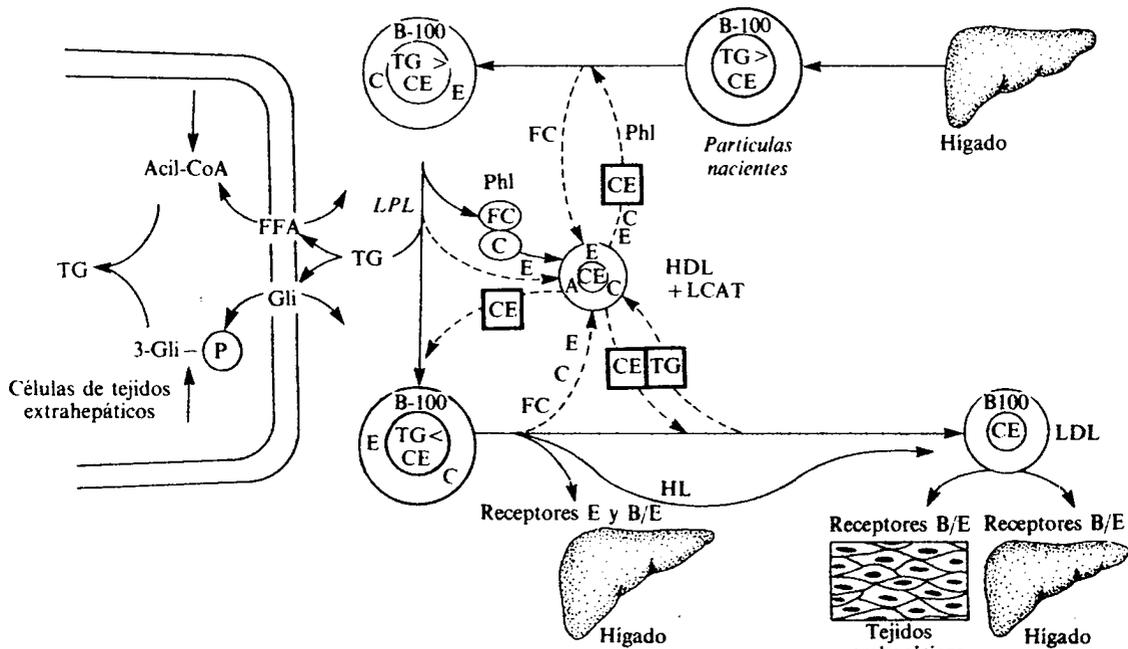


Figura 25.11. Esquema general del metabolismo de las VLDL. Las abreviaturas utilizadas son las mismas que en las figuras anteriores.

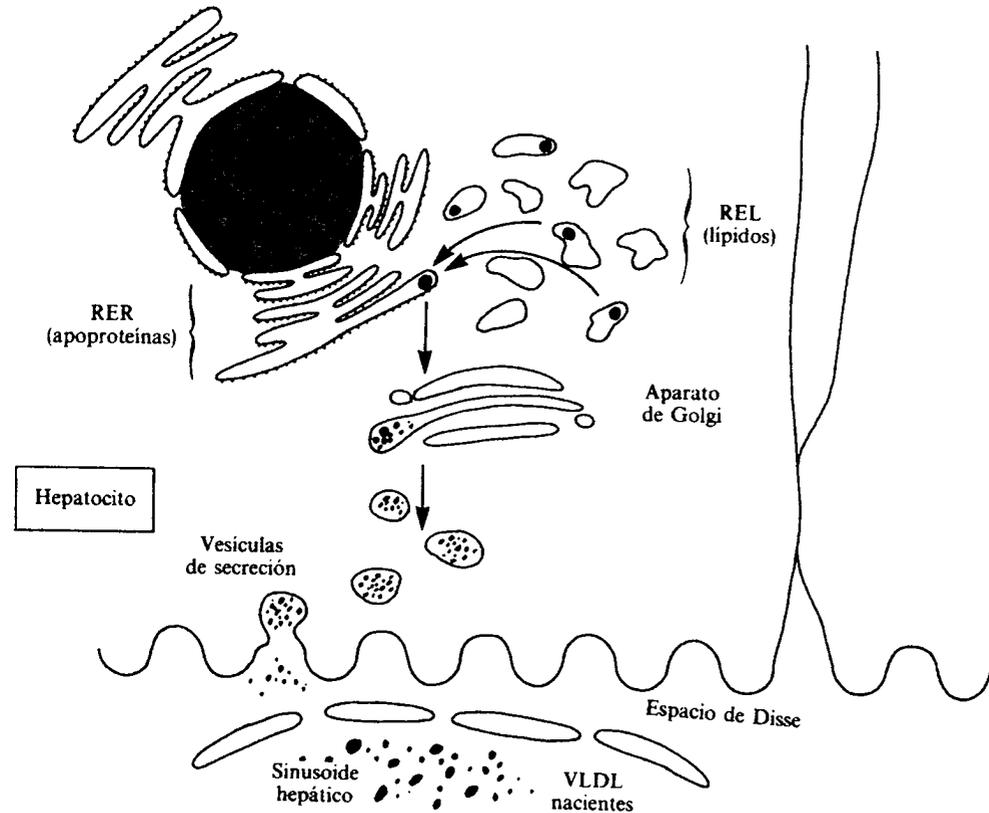


Figura 25.12. Esquema de los procesos que participan en la formación de VLDL en el hígado. Los lípidos (triacilglicéridos, colesterol y fosfolípidos) sintetizados en el propio órgano o procedentes de los que son captados de la circulación, son canalizados a través del retículo endoplasmático liso (REL). En el retículo endoplasmático rugoso (RER) se sintetizan las apoproteínas (en particular, la apo B-100) que se fusionan con dichos lípidos formando las partículas lipoproteicas, que son transportadas al aparato de Golgi, donde se completa la maduración de aquellas apoproteínas mediante su glicosilación. En el aparato de Golgi se forman vesículas que contienen las VLDL nacientes formadas, que migran a la membrana celular, con la que se fusionan liberando dicho contenido a los sinusoides hepáticos a través del espacio de Disse. De esta forma llegan a los capilares sanguíneos las partículas nacientes de VLDL, donde inician el proceso de su maduración mediante el intercambio de componentes con otras lipoproteínas, y en particular con las HDL.

retículo endoplasmático rugoso del hepatocito. Este ensamblaje tiene lugar en el aparato de Golgi, donde las apoproteínas completan su glicosilación y donde se van formando unas vesículas que contienen ya las *partículas nacientes de VLDL* recién sintetizadas. Estas vesículas migran a la membrana basal del hepatocito, donde por exocitosis liberan su contenido, el cual llega a los sinusoides que dan lugar a la formación de capilares a través del espacio de Disse y, finalmente, a la circulación sistémica.

Cuando las partículas nacientes de VLDL llegan al plasma, sufren una serie de cambios semejantes a los que ocurrían a los quilomicrones nacientes. Intercambian colesterol libre y esterificado con las HDL, en un proceso mediado por la acción de la *LTP* y la *LCAT* sobre éstas, y reciben también de ellas las apoproteínas C y E, así como fosfolípidos (fig. 25.11). Al poseer ya apo C-II en su superficie, las VLDL maduras, a diferencia de las nacientes, constituyen un sustrato adecuado para la

LPL, que utiliza dicha apoproteína como cofactor. Así, la *LPL* hidroliza los triacilglicéridos del interior de las VLDL, facilitando la disponibilidad (para su captación y subsecuente metabolización) en los tejidos subyacentes de los ácidos grasos y el glicerol liberados en el proceso. También aquí se distorsiona la superficie de la partícula, liberándose fosfolípidos y apos C, que son incorporados a las HDL en forma de partículas discoidales. El resultado es que la VLDL, después de la acción de la *LPL* sobre ella, ha disminuido de tamaño y se ha enriquecido proporcionalmente en colesterol y apo E, constituyendo ahora una nueva lipoproteína denominada IDL. Una determinada proporción de IDL es reconocida por los receptores hepáticos de apo E o por los B/E para ser internada en el hepatocito, mientras que otra proporción es transformada en LDL mediante un proceso dependiente de la actividad de la *triacilglicérido lipasa hepática (HL)*. No se conoce bien este proceso, pero implica un enriquecimiento proporcional en ésteres de colesterol y la pérdida de triacilglicéridos y de las apo E, por lo cual las LDL formadas contienen una sola apoproteína, la apo B-100. El resto de las IDL plasmáticas, formadas a partir de la acción de la *LPL* sobre las VLDL, siguen intercambiando componentes con las HDL en un proceso dependiente de la *LTP* y de la *LCAT*, y que supone la transformación directa (sin intervención del hígado) de dichas lipoproteínas en LDL. Hay diferencias entre las especies en cuanto a la proporción de IDL que se transforma en LDL por una u otra vía; en cualquiera de los casos, su destino último es el de ser reconocidas por los receptores hepáticos y de tejidos periféricos de apoproteínas B y E (receptores B/E), para su internación y posterior catabolismo.

METABOLISMO DE LAS LDL

Como hemos visto en el apartado anterior y en la figura 25.11, las LDL son el producto final de la acción de la *LPL* sobre las VLDL. El proceso es complejo, y con participación de otros factores (formación de IDL como productos intermedios, receptores hepáticos de apo E, acción de la *triacilglicérido hidrolasa hepática (LH)*, etc.). Las LDL formadas son de menor tamaño y mayor densidad que sus antecesores, contienen como única apoproteína, la apo B-100 y como fracción lipídica más abundante, el colesterol esterificado.

Las LDL son eliminadas del plasma mediante diferentes mecanismos que dependen del tipo de célula de que se trate y del estado de la apo B-100. El órgano cuantitativamente más importante en cuanto a la captación de las LDL plasmáticas es el hígado, seguido por el intestino, las glándulas esteroideogénicas y los macrófagos. El hígado y las adrenales captan las LDL por mediación del *receptor B-100* (denominado también receptor B/E, por reconocer también a las apo E, o receptor de LDL), mientras que el intestino y los macrófagos las captan preferentemente por mecanismos independientes de dicho receptor. Los macrófagos, además del receptor de apo B-100, disponen de otro que reconoce unas formas especiales de VLDL, que aparecen en determinadas situaciones patológicas, denominadas β -VLDL, y los remanentes de quilomicrones; y de un tercer receptor que reconoce las LDL modificadas. Este proceso de formación de LDL modificadas se ha descubierto *in vitro*, mediante la acetilación o tratamiento con dialdehído malónico de las LDL purificadas, y hasta ahora no se conoce con precisión, pero parece desempeñar un papel importante en el proceso de formación de las *células espumosas*, que están cargadas de grandes cantidades de colesterol y que se forman en el endotelio vascular durante el desarrollo de la placa de ateroma. De ahí su potencial trascendencia fisiopatológica.

El receptor mejor conocido es sin duda el de la apo B-100 (receptor B/E), gracias a la labor realizada por Goldstein y Brown. Es una glicoproteína que se sintetiza con una secuencia hidrofóbica de 21 aminoácidos en su extremo N-terminal, que es eliminado inmediatamente después de formado y que parece tener un papel importante como señal para dirigir a los ribosomas que participan en la síntesis del receptor hacia la membrana del retículo endoplasmático. De esta forma queda constituido el receptor maduro, con una secuencia de 839 aminoácidos orientados en forma de cinco dominios bien definidos (fig. 25.13). El primer dominio corresponde al extremo $-\text{NH}_2$ (N-terminal), y consta de una secuencia de 292 aminoácidos fuertemente plegada, que contiene numerosos grupos cargados negativamente en sus caras externas, que interactúan con el dominio correspondiente de las apo B-100 y E. Los dominios 2 y 3 no tienen una función hasta ahora definida, mientras que el 4, de 22 aminoácidos, corresponde al lugar de interacción con la membrana celular, y el 5, de 50 aminoácidos y que contiene el carboxilo terminal (C-terminal), representa un papel importante en la localización del receptor en las denominadas *fosas recubiertas de clatrina*. La *clatrina* es una proteína de membrana que se encuentra localizada específicamente en unas invaginaciones de la membrana plasmática. El receptor B/E, sintetizado en el retículo endoplasmático de la célula correspondiente, migra a través del aparato de Golgi hasta dichas fosas recubiertas, donde enlaza a la apo B-100 de la LDL que se aproxima a él (fig. 25.14). Cuando esto ocurre, se completa el proceso de la invaginación mediante la formación de una vesícula que da lugar a un endosoma, en cuyo interior un descenso del pH induce la formación de una vesícula que contiene al receptor, el cual vuelve a la membrana celular para iniciar el ciclo, mientras que el resto del endosoma se fusiona con los lisosomas, donde queda

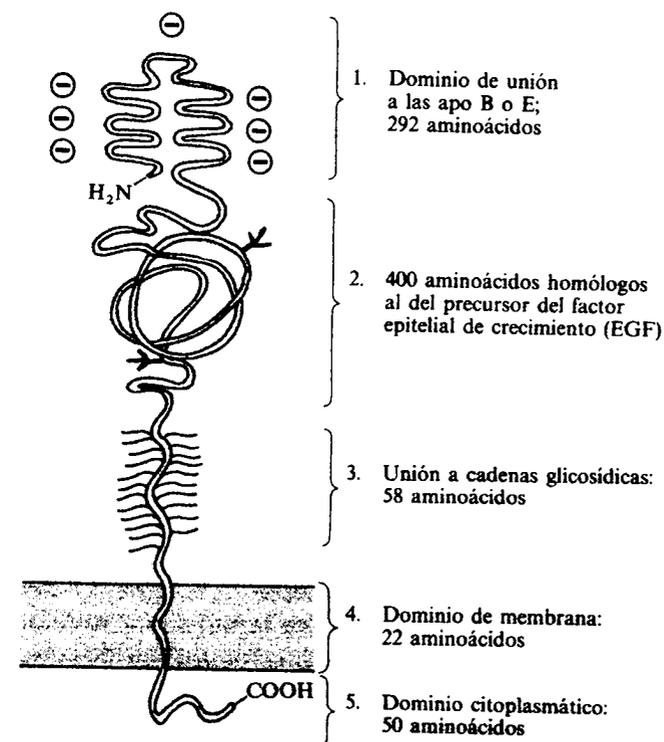


Figura 25.13. Características estructurales del receptor B/E, o receptor de LDL. (Tomado de M. S. Brown y J. L. Goldstein: *Science*, 232:34-47, 1986.)

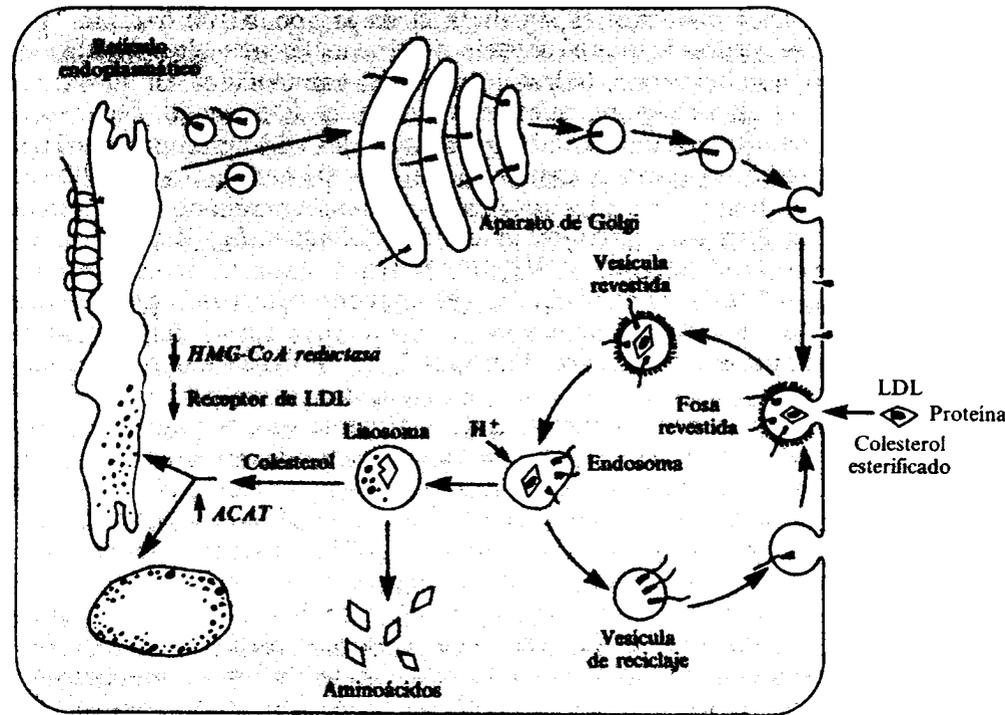


Figura 25.14. Procesos seguidos por el receptor B/E, que constituyen la denominada ruta del receptor de LDL. El receptor sintetizado en el retículo endoplasmático es transportado a través del aparato de Golgi a la membrana celular, donde se coloca en las fosas revestidas. Una vez unido a las LDL, se internaliza mediante la formación de vesículas, que posteriormente se transforman en endosomas y se fusionan con los lisosomas. En las correspondientes vesículas, el receptor vuelve de nuevo a la membrana celular, mientras que el contenido de los lisosomas (LDL) es hidrolizado dando lugar a colesterol libre y aminoácidos. Por acción de la *ACAT*, dicho colesterol es esterificado y los ésteres formados se acumulan en forma de pequeños aglomerados. El exceso de colesterol intracelular regula estos procesos, modificándolos de la forma que indican las flechas del esquema. (Adaptado de M. S. Brown y J. L. Goldstein: *Science*, 232:34-47, 1986.)

internada la lipoproteína y es degradada a merced de sus enzimas hidrolíticas. La apo B-100 se hidroliza totalmente, dando aminoácidos libres, mientras que los ésteres de colesterol, por acción de la *colesterol esterasa ácida* lisosómica, dan lugar a colesterol libre, que sale de la vesícula y queda a disposición de ser utilizado por la célula. Parte de él se esterifica por acción de la *acil-CoA colesterol acil transferasa (ACAT)*, y se acumula en vesículas. El colesterol libre se une al sintetizado en la propia célula, y ejerce diversas funciones reguladoras muy importantes: activa a la propia *ACAT*, inhibe la síntesis de nuevas moléculas de receptor a nivel de la transcripción de su mRNA, e inhibe la síntesis endógena de colesterol por su acción sobre la enzima clave del proceso, la *3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima-A reductasa (HMG-CoA reductasa)*. Por tanto, como resultado de la entrada de colesterol lipoproteico a la célula, disminuye la síntesis de colesterol a partir de acetil-CoA; el colesterol que no se utiliza es esterificado y se almacena, y se readapta el número de receptores B/E en la membrana, impidiendo la entrada de más colesterol lipoproteico a la célula.

A excepción del hígado, que puede excretar el colesterol a la bilis o utilizarlo para la síntesis de ácidos biliares, y de las glándulas esteroideas, que lo

utilizan para la síntesis de las hormonas esteroideas, los requerimientos de colesterol del resto de las células son cuantitativamente muy pequeños, puesto que lo utilizan sólo para la formación de membranas y no pueden degradarlo. De ahí que presenten una estricta necesidad de desprenderse de colesterol, entre otros motivos porque un exceso de este compuesto en la membrana altera su permeabilidad y con ello la fisiología celular.

METABOLISMO DE HDL

La salida de colesterol libre de las células está mediada por las HDL. Estas lipoproteínas, por definición, son las de menor tamaño y mayor densidad (densidad > 1,063), pero constituyen una clase heterogénea, ya que existen varias subfracciones que se diferencian tanto por sus aspectos estructurales y composición como por su metabolismo. Ello hace que el metabolismo de estas lipoproteínas sea complejo, pero de forma global puede resumirse como se presenta en la figura 25.15. Las partículas nacientes de HDL son de dos tipos:

1. Partículas discoidales, formadas por una pequeña cantidad de colesterol libre y una bicapa de fosfolípidos, rodeada de un anillo de apoproteína, que protege a las cadenas hidrofóbicas de los fosfolípidos del agua.
2. Partículas esféricas de pequeño tamaño (aproximadamente de 80 Å de diámetro), con fosfolípidos y apoproteína en la superficie, y colesterol esterificado en el centro, que reciben el nombre de *HDL pequeñas*.

Como se observa en la figura 25.15 (etapa 1), tanto el hígado como el intestino fabrican partículas nacientes de HDL de ambos tipos, aunque las del hígado poseen apo A y apo E, mientras que las del intestino sólo tienen apos A (A-I y A-II). Las partículas discoidales, al disponer de tan escasa cantidad de colesterol, pueden recogerlo en forma de colesterol libre de las membranas celulares y de otras lipoproteínas circulantes. A su vez, puesto que contienen apo A-I y fosfolípidos, estas partículas constituyen un sustrato excelente para la acción de la *LCAT*, que va esterificando dicho colesterol. El colesterol esterificado que se va formando, por carecer de polaridad, va ocupando el centro de las partículas, que así se van transformando en *HDL₃ pequeñas* (fig. 25.15, etapa 2). Estas se unen a las que se han formado directamente como tales en hígado e intestino y han sido segregadas al plasma (fig. 25.15, etapa 3).

Las *HDL₃*, por su relativa riqueza en proteínas y su bajo contenido en colesterol, van recogiendo el colesterol libre que se encuentra en exceso en las membranas celulares. A su vez, cuando la mayor parte del sustrato de la *LCAT* (fosfatidilcolina y colesterol libre) ha sido consumido de la superficie de las *HDL₃*, éstas pueden aceptar fosfolípidos y otros componentes (colesterol y apoproteínas) de la superficie de las partículas lipoproteicas remanentes que se van formando por la acción lipolítica de la *LPL* sobre quilomicrones y VLDL. De esta forma, las *HDL₃* aumentan de tamaño, transformándose en las denominadas *HDL₂ ricas en fosfolípidos* (fig. 25.15, etapa 4), las cuales son también un buen sustrato para la *LCAT*, que va actuando sobre el exceso de colesterol libre y fosfatidilcolina acumulados en su superficie, incrementando así el contenido en colesterol esterificado en el centro de la partícula, y con ello su volumen. De esta manera se van formando nuevas partículas, que se denominan *HDL_{2b}* (fig. 25.15, etapa 5).

Una pequeña fracción de las *HDL_{2b}* puede enriquecerse en apo E a partir de otras lipoproteínas, de macrófagos o de otras células, transformándose en las *HDL_{2E}* (fig. 25.15, etapa 6). Sobre éstas puede seguir actuando la *LCAT*, o pueden

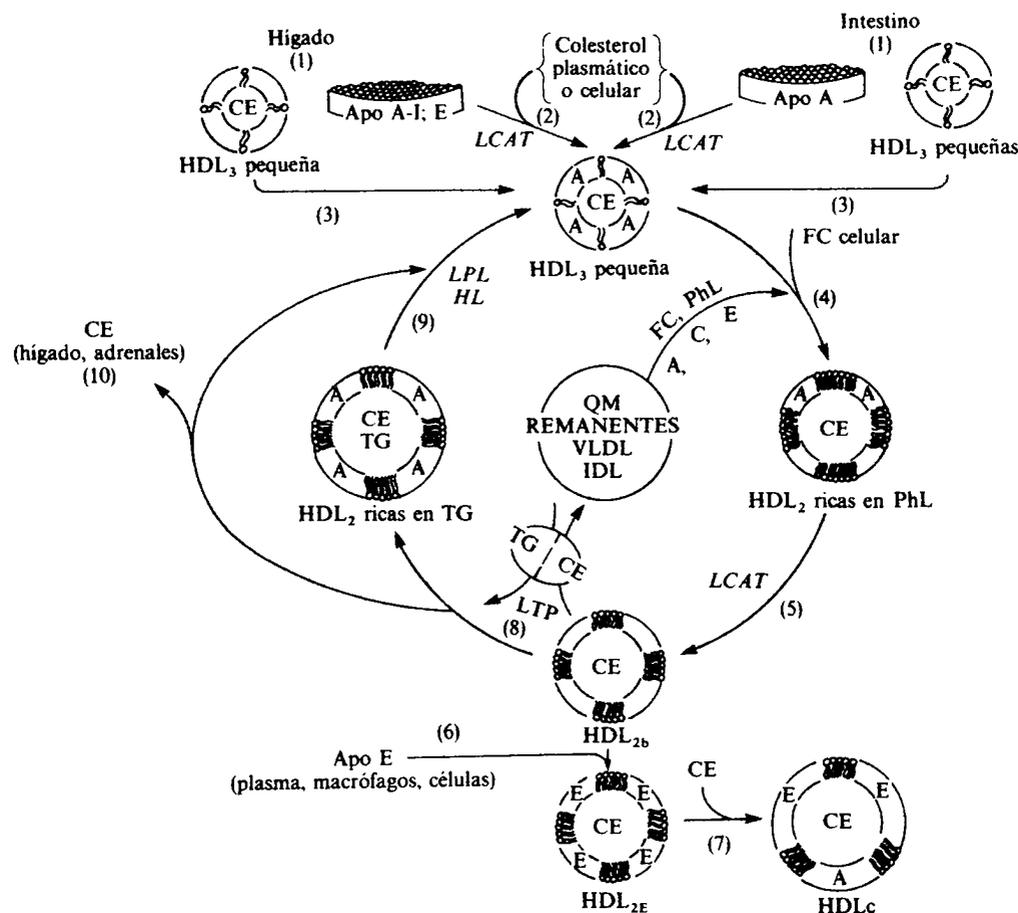


Figura 25.15. Esquema global del metabolismo de las HDL. Las abreviaturas son las mismas que en figuras anteriores. La numeración de las distintas etapas corresponde a la secuencia que se especifica en el texto. Abreviaturas como en figuras anteriores.

recibir directamente colesterol esterificado de otras lipoproteínas circulantes, y así aumentar de tamaño, enriqueciéndose aún más en colesterol (fig. 25.15, etapa 7), y transformándose en las lipoproteínas HDL_c , que tienen ya un tamaño próximo al de las LDL. Los receptores de apo B/E hepáticos, que reconocían las LDL, u otros receptores específicos de las HDL, captan estas HDL_{2E} y HDL_c , que son posteriormente internadas para su catabolismo en el hígado.

Continuando con el metabolismo de las HDL, en la figura 25.15, etapa 8, vemos que el resto de las HDL_{2b} que no se ha enriquecido en apo E intercambia colesterol esterificado por triacilglicéridos con las lipoproteínas ricas en éstos, los quilomicrones y las VLDL. El proceso es facilitado por la acción de una *LTP* (proteína transferidora de lípidos neutros) e implica un enriquecimiento en triacilglicéridos de dichas HDL que, de esta forma, son transformadas en HDL_2 ricas en triacilglicéridos. Por acción de las lipasas que reconocen a estas partículas como sustratos (la *LPL* y la lipasa hepática), se hidrolizan los fosfolípidos y los triacilglicéridos que se habían incorporado, dando lugar de nuevo a HDL de pequeño tamaño, las cuales se unen al acervo de las HDL_3 para iniciar el ciclo (fig. 25.15, etapa 9). Cabe también reseñar un paso adicional en todo el proceso, y es la utilización por parte de determinados tejidos, como el propio hígado y las adrena-

les, de parte del colesterol esterificado de las HDL_{2b} a través de un proceso que aún no se conoce bien, pero que parece ser dependiente del reconocimiento de dichas lipoproteínas por receptores específicos (fig. 25.15, etapa 10). El hecho es que pierden colesterol esterificado, y con ello se incorporan directamente al ciclo sin pasar por su transformación en HDL_2 ricas en triacilglicéridos.

Vemos que el metabolismo de las HDL es cíclico, pero en cada vuelta hay un determinado porcentaje de estas lipoproteínas que es eliminado de la circulación para ser captado por el hígado u otros tejidos. En la figura 25.9 se ha resumido la captación hepática de las HDL en combinación con el intercambio de colesterol esterificado con las demás lipoproteínas y la participación de la actividad de la *LCAT* y la *LTP*, que constituye la vía más eficaz de recogida del colesterol de los tejidos periféricos y su transporte al hígado para ser excretado por vía biliar. En conjunto, este proceso recibe el nombre de «transporte inverso de colesterol», y fue postulado inicialmente por Glomset en los años sesenta, cuando todavía se conocía muy poco del metabolismo de las HDL. Además de ser interesante la adquisición de apo E por determinadas HDL_2 para ser captadas directamente por los hepatocitos a través de los receptores hepáticos, en dicho esquema se observa la existencia de un proceso adicional para hacer que el colesterol periférico llegue al hígado, que en humanos es de considerable importancia e incluso mayoritario. El colesterol esterificado de las HDL_2 es transferido a las VLDL y a los quilomicrones por acción de la *LTP* y vehiculado por las lipoproteínas que se forman por acción de la *LPL* sobre estas lipoproteínas y que contienen apo B-100 (IDL y LDL) y apo B-48 (remanentes de quilomicrones), para ser dirigido mayoritariamente al hígado para su excreción final (fig. 25.9).

METABOLISMO GLOBAL DE LAS LIPOPROTEINAS

A pesar de su complejidad, es importante contemplar el metabolismo de las lipoproteínas de una forma global, dado que *in vivo* tienen lugar de forma simultánea todos los acontecimientos que se han venido considerando hasta ahora. En las figuras 25.16 y 25.17 se resumen de forma simplificada dos esquemas de dicho metabolismo globalizado, con dos enfoques diferentes, que sirven para una mejor comprensión de los procesos que tienen lugar de forma coordinada. En ellas se ha prescindido de muchos de los detalles más específicos descritos en los apartados anteriores, y como muestra de esta simplificación cabe destacar que se ha considerado al conjunto de las HDL como una única fracción lipoproteica. En el primero de estos esquemas (fig. 25.16), el metabolismo de las lipoproteínas se presenta en función de los procesos de síntesis, transformación (maduración) y catabolismo que tienen lugar. El hígado y el intestino constituyen las fuentes principales de las partículas nacientes de todas las lipoproteínas. Independientemente de su naturaleza, cuando estas partículas entran en el plasma intercambian componentes lipídicos y apoproteínas con las lipoproteínas circulantes, en un proceso en el que representan un papel destacado la *LCAT* y las HDL. Así, las partículas nacientes se transforman en lipoproteínas maduras, y en el caso de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos (quilomicrones y VLDL), este proceso las convierte en sustratos para la *LPL*, enzima que hidroliza la mayor parte de triacilglicéridos que transportan, facilitándose así la captación de los productos de esta hidrólisis, ácidos grasos libres y glicerol, por los tejidos correspondientes. El proceso implica también la liberación de fragmentos de la superficie de dichas lipoproteínas, que terminan incorporándose al metabolismo de las HDL, y el intercambio con éstas de colesterol y apoproteínas. Con ello, los quilomicrones son transformados en sus

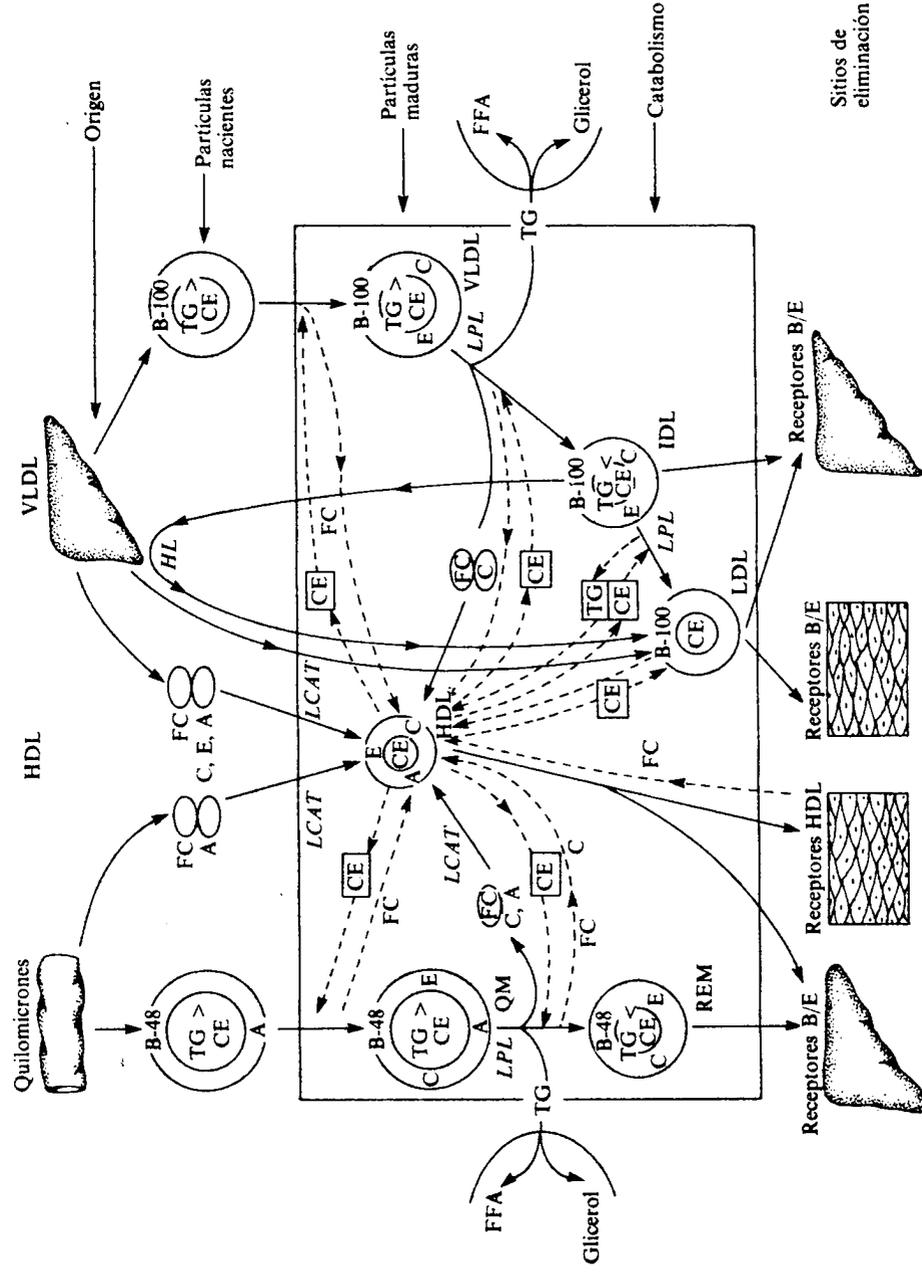


Figura 25.16. Esquema global y simplificado del metabolismo de las principales lipoproteínas del plasma humano, con indicación de los sitios de procedencia y eliminación. Los procesos que se indican dentro del recuadro corresponden a los que tienen lugar de forma simultánea en el plasma sanguíneo. Abreviaturas, iguales a las figuras anteriores.

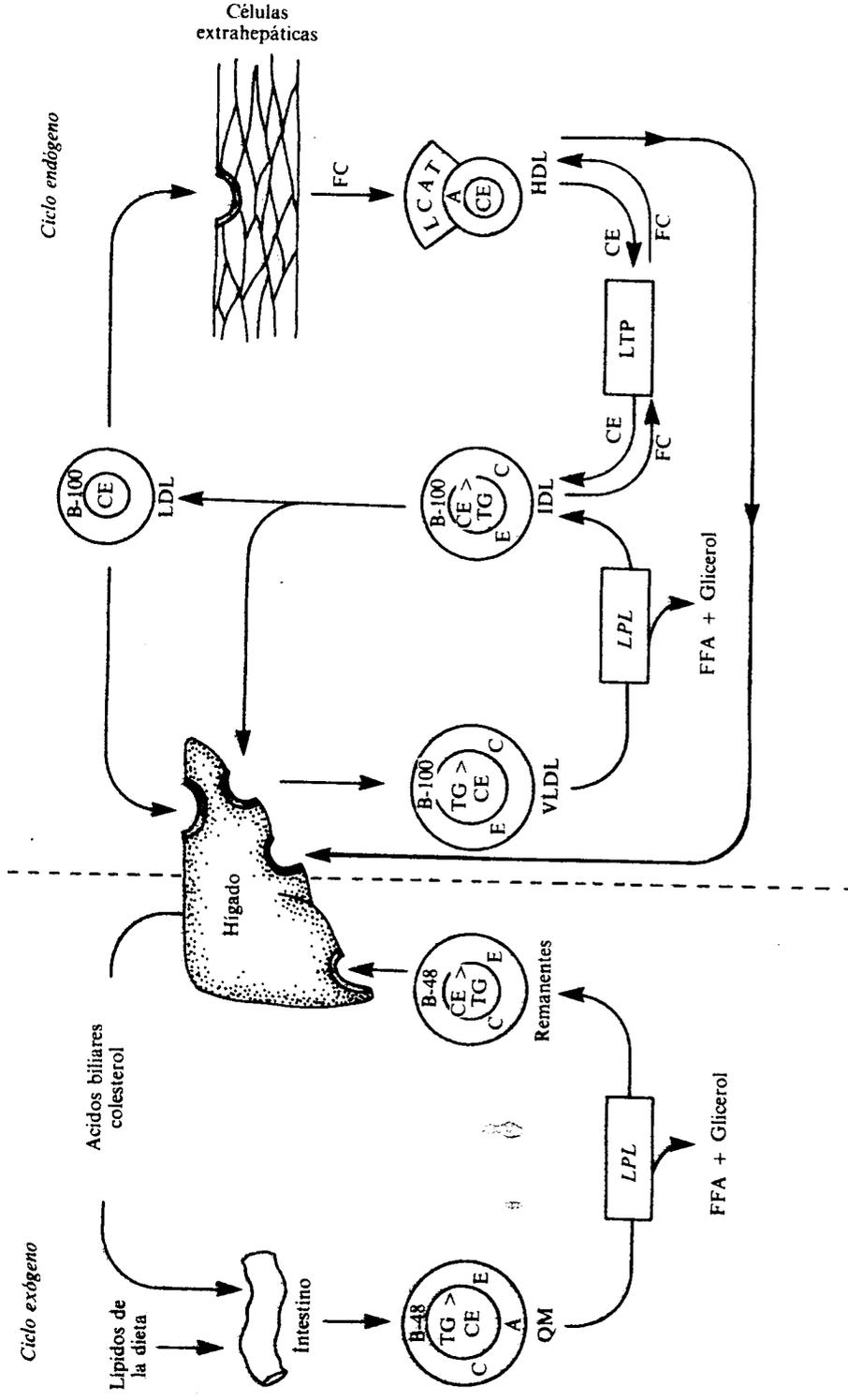


Figura 25.17. Esquema global y simplificado del metabolismo de las principales lipoproteínas del plasma humano, considerándolo estructurado en forma de dos ciclos, uno exógeno, que se inicia con los lípidos de la dieta, y el otro endógeno, que se inicia con la formación de VLDL en el hígado.

remanentes, cuyo destino final es el de ser reconocidos por los receptores hepáticos de apo E y B/E, para así ser eliminados de la circulación. En el caso de las VLDL, se transforman en IDL por acción de la *LPL*, y bien son reconocidas por receptores hepáticos para su eliminación de la circulación o bien son transformadas en LDL en un proceso directo, dependiente también de la *LPL*, o a través de su reconocimiento por receptores hepáticos y acción de la *lipasa hepática (LH)*. Esas LDL son también eliminadas de la circulación después de ser reconocidas por receptores específicos, tanto en el hígado como en los tejidos extrahepáticos. Por último, después de que han ido recogiendo colesterol de las membranas tisulares y de otras lipoproteínas circulantes, también las HDL terminan siendo reconocidas por receptores hepáticos para su posterior degradación y eliminación del colesterol allí descargado, a través de la vía biliar.

Todas estas interrelaciones pueden ordenarse como se indica en un esquema alternativo al que acabamos de describir, resumido en la figura 25.17, en el que se considera que el metabolismo de las lipoproteínas está constituido por dos ciclos. Uno de ellos sería abierto y exógeno, ya que se inicia con los lípidos absorbidos de la dieta a través del intestino. Los quilomicrones formados en este proceso transportan dichos lípidos por la sangre, y la *LPL*, al hidrolizar los triacilglicéridos, los transforma en remanentes al tiempo que facilita la disponibilidad para los distintos tejidos de los productos de dicha hidrólisis, ácidos grasos libres y glicerol. Los remanentes son reconocidos por receptores hepáticos, y como resultado se internan en el hígado, donde parte del colesterol así depositado es eliminado por vía biliar de nuevo al intestino, bien en forma de sales biliares, bien como colesterol libre. Otra fracción de este colesterol puede ser utilizado también en el hígado para unirse al sintetizado allí, que junto con los triacilglicéridos, fosfolípidos y apoproteínas, dan lugar a la síntesis de las VLDL, como inicio del ciclo que podría denominarse endógeno. Las VLDL son convertidas en IDL por acción de la *LPL*, en un proceso que permite, al igual que antes, descargar los productos de la hidrólisis de los triacilglicéridos que transportan en los correspondientes tejidos. Las IDL son parcialmente captadas por el hígado, pero en su mayor proporción son convertidas a LDL a través del intercambio de componentes con las HDL, y dichas LDL, al ser reconocidas por receptores hepáticos y extrahepáticos, descargan el colesterol que transportan en los distintos tejidos. Las HDL inician el proceso del transporte inverso del colesterol, en el que intervienen de forma activa la *LTP* y la *LCAT*, y que permite la salida del colesterol de los tejidos extrahepáticos para ser transportado al hígado, bien directamente en las propias HDL, bien tras su transferencia a las otras lipoproteínas circulantes, y en particular a las IDL y los remanentes de los quilomicrones.

HIPERLIPOPROTEINEMIAS

Las *hiperlipemias* son estados fisiológicos o patológicos en los que se manifiesta una elevación de los niveles plasmáticos de lípidos en general. El término *hiperlipemia* es evidentemente muy amplio y no es objeto de este capítulo tratar de todos los tipos de *hiperlipemias*, sino sólo de las que se asocian con una elevación de las lipoproteínas, es decir, las *hiperlipoproteinemias*. Mencionemos, no obstante, que dado que estas últimas son las más frecuentes, en el lenguaje común se suelen emplear ambos términos como sinónimos, no siéndolo estrictamente. Para definir estos desórdenes del metabolismo se utilizan también los términos *hipertrigliceridemia* e *hipercolesterolemia*, puesto que, más que los niveles absolutos de lipoproteínas, son las concentraciones plasmáticas de triacilglicéridos

y de colesterol los parámetros bioquímicos que permiten caracterizar en una primera aproximación la normalidad o la alteración del estado metabólico lipídico de un individuo. Señalemos también que las *hiperlipoproteinemias* constituyen un subgrupo, si bien el más numeroso, dentro de las *dislipoproteinemias*, que sería cualquier alteración del metabolismo de las lipoproteínas, incluyendo las *hiperlipoproteinemias* y las *hipolipoproteinemias*.

Como ocurre con cualquier alteración que se define por los niveles plasmáticos de ciertos metabolitos, la etiología de las *hiperlipoproteinemias* es muy diversa, pudiendo residir en un trastorno propio del metabolismo lipídico o de las lipoproteínas, en cuyo caso se trataría de una *hiperlipoproteinemia primaria*. Hay, sin embargo, otros procesos funcionales (endocrino, funcionalidad hepática o renal, etc.) que también afectan a las lipoproteínas, aunque de una forma secundaria. Estas últimas son las *hiperlipoproteinemias secundarias*, de las cuales se indican algunos de los ejemplos más habituales en la tabla 25.3.

Señalemos también que no todas las *hiperlipoproteinemias* son necesariamente la manifestación de una situación patológica. Este es el caso, por ejemplo, de la *hiperlipoproteinemia gestacional*, que es una adaptación fisiológica normal que tiene lugar en el último tercio del período gestacional. Incluso dentro de las primarias, algunas no deben considerarse enfermedades, como, por ejemplo, la *hiperalfalipoproteinemia*, que se asocia con la longevidad. No obstante, la mayor parte de las *hiperlipoproteinemias*, aquellas que consisten en una elevación de los niveles de colesterol en LDL y VLDL, conllevan un alto riesgo de padecer accidentes cardíaco y cerebrovasculares (cardiopatía isquémica, entre ellas), lo cual se debe a que el colesterol de dichas lipoproteínas es agente causal de la aterosclerosis subyacente en dichas patologías. De ahí el interés actual por el diagnóstico precoz y el tratamiento de estas *hiperlipoproteinemias*.

Como ya se ha mencionado antes, para determinar si se trata de una *hiperlipoproteinemia*, suele recurrirse a comparar los valores de concentración plasmática de colesterol y triacilglicéridos con los de la población normal. Esta compara-

Tabla 25.3
CAUSAS DE HIPERLIPOPROTEINEMIAS SECUNDARIAS

	Fenotipos				
	I	IIa, IIb	III	IV	V
Diabetes mellitus severa	+				
moderada					+
Obesidad		+	+	+	+
Síndrome nefrítico		+		+	+
Uremia					+
Alcoholismo				+	+
Hipotiroidismo		+	+	+	+
Obstrucción biliar		+	+		
Hepatitis		+			
Disglobulinemias diversas	+		+	+	
Lupus eritematoso	+		+		+
Mieloma		+	+		+
Porfiria		+			
Tratamientos con:					
bloqueantes β -adrenérg.		+			
estrógenos				+	
corticosteroides	+	+		+	+
diuréticos		+		+	

ción debe hacerse con grupos de población de la misma edad y sexo y, a ser posible, del mismo entorno, por cuanto sexo, edad y dieta, entre otros, son factores que influyen en los niveles de aquellos lípidos. Por otra parte, esto exige una estandarización y el control de los métodos analíticos, ya que la bondad de los estudios epidemiológicos, el diagnóstico y tratamiento del paciente, y hasta las actuaciones sobre la población para la prevención de las enfermedades cardio y cerebrovasculares, deben apoyarse en pruebas analíticas exactas y precisas.

Ante un aumento de los niveles plasmáticos de colesterol o de triacilglicéridos, debe descartarse que se trata de una hiperlipoproteinemia secundaria (tabla 25.3) y, en su caso, establecerse su carácter de primaria mediante la historia personal y familiar, los signos clínicos y bioquímicos y el conocimiento a nivel molecular, a ser posible, de la alteración.

Hiperlipoproteinemias primarias

La clasificación más extendida de las hiperlipoproteinemias ha sido la de Fredrickson y colaboradores, admitida también por la OMS. Esta clasificación no pretende definir enfermedades con entidad propia, sino estados o fenotipos con alteraciones características en los niveles de lipoproteínas. Esta clasificación, que data de 1967, ha tenido el mérito de la simplificación para el abordaje del diagnóstico y del tratamiento de las hiperlipoproteinemias.

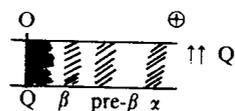
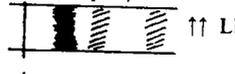
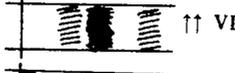
En un próximo futuro se clasificarán estas enfermedades atendiendo al genotipo, es decir, a la alteración molecular responsable. De hecho, aunque se reconocen ya hoy en día alteraciones de las apoproteínas, de los receptores, de las enzimas, etc., aún sigue vigente la clasificación de Fredrickson, por su utilidad en el manejo clínico del paciente.

A continuación se describen los seis fenotipos que configuran esta clasificación, pero insistimos en que las dislipoproteinemias que se mencionan no constituyen entidades homogéneas desde ninguno de los aspectos genético, clínico o fisiopatológico. En la tabla 25.4 se resumen los principales rasgos de estos fenotipos y en la figura 25.18 se presenta un esquema simplificado de las principales alteraciones del metabolismo de las VLDL y LDL y su relación con diversas hiperlipoproteinemias. A su vez, en la tabla 25.5 se presenta una clasificación de las distintas dislipoproteinemias en función de la alteración que manifiestan.

Hiperlipoproteinemia tipo I

También conocida como *hiperquilomicronemia*, se caracteriza por una intensa elevación de la concentración plasmática de triacilglicéridos, con presencia importante de quilomicrones. Los niveles de LDL y HDL están disminuidos, así como los de sus apoproteínas y su colesterol. Esta alteración es consecuencia de la falta de expresión de la actividad *LPL*, bien sea por defecto de su síntesis (*deficiencia familiar de LPL*) o por ausencia de su activador específico, la apo C-II (*deficiencia familiar de apo C-II*), lo cual impide que quilomicrones y VLDL sean hidrolizados, y que el metabolismo global de las lipoproteínas se desarrolle normalmente. Son enfermedades autosómicas recesivas muy raras, que se manifiestan muy pronto en la niñez. El tratamiento de estos pacientes es fundamentalmente dietético y se dirige a reducir la producción intestinal de quilomicrones. Las deficiencias en apo C-II responden favorablemente a la administración endovenosa de esta apoproteína, o incluso de fragmentos de dicho péptido.

Tabla 25.4
CLASIFICACION DE LAS HIPERLIPOPROTEINEMIAS PRIMARIAS SEGUN LOS FENOTIPOS DE FREDICKSON Y COLABORADORES

Fenotipo	Colesterol	Triacilglicéridos	Electroforesis en agarosa
I	= ↑	↑↑↑↑	 ↑↑ Q
IIa	↑↑↑	=	 ↑↑ LDL
IIb	↑↑↑	↑	 ↑↑ LDL ↑ VLDL
III	↑↑	↑↑	 β-VLDL
IV	= ↑	↑↑↑	 ↑↑ VLDL
V	↑↑	↑↑↑↑	 ↑ Q ↑↑ VLDL

Hiperlipoproteinemia tipo IIa

Se caracteriza por una elevación de la concentración plasmática de colesterol, con niveles normales de triacilglicéridos. En su perfil de lipoproteínas se aprecia una elevación de los niveles plasmáticos de las LDL, valores normales o ligera-

Tabla 25.5
CLASIFICACION DE LAS DISLIPOPROTEINEMIAS SEGUN LA ALTERACION

Síntesis hepática de VLDL (aumento)	Hiperlipemia familiar combinada Hipertrigliceridemia familiar
Lipólisis de Q y VLDL (disminución)	Deficiencia de <i>LPL</i> Deficiencia de apo C-II Hiperlipoproteinemia tipo V
Conversión de IDL en LDL (disminución)	Homozigosidad para apo E-2 Deficiencia de <i>HL</i>
Captación hepática de remanentes (disminución)	Homozigosidad para apo E-2 Deficiencia de apo E
Captación celular de LDL (disminución)	Hipercolesterolemia familiar
Síntesis de apo B-48 (disminución)	Abetalipoproteinemia Hipobetalipoproteinemia
Síntesis de apo B-100 (disminución)	Abetalipoproteinemia Hipobetalipoproteinemia Abetalipoproteinemia normotrigliceridémica
Síntesis de HDL (disminución)	Deficiencia apo A, B/C-III Apo A-I Milán
Maduración del HDL (disminución)	Deficiencia de <i>LCAT</i>
Retroendocitosis de HDL (aumento)	Enfermedad de Tangier
Transferencia de ésteres de colesterol (disminución)	Deficiencia de <i>LTP</i> (hiperalfalipoproteinemia)

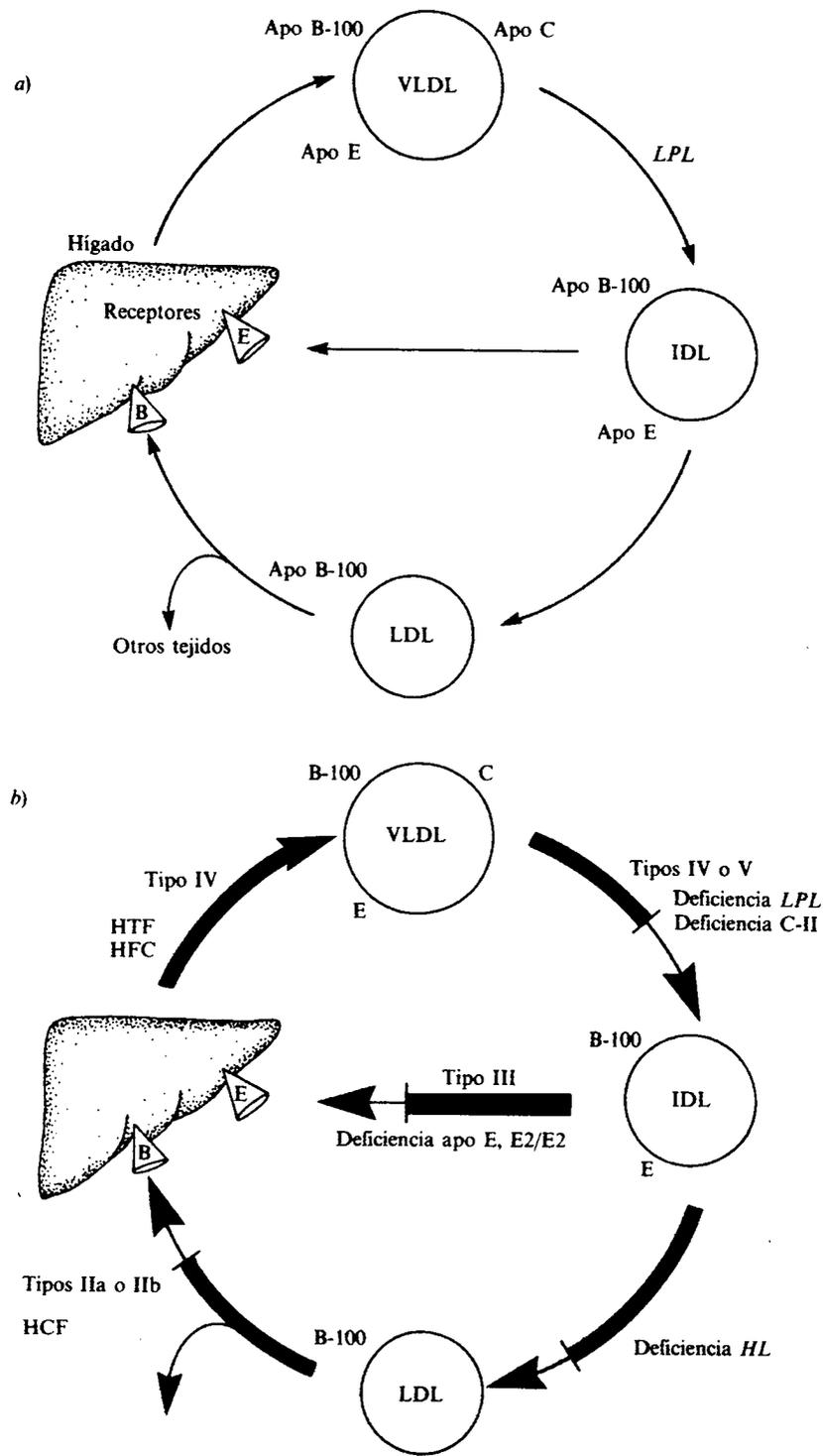


Figura 25.18. Esquema simplificado del metabolismo de las VLDL y LDL (parte a) y de las principales alteraciones del mismo que se han encontrado en el hombre (parte b), con indicación del proceso afectado y de las hiperlipoproteinemias más importantes. HTF: hipertrigliceridemia familiar; HFC: hipercolesterolemia familiar; LPL: lipoproteína lipasa; HL: lipasa hepática.

mente disminuidos de HDL, y de VLDL dentro de la normalidad. Este fenotipo lo manifiestan pacientes con *hipercolesterolemia familiar*, enfermedad de transmisión autosómica dominante, cuya alteración consiste en la expresión defectuosa del receptor LDL (o B/E). Se han identificado a nivel molecular numerosas variantes de esta enfermedad, habiéndose observado que el defecto puede residir en la propia síntesis del receptor, en su procesamiento a nivel del retículo endoplasmático o del aparato de Golgi, en el anclaje del receptor en las fosas recubiertas de clatrina de la membrana, o en el reconocimiento de la apo B-100. Precisamente el estudio a nivel molecular de la estructura del receptor que sintetizan estos pacientes, o de su DNA, ha permitido identificar la función de las diversas regiones de la molécula del receptor. Como resultado de la falta de funcionalidad del receptor B/E, el catabolismo de las LDL en estos pacientes se enlentece. Por otro lado, dado que las IDL son en parte precursoras de las LDL y en parte catabolizadas por el hígado a través del receptor B/E, la no funcionalidad de este último determina que la tasa de producción de LDL a partir de IDL se incremente en estos pacientes, contribuyendo a aumentar los niveles de LDL. En esta situación, las LDL son metabolizadas intensamente por los macrófagos a través del «receptor de LDL modificadas», acumulándose ésteres de colesterol en estas células. Este mecanismo está en la base de la aterosclerosis coronaria prematura, así como la infiltración lipídica en otros tejidos, originando xantomas y arco corneal, que son manifestaciones clínicas de la *hipercolesterolemia familiar*.

La creciente aplicación de las técnicas de biología molecular al estudio del DNA está permitiendo identificar numerosos polimorfismos en el gen que codifica la apo B-100, alguno de los cuales se correlaciona con niveles de LDL ligeramente altos. Todos estos estudios apoyan la posibilidad de que la causa de ciertas hipercolesterolemias con actividad del receptor B/E normal, pero con tasa de aclaramiento de las LDL disminuida, reside en una mutación en el gen para la apo B-100, que conlleva la síntesis de una proteína con ciertos cambios en su estructura que la inhabilitan para interactuar con el receptor.

El fenotipo IIa también lo pueden manifestar los afectos de otras hiperlipoproteinemias, como la *hiperlipemia familiar combinada*.

Hiperlipoproteinemias tipo IIb

El fenotipo IIb se caracteriza por una elevación importante del colesterol en las LDL junto con otra moderada de las VLDL. En consecuencia, estos pacientes muestran una hipercolesterolemia de grado similar a las del tipo IIa y una ligera hipertrigliceridemia. Este fenotipo lo presentan los afectos de *hiperlipemia familiar combinada*, quizá la más frecuente de las hiperlipoproteinemias, y que se asocia con un alto riesgo de padecer cardiopatía coronaria. De transmisión autosómica dominante, su nombre deriva de que en una misma familia se observan diferentes fenotipos (IIa, IIb, IV y V), y un mismo individuo incluso puede presentar distintos fenotipos en sucesivos momentos, siempre a partir de la edad adulta. La hipercolesterolemia nunca es tan intensa como en los afectados de *hipercolesterolemia familiar*. En estos individuos la actividad del receptor B/E es normal, mientras que la alteración parece residir en la sobreproducción de apo B-100 en el hígado, con un aumento de la secreción de VLDL de composición normal. Otros rasgos bioquímicos frecuentes de este desorden son hiperinsulinemia e intolerancia a la glucosa, lo cual no está descartado que pueda contribuir a la aumentada síntesis de apo B-100.

Otra enfermedad que puede presentarse con el fenotipo IIb es la *hiperapobetalipoproteinemias*. Podría ser considerada como una variación de la *hiperlipemia*

familiar combinada, y se caracteriza por la elevación de los niveles de apo B-100 en LDL, al tiempo que los de colesterol en LDL están dentro del rango de la normalidad, y los de colesterol en HDL están disminuidos. Estos pacientes pueden presentar también unos niveles de VLDL ligeramente elevados. Esta dislipoproteíemia se asocia con enfermedad coronaria prematura.

Hiperlipoproteinemia tipo III

La hiperlipoproteinemia tipo III se reconoce por la elevación de los niveles de triacilglicéridos (300 a 1.000 mg/dl) y colesterol, junto con la presencia de unas VLDL de composición alterada. Estas VLDL presentan movilidad β en electroforesis en gel de agarosa en vez de pre- β , que sería lo habitual (tabla 25.4), por lo que se denominan β -VLDL o β -flotantes. La composición de las β -VLDL es cualitativa y cuantitativamente diferente a la de las VLDL normales; destaca el aumento relativo de colesterol respecto a triacilglicéridos, su riqueza en apo E y la presencia de apo B-48 además de apo B-100. Todo ello revela que las β -VLDL son un conjunto de partículas remanentes tanto de VLDL como de quilomicrones. Realmente estos pacientes son homocigóticos para la apo E-2, que es una forma de apo E no reconocida por los receptores E ni B/E; esto determina que las VLDL, sus remanentes (que en realidad son las IDL) y las remanentes de quilomicrones sean catabolizadas por el hígado a una velocidad muy inferior a lo normal, por lo que se acumulan. Por otra parte, las β -VLDL son reconocidas por los macrófagos a través de otro receptor específico para ellas, lo que puede ser causa del acelerado desarrollo de aterosclerosis que se observa en estos pacientes.

El reconocimiento a nivel molecular del defecto subyacente a esta enfermedad hace pocos años permitió red denominarla *disbetalipoproteinemia*. Aproximadamente el 1 por 100 de la población son homocigóticos para la apo E-2 y, por tanto, disbetalipoproteinémicos, pero sólo una minoría de ellos desarrollan la hiperlipoproteinemia tipo III. La hiperlipoproteinemia se manifiesta cuando a la homocigosidad para apo E-2 se le asocia alguna otra enfermedad del metabolismo lipoproteico (*hipercolesterolemia familiar*, *hiperlipemia familiar combinada*, *hipertrigliceridemia familiar*, etc.) o una hiperlipoproteinemia secundaria (debida al hipotiroidismo, diabetes, etc.). Así pues, independientemente del factor desencadenante, la producción de VLDL está aumentada o la actividad del receptor B/E está disminuida; el defecto de reconocimiento de la apo E-2 da lugar a una grave reducción de la velocidad de catabolización de las lipoproteínas remanentes. Los disbetalipoproteinémicos no hiperlipémicos también presentan β -VLDL y VLDL ricas en colesterol, aunque en baja proporción. Las IDL, que normalmente son muy minoritarias en el plasma y en la analítica normal se valoran junto con las LDL, en estos pacientes adquieren una concentración apreciable, mientras que, por el contrario, las LDL están sensiblemente disminuidas. Esto se debe simultáneamente a dos causas: a la menor tasa de conversión de IDL en LDL y a la aumentada tasa de degradación hepática de las LDL a través del receptor B/E.

Hiperlipoproteinemia tipo IV

La hiperlipoproteinemia del tipo IV consiste en una elevación de las VLDL con el consiguiente aumento de los triacilglicéridos totales, pero sin elevación de quilomicrones y con ausencia de β -VLDL. En los pacientes que presentan este fenotipo, la concentración de LDL no está afectada, siendo éste el parámetro que diferencia el tipo IV del IIb anteriormente descrito. Los estudios metabólicos sugieren que la hiperlipoproteinemia tipo IV es de etiología diversa, y puede

abarcar desde la sobreproducción de VLDL hasta la incapacidad para metabolizarlas normalmente.

La mayoría de los pacientes con este fenotipo son los afectados de *hiperlipemia familiar combinada* o de alguna otra forma esporádica de hipertrigliceridemia. En este caso, la dislipemia es aparentemente primaria, pero ningún otro miembro familiar presenta alteración alguna del metabolismo de las lipoproteínas. Hay también otra enfermedad que se manifiesta con este fenotipo, la *hipertrigliceridemia familiar*. Se trata de una enfermedad de transmisión autosómica dominante, que sólo se manifiesta claramente en la edad adulta, con unos valores de triacilglicéridos entre 200 y 500 mg/dl. Es relativamente frecuente que los afectados muestren alguna otra alteración clínica como obesidad, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o hiperuricemia. Por otra parte, causas externas como, por ejemplo, la dieta, el abuso del alcohol, o la utilización de anticonceptivos orales suelen exagerar la hipertrigliceridemia de estos pacientes, llegando incluso a niveles que se pueden adscribir a la hiperlipoproteinemia del tipo V. Se supone que es una entidad genéticamente heterogénea, y no está perfectamente definida cuál es la alteración que la desencadena. No obstante, se ha observado en algunos de estos pacientes que las VLDL presentan unas relaciones triacilglicérido/apo B-100 y triacilglicérido/colesterol superiores a las normales, y que la secreción hepática de triacilglicéridos asociados a VLDL está aumentada, pero no la de apo B-100, que es su apoproteína esencial.

Hiperlipoproteinemia tipo V

Se trata de una hipertrigliceridemia por aumento conjunto de las VLDL y de los quilomicrones. El nivel de colesterol en LDL y en HDL suele ser bajo; dichas lipoproteínas están enriquecidas en triacilglicéridos, como ocurre también en la hiperlipoproteinemia del tipo I. A diferencia de esta última, la hiperlipoproteinemia del tipo V se hace sintomática en la quinta o sexta década de vida, aunque los síntomas son casi idénticos a la del tipo I.

Aun considerando sólo las primarias, con este fenotipo se agrupan enfermedades genéticamente distintas. Por ejemplo, miembros afectados de *hipertrigliceridemia familiar* o de *hiperlipemia familiar combinada* pueden presentar transitoriamente este fenotipo, sobre todo cuando su enfermedad se ve agravada por alguna otra patología concomitante (diabetes, insuficiencia renal, hipotiroidismo, etc.) o por agentes externos (alcohol, contraceptivos orales, dieta inadecuada, etc.).

El defecto a nivel bioquímico de la hiperlipoproteinemia tipo V no está establecido, pero no se trata de una *deficiencia de LPL*, ya que los pacientes deficientes en *LPL* cursan con una hiperlipoproteinemia del tipo I y no del tipo V, donde aparte de los quilomicrones también están intensamente aumentadas las VLDL. De ahí que la hiperlipoproteinemia tipo V no pueda ser considerada como una variante del tipo I, sino que tiene entidad propia. Señalemos también que, a diferencia del tipo I, el tipo V se asocia con frecuencia a intolerancia a la glucosa e hiperuricemia, lo que podría indicar que se trata de una alteración más general que afecta otros puntos del metabolismo, no sólo el de las lipoproteínas.

Otras dislipoproteinemias

En la tabla 25.5 se citan otras dislipoproteinemias junto con las hiperlipoproteinemias antes descritas, agrupadas según el tipo de alteración que presentan.

La *hiperalfalipoproteinemia* se caracteriza por una elevación de las HDL y de la apo A-I, que es su apoproteína mayoritaria. El colesterol de HDL supera los 70 mg/dl. Se trata de un desorden poligénico y de causas no establecidas, habiéndose observado en algunas familias la ausencia de proteína transferidora de lípidos neutros (*LTP*), pero no en otras. Este fenotipo se asocia con la longevidad y relativa ausencia de accidentes coronarios, lo que viene a confirmar a las HDL como un factor protector de la cardiopatía coronaria.

Es relativamente frecuente observar niveles de HDL disminuidos con respecto al valor normal de la población en patologías muy diversas, pero existen algunos casos de *hipoalfalipoproteinemias primarias*, cuyo defecto consiste en una reducida síntesis de HDL o de alguna de sus apoproteínas, o en el acelerado catabolismo de las mismas. Entre ellas figura la *enfermedad de Tangier*, en la que las concentraciones de HDL, de apo A-I y de apo A-II son muy bajas. La apo A-I se encuentra mayoritariamente en su forma de A-I-2, que corresponde a su molécula precursora o proapo. Este hecho motivó que se pensara en alguna alteración del procesamiento plasmático de la apo A-I como causa de la enfermedad de Tangier. Más tarde se demostró que la secuencia de aminoácidos de la apo A-I de estos pacientes era la normal, pero que se catabolizaba muy deprisa, al igual que la apo A-II. Recientemente se ha observado que los macrófagos de estos pacientes presentan un defecto en el procesamiento intracelular de las HDL, en alguno de los pasos que configuran la denominada retroendocitosis de las HDL, con la consiguiente degradación acelerada de estas lipoproteínas.

Otra enfermedad que puede inscribirse dentro de las *hipoalfalipoproteinemias primarias* es la expresión de la *apo A-I Milán*. Los pacientes sintetizan una variante de la apo A-I (apo A-I Milán), que tiene una sustitución de un aminoácido de su molécula por cisteína, y ello favorece que se formen dímeros: homodímeros de apo A-I Milán y heterodímeros con apo A-II. Esto determina una alteración en la estructura de las HDL y en su metabolismo.

En la *deficiencia familiar de LCAT* se manifiesta una intensa alteración del perfil de las lipoproteínas y de su composición. Las HDL no son las normales, sino que las hay con estructura discoidal (unas con apo A-I y apo A-II y otras con apo E) y otras esféricas muy pequeñas, con sólo apo A-I como componente proteico. Todas ellas son ricas en fosfatidilcolina y colesterol libre, mientras que carecen prácticamente de ésteres de colesterol. Estas lipoproteínas se consideran las HDL nacientes, como ha quedado indicado en los apartados precedentes, que por falta de *LCAT* ven detenido su metabolismo. Es frecuente también en estos pacientes la elevación de las VLDL (con la consiguiente hipertrigliceridemia), tratándose de VLDL con composición alterada, siendo especialmente ricas en colesterol libre con respecto a fosfatidilcolina y proteína, y baja proporción de apo C-II y C-III.

La *abetalipoproteinemia* es una enfermedad rara cuyo defecto es la incapacidad para sintetizar apo B-100 y B-48; en consecuencia, estos pacientes carecen de quilomicrones, VLDL, IDL y LDL. Ello hace que la absorción intestinal de lípidos y su transporte en plasma esté totalmente impedido, a excepción del que realizan las HDL. Se pueden diferenciar dos formas de abetalipoproteinemia: la *abetalipoproteinemia recesiva* y la *hipoabetalipoproteinemia* (autosómica dominante) en su expresión homocigótica. Los heterocigóticos de esta última muestran una concentración de LDL en plasma que es la mitad de lo normal o aún menor.

Existen otras dislipoproteinemias, la mayoría de las cuales consisten en alteraciones de las apoproteínas (la apo A-I, la C-III, la E). La intensidad actual del estudio de las hiperlipoproteinemias y la aplicación de técnicas altamente resolutivas permitirá la identificación de otras mutaciones que afecten a este metabolismo,

lo cual debe ser considerado útil para el tratamiento del paciente y para ampliar el conocimiento básico de este complejo metabolismo de las lipoproteínas.

TEXTOS DE CONSULTA

- Albers, J. J., y Segrest, J. P.: «Plasma lipoproteins, Part B: Characterization, cell biology and metabolism», *Methods in Enzymology*, vol. 129, 1986.
- Assmann, G.: *Lipid Metabolism and Atherosclerosis*, Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1982.
- Atkinson, D., y Small, D. M.: «Recombinant lipoproteins: Implications for structure and assembly of native lipoproteins», *Ann. Rev. Biophys. Chem.*, 15:403-456, 1986.
- Brewer, H. B.; Gregg, R. E.; Hoeg, J. M., y Fojo, S. S.: «Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma: an overview», *Clin. Chem.*, 34 (8B), B4-B8, 1988.
- Brown, M. S., y Goldstein, J. L.: «A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis», *Science*, 232:34-47, 1986.
- Goldstein, J. L., y Brown, M. S.: «Regulation of the mevalonate pathway», *Nature*, 343:425-430, 1990.
- Gómez-Coronado, D.; Lasunción, M. A., y Herrera, E.: «Lipoproteínas transportadoras de triglicéridos, I y II», *Clin. Invest. Arteriosclerosis*, vol. 1, págs. 74-86 y 116-129, 1989.
- Gotto, A. M.: «Treatment of Hyperlipidemia», *Am. J. Cardio.*, 57:11G-16G, 1986.
- Grundy, S. M.: «Pathogenesis of hyperlipoproteinemia», *J. Lipid Res.*, 25:1611-1618, 1984.
- Herrera, E.; Lasunción, M. A.; Gómez-Coronado, D., y Orozco, E.: «Papel de la lipoproteína lipasa en el metabolismo de las lipoproteínas, con especial referencia a las VLDL», *Drugs of Today*, 24 (supl. 1), 65-72, 1988.
- Jauhainen, M.; Stevenson, K. J., y Dolphin, P. J.: «Human plasma lecithin-cholesterol acyltransferase», *J. Biol. Chem.*, 263:6525-6533, 1988.
- Kaplan, L. A., y Pesce, A. J.: *Clinical Chemistry. Theory, analysis, and correlation*, ed. C. V. Mosby Company, St Louis, EE.UU., 1984.
- Kannel, W. B.: «HDL as a predictor of coronary heart disease and mortality: results from the Framingham study», en *Dyslipoproteinemia and coronary heart disease: the significance of HDL-cholesterol*, Warner-Lambert Co., Nueva York, págs. 24-29, 1987.
- Kannel, W. B.: «Factores de riesgo cardiovascular y tratamiento preventivo», *Hospital Practice*, 3:23-36, 1988.
- Keen, J. H.: «Clathrin and associated assembly and disassembly proteins», *Ann. Rev. Biochem.*, 59:415-438, 1990.
- Lasunción, M. A.; Iglesias, A.; Skottová, N.; Orozco, E., y Herrera, E.: «High-density lipoprotein subpopulations as substrates for the transfer of cholesteryl esters to very-low-density lipoproteins», *Biochem. J.*, 270:441-449, 1990.
- Rafai, N.: «Lipoproteins and apolipoproteins. Composition, metabolism, and association with coronary heart disease», *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 110:694-701, 1986.
- Segrest, J. P., y Albers, J. J.: «Plasma lipoproteins, Part A: Preparation, structure and molecular biology», *Methods in Enzymology*, vol. 128, 1986.
- Shepherd, J., y Packard, C. J.: «Lipid transport through the plasma: the metabolic basis of hyperlipidaemia», *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 1, 495-514, 1987.

● Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

● Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San
Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Metabolismo de fosfoacilglicéridos y esfingolípidos

MARÍA JOSÉ CARMENA SIERRA
y MARÍA NATIVIDAD RECIO CANO

Los *fosfoacilglicéridos* (fosfoglicéridos) y los *esfingolípidos* son lípidos estructurales, constituyentes importantes de las membranas biológicas, que intervienen de forma activa en los procesos relacionados con su funcionalidad (cap. 20).

Los fosfoacilglicéridos, presentes en todas las células de los organismos eucarióticos y procarióticos, son lípidos polares que a pH fisiológico están ionizados; los grupos iónicos constituyen una región muy polar e hidrofílica de la molécula, mientras que los ácidos grasos, que forman parte de su estructura, son regiones muy hidrofóbicas. Este comportamiento anfipático es la base de su papel estructural en las membranas, así como de su función reguladora de la permeabilidad celular o de su poder surfactante.

Los esfingolípidos forman parte de todas las membranas de las células animales, si bien en proporciones variables; abundan en especial en el tejido nervioso, en el que intervienen de forma muy directa en su funcionalidad. Una clase de esfingolípidos, los *glicoesfingolípidos*, son importantes en la comunicación celular. Se localizan en la cara extracelular de las membranas plasmáticas con sus unidades glucídicas orientadas hacia el exterior; esta disposición especial es la responsable, junto con las proteínas de la membrana que tienen función receptora, de la interacción con ligandos externos y, por tanto, de su participación en el reconocimiento celular.

Los fosfoglicéridos y los esfingolípidos son sometidos a constantes degradaciones por enzimas hidrolíticas, por lo que dado que son lípidos estructurales y no se acumulan, su biosíntesis debe estar coordinada con su degradación, resultando un estado de equilibrio dinámico entre ambos procesos. Sin embargo, si existe ausencia o deficiencia parcial de algunas de las hidrolasas específicas, puede aparecer una acumulación de estos lípidos en determinados tejidos, originándose enfermedades conocidas como *lipidosis*.

BIOSÍNTESIS DE FOSFOACILGLICERIDOS EN BACTERIAS

La composición en fosfoglicéridos de las membranas bacterianas es más simple que la de las células eucarióticas. Así, *E. coli* posee fundamentalmente tres tipos de fosfoglicéridos: fosfatidiletanolamina (75-80 por 100), fosfatidilglicerol (10-20 por

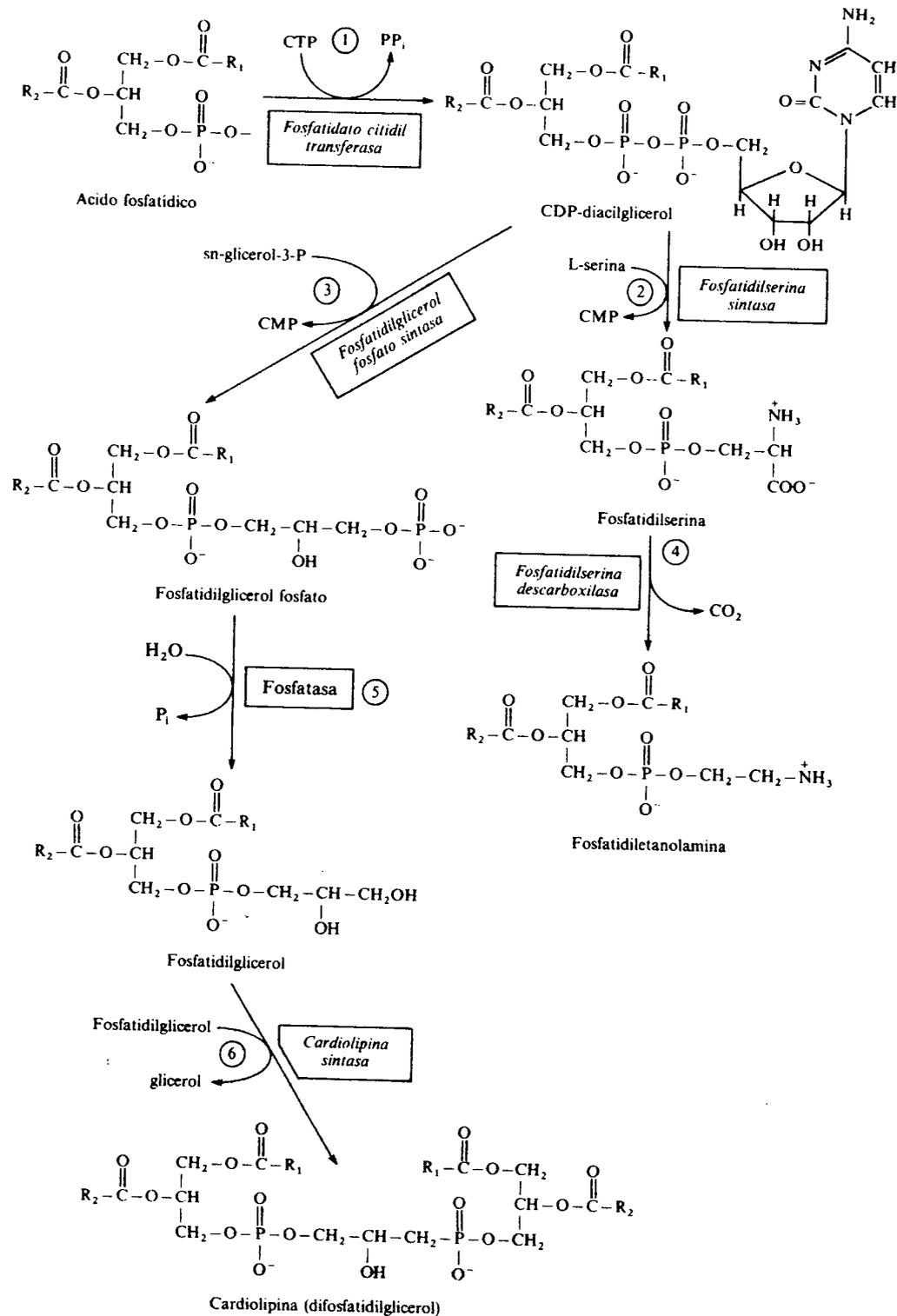
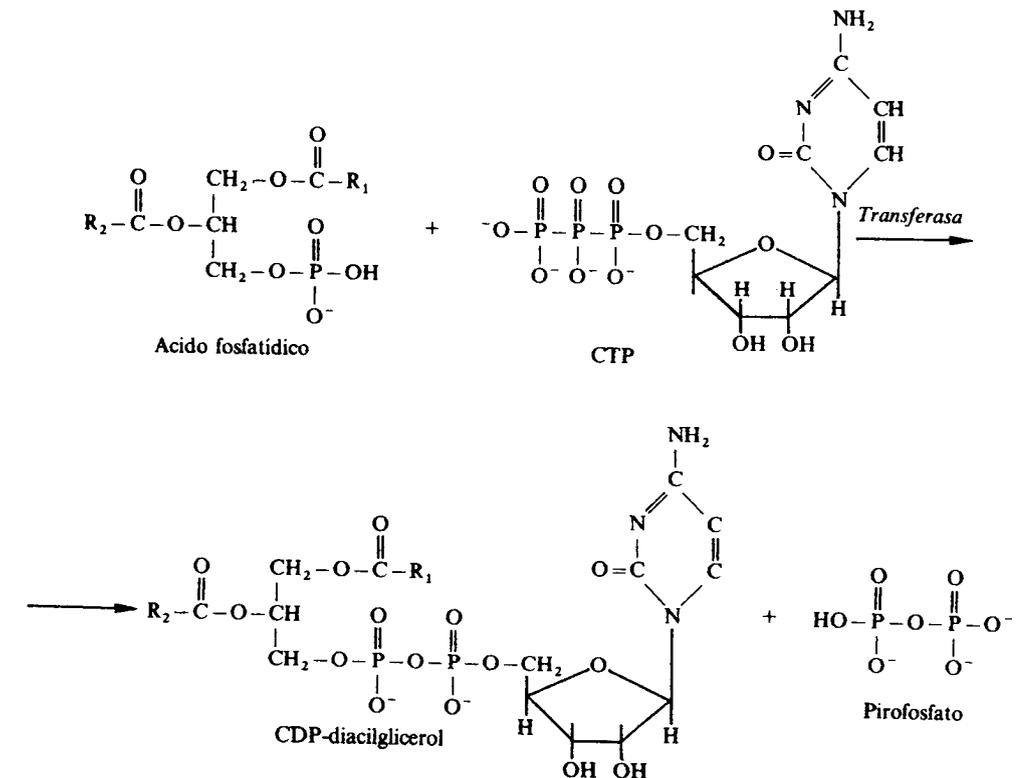


Figura 26.1. Esquema de las principales rutas biosintéticas de los fosfoacilglicéridos en las bacterias.

100) y cardiolipina (5-15 por 100). Las enzimas que intervienen en el proceso de biosíntesis están localizadas en la parte interna de la membrana celular, excepto la *fosfatidilserina sintasa*, que se ha encontrado asociada a los ribosomas. Esta característica explica la dificultad para estudiar dichas enzimas, a pesar de lo cual se han aislado y purificado la mayoría. Un esquema general de las principales rutas de biosíntesis de los fosfoacilglicéridos en *E. coli* se muestra en la figura 26.1.

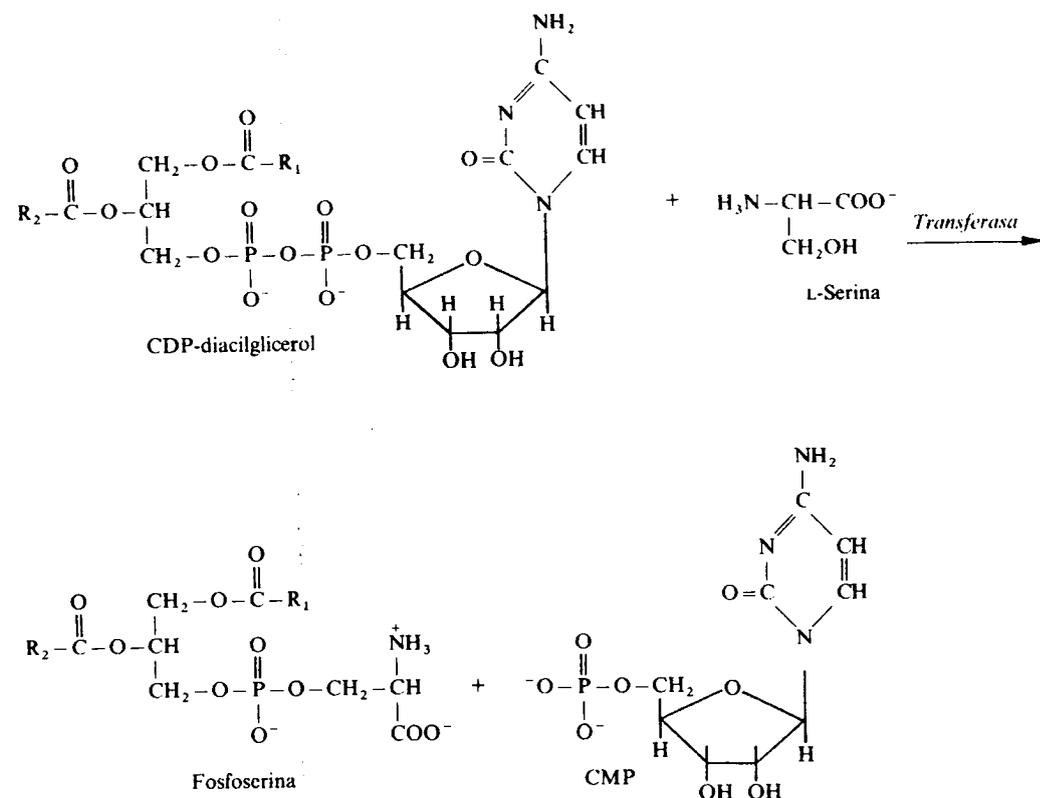
Reacciones enzimáticas de la biosíntesis de fosfoacilglicéridos en bacterias

La *fosfatidato citidil transferasa* es una enzima de membrana que utiliza CTP o d-CTP como sustrato para formar CDP-diacilglicerol. Esta enzima cataliza la reacción de transferencia del grupo citosilo desde el CTP hasta el ácido fosfatídico para originar CDP-diacilglicerol y pirofosfato (el pirofosfato procede, por tanto, del CTP) (fig. 26.1, reacción 1):

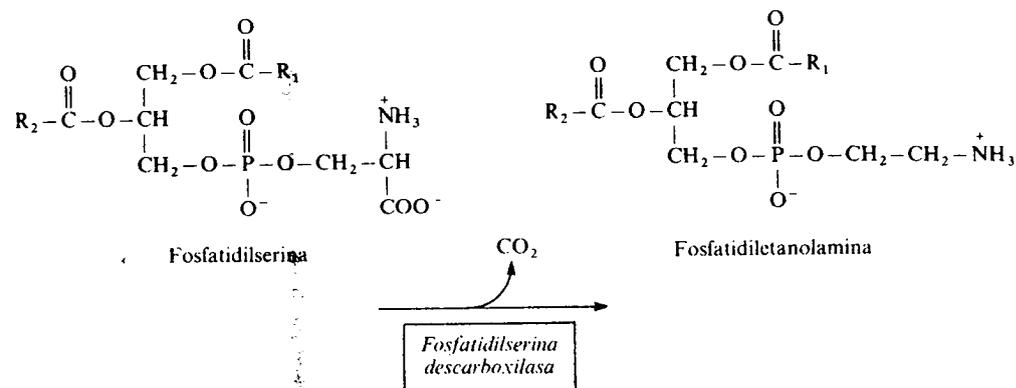


El CDP-diacilglicerol es el precursor en las bacterias de los demás fosfoglicéridos y puede ser sustrato tanto de la *fosfatidilserina sintasa* (fig. 26.1, reacción 2) como de la *fosfatidilglicerol fosfato sintasa* (fig. 26.1, reacción 3), enzimas responsables de la biosíntesis de fosfatidilserina o fosfatidilglicerol, respectivamente.

La *fosfatidilserina sintasa* (*CDP-diacilglicerol L-serina fosfatidiltransferasa*), enzima que se encuentra asociada a los ribosomas, cataliza la síntesis de fosfatidilserina a partir de CDP-diacilglicerol y serina. La reacción consiste en la transferencia de diacilglicerolfosfato hasta la serina, con liberación de CMP (fig. 26.1, reacción 2):

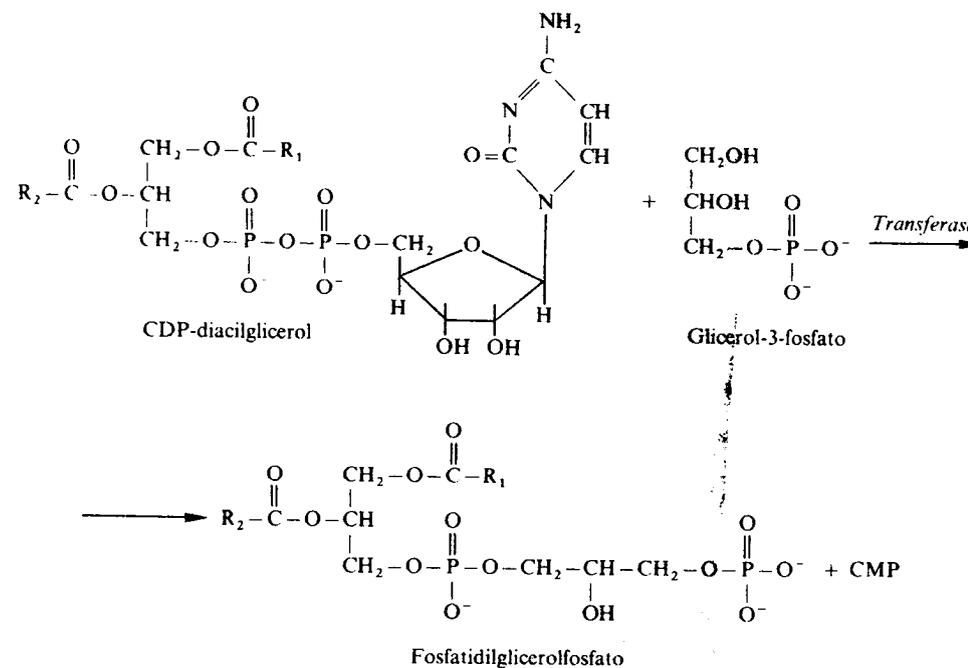


La fosfatidilserina es, finalmente, descarboxilada por acción de la *fosfatilserina descarboxilasa* (fig. 26.1, reacción 4) para originar fosfatidiletanolamina:

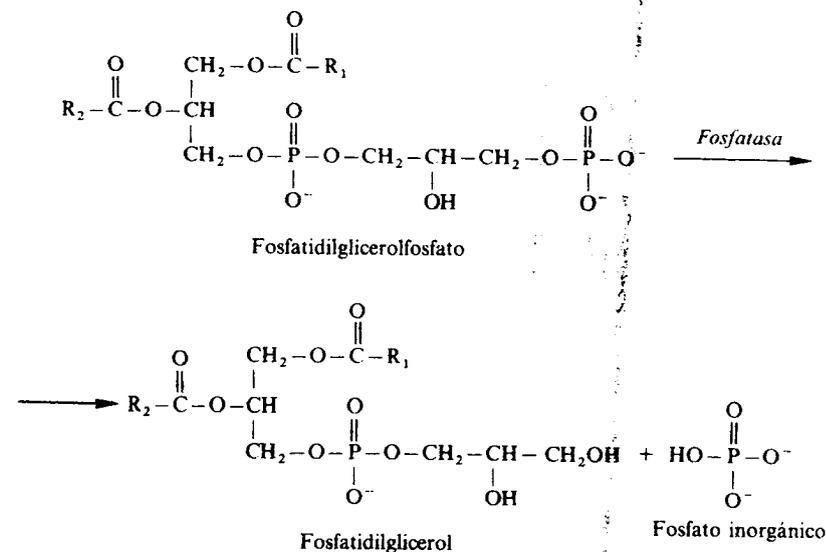


Esta enzima no posee piridoxal fosfato (grupo prostético habitual de las descarboxilasas), aunque el piruvato es un buen cofactor de la misma.

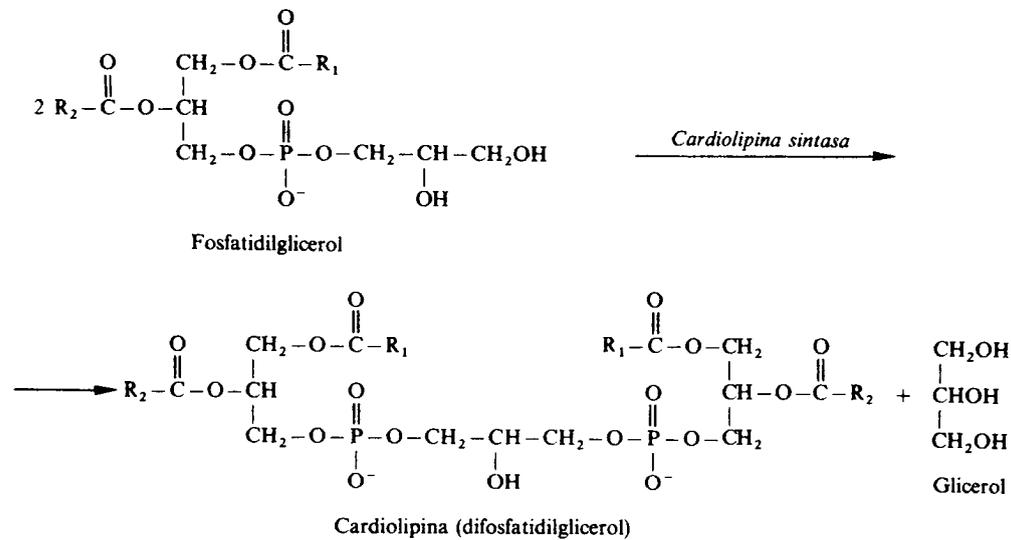
El CDP-diacylglicerol es un conocido donador de grupos fosfatidilo, por lo que puede transferir dicho grupo al glicerol-3-fosfato para originar fosfatidilglicerolfosfato. La enzima que cataliza dicho proceso se denomina *fosfatidilglicerolfosfato sintasa* (*sn-glicerol-3-fosfato-fosfatidiltransferasa*) (fig. 26.1, reacción 3):



El fosfatidilglicerolfosfato es sustrato de una *fosfatasa* (fig. 26.1, reacción 5) que separa un fosfato inorgánico, originando fosfatidilglicerol:



Dos moléculas de fosfatidilglicerol pueden condensarse con pérdida de glicerol y transformarse en una cardiolipina, o difosfatidilglicerol, por acción de una *cardiolipina sintasa* (fig. 26.1, reacción 6). La enzima también se denomina *fosfatidilglicerol fosfatidil transferasa*, pues la reacción que cataliza consiste en una transferencia de un grupo fosfatidilo a un segundo fosfatidilglicerol:



La *cardiolipina sintasa* es una enzima de membrana que aún no se ha purificado.

BIOSINTESIS DE FOSFOACILGLICERIDOS EN LOS TEJIDOS ANIMALES

Prácticamente todos los tejidos pueden sintetizar los fosfoglicéridos, aunque la tasa de esta síntesis varía de unos a otros. Con excepción del hígado, estos compuestos son sintetizados, utilizados y degradados *in situ*. Los fosfolípidos que se sintetizan en el hígado constituyen la única fuente de dichos compuestos en el plasma, como componentes de las lipoproteínas plasmáticas.

El precursor común de las distintas clases de fosfoglicéridos es el ácido fosfatídico, el mismo precursor de los triacilglicéridos (cap. 20). Según se muestra en la figura 26.2, el ácido fosfatídico puede seguir dos rutas diferentes. Por una ruta se transforma en 1,2-diacilglicerol, que es el precursor de los fosfoglicéridos no cargados (en forma de ion mixto): fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina. Por la otra ruta, el ácido fosfatídico se transforma en citidinfosfatodiacilglicerol (CDP-diacilglicerol), a partir del cual se obtendrán los fosfoglicéridos aniónicos: fosfatidilinositoles y difosfatidilgliceroles. Los fosfoglicéridos con un enlace éter y los plasmalógenos se forman a partir de dihidroxiacetona fosfato.

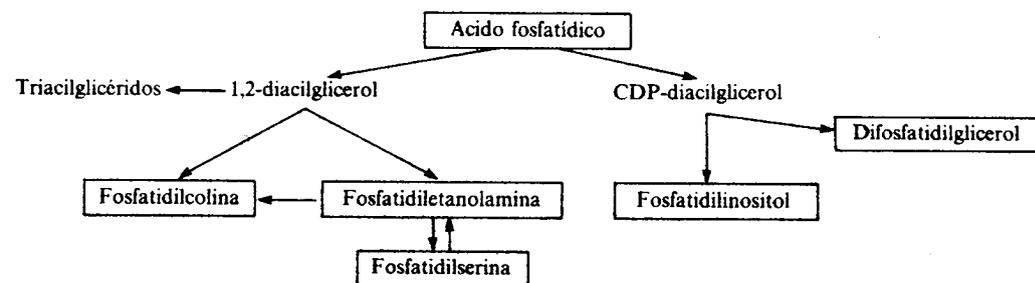


Figura 26.2. Esquema de algunas de las interrelaciones en la síntesis de fosfoacilglicéridos en las células animales.

Reacciones enzimáticas de la biosíntesis de fosfoacilglicéridos en mamíferos

Biosíntesis de fosfatidiletanolamina

La fosfatidiletanolamina (cefalina) se obtiene por reacción entre un diacilglicérido y el citidinfosfato de etanolamina, reacción que es catalizada por la *diacilglicérol etanolamina fosfotransferasa* (fig. 26.3). El citidinfosfato de etanolamina se forma a partir de tres precursores: etanolamina, ATP y CTP. En primer lugar se forma fosfoetanolamina por acción de una quinasa específica, la *etanolamina quinasa* (fig. 26.3, reacción 1). A continuación, la fosfoetanolamina reacciona con el CTP para formar citidín difosfato de etanolamina y pirofosfato, reacción que es catalizada por la enzima *CDP-etanolamina sintasa* (*fosfoetanolamina citidil transferasa*) (fig. 26.3, reacción 2).

La fosfatidiletanolamina se puede originar también a partir de fosfatidilserina, como se verá más adelante.

Biosíntesis de fosfatidilcolina

La fosfatidilcolina (lecitina) puede sintetizarse por dos rutas distintas denominadas *ruta de recuperación* y *síntesis de novo*.

En la ruta de recuperación (fig. 26.4) se utiliza la colina liberada en la degradación metabólica de la fosfatidilcolina para sintetizar nuevas moléculas de éste compuesto. La colina es fosforilada por el ATP por acción de la *colina quinasa* (fig. 26.4, reacción 1), formándose fosfocolina. A continuación, la enzima *colina fosfato citidiltransferasa* o *CDP-colina sintasa* (fig. 26.4, reacción 2) cataliza la transferencia de un grupo CMP desde la CTP-colina hasta la fosfocolina, originando CDP-colina y pirofosfato. La CDP-colina, forma activa de la colina, reacciona con un diacilglicérido en una reacción catalizada por la *diacilglicérol-colina fosfotransferasa* (fig. 26.4, reacción 3).

En la síntesis *de novo* (fig. 26.5), la colina no se introduce en la molécula como tal, sino que se forma a partir de la unidad etanolamina de la molécula de fosfatidiletanolamina. El proceso supone tres reacciones de metilación, donde el dador de grupos metilos es la S-adenosilmetionina (SAM). Cada una de las transferencias del grupo metilo está catalizada por una *metiltransferasa* (*fosfatidiletanolamina metiltransferasa*) (fig. 26.5). La metiltransferasa es una enzima presente en mamíferos cuya actividad enzimática está regulada por hormonas que activan la acumulación de AMPc (glucagón, epinefrina, etc.).

La S-adenosilmetionina es el dador de grupos metilo de esta y otras muchas reacciones bioquímicas. Se origina a partir de metionina y ATP. La metionina es un aminoácido esencial para los animales superiores, por lo que en una dieta deficitaria de dicho aminoácido el organismo debe utilizar la colina libre para la síntesis de fosfatidilcolina por la ruta de recuperación. En estas condiciones, la colina puede considerarse como una vitamina y debe ser administrada en la alimentación, ya que los animales superiores no pueden sintetizarla.

Los fosfolípidos son sustancias con propiedades surfactantes y, en concreto, la dipalmitil fosfatidilcolina representa casi el 80 por 100 del *surfactante pulmonar*, sustancia tensoactiva que actúa como detergente y disminuye la tensión superficial de los lípidos que revisten los alvéolos pulmonares. Su principal constituyente, la dipalmitil fosfatidilcolina, actúa formando una capa en la interfase entre los lípidos que revisten los alvéolos y el aire del interior de los mismos. Así se evita la

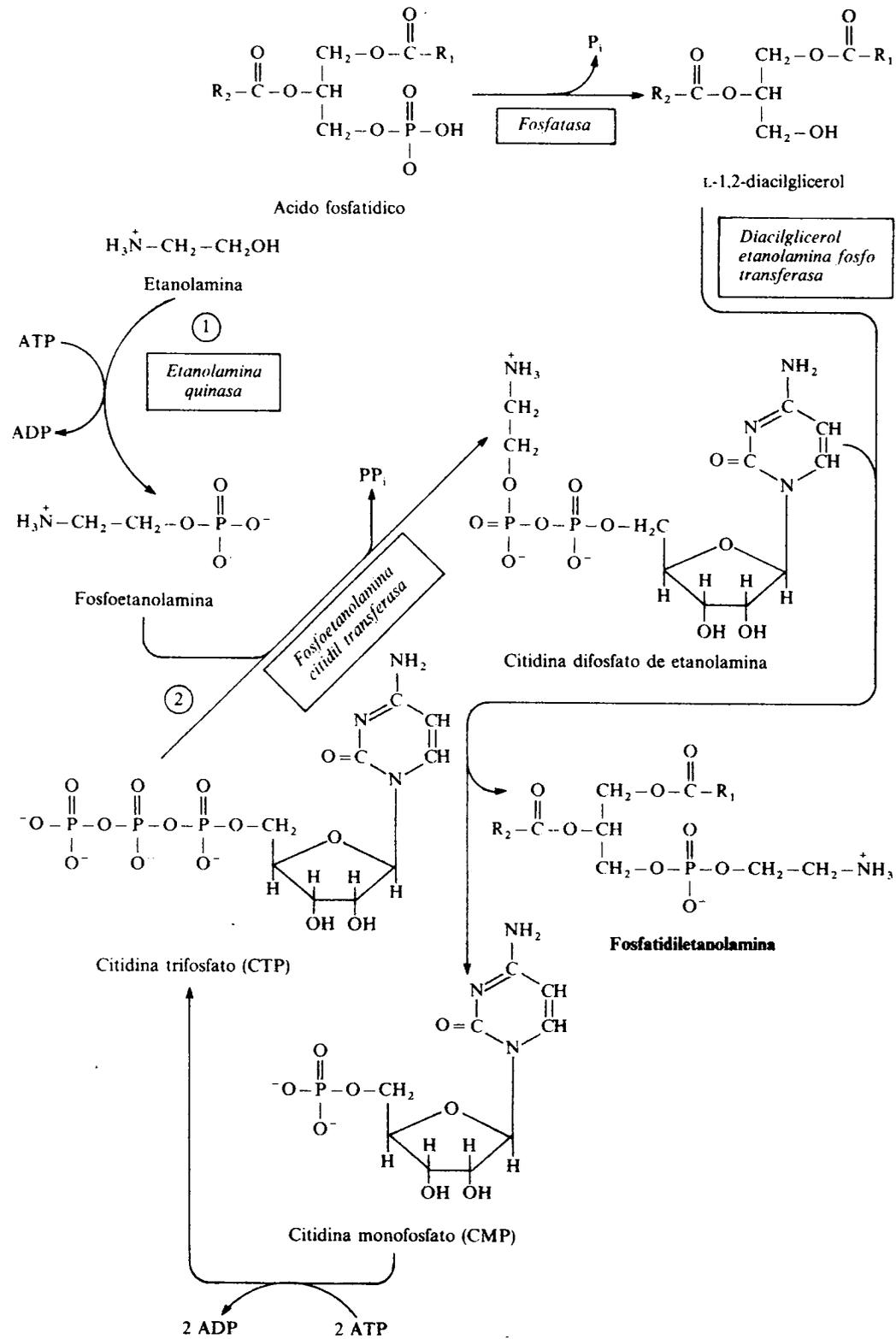


Figura 26.3. Biosíntesis de fosfatidiletanolamina en mamíferos.

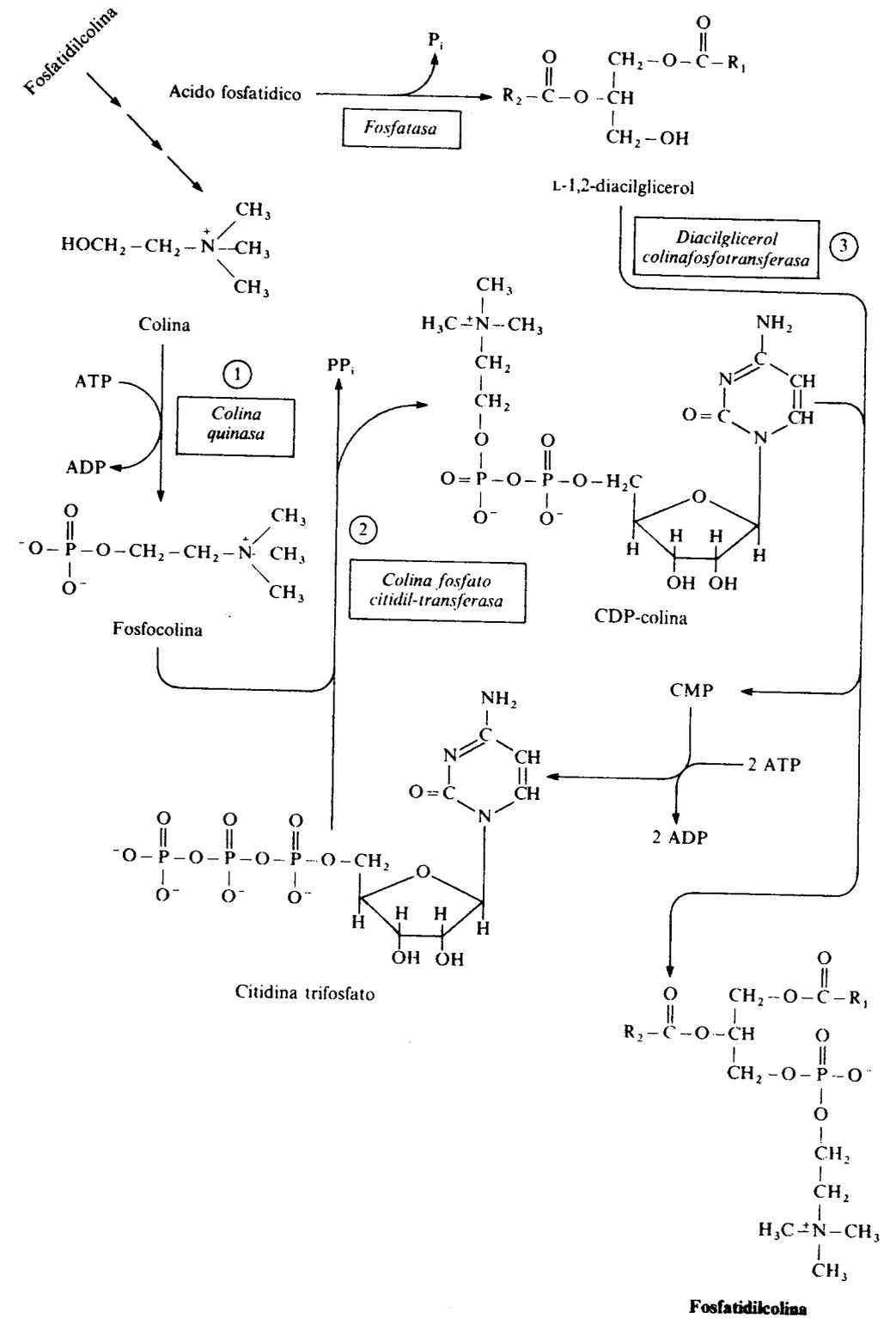


Figura 26.4. Biosíntesis de fosfatidilcolina en mamíferos por la ruta de recuperación.

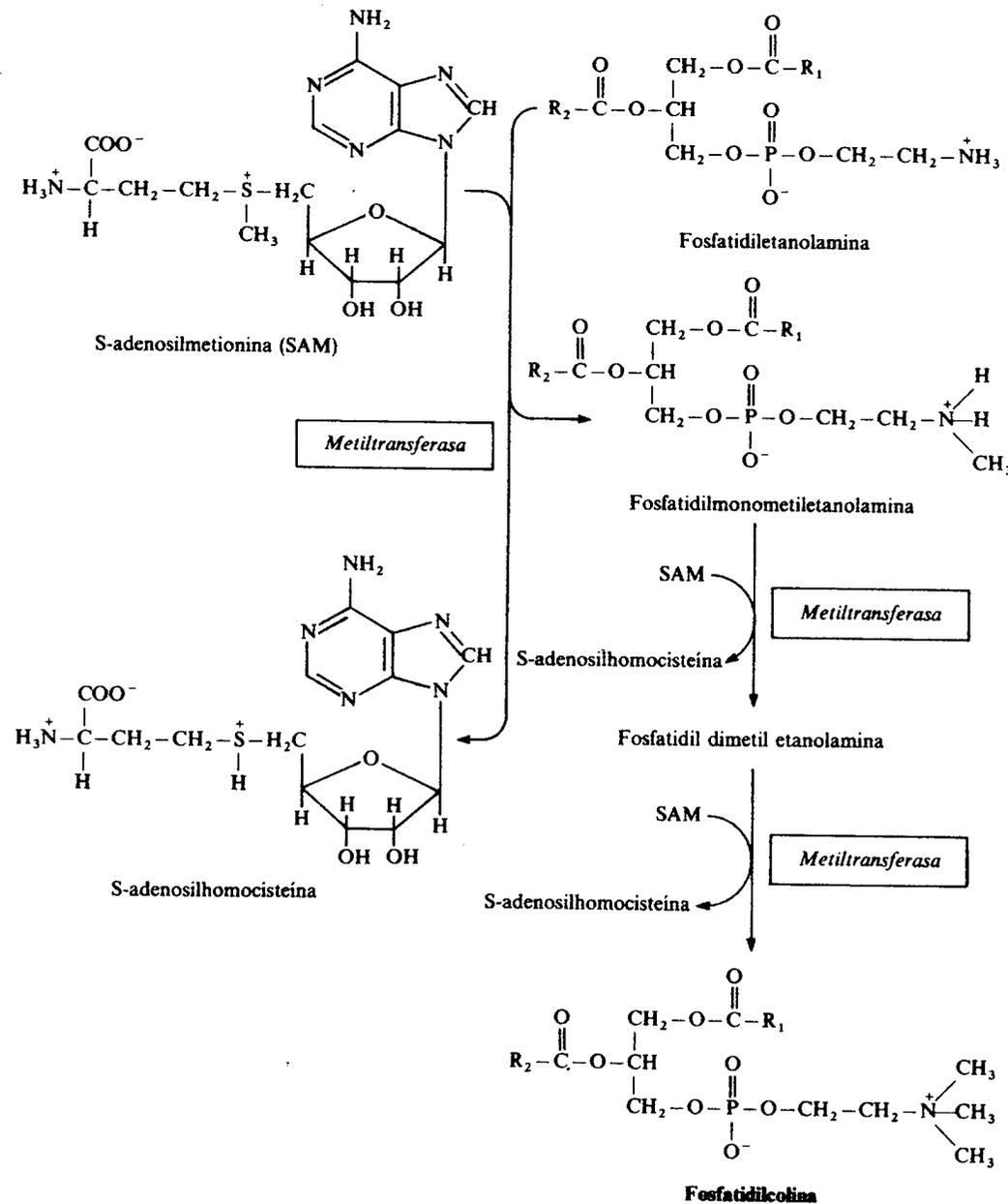


Figura 26.5. Reacciones de la síntesis *de novo* de fosfatidilcolina en mamíferos.

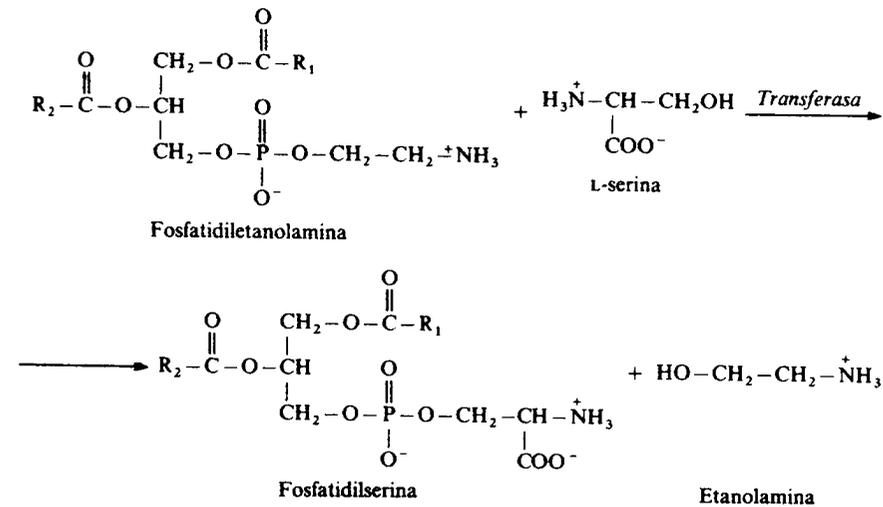
formación del colapso alveolar tras la espiración; sin embargo, existe una enfermedad denominada *enfermedad de las membranas hialinas*, principal causa de muerte de niños prematuros, que por inmadurez de las células responsables de su síntesis (pneumocitos tipo B) no segregan la cantidad adecuada de esta sustancia. Por este motivo es imposible que su fuerza respiratoria pueda vencer la tensión superficial para dilatar los pulmones, ya que en el momento del nacimiento, las paredes de los alvéolos se encuentran unidas por la tensión superficial del líquido viscoso que los llena.

El pulmón normal pierde a veces la capacidad de formar esta sustancia ten-

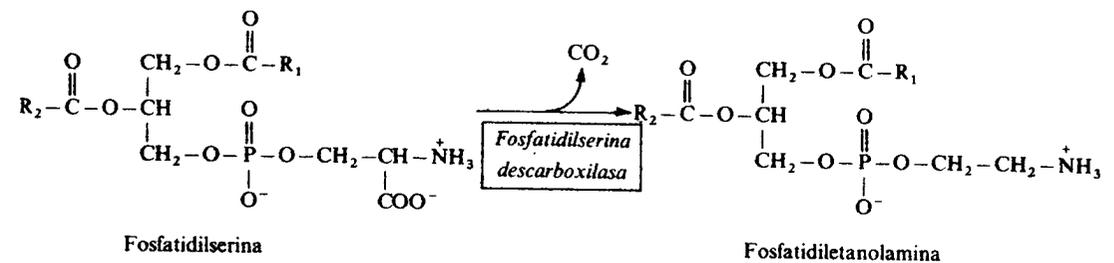
soactiva después de perfusión extracorpórea del pulmón en el curso de una operación quirúrgica a corazón abierto. También existe insuficiencia respiratoria en adultos, asociada a la deficiencia de surfactante pulmonar por intoxicación con NO_2 , asbestos y silicatos.

Biosíntesis de fosfatidilserina

En los mamíferos, la fosfatidilserina se origina por una reacción de intercambio catalizada por una transferasa, la *diacilglicerol etanolamina fosfotransferasa*. Esta reacción consiste en la transferencia de un grupo fosfatidato desde la fosfatidiletanolamina a la serina para formar fosfatidilserina y etanolamina libre:



A su vez, la fosfatidilserina puede ser descarboxilada por la *fosfatidilserina descarboxilasa*, para originar fosfatidiletanolamina:



Esta última reacción proporciona más etanolamina para la síntesis *de novo* de fosfatidilcolina.

Formación de CDP-diacilglicerol

La segunda ruta que puede seguir el ácido fosfatídico es la que supone la reacción con citidina trifosfato (CTP) para originar citidina difosfato diacilglicerol (CDP-diacilglicerol). La enzima que cataliza el proceso es la *CDP-diacilglicerido sintasa*, enzima microsómica que requiere Mg^{2+} para su actividad. Cataliza la transferencia de un grupo CMP procedente del CTP hasta el ácido fosfatídico (fig. 26.6).

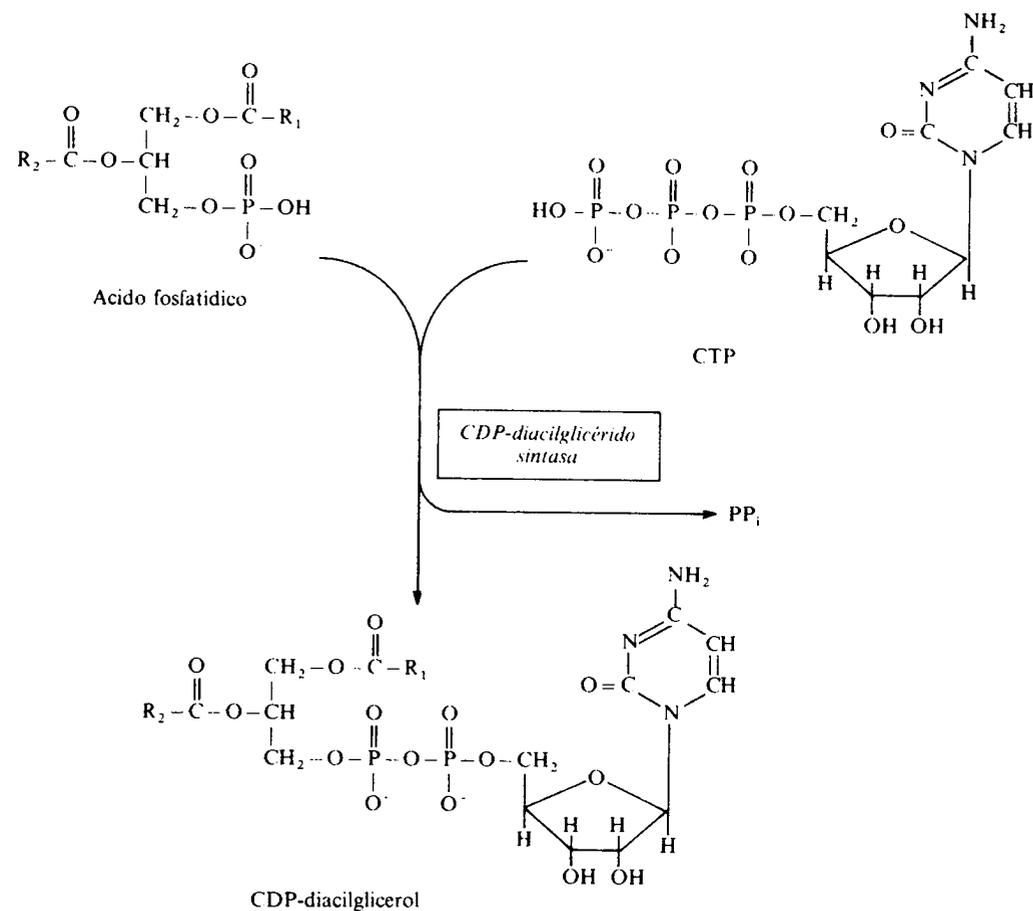


Figura 26.6. Formación de CDP-diácilglicérido.

El CDP-diácilglicérido es el precursor de los fosfoácilglicéridos aniónicos, es decir, de aquellos que no tienen base nitrogenada en su estructura, sino que tienen el grupo fosfato del ácido fosfatídico esterificado por alcoholes tales como inositol y glicerol. Como estos alcoholes no tienen carga positiva, el conjunto de la molécula posee carga negativa a pH fisiológico, que es la aportada por el grupo fosfato.

Biosíntesis de fosfatidilinosítoles

Los fosfatidilinosítoles se forman por una reacción de transferencia entre el CDP-diácilglicérido y el mioinositol, catalizada por la enzima microsómica *fosfatidilinositol sintasa* (CDP diácilglicérido inositol-3-fosfatidiltransferasa) (fig. 26.7). Esta enzima es específica para el CDP-diácilglicérido y el mioinositol, a pesar de poseer una K_m para el inositol inusualmente alta (2 mM). Además requiere de la presencia de iones magnesio (Mg^{2+}) para alcanzar su máxima actividad catalítica.

El mioinositol (uno de los nueve isómeros posibles del inositol) es un hexahidrociclohexano que se biosintetiza en la mayoría de las especies animales, entre ellas el hombre, a partir de la glucosa-6-fosfato.

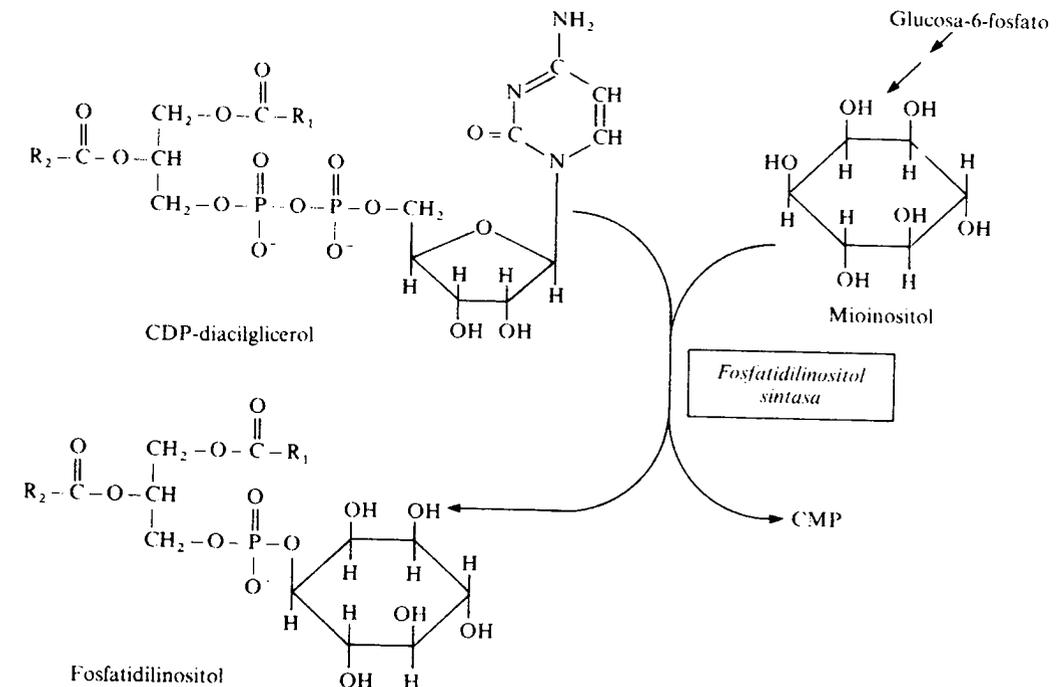
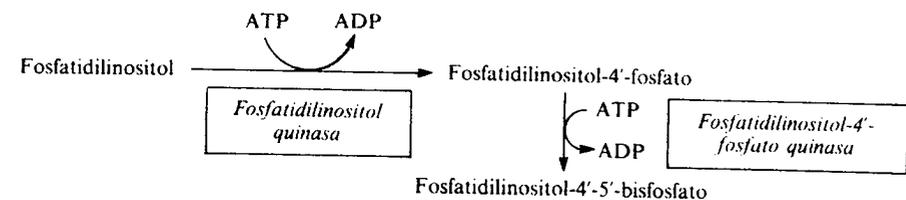


Figura 26.7. Biosíntesis de fosfatidilinositol.

Recientemente se ha encontrado que una gran variedad de células animales forman también pequeñas cantidades de dos derivados fosforilados del fosfatidilinositol: el fosfatidilinositol-4'-fosfato y el fosfatidilinositol-4',5'-bisfosfato. La formación de estos bis y trifosfoinosítoles tiene lugar por fosforilaciones sucesivas con ATP del monoinositolfosfato, primero en posición 4 y después en posición 5. Ambas fosforilaciones son catalizadas por dos quinasas específicas:



De todos ellos, predomina el fosfatidilinositol (PI), que representa de un 2 a un 12 por 100 del total de fosfolípidos. En mucha menor proporción están presentes los polifosfoinosítoles: fosfatidilinositol-4'-fosfato (PIP) y fosfatidilinositol-4',5'-bisfosfato (PIP₂). Así, por ejemplo, en las plaquetas humanas PI, PIP y PIP₂ representan aproximadamente el 5, el 1 y el 0,3 por 100, respectivamente, del total de los fosfolípidos de membrana.

Biosíntesis de fosfatidilglicéridos y cardiolipinas

Se forman a partir del ácido fosfatídico, por la ruta que conduce a CDP-diácilglicérido (fig. 26.8, reacción 1). El CDP-diácilglicérido es el dador de grupos fosfatídilo para la síntesis de fosfatidilglicérido y de difosfatidilglicérido o cardiolipina.

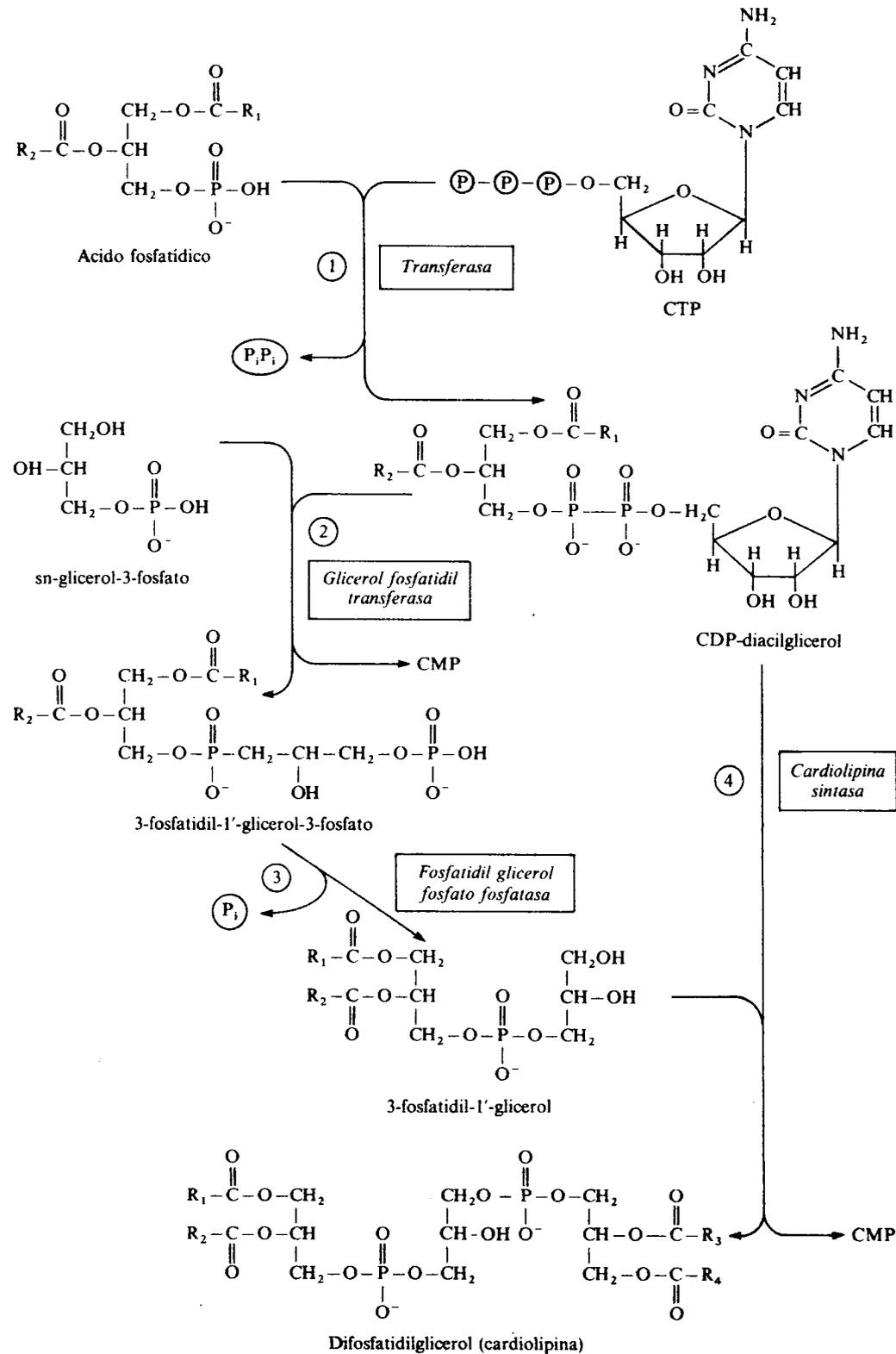


Figura 26.8. Formación de cardiolípidos.

El CDP-diacilglicerol transfiere el grupo fosfatidilo al sn-glicerol-3-fosfato para originar fosfatidilglicerol fosfato y CMP (fig. 26.8, reacción 2). La enzima que cataliza esta reacción es la *fosfatidilglicerol fosfato sintasa* o *glicerofosfatidil transferasa*, enzima que se encuentra en la membrana interna de la mitocondria. A continuación, por acción de una fosfatasa, la *fosfatidilglicerol fosfatasa* (fig. 26.8, reacción 3), presente también en las mitocondrias, el fosfatidilglicerol fosfato se transforma en fosfatidilglicerol, liberando fosfato inorgánico.

Las cardiolípidos son los lípidos principales de las membranas de las mitocondrias y representan más del 10 por 100 de los lípidos mitocondriales. Tienen, además, una característica singular en cuanto a su composición en ácidos grasos de la posición sn-2, donde predomina el ácido linoleico y no el ácido araquidónico, como ocurre con otros muchos fosfoacilglicéridos. La biosíntesis de cardiolípidos en animales tiene lugar por reacción entre el fosfatidilglicerol y el CDP-diacilglicerol (fig. 26.8, reacción 4), catalizada por la *cardiolipina sintasa*, y no por reacción entre dos moléculas de fosfatidilglicerol, como ocurre en las bacterias.

Biosíntesis de plasmalógenos

Los plasmalógenos son fosfolípidos, muy abundantes en las mitocondrias, en los que el ácido graso de la posición 1 del glicerol está reemplazado por un radical alquilo o alqueniilo (véase cap. 20). Estos fosfolípidos se forman a partir de dihidroxiacetona fosfato, que se acila por una aciltransferasa, la *dihidroxiacetona fosfato aciltransferasa* (fig. 26.9, reacción 1) para originar 1-acil-dihidroxiacetona fosfato. A continuación ocurre una reacción que supone el desplazamiento del grupo acilo de la posición 1 por un alcohol largo, frecuentemente de 16 ó 18 átomos de carbono, para originar 1-alquil dihidroxiacetona fosfato, que puede sufrir una reducción a 1-alquil-glicerol fosfato por una reductasa (fig. 26.9, reacción 2) que utiliza NAD(P)H, seguida de una nueva acilación (fig. 26.9, reacción 3), con la que se transforma en 1-alquil-2-acilglicerol fosfato. Este compuesto es desfosforilado y convertido en un alquil-fosfoglicérido con colina, etanolamina o serina por las mismas reacciones descritas antes. Finalmente, el alquilfosfoglicérido se convierte en un plasmalógeno por una desaturasa específica (fig. 26.9, reacción 4), que utiliza NADPH (o NADH) y oxígeno molecular.

DEGRADACION DE FOSFOACILGLICERIDOS

Los fosfoacilglicéridos son degradados por acción de enzimas hidrolíticas específicas denominadas fosfolipasas. Existen distintas fosfolipasas, que se diferencian por su selectividad para hidrolizar un determinado enlace en la molécula de fosfato, y la *fosfolipasa D* separa la base nitrogenada del resto de la molécula de hidrolizan de forma selectiva el enlace éster de las posiciones sn-1 y sn-2, respectivamente. La *fosfolipasa C* hidroliza el enlace éster formado por el glicerol y el fosfato y la *fosfolipasa D* separa la base nitrogenada del resto de la molécula de fosfoacilglicérido.

Tras las actuaciones de las *fosfolipasas A₁* y *A₂* se originan lisofosfoacilglicéridos (fig. 26.11), sobre los que pueden actuar otras lipasas específicas, denominadas *fosfolipasa L₂* y *L₁*, respectivamente, conocidas también como *lisofosfolipasas*. Se ha descrito una *fosfolipasa B*, que hidroliza tanto la posición sn-1 como la sn-2, así como los lisofosfoacilglicéridos originados por la acción de las *fosfolipasas A₁* y *A₂*. Sin embargo, la existencia de dicha *fosfolipasa B* no está muy bien documentada. El compuesto originado por la acción de las *lisofosfolipasas* puede ser hidrolizado por una *hidrolasa* hasta glicerol-3-fosfato y la base nitrogenada co-

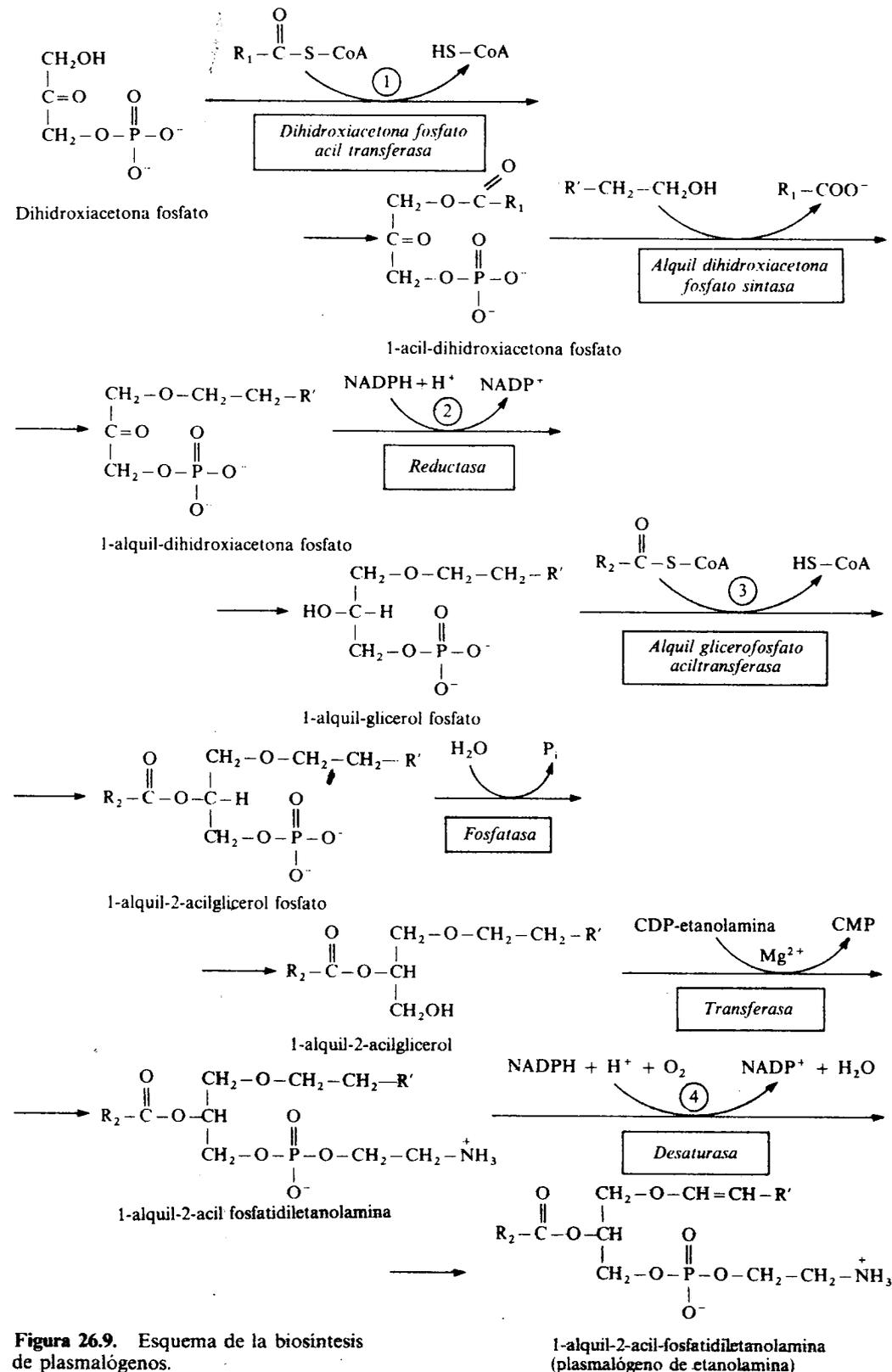


Figura 26.9. Esquema de la biosíntesis de plasmalógenos.

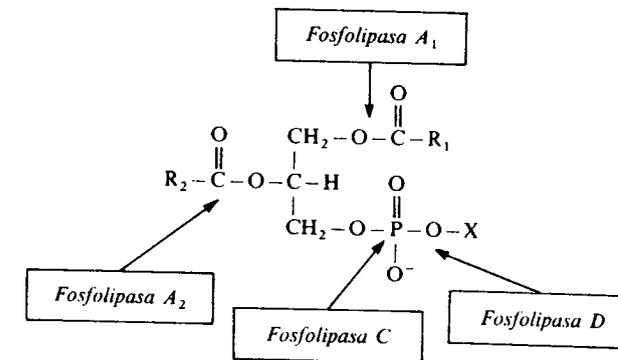


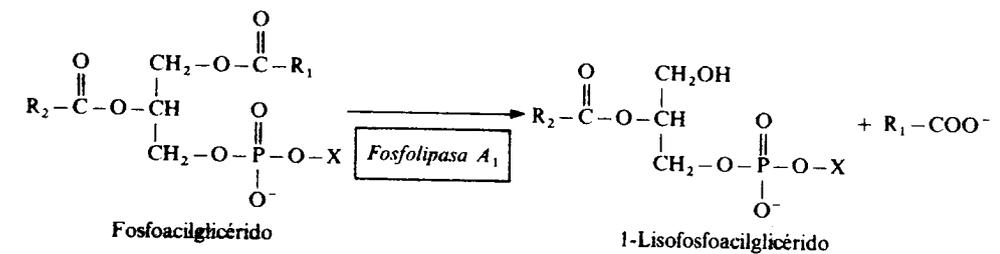
Figura 26.10. Sitios de actuación de las fosfolipasas en un fosfoacilglicérido.

respondiente. Por tanto, por la acción conjunta de distintas fosfolipasas, los fosfoacilglicéridos son catabolizados hasta ácidos grasos libres, glicerol-3-fosfato y base nitrogenada.

Una de las particularidades del catabolismo de los fosfoacilglicéridos es que, con frecuencia, no es completo, es decir, que después de una hidrólisis parcial no se produce la degradación total de la molécula. Así, sobre la molécula parcialmente degradada, los ácidos grasos que esterifican al glicerol pueden sufrir transformaciones (desacilaciones y reacilaciones) y también cambios de una base nitrogenada por otra. De esta manera se pueden sintetizar nuevas moléculas de fosfoacilglicéridos con un gasto energético menor para la célula. En este sentido, experimentos realizados con isótopos radiactivos han demostrado que los fosfoinosítidos (fosfatidilinositol y polifosfoinosítidos) consiguen su casi exclusiva composición en ácidos grasos de 1-esteárico y 2-araquidónico, en procesos de desacilación y reacilación y no en la síntesis *de novo*.

Reacciones enzimáticas del catabolismo de los fosfoacilglicéridos

La fosfolipasa A_1 es una enzima que aparece asociada con frecuencia a las membranas. Ha sido obtenida y purificada de *E. coli*, así como de una gran variedad de células de mamíferos; también se ha aislado una fosfolipasa A_1 lisosómica. A diferencia de otras fosfolipasas que se estudian a continuación, la fosfolipasa A_1 no requiere de la presencia de iones calcio (Ca^{2+}) para su actividad catalítica, que consiste en la hidrólisis del enlace éster formado entre un ácido graso libre y el glicerol en la posición sn-1, como se muestra a continuación:



La fosfolipasa A_2 ha sido una de las primeras fosfolipasas identificadas en el jugo pancreático y en diversos venenos de serpiente, avispa, etc., donde su concentración es elevada. En la actualidad se ha identificado ya en plantas, bacterias y en la mayoría de las células de los mamíferos; una excepción lo

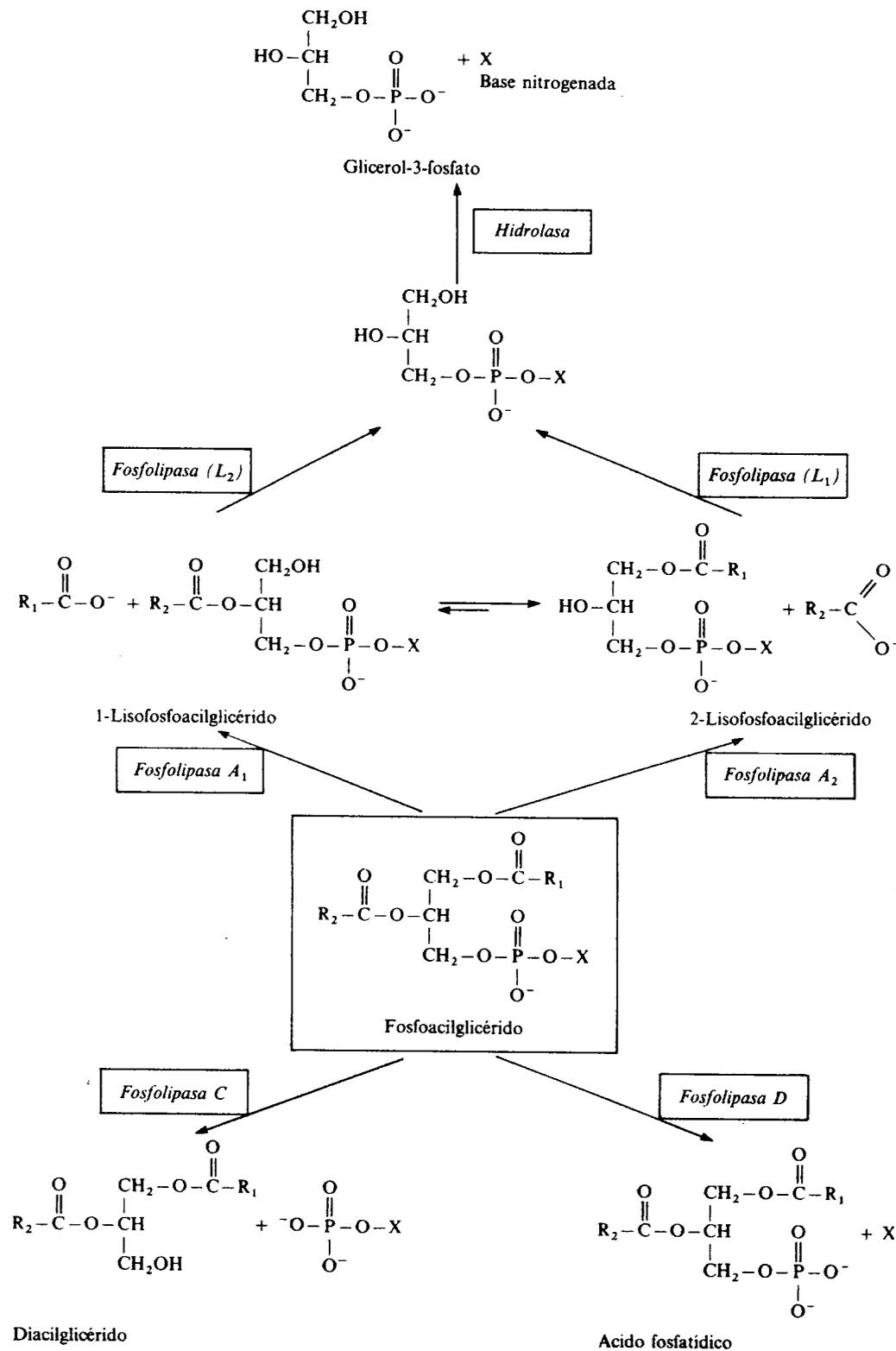
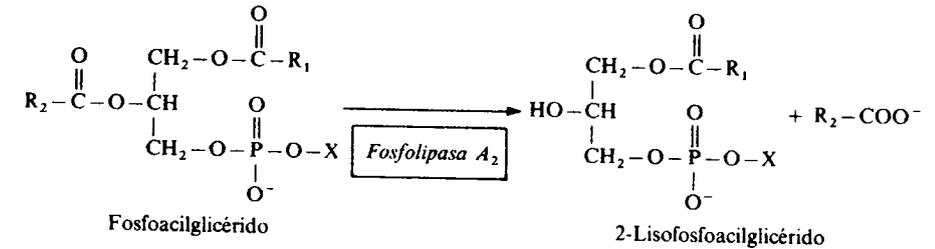


Figura 26.11. Reacciones de degradación de los fosfoacilglicéridos.

constituyen los eritrocitos que no contienen *fosfolipasa A₂*. Dicha enzima actúa sobre la molécula intacta del fosfoacilglicérido, escindiendo selectivamente el ácido graso esterificado en la posición sn-2 del glicerol, según la reacción

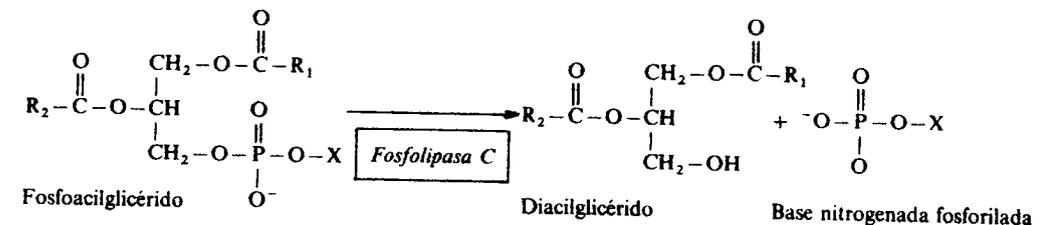


La actuación de la *fosfolipasa A₂* es de gran importancia en la biosíntesis de *eicosanoides* (cap. 27), puesto que el ácido araquidónico que generalmente ocupa la posición sn-2 de los fosfoacilglicéridos es el precursor de dichos compuestos, y su liberación tras la hidrólisis catalizada por *fosfolipasa A₂* desencadena una rápida formación de *eicosanoides*. Una función adicional de la *fosfolipasa A₂*, que en cierta manera está relacionada con la formación de los *eicosanoides*, es su papel protector de las membranas. En este sentido, en fecha reciente se ha publicado que la *fosfolipasa A₂* cataliza preferentemente la hidrólisis de los fosfoacilglicéridos esterificados con ácidos grasos que llevan una función peróxido en su estructura. La liberación de los ácidos grasos peroxidados es un requerimiento absoluto para que la enzima *glutación peroxidasa* actúe a continuación. Según estos datos, la *fosfolipasa A₂*, que es una enzima importante en el remodelado de los fosfoacilglicéridos previamente formados, tiene además como misión la protección de las membranas frente al daño que ocasionan los procesos de peroxidación de los ácidos grasos insaturados, que muy frecuentemente esterifican la posición sn-2 del glicerol.

La *fosfolipasa A₂*, obtenida y purificada de páncreas porcino, consta de una sola cadena polipeptídica de 14.000 daltons y su estructura terciaria se mantiene por siete puentes disulfuro. La enzima existe como zimógeno, que es activado por acción de la *tripsina* al separar el hexapéptido N-terminal. Es una enzima muy estable, que no se desnaturaliza por acción de la urea 8M, característica importante para una enzima que interviene en la degradación intestinal de los fosfolípidos de la dieta.

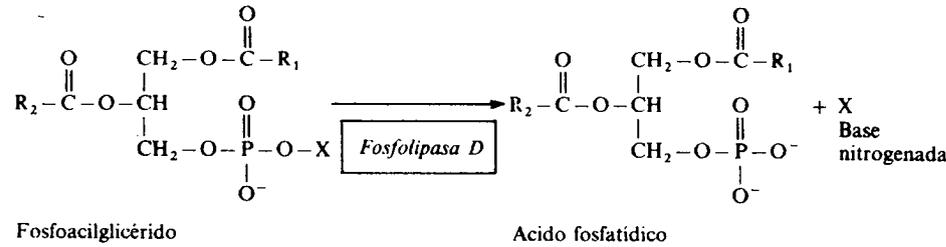
En el sitio activo de la *fosfolipasa A₂*, el Ca^{2+} se coordina con seis ligandos (coordinación octaédrica), cuatro de ellos son aminoácidos: Asp-49, Tyr-28, Gly-30 y Gly-32, y los otros, dos moléculas de agua. El mecanismo catalítico propuesto para la *fosfolipasa A₂* supone que la molécula de fosfoacilglicérido que va a ser hidrolizada reemplaza a una molécula de agua en su coordinación con el Ca^{2+} . A las diferentes drogas que activan o inhiben la *fosfolipasa A₂* se les atribuye una modificación de tal interacción.

La *fosfolipasa C* escinde el enlace formado por el glicerol y el fosfato, liberando la base nitrogenada fosforilada y el 1,2-diacilglicérido. Se ha encontrado dicha actividad en diferentes bacterias y en muchas células de mamíferos. La reacción que tiene lugar se esquematiza a continuación:



En general, la *fosfolipasa C* requiere iones calcio para su actividad catalítica, pero a una menor concentración que la *fosfolipasa A₂*. La *fosfolipasa C* específica de los fosfoinosítidos se activa por la interacción de distintos agonistas (hormonas y neurotransmisores) con receptores específicos de la membrana plasmática. Dicha activación desencadena la formación de segundos mensajeros (diacilglicerol e inositol trifosfato) que transmiten la señal del agonista al interior celular. Estos aspectos relacionados con el interesante papel de los fosfoinosítidos en la comunicación celular se estudiarán en el capítulo 40.

La *fosfolipasa D* separa la base nitrogenada del fosfoacilglicérido, originando ácido fosfatídico. También interviene en procesos de intercambio de grupos fosfato, y requiere Ca^{2+} para su actividad. Aunque la *fosfolipasa D* es muy abundante en tejidos vegetales (la mejor estudiada ha sido la extraída del repollo), existe también en microorganismos y tejidos animales.



LOCALIZACION Y TRANSPORTE INTRACELULAR DE LOS FOSFOACILGLICERIDOS

Los fosfolípidos son lípidos que se encuentran fundamentalmente en las membranas biológicas, aunque no están distribuidos de forma uniforme en los diferentes orgánulos subcelulares. Es importante conocer también que la composición en ácidos grasos es diferente en los distintos fosfolípidos de cada una de las membranas de dichos orgánulos. En este sentido, la *fosfolipasa A₂* tiene un importante papel, puesto que, tras su actuación, se forma una molécula de lisofosfoacilglicérido sobre la que actúa una acil transferasa que introduce un nuevo ácido graso en la posición sn-2. Este proceso de desacilación-reacilación podría ser una de las causas de la distribución asimétrica de los ácidos grasos en los fosfoacilglicéridos, ya que la mayoría de las enzimas, responsables de la biosíntesis de fosfoacilglicéridos, carecen de la especificidad necesaria para justificar la posición asimétrica y la composición tan variada de los ácidos grasos componentes de los fosfoacilglicéridos.

La síntesis de fosfolípidos se lleva a cabo en la superficie citoplasmática de la membrana del retículo endoplasmático, lugar donde tienen sus sitios activos las enzimas responsables de dicha síntesis (fig. 26.12), aunque los fosfatidilgliceroles y las cardiolipinas son sintetizados también de forma importante en las membranas mitocondriales. Los fosfolípidos, una vez sintetizados, se insertan en la bicapa, y mediante un movimiento transmembrana pueden situarse en el lado opuesto de dicha bicapa (fig. 26.12), lo que contribuye a crear la asimetría de las membranas. Para que los fosfolípidos sintetizados en el retículo endoplasmático puedan situarse en las membranas de los diferentes orgánulos subcelulares debe haber un transporte intracelular de estos lípidos, transporte que puede tener lugar por varios mecanismos:

a) A través de vesículas.

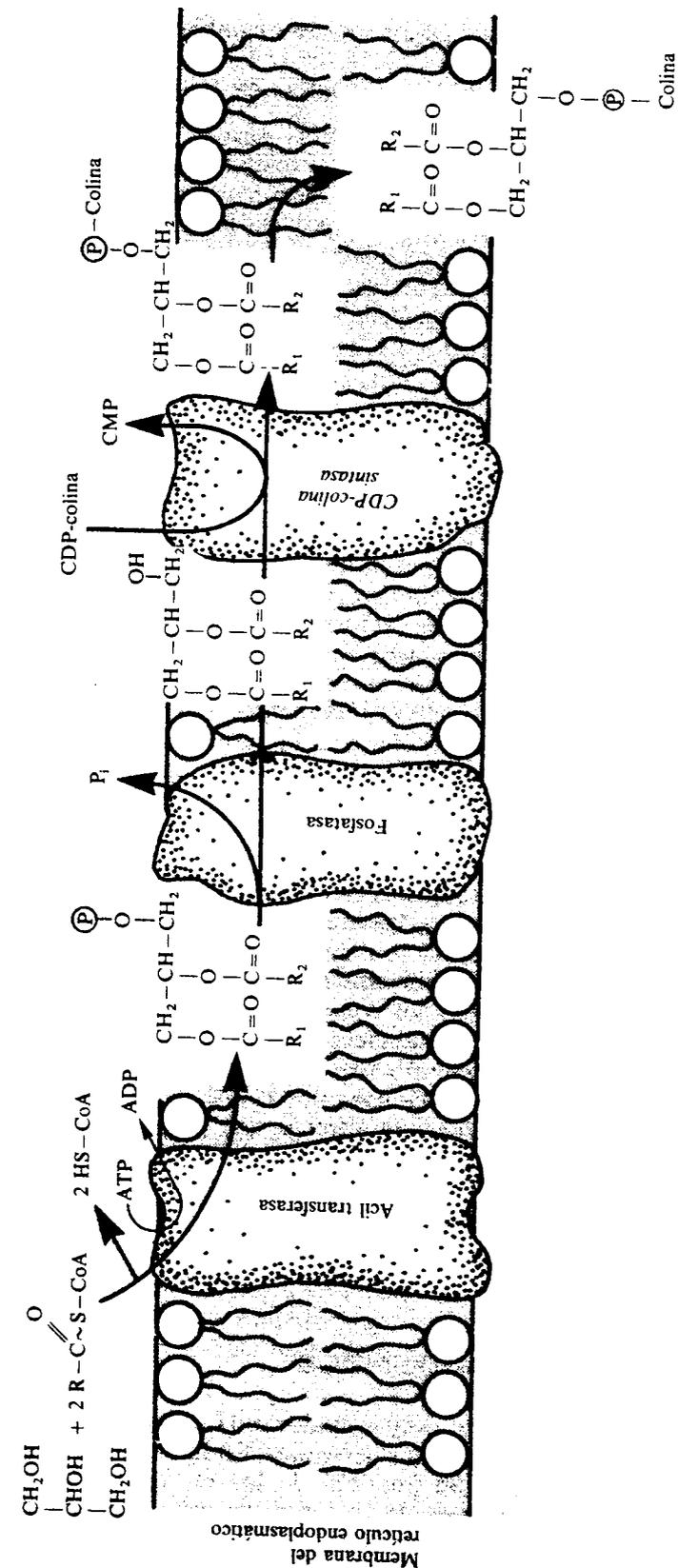


Figura 26.12. Localización de la síntesis de fosfatidilcolina en la membrana del retículo endoplasmático. Los sitios activos de las enzimas biosintéticas se localizan en la parte citoplasmática de la membrana. La fosfatidilcolina sintetizada se inserta en la bicapa lipídica y mediante un movimiento transmembrana puede situarse en el lado opuesto de la bicapa.

- b) Por proteínas transportadoras que intercambian los fosfolípidos desde una membrana a otra.
- c) A través de regiones de continuidad entre las membranas.

Así, las membranas de las mitocondrias pueden recibir las proteínas y los fosfolípidos que han sido sintetizados en el retículo endoplasmático, en forma de pequeñas vesículas que se fusionan con la membrana mitocondrial. También se ha descrito la existencia de una proteína específica para transportar fosfatidilcolina desde la membrana del retículo endoplasmático a otras partes de la célula (núcleo, aparato de Golgi, membrana plasmática, etc.); sin embargo, no se puede establecer todavía un papel claro para esta proteína en todas las funciones celulares que suponen una nueva incorporación de fosfolípidos, como puede ser el crecimiento celular.

REGULACION DEL METABOLISMO DE LOS FOSFOACILGLICERIDOS

Existen pocos datos sobre la regulación del metabolismo de los fosfoacilglicéridos tanto a nivel de bacterias como de células eucarióticas. En *E. coli* la biosíntesis de ácidos grasos y fosfolípidos está totalmente coordinada, lo que hace pensar que la mayoría de los ácidos grasos sintetizados se destinan a la biosíntesis de fosfoacilglicéridos, hecho que no ocurre en organismos más evolucionados. En mamíferos se sabe que tiene una gran importancia la disponibilidad de sustratos; en este sentido se ha comprobado que la formación de CDP-diacilglicéridos aumenta cuando también lo hace la concentración de ácido fosfatídico, por ejemplo, por actuación de la *fosfolipasa D*. Estos datos, junto con el conocimiento de que la mayoría de las enzimas implicadas en la biosíntesis de fosfoacilglicéridos están presentes en exceso respecto a las que son necesarias para el proceso de síntesis, conducen a afirmar que la formación de estos intermediarios claves en la biosíntesis de fosfoacilglicéridos depende más de la disponibilidad de sustrato que de la cantidad de enzima.

En cuanto al efecto que las diferentes hormonas ejercen sobre el metabolismo de los fosfoacilglicéridos, los mejor conocidos son los de distintos agonistas (hormonales y no hormonales) sobre el metabolismo de los fosfoinosítidos. En general, se sabe que la acción de determinadas hormonas sobre sus tejidos diana provoca un aumento de la síntesis *de novo* de los fosfoacilglicéridos. Es el caso de la hormona ACTH (cap. 41) en tejido adrenal, que provoca un aumento en la síntesis *de novo* de las distintas clases de fosfolípidos, posiblemente aumentando la síntesis de ácido fosfatídico. Efectos similares provocan la hormona luteinizante (LH) (cap. 41) en ovario y testículos, y la insulina (cap. 42) en el tejido adiposo; sin embargo, el mecanismo molecular por el que dichas hormonas ejercen tal efecto y la(s) etapa(s) enzimática(s) que controlan, no son bien conocidos.

BIOSINTESIS DE ESFINGOLIPIDOS

El esqueleto central de los esfingolípidos es la *esfingosina*, un aminoalcohol de cadena alifática larga, o uno de sus derivados. En las células animales, la *esfingosina* es la más importante (90 por 100 de los esfingolípidos), mientras que la *fitoesfingosina* es característica de las células vegetales. La mayor parte de las bacterias no contienen esfingolípidos.

En todos los esfingolípidos, el grupo amino de la esfingosina está acilado, dando lugar a las *ceramidas*. El grupo alcohólico primario de la esfingosina también está sustituido, y de los sustituyentes dependen las distintas clases de esfingolípidos. La *ceramida* es la unidad estructural básica de los esfingolípidos, así como punto común de su síntesis y degradación (fig. 26.13). Las *esfingomielinas* se obtienen a partir de una *ceramida* y una base nitrogenada fosforilada (generalmente la colina o la etanolamina) son, por tanto, fosfolípidos. Cuando al grupo alcohol primario de las *ceramidas* se unen restos hidrocarbonados, previamente activados, se obtienen los *cerebrósidos*, que pueden a su vez transformarse en *sulfátidos* por reacción con «sulfato activo», o en *gangliósidos* por adición de nuevos grupos polares constituidos por varias unidades de azúcar. Los *cerebrósidos*, *sulfátidos* y *gangliósidos* no poseen fosfato en su molécula, pero sí moléculas glucídicas; son, por tanto, *glicoesfingolípidos*.

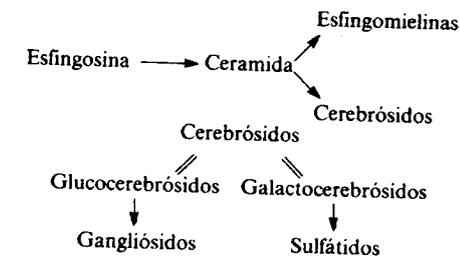


Figura 26.13. Interrelaciones entre distintas clases de esfingolípidos.

Reacciones enzimáticas de la biosíntesis de esfingolípidos

Las enzimas que catalizan la biosíntesis de los esfingolípidos son enzimas asociadas a las membranas, presentes en muy bajas concentraciones y, por tanto, muy difíciles de obtener en forma purificada. Esto ha contribuido a que el mecanismo de muchas de las reacciones enzimáticas de la biosíntesis de esfingolípidos no esté perfectamente aclarado, e incluso haya descritos más de un mecanismo para varias de estas reacciones.

Formación de esfingosina

La *esfingosina* se sintetiza en el retículo endoplasmático de las células, a partir de serina y de palmítol-CoA, en un conjunto de reacciones catalizadas por la *3-cetodihidroesfingosina sintasa* (fig. 26.14, reacciones 1a, b, c), enzima que posee piridoxal fosfato como grupo prostético. Esta reacción es seguida de una reducción, catalizada por la *3-cetodihidroesfingosina reductasa* (fig. 26.14, reacción 2), que utiliza NADPH como coenzima, originándose dihidroesfingosina. A continuación, la dihidroesfingosina se deshidrogena por una *deshidrogenasa* (fig. 26.14, reacción 3) dependiente de FAD, hasta *esfingosina*, formándose así un doble enlace en la posición trans.

Formación de ceramidas

Una vez formada la *esfingosina*, es rápidamente acilada por enzimas microsómicas para originar N-acilesfingosina o *ceramidas*.

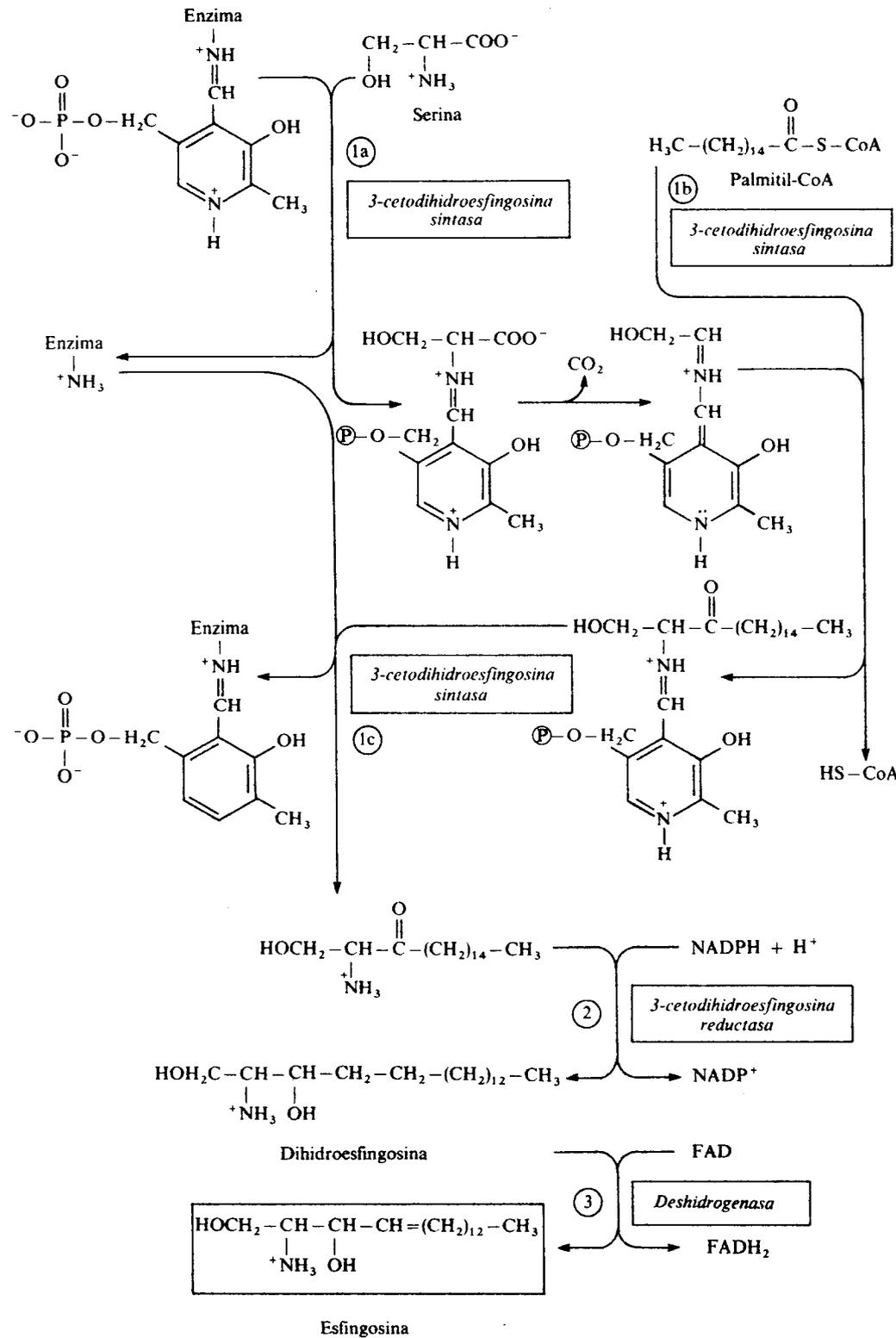
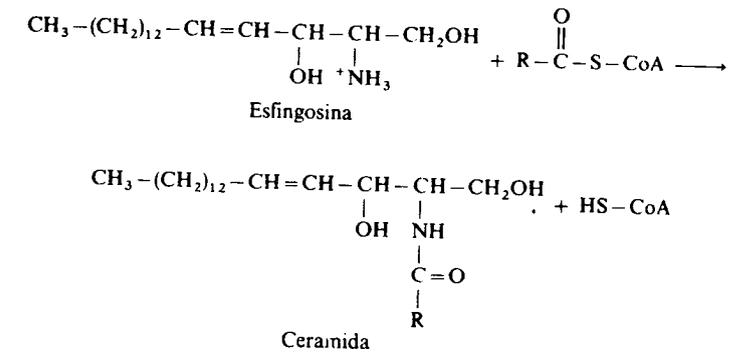


Figura 26.14. Mecanismo propuesto para la formación de esfingosina.

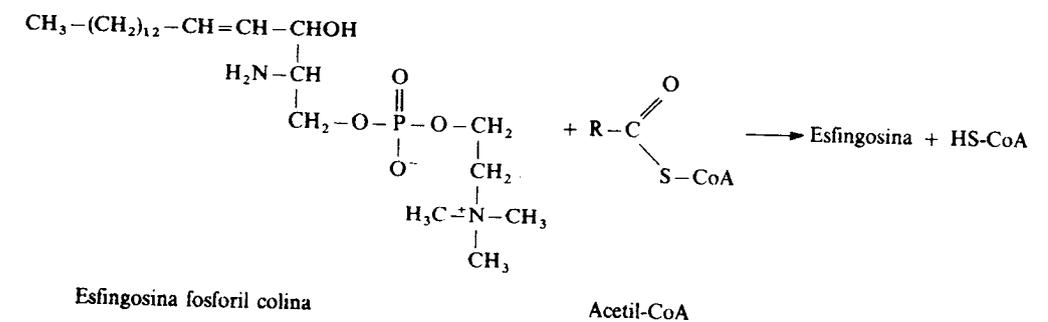


La ceramida, como ya se ha dicho, es la unidad estructural básica de los esfingolípidos, a partir de la cual se forman las esfingomielinas, los cerebrósidos y los gangliósidos.

Biosíntesis de esfingomielina

Las esfingomielinas son fosfolípidos presentes en todas las células, pero abundan en especial en el tejido nervioso y cerebral. Como en el caso de la mayoría de los esfingolípidos, su ruta biosintética no está completamente aclarada. Se conocen dos vías alternativas de biosíntesis a partir de ceramida y que utilizan como dador de fosforilcolina bien la CDP-colina o la fosfatidilcolina. En la figura 26.15 se han representado ambas rutas (I y II). La ruta II supone realmente un intercambio entre la fosfatidilcolina y la esfingomielina, y presenta una particularidad adicional a tener en cuenta, ya que variaciones en la relación fosfatidilcolina/esfingomielina implican cambios en la fluidez de las membranas. En ambas rutas, la enzima implicada es una *fosforil transferasa*.

En el cerebro, las esfingomielinas se pueden formar también por acilación de la *esfingosina fosforilcolina*:



Biosíntesis de cerebrósidos

Los cerebrósidos son glicoesfingolípidos neutros, ya que no tienen ningún grupo cargado a pH fisiológico. Están presentes en cantidades importantes en la vaina de mielina de las células nerviosas y en el cerebro, y en pequeñas cantidades en la mayoría de las células. Estos glicolípidos son importantes no sólo como constituyentes de las membranas celulares, sino también como determinantes de un número de reacciones inmunológicas, entre las que cabe destacar la especificidad de los grupos sanguíneos, al ser componentes de los aglutinógenos A y B.

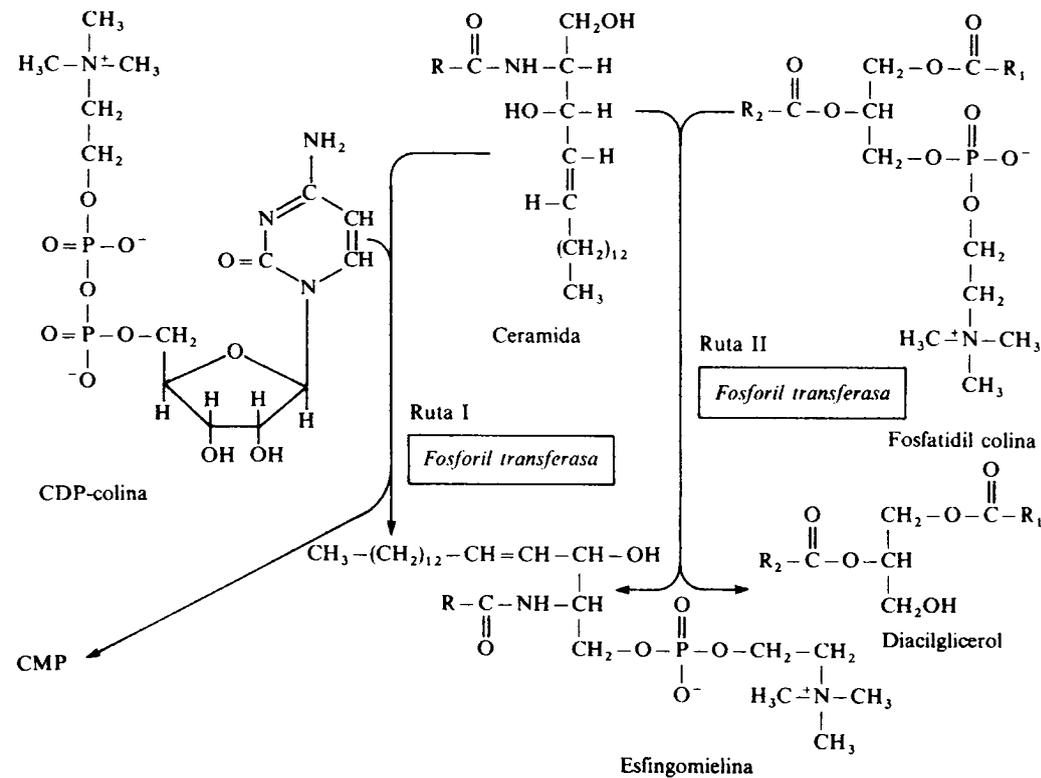


Figura 26.15. Reacciones de biosíntesis de la esfingomielina.

La ruta biosintética de los cerebrósidos (fig. 26.16) consiste en la unión de restos hidrocarbonados, generalmente galactosa o glucosa, al grupo alcohólico primario de la cerámida. Los dadores de restos hidrocarbonados son la UDP-galactosa y la UDP-glucosa. Las enzimas implicadas en el proceso son *glicosil transferasas* que, si bien se cree que son específicas de cada reacción, no han sido purificadas y, por consiguiente, este hecho no se conoce con exactitud. Estas *glicosil transferasas* están localizadas en el aparato de Golgi, donde tienen lugar las glicosilaciones.

Biosíntesis de sulfátidos

Los sulfátidos son ésteres formados entre el ácido sulfúrico y el grupo hidróxilo y de la galactosilcerámida. Se han encontrado sulfátidos a concentraciones relativamente bajas en el cerebro y en el riñón.

Se sintetizan a partir de 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS), sulfato activo, que forma un éster con el hidróxilo 3' de la galactosa; este monosacárido es el único sitio aceptor, conocido, del grupo sulfato. La reacción está catalizada por una *cerebrósido sulfotransferasa* (fig. 26.17).

Biosíntesis de gangliósidos

Los gangliósidos son los esfingolípidos más complejos. Contienen grandes cabezas polares constituidas por una cadena de oligosacáridos formadas por ácido

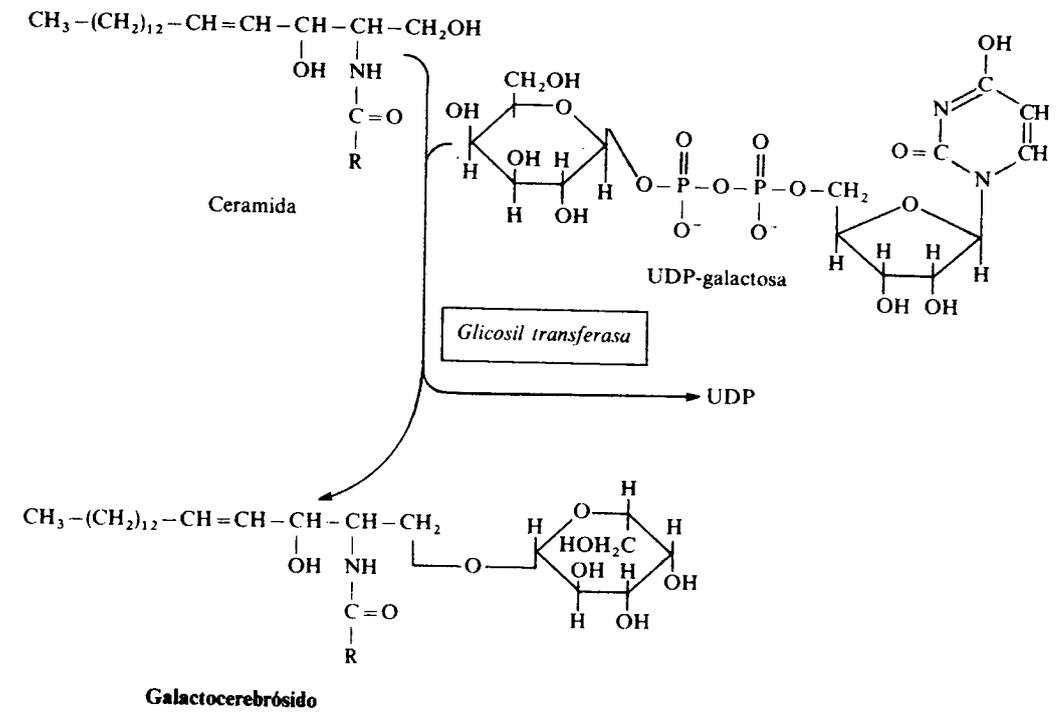


Figura 26.16. Esquema de la biosíntesis de un cerebrósido.

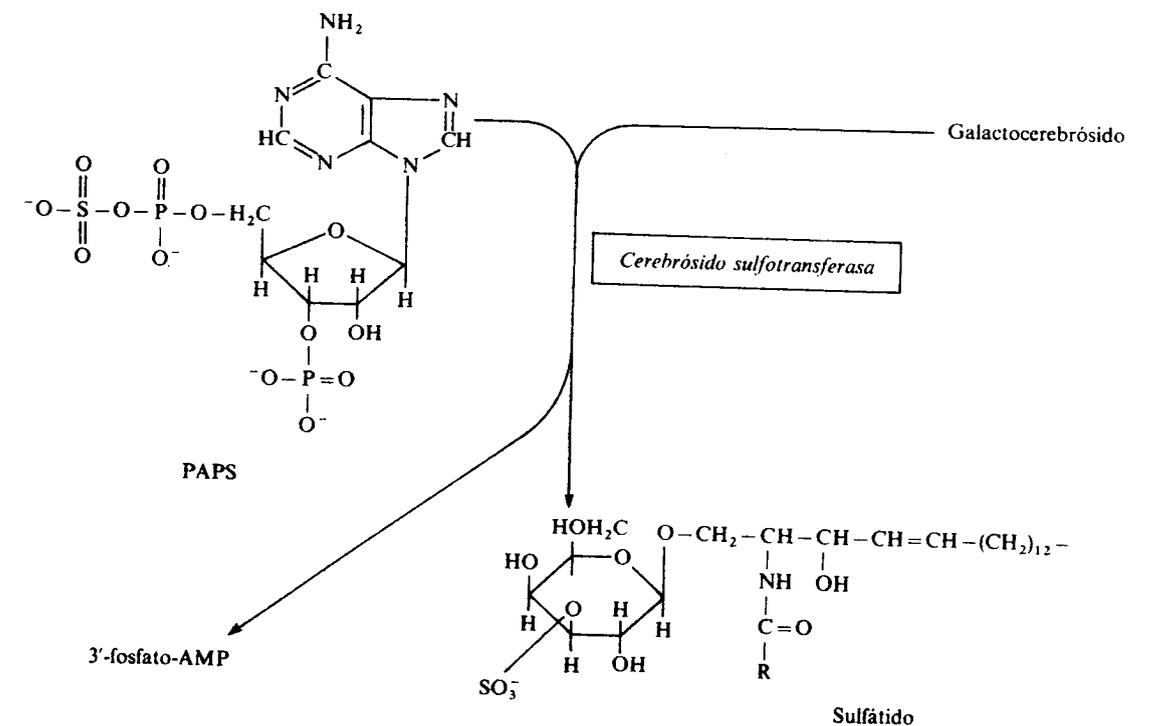


Figura 26.17. Esquema de la biosíntesis de un sulfátido.

siálico o N-acetilneuramínico (NANA), además de glucosa y galactosa; también pueden contener acetilgalactosamina. La presencia de al menos un resto de ácido siálico confiere a estos lípidos carácter ácido. Los gangliósidos, son, por tanto, glicosfosfolípidos ácidos.

Se sintetizan mediante la adición paso a paso, de forma ordenada, de residuos glucídicos a la ceramida. Los donadores activados de glucosa, galactosa y acetilgalactosamina son la UDP-glucosa, la UDP-galactosa y la UDP-acetilgalactosamina, respectivamente. El CMP-N-acetilneuramínico es la forma activada del ácido siálico (fig. 26.18). Las enzimas implicadas en el proceso de biosíntesis son *glicosil transferasas*. En la figura 26.19 se representa la biosíntesis del gangliósido denominado GM₁.

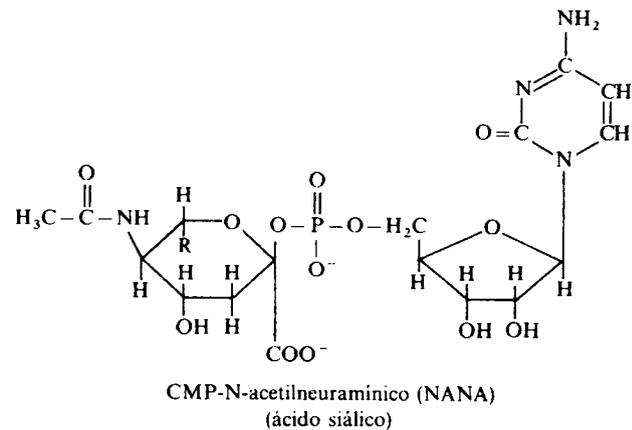


Figura 26.18. Forma activa del ácido siálico (CMP-N-acetilneuramínico).

DEGRADACION DE ESFINGOLIPIDOS

Los esfingolípidos son degradados por hidrolasas lisosómicas que liberan sucesivamente los constituyentes de la molécula hasta llegar a la esfingosina. En el caso de deficiencia enzimática de alguna de las enzimas implicadas, determinados productos de degradación, que no son totalmente transformables, se acumulan en algunos órganos, principalmente en el tejido nervioso, originando disfunciones denominadas *lipidosis*; cada una de las esfingolipidosis es característica del lípido almacenado. Estas enfermedades son hereditarias y responden a una transmisión autosómica recesiva. Los individuos heterocigóticos son clínicamente normales y los homocigóticos nacidos de los dos padres heterocigóticos padecen la enfermedad.

Degradación de esfingomielinas

La etapa inicial de la degradación de las esfingomielinas es la catalizada por la *esfingomielinasa*, que rompe hidrolíticamente la esfingosina, originando ceramida y la base correspondiente fosforilada, como, por ejemplo, fosfocolina. A continuación, una segunda hidrolasa, la *ceramidasa*, separa el ácido graso de la cerámica:

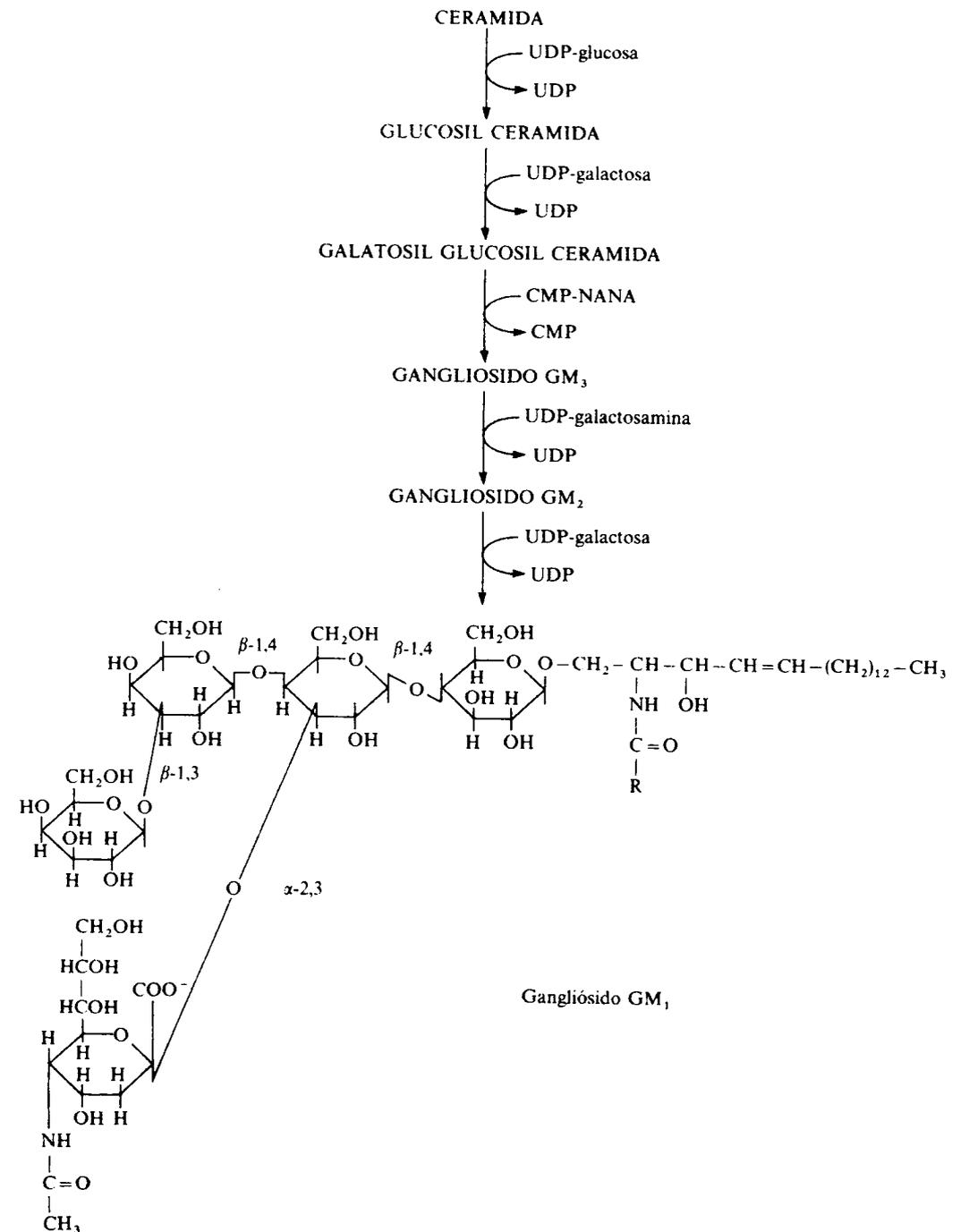
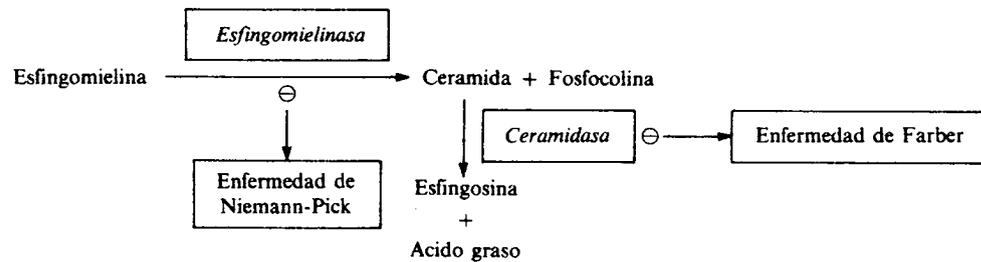


Figura 26.19. Esquema de biosíntesis del gangliósido GM₁.

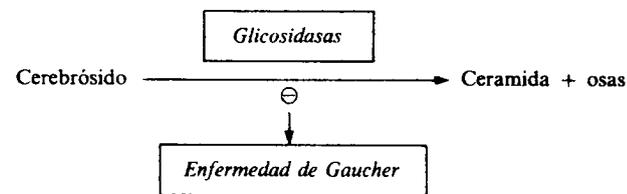


La deficiencia de *esfingomielinasa* conduce a una acumulación de esfingomielinas en el sistema nervioso y en numerosos órganos, especialmente en el hígado y en el bazo, lo que origina la denominada *enfermedad de Niemann-Pick*, que va acompañada de retraso mental.

La deficiencia de *ceramidasa* origina la *enfermedad de Farber*, que, aunque poco frecuente, es muy grave. Produce retraso mental, y los individuos que la padecen presentan nódulos subcutáneos sobre las articulaciones de la mano y en la región lumbosacra de la columna vertebral.

Degradación de cerebrósidos

Los cerebrósidos son hidrolizados por *glicosidasas* (β -glucosidasa y β -galactosidasa) que separan las unidades hidrocarbonadas de la molécula originando cerámida y los azúcares correspondientes:



La deficiencia de β -glucosidasa origina la *enfermedad de Gaucher*, que consiste en la acumulación de *cerebroglucósidos* en el sistema reticuloendotelial, hígado y bazo, principalmente, mientras que los *cerebrogalactósidos* se degradan con normalidad.

Si la enfermedad de Gaucher aparece en el nacimiento o en los primeros meses de vida, origina un proceso degenerativo del sistema nervioso central; cuando se presenta de forma más tardía, ya en el adulto, origina una enfermedad crónica y no conlleva lesión grave del sistema nervioso central.

Degradación de sulfátidos

El grupo sulfato de los esfingosulfátidos es eliminado por *sulfatasas*, con lo que se origina el galactocerebrósido correspondiente.

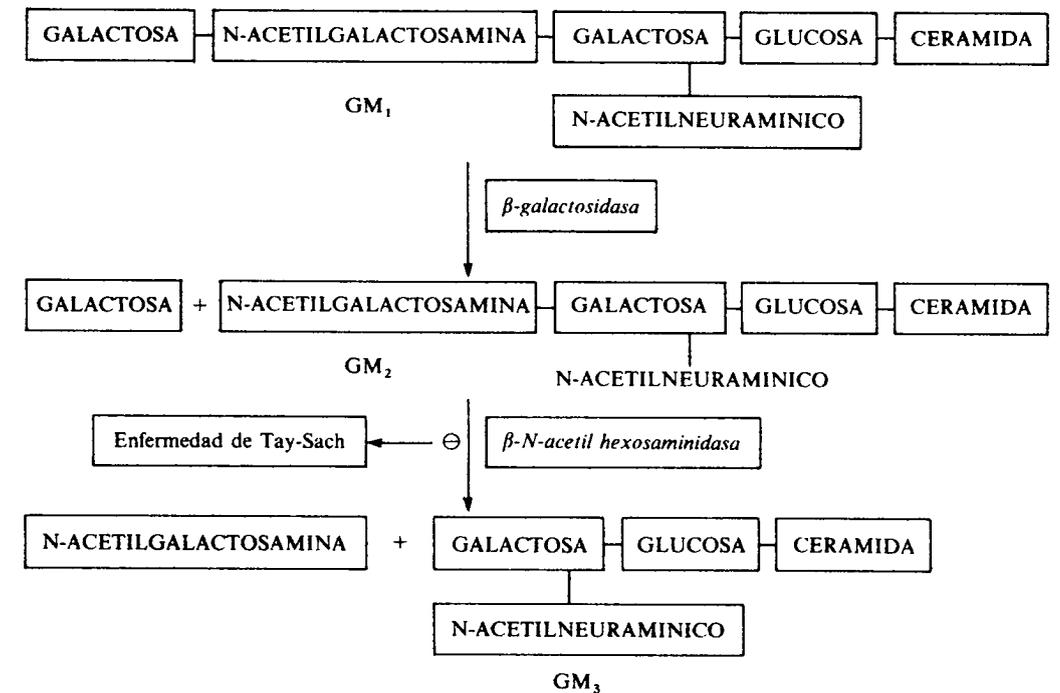
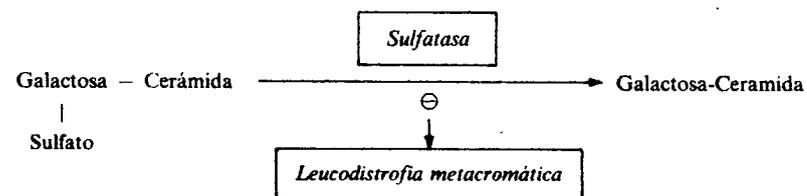


Figura 26.20. Esquema de degradación del gangliósido GM₁.

La ausencia de *sulfatasa* origina la enfermedad conocida como *sulfatidosis* o *leucodistrofia metacromática*, que se caracteriza por la acumulación de galactosil-sulfátidos en la sustancia blanca del sistema nervioso central y en los nervios periféricos principalmente.

Degradación de gangliósidos

Los gangliósidos son los esfingolípidos de metabolismo más activo; se degradan y sintetizan continuamente. Su degradación tiene lugar por *glicosilhidrolasas* que eliminan secuencialmente los azúcares, convirtiéndolos en gangliósidos de estructura cada vez más simple. Un ejemplo de degradación de un gangliósido (el GM₁) es el que se representa en la figura 26.20.

Las anomalías de la degradación de los gangliósidos pueden tener consecuencias clínicas importantes. En este sentido, la ausencia o deficiencia de la *N-acetilhexosaminidasa* origina la *enfermedad de Tay-Sachs* o idiocia amaurótica familiar. En esta enfermedad se produce una acumulación de GM₂ en los ganglios y en el sistema nervioso central (el GM₂ casi está ausente en condiciones normales), las células ganglionares de la corteza cerebral se inflaman y se produce un ataque degenerativo del sistema nervioso funcional. Es característica, además, la presencia de una mancha roja en la retina de los pacientes que presentan esta enfermedad.

TEXTOS DE CONSULTA

- Boggs, J. M.: «Effect of lipid structural modifications on their intermolecular hydrogen binding interactions and membrane», *Biochem. Cell. Biol.*, 64:50-57, 1986.
- Bruce, J., y Holub, D.: «The cellular forms and functions of the inositol phospholipids and their metabolic derivatives», *Nutrition Rev.*, 45:65-71, 1987.
- Dawidowicz, E. A.: «Dynamics of membrane lipid metabolism and turnover», *Ann. Rev. Biochem.*, 56:43-61, 1987.
- Dennis, E. A.: «Phospholipases», en *The Enzymes*, P. A. Boyer, ed., Academic Press, vol. XVI, págs. 255-306, 1983.
- Farese, R. V.: «Phospholipids as intermediates in hormone action», *Mol. Cel. Endocrinol.*, 35:1-14, 1984.
- Van Golde, L. M. G.: «Synthesis of surfactant lipids in the adult lung», *Ann. Rev. Physiol.*, 47:765-774, 1985.
- Infante, J. P., y Huszagh, U. A.: «Is there a new biosynthetic pathway for lung surfactant phosphatidylcholine?», *TIBS*, 12:131-133, 1987.
- Keough, K. M.: «Modifications of lipid structure and their influence on mesomorphism in model membranes: the influence of hydrocarbon chains», *Biochem. Cell. Biol.*, 64:44-49, 1986.
- Kishimoto, Y.: «Sphingolipid formation», en *The Enzymes*, P. A. Boyer, ed., Academic Press, vol. XVI, págs. 357-407, 1983.
- Van Kuijk, F. J. G. M.; Handelman, A. S. G. J., y Dratz, E. A.: «A new role for phospholipase A: protection of membranes from lipid peroxidation damage», *TIBS*, 12:31-34, 1987.
- Mahuran, D. J.; Triggs-Raine, B. L.; Feigenbaum, A. J., y Gravel, R. A.: «The molecular basis of Tay-Sachs disease: mutation, identification and diagnosis», *Clin. Biochem.*, 23:409-415, 1990.
- Mangold, H. K.: «Synthesis of biologically active ether lipids», *Prog. Biochem. Pharmacol.*, 22:1-16, 1988.
- Parthasarathy, R., y Eisenberg, F.: «The inositol phospholipids: a stereochemical view of biological activity», *Biochem. J.*, 235:313-322, 1986.
- Pieringer, R. A.: «Formation of bacterial glycerolipids», en *The Enzymes*, P. A. Boyer, ed., Academic Press, vol. XVI, págs. 255-306, 1983.
- Waite, M.: «Approaches to the study of mammalian cellular phospholipases», *J. Lip. Res.*, 26:1379-1388, 1985.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Biblioteca Digital

Eicosanoides: metabolismo y papel funcional

MARÍA JOSÉ CARMENA

Los *eicosanoides* tienen en la actualidad un enorme interés bioquímico, fisiológico y farmacológico. Aunque sus antecedentes históricos se remontan a los años treinta, fecha en que se describen por primera vez, no es hasta los años setenta cuando se dispara de forma vertiginosa el avance en el conocimiento de sus estructuras, metabolismo e implicaciones funcionales.

Existe un amplio número de sustancias biológicamente activas que se designan bajo el nombre de eicosanoides. Este término, introducido por Corey y colaboradores en 1979, refleja la característica común de derivar de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono (*ácidos eicosapoliénicos*). El *ácido araquidónico* ocupa una posición central como precursor de la más amplia variedad de eicosanoides, ya que, tras una serie de reacciones enzimáticas conocidas como la *cascada del ácido araquidónico*, se transforma, siguiendo una vía cíclica, en *prostaglandinas* (PG) y *tromboxanos* (TX), o tras una vía lineal en *hidroxiácidos del ácido araquidónico* (HETE) y *leucotrienos* (LT).

El estudio de estos compuestos es complejo, debido a la gran variedad de miembros de la familia con actividades biológicas distintas, a la especificidad de especie y tejido de su síntesis y a las múltiples vías de su metabolismo. A pesar de ello, hay una serie de características generales comunes, como son:

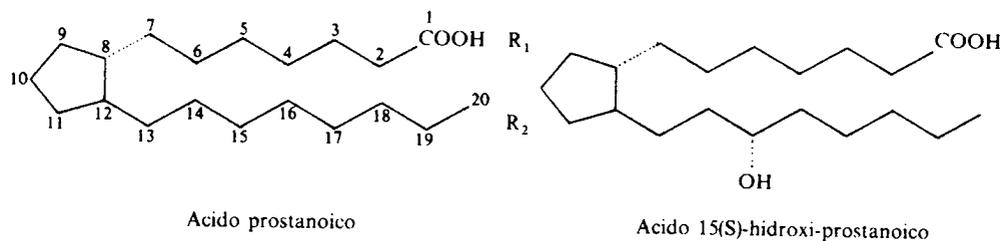
1. Que su formación a partir de ácidos grasos se activa por numerosos tipos de estímulos.
2. Que se comportan como «autacoides», es decir, ejercen sus efectos biológicos en las células vecinas a aquellas en donde se liberan.
3. Que actúan como biorreguladores, implicados en la formación de nucleótidos cíclicos y en la movilización del calcio.

ESTRUCTURA Y NOMENCLATURA DE LOS EICOSANOIDES

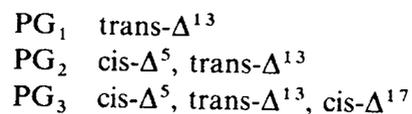
Prostaglandinas

El nombre de prostaglandinas proviene de su supuesto origen prostático al ser aisladas inicialmente del plasma seminal. Sus estructuras derivan del *ácido prosta-*

noico, que posee un anillo de ciclopentano y dos cadenas alifáticas R_1 y R_2 que adoptan una disposición trans respecto del plano del anillo, como se indica con el trazo discontinuo en la representación de su molécula. Todas las prostaglandinas son ácidos insaturados con un grupo hidroxilo en posición 15, y con distintos sustituyentes en el anillo de ciclopentano; es decir, son derivados del ácido 15(S)*-hidroxi-prostanoico:



Cada prostaglandina se designa con una letra mayúscula, dependiendo de los sustituyentes del anillo de ciclopentano (A, B, C, D, E, F, G, H, I) (fig. 27.1) y un subíndice que indica el número de dobles enlaces en las cadenas alifáticas. Existen tres series de prostaglandinas: PG_1 , PG_2 y PG_3 , con las siguientes localizaciones de los dobles enlaces:



En el caso de la PGF, se indica α o β para hacer referencia a la configuración del -OH en el C-9. La $PGF_{2\alpha}$ es la que existe en la naturaleza, la $PGF_{2\beta}$ es de síntesis (fig. 27.1).

La prostaciclina (PGI), que ha sido la última prostaglandina descrita (1976), tiene en su estructura un éter cíclico, es decir, un oxígeno puente entre los carbonos 6 y 9. Las prostaglandinas G y H (PGG y PGH) son endoperóxidos, y se diferencian en que la PGG tiene en posición 15 un grupo hidroperóxido (-OOH) en lugar de un hidroxilo (-OH). Ambas son compuestos intermedios de la biosíntesis de prostaglandinas.

Tromboxanos

Se denominan tromboxanos porque fueron identificados, en primer lugar, en los trombocitos (plaquetas). Se diferencian estructuralmente de las prostaglandinas en que poseen un anillo de oxano (heterociclo de oxígeno de 6 eslabones) en lugar de un anillo de ciclopentano. Sólo existen dos tipos de tromboxanos, el TXA y su producto hidrolítico, el TXB (fig. 27.2). El resto de características estructurales son análogas a las ya descritas para las prostaglandinas.

* Según el sistema RS de designación estereoquímica.

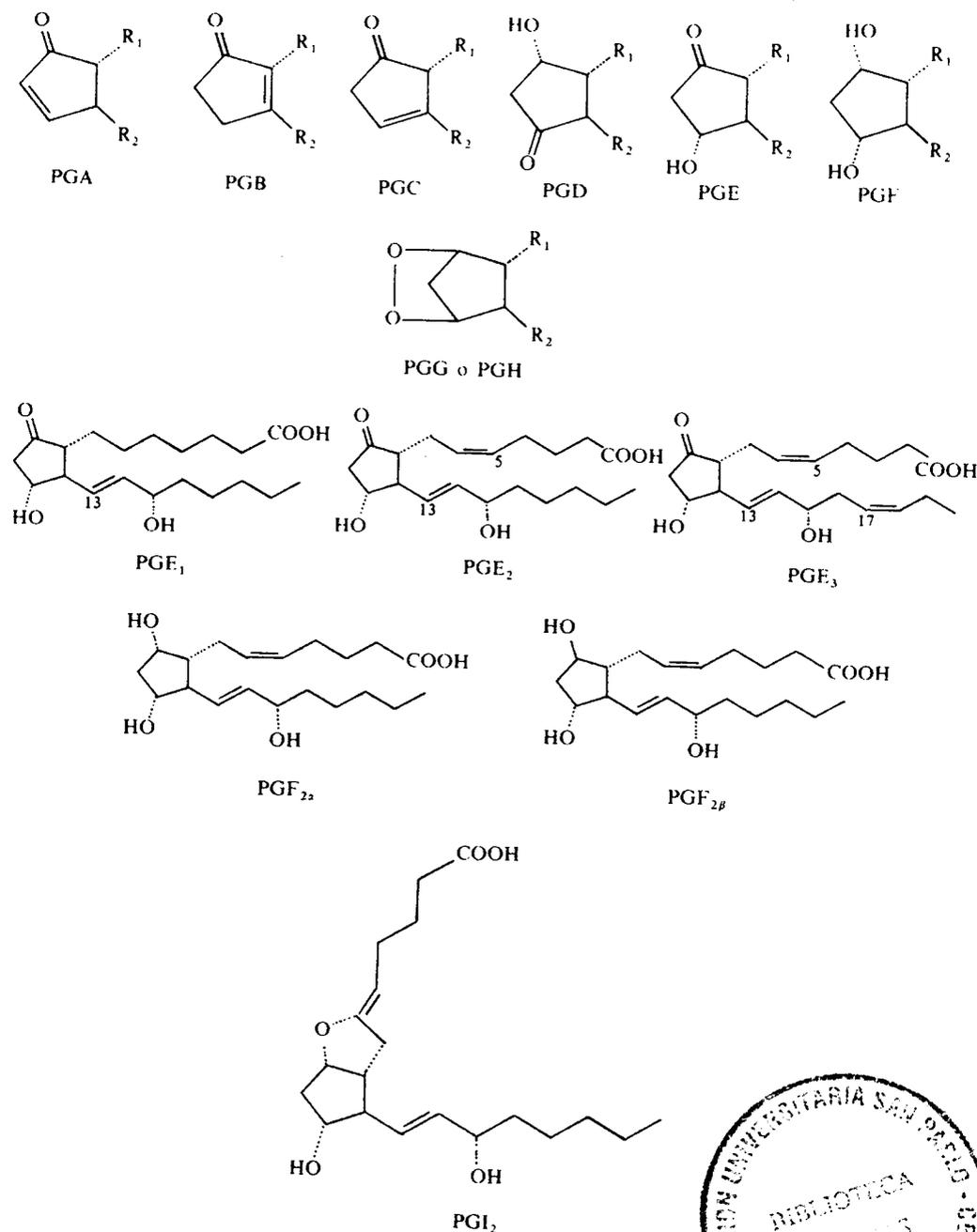


Figura 27.1. Estructura y nomenclatura de los eicosanoides

Leucotrienos

Los leucotrienos son eicosanoides acíclicos. Su nombre deriva de que fueron aislados por primera vez de los leucocitos y que todos ellos presentan en su estructura tres dobles enlaces conjugados, responsables de su característico espectro de absorción a la luz ultravioleta. Su nomenclatura ha sido ideada reciente-



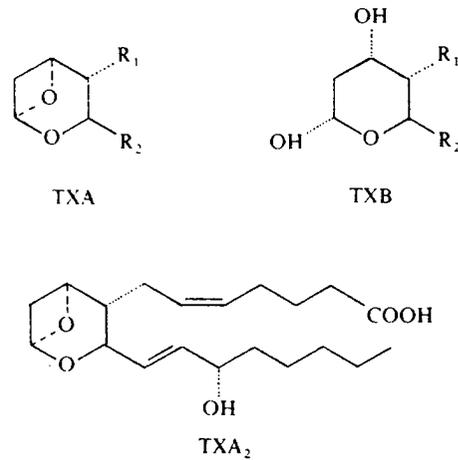


Figura 27.2. Estructura de los tromboxanos.

mente (1980) por Samuelsson y Hammarström. Se nombran con una letra mayúscula que indica el tipo de sustituyente de la cadena carbonada y un subíndice numérico que corresponde al número de dobles enlaces. En la figura 27.3 se han representado los leucotrienos A de las tres series conocidas. Todos tienen una función epoxi, localizada en las posiciones 5 y 6 en el caso de los leucotrienos A₄ y A₅, y en 8 y 9 en el leucotrieno A₃. En este último se indica la posición de la función característica delante del nombre porque no deriva de la *5-lipoxigenasa*, que es la vía enzimática que da lugar a prácticamente todos los leucotrienos conocidos. En general, para nombrar cualquier leucotrieno formado en otra vía distinta de la *5-lipoxigenasa* se indicará la posición de los sustituyentes con prefijos numéricos delante del nombre.

En la tabla 27.1 se indican las características estructurales de los distintos leucotrienos. A diferencia de los A y B, los leucotrienos C, D, E y F son péptido-

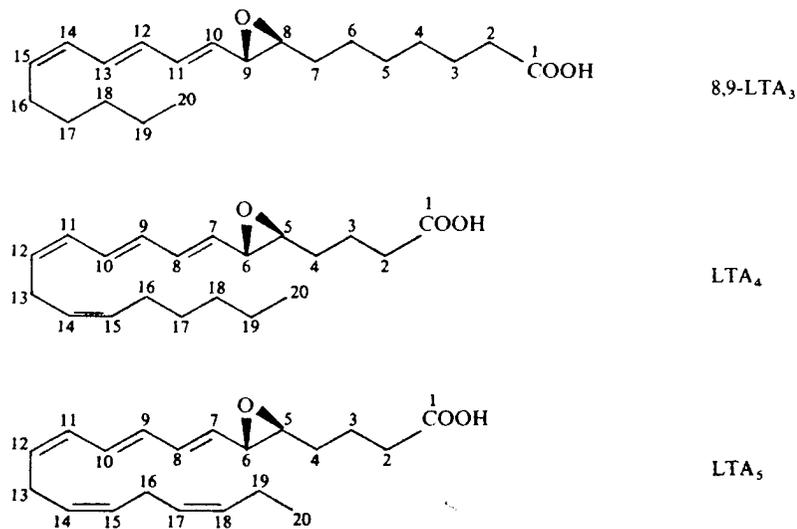


Figura 27.3. Estructura de diferentes leucotrienos de la serie A.

Tabla 27.1
SUSTITUYENTES EN LAS DISTINTAS CLASES
DE LEUCOTRIENOS

Leucotrieno	Tipo de sustituyente
A	5,6-epoxilo
B	5(S), 12(R)-dihidroxi
C	5(S)-hidroxi, 6(R)-S-cisteinilglicil- γ -glutamilo
D	5(S)-hidroxi, 6(R)-S-cisteinilglicilo
E	5(S)-hidroxi, 6(R)-S-cisteinilo
F	5(S)-hidroxi, 6(R)-S-cisteinil- γ -glutamilo

lipidos dado que tienen aminoácidos como sustituyentes. También se les denomina *cisteinil-leucotrienos* porque todos tienen un resto de cisteína.

Hoy día se sabe que las denominadas *sustancias de reactividad lenta* (SRS, del inglés «slow-reacting substances») y las sustancias de reactividad lenta de anafilaxia (SRS-A), formadas en el pulmón como respuesta a distintos estímulos, e implicadas en los procesos asmáticos y alérgicos, son una mezcla de LTC₄, LTD₄ y LTE₄.

PRECURSORES DE LOS EICOSANOIDES

Los precursores comunes de prostaglandinas, tromboxanos y eicosanoides acíclicos son tres ácidos grasos de 20 átomos de carbono, y de 3, 4 ó 5 dobles enlaces:

- Acido 8,11,14-eicosatrienoico (ácido dihomo- γ -linolénico).
- Acido 5,8,11,14-eicosatetraenoico (ácido araquidónico).
- Acido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico.

En el hombre y en general en los mamíferos, el ácido araquidónico es el precursor más importante. Deriva del ácido linoleico (C18:2^{9,12}) o es ingerido directamente en la dieta (fig. 27.4). Su concentración en estado libre es muy pequeña (menor de 10⁻⁶ M), ya que después de su absorción por la mucosa intestinal es esterificado, y pasa a formar parte principalmente de los fosfoglicéridos de las membranas celulares y de otros lípidos complejos (véase cap. 26). La biosíntesis de eicosanoides derivados del ácido araquidónico depende, por tanto, de su liberación desde sus reservas esterificadas.

Por otra parte, en los tejidos de los mamíferos, los ácidos eicosatrienoicos son transformados rápidamente en ácido araquidónico por acción de una desaturasa (véase fig. 27.4). Sus metabolitos (PG₁, TX₁ y 8,9-LT₃) tienen mucha menor importancia funcional que los derivados del ácido araquidónico (PG₂, TX₂ y LT₄).

Los ácidos eicosapentaenoicos aparecen en sangre tras una dieta rica en pescados y aceites de animales marinos, pero son sustratos pobres de las ciclooxigenasas y las lipoxigenasas, enzimas responsables de la formación de eicosanoides. Actúan incluso inhibiendo la formación de metabolitos del ácido araquidónico y, si se convierten en eicosanoides (PG₃, TX₃ y LT₅), carecen de efectos biológicos. En los esquimales, cuya alimentación es muy rica en pescado, lo que les aporta mucho ácido eicosapentaenoico, se ha observado una menor incidencia de enfermedades tromboembólicas. Es posible, por tanto, que en el futuro el medio para disminuir la incidencia de tales patologías sea una aproximación nutricional al

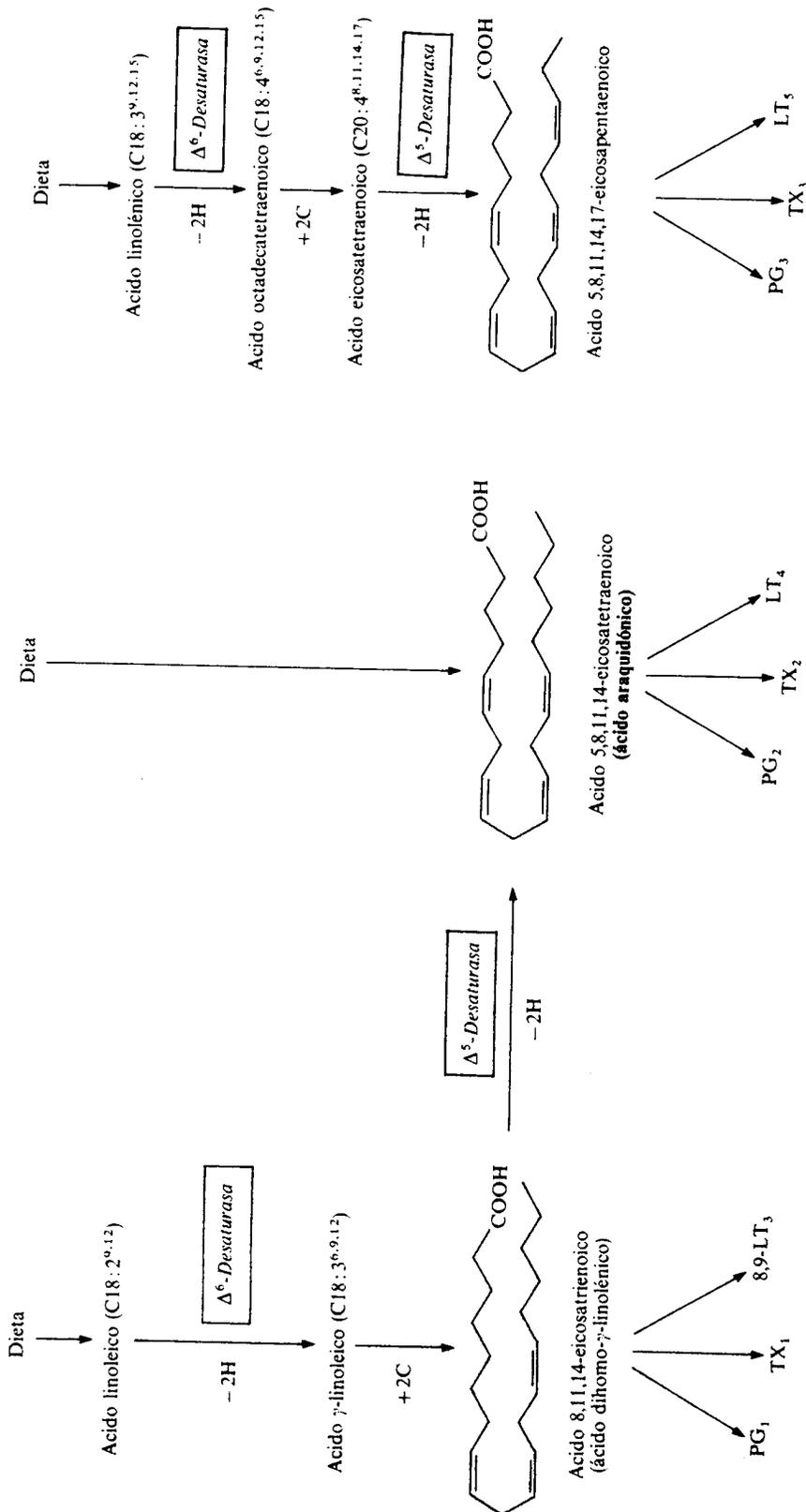


Figura 27.4. Ácidos grasos precursoros de las tres series de eicosanoides. Las reacciones señaladas como -2H indican procesos de desaturación, y las que se señalan como +2C, procesos de elongación (véase texto).

problema. La aportación a la dieta de un ácido graso como el eicosapentaenoico, que puede ser utilizado como sustrato de las enzimas responsables de la síntesis de eicosanoides, pero cuyos metabolitos son mucho menos activos que las moléculas correspondientes derivadas del ácido araquidónico, abre una vía terapéutica prometedora en el campo de las grandes patologías humanas, como las enfermedades tromboembólicas, la aterosclerosis, la inflamación y la autoinmunidad.

METABOLISMO DEL ACIDO ARAQUIDONICO

Biosíntesis de eicosanoides

La liberación del ácido araquidónico desde sus reservas esterificadas constituye una etapa común y previa a la biosíntesis de eicosanoides cíclicos (*via cíclica*) y eicosanoides lineales (*via lineal*) (fig. 27.5). Es, a la vez, una etapa clave, puesto que la biosíntesis de estos compuestos está limitada por la disponibilidad de ácido araquidónico libre. Las células disponen de las enzimas responsables de la biosín-

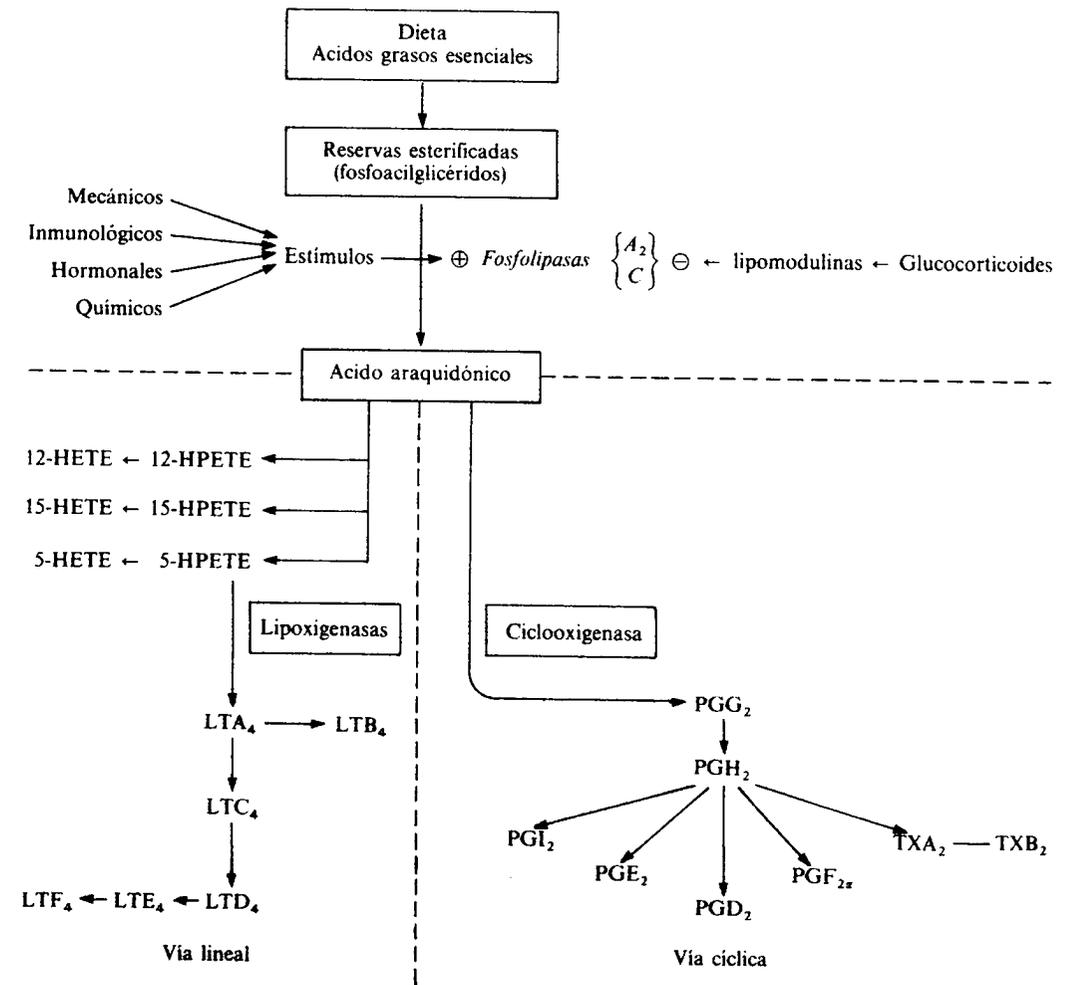
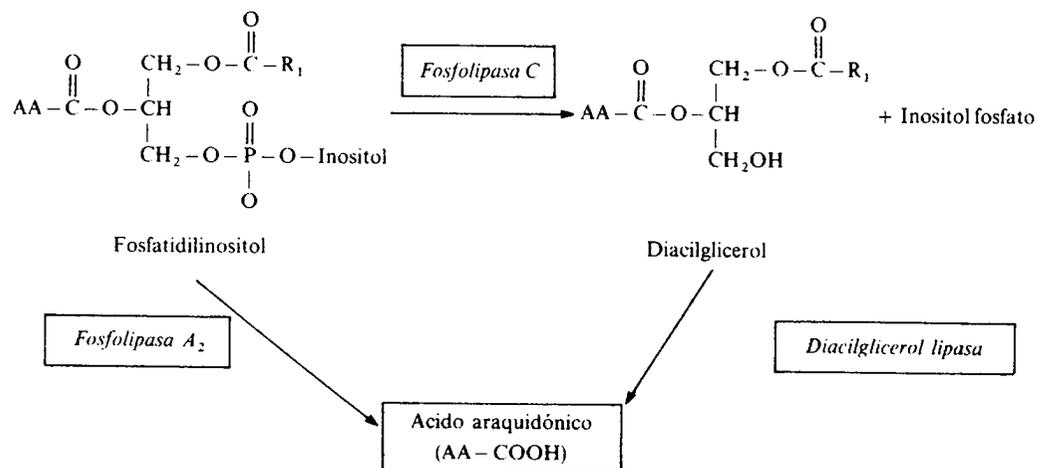


Figura 27.5. Esquema de la biosíntesis de eicosanoides.

tesis de eicosanoides en forma activa, pero el sustrato, el ácido araquidónico, se encuentra secuestrado en las reservas esterificadas: fosfoglicéridos, ésteres de colesterol, triacilglicéridos y lipoproteínas. La fuente principal de dicho ácido es, sin duda, los fosfoglicéridos presentes en todas las membranas; sin embargo, los esfingolipidos no contienen una cantidad apreciable de ácido araquidónico. En riñón y tejido adiposo, los triacilglicéridos parecen ser también una importante fuente de este precursor. Otra fuente de ácido araquidónico son las lipoproteínas plasmáticas, y de hecho se ha sugerido en fecha reciente que las HDL de rata son muy ricas en ésteres de colesterol y ácido araquidónico, y podrían constituir la principal fuente de prostaciclina a nivel del endotelio vascular.

Las enzimas que catalizan la liberación del ácido araquidónico de las formas esterificadas son las *fosfolipasas*, la *colesterol esterasa*, *triacilglicérido lipasa* y *lipoproteína lipasa*, dependiendo del sustrato donde actúan (fig. 27.6). Estas enzimas son estimuladas por numerosos factores, unos no específicos (trauma, hipoxia aguda, cambios bruscos de temperatura, etc.) y otros específicos como son las hormonas y neurotransmisores. En este sentido, la hormona TSH activa la *fosfolipasa A₂* en el tiroides, la ACTH ejerce un efecto similar en la corteza adrenal y la LH en el ovario. En las plaquetas se ha descrito todo un sistema complejo que implica trombina, colágeno y Ca^{2+} , para la activación tanto de la *fosfolipasa A₂* como de la *fosfolipasa C*. Además, numerosas situaciones patológicas pueden incrementar la síntesis de PGs, TXs y LTs.

El ácido araquidónico suele ocupar la posición 2 de la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina y los fosfatidilinositoles, así como de sus respectivos plasmalógenos. Por tanto, su liberación se deberá a la actuación de *fosfolipasas A₂* específicas. Alternativamente, los fosfatidilinositoles pueden ser degradados por *fosfolipasas C* específicas (denominadas también ahora *fosfomonoinositidasas*), formando diacilglicerol, que será posteriormente catabolizado por una *diacilglicerol lipasa*, para liberar ácido araquidónico:



En la regulación de estas actividades enzimáticas el Ca^{2+} desempeña un papel importante, puesto que ambas fosfolipasas son monoesterasas que requieren este ion para su actividad. Pero mientras que la *fosfolipasa C* requiere una concentración de Ca^{2+} del orden de μM , la *fosfolipasa A₂* necesita para ser activa 1.000 veces más (mM). Sin embargo, no se conoce la relación entre la actuación de las dos fosfolipasas y la contribución de cada una de ellas a la liberación del ácido

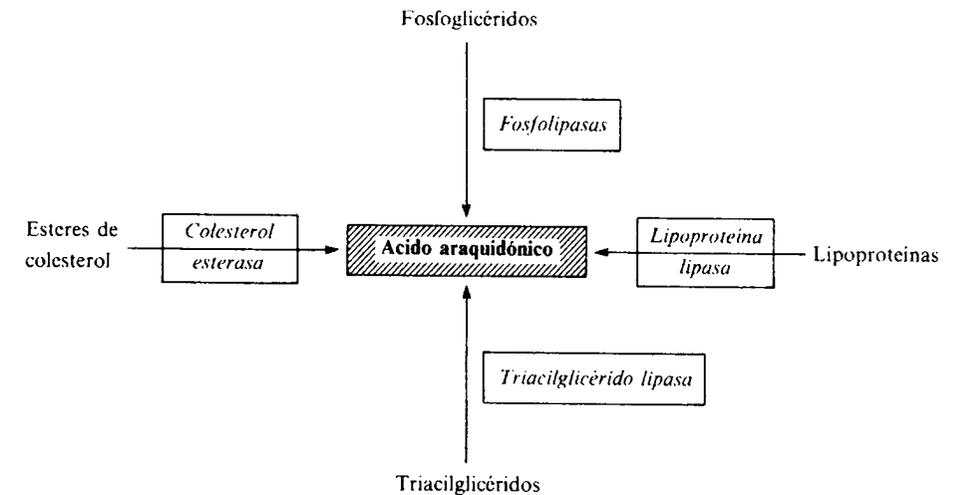


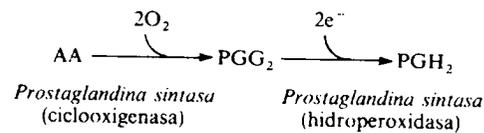
Figura 27.6. Liberación del ácido araquidónico desde sus reservas esterificadas.

araquidónico. Se ha propuesto, además, un regulador más específico de fosfolipasas, unas proteínas denominadas *lipomodulinas* sintetizadas en respuesta a drogas antiinflamatorias esteroideas, como los glucocorticoides, lo que explica así la acción terapéutica de éstos. Los glucocorticoides, interaccionando con el material genético, inducirían la síntesis de lipomodulinas que inactivarían las fosfolipasas. A su vez, la actividad de las lipomodulinas está regulada por mecanismos de fosforilación-desfosforilación, siendo la lipomodulina fosforilada inactiva. El hecho de que la liberación del ácido araquidónico de sus reservas esterificadas sea la etapa limitante de la biosíntesis de eicosanoides, sugiere la existencia de múltiples mecanismos de regulación.

VIA CICLICA

Una vez liberado, el ácido araquidónico puede ser oxigenado y ciclizado para formar los endoperóxidos cíclicos PGG_2 y PGH_2 . Estas reacciones están catalizadas por la enzima *prostaglandina endoperóxido sintasa* (*prostaglandina sintasa*), ampliamente distribuida en tejidos y células de mamíferos, con excepción de los eritrocitos, los linfocitos T y los túbulos renales. Se encuentra asociada a las membranas, de donde ha sido solubilizada con detergentes y purificada, comprobándose que se trata de un dímero con dos subunidades idénticas de 72.000 daltons de peso molecular cada una de ellas. Esta enzima requiere la presencia de una molécula de hemo para alcanzar su máxima actividad catalítica. Estudios inmunocitoquímicos indican que está presente en la membrana del retículo endoplasmático y en la nuclear, pero no en la plasmática o en la mitocondrial.

Cada una de las subunidades de la *prostaglandina sintasa* posee dos actividades enzimáticas. Una actividad ciclooxigenasa o dioxigenasa (CO), responsable de la incorporación de dos moléculas de oxígeno en el ácido araquidónico, para formar un derivado 15-hidroperoxi-9,11-endoperóxido, denominado PGG_2 , y una actividad hidroxidasa (HP), que transforma este último compuesto en su hidroxil análogo (PGH_2). De forma esquemática estas reacciones son:



Las dos actividades enzimáticas necesitan para alcanzar su efectividad catalítica máxima la presencia de un grupo hemo. Además, para la transformación de PGG_2 en PGH_2 se requiere un donador de electrones. El mecanismo de la reacción, propuesto tras estudios con distintos isótopos radiactivos y espectrometría de masas, implica la ruptura homolítica del H del C_{13} , formándose un radical libre que es atacado por una molécula de O_2 en la posición 11, lo que desencadena una serie de cambios moleculares que conducen a la ciclación de la molécula y la hidroperoxidación en la posición 15 por otra molécula de O_2 , tal como se esquematiza en la figura 27.7.

La actividad de la ciclooxigenasa puede estudiarse independientemente de la actividad de la hidroperoxidasa, utilizando *prostaglandina sintasa* suplementada con mangano-protoporfirina, en lugar de con el grupo hemo. La forma mangano-protoporfirinica de la enzima cataliza la síntesis de PGG_2 , pero no la reducción a PGH_2 . Con este tipo de estudio se ha encontrado que la actividad ciclooxigenasa tiene dos características cinéticas poco corrientes: un periodo de latencia y un proceso catalítico autodestructivo (fig. 27.8). El periodo de latencia es análogo desde el punto de vista cinético a la activación autocatalítica del tripsinógeno, y puede ser eliminado por adición de pequeñas cantidades de distintos hidroperóxidos. La PGG_2 es probablemente el activador natural. Estas observaciones indican que la ciclooxigenasa se automodula, activándose a medida que se forma el hidroperóxido PGG_2 hasta un valor máximo, e inactivándose posiblemente porque se forma en el curso de la reacción alguna especie radical, muy activa, que destruye el sitio activo. La forma en que actúan los hidroperóxidos activadores es por unión al grupo prostético hemo, grupo que no participa en la oxigenación del

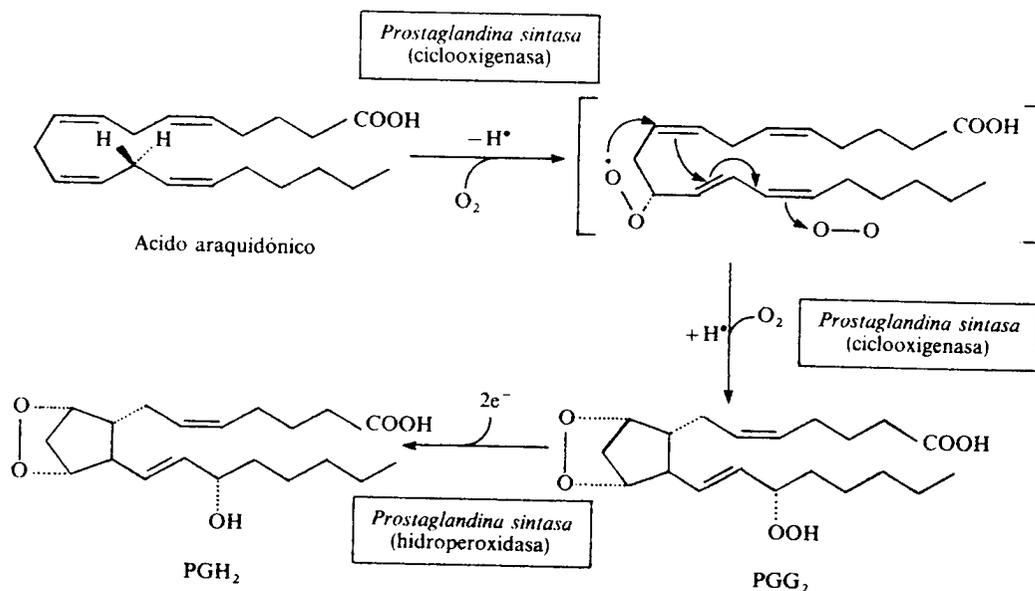


Figura 27.7. Mecanismo de la reacción propuesto para la transformación del ácido araquidónico en PGH_2 .

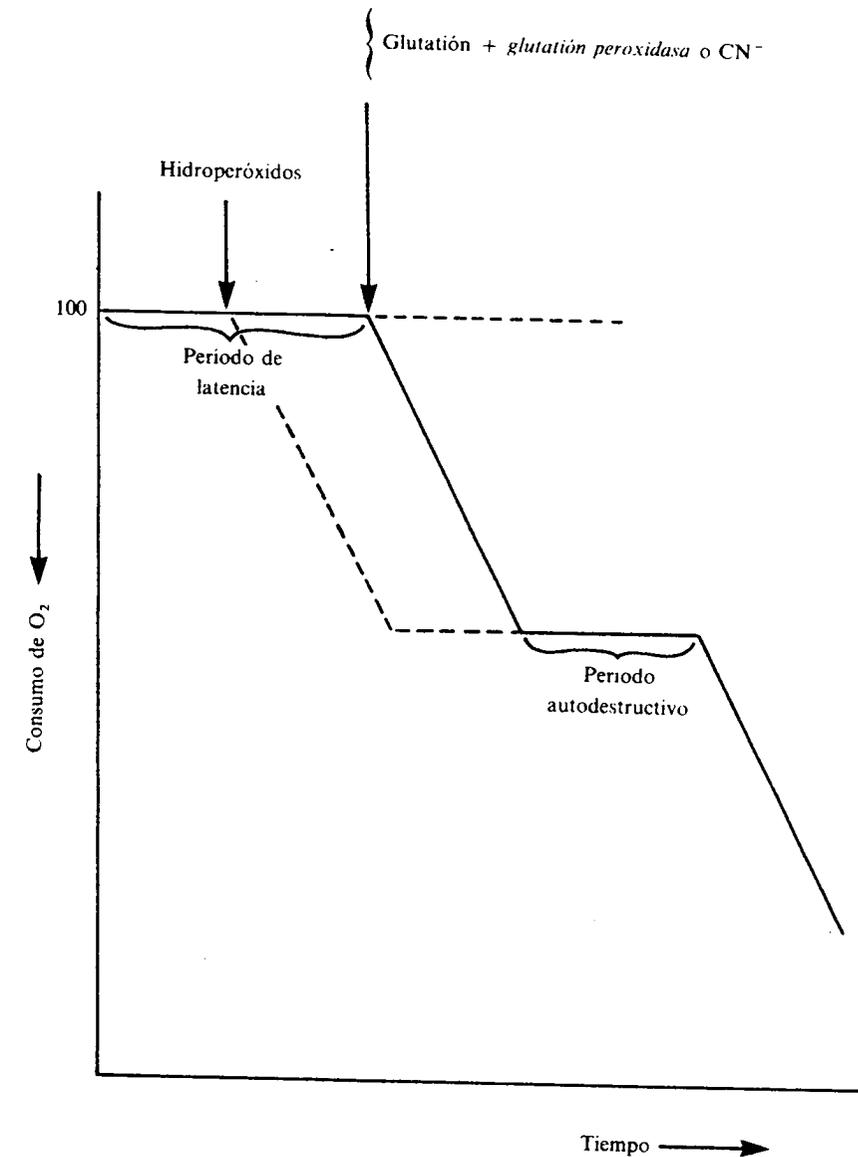


Figura 27.8. Cinética de consumo de oxígeno por el ácido araquidónico en presencia de la actividad ciclooxigenasa.

ácido araquidónico para dar PGG_2 , ya que dicha oxigenación no resulta inactivada por el monóxido de carbono. Sin embargo, sí sería un regulador alostérico de la ciclooxigenasa, ya que se requiere para su activación.

La actividad hidroperoxidasa, presente en la *prostaglandina sintasa*, cataliza la reducción de todos los hidroperóxidos, incluso del agua oxigenada, aunque sus parámetros cinéticos, K_m y $V_{m\acute{a}x}$, son más desfavorables que para el sustrato de la enzima, la PGG_2 . Muchas sustancias pueden servir a dicha actividad como donadores de electrones: guayacol, fenol, triptófano, pero es probable que *in vivo* deriven del NADH y sean canalizados a través del citocromo b_5 .

Los sitios activos de la ciclooxigenasa y de la hidroperoxidasa son entidades

físicas distintas, que utilizan el mismo grupo hemo de manera secuencial. Hemler y Land han propuesto un mecanismo catalítico que se esquematiza en la figura 27.9, en donde una vez formado el producto de la primera reacción, el PGG_2 , éste se separa del sitio activo de la ciclooxigenasa y posteriormente se reduce vía hidropoxidasa.

El estudio de los inhibidores de la actividad ciclooxigenasa ha servido de base para el conocimiento del mecanismo catalítico de dicha actividad enzimática, de la que se han encontrado tres tipos de inhibidores:

1. Los agentes que bloquean la actividad enzimática al reducir los hidroperóxidos activadores o al interrumpir la interacción de dichos activadores con el grupo hemo. Es el caso del ion cianuro (CN^-), y del glutatión en presencia de *glutatión peroxidasa*. Ambos inhibidores prolongan el período de latencia de la ciclooxigenasa, observado al estudiar la cinética de consumo de oxígeno (fig. 27.8).
2. Sustancias de naturaleza antioxidante, tales como el fenol y el α -naftol, que a elevadas concentraciones atrapan radicales libres generados en la catálisis.
3. Distintas sustancias estructuralmente relacionadas con el ácido araquidónico y que compiten con él por la misma localización del sitio activo. En este grupo se incluyen ácidos grasos insaturados de la serie ω -3.

Los ácidos eicosapentaenoicos, ya sean procedentes del ácido linoléico o suministrados en la dieta, tienen un poder terapéutico excelente derivado precisamente de su acción inhibidora de la actividad ciclooxigenasa. También se incluyen dentro de este grupo de inhibidores muchas drogas antiinflamatorias de estructura química no esteroidea y ciertos ácidos grasos acetilénicos análogos del ácido

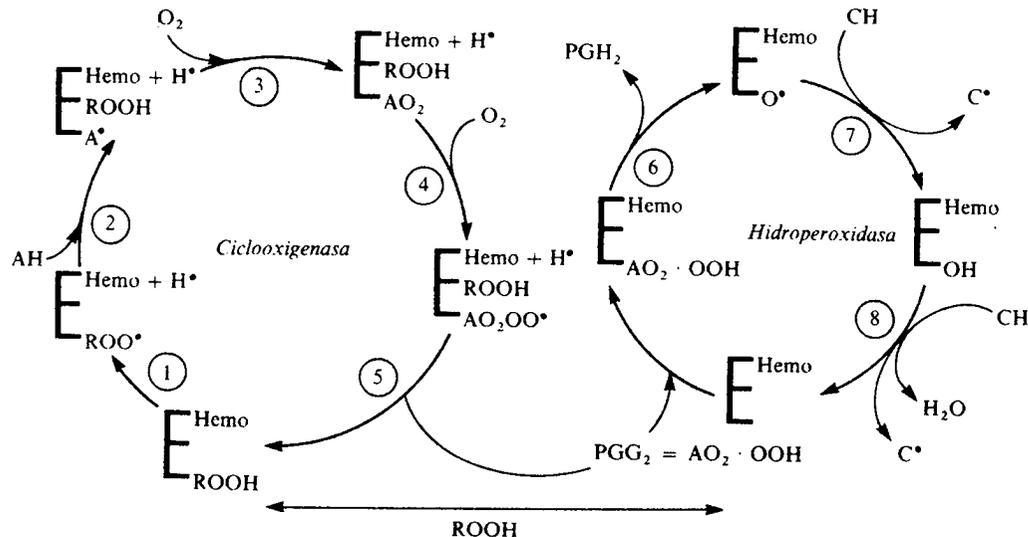


Figura 27.9. Mecanismo catalítico propuesto por Hemler y Land para la *prostaglandina sintasa*. (1) ruptura homolítica del enlace O-H de los hidroperóxidos activadores (ROOH), formándose un radical libre (ROO) que (2) extrae el H de la posición 13 del ácido araquidónico (AH), el nuevo radical que se forma (A) reacciona con O_2 (3) para formar un 11-hidroperoxil radical que después de una serie de cambios moleculares (fig. 27.7) conducen a un radical en el C_{15} ; (4) dicho radical reacciona de nuevo con O_2 para dar PGG_2 , que disocia de la superficie de la enzima y se reduce mediante la actividad hidropoxidasa a PGH_2 (6); las transformaciones (7) están encaminadas a reducir el radical O^\bullet a H_2O mediante un cosustrato (CH) y recuperar así la forma nativa de la enzima (8).

araquidónico, como, por ejemplo, el ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico, que inhibe también la vía lineal.

Los antiinflamatorios no esteroideos son todos inhibidores competitivos de la ciclooxigenasa. Muchas de estas drogas son inhibidores reversibles, aunque algunas producen una inhibición irreversible de la actividad enzimática, entre las que cabe destacar la aspirina y la indometacina. La aspirina acetila un residuo de serina del sitio activo de la ciclooxigenasa, pero como la velocidad de acetilación es más lenta que la acción enzimática de la ciclooxigenasa, antes de la acetilación del sitio activo debe existir un cambio conformacional, responsable, en definitiva, de la acción inhibidora de dicha droga. Los efectos de estos fármacos, y en concreto los de la aspirina, sobre la inflamación, el dolor, la activación plaquetaria, la fiebre y la mucosa gástrica, entre otros, se han explicado como el resultado de la inhibición de la biosíntesis de eicosanoides cíclicos.

Transformación de endoperóxidos

Una característica de la biosíntesis de los eicosanoides es que se trata de una biosíntesis preferencial, en el sentido de que la liberación del ácido araquidónico en un determinado tejido no supone que se formen en él todos sus metabolitos. La mayoría de las células poseen la maquinaria enzimática para desarrollar todo el proceso, pero es frecuente encontrar que una determinada célula elige la biosíntesis de un determinado eicosanoide. Así, mientras que ciertos tejidos, como hígado, pulmón, piel, tracto gastrointestinal, tiroides y glándulas adrenales, son capaces de sintetizar un amplio rango de productos, otros se especializan en la síntesis de algunos. Este es el caso de las células mastoides que fundamentalmente sintetizan PGD_2 ; de las vesículas seminales, que sintetizan PGE_2 ; de las paredes de los vasos, que sintetizan PGI_2 , y de las plaquetas de la sangre, que sintetizan TXA_2 . Algunas de estas transformaciones se esquematizan en la figura 27.10.

Biosíntesis de tromboxanos

La transformación de PGH_2 en tromboxanos se ha descrito en células de distintos tejidos, como plaquetas, bazo, pulmón, mucosa gástrica, riñón, fibroblastos y leucocitos. Esta diversidad de localización sugiere para los tromboxanos una amplia función biológica (fig. 27.10, reacción 1).

La enzima implicada en la formación de TXA_2 es la *tromboxano sintasa*, enzima microsómica y que cataliza no sólo la transformación de PGH_2 en TXA_2 , sino también la formación de dialdehído malónico y un ácido graso hidroxilado de 17 átomos de carbono, el ácido 12-hidroxi-5,8,10-heptatrienoico (HHT), cuyo papel biológico es desconocido. Esta enzima ha sido purificada mediante cromatografía de afinidad; posee propiedades ópticas similares a las de la hemoproteína del citocromo P_{450} , lo cual indica una similitud estructural entre ambas proteínas.

Como inhibidores de la *tromboxano sintasa* se encuentran sustancias de naturaleza imidazólica, ciertos derivados de la piridina y los 12-HPETE, pero no los antiinflamatorios no esteroideos. Debido al potente poder de agregación plaquetaria de los tromboxanos, la búsqueda de inhibidores específicos de su síntesis es hoy en día el objetivo primordial de investigación de muchos laboratorios.

El TXA_2 tiene una vida media muy corta (30-40 segundos), ya que su anillo de oxano se hidroliza espontáneamente al hemiacetal TXB_2 . Sin embargo, sólo el TXA_2 tiene la actividad biológica de facilitar la contracción de la musculatura vascular e inducir la agregación plaquetaria.

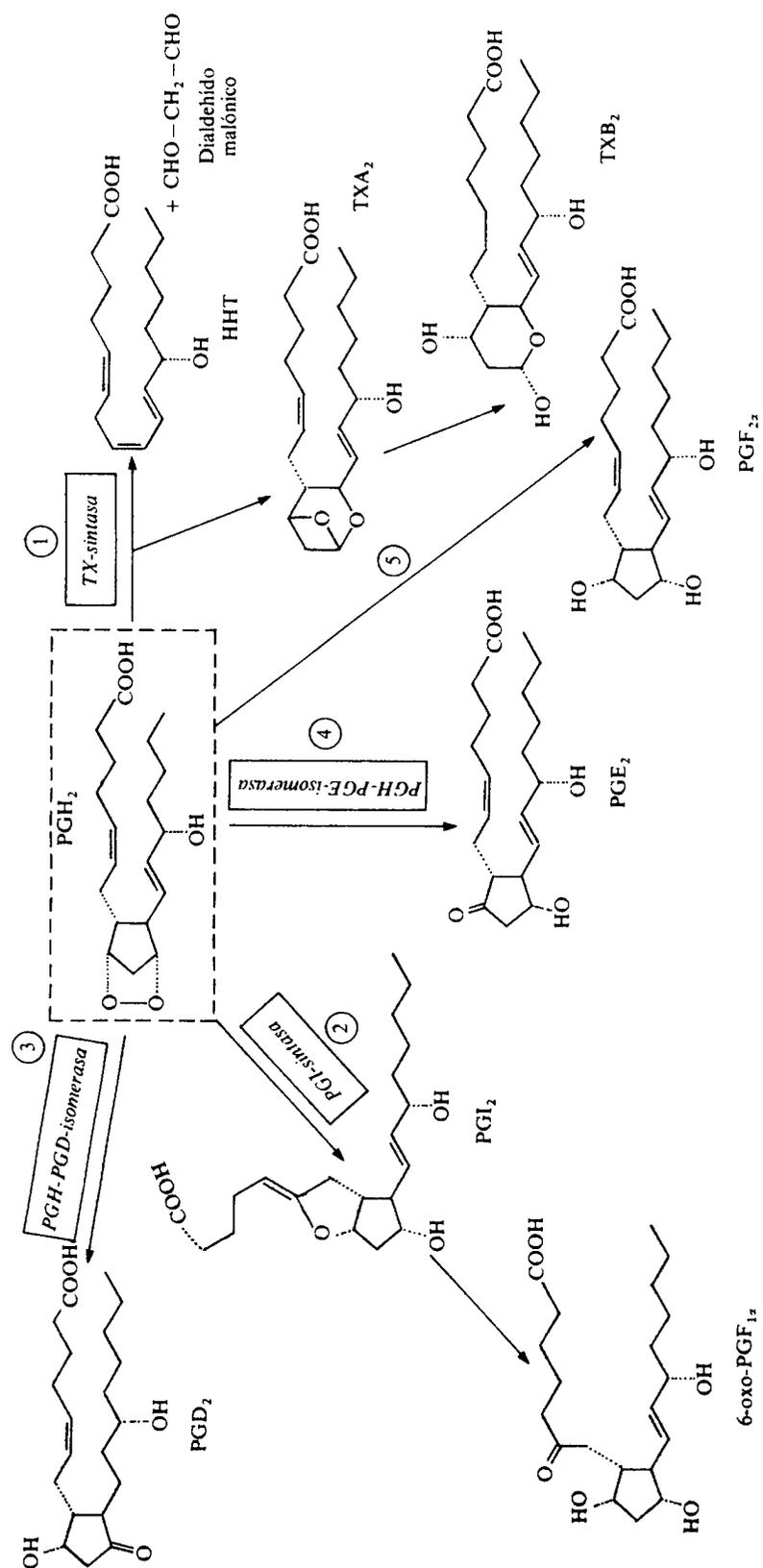


Figura 27.10. Transformaciones del endoperóxido PGH_2 en prostaglandinas y tromboxanos. La numeración corresponde con la del texto.

Biosíntesis de prostaciclina

Otra transformación muy estudiada de PGH_2 es la que ocurre en el endotelio vascular para formar la prostaciclina (PGI_2), sustancia con un alto potencial antiagregante y vasodilatador, que se hidroliza espontáneamente a 6-oxo- $PGF_{1\alpha}$, derivado funcionalmente inactivo (fig. 27.10, reacción 2).

Dicha transformación está catalizada por la *prostaciclina sintasa*, que ha sido purificada por cromatografía de afinidad usando anticuerpos monoclonales inmovilizados. Estudios de inmunofluorescencia indican que la enzima está localizada en las membranas plasmática y nuclear de una gran variedad de células musculares. La subunidad molecular tiene un peso de 50.000 daltons y se autoinactiva durante la catálisis. Las propiedades ópticas de la enzima purificada sugieren que puede ser una hemoproteína del tipo del citocromo P_{450} como la *tromboxano sintasa*. Se inactiva por una variedad de hidroperóxidos lipídicos, proceso que se evita parcialmente utilizando atrapadores de radicales.

Biosíntesis de prostaglandina D_2

La isomerización de PGH_2 a PGD_2 se realiza en sangre y es facilitada por la albúmina sérica. Se ha purificado también una actividad enzimática responsable de dicha transformación en citosol de cerebro y en bazo. La isoenzima de cerebro tiene un peso molecular de 80.000-85.000 daltons y la de bazo de 26.000-34.000 daltons, y requiere la presencia de glutatión. Ambas isoenzimas tienen una actividad específica de dos órdenes de magnitud superior a la de la albúmina y se inactivan por reactivos que se unen a los grupos sulfhidrilos ($-SH$), lo que indica que dichos grupos enzimáticos son importantes para la catálisis (fig. 27.10, reacción 3).

Como se ha señalado antes, la PGD_2 es el producto principal de la vía cíclica del metabolismo del ácido araquidónico en células mastoides de rata y humanos. De hecho, en pacientes con *mastocitosis* hay una sobreproducción de PGD_2 , y ello da lugar a la aparición en orina de grandes cantidades de algunos de sus metabolitos. También hay altas concentraciones de la enzima en el sistema nervioso central, lo que indica que la PGD_2 puede tener una función neuromoduladora.

Biosíntesis de prostaglandina E_2

La isomerización de PGH_2 a PGE_2 está catalizada por una enzima microsómica, la *PGH_2 - PGE isomerasa*, que ha sido purificada de las glándulas vesiculares de oveja. Recientemente se ha encontrado que la PGE_2 es el metabolito del ácido araquidónico predominante en el riñón de muchas especies animales, con un papel modulador de la liberación de renina. También se forma en los macrófagos, y es posible que medie algunas de las acciones de éstos sobre las células vecinas, así como que influya en su propio estado funcional (fig. 27.10, reacción 4).

Otras transformaciones

La transformación de PGH_2 en $PGF_{2\alpha}$ depende de la presencia de agentes reductores, pero no se ha encontrado la existencia de ninguna reductasa responsable de este proceso (fig. 27.10, reacción 5).

Se cree que las prostaglandinas PGA_2 , PGB_2 y PGC_2 no tienen un papel

fisiológico, y que pueden ser formadas como «artefactos» durante la extracción y el aislamiento de la PGE_2 .

VIA LINEAL

La *lipoxigenasa* cataliza la hidroperoxidación de ácidos grasos que contienen en su molécula un grupo cis, cis-1,4-pentadieno. Las teorías sobre el mecanismo de acción de la *lipoxigenasa* están basadas en el proceso de autooxidación de ácidos grasos, que ocurre espontáneamente en presencia de oxígeno, luz e iones metálicos. Este proceso se resume en la figura 27.11.a; se inicia por eliminación de un radical hidrógeno de un metileno del grupo cis, cis-1,4-pentadieno, formándose una estructura activa que es susceptible de ser atacada por una molécula de O_2 . Tras la incorporación de un radical hidrógeno, se forma un hidroperóxido, que contiene un doble enlace cis y otro trans, en forma de dieno conjugado, y que puede ser reconocido porque absorbe luz a 240 nm. El ácido araquidónico contiene tres regiones en su molécula de naturaleza cis, cis-1,4-pentadieno (fig. 27.11.b). En un proceso de autooxidación inespecífica estas tres regiones darían lugar a 6 hidroperóxidos (fig. 27.11.c), cada uno con sus dos posibles enantiómeros (R y S). La oxidación de dicho ácido graso por la *lipoxigenasa* conduce a la hidroperoxidación de una determinada posición y se forma sólo un enantiómero.

Las primeras lipoxigenasas descritas fueron las de plantas en 1930, y hasta 1974 no se describieron en animales. Un hecho característico de muchas de las lipoxigenasas vegetales es que utilizan como sustrato el ácido linoleico, y han servido para estudiar el mecanismo de acción de esta enzima. Actualmente se han identificado varios tipos de lipoxigenasas animales, pero sólo tienen interés biológico los productos de la *12-lipoxigenasa*, *15-lipoxigenasa* y *5-lipoxigenasa*.

12-lipoxigenasa

La primera lipoxigenasa animal fue aislada de plaquetas y, a diferencia de las lipoxigenasas vegetales, utiliza el ácido araquidónico como sustrato preferente. Su principal producto es el 12-hidroxi-eicosatetraenoico (12-HETE) (fig. 27.12). La actividad *12-lipoxigenasa* de plaquetas está presente tanto en la fracción citosólica como en la membrana. No se conocen requerimientos de cofactores para esta enzima, siendo totalmente activa en ausencia del ion calcio, lo cual la diferencia de la *5-lipoxigenasa*.

La reducción del 12-hidroperoxi-eicosatetraenoico (12-HPETE) a su análogo 12-hidroxiado (12-HETE) se ha atribuido a una actividad peroxidásica asociada con la *12-lipoxigenasa*, que sólo se ha encontrado en plaquetas humanas. Recientemente se ha demostrado que una *glutathion peroxidasa*, que requiere selenio, representa un importante papel en la reducción del 12-HPETE a 12-HETE.

No se conoce bien el papel biológico de los productos de la *12-lipoxigenasa* en plaquetas, pero se ha demostrado que el 12-HPETE es un inhibidor de la agregación plaquetaria, y que pacientes con desórdenes mieloproliferativos, que carecen de dicha actividad, tienen una alta incidencia de procesos hemorrágicos.

15-lipoxigenasa

La *15-lipoxigenasa* ha sido purificada hace poco, a partir de neutrófilos y de reticulocitos de conejo. Cataliza la formación de 15-HPETE que, por una descom-

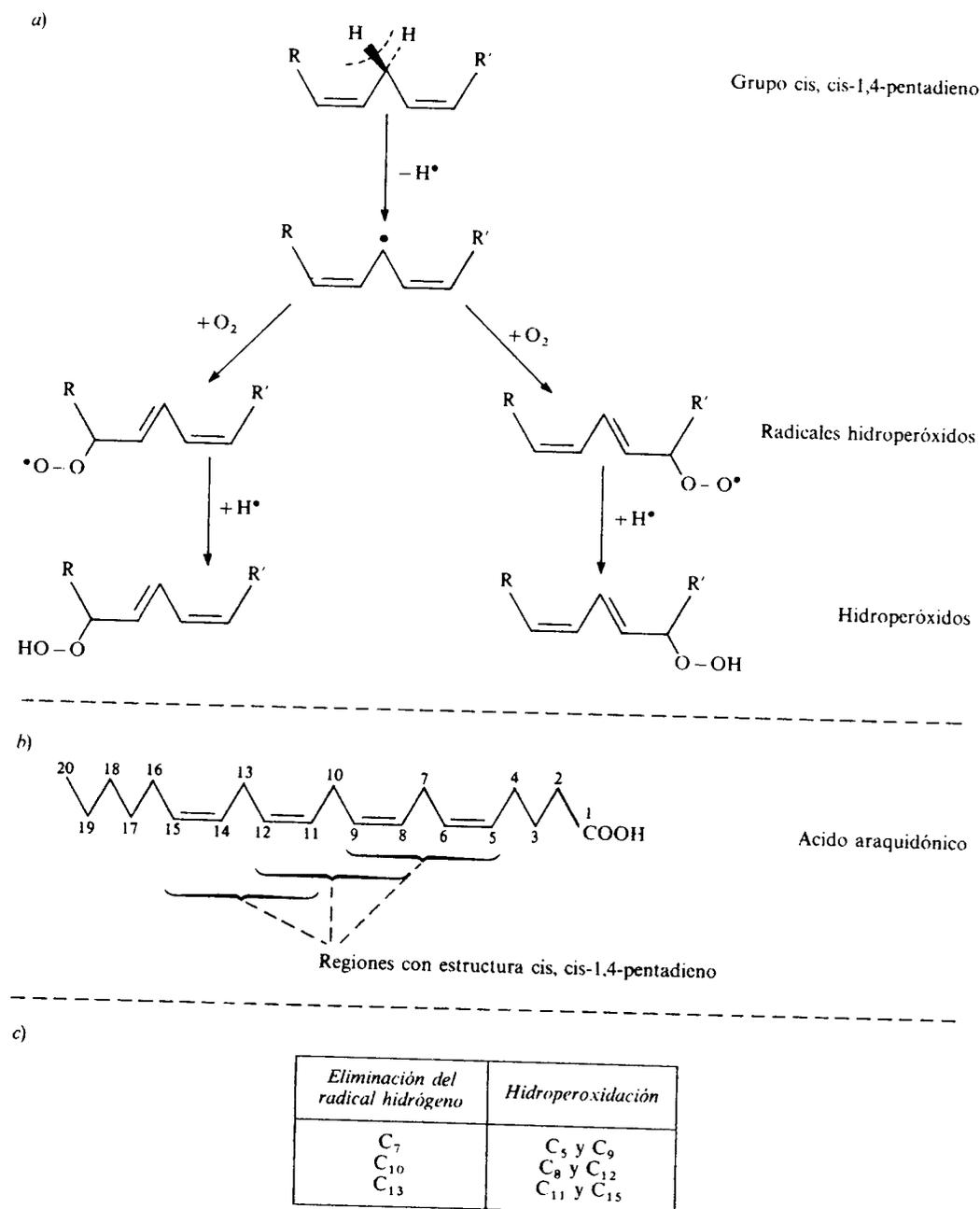


Figura 27.11. a) Mecanismo de acción de las lipoxigenasas. b) Regiones de la molécula del ácido araquidónico que son cis, cis-1,4-pentadieno. c) Hidroperóxidos que se pueden obtener del ácido araquidónico.

posición no enzimática, se transforma en el derivado 15-HETE (fig. 27.12). Tanto el 15-HPETE como el 15-HETE pueden ser oxigenados por la *5-lipoxigenasa*.

Entre las acciones biológicas de los productos de la *15-lipoxigenasa* se encuentran las derivadas de su efecto inhibitor sobre las actividades 5 y 12-lipoxigenasas, por lo que se ha sugerido que el producto final de esta vía, el 15-HETE, participa

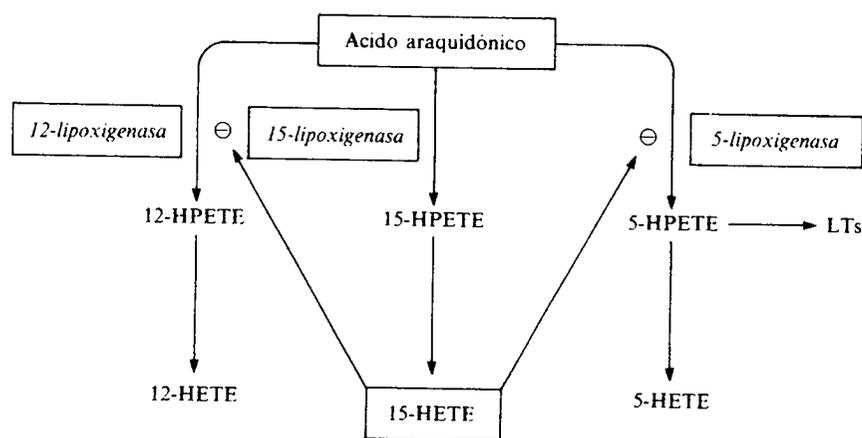


Figura 27.12. Principales transformaciones de la vía lineal del metabolismo del ácido araquidónico.

en un mecanismo complejo de regulación de la vía lineal del metabolismo del ácido araquidónico.

5-lipoxigenasa y biosíntesis de leucotrienos

La 5-lipoxigenasa cataliza la formación de un grupo de compuestos muy activos biológicamente, denominados leucotrienos. Se ha encontrado actividad 5-lipoxigenasa en determinadas células y tejidos: neutrófilos, eosinófilos, mastocitos, queratinocitos, pulmón, bazo, cerebro y corazón.

Como se indica en la figura 27.13, el ácido araquidónico es hidropoxidado en la posición 5 por la 5-lipoxigenasa, formándose 5-HPETE. El LTA_4 se forma por pérdida de agua entre el hidrógeno del C_{10} y el hidroxilo del grupo hidropérido. Este compuesto es de naturaleza lábil y se hidroliza enzimáticamente a LTB_4 . El LTA_4 puede también convertirse en LTC_4 por adición de glutatión al C_6 mediante una glutatión transferasa, análoga a las enzimas detoxificantes de xenobióticos. La eliminación de un resto de ácido glutámico de LTC_4 mediante la γ -glutamil transpeptidasa conduce al LTD_4 . La pérdida posterior de un residuo de glicocola mediante una peptidasa conduce a la formación de LTE_4 . La acción de reincorporación de un residuo de ácido glutámico sobre LTE_4 causa la formación de LTF_4 por reincorporación de un residuo de ácido glutámico; sin embargo, no se ha demostrado la formación de LTF_4 en tejidos y células.

La 5-lipoxigenasa, a diferencia de las otras lipoxigenasas animales conocidas y del resto de las enzimas implicadas en la biosíntesis de leucotrienos, requiere calcio para su actividad.

La 5-lipoxigenasa, la deshidrasa y la leucotrieno A hidrolasa (LTA -hidrolasa) son enzimas solubles, mientras que la glutatión transferasa, la γ -glutamil transpeptidasa y la dipeptidasa son enzimas particuladas. Esta singular localización de las enzimas responsables de la formación de los leucotrienos difiere de las enzimas microsómicas responsables de la síntesis de PGs y TXs comentadas antes, y muestra que, dentro de la vía de la 5-lipoxigenasa, hay diferente localización subcelular para la síntesis de LTB_4 y para la de los peptidoleucotrienos. Este hecho es paralelo a las distintas propiedades biológicas de ambos tipos de leucotrienos. Así, el LTB_4 es un potente agente quimiotáctico de los leucocitos, mien-

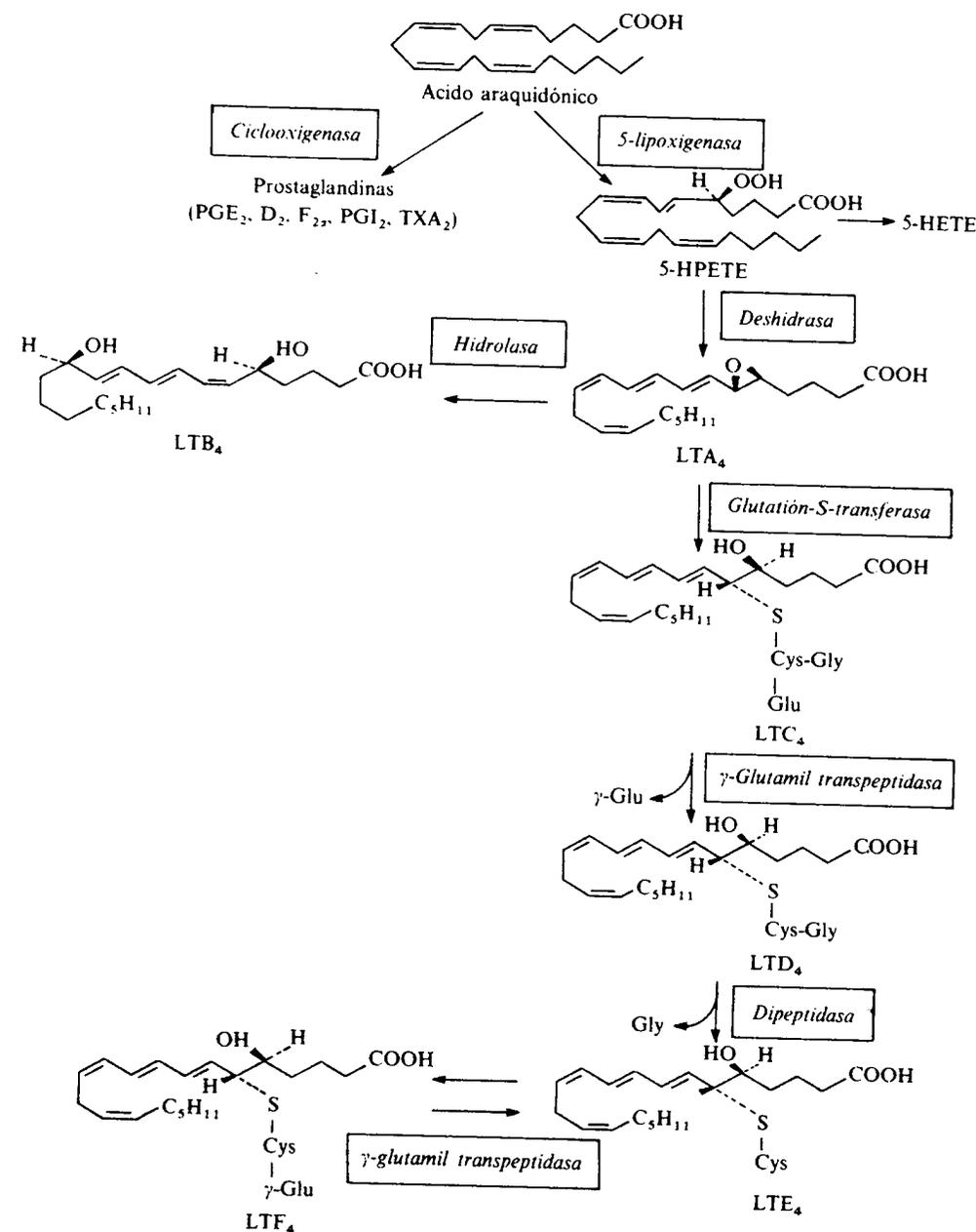


Figura 27.13. Biosíntesis de leucotrienos.

tras que los peptidil-leucotrienos muestran otro tipo de acciones, tal como el aumento de la permeabilidad vascular, y la constricción de arterias y bronquios. Un resumen de las principales acciones biológicas de los leucotrienos se muestra en la tabla 27.2.

Los eritrocitos y el plasma humanos no tienen la actividad 5-lipoxigenasa, pero sí una hidrolasa citosólica responsable de convertir el LTA_4 en LTB_4 . Este hecho indica que el LTA_4 puede salir de los leucocitos y, una vez en plasma o en eritrocitos, transformarse en el potente agente quimiotáctico LTB_4 .

Tabla 27.2

PRINCIPALES ACCIONES BIOLÓGICAS DE LOS LEUCOTRIENOS

Dihidroxiácido (LTB_4)	Peptidil-leucotrienos (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4 , LTF_4)
Agregación de leucocitos polimorfonucleares	Contracción de músculo liso
Quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares	Contracción de bronquiolos
Quimioquinesis de leucocitos polimorfonucleares	Secreción de mucus
Exudación de plasma	Formación de edema
Estimulación de fosfolipasa A_2	Vasoconstrictor
	Constricción de la arteria coronaria
	Estimulación de fosfolipasa A_2

Catabolismo de eicosanoides

En general, los eicosanoides tienen una vida media muy corta. Ya hemos visto incluso ejemplos, como TXA_2 y PGI_2 , que se inactivan mediante reacciones no enzimáticas, transformándose, respectivamente, en TXB_2 y 6-oxo- $PGF_{1\alpha}$. Existen además otros mecanismos muy eficaces para catabolizar e inactivar biológicamente los metabolitos del ácido araquidónico, que se describen a continuación.

Catabolismo de las prostaglandinas y los tromboxanos

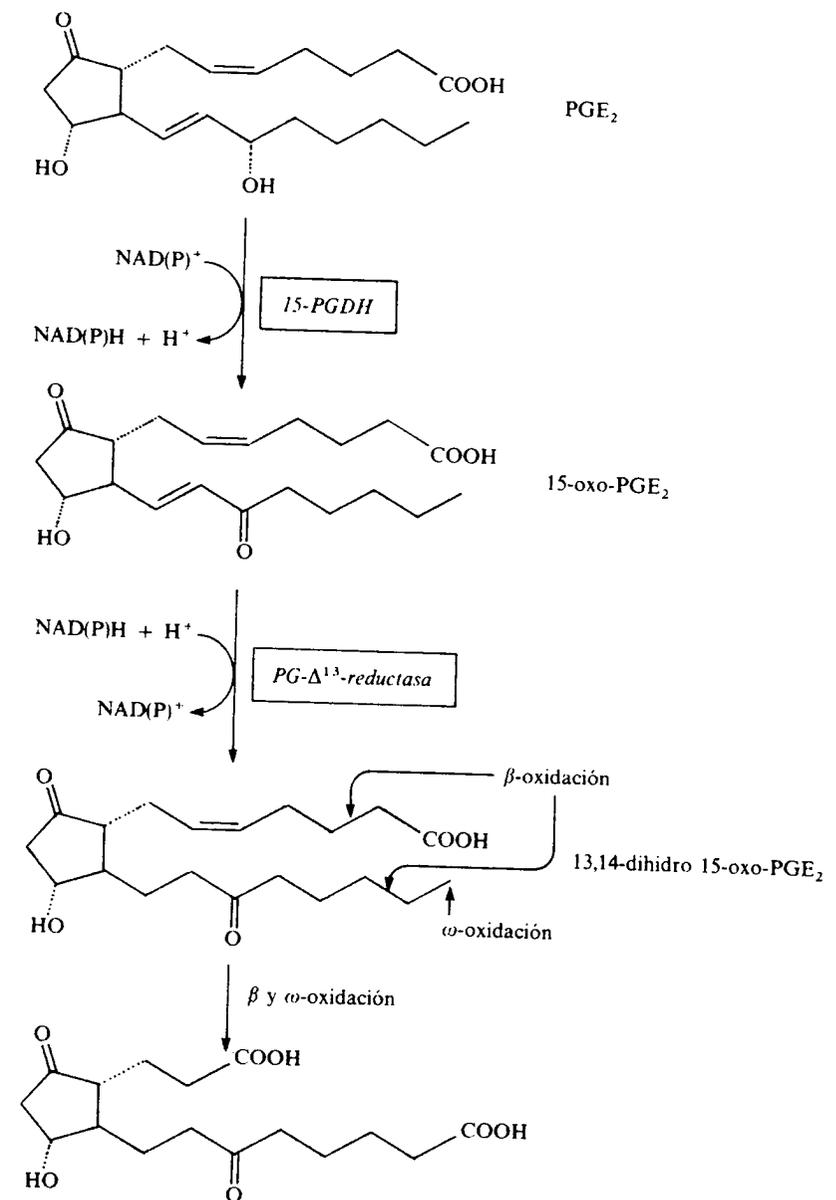
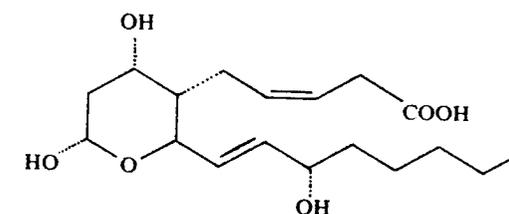
En el catabolismo de las prostaglandinas (fig. 27.14) cabe distinguir tres tipos de mecanismos enzimáticos:

1. Oxidación del grupo 15-OH de las PGs al 15-oxo-derivado mediante la *prostaglandina-15-OH-deshidrogenasa* ($15-PGDH$).
2. Reducción del doble enlace de la posición 13 por la *prostaglandina- Δ^{13} -reductasa* ($PG-\Delta^{13}$ -reductasa).
3. β y ω -oxidación de las cadenas laterales de los 13,14-dihidro, 15-oxo derivados, formados en las dos reacciones anteriores.

Las enzimas específicas del catabolismo de PG ($15-PGDH$ y $PG-\Delta^{13}$ -reductasa) están ampliamente distribuidas en el organismo: bazo, riñón, tejido adiposo, intestino, testículos, hígado y pulmón. Aproximadamente el 95 por 100 de las PGs de la serie E y F, pero no de la I y D, se metabolizan tras su paso por el pulmón. La mucosa gástrica no muestra esta selectividad, por lo que todas las PGs se inactivan al atravesarla hacia la circulación portal. Las enzimas responsables de la β y ω -oxidación de los ácidos grasos se encuentran fundamentalmente en el hígado.

Las PGs pierden la mayor parte de su actividad biológica en las dos primeras reacciones que son relativamente rápidas; sin embargo, la β y ω -oxidación son procesos más lentos y conducen a la formación de ácidos dicarboxílicos polares que se excretan en la orina. Un esquema de la degradación de la PGE_2 se muestra en la figura 27.14.

El TXB_2 , producto inactivo del TXA_2 , puede metabolizarse por acción de la $15-PGDH$ y $PG-\Delta^{13}$ -reductasa. Se han encontrado una variedad de metabolitos que se excretan en la orina; el más abundante es el 2,3-dinor- TXB_2 (fig. 27.15).

Figura 27.14. Catabolismo de la PGE_2 .Figura 27.15. Estructura del 2,3-dinor- TXB_2 .

Catabolismo de los leucotrienos

Los peptidil-leucotrienos son metabolizados a productos más polares antes de su excreción, pero hasta la fecha no se conoce la naturaleza de tales reacciones. Se sabe que se metabolizan en el hígado y que sus metabolitos son parcialmente excretados por la bilis.

Por el contrario, en los leucocitos polimorfonucleares el LTB_4 se convierte por ω -oxidación en un 20-hidroxi- LTB_4 (fig. 27.16). Los productos de la ω -oxidación son degradados por β -oxidación en el hígado.

MECANISMO DE ACCION DE LOS EICOSANOIDES Y SUS IMPLICACIONES CLINICAS

Los eicosanoides formados en respuesta a diferentes estímulos específicos de la membrana salen de la célula y, a pesar de su naturaleza ácida-lipídica, se unen a

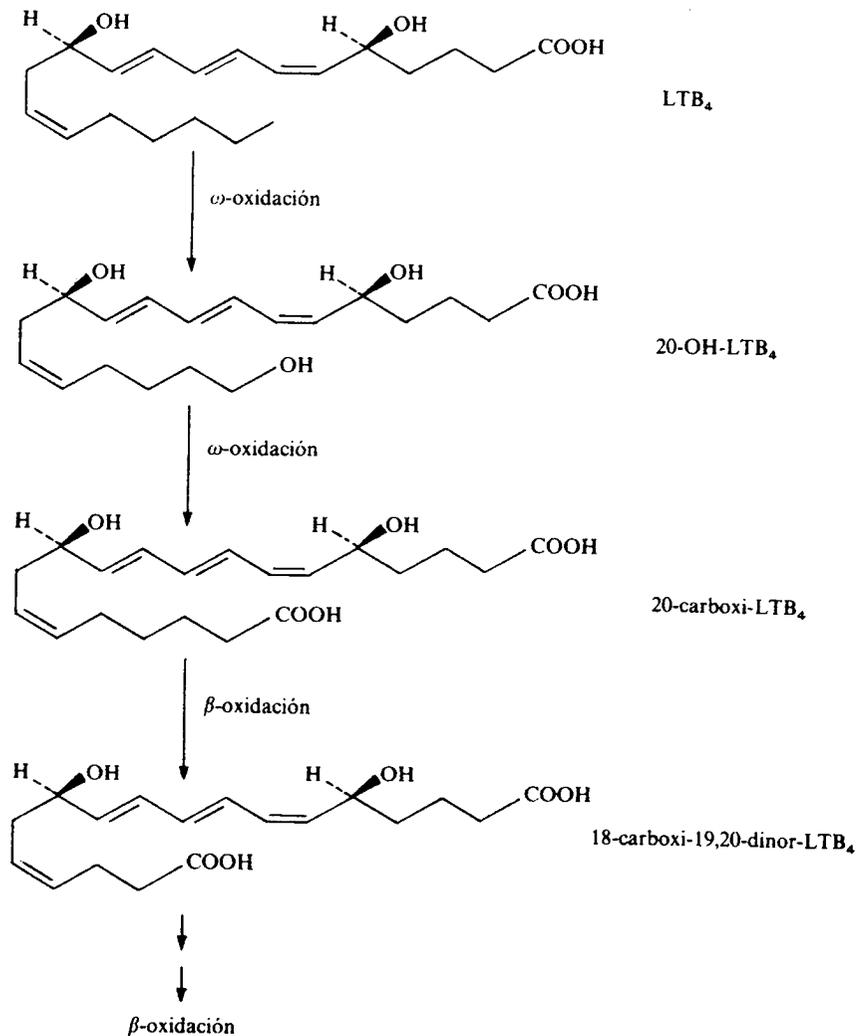


Figura 27.16. Catabolismo del LTB_4 .

receptores específicos de la membrana de otras células próximas o de su propia célula, para así ejercer sus acciones biológicas. Tales acciones se asemejan a las de neurotransmisores y hormonas, ya que están mediadas por segundos mensajeros: AMPc, GMPc, Ca^{2+} e inosítoles trifosfato.

En general, podemos decir que los eicosanoides intervienen en el control de las interacciones intra e intercelulares (fig. 27.17). El papel concreto que cada tipo de eicosanoide va a desempeñar depende no sólo de su naturaleza química, sino también del tipo de tejido y de las condiciones fisiológicas. Una idea de lo problemático que resulta asignar una función biológica a un eicosanoide lo proporciona la PGE_2 , que en corteza adrenal estimula la formación de esteroides activando la *adenilato ciclasa*; en tejido adiposo muestra una acción antilipolítica mediada por la inhibición de la producción de AMPc, y en útero estimula la contracción, incrementando la concentración intracelular de calcio.

Un ejemplo de cómo los distintos metabolitos del ácido araquidónico, a través de diversas interacciones intercelulares, pueden contribuir al control de mecanismos fisiológicos tales como la hemostasis sanguínea, se ilustra en la figura 27.18. Como ya se ha indicado en el apartado de biosíntesis, en el endotelio de los vasos, la síntesis preferente del metabolismo del ácido araquidónico es la que conduce a PGI_2 . Esta sustancia produce vasodilatación e impide la formación de trombos uniéndose a receptores específicos de plaquetas, que están acoplados a la *adenilato*

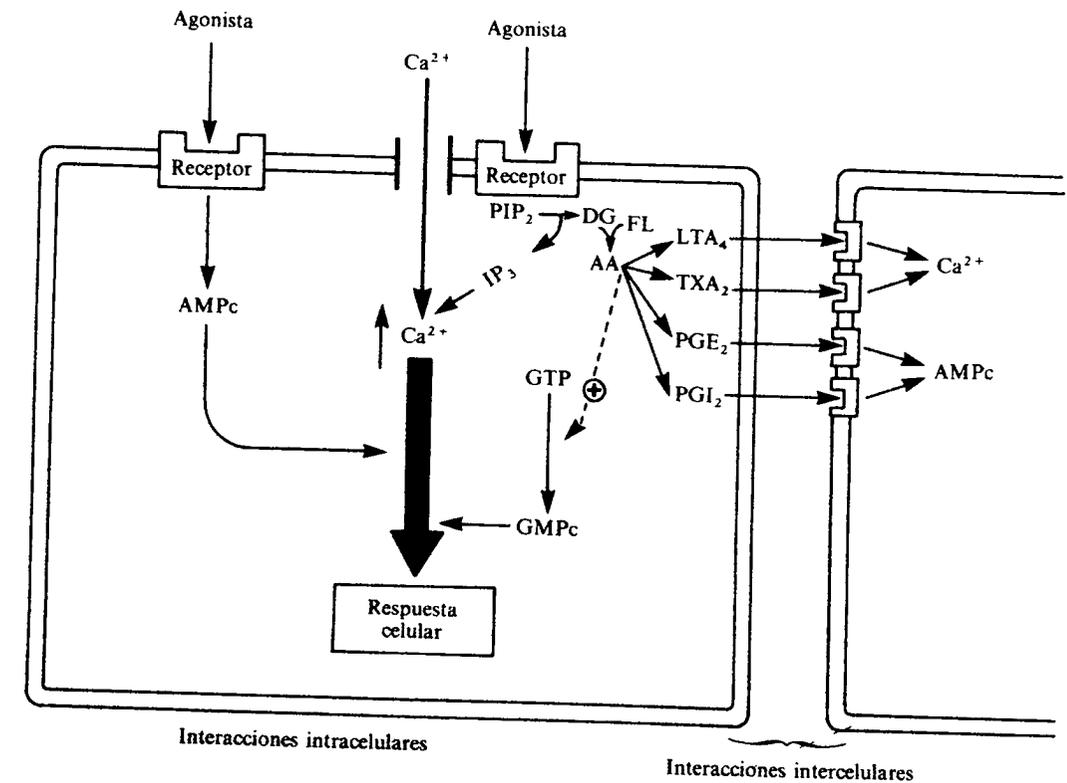


Figura 27.17. Implicación de los eicosanoides en las distintas interacciones celulares. La unión de diferentes agonistas con receptores específicos de la membrana induce la formación de segundos mensajeros (AMPc, Ca^{2+} , GMPc, DG) que median la respuesta biológica final. Los eicosanoides contribuyen a la respuesta intracelular y también, a través de receptores específicos de la membrana, a la comunicación intercelular.

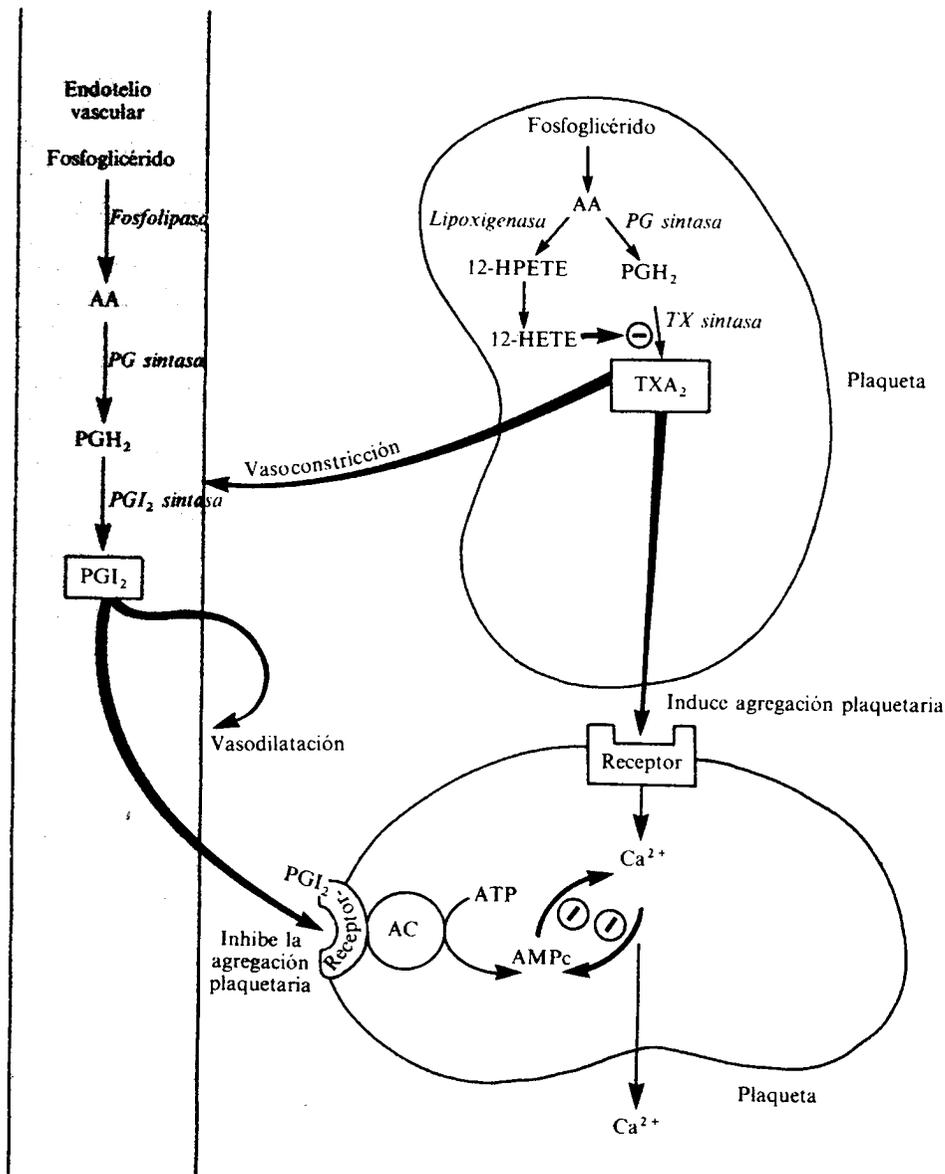


Figura 27.18. Regulación de la hemostasis sanguínea por los eicosanoides.

ciclasa. La activación de esta última da lugar a un aumento de los niveles de AMPc en el interior celular. En plaquetas, la vía principal de la *prostaglandina sintasa* es la síntesis de TXA₂, y este compuesto es el antagonista biológico de la PGI₂, es decir, muestra efectos vasoconstrictores y facilita la formación de trombos. Estos efectos están asociados a la liberación de Ca²⁺ de las plaquetas, como respuesta a la unión del TXA₂ a receptores ligados a la hidrólisis de los fosfoinosítidos de la membrana. Ambas rutas de transmisión de señales, la ligada a la producción de AMPc y la relacionada con los inosítoles fosfato/diacilglicerol-proteína quinasa C, están reguladas en las plaquetas de forma contrapuesta, de

manera que se observa una disminución progresiva de la concentración de calcio intracelular al aumentar la acumulación de AMPc y viceversa.

La regulación de la hemostasis sanguínea va a depender del equilibrio entre la síntesis de PGI₂ y de TXA₂. Varias enfermedades se han relacionado con el desequilibrio de estos dos eicosanoides, entre las que destacamos los procesos tromboembólicos (trombosis arterial y venosa e infarto de miocardio) y la aterosclerosis, caracterizada esta última por un aumento de los depósitos de colesterol en las paredes de los vasos. En las lesiones ateromatosas en humanos existe una disminución en la biosíntesis de PGI₂ y ello es responsable de una activación plaquetaria con aumento en la síntesis de TXA₂, lo que predispone a las enfermedades tromboembólicas e incluso al infarto de miocardio. Por otro lado, pacientes con diabetes mellitus desarrollan complicaciones microvasculares, con alta predisposición a aterosclerosis y trombosis. En estos enfermos también se ha descrito una descompensación entre el metabolismo del ácido araquidónico de las plaquetas y el endotelio vascular, con disminución de la actividad de la *prostaciclina sintasa* (posiblemente debido a su inhibición por la acumulación de peróxidos lipídicos). Por el contrario, la biosíntesis de tromboxanos está aumentada en animales y pacientes diabéticos. Esta descompensación en el metabolismo del ácido araquidónico puede ser la responsable de las complicaciones vasculares de los diabéticos. Esta hipótesis se ve reforzada por el hecho de que la insulina restaura dicho desequilibrio en animales diabéticos, a la vez que mejora las lesiones vasculares en el hombre.

Así pues, los eicosanoides, sintetizados prácticamente por todas las células del organismo, están implicados en los mecanismos de control celular. Además, en la actualidad tienen una enorme repercusión clínica, puesto que participan en la patogénesis de muchos procesos (asma, alergia, inflamación, procesos tromboembólicos). Otro interesante campo de actuación de los eicosanoides es la terapéutica farmacológica; ahora se utilizan estas sustancias directamente, como en el caso de la prostaciclina (agente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria), o bien se emplean antagonistas de su acción, que bloquean la unión del eicosanoide a sus receptores específicos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Aktories, K., y Jacobs, K. M.: «Regulation of platelet cyclic AMP formation», en *The Platelets: Physiology and Pharmacology*, Academic Press, págs. 271-287, 1985.
- Baker, R. R.: «The eicosanoids: A historical overview», *Clin. Biochem.*, 23:455-458, 1990.
- Berridge, M.: «Cellular control through interaction between cyclic nucleotide and calcium», *Adv. Cyc. Nucl. Prot. Phos. Res.*, 17:329-335, 1984.
- Breuer, O., y Hammarström, S.: «Enzymatic conversion of leucotriene B₄ to 6-trans-leukotriene B₄ by rat kidney homogenates», *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 142:667-673, 1987.
- Hammarström, S.: «Leukotrienes», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:355-357, 1983.
- Johns, M.; Carey, F., y McMillan, R. M.: «Alternative pathways of arachidonate metabolism: prostaglandins, thromboxane and leukotrienes», en *Essays in Biochemistry*, 19:41-141, 1983.
- Konturek, S. J., y Pawlik, W.: «Physiology and pharmacology of prostaglandins», en *Digestive Diseases and Science*, 31:6S-19S, 1986.
- Needleman, P.; Turk, J.; Janschik, B. A.; Morrison, A. R., y Lefkowitz, J. B.: «Arachidonic acid metabolism», *Ann. Rev. Biochem.*, 55:69-102, 1986.
- Pace-Asciak, C. R., y Smith, W. L.: «Enzymes in the biosynthesis and catabolism of the eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes and hydroxy fatty acids», en *The Enzymes*, P. A. Boyer, editor, Academic Press, vol. XVI, págs. 543-603, 1983.

- Pomerantz, K. B.; Fleisher, L. N.; Tall, A. R., y Cannon, P. J.: «Enrichment of endothelial cell arachidonate by lipid transfer from high density lipoproteins: relationship to prostaglandin I₂ synthesis», *J. Lip. Res.*, 26:1269-1276, 1985.
- Piper, P. J.: «Formation and actions of leukotrienes», *Physiol. Rev.*, 64:745-761, 1984.
- Simmer, T., y Peskar, B. A.: «Biosynthesis and metabolism of eicosanoids in man», en *Eicosanoid Metabolism*, págs. 68-78, 1985.
- Sirois, P.: «Pharmacology of the leukotrienes», *Adv. Lip. Res.*, 24:79-101, 1985.
- Smith, W. L.: «The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action», *Biochem. J.*, 259:315-324, 1989.

Estructura, metabolismo y función de las vitaminas liposolubles

FRANCISCO CASTILLO y JACOBO CÁRDENAS

En 1909, Stepp descubrió un factor liposoluble necesario para el crecimiento de los animales, al que más tarde (1913 y 1916) McCollum y Osborne localizaron en el aceite de hígado de bacalao y al que se denominó *vitamina A*. Entre 1930 y 1932, Karrer determinó la estructura de esta vitamina así como la de su precursor el β -caroteno, molécula liposoluble ya relacionada con la vitamina A por Steenbock en 1919.

Por otro lado, hacia 1870 se había descubierto que el aceite de hígado de bacalao prevenía el raquitismo, enfermedad del sistema óseo que en 1890 se asoció a una deficiente irradiación solar de los animales afectados. El factor antirraquitismo presente en el aceite de hígado de bacalao fue identificado como una segunda vitamina liposoluble la *vitamina D*. En 1923, Steenbock y Hers descubrieron que la irradiación de ciertos alimentos les confería actividad antirraquitismo y posteriormente se identificó la levadura como una importante fuente de provitamina D.

Un nuevo factor liposoluble, que prevenía la esterilidad en las ratas fue descubierto en California por Evans en 1922. Este factor fue localizado (Evans, Althausen y Burr, 1927) en la fracción insaponificable del aceite del germen de trigo; se observó que dicha fracción impedía la reabsorción del feto inducida en las ratas por una dieta carencial. El factor se denominó *vitamina E* o *tocoferol* y su estructura fue determinada por síntesis en tres laboratorios diferentes (Karrer, Todd, Bergel y John) en 1938.

En 1929, Dam descubrió en la dieta de los pollos una sustancia liposoluble necesaria para la coagulación de la sangre, a la que se llamó *vitamina K* (del alemán Koagulation). En 1939, se aislaron dos factores con esta actividad: uno de la alfalfa, por Doisy, Dam y Karrer, denominado *filoquinona* o *vitamina K₁*, y otro del pescado en putrefacción, por Doisy, denominado *menaquinona* o *vitamina K₂*.

Todas las vitaminas liposolubles derivan del isopreno, unidad estructural de 5 carbonos que es la base de la estructura de los lípidos insaponificables. Las vitaminas A y D son derivados isoprenicos puros, mientras que las vitaminas E y K poseen una cadena isoprenoide unida a un anillo de benzohidroquinona y metilnaftoquinona, respectivamente.

La tabla 28.1 muestra algunos aspectos generales de las vitaminas liposolubles y la tabla 28.2 algunas de sus propiedades fisicoquímicas. Estas vitaminas son insolubles en agua, moderadamente solubles en alcohol y ligeramente solubles en

Tabla 28.1
VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Nombre de la vitamina	Nombre genérico	Compuesto químico	Fuente natural	Historia*	Deficiencia	Función	Toxicidad
Vitamina A	Retinol	Retinol (A ₁) Retinal Ac. retinoico 3-Deshidrorretinal (A ₂)	Acete de hígado de pescado, mantequilla, yema de huevo, vegetales y frutas.	1909, 1931, 1931, 1947	Xeroftalmia, Queratomalacia, Nictalopia, Xerosis conjuntiva, Hiperqueratosis folicular.	Visión, Crecimiento y mantenimiento del tejido epitelial	> 50.000 UI/día
Provitamina A	β -Caroteno	α , β , γ -Caroteno β -Apocarotenoide Criptoxantina Equinenona	Acete de palma, Zanahoria	1831, 1930, 1950			
Vitamina D	Colecalciferol	Ergocalciferol (D ₂) Colecalciferol (D ₃)	Levadura, acete de hígado de pescado.	1918, 1932, 1936, 1959	Raquitismo, Osteomalacia	Metabolismo del Ca ²⁺ y PO ₄ ⁻	> 500 μ g/kg peso
Vitamina E	α -Tocoferol	α , β , γ , δ -Tocoferol α , β , γ , δ -Tocotrienol	Acete de germen de trigo	1922, 1936, 1938, 1938	Daños en los sistemas reproductor y muscular, anemia hemolítica.	Antioxidante biológico	(**)
Vitamina K	Filoquinona	Filoquinona (K ₁) Menakinona (K ₂) Menadiona	Alfalfa, hígado, carne, yema de huevo.	1929, 1939, 1939, 1939	Hemorragias	Activación de protrombina y otras biomoléculas	(**)

Se recogen las funciones más relevantes y mejor documentadas. 1 UI = 0.3 μ g de retinol.
* Por año del descubrimiento, aislamiento, elucidación de la estructura y síntesis química.
** Se recomienda evitar las sobredosis, sobre todo de menadiona.

Tabla 28.2
PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LAS VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Vitamina	Estabilidad frente a						
	O ₂	Acido	Base	Luz	100°C	Iones metálicos	Abs UV máx. (nm)
A	L	L	E	L	E	L	325
Provitamina A	L	L	E	L	E	L	453
D ₃	L	L	E	L	L	L	264
E	L	E	E	L	E	L	292
K ₁	L	E	L	L	E	L	248

L: Lábil.
E: Estable.

los disolventes orgánicos ordinarios. La provitamina A, aún más insoluble, se disuelve en cloruro de metileno, cloroformo y sulfuro de carbono. Su absorción en la zona ultravioleta del espectro, así como diversas reacciones coloreadas en el visible, se utilizan frecuentemente como métodos fisicoquímicos para su determinación. También se utilizan diversos métodos microbiológicos y biológicos.

VITAMINA A

La vitamina A es un alcohol primario insaturado, de masa molecular 286,46 daltons y fórmula empírica C₂₀H₃₀O, el 3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraen-1-ol. Es prácticamente insoluble en agua y muy soluble en éter, cloroformo, acetona, éter de petróleo y disolventes grasos. Es muy sensible al oxígeno, agentes oxidantes y metales, así como a la luz.

Tanto la vitamina A₁ (retinol, según la nomenclatura recomendada por la IUPAC en 1967) como la A₂ (3-deshidrorretinol) son alcoholes poliisoprenoides de 20 carbonos que se forman a partir de carotenoides que contienen un anillo de β -ionona. Los carotenoides representan uno de los grupos importantes de pigmentos naturales, especialmente en el reino vegetal. A ellos se deben casi todos los colores amarillos y rojos de las flores y frutos de las plantas superiores, y constituyen una parte importante del aparato fotosintético. También los producen ciertos organismos no fotosintéticos, como los hongos.

Estructuralmente, los carotenoides tienen un esqueleto básico tetraterpenoide (40 carbonos) que puede ser modificado por insaturación, ciclación e introducción de funciones oxigenadas. Los tipos básicos incluyen los pigmentos alifáticos licopeno y aquellos en que los átomos C₁ a C₆ forman un anillo de ciclohexeno. A veces pueden tener un doble enlace C₄-C₅ (α -ionona) o C₅-C₆ (β -ionona) (fig. 28.1.a y b).

En los mamíferos, la actividad de vitamina A la presentan el retinol, 3-deshidrorretinol y β -caroteno. Los α - y γ -carotenos poseen la mitad de efectividad desde el punto de vista nutricional.

Por oxidación de los dobles enlaces se pierde la actividad biológica de estos compuestos. Por ello la vitamina A contenida en los alimentos naturales se protege mediante la adición de antioxidantes como la vitamina E.

La vitamina A requiere las siguientes características moleculares: un anillo de β -ionona (3-deshidro- β -ionona), la cadena lateral de 9 carbonos y cuatro dobles

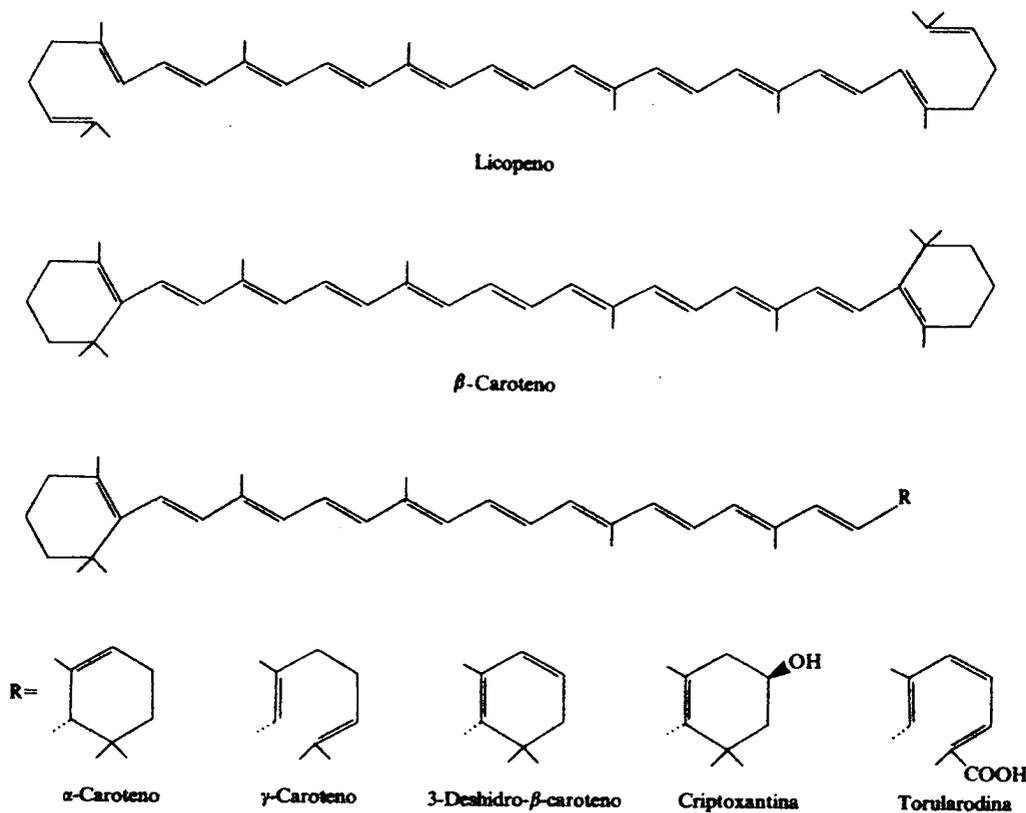


Figura 28.1. a) Estructura de carotenoides y sustancias relacionadas.

enlaces conjugados con el del anillo, dos grupos metilo en las posiciones C_9 y C_{13} y una función alcohol, éster, aldehído o ácido en la posición C_{15} (fig. 28.2).

Biosíntesis y metabolismo

La estructura isoprenoide de los carotenos y el retinol se origina a partir del acetil-CoA, mevalonato y pirofosfatos de isoprenoides, que dan lugar a los carotenoides y otras provitaminas A (fig. 28.3) de las que se conocen hasta 40 compuestos, siendo el β -caroteno el más importante.

La condensación de dos unidades de 20 carbonos origina el fitoeno que por deshidrogenaciones sucesivas produce el sistema de dobles enlaces conjugados de los carotenos (fig. 28.4). La introducción en los anillos de funciones alcohólicas o ácidas origina criptoxantina o torularodina. La degradación oxidativa de los carotenos produce los apocarotenoides.

La biosíntesis de la vitamina A está catalizada por una dioxigenasa que rompe el enlace central C_{15} - C_{15} del β -caroteno utilizando una molécula de oxígeno, cada uno de cuyos átomos se transforma en el O carbonílico del retinal (fig. 28.5). Esta reacción transcurre principalmente en el hígado y la mucosa intestinal donde también tiene lugar la reducción del retinal a retinol. La oxidación irreversible del retinol a ácido retinoico, otra importante forma activa de la vitamina A, está catalizada por una enzima de la mucosa intestinal.

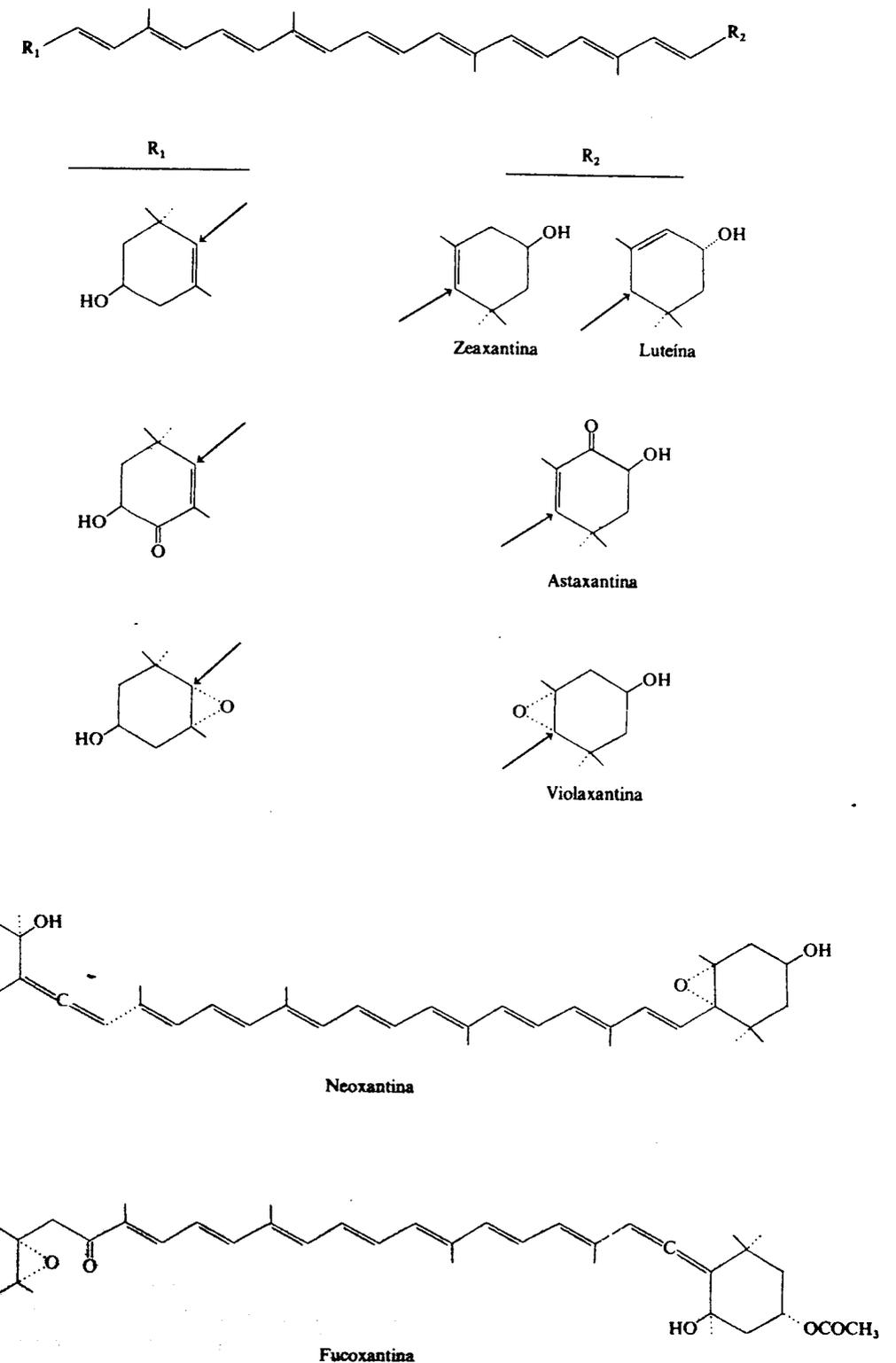


Figura 28.1. b) Estructura de carotenoides y sustancias relacionadas: ↑ posición de inserción de R.

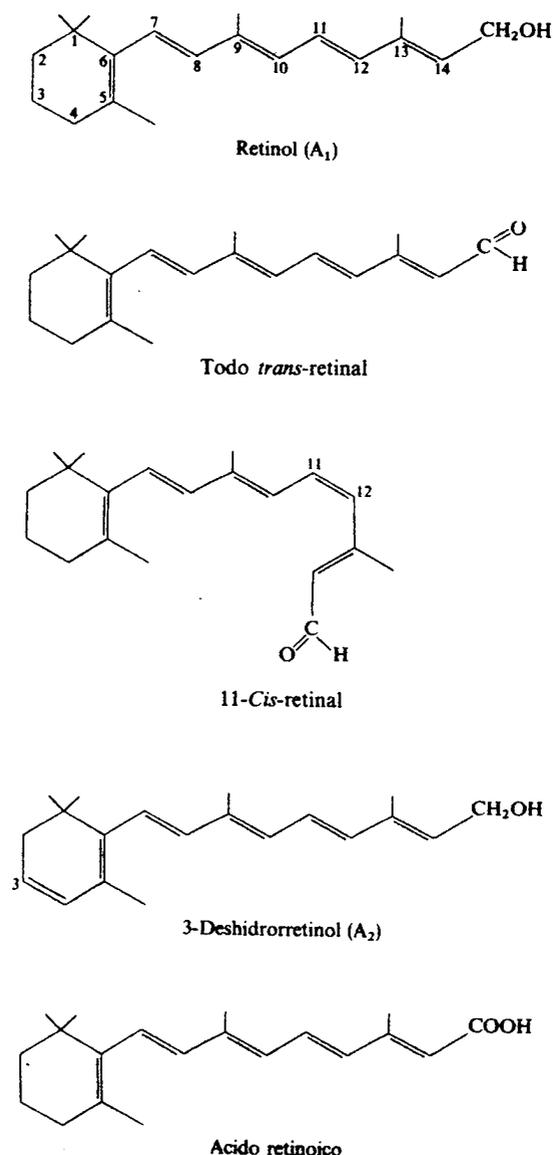


Figura 28.2. Estructuras de las vitaminas A y metabolitos relacionados. La formación de isómeros *cis* no es difícil excepto para el doble enlace $\Delta^{9,10}$ por impedimentos estéricos. El isómero 13-*cis* (neo-vitamina A) constituye casi 1/3 de la vitamina A en los extractos naturales.

En el lumen intestinal la provitamina y la vitamina A se emulsionan con sales biliares formando micelas que facilitan la hidrólisis de los ésteres de retinilo. En el hígado el retinol se une a proteínas y es reesterificado y almacenado en un complejo lipoglicoproteico. La inmovilización del retinol hepático está regulada por la velocidad de síntesis de las proteínas portadoras.

La vitamina A, ingerida como tal o producida en la pared intestinal a partir de la provitamina, se esterifica con ácidos grasos de cadena larga y se incorpora a las lipoproteínas de baja densidad (LDL = Low Density Lipoprotein) y a los quilomicrones. A través de la linfa y de la sangre llega al hígado, donde se almacena, y va

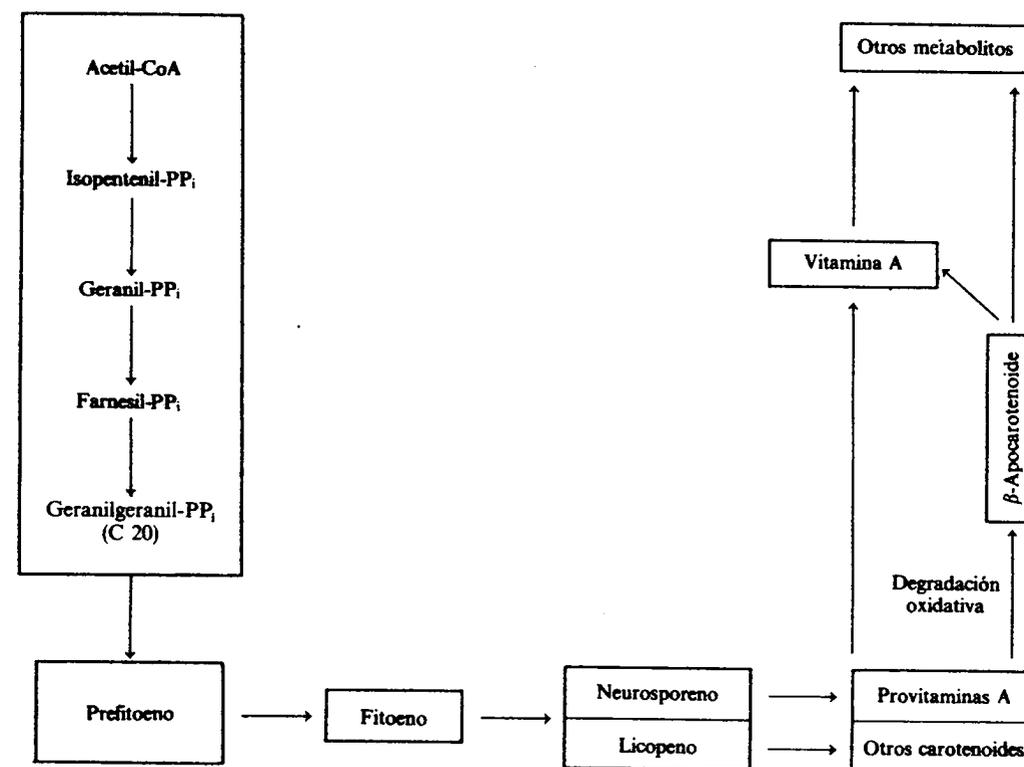


Figura 28.3. Biosíntesis de la vitamina A. Los β -apocarotenoides se forman a partir del α y γ -caroteno por degradación oxidativa.

siendo liberada a la sangre como retinol sin esterificar conforme es utilizada por los tejidos, de forma que su concentración en la sangre permanece más o menos constante. En este proceso tiene un importante papel la proteína fijadora de retinol (RBP = Retinol Binding Protein), una α -globulina de 21.000 daltons que forma con la prealbúmina un complejo 1:1 de 73.000 daltons y que libera la vitamina A a un receptor específico de las membranas de las células blanco.

El retinol puede transformarse reversiblemente en retinal, pero la conversión de éste en ácido retinoico es irreversible. Una isomerasa específica de la retina transforma el todo-*trans*-retinal en la forma 11-*cis*-retinal que se condensa con una proteína específica y constituye el sistema fotorreceptor del ojo (púrpura visual). El ácido retinoico es transportado unido a la albúmina y retiene parte de las actividades de la vitamina A. Su exceso aparece en la orina o en la bilis como retinil glucurónido y otros productos de excreción (fig. 28.6).

Funciones fisiológicas

El β -caroteno posee propiedades antioxidantes a bajas tensiones de O₂, a través de un mecanismo de atrapamiento de radicales peroxilo diferente del de la vitamina E (fig. 28.7). A este papel antioxidante se ha atribuido la pretendida actividad anticancerosa de la vitamina A la cual, por su parte, posee tres tipos de funciones:

1. Somática o sistémica, que consiste fundamentalmente en potenciar el desarrollo y diferenciación de los epitelios y el hueso. La exhiben el retinal, el retinol y sus ésteres, y el ácido retinoico y sus derivados (3,4-didehidrorretinoico).
2. Reproductiva, radicada en el retinal y el retinol y sus ésteres. A través de

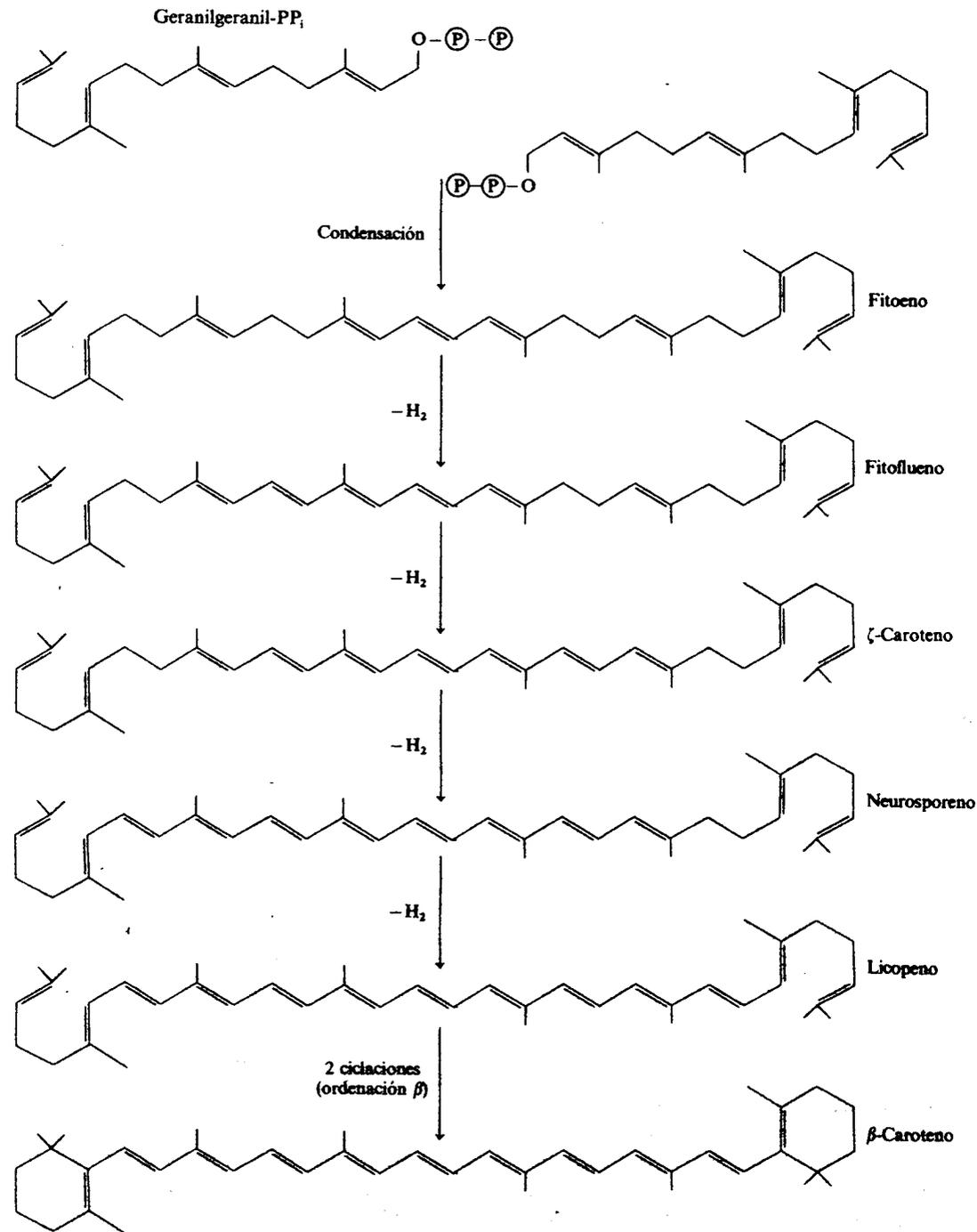


Figura 28.4. Biosíntesis del β-caroteno.

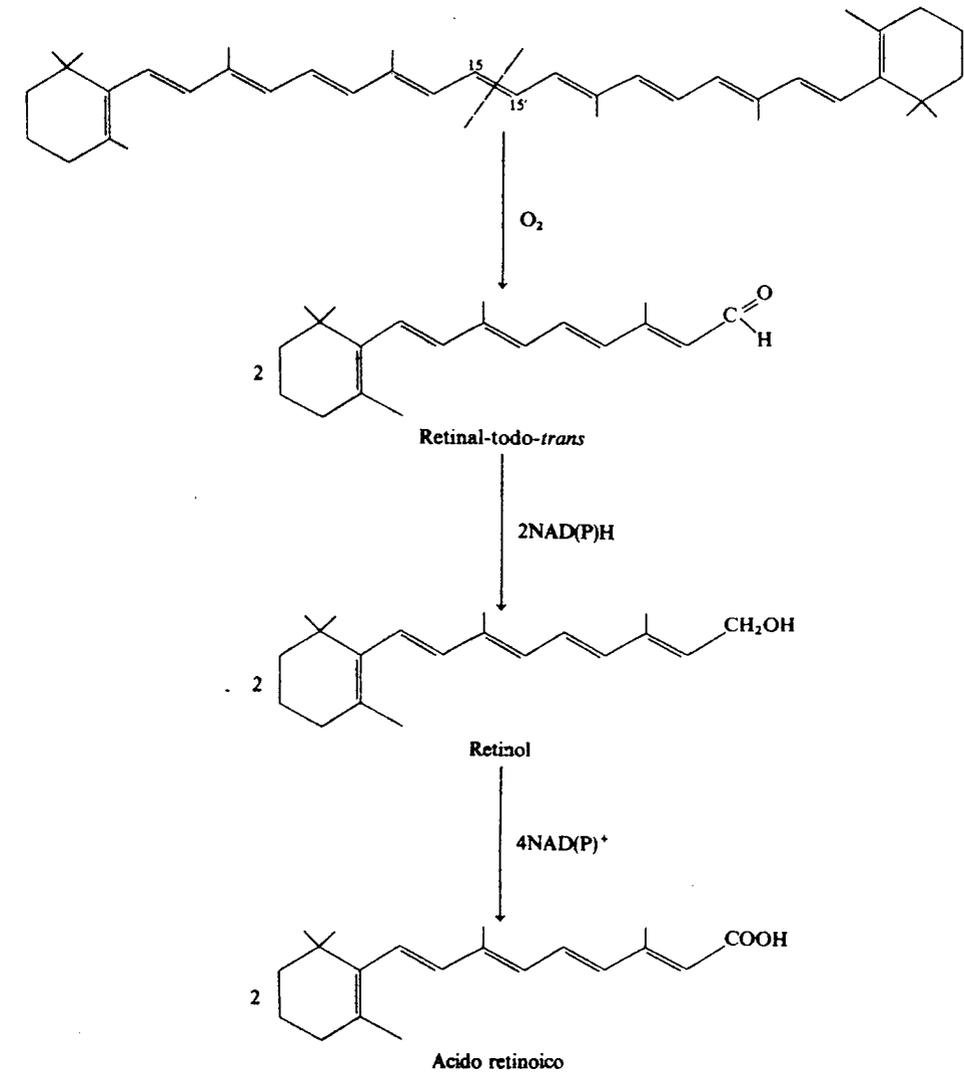


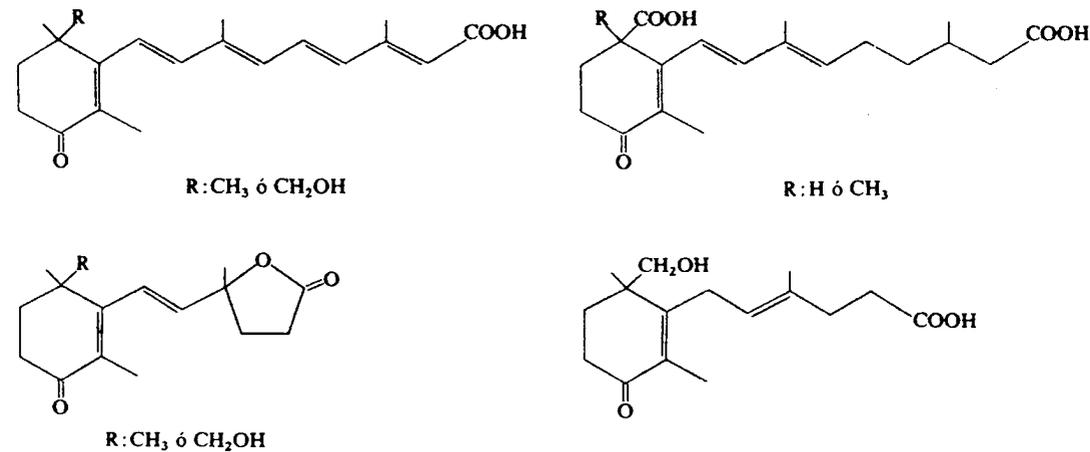
Figura 28.5. Mecanismo de la conversión de la provitamina A en retinal, retinol y ácido retinoico.

esta función, la vitamina A influye en la espermatogénesis, oogénesis, desarrollo placentario y crecimiento del embrión y el feto.

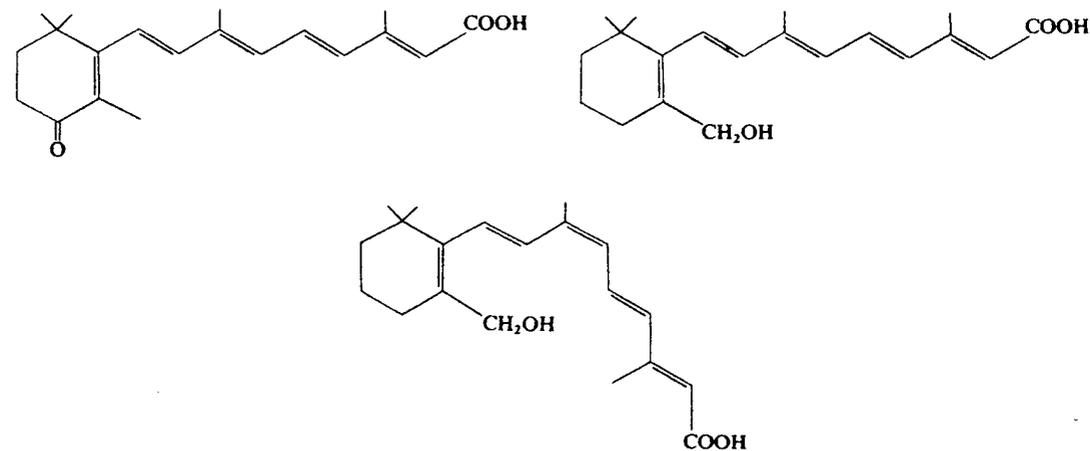
3. Visual, sustentada por el retinal, determinando la visión nocturna y la percepción del color.

La base molecular de estas funciones se puede explicar ateniéndose a la estructura molecular de la vitamina A: un grupo terminal polar, un sistema de dobles enlaces conjugados y un anillo de β-ionona.

En el mecanismo de la visión (véase cap. 54), el retinal actúa como un cromóforo que responde a la luz blanca isomerizándose a la forma todo-trans, con lo que se libera de la proteína conjugada, u opsina, cambia la distribución de carga en la proteína y se originan procesos que determinan la neurotransmisión a través del GMP cíclico y los canales iónicos de la membrana para el Na⁺. En los conos, el retinal interviene en la percepción del color al estar unido a aoproteínas que



Metabolitos del ácido retinoico en orina



Metabolitos del ácido retinoico en las heces

Figura 28.6. Metabolitos del ácido retinoico.

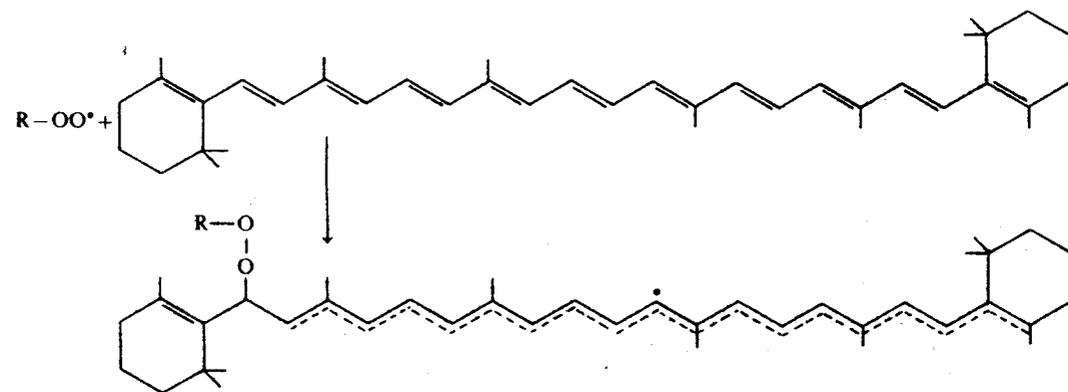


Figura 28.7. Mecanismo molecular de la acción antioxidante de los carotenos.

modifican su absorción de la luz visible y lo hacen sensible a los fotones de luz roja, verde o azul. Se ha propuesto que esta isomerización del retinal, causada por un mecanismo enzimático independiente de la luz, es responsable de algunas funciones somáticas de la vitamina A.

El grupo polar de la cadena isoprenoide puede actuar, mediante la formación de un fosfodiéster, como transportador de unidades hidrocarbonadas en la biosíntesis de glicoproteínas de membrana, con lo que la vitamina A tendría un carácter de coenzima transportador de grupos. Esta propiedad estaría relacionada con su papel en la diferenciación celular.

La estructura de la vitamina A posibilita su interacción con receptores proteicos intracelulares que, al modificar la expresión génica, explicarían la actividad de la vitamina A en los procesos reproductivos. De hecho, se han detectado proteínas con alta afinidad por el ácido retinoico ($K_d = 10^{-9} M$) y por el retinol ($K_d = 10^{-8} M$). En fecha reciente, se ha identificado en humanos un segundo receptor nuclear para el ácido retinoico. Es una proteína homóloga a las que constituyen la familia de receptores nucleares para esteroides; su papel se ha demostrado mediante la construcción de receptores quimera que contienen el dominio de unión al DNA del receptor humano de estrógenos y el dominio de integración del virus de la hepatitis B y su activación por éste puede tener un papel cancerígeno en el hígado, donde normalmente no se expresa. Recientemente se ha demostrado que el ácido retinoico regula la expresión del gen de la hormona del crecimiento en las células GH1 de la pituitaria.

Otro posible papel de la vitamina A es el de actuar sobre las membranas celulares regulando la liberación de enzimas esenciales para determinados procesos metabólicos o a través de procesos de transferencia electrónica al citocromo P_{450} , modificando su actividad hidroxilasa.

Deficiencia

El hígado, la yema de huevo, la mantequilla y la leche son buenas fuentes de retinol, mientras que los vegetales y las frutas amarillas son ricos en carotenoides.

Los dos se almacenan en el hígado el cual mantiene la cantidad adecuada de retinol, liberándolo en caso de dieta deficitaria en vitamina A. La concentración de retinol en plasma y retina permanece constante hasta que desaparecen las reservas hepáticas y plasmáticas. Al agotarse la vitamina A en la sangre, disminuye la cantidad de opsina y de rodopsina, y los bastones retinianos degeneran, apareciendo la ceguera nocturna (*nictalopia*) o incapacidad para ver bajas intensidades de luz o para adaptarse a intensidades decrecientes. Estos procesos están relacionados con el retinol de los bastones retinianos y, con frecuencia, aparecen en los desórdenes hepáticos como la cirrosis. La nictalopia suele ir precedida de xerosis conjuntiva. En los casos de *diabetes mellitus*, los carotenos no pueden transformarse fácilmente en vitamina A y los pacientes pueden sufrir ceguera nocturna a menos que se añada vitamina A a la dieta.

En animales deficientes en vitamina A se ha observado fotofobia, xerofthalmia, queratomalacia y daños severos en los epitelios del tracto respiratorio y aparatos digestivo y genitourinario.

La ausencia de vitamina A produce detención del crecimiento en animales jóvenes, interfiere en las ratas con los procesos de reproducción y lactancia, y determina la aparición de hiperqueratosis folicular y malformación del sistema óseo.

Otras funciones descritas para la vitamina A en animales son su participación en las reacciones de glicosilación de lípidos y proteínas, como adyuvante del sistema inmune, y como inhibidor de ciertos tipos de carcinogénesis.

Existen dos situaciones patológicas hereditarias que se pueden tratar administrando vitamina A: la estenosis biliar congénita acompañada de cirrosis y la abetalipoproteinemia.

Toxicidad

Dosis superiores a 15.000 RE (Retinol Equivalent) suministradas durante largos periodos de tiempo pueden producir hipervitaminosis A con una serie de efectos como pérdida de peso y del apetito, irritabilidad, agrietamiento de la boca y los labios, alopecia y ciertas disfunciones renales (nefritis lipóidica y glomerulonefritis). Además se produce un aumento del tamaño del hígado y dolores de huesos y articulaciones. Por otra parte, los carotenos ingeridos en exceso producen una coloración amarillenta de la piel (carotenemia).

La intoxicación con vitamina A sólo ocurre *in vivo* después de saturarse la proteína portadora de retinol, quedando expuestas las células de forma inespecífica al retinol libre.

VITAMINA D

Bajo el nombre de vitamina D se engloba una familia de compuestos formados por irradiación de esteroides insaturados $\Delta^{5,7}$, como el ergosterol y el 7-deshidrocolesterol. Las figuras 28.8 y 28.9 muestran la estructura química de las vitaminas D, así como de algunos de sus precursores. Los dos compuestos más importantes con actividad vitamínica D son el *colecalfiferol* (calciferol o vitamina D_3) y el *ergocalciferol* (vitamina D_2), que en la mayoría de los animales poseen una potencia biológica similar, excepto en las aves en las que la vitamina D_3 es 10 veces más efectiva.

Las vitaminas D son sensibles a la luz, al oxígeno y a los ácidos. Los epímeros C-3 pierden casi el 90 por 100 de la actividad de vitamina D, así como los derivados 3-oxo, 3-cloro, 3-tio y 3-bromo. El ergocalciferol con un grupo epoxi en la cadena lateral también es prácticamente inactivo.

Los derivados hidroxilados de la vitamina D son las formas metabólicamente activas. Algunos de estos derivados se muestran en las figuras 28.10, 28.11 y 28.12.

Biosíntesis y metabolismo

Por irradiación del ergosterol o del 7-deshidrocolesterol con luz ultravioleta de 290 a 320 nm se forma la previtamina D (fig. 28.13). Si la reacción se lleva a cabo a temperaturas inferiores a los 20 °C, se produce un equilibrio dinámico entre la previtamina D y la provitamina D, pudiéndose aislar la primera. A temperaturas más altas, un H del grupo metilo C_{19} emigra al C_9 mediante un desplazamiento sigmatrópico anterofacial 1,7 y se forma el isómero 6,7-S-*cis*-vitamina D (conformación β). Por rotación de 180° alrededor del enlace simple 6,7 se forma el isómero 6,7-*trans*-vitamina D (conformación α). Estas interconversiones se muestran en la figura 28.14.

La irradiación de las provitaminas D (ergosterol y 7-deshidrocolesterol) produce diversos compuestos (previtaminas D, taquisterol, lumisterol y provitaminas

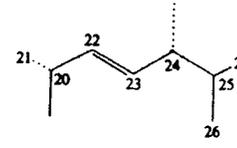
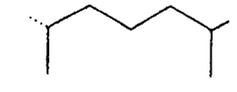
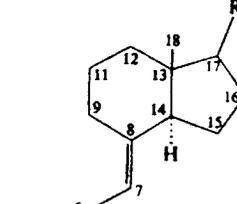
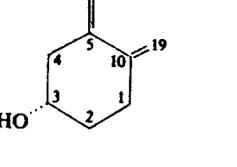
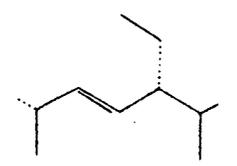
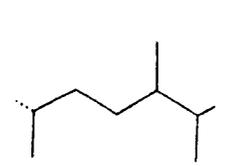
Estructura	R	Vitamina	% actividad (en ratas)	Provitamina
		D_2	100	Ergosterol
		D_3	100	7-Deshidrocolesterol
		D_4	50-75	22,23-Dihidroergosterol
		D_5	2,5	Deshidrositosterol
		D_6	0	7-Deshidroergosterol
		D_7	10	7-Deshidrocampesterol

Figura 28.8. Estructura de las vitaminas D.

D), dependiendo de la longitud de onda UV y de la duración de la irradiación. El taquisterol es inactivo, pero su reducción a dihidrotaquisterol lo convierte en un potente agente vitamínico D (fig. 28.15).

La reacción fotoquímica de conversión del 7-deshidrocolesterol (provitamina D) a colecalfiferol (calciferol o vitamina D_3) tiene lugar en el *stratum granulosum* de la piel y está regulada por la pigmentación y queratinización del estrato superior córneo. La piel blanca, que contiene poca pigmentación y queratina, permite el paso de los fotones UV, lo que constituye una evidente adaptación al clima. La vitamina D_2 se forma por irradiación del ergosterol, un esteroide vegetal común que se encuentra en los alimentos.

Como se ve en la figura 28.13, la biosíntesis del calciferol tiene lugar mediante procesos de alta energía (fotoquímicos), seguidos por otros de baja energía (térmicos).

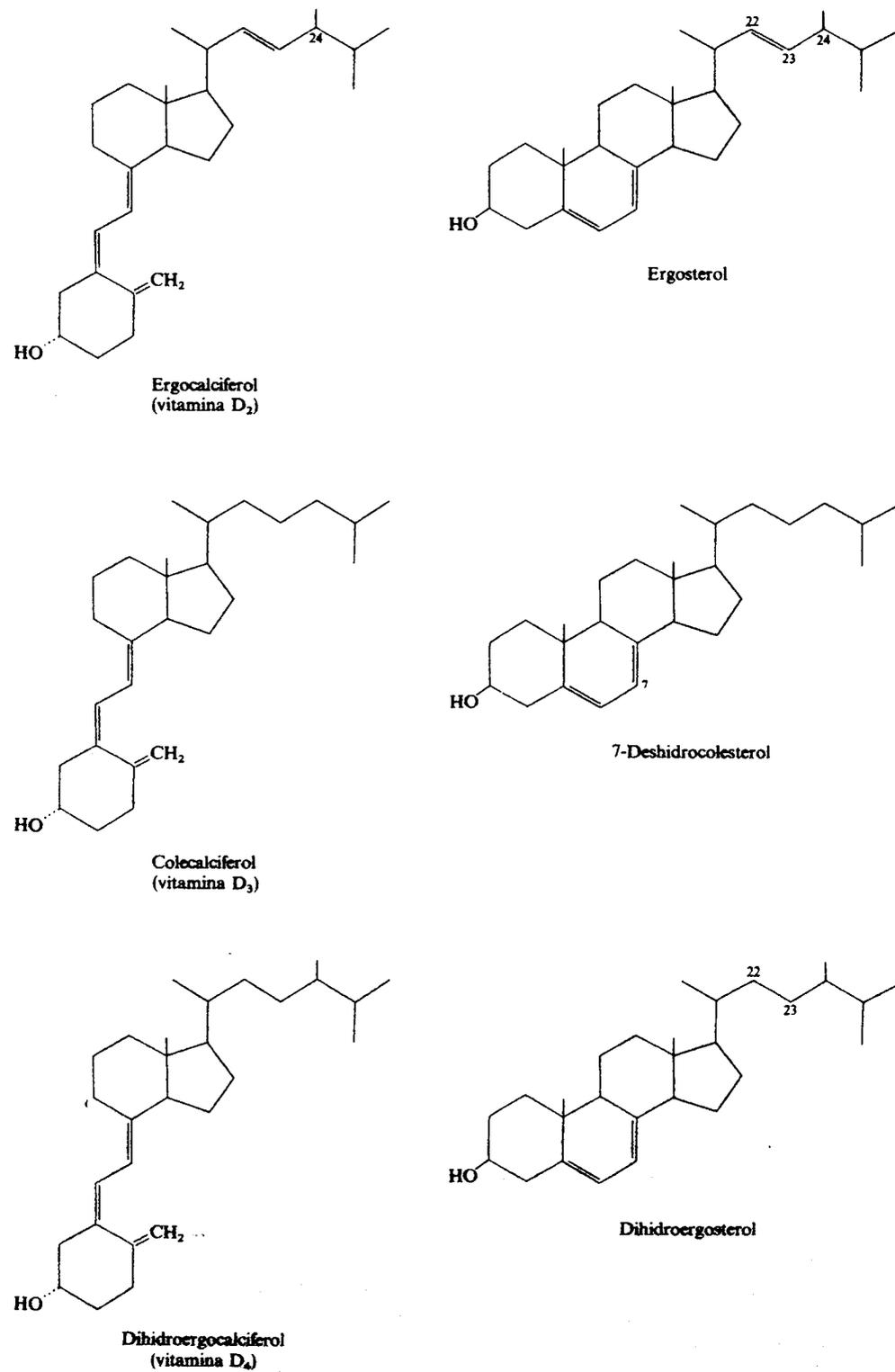


Figura 28.9. Estructura de algunas vitaminas D y sus precursores naturales.

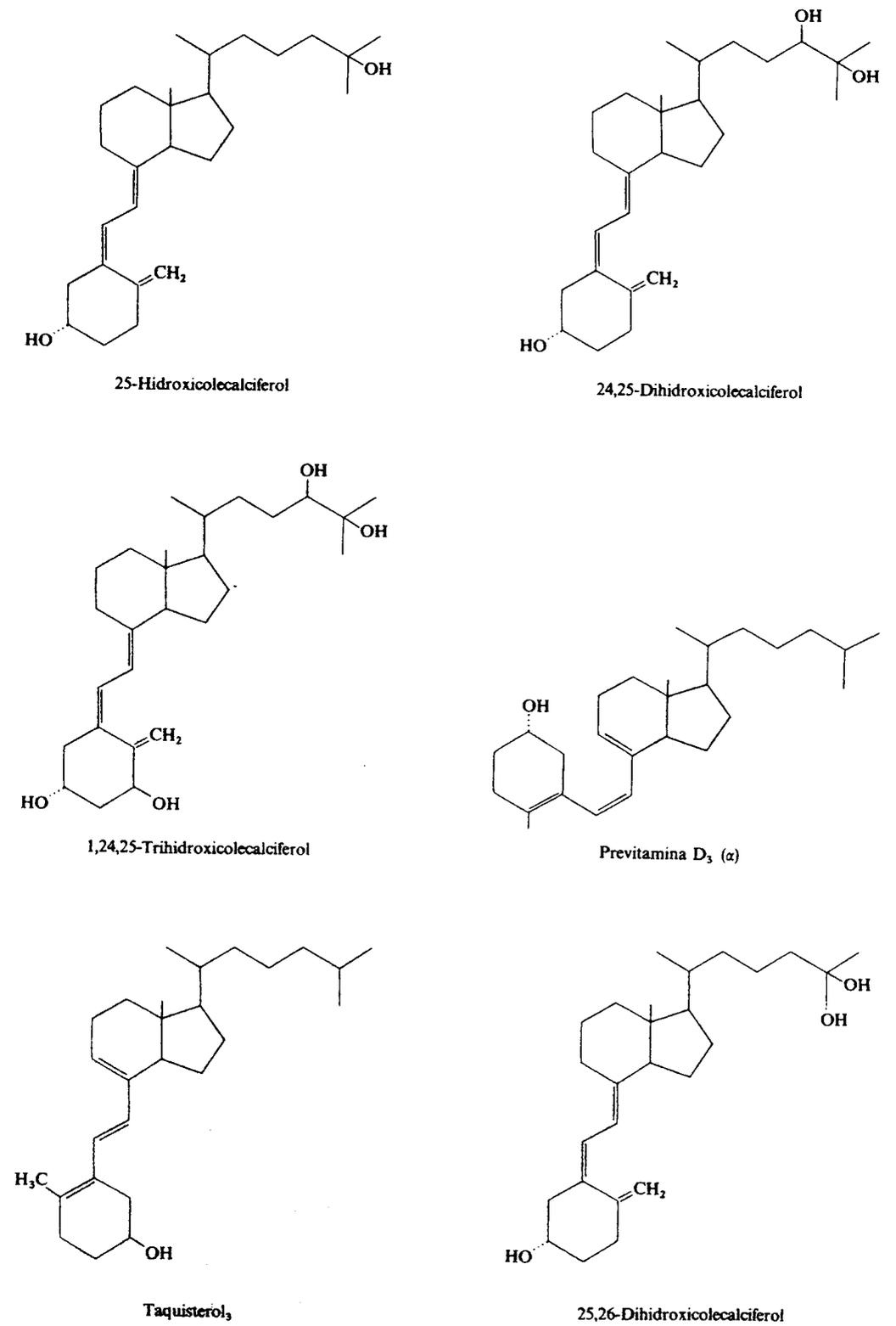


Figura 28.10. Estructura de la vitamina D₃ y compuestos relacionados.

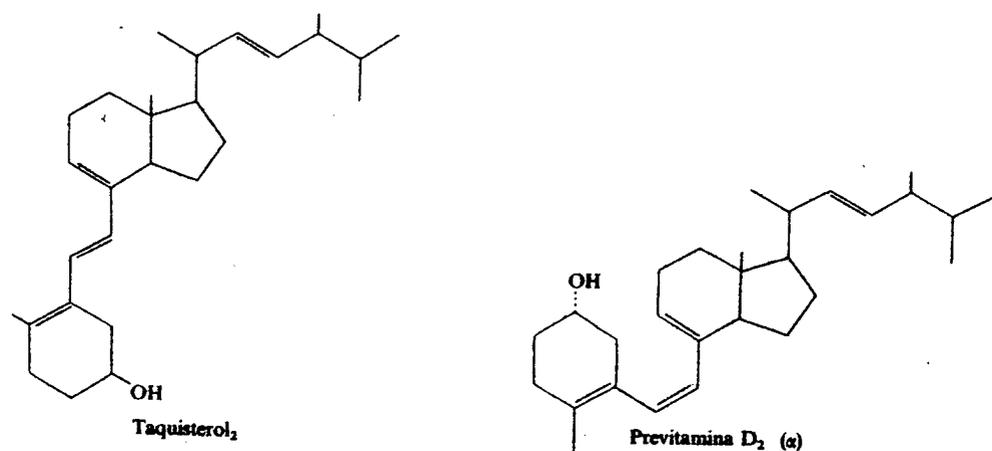
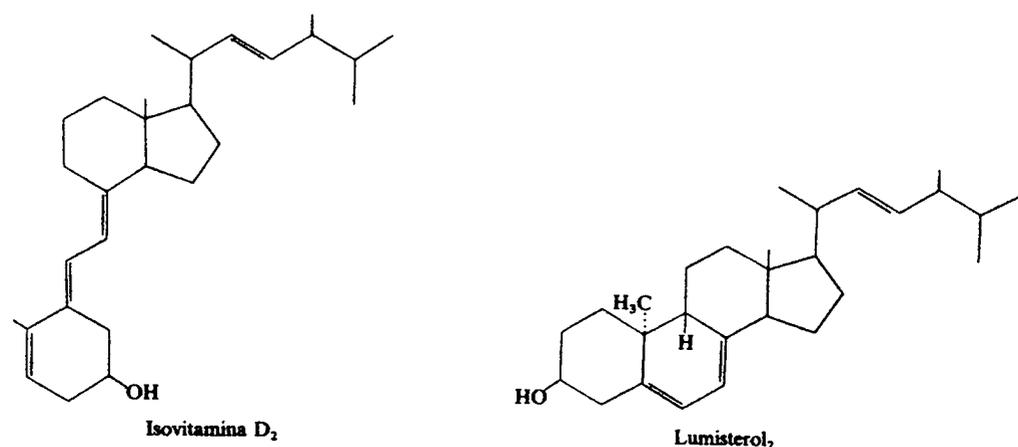
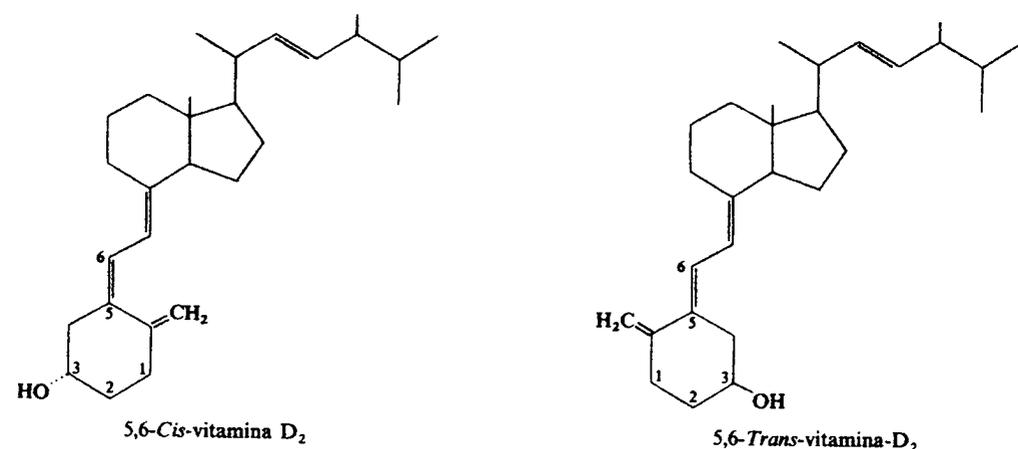
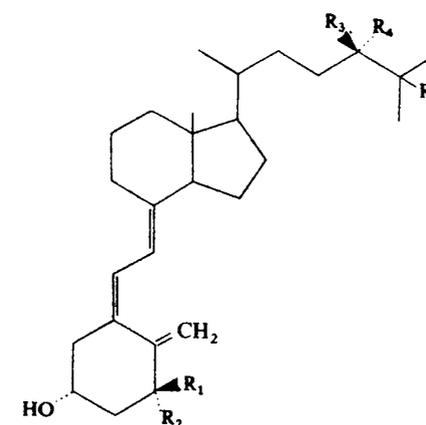


Figura 28.11. Estructura de la vitamina D₂ y compuestos relacionados.



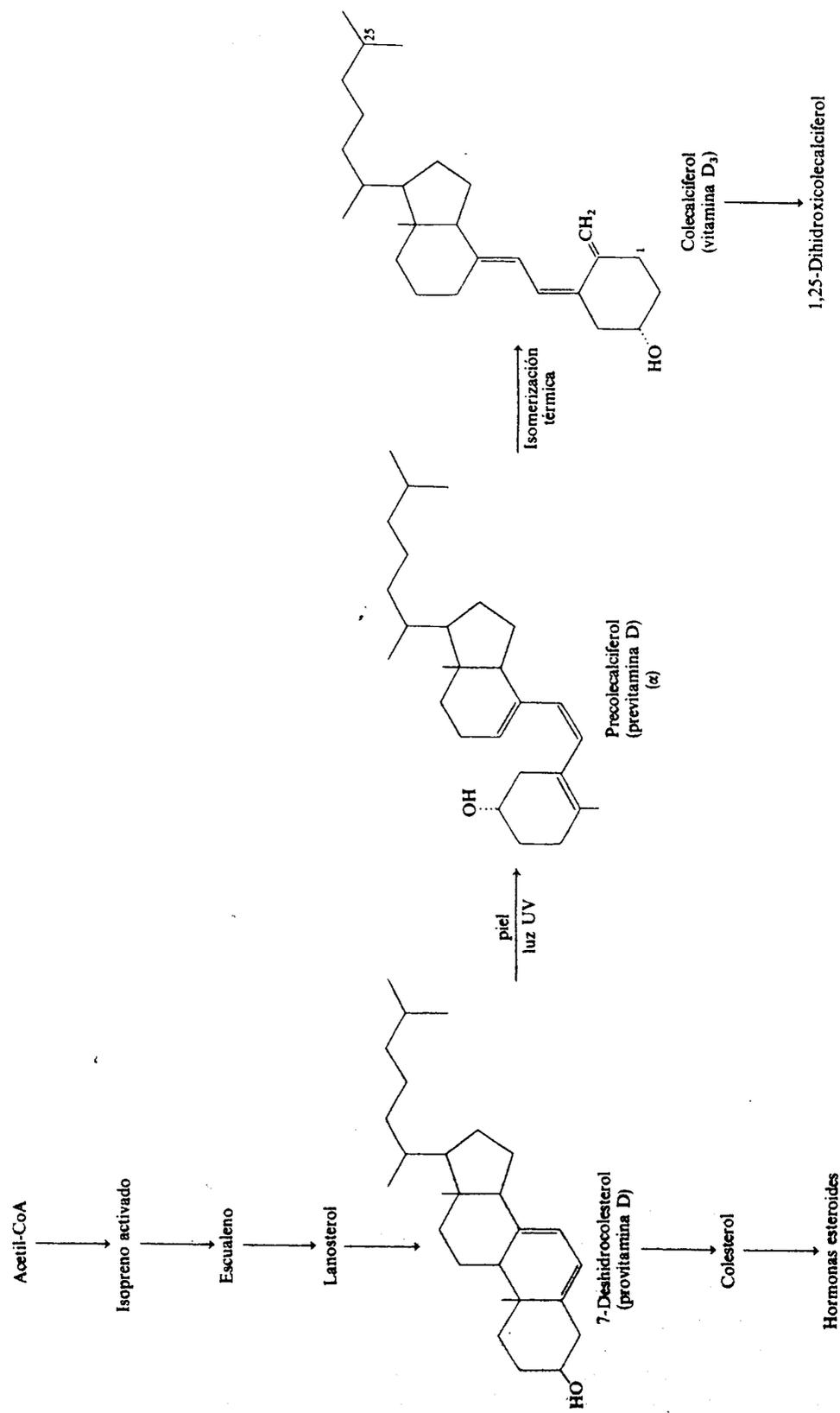
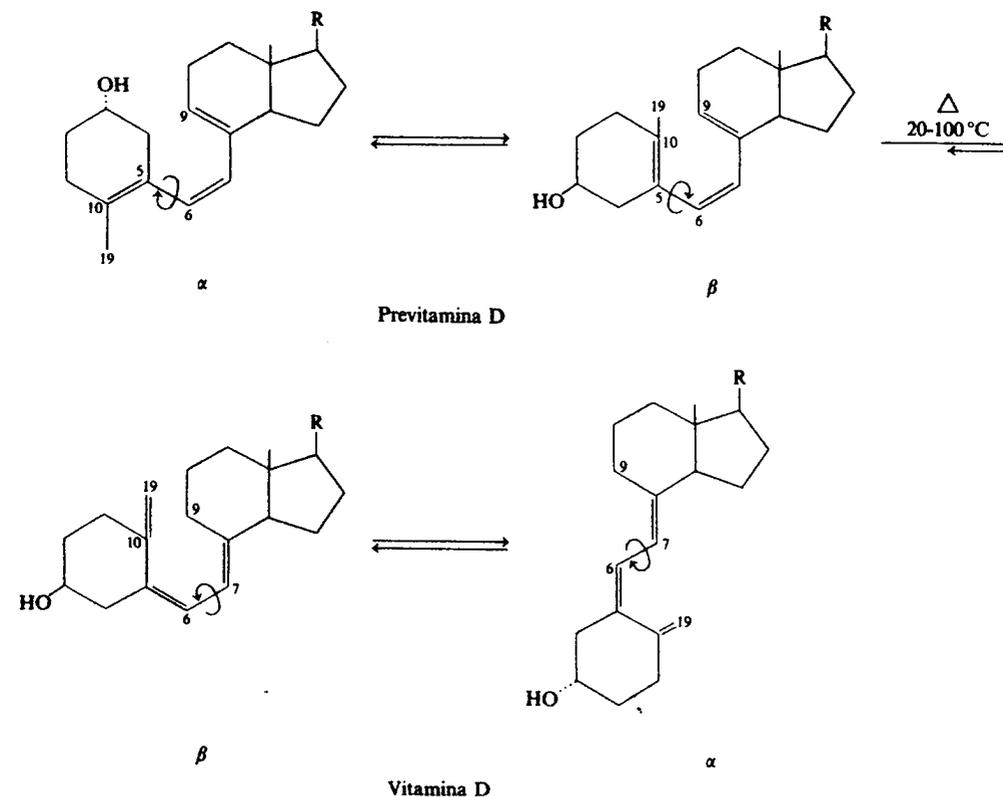
24 R-OH-D ₃	R ₃ =OH	R ₁ , R ₂ , R ₄ , R ₅ =H
24 S-OH-D ₃	R ₄ =OH	R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₅ =H
24 S, 25(OH) ₂ D ₃	R ₄ , R ₅ =OH	R ₁ , R ₂ , R ₃ =H
1α, 24 R-(OH) ₂ D ₃	R ₁ , R ₃ =OH	R ₂ , R ₄ , R ₅ =H
1α, 24 S-(OH) ₂ D ₃	R ₁ , R ₄ =OH	R ₂ , R ₃ , R ₅ =H
1α, 24 S, 25-(OH) ₂ D ₃	R ₁ , R ₄ , R ₅ =OH	R ₂ , R ₃ =H
1β, 25-(OH) ₂ D ₃	R ₂ , R ₅ =OH	R ₁ , R ₃ , R ₄ =H

Figura 28.12. Isómeros estereoquímicos de los metabolitos de la vitamina D₃.

cos). Una vez sintetizado, el coilecalciferol se une a una proteína portadora, la DBP (Vitamin D Binding Protein), que posee una mayor afinidad por la vitamina D que por la provitamina, la previtamina o el lumisterol y el taquistero. Estos fotoproductos permanecen, pues, en la piel en un equilibrio fotoquímico con las formas *cis* y *trans* de la vitamina. No obstante, el nivel fisiológico del coilecalciferol en el hombre puede estar regulado también por procesos enzimáticos (incluyendo actividades aciltransferasa y esterasa) y no meramente fotoquímicos.

La vitamina D de los alimentos se absorbe en el intestino delgado proximal, se une a los quilomicrones y va al hígado vía linfa. Una vez hidroxilada en C₂₅ se une a una α-globulina específica de 50.000-60.000 daltons, la proteína Gc. En presencia de exceso de sustrato interviene una hidroxilasa mitocondrial. El hígado capta también del torrente circulatorio la vitamina D procedente de los procesos fotoquímicos de la piel que, junto con la procedente de la dieta, es hidroxilada o procesada para su excreción a través de la bilis.

La forma circulante monohidroxilada de la vitamina D (calcidiol o 25-hidroxi-vitamina-D₃) no es la forma activa de la vitamina. En las mitocondrias de los túbulos renales y de la placenta tiene lugar una segunda hidroxilación del calcidiol en las posiciones C₁, C₂₃, C₂₄ y C₂₆, dependiendo de la situación metabólica del organismo. Todas las hidroxilasas microsómicas y mitocondriales que intervienen pertenecen al sistema del citocromo P₄₅₀. La 25-hidroxilasa microsómica hepática es muy específica para el coilecalciferol ($K_m = 10^{-8}$ M), mientras que la 25-hidroxilasa mitocondrial es menos específica ($K_m = 10^{-6}$ M) e incluye, además de una flavoproteína y el citocromo P₄₅₀, una proteína sulfúrica. La hidroxilasa mitocondrial del riñón contiene una flavoproteína NADPH-deshidrogenasa, una proteína sulfúrica 2Fe₂S de 11.000 daltons y el citocromo P₄₅₀. La 24-hidroxilasa se encuentra también en el intestino, cartilago y hueso. Las distintas cadenas de transporte electrónico se ilustran en la figura 28.16, y en la figura 28.17

Figura 28.13. Biosíntesis de la vitamina D₃.Figura 28.14. Equilibrios entre las formas α y β de la previtamina D y de la vitamina D.

se muestran algunas reacciones de hidroxilación así como los metabolitos D₃ más importantes, entre los que destaca el calcitriol [1,25-dihidroxi-vitamina-D₃], la forma más activa de la vitamina D.

Se han descrito hasta 11 factores que afectan a la actividad *1-hidroxilasa*. Un esquema simplificado de la regulación de esta importante enzima incluye controles extracelulares por Ca²⁺, fosfato y parathormona (la hipofosfatemia estimula la *1-hidroxilasa*) y una serie de efectores intracelulares (H⁺, K⁺, fosfato). Estos factores regulan la velocidad de hidroxilación afectando la accesibilidad del sustrato a la hidroxilasa o la eficiencia del transporte electrónico, entre otros. Un último nivel de control lo realizan hormonas como la insulina y el propio calcitriol que controla su propia síntesis por retroalimentación (fig. 28.18).

La hidroxilación de la vitamina D en posición C₂₆ en los microsomas hepáticos da lugar a productos de degradación de la vitamina. La hidroxilasa que interviene se induce por fármacos como la difenilhidantoína y el fenobarbital. El ácido calcitroico, producto biliar más importante, se forma a partir del calcitriol (fig. 28.17). El resto de los metabolitos hidroxilados no tiene función metabólica conocida, pero alguno de ellos, como el 24,25-dihidroxi-vitamina-D₃, debe tener algún papel metabólico, pues constituye el metabolito circulante más abundante y con mayor vida media de la vitamina D. Recientemente, se ha visto que este derivado, junto con la parathormona y el calcitriol, pueden inducir la calcificación del hueso *in vitro*.

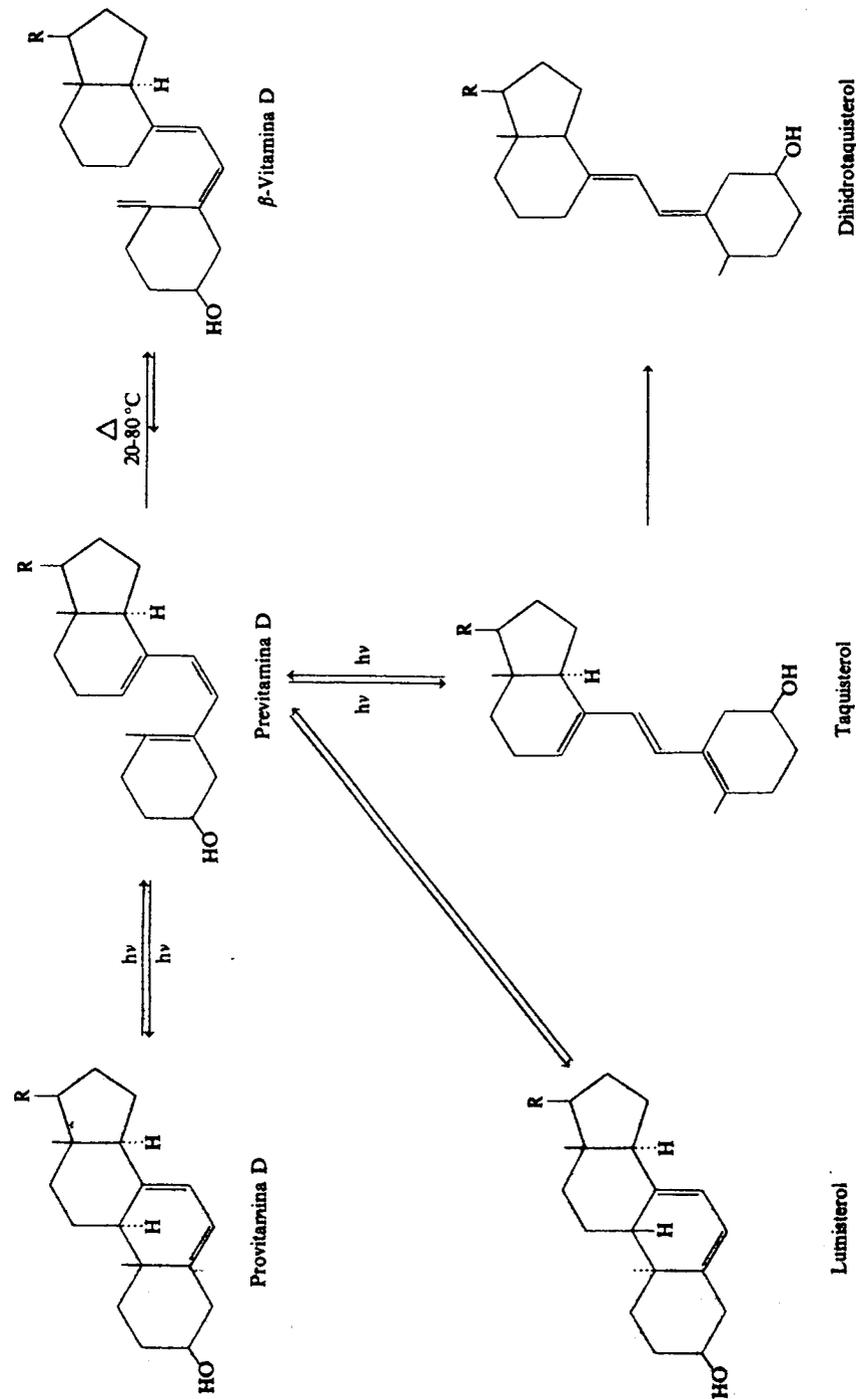


Figura 28.15. Síntesis de la vitamina D y compuestos relacionados a partir de la provitamina. La forma β de la provitamina se transforma reversiblemente en provitamina y la forma α en lumisterol.

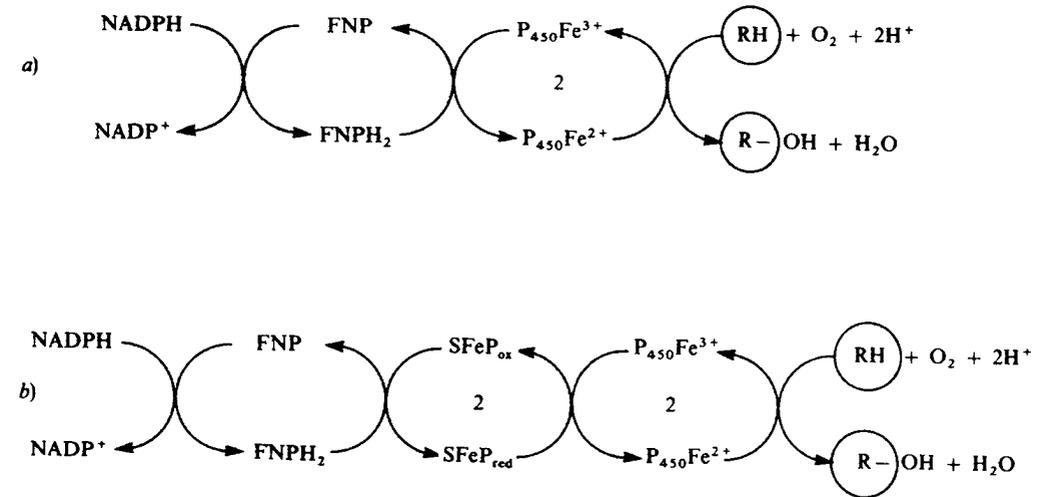


Figura 28.16. Cadenas de transporte electrónico en los microsomas a) y en las mitocondrias b). FNP: flavoproteína; P_{450} : citocromo P_{450} ; RH: sustrato hidrocarbonado; SFe: proteína sulfoférica.

Funciones fisiológicas

Una visión clásica de la función de la vitamina D abarca el control de la homeostasis del Ca^{2+} , la regulación del crecimiento y desarrollo del hueso y la regulación del metabolismo del fósforo.

La disminución de la concentración de Ca^{2+} determina la estimulación de la *1-hidroxilasa* renal por la parathormona y la liberación de 1,25-dihidroxi-vitamina- D_3 que actúa, en las células intestinales promoviendo la absorción de Ca^{2+} , en el riñón favoreciendo la reabsorción de Ca^{2+} , y en el hueso estimulando la liberación del ion a partir de los osteoblastos (y no a partir de los osteoclastos, como se había supuesto antes; fig. 28.18).

El calcitriol funciona como una hormona esteroidea, ya que interacciona con receptores citoplasmáticos y nucleares de las células blanco y favorece la síntesis de RNA mensajero y proteínas necesarias para la absorción intestinal del Ca^{2+} (fig. 28.19). Estos receptores pertenecen a la superfamilia de receptores de esteroides con una fuerte homología en la región de unión al DNA (dominio C). Los receptores son proteínas con coeficientes de sedimentación entre 3,2 y 3,7S y una gran afinidad por el calcitriol ($K_d = 10^{-10}$ M). Por otra parte, se han encontrado proteínas fijadoras de calcio en el intestino, piel, islotes pancreáticos y células paratiroides, como respuesta a la presencia de calcitriol.

El carácter esteroideo de la vitamina D reside en la molécula de calcitriol (colecalfierol), pero su hidroxilación metabólica provee a esta molécula de dos características esenciales para la acción hormonal: una estructura necesaria para interaccionar con un receptor y un mecanismo de control de la cantidad de hormona necesaria para su actividad fisiológica (la *1-hidroxilasa* se encuentra estrechamente regulada por la vitamina D). La afinidad por el receptor citoplasmático se debe fundamentalmente al hidróxilo del C_1 ; la transferencia de la hormona al núcleo no depende de la temperatura y es muy sensible a la concentración de KCl. Ambos receptores (citoplasmático y nuclear) poseen el mismo coeficiente de sedimentación.

El DNA puede ser el propio receptor nuclear para el calcitriol en una región

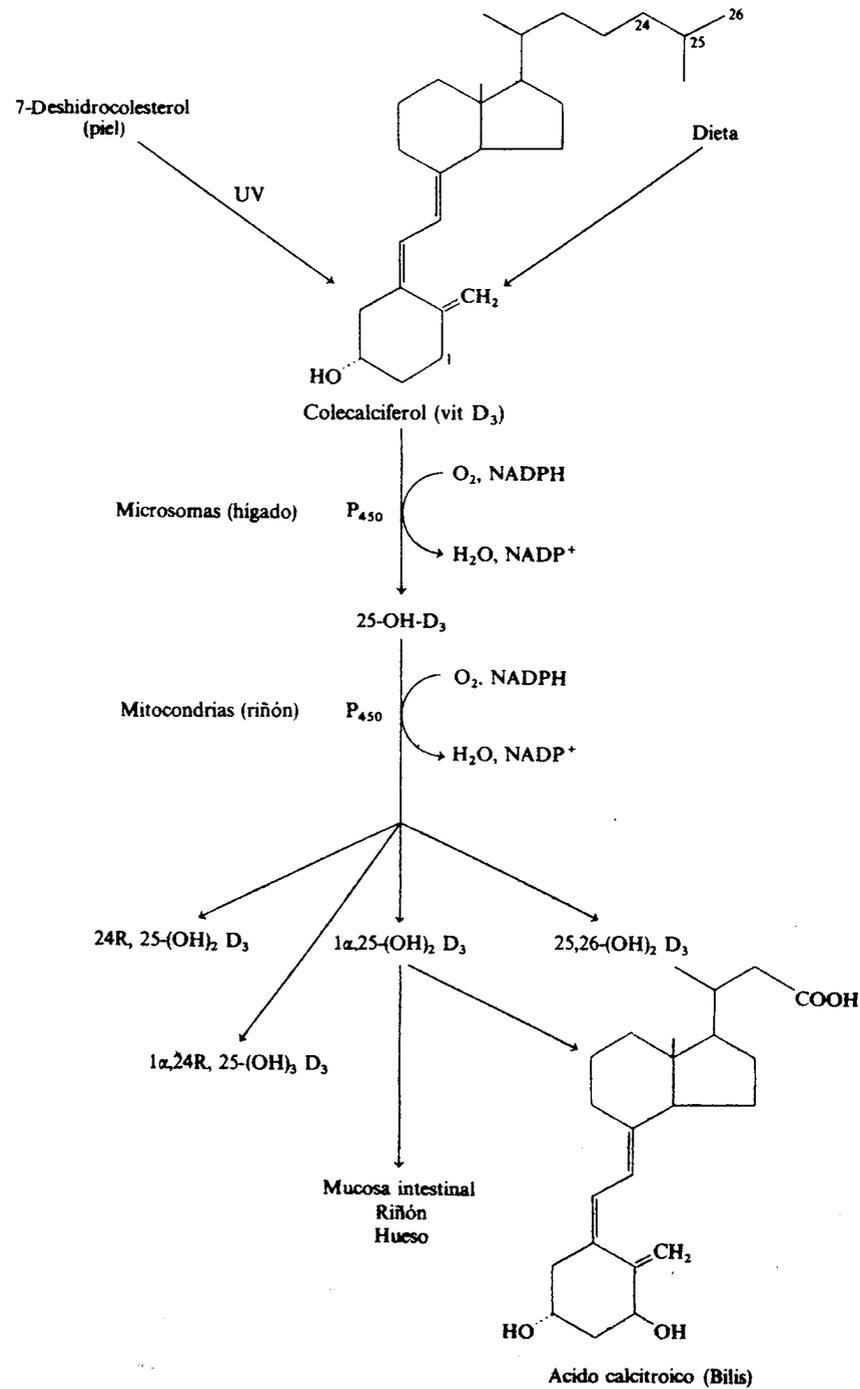


Figura 28.17. Biosíntesis de los metabolitos hidroxilados de la vitamina D₃.

rica en secuencias AT, mediante interacciones hidrofóbicas. Los acontecimientos nucleares se traducen en la inducción de las siguientes proteínas:

1. *CaB* (Calbindina, Calcium Binding Protein): miembro de la familia de las calmodulinas (cadena ligera de la miosina, proteína S-100, troponina C, parvalbú-

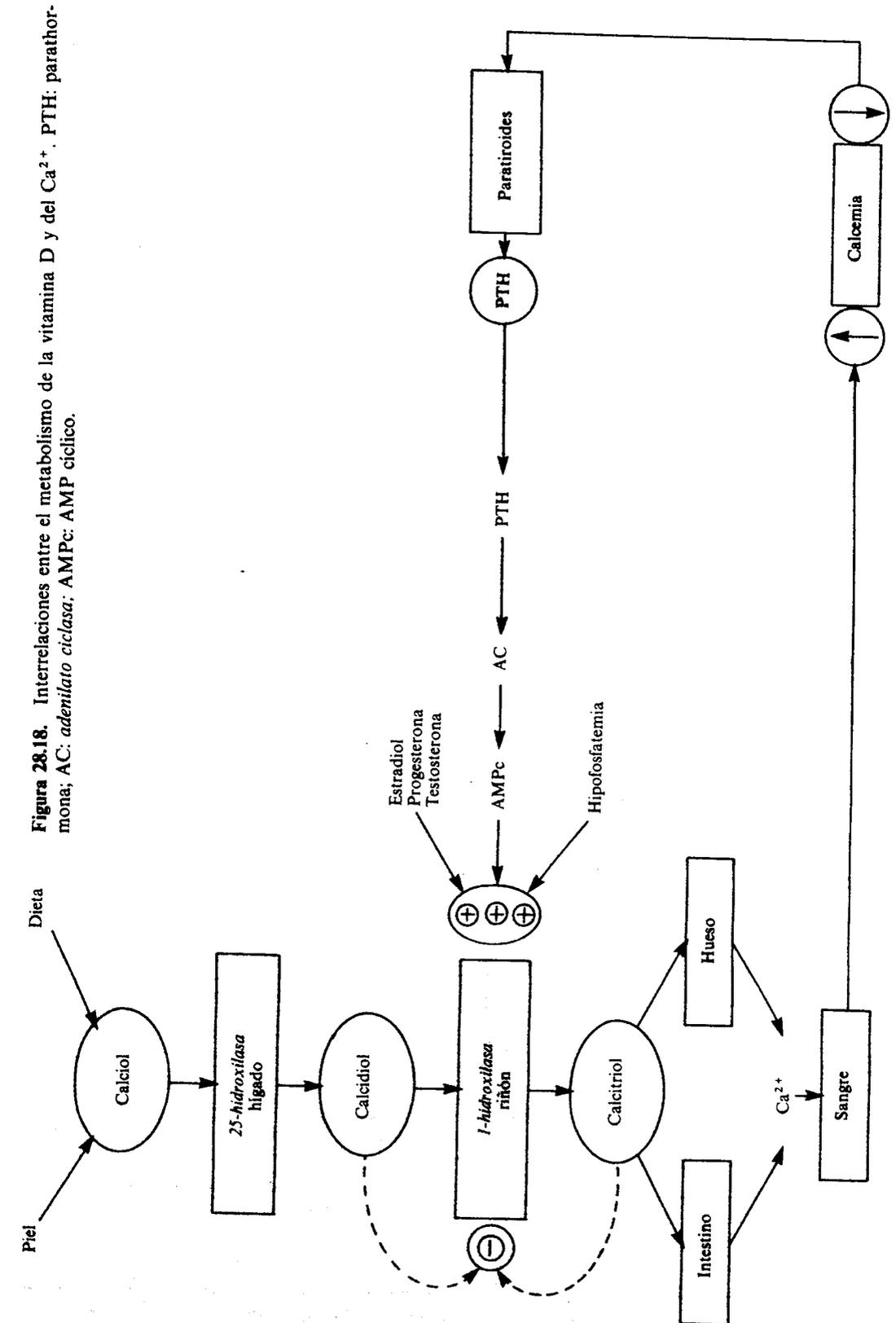


Figura 28.18. Interrelaciones entre el metabolismo de la vitamina D y del Ca²⁺. PTH: parathormona; AC: adenilato ciclasa; AMPc: AMP cíclico.

mina), de 28.000 daltons (tipo aviar) o 9.000 daltons (tipo mamíferos). Aparece en el tracto gastrointestinal, páncreas, riñón, hueso, pulmones y adrenales. Regula la concentración, el movimiento del Ca^{2+} , o los dos, a través de la célula epitelial.

2. *Fosfatasa alcalina*: estimulada por calcitriol al igual que la ATPasa dependiente de Ca^{2+} .

3. *Hormonas peptídicas y otras proteínas*: PTH, insulina, prolactina, osteocalcina, proteína mediadora de espermina, etc.

Además de su acción sobre el genoma, el calcitriol induce una rápida estimulación del transporte de la Ca^{2+} en el duodeno, independiente de la calbindina, por un proceso de endocitosis.

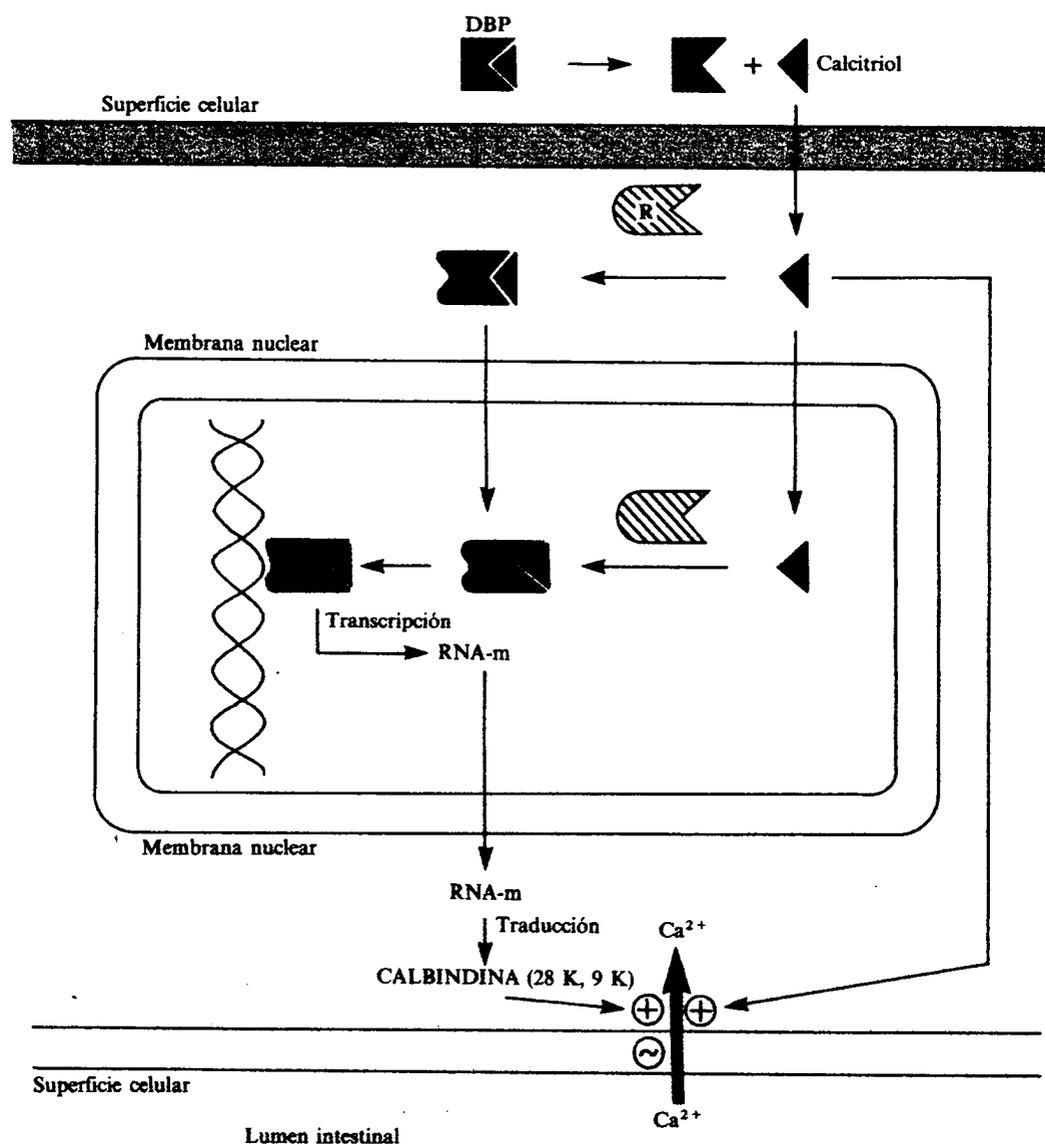


Figura 28.19. Mecanismo molecular de la acción de la vitamina D en la absorción intestinal del Ca^{2+} . ~ indica dependencia de energía. DBP: Vitamin D Binding Protein.

Otras funciones asignadas al calcitriol son la estimulación de la secreción de prolactina por las células GH4 de la pituitaria, la inducción de la acumulación del 7-deshidrocolesterol en la capa malpighiana de la piel y la participación en la diferenciación de células de leucemia mieloide a macrófagos y de éstos a osteoblastos, lo que sugiere el uso clínico del calcitriol para estos tipos de cáncer.

Además de influir sobre el transporte de Ca^{2+} , fosfato y Mg^{2+} en el intestino, el calcitriol estimula la síntesis de osteocalcina en el hueso, inhibe la *1-hidroxilasa* y estimula la *24-hidroxilasa* en el riñón, así como la acumulación de 7-deshidrocolesterol en la piel.

Una visión actualizada de las funciones de la vitamina D recoge necesariamente su influencia en células de tejidos y órganos muy diversos que incluyen, además del intestino y el hueso, el cerebro, el cartilago, el riñón, la glándula mamaria, el músculo, el ovario, la placenta, las glándulas paratiroides, la parótida y la pituitaria, la piel, los dientes, los testículos, el timo, el útero, los macrófagos, los monocitos y los linfocitos. En este contexto, el calcitriol regula no sólo la concentración de Ca^{2+} extracelular, sino también la intracelular, además de promover cambios en procesos metabólicos muy diversos, como la síntesis de poliaminas en las células intestinales o la inhibición de la producción de interleucina-2 por los linfocitos T activados por fitohemaglutinina.

La debilidad muscular asociada al raquitismo y la osteomalacia que tienen lugar en situaciones de carencia de vitamina D se debe a la acción de esta vitamina sobre el músculo esquelético. La presencia del calcitriol revierte determinadas alteraciones estructurales del retículo sarcoplásmico y de las fibras musculares, afectando al mismo tiempo al transporte de Ca^{2+} (al afectar a la *ATPasa-Ca²⁺*) en mitocondrias, retículo sarcoplásmico y sarcolema. La base molecular de la acción de la vitamina D sobre el metabolismo del calcio en el músculo esquelético puede explicarse en términos de expresión génica (cambios en la transformación de fosfatidiletanolamina en fosfatidilcolina pueden afectar al transporte de Ca^{2+}) o por acción directa del calcitriol sobre los canales del calcio.

La 24,25-dihidroxi-vitamina-D₃ interacciona con diferentes receptores que el calcitriol. En el hueso, y a una concentración 10^{-12} M, estimula la incorporación de SO_4^{2-} en los proteoglicanos. Interviene en la mineralización, junto con la PTH (parathormona) y el calcitriol, y causa regresión de las glándulas paratiroides.

Una hipótesis reciente asigna al calcitriol un papel de conmutador entre los procesos de proliferación y diferenciación celulares.

Deficiencia

Las principales fuentes de vitamina D en el hombre son los alimentos (leche e hígado de pescado) y la reacción fotoquímica de la piel. Algunos alimentos como la leche y la mantequilla suelen enriquecerse artificialmente con vitamina D. El requerimiento normal diario para un adulto oscila alrededor de los 7,5 μg de calcio.

La hipocalcemia e hipofosfatemia causadas por la avitaminosis D se traducen en enfermedades carenciales como el raquitismo en los niños y la osteomalacia en los adultos, caracterizadas por una osificación anormal y el reblandecimiento y la deformación de los huesos. El raquitismo aparece si el producto de la concentración de calcio y fosfato séricos es inferior a 30 mg/100 ml, lo que ocurre en los casos de deficiencia de vitamina D. Algunos tipos de raquitismo son hereditarios y todos ellos incluyen anomalías en la absorción o metabolismo de la vitamina D o

de sus derivados hidroxilados en las células blanco. Uno de estos raquitismos, resistente al tratamiento con vitamina D, consiste en un defecto genético por el que falta la *1-hidroxilasa* renal. En otros casos existe una regulación defectuosa de la enzima por la concentración de fosfato en la sangre. Otras enfermedades hereditarias son raquitismos dependientes de vitamina D tipo I (baja concentración de calcitriol circulante) y tipo II (defecto en la absorción nuclear del calcitriol), el raquitismo hipofosfatémico ligado al sexo (malabsorción de fosfato inorgánico en intestino o riñón), la osteoporosis (resistencia de los osteoclastos al calcitriol), calcinosis tumoral y síndrome de Williams (hiperproducción de calcitriol).

Los estados deficientes de vitamina D se pueden clasificar en dos grupos:

A) Baja concentración de metabolitos D circulantes

1. Producción defectuosa de calcitriol o sus metabolitos debido a:
 - a) Aporte inadecuado por efectos ambientales (irradiación UV) y anomalías gastrointestinales.
 - b) Producción deficiente de 7-deshidrocolesterol, calcidiol, calcitriol (deficiencia hereditaria o adquirida de la *1-hidroxilasa*).
2. Incremento de la eliminación de los metabolitos D:
 - a) Por excreción urinaria: síndrome nefrótico.
 - b) Por recirculación enterohepática.
 - c) Por catabolismo enzimático: se conocen 17 catabolitos D, de los que 16 se producen *in vivo*. Ninguno de ellos es activo, excepto la 1,24,25-trihidroxi-vitamina-D₃.
Las drogas anticonvulsivas pueden incrementar este catabolismo.

B) Alta concentración de calcitriol circulante

1. Sin anomalías en las células blanco debido a:
 - a) Deficiencia de Ca²⁺: el aumento de calcitriol es un mecanismo compensatorio.
 - b) Deficiencia de fosfato.
 - c) Síndrome de «huesos hambrientos» o submineralizados.
2. Con anomalías en las células blanco. Pueden ser:
 - a) Hereditarias: falta de receptores o anomalía en los mismos.
 - b) Adquiridas: drogas.

En los casos de fracaso renal crónico se produce una incapacidad para regenerar calcitriol y, como consecuencia, el calcio del hueso se convierte en la única fuente de calcio sérico. Esta situación se complica por un incremento en la absorción renal de fosfato, por lo que se producen calcificaciones metastásicas (osteodistrofia).

La hipocalcemia estimula la producción de parathormona, lo que acelera la velocidad de pérdida de calcio del hueso. El reajuste del calcio sérico mediante la administración de megadosis de vitamina D o de calcio ha de acompañarse por una terapia de reducción del fosfato mediante varios fijadores del mismo.

En la osteomalacia, los huesos resultan más blandos que en el raquitismo y además disminuye la razón Ca²⁺/fosfato.

Un tipo de hipocalcemia está causado por la administración de fármacos anticonvulsivos en el tratamiento de la epilepsia. Estos fármacos (fenobarbital) inducen oxigenasas microsómicas que degradan la vitamina D.

Los requerimientos humanos de vitamina D dependen de la cantidad de luz UV a que está expuesto diariamente el organismo. Los vidrios y humos impiden el paso de los fotones UV, por lo que, al igual que en los países nórdicos, se recomienda la adición de vitamina D en los alimentos y su administración directa a los niños de corta edad.

Toxicidad

El exceso de vitamina D se mantiene en la sangre durante meses y origina trastornos como náuseas, anorexia, debilidad, dolor de cabeza, trastornos digestivos y poliuria. A veces resultan daños irreversibles en los riñones y calcificaciones de otros tejidos blandos. El umbral de toxicidad está en 500-600 µg de calcitriol por kilogramo de peso y día.

VITAMINA E

El término vitamina E se usó en un principio en los años veinte para designar un factor de la dieta animal considerado especialmente importante para los procesos reproductivos. En 1920, Matthill y Conklin descubrieron una anomalía reproductiva en la rata. En 1922, Evans y Bishop demostraron que dichas anomalías se evitaban con un factor presente en el germen de trigo. La vitamina E está formada por una serie de compuestos liposolubles, los *tocoferoles* (del griego engendrar), que evitan la esterilidad en la rata y los trastornos en la absorción intestinal de grasas en el hombre, así como diversos desórdenes en los animales de experimentación, desde distrofia muscular hasta hemólisis.

En 1936, Karrer aisló de la fracción lipídica del germen de trigo dos compuestos con actividad vitamínica E, a los que llamó α y β -tocoferol. Más tarde se descubrieron otros dos, γ y δ -tocoferol, y otros cuatro compuestos relacionados, los α , β , γ y δ -tocotrienoles (figs. 28.20 y 28.21). Químicamente, estos compuestos consisten en un anillo de cromano con un grupo alcoholico en la posición 6, grupos metilos en las posiciones 2, 5, 7 y 8, y un resto isoprenoide o insaturado en la posición 2. El nombre sistemático del α -tocoferol es 2,5,7,8-tetrametil-2-(4'-8'-12'-trimetil-tridecil)-6-cromanol.

De todos los tocoferoles, el RRR- α -tocoferol es el más abundante en la naturaleza y el que posee mayor actividad vitamínica E. En 1959, la Food & Nutrition Board de Estados Unidos reconoció la esencialidad de la vitamina E para los humanos.

Se conocen numerosos tocoferoles sintéticos con distintos sustituyentes y diversa actividad biológica. Los derivados con grupos etilo o metoxi en lugar de metilo pierden gran parte de esta actividad. En general, cuanto más insaturado esté el anillo de cromano mayor será la actividad biológica de los derivados del α -tocoferol. De ahí que el tococromenol, con un doble enlace 3,4, posea una actividad biológica mayor que la del propio α -tocoferol. Por otra parte, las tocoferaminas (con un grupo amino en lugar del alcohol) poseen casi un 100 por 100 de la actividad, mientras que los azatocoferoles (con un N sustituyendo al O del anillo) son inactivos. El isómero con la configuración 2S carece también de actividad antioxidante.

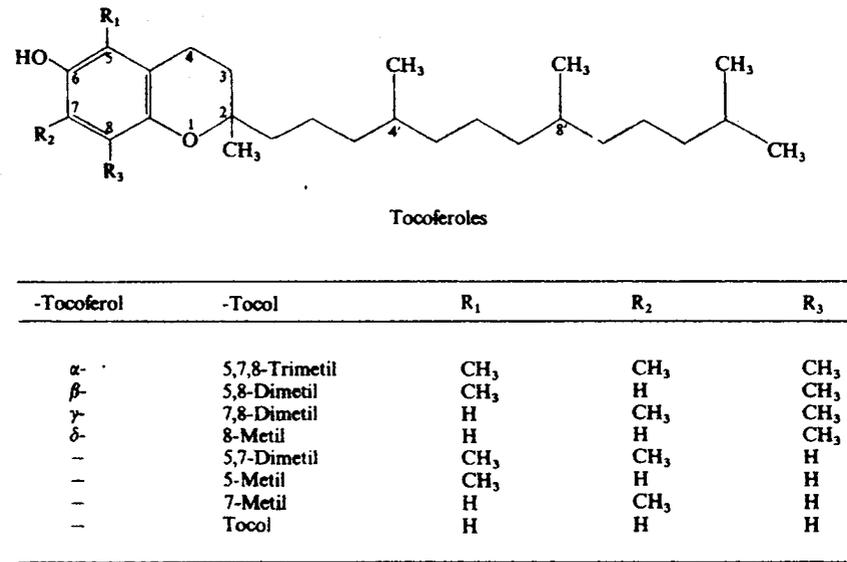


Figura 28.20. Estructura química de los tocoferoles.

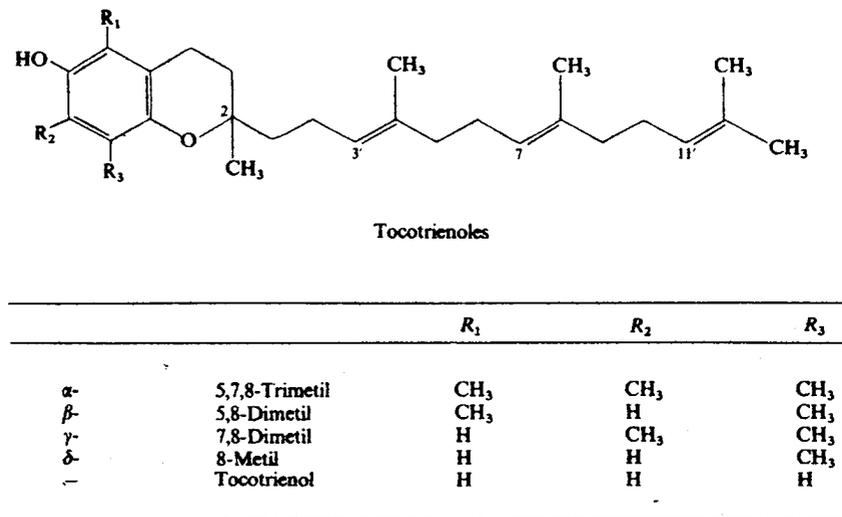


Figura 28.21. Estructura química de los tocotrienoles.

Biosíntesis y metabolismo

La biosíntesis de los tocoferoles tiene lugar por confluencia de dos rutas metabólicas: la del isopreno activo y una ruta mixta que parte del sikimato (compuesto intermediario de la síntesis de aminoácidos aromáticos), e incluye reacciones de biosíntesis y degradación de estos aminoácidos hasta llegar al ácido homogentísico. Este último se condensa con el fitil-PP_i para dar los tocoferoles o con el geranilgeranil-PP_i para dar los tocotrienoles (fig. 28.22). El residuo de fitilo es clave para el anclaje de los tocoferoles a la membrana celular.

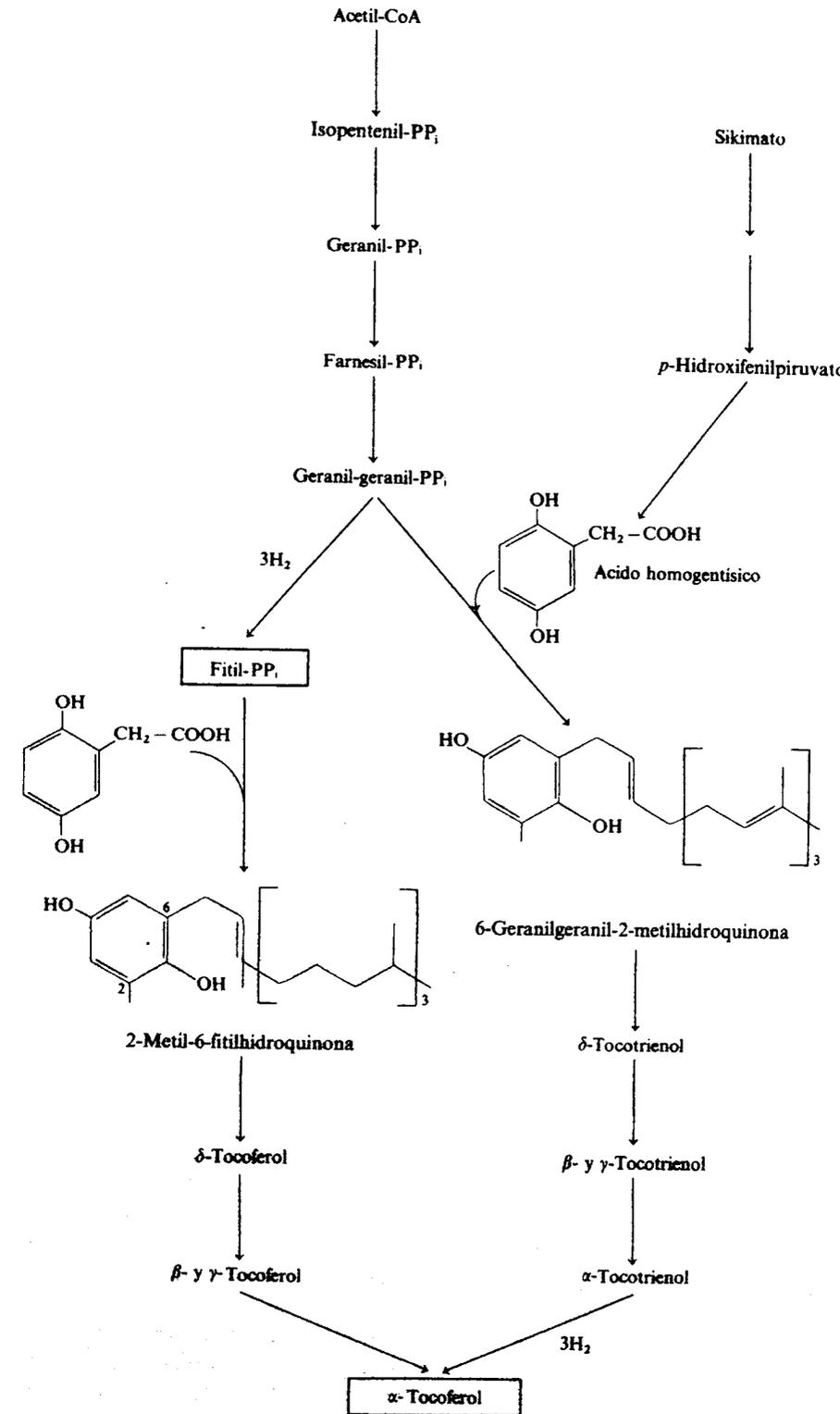


Figura 28.22. Biosíntesis de la vitamina E según la ruta propuesta por Pennock.

La absorción de vitamina E tiene lugar en el yeyuno en presencia de sales biliares. En la linfa, la vitamina E se encuentra asociada a los quilomicrones y a las lipoproteínas de baja densidad (65 por 100 del tocoferol), alta densidad (24 por 100) y muy baja densidad (8 por 100). El receptor LDL así como la lipoproteína lipasa desempeñan un importante papel en la liberación del tocoferol a los tejidos. En el hombre, tanto el anillo de cromano como la cadena lateral se degradan dando productos como la tocoferonolactona (fig. 28.23) que se excreta en la bilis conjugada con dos moléculas de glucuronato.

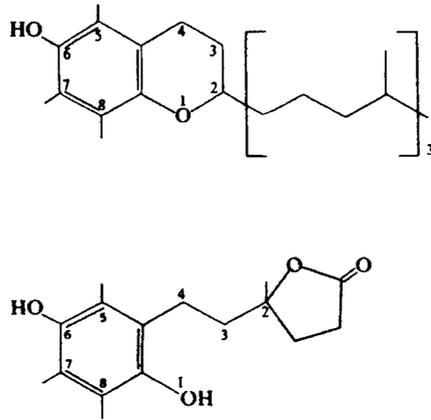


Figura 28.23. En la parte inferior, uno de los productos de oxidación del α -tocoferol mostrando la numeración que permite relacionar los átomos del compuesto original de la parte superior de la figura. El compuesto oxidado es la tocoferonolactona.

Funciones fisiológicas

Las propiedades de la vitamina E se derivan de su estructura molecular: es una molécula liposoluble capaz de fijar radicales libres del tipo O_2^- , O_2^{2-} y $HO\cdot$; debido al grupo fenólico. Por consiguiente, se le puede asignar un papel de antioxidante natural en las membranas biológicas, lipoproteínas y depósitos de grasa.

El mecanismo de la autooxidación de las estructuras lipídicas implica una reacción en cadena en la que un radical formado a partir de un precursor molecular reacciona con una cadena hidrocarbonada produciéndose radicales alílicos estabilizados por resonancia, que pueden polimerizarse o reaccionar con el O_2 dando lugar a hidroperóxidos que, a su vez, determinan reacciones ramificadas de peroxidación con producción de radicales hidroperoxilo, alcoxilo y especialmente hidroxilo ($OH\cdot$), especie química esta última particularmente deletérea por su gran reactividad (fig. 28.24). Estos radicales juegan un papel importante en la destrucción de estructuras celulares (procesos de envejecimiento). Los antioxidantes controlan y reducen la peroxidación de los lípidos, bien de forma preventiva, reduciendo los hidroperóxidos a alcoholes, o descomponiéndolos catalíticamente a productos no radicales (así actúan diversas enzimas como la *catalasa* y la *peroxidasa*): o bien interfieren en la reacción en cadena de formación de radicales, atrapando los radicales peroxilo mediante estructuras fenólicas o de aminas aromáticas, siendo posteriormente reparado el antioxidante mediante agentes reductores como la vitamina C (fig. 28.25).

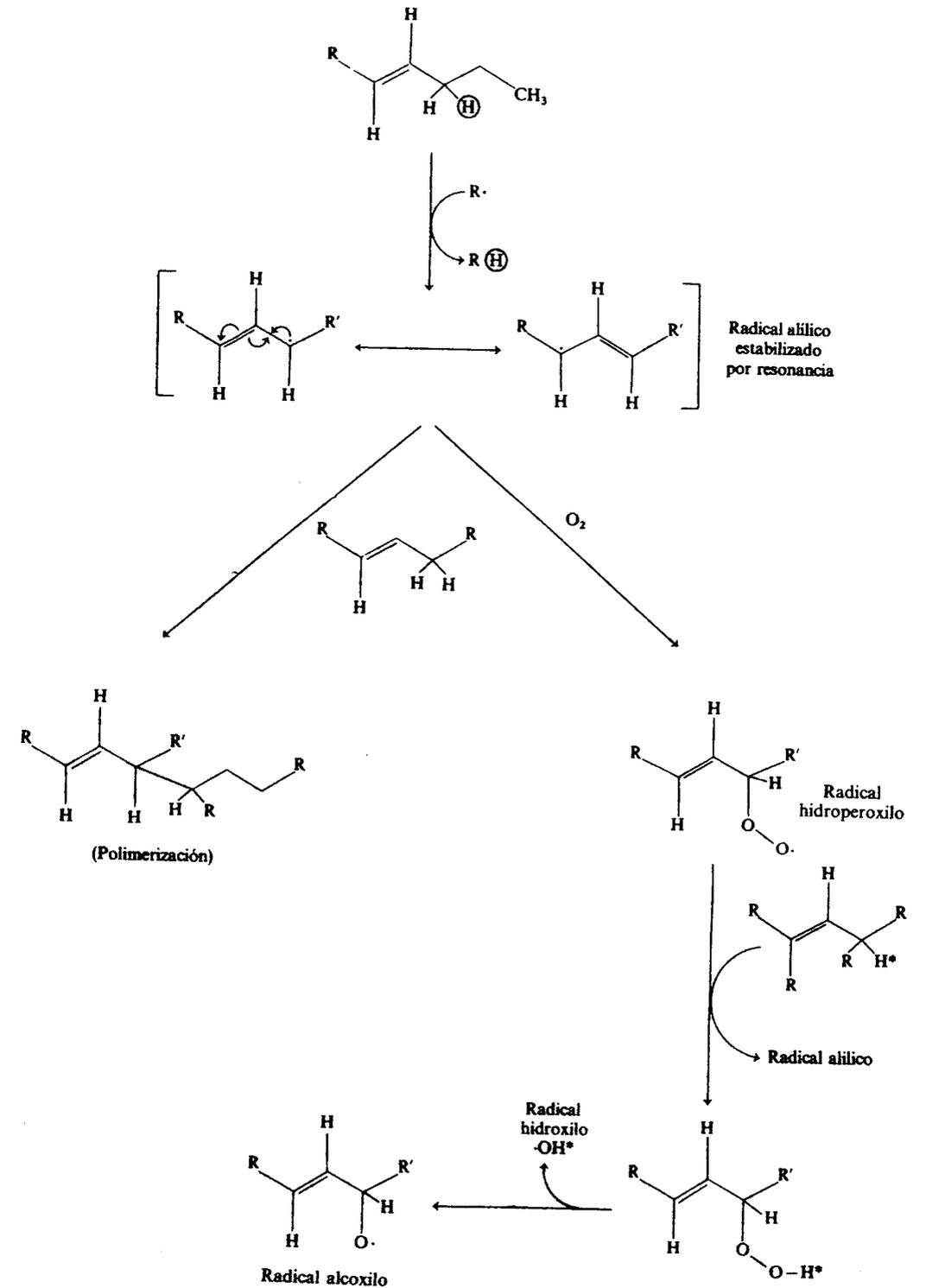


Figura 28.24. Reacciones de los radicales alílicos con los ácidos grasos insaturados y con el dióxigeno.

La inhibición de la peroxidación lipídica en las membranas por el tocoferol no origina acumulación de hidroperóxidos porque aquél funciona como un «canal molecular» a través del cual los radicales abandonan la zona hidrocarbonada de la membrana.

Los tocoferoles también pueden eliminar otras moléculas de alta reactividad como el oxígeno singlete (1O_2) o los compuestos carbonílicos triplete ($^3[\text{>C}=\text{O}]^*$).

Los tocoferoles pertenecen a este segundo grupo de antioxidantes disruptores de la reacción en cadena y actúan formando radicales hidroquinona estables que no perturban la química celular (fig. 28.25) y que, posteriormente, se regeneran a vitamina E por aceptación enzimática de un electrón. De esta forma protegen de la oxidación las estructuras y moléculas lipídicas (como la vitamina A).

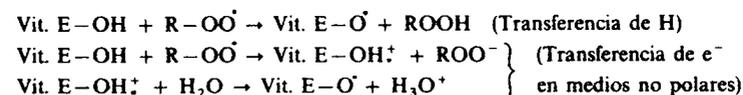
El selenio, un componente de la *glutatión peroxidasa*, disminuye el requerimiento de vitamina E, ya que la acción preventiva de la *peroxidasa*, eliminando los peróxidos, hace menos necesaria la actividad de la vitamina E. Por otra parte, el selenio favorece la función pancreática y la digestión y absorción de materiales lipídicos (entre ellos, la vitamina E) y contribuye a la retención de ésta por las proteínas plasmáticas.

Las interconexiones entre los procesos oxidativos y la acción de los antioxidantes se recogen en la figura 28.26.

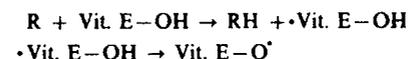
Además de estas funciones de protección, los tocoferoles desempeñan un papel en la respiración celular (estabilizando o facilitando la transferencia electrónica a la coenzima Q), en la síntesis del grupo hemo (aumentando la cantidad de δ -aminolevulinato sintasa y δ -aminolevulinato deshidrogenasa) y en la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos (inhibiendo, como la aspirina, la *ciclooxigenasa* que actúa al principio de la ruta de formación de los endoperóxidos cíclicos a partir del ácido araquidónico).

Se ha atribuido a la vitamina E un papel protector frente al cáncer producido por agentes contaminantes, como el ozono o el dióxido de nitrógeno que generan radicales libres. Estos pueden estar implicados además en otros procesos como las enfermedades cardíacas, la osteoartritis, el enfisema y, quizá, la diabetes y la

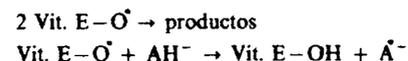
a) Eliminación de radicales hidroperóxido:



b) Eliminación de radicales alílicos:



El radical cromanoóxido es muy estable y reacciona con él mismo o con otros antioxidantes como el ascorbato, urato o serotonina y otros derivados hidroxindólicos presentes en el sistema nervioso:



c) Eliminación de estados electrónicos excitados:

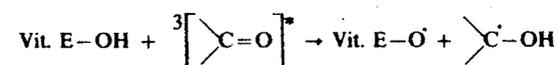


Figura 28.25. Papel de la vitamina E como antioxidante.

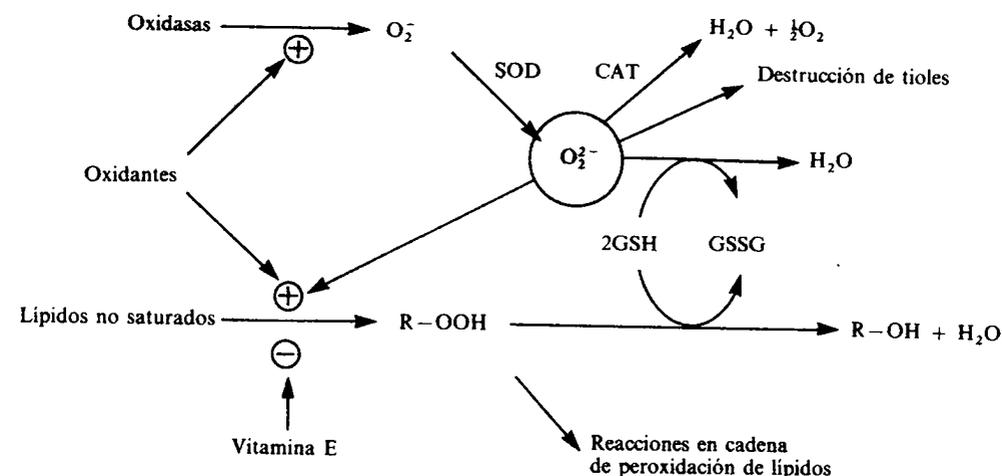


Figura 28.26. Interrelaciones entre los procesos de oxidación celular y la vitamina E y otros sistemas antioxidantes. SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; GSH: glutatión reducido.

cirrosis, sin olvidar el envejecimiento, las cataratas y ciertos desórdenes neurológicos como la disquinesia.

Deficiencia

Las fuentes principales de tocoferol son los aceites vegetales, legumbres, frutos secos, cereales y vegetales verdes.

Los efectos de la deficiencia en vitamina E varían considerablemente según el tipo de organismo, incidiendo fundamentalmente en el sistema reproductor, tejidos nervioso y muscular, y eritrocitos. En ratas, la deficiencia de tocoferoles causa infertilidad por degeneración irreversible del tejido germinal. En estado carencial los embriones mueren después de la primera semana a menos que se suministre vitamina E. En los humanos los síndromes deficitarios de vitamina E son de cuatro tipos: hematológicos, neurológicos, inmunitarios y cardiovasculares.

El síndrome hematológico se debe a la desestabilización de la membrana de los hematíes por peroxidación del componente lipídico, lo que causa anemia hemolítica en los prematuros recién nacidos. Por otra parte, hay que considerar su efecto de agente antiagregante plaquetario como consecuencia de la inhibición de la *ciclooxigenasa* del ácido araquidónico en la ruta de síntesis de tromboxanos.

El síndrome neurológico se debe a que, en ausencia de vitamina E, se producen retinopatías en los prematuros y hemorragias en el SNC. La acción antioxidante de la vitamina E previene las lesiones irreversibles que los radicales libres causan en los capilares retinianos.

El déficit de vitamina E atenúa la respuesta inmunitaria, sobre la que actúa el tocoferol de forma sinérgica con el selenio.

La asociación entre las vitaminas E y A previene las lesiones arterioscleróticas. La vitamina E favorece la persistencia del ductus oponiéndose a la peroxidación del ácido araquidónico, precursor de las prostaglandinas.

Entre los desórdenes hereditarios se encuentra la malabsorción selectiva de vitamina E.

Tabla 28.3

NIVELES DE TOCOFEROL EN SANGRE ENCONTRADOS EN ESTADOS DE DEFICIENCIA DE VITAMINA E EN HUMANOS

Condición	Concentración promedio de tocoferol en suero o plasma (mg/dl)
Nacimiento prematuro	0,20-0,38
Fibrosis cística	0,11-0,44
Otros síndromes de malabsorción	
Atresia biliar	0,11
Cirrosis biliar	0
Obstrucción biliar	0,08
Pancreatitis crónica	0,40
Gastrectomía	0,34-0,58
Resección intestinal	0,31
Colitis ulcerosa	0,24
Malnutrición en proteínas y calorías	0,28-0,49

En situaciones de malabsorción de grasas, la deficiencia en tocoferoles se manifiesta en fragilidad de los eritrocitos, excreción urinaria de creatina y deposición del pigmento ceroides en la musculatura del intestino delgado. La tabla 28.3 recoge algunos síntomas de deficiencia de vitamina E en humanos.

En pacientes con síndrome de Down se da un incremento del estrés oxidativo, por lo que presentan mayores requerimientos de las vitaminas antioxidantes A y E. Asimismo, los antioxidantes pueden prevenir los daños derivados del tratamiento hiperbárico con O₂ en la retina.

Toxicidad

No se han descrito síntomas de toxicidad en el hombre, aunque sí en animales, por lo que conviene evitar las hiperdosis de tocoferoles durante períodos prolongados de tiempo.

VITAMINA K

Las vitaminas K naturales comprenden un grupo de derivados de la naftoquinona con una cadena lateral de varias unidades isoprenicas unidas cabeza con cola, presentes en microorganismos, plantas y animales.

En 1929, el danés Dam descubrió una sustancia que evitaba las enfermedades hemorrágicas en los pollos. Esta sustancia se aisló en 1939 de la alfalfa y se denominó *filoquinona* o *vitamina K₁*. El mismo año se aisló de la carne de pescado en descomposición otro factor antihemorrágico al que se llamó *menaquinona* o *vitamina K₂*. Un tercer factor antihemorrágico se obtuvo sintéticamente y se le llamó *menadiona* o *vitamina K₃*.

La filoquinona es la 2-metil-3-fetil-1,4-naftoquinona; contiene 4 unidades isoprenoides en la cadena lateral y se obtiene de las hojas de alfalfa y otras plantas verdes. La menaquinona es la 2-metil-3N-isoprenil-1,4-naftoquinona; contiene cinco unidades isoprenoides y es de origen animal o microbiano. La menadiona es la 2-metil-1,4-naftoquinona y se obtiene por síntesis química.

Se han detectado diferentes tipos de menaquinonas en microorganismos y

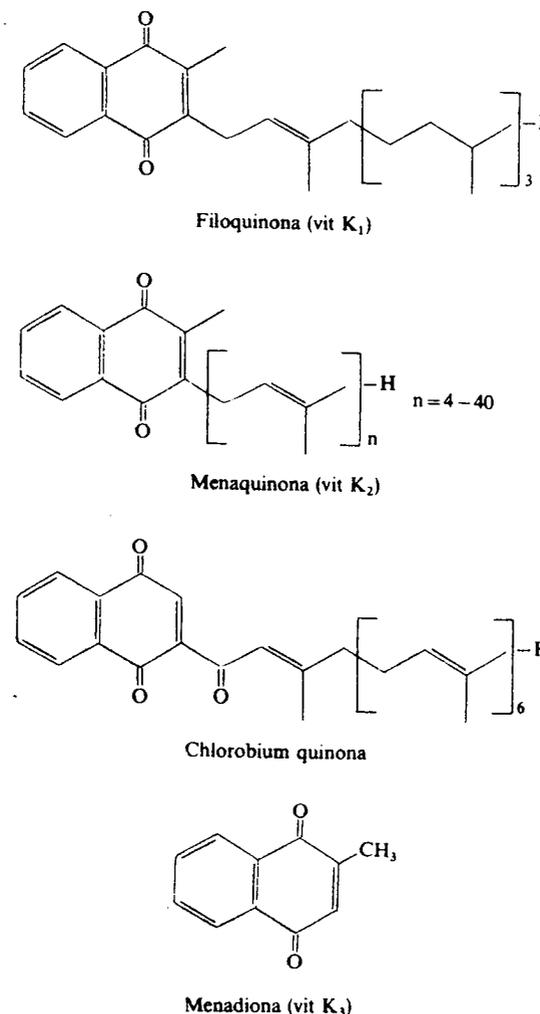


Figura 28.27. Estructura de las vitaminas K.

células animales: las menaquinonas 10, 11 y 12 de hígado de buey (los números indican las unidades isoprenoides de la cadena lateral), las menaquinonas 4, 6, 7 y 8 de *Staphylococcus aureus*, la II-dihidromenaquinona-9, que posee dos isómeros geométricos interconvertibles enzimáticamente y que se han aislado de *Mycobacterium phlei*; la 2-desmetilmenaquinona-9, de *Streptococcus phaealis*; la *Chlorobium quinona* y una 1'-oxomenaquinona-7, aislada en 1963 de *Chlorobium thiosulphatophilum* (fig. 28.27). La filoquinona natural es la 2'-trans, 7'R y 11'R, según la nomenclatura de Cahn, Ingold y Prelog.

Biosíntesis y metabolismo

Las figuras 28.28 y 28.29 representan el origen de los componentes químicos de la vitamina K y su biosíntesis, en la que, como en otras vitaminas liposolubles, participan las rutas del isopreno activo y del siquimato, siendo la reacción clave la condensación de la unidad terpenoide con el 1,4-naftohidroquinona-2-carboxilato,

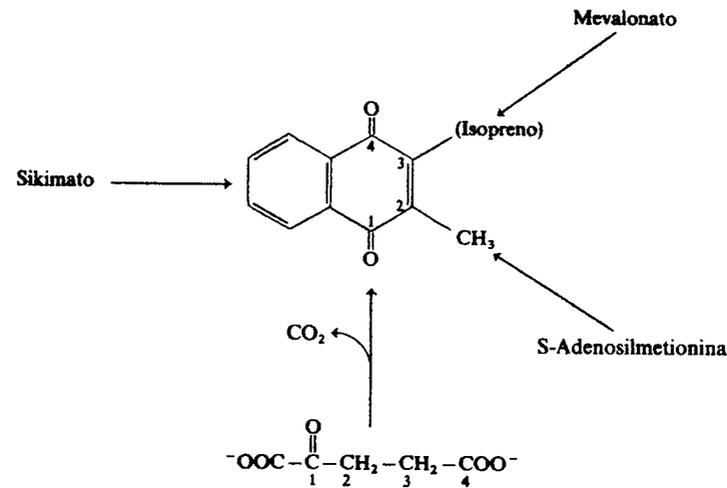


Figura 28.28. Precursores de la vitamina K en bacterias.

derivado succinilado del sikimato. Muchas de las menaquinonas de hígado de mamíferos proceden de las bacterias intestinales. En el hombre, la especie *Bacteroides fragilis* es la más importante en el suministro de vitamina K, además de *E. coli*, *Clostridium* y *Streptococcus*.

La vitamina K en exceso puede almacenarse, aunque se desconocen la forma y el tejido donde esto ocurre.

Funciones fisiológicas

Las filoquinonas se han encontrado exclusivamente en el reino vegetal, fundamentalmente en las lamelas membranosas de los cloroplastos, junto con las plastoquinonas y las tocoferolquinonas. Las menaquinonas bacterianas se encuentran asociadas a estructuras membranosas donde ocurren procesos de transporte electrónico.

Ciertas proteínas se carboxilan gracias a una reacción en la que participa la vitamina K y se han detectado en hígado, riñón, placenta, hueso, páncreas, bazo, pulmones, testículos y en el veneno de ciertos reptiles y peces. La reacción de carboxilación requiere tres enzimas de membrana: una carboxilasa, una *vitamina K quinona reductasa* y una *vitamina K epóxido reductasa*. El mecanismo de reacción implica la formación de un intermediario activado capaz de extraer un protón con formación de un carbanión en la posición γ del glutamato y un epóxido de la vitamina K (fig. 28.30.a). Este epóxido regenera la forma activa de la vitamina, KH_2 , mediante dos reacciones catalizadas por reductasas y que se inhiben por el anticoagulante warfarina (fig. 28.30.b).

La coagulación sanguínea requiere la activación secuencial de una serie de zimógenos que son *serina proteasas*. En el plasma se han identificado seis proteínas que dependen de la vitamina K para el mantenimiento de la hemostasia: los factores VII, IX, X, la protrombina y las proteínas C y S. Todas ellas contienen una región rica en residuos γ -carboxiglutamato (Gla), una región similar al factor de crecimiento epidérmico y una región catalítica. Todas, excepto la proteína S, se activan por proteólisis controlada poniéndose en marcha una cadena de reacciones que regulan la coagulación sanguínea.

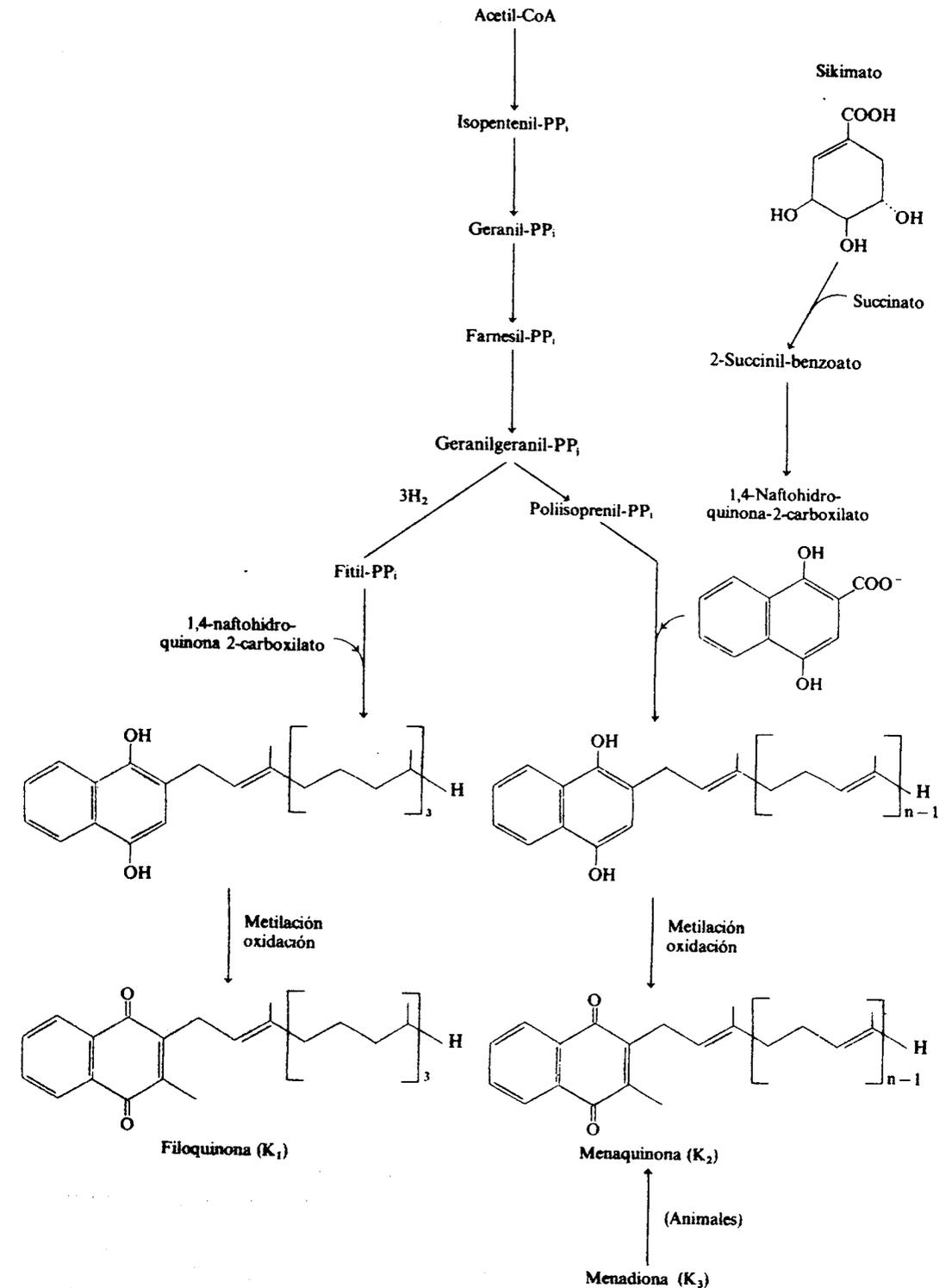


Figura 28.29. Biosíntesis de la vitamina K.

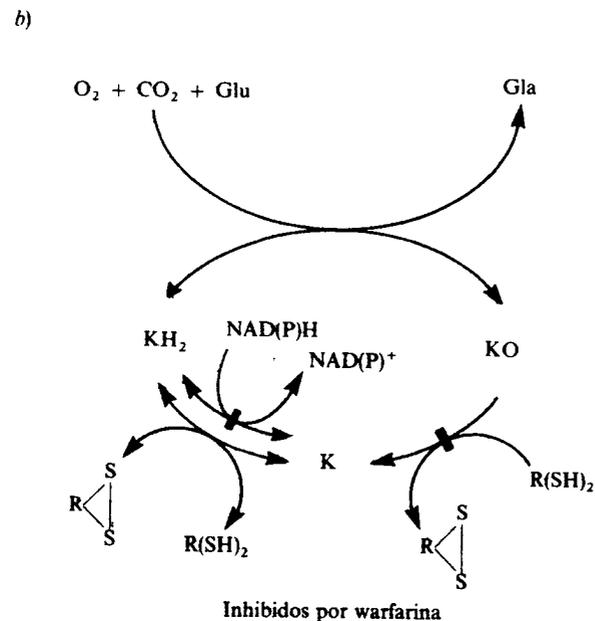
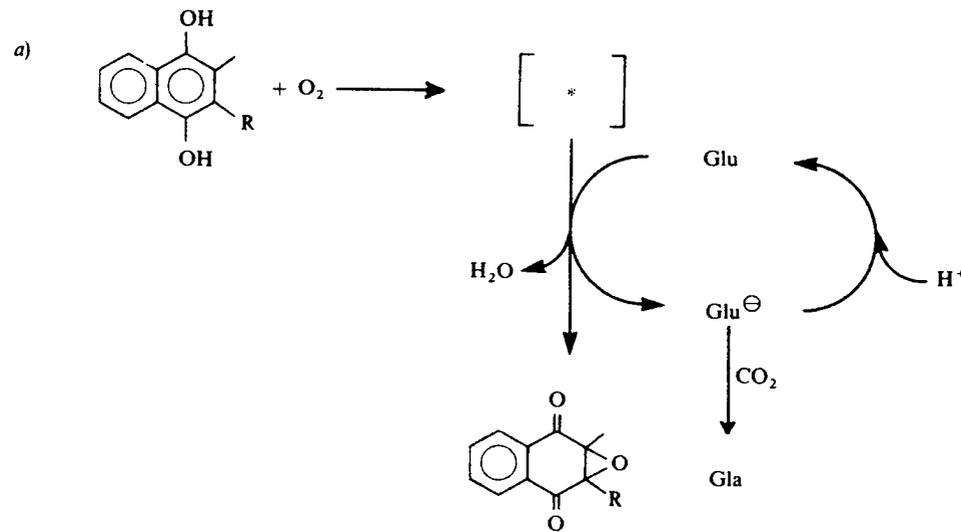


Figura 28.30. a) Mecanismo molecular de acción de la vitamina K. Glu: péptido con residuos de glutamato; *: complejo activado; Gla: péptido con residuos de γ -carboxiglutamato. b) Mecanismo de regeneración de la vitamina K. KO: epóxido de la vitamina K. K: vitamina K oxidada; KH_2 : vitamina K reducida.

El proceso de coagulación requiere la activación de los factores IX y VII, proteasas que activan el factor X, que, a su vez, cataliza la conversión de protrombina en trombina. La subsiguiente formación de monómeros de fibrina que poli-

merizan espontáneamente determina la formación de coágulos insolubles. Las reacciones de activación del factor X y la protrombina tienen lugar en la superficie de una membrana fosfolipídica y requieren la presencia de Ca^{2+} , los factores V y VIII y el factor tisular. El anclaje de estas proteínas a la membrana depende de los residuos Gla que se enlazan mediante puentes de Ca^{2+} a los fosfolípidos, lo que aumenta su concentración efectiva en varios órdenes de magnitud.

La trombina participa, además, en una ruta anticoagulante gracias a su interacción con la trombomodulina, una lipoproteína del endotelio vascular. El complejo trombina-trombomodulina ($K_D = 0,5 \text{ nM}$) activa a la proteína C en un proceso dependiente de los residuos Gla, y ésta se une a la proteína S en la superficie de la membrana, lo que produce la rápida desactivación del factor V por proteólisis limitada.

Otra proteína fijadora de Ca^{2+} que contiene γ -carboxiglutamato es la osteocalcina, que depende de la vitamina K para su actividad. La osteocalcina o proteína Gla del hueso (BGP) posee 49-50 residuos aminoácidos de los cuales tres son γ -carboxiglutamato. Esta proteína es un potente inhibidor de la formación de hidroxapatito *in vitro*, lo que puede ser importante en relación con su actividad fisiológica, no suficientemente aclarada, de inhibidor de la mineralización. Este papel regulador de la velocidad de mineralización requiere que la proteína contenga residuos Gla y un puente disulfuro intacto.

La osteocalcina aparece además en el plasma, donde su concentración es anormalmente alta en pacientes con enfermedades metabólicas del hueso caracterizadas por un fuerte recambio de éste.

En el proceso de formación del hueso intervienen otras proteínas Gla, como la MGP (*Matrix Gla Protein*), de 15.000 daltons, que contiene cinco residuos Gla por molécula.

En situaciones deficitarias de vitamina K o en presencia de warfarina se afecta gravemente el incremento normal de osteocalcina propio del desarrollo, así como la respuesta del hueso al calcitriol (inductor de la síntesis de osteocalcina). Al inhibir la mineralización, la osteocalcina provoca indirectamente un aumento en la disponibilidad del Ca^{2+} sérico, lo que indica que el aumento de la calcemia dependiente de la vitamina D descrito anteriormente se debe a la inducción de la síntesis de osteocalcina. En el suero humano se han encontrado glicoproteínas de función desconocida que contienen residuos de γ -carboxiglutamato para cuya formación se requiere vitamina K.

Los dicumaroles interfieren en la carboxilación del glutamato y son, por tanto, antagonistas de la vitamina K (fig. 28.31). Estas sustancias tienen interés clínico en el tratamiento de trombosis y también como raticidas, por ejemplo, la warfarina, que actúa inhibiendo la regeneración de la vitamina K a partir del epóxido resultante de la reacción de carboxilación (fig. 28.30.b).

Deficiencia

Las fuentes más importantes de vitamina K son las plantas verdes (alfalfa, espinaca, col, coliflor, etc.), el tomate, hígado, yema de huevo, carne y productos lácteos.

Los animales deficientes en vitamina K son propensos a sangrar profusamente por pequeñas heridas y a tener hemorragias subcutáneas por pequeñas magulladuras. Su sangre coagula muy lentamente por una carencia de protrombina activa. Estos efectos carenciales desaparecen rápidamente en individuos sanos por administración de vitamina K. En los recién nacidos humanos la cantidad de protrom-

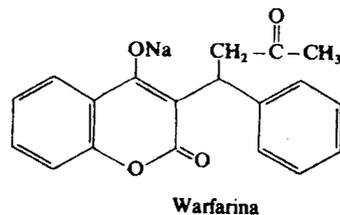
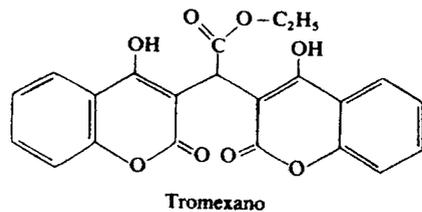
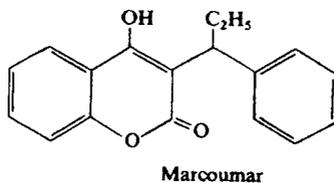
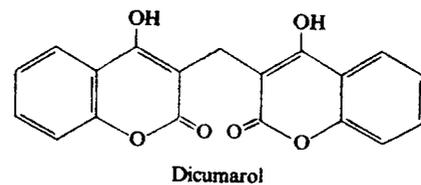


Figura 28.31. Antagonistas de la vitamina K.

bina es muy pequeña, alcanzando un mínimo el tercer día de vida. Esto es consecuencia del déficit de vitamina K, que pasa difícilmente de la madre al feto, y de que el intestino del recién nacido es estéril y carece de vitamina K sintetizada por la flora intestinal. Hacia la primera semana se restablece la normalidad por la presencia de vitamina K procedente de síntesis bacteriana y de la ingestión de leche.

En adultos, la deficiencia es muy rara y puede deberse a trastornos en la absorción de la vitamina por aporte insuficiente de sales biliares o por daños intestinales, a la eliminación de la vitamina por las heces si el contenido intestinal es particularmente graso, o a la desaparición de la flora intestinal por administración de antisépticos.

Entre los desórdenes genéticos está la deficiencia en la proteína C, un heterodímero de 56.000 daltons que limita la coagulación. Estos pacientes responden bien

a megadosis de vitamina K. Otras enfermedades están relacionadas con proteínas Gla que participan en el transporte de Ca^{2+} , deposición de Ca^{2+} , etc., como las enfermedades metabólicas del hueso.

Toxicidad

La toxicidad de la vitamina K parece residir en los análogos sintéticos hidrosolubles, como la menadiona. Estos compuestos actúan como oxidantes, causando inestabilidad y lisis de los eritrocitos. El efecto más pronunciado se observa en recién nacidos y niños prematuros.

QUINONAS

Existen en la naturaleza una serie de compuestos relacionados estructuralmente con la vitamina K, y que intervienen en los procesos de óxido-reducción celulares en los microorganismos y en las células animales y vegetales. De entre estos compuestos sobresalen las plastoquinonas, presentes en los cloroplastos, y, sobre todo, las ubiquinonas, presentes en todos los organismos (de ahí su nombre). Su biosíntesis se lleva a cabo en la membrana mitocondrial interna y se regula a través de la *HMG-CoA reductasa* bajo control hormonal. En levaduras, la primera metilasa está regulada por la concentración de AMP cíclico (fig. 28.32).

Las ubiquinonas contienen un anillo de 2,3-dimetoxi-5-metilbenzoquinona con una cadena lateral isoprenoide en posición 6 (fig. 28.33). La nomenclatura de estos compuestos se basa en el número de unidades isoprénicas insaturadas (2-metil-2-buteno) que forman la cadena lateral. Así, ubiquinona-10 indica una cadena de 10 unidades de isopreno o 50 átomos de carbono.

Los miembros de la serie más frecuentes en la naturaleza son las ubiquinonas 6, 7, 8 y 9. Algunas poseen cadenas laterales parcialmente hidrogenadas, como la ubiquinona-10(H10) y la ubiquinona-9(H9), donde el paréntesis indica la posición del enlace saturado en la cadena lateral (tabla 28.4).

La distribución de las quinonas está relacionada con el metabolismo aeróbico de un tejido u organismo, lo que coincide con el hecho de que son coenzimas en las cadenas respiratorias de citocromos en la mayoría de los organismos. Normalmente no se encuentran quinonas en los anaerobios estrictos tipo *Clostridium* o en los facultativos que carecen de citocromos (*Lactobacillus*). Las bacterias grampositivas (+) que carecen de ubiquinona poseen, sin embargo, vitamina K que desempeña el mismo papel.

Las quinonas se encuentran disueltas en la fase lipídica de la membrana y actúan transportando, a veces, equivalentes de poder reductor entre una cara y otra de la misma, con lo que se convierten en factores decisivos en los fenómenos de transducción energética de acuerdo con la hipótesis quimiosmótica.

La estructura de algunas quinonas se muestra en las figuras 28.33 y 28.34. Las tocoferolquinonas se encuentran fundamentalmente en las plantas.

En las cadenas de transporte electrónico, la concentración de quinonas es siempre muy superior a la de otros transportadores. En los tejidos de mamíferos, la concentración de quinonas es nueve veces superior a la de citocromos, y en las bacterias esta relación puede llegar hasta cuarenta y tres.

De forma semejante a las vitaminas E y K, las quinonas pueden transformarse en cromenoles y las hidroquinonas en cromanoles (fig. 28.35). Las cadenas laterales de la ubiquinona y la plastoquinona se degradan en los organismos animales,

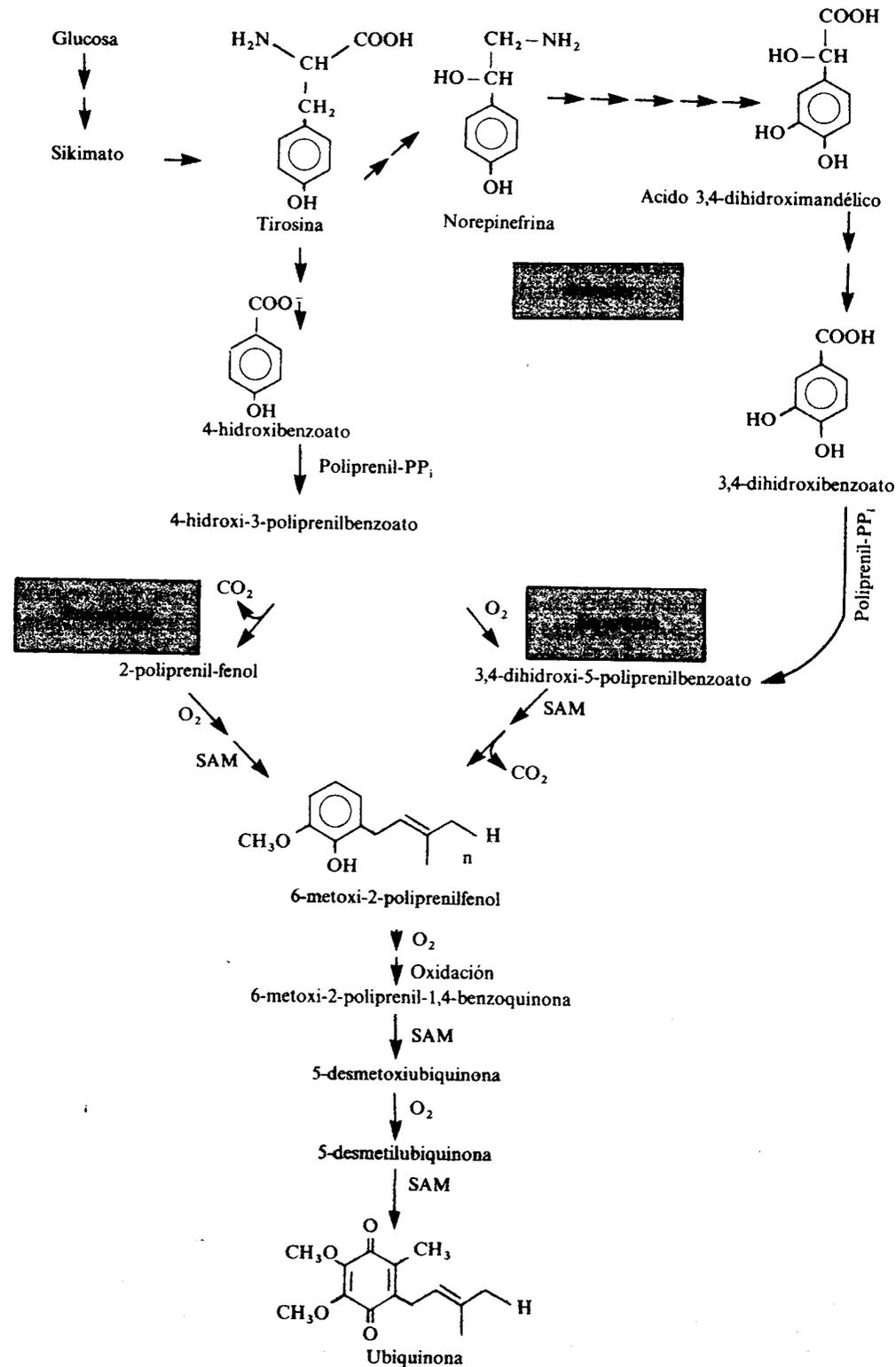


Figura 28.32. Rutas de biosíntesis de ubiquinona en células procarióticas, eucarióticas y animales. La ruta que posiblemente se da en células animales parte lógicamente de la tirosina obtenida de la dieta. SAM: S-adenosilmetionina.

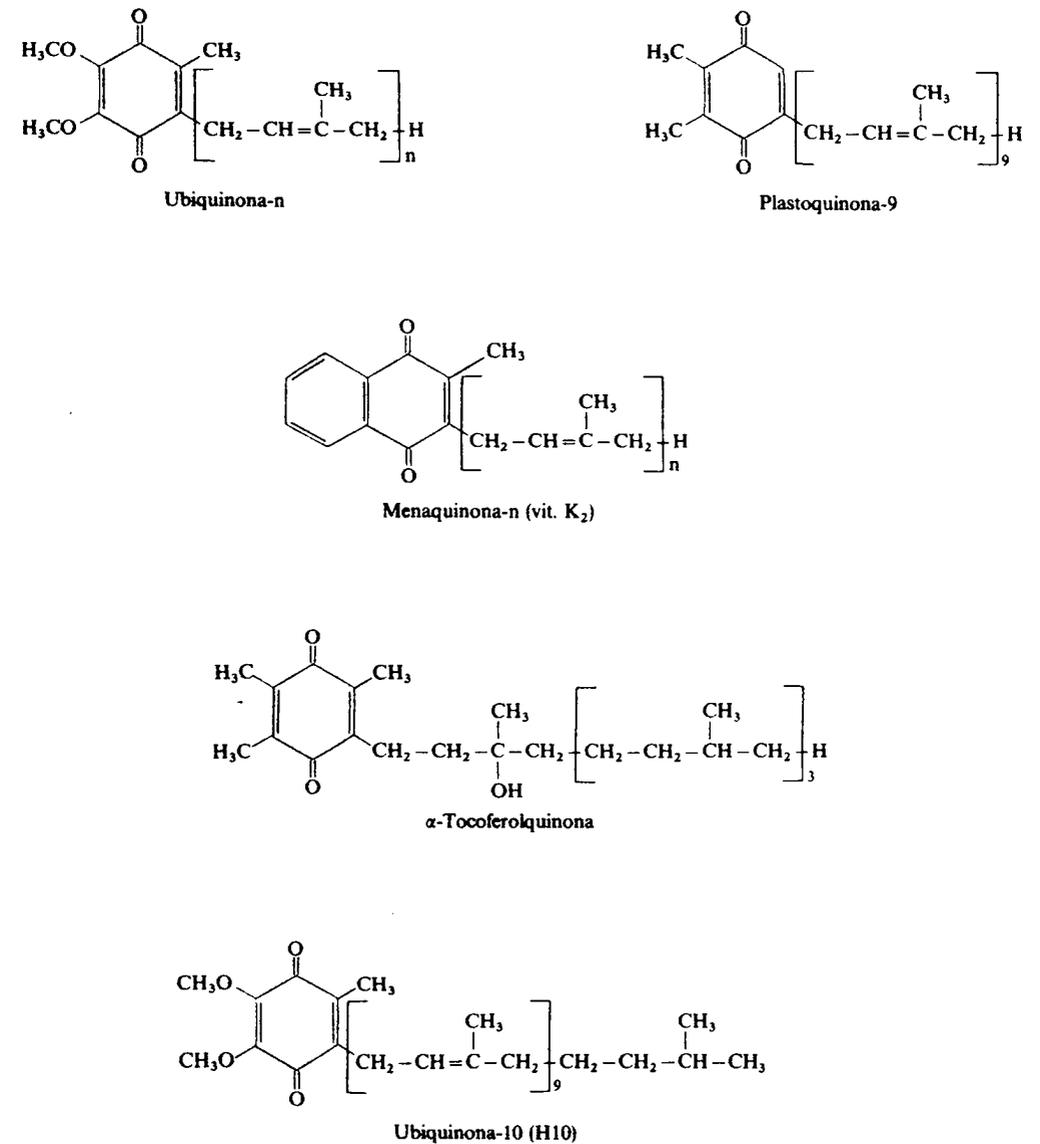


Figura 28.33. Estructura de las quinonas más importantes en los organismos vivos.

quedando reducidas a una cadena de siete átomos de carbono. Los metabolitos correspondientes aparecen en la orina y se muestran en la figura 28.35.

OTROS COMPUESTOS LIPIDICOS DE INTERES NUTRICIONAL

Existen ciertos compuestos relacionados con las vitaminas liposolubles pero que no encajan en la definición de vitamina propuesta anteriormente.

El factor liposoluble necesario para el crecimiento en la rata (vitamina F) encontrado por Evans y Burr está formado por los ácidos grasos insaturados esenciales linoleico, linolénico y araquidónico (fig. 28.36). El ácido linoleico es el 18: *cis,cis*- $\Delta^{9,12}$ (esto es, posee 18 carbonos y dos dobles enlaces a partir del C₆

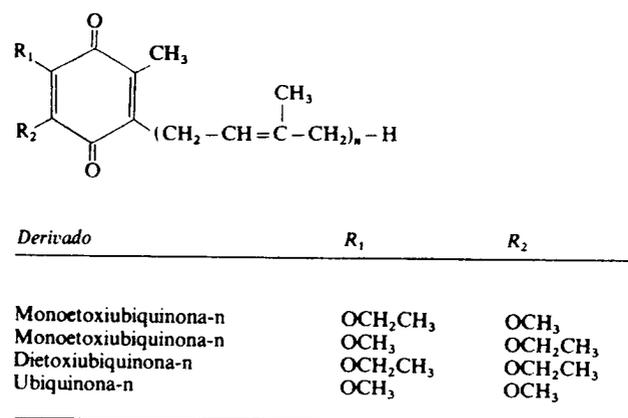


Figura 28.34. Algunos derivados de las quinonas.

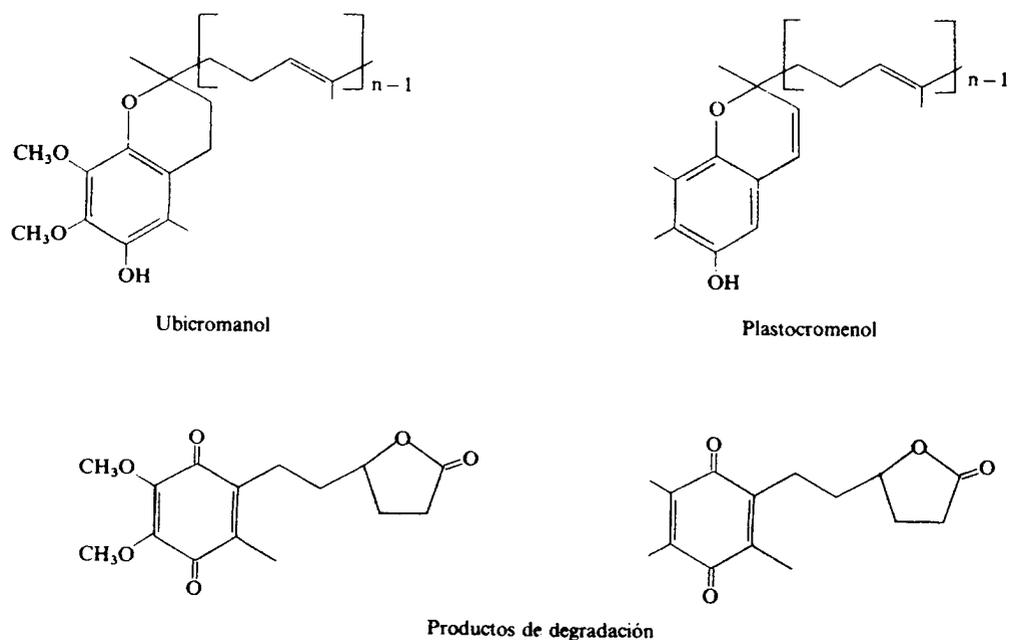


Figura 28.35. Estructura del ubicromanol, plastocromenol y de algunos productos de degradación de las quinonas.

Tabla 28.4
UBIQUINONAS PRESENTES
EN LA NATURALEZA

Organismo	Ubiquinonas
Levaduras	Q-6, Q-7
Bacterias	Q-8, Q-9, Q-10
Plantas	Q-9, Q-10
Hongos	Q-7, Q-8, Q-9, Q-10, Q-10(H ₂)
Invertebrados	Q-9, Q-10
Vertebrados	Q-9*, Q-10

* Sólo en ratas, ratones y pecas.

comenzando por el extremo ω de la cadena). El ácido linolénico es el 18: todo-*cis*- $\Delta^{9,12,15}$ y el araquidónico el 20: todo-*cis*- $\Delta^{5,8,11,14}$. Los ácidos grasos cuyos dobles enlaces están situados entre el C₁ y el C₉ no son esenciales, ya que esas grasas esenciales se encuentran en las plantas verdes y sus semillas, así como en la grasa de los animales marinos. Forman parte de los fosfolípidos de membrana a los que confieren una gran estabilidad. Además, el ácido araquidónico, derivado a su vez del ácido linolénico, es el precursor de las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos. Asimismo, los ácidos grasos participan en el transporte y metabolismo del colesterol que se incorpora a las HDL (lipoproteínas de alta densidad).

La deficiencia en estos compuestos origina la aparición de eczemas en niños. En adultos se producen numerosos estados patológicos, entre los que destacan la aterosclerosis y el aumento de la tendencia a la trombosis. Por otra parte, se conocen efectos beneficiosos de los ácidos grasos esenciales en procesos como la diabetes y el envejecimiento prematuro. El requerimiento de ácidos grasos esenciales en humanos es de 10 mg/día.

POLIPRENOLES

Entre los compuestos poliprenílicos, el dolicol es especialmente abundante en el reino animal. Se trata de un compuesto isoprenoide de 70-115 carbonos, con

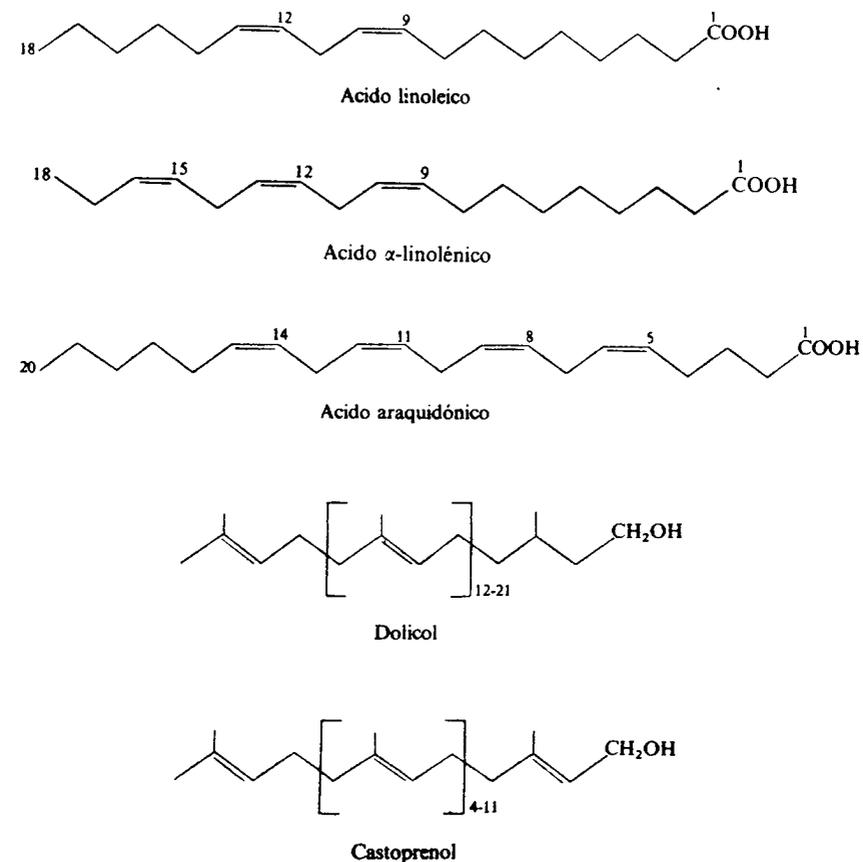


Figura 28.36. Ácidos grasos esenciales y otros compuestos lipídicos de interés bioquímico.

dobles enlaces en configuración *trans*, excepto 3-4 dobles enlaces con configuración *cis* y el último resto isopentano con una función alcohólica primaria que participa en la transferencia de azúcares. Compuestos análogos, con 6-13 restos isopentenilos, como el castoprenol, ficoprenol y betulaprenol, se encuentran en las plantas (fig. 28.36).

TEXTOS DE CONSULTA

- Barker, B. M., y Bender, D. A.: *Vitamins in Medicine*, 4.ª ed., 2 vols., Williams Heinemann Medicinal Books Ltd., Londres, 1980.
- Bedo, G.; Santisteban, P., y Aranda, A.: «Retinoic acid regulates growth hormone gene expression», *Nature*, 339:231-234, 1989.
- Boland, R.: «Role of vitamin D in skeletal muscle function», *Endocrin. Rev.*, 7:434-448, 1986.
- Briggs, M. H.: «Recent Vitamin Research», CRC Press, Boca Raton, Florida, 1984.
- Burton, G. W., e Ingold, K. U.: « β -carotene: an unusual type of lipid antioxidant», *Science*, 224:569-573, 1984.
- Cadenas, E.: «Biochemistry of oxygen toxicity», *Ann. Rev. Biochem.*, 58:79-100, 1989.
- Cancela, L.; Theofan, G., y Norman, A. W.: «The pleiotropic vitamin D hormone», *Hormones and their Actions*, part I (Cooke, B. A., King, R. J. B. y van der Molen, H. J., eds.), Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, págs. 269-289, 1988.
- Chytil, F.: «Retinoic Acid: Biochemistry, Pharmacology, Toxicology and therapeutic Use», *Pharmacol. Rev.*, 36:93-100s, 1984.
- Chytil, F.: «Retinoic acid: biochemistry, pharmacology, toxicology and Therapeutic use», *Pharmacol. Rev.*, 36:93-100s, 1984.
- Chytil, F., y Ong, D. E.: «Retinol and retinoic acid-binding protein», *Adv. Nutr. Res.*, Diplock, A. T.; Machlin, L. J.; Packer, L., y Pryor, W. A. (eds.): «Vitamin E. Biochemistry and health implications», *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 570, The New York Academy of Sciences, Nueva York, 1989.
- Elsas, L. J., y McCormick, D. B.: «Genetic defects in vitamin utilization. Part I: General aspects and fat-soluble vitamins», *Vitam. Horm.*, 43:103-144, 1986.
- Fraser, D. R.: «Regulation of the metabolism of vitamin D», *Ann. Rev. Physiol.*, 60:551-613, 1980.
- Friedman, P. A., y Przysiecki, C. T.: «Vitamin K-dependent carboxylation», *Int. J. Biochem.*, 19:1-7, 1987.
- Ganguly, J.; Rao, M. R. S.; Murth, S. K., y Sarada, K.: «Systemic mode of action of vitamin A», *Vitam. Horm.*, 38:1-54, 1980.
- Isler, O., y Brubacher, G.: *Vitamine I: Fettlösliche Vitamine*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Nueva York, 1982.
- Lawson, D. E. M., y Davie, M.: «Aspects of the metabolism and function of vitamin D», *Vitam. Horm.*, 37:1-67, 1979.
- Leboulanger, J.: *Las vitaminas. Bioquímica, mecanismo de acción, interés terapéutico*, Servicio Científico Roche, Madrid, 1981.
- Luca, H. F., de, y Schnoes, H. K.: «Vitamin D: Recent Advances», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:411-440, 1983.
- Luca, H. F., de: «Recent advances in the metabolism of vitamin D», *Ann. Rev. Physiol.*, 43:199-209, 1981.
- Marx, S. J.; Liberman, U. A., y Eil, C.: «Calciferols: action and deficiencies in action», *Vitam. Horm.*, 40:235-308, 1983.
- Menkes, M. S.; Comstock, G. W.; Villeumier, J. P.; Helsing, K. J.; Rider, A. A., y Brookmeyer, R.: «Serum beta-carotene, vitamins A and E, selenium, and the risk of lung cancer», *New Engl. J. Med.*, 13:1250-1254, 1986.
- Minghetti, P. P., y Norman, A. W.: «1,25 (OH)₂-Vitamin D₃ receptors: gene regulation and genetic circuits», *FASEB J.* 2:3043-3053, 1988.

- Norman, A. W., y Henry, H. L.: «Vitamin D to 1,25-dihydroxycolecalciferol: evolution of a steroid hormone», *TIBS*, 2:14-18, 1979.
- Olson, R. E., y Rudney, H.: «Biosynthesis of ubiquinone», *Vitamin. Horm.*, 40:1-43, 1983.
- Ong, D. E., y Chytil, F.: «Vitamin A and cancer», *Vitam. Horm.*, 40:105-132, 1983.
- Price, P. A.: «Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein (osteocalcin) and its function», *Vitam. Horm.*, 42:65-108, 1985.
- Palma, J. R. di, y Richtie, D. M.: «Vitamin toxicity», *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17:133-148, 1977.
- Stenflo, J., y Suttie, J. W.: «Vitamin K-dependent formation of γ -carboxyglutamic acid», *Ann. Rev. Biochem.*, 46:157-172, 1977.
- Stenflo, K.: «Vitamin K, prothrombin and γ -carboxyglutamic acid», *Adv. Enzymol.*, 46:1-31, 1978.
- Suttie, J. W.: «Vitamin K-dependent carboxylation», *TIBS*, 5:302-304, 1980.
- Suttie, J. W.: «Vitamin K-dependent carboxylase», *Ann. Rev. Biochem.*, 54:459-477, 1985.
- Suttie, J. W. (ed.): *Current Advances in Vitamin K Research*, Elsevier, Amsterdam, 1988.
- Traber, M. G., y Kayden, H. J.: «Vitamin E is delivered to cells via the high affinity receptor for low-density lipoprotein», *Amer. J. Clin. Nutr.*, 40:747-751, 1984.
- Tsoukas, D. C.; Provvedini, D. M., y Manolagas, S. C.: «1,25-Dihydroxyvitamin D₃: a novel immunoregulatory hormone», *Science*, 224:1438-1440, 1984.
- Vitamin E Research & Information Service, 5325 South Ninth Avenue, La Grange, IL 60525 (USA).
- Zalagak, B.; Neuheiser, F., y Curtius, H. Ch.: «Lipophilic conjugates of vitamin D₃ in humans», *Naturwissenschaften*, 71:321-322, 1984.
- Zile, M. H., y Collum, M. E.: «The function of vitamin A: current concepts», *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 172:139-152, 1983.

- ◆ Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU
- ◆ Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Fuentes de aminoácidos: transporte y vías centrales del metabolismo de aminoácidos

FRANCISCA SÁNCHEZ-JIMÉNEZ
e IGNACIO NÚÑEZ DE CASTRO

El metabolismo de aminoácidos está estrechamente relacionado con los procesos biológicos fundamentales. Las macromoléculas más importantes (proteínas y ácidos nucleicos) y otras biomoléculas de gran significado fisiológico, como algunos neurotransmisores, grupos prostéticos y coenzimas entre otros, tienen como unidades fundamentales a los aminoácidos, o a derivados de éstos (fig. 29.1). En un organismo vivo todas estas sustancias presentan una velocidad de recambio que viene determinada en cada momento por la velocidad de síntesis y la de degradación. Este equilibrio dinámico se mantiene gracias a un intercambio de materia entre el ser vivo y su entorno, que está mediado por los mecanismos de incorporación y eliminación de sustancias nitrogenadas y de otros nutrientes.

En microorganismos y organismos vegetales, los esqueletos carbonados de algunos aminoácidos, como el glutamato, son la base orgánica sobre la cual se lleva a cabo la asimilación del amonio. A su vez, el ion amonio es producido por la reducción de los compuestos nitrogenados presentes en el entorno, fundamen-

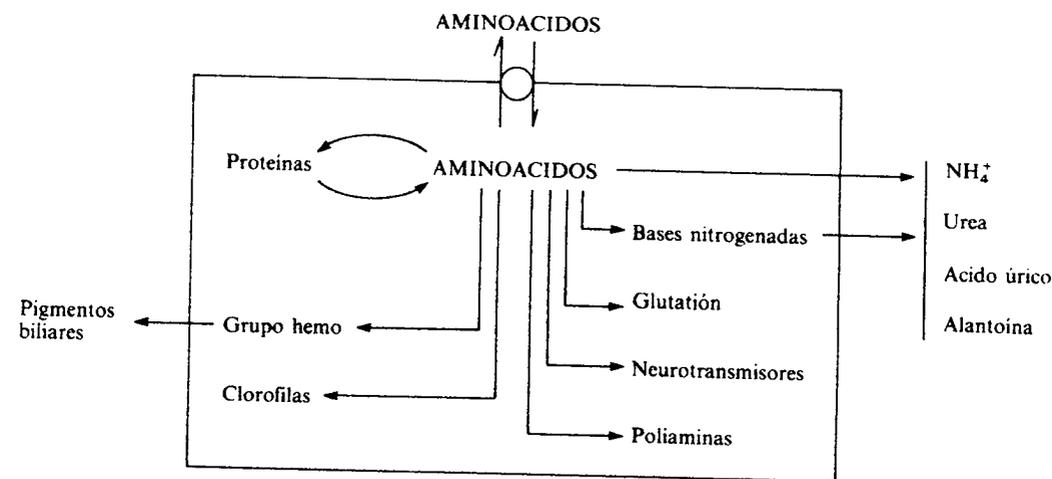


Figura 29.1. Los aminoácidos como precursores de otras moléculas de gran importancia biológica.

almente nitratos, en un proceso conocido con el nombre de *asimilación del nitrógeno*. Por otro lado, unos cuantos géneros de bacterias son capaces de realizar la fijación directa del nitrógeno atmosférico para su transformación en amonio. Además, microorganismos y organismos vegetales poseen, en general, la maquinaria enzimática suficiente para sintetizar los esqueletos carbonados de los distintos aminoácidos a partir de sólo unas pocas moléculas.

Sin embargo, las especies animales han perdido, o han visto disminuida, su capacidad de sintetizar los esqueletos carbonados de algunos aminoácidos. Atendiendo a este criterio, los aminoácidos proteinogénicos se clasifican en: esenciales, semiesenciales y no esenciales. Se definen como *aminoácidos esenciales* aquellos que no pueden ser sintetizados por los organismos de una especie determinada a una velocidad suficiente para satisfacer sus necesidades anabólicas y, en consecuencia, deben estar presentes en la dieta en una proporción adecuada, de manera que una alimentación deficiente en alguno de ellos se refleja en diversos síntomas, que denotan un desequilibrio metabólico. El carácter esencial para algunos aminoácidos puede variar de unas especies a otras, o incluso a lo largo de la vida de un mismo individuo. Así, por ejemplo, para la rata y el hombre se consideran esenciales la isoleucina, la leucina, la lisina, la metionina, la fenilalanina, la treonina, el triptófano y la valina. La histidina es esencial para la rata, y se requiere un aporte exógeno de este aminoácido para el crecimiento normal de los niños, aunque en humanos adultos sólo se detectan alteraciones debidas a deficiencia de histidina a largo plazo. La arginina es esencial para la rata, pero no para el perro o el ratón. El hombre puede llevar a cabo una síntesis neta de arginina, fundamentalmente en riñón, pero parece ser que la capacidad de síntesis es insuficiente para cubrir las necesidades totales de este aminoácido.

Hay otros aminoácidos que, si bien pueden ser sintetizados en las células animales, lo son a partir de precursores esenciales debido a lo cual dependen también en gran medida de la composición nitrogenada específica de la dieta. Son los denominados *aminoácidos semiesenciales*: la cisteína, que se sintetiza a partir de metionina, y la tirosina, obtenida a partir de fenilalanina. En algunos estudios se menciona también la glicina como aminoácido semiesencial.

Los esqueletos carbonados de otros aminoácidos C_5 (glutamato, glutamina, prolina), C_4 (aspartato y asparagina) y C_3 (alanina y serina) pueden ser efectivamente sintetizados por las células animales a partir de ácidos orgánicos procedentes del metabolismo intermediario. Por otra parte, el ion amonio se incorpora a dichos esqueletos carbonados mediante distintas reacciones.

De cualquier modo, las especies animales no pueden llevar a cabo la fijación de N_2 atmosférico, ni el proceso reductor que supone la asimilación de nitrógeno inorgánico. Por tanto, la fuente última de nitrógeno orgánico para los animales son las biomoléculas nitrogenadas de la dieta (mayoritariamente proteínas). El mantenimiento de la homeostasis nitrogenada depende del balance de nitrógeno definido como la diferencia entre la ingesta de nitrógeno orgánico y la eliminación de sustancias nitrogenadas que se vierten al exterior. En un ser humano adulto suelen igualarse la cantidad de nitrógeno ingerido en la dieta con la pérdida de nitrógeno corporal. Sin embargo, en individuos malnutridos, durante el ayuno, y en distintas situaciones patológicas o traumáticas, la cantidad de nitrógeno excretado excede al total del nitrógeno ingerido, lo cual se conoce como situación de balance negativo de nitrógeno. Por el contrario, se dan situaciones de balance de nitrógeno positivo en individuos en crecimiento, en los cuales la ingesta de nitrógeno supera a la excreción, lo cual supone una incorporación neta de nitrógeno orgánico en el organismo.

Aunque en este capítulo se hablará fundamentalmente de aminoácidos protei-

nogénicos, es preciso mencionar que existen otros aminoácidos que, si bien no forman parte de las proteínas, tienen también un gran significado biológico. Entre estos últimos cabría citar la taurina, que forma parte de los ácidos biliares, fundamentales en el proceso digestivo de lípidos; la citrulina y la ornitina, intermediarios del ciclo de la urea (cap. 31), y el 4-aminobutirato (cap. 51), descrito como un importante neurotransmisor.

FUENTES DE AMINOACIDOS

La cantidad aproximada de proteínas ingeridas a diario por un adulto medio de 70 kg de peso oscila en torno a los 100 g en los países industrializados, y la pérdida de nitrógeno diario es equivalente a la cantidad de proteínas ingeridas. En el balance de nitrógeno se consideran sobre todo la ingesta y la excreción de este elemento como aporte y pérdida netas, respectivamente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el organismo vivo mantiene un recambio proteico (degradación y síntesis simultánea de proteínas constitutivas) que se estima en 300 g/día para un individuo adulto en situación de equilibrio nitrogenado. Este dato experimental supone que los requerimientos totales de nitrógeno: el utilizado en la síntesis de proteínas y el expulsado por los diferentes mecanismos de excreción, pueden ser satisfechos tanto por los aminoácidos procedentes de las proteínas de la dieta, como por los procedentes de la proteólisis endógena de los diferentes tejidos (fig. 29.2).

Digestión de las proteínas de la dieta

En el proceso global que va desde la ingesta de proteínas hasta la incorporación de los aminoácidos exógenos a la circulación sistémica pueden distinguirse varias etapas:

1. Digestión de las proteínas de la dieta.
2. Absorción y transporte de aminoácidos y oligopéptidos desde el lumen intestinal hasta el hígado.
3. Metabolismo de los aminoácidos en el hígado y liberación de productos al torrente sanguíneo.
4. Contribución de otros tejidos al acervo de aminoácidos en la circulación sistémica.

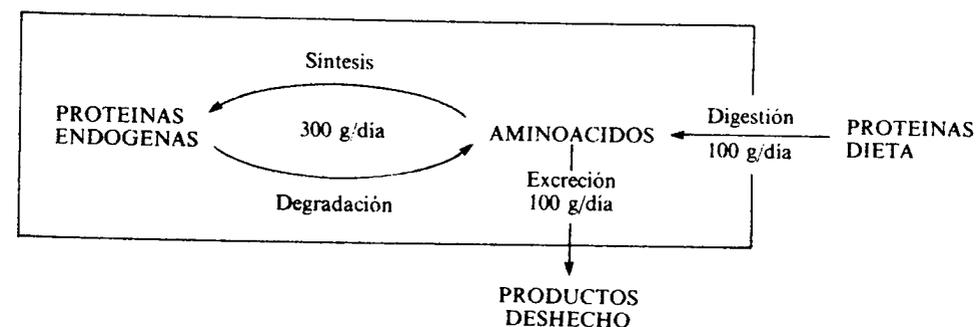


Figura 29.2. Representación esquemática de los procesos metabólicos que influyen sobre el contenido total de nitrógeno corporal. Las cifras representan los valores de cada proceso calculados para un individuo adulto de 70 kg de peso en equilibrio nitrogenado.

La digestión de proteínas incluye la masticación de los alimentos como proceso mecánico de extracción; la desnaturalización de las proteínas inducida por el pH ácido del estómago; y la ruptura hidrolítica de las mismas que es llevada a cabo por las distintas enzimas proteolíticas segregadas al aparato digestivo, cuya acción se ve facilitada por la desnaturalización previa de sus sustratos.

Proteasas del aparato digestivo

Las enzimas encargadas de la ruptura hidrolítica de proteínas en la luz del aparato digestivo se presentan en la tabla 29.1. Se distinguen las endopeptidasas, que hidrolizan los enlaces peptídicos entre dos aminoácidos situados en el interior de las cadenas polipeptídicas, y las exopeptidasas, que ejercen su acción catalítica de modo secuencial sobre los extremos carboxilo o amino de las mismas, denominándose carboxipeptidasas y aminopeptidasas, respectivamente. La mayoría de las proteasas presentan la particularidad de sintetizarse en forma de zimógenos, o precursores inactivos de mayor peso molecular, lo que explica que el aparato digestivo no se digiera a sí mismo. La activación de estas proenzimas consiste en la liberación hidrolítica de un péptido que permite a la cadena polipeptídica resultante alcanzar la conformación de proteína activa. Las causas de esta hidrólisis pueden ser:

a) De naturaleza química, como en el caso del pepsinógeno, que es convertido en *pepsina* gracias al pH ácido del estómago.

b) De naturaleza enzimática, o incluso autocatalítica, como en el caso del tripsinógeno, cuya transformación en *tripsina* puede deberse a otra enzima proteolítica, la *enteropeptidasa*, o a la propia *tripsina*.

En realidad, no existe una sola forma molecular madura de cada una de estas proteasas, las cuales constituyen una familia de proteínas que catalizan la misma reacción, aunque se utilicen en términos generales sus nombres singularizados (*pepsina*, *tripsina*, etc.). En cuanto a la especificidad de enlace, en la tabla 29.1 se resumen los condicionamientos del enlace hidrolizado por cada una de estas enzimas, aunque la efectividad de su acción catalítica puede verse afectada por multitud de variables.

Atendiendo al mecanismo de acción, cabe establecer la siguiente clasificación general de las proteasas: *serin-proteasas*, *cistein-proteasas*, *aspartil-proteasas* o *metalo-proteasas*, según los radicales del sitio activo o los cofactores que participen en la ruptura del enlace peptídico. En la figura 29.3 presentan las analogías moleculares existentes entre las tres serina proteasas mencionadas (*tripsina*, *quimotripsina* y *elastasa*). En las figuras 29.4 y 29.5 se muestra el mecanismo de acción de la *quimotripsina* y de la *carboxipeptidasa A*, ejemplos bien conocidos de una *serin-proteasa* y una *metalo-proteasa*, respectivamente.

Por último, debe comentarse que existen inhibidores de las actividades proteolíticas, tanto de naturaleza sintética, y que son utilizados con distintos fines en la metodología bioquímica, como de naturaleza fisiológica. Entre los primeros destaca el fluoruro de metil-fenil sulfonilo (PMSF), un potente inhibidor de las *serin-proteasas*, que se suele utilizar para aumentar los rendimientos en técnicas de purificación de proteínas.

Los segundos, los inhibidores naturales de las proteasas, tienen un papel fundamentalmente protector y regulador, modulando la actividad de las enzimas proteolíticas según su localización y función fisiológica. Entre ellos cabe destacar los inhibidores de las proteasas de naturaleza proteica. Son bien conocidas las

Tabla 29.1
ACTIVIDADES PROTEOLITICAS DE LA DIGESTION DE LAS PROTEINAS DE LA DIETA

Denominación de la enzima	Denominación del zimógeno	Tipo celular de secreción	Activación del zimógeno	Especificidad del enlace peptídico hidrolizado (*)
a) ENDOPEPTIDASAS				
<i>Pepsina</i> (aspartil-proteasa)	Pepsinógeno	Células serosas de las glándulas gástricas	Hidrólisis ácida	$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_x <p>Rx = radical aromático o Leu Ry = todos excepto Asp o Glu</p>
<i>Tripsina</i> (serin-proteasa)	Tripsinógeno	Células acinares del páncreas	a) <i>Enteroquinasa</i> b) <i>Tripsina</i>	$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_y <p>Rx = radical de Arg o Lys.</p>
<i>Quimotripsina</i> (serin-proteasa)	Quimotripsinógeno	Células acinares del páncreas	<i>Tripsina</i>	$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_y <p>Rx = generalmente hidrofóbico o aromático</p>
<i>Elastasa</i> (serin-proteasa)	Proelastasa	Células acinares	<i>Tripsina</i>	$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_y <p>Hidroliza enlaces peptídicos presentes en la elastina (proteína componente del tejido conectivo)</p>
<i>Actividades colagenasas</i>				$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_x <p>Rx = Preferentemente Gly, Ala, Val, Leu, Ile</p> <p>Hidrolizan enlaces peptídicos característicos del colágeno (proteína del tejido conectivo)</p>
b) EXOPEPTIDASAS				
<i>Carboxipeptidasa A</i> (metalo-proteasa)	Procarboxipeptidasa A	Células acinares del páncreas		$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} - \text{COO} \dots$ \uparrow R_y <p>Ry = cualquier radical excepto de Arg, Lys o Pro</p>
<i>Carboxipeptidasa B</i> (metalo-proteasa)	Procarboxipeptidasa B	Células acinares del páncreas		$\dots \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} - \text{COO} \dots$ \uparrow R_y <p>Ry = radical de Lys o Arg</p>
<i>Aminopeptidasas</i> (generalmente metalo-proteasas)		Células absorptivas del intestino		$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH} \dots$ \uparrow R_x <p>Ry = radical de Lys o Arg</p>

* La flecha indica el enlace peptídico hidrolizado.

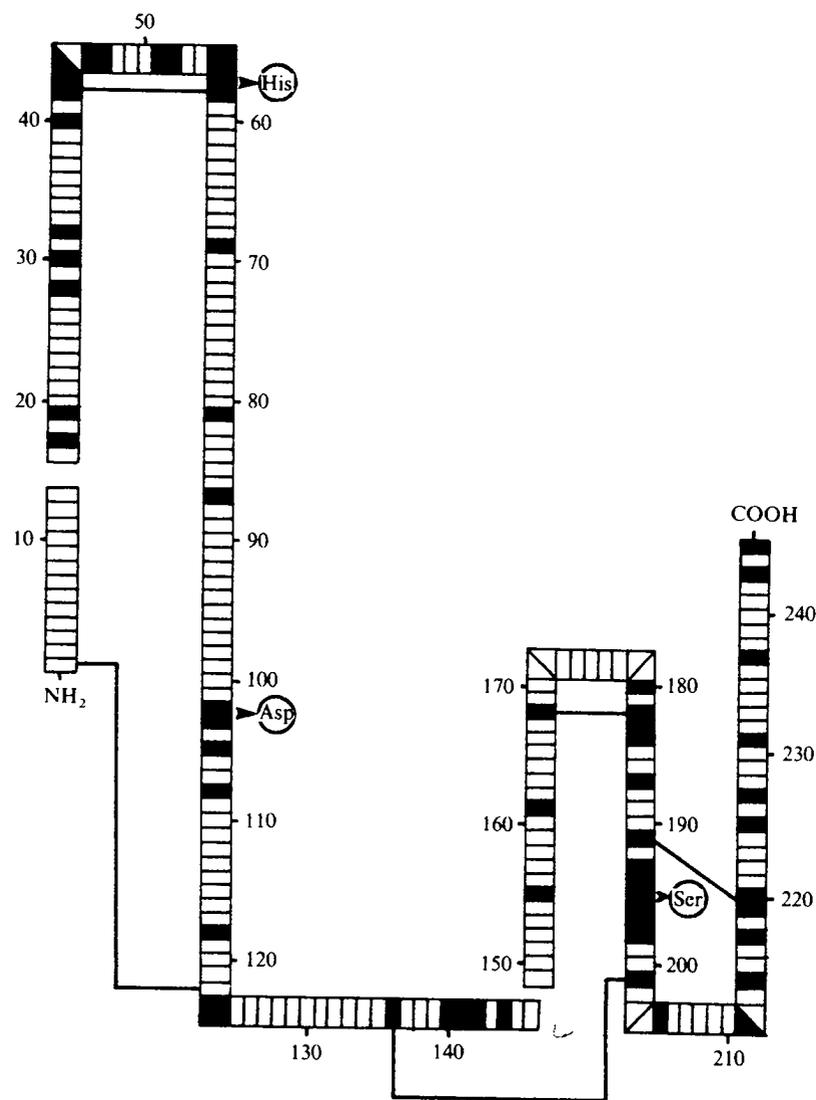


Figura 29.3. Representación esquemática de la estructura primaria de la α -quimotripsina. En oscuro se marcan los aminoácidos que son comunes en las secuencias de *tripsina* y *elastasa*, y los puentes disulfuro que coinciden igualmente en las tres proteasas. Los aminoácidos incluidos en un círculo marcan la posición de los residuos catalíticamente importantes en todas ellas. Pesos moleculares aproximados: *elastasa*, 25.900 daltons; *quimotripsina*, 25.000 daltons; *tripsina*, 24.000 daltons.

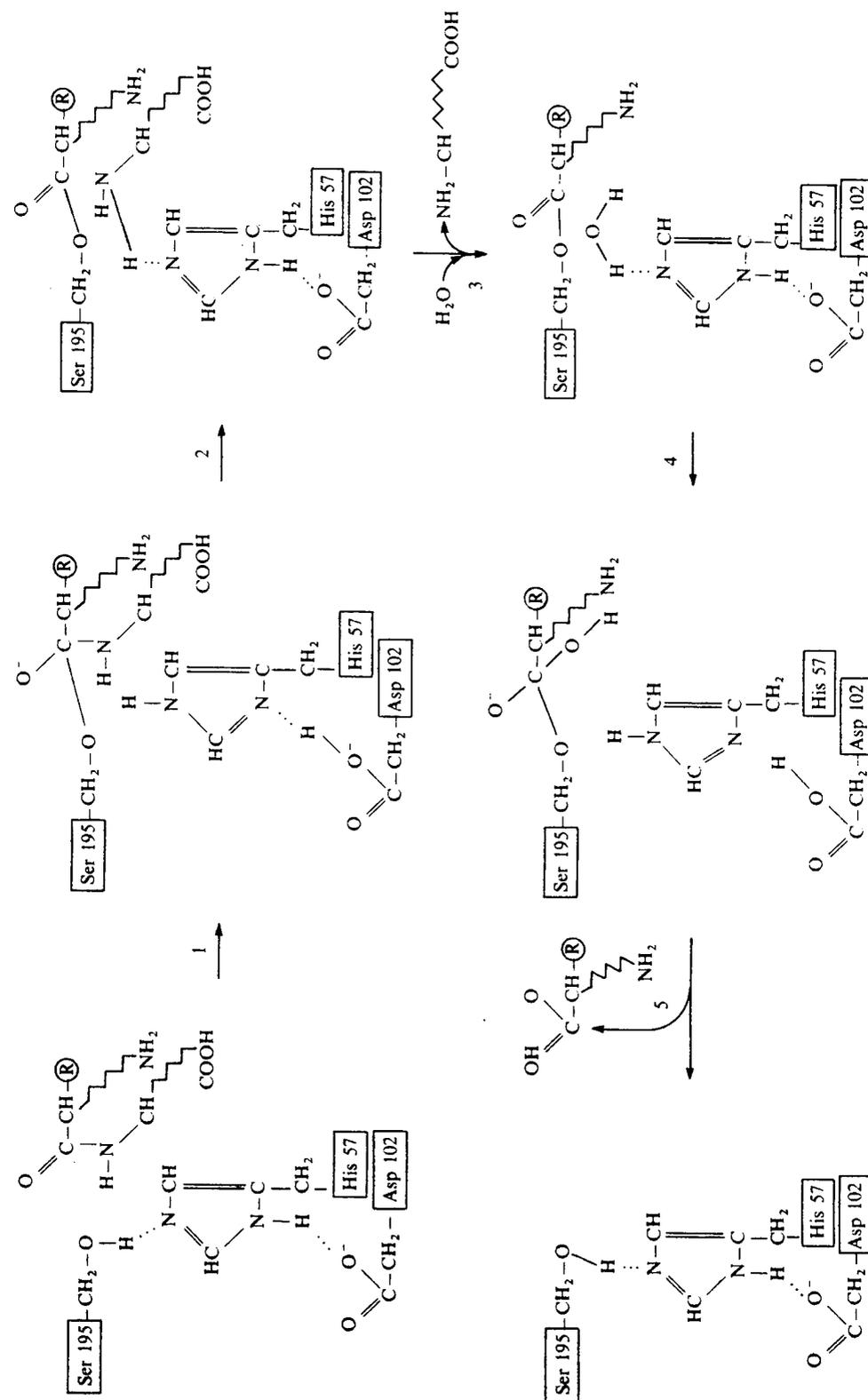


Figura 29.4. Hidrólisis de un enlace peptídico por la *quimotripsina*. En oscuro se representan los sustratos de la reacción: la cadena polipeptídica y la molécula de H_2O . Se especifica el enlace polipeptídico susceptible de hidrólisis. El símbolo R representa el radical aromático o voluminoso que se requiere para que el enlace peptídico se oriente debidamente en el sitio activo de la enzima. En una primera etapa, pasos 1 y 2, se forma un intermediario acil-enzima al mismo tiempo que se rompe el enlace peptídico, liberándose el extremo de la cadena polipeptídica (C-terminal) que aportaba el grupo amino al enlace peptídico, por la entrada de una molécula de agua, paso 3. Los pasos posteriores, 4 y 5, suponen la desacilación de la enzima y la liberación del extremo N-terminal de la cadena polipeptídica.

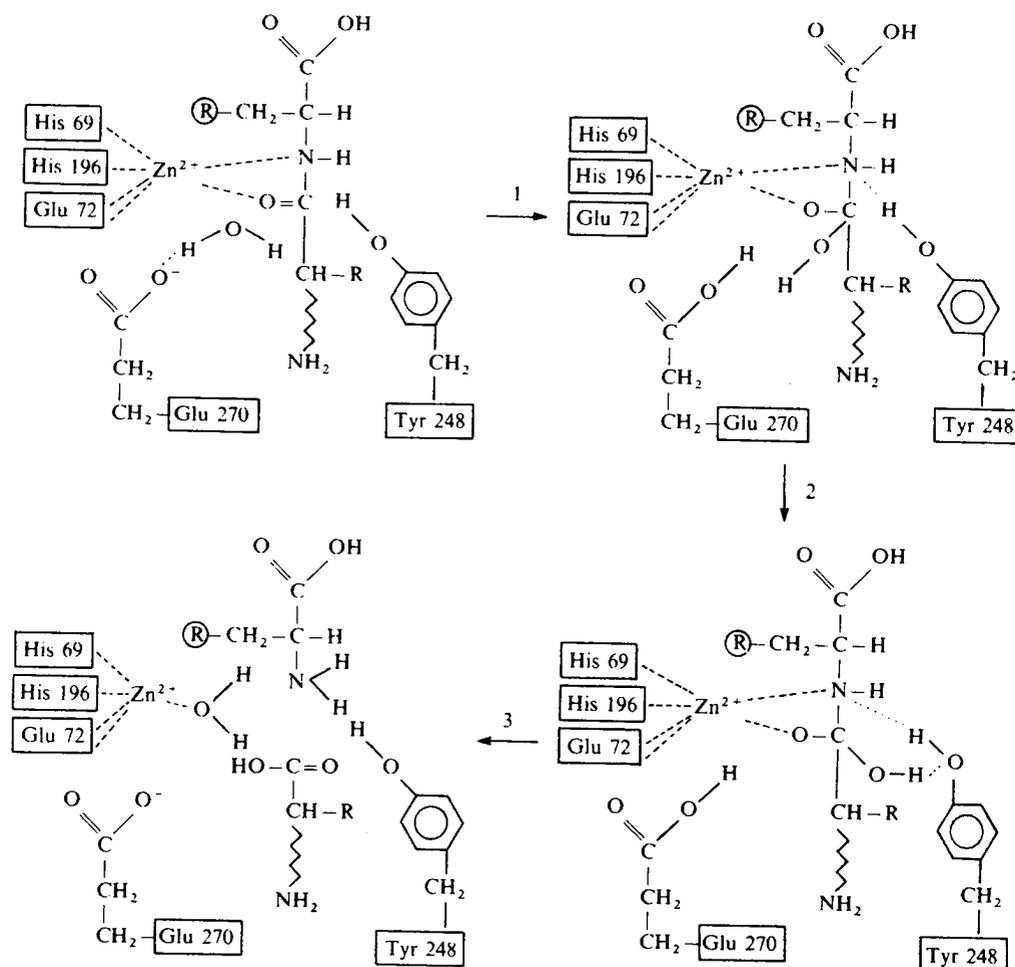


Figura 29.5. Mecanismo catalítico propuesto para la *carboxipeptidasa A*. En oscuro se representan los sustratos de la reacción: enlace peptídico contiguo al extremo C-terminal y una molécula de H_2O . El símbolo R representa el radical que debe introducirse en una zona hidrofóbica formada por la estructura tridimensional de la enzima. Las líneas discontinuas representan los enlaces coordinados del átomo de cinc. Como puede observarse, este átomo está hexacoordinado en presencia de ambos sustratos y pentacoordinado en ausencia de la cadena polipeptídica. Los puntos consecutivos representan las interacciones de tipo electrostático que hacen que se complete la reacción de hidrólisis, la cual comienza por la activación de una molécula de agua por parte del residuo de glutamato 270. La hidroxilación del carbono que forma parte del enlace peptídico que se hidrolizará, está favorecida por el desplazamiento de electrones que supone la coordinación del átomo de cinc (Zn^{2+}).

proteínas inhibitoras (antienzimas) de *tripsina* presentes en el páncreas, los inhibidores de *serin-proteasas* presentes en el suero, y otros inhibidores proteicos de *tripsina* que pueden obtenerse de fuentes vegetales como la soja. Estas proteínas inhibitoras de bajo peso molecular y termoestables suelen ejercer su acción formando un complejo muy estable entre la proteína y el inhibidor cuya estequiometría es generalmente 1:1. Un ejemplo del papel protector que desempeñan *in vivo* los inhibidores de proteasas está constituido por una enfermedad

molecular, de elevada incidencia relativa en Europa, caracterizada por la carencia en suero de un inhibidor de *tripsina* denominado α_1 -antitripsina, y cuyas manifestaciones clínicas son las siguientes: aparición de enfisema pulmonar por degradación tisular y, en otros casos, hepatitis grave de los recién nacidos aquejados de la enfermedad que puede llevar a cirrosis juvenil.

Proteólisis endocelular

El recambio de las proteínas corporales se mantiene gracias a un equilibrio dinámico de síntesis y degradación simultánea. Las velocidades de ambos procesos desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del nitrógeno, puesto que de ellas depende directamente la cantidad total de proteínas de un organismo, que supone la mayor parte del acervo nitrogenado. Aún no se conocen perfectamente los mecanismos de control metabólico que operan en uno y otro proceso.

Mientras que la síntesis de proteínas es, en general, un proceso que trabaja en orden 0, independiente de la concentración de proteína y con una constante de velocidad determinada (k_s), la degradación es un proceso de orden 1, cuya velocidad es proporcional a la cantidad de proteína y viene determinada por el producto $k_d \times [P]$, de manera que la variación de la cantidad de enzima con respecto al tiempo puede expresarse:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_s - k_d[P] \quad (29.1)$$

donde:

k_s = constante velocidad de síntesis.

k_d = constante velocidad de degradación.

$[P]$ = concentración de proteína.

t = tiempo.

En respuesta a un estímulo determinado pueden modificarse k_s o k_d relacionándose con los cambios acaecidos en la concentración de proteínas mediante la ecuación siguiente:

$$\frac{[P_{final}]}{[P_{inicial}]} = \frac{k'_s}{k'_d[P_{inicial}]} - \left[\frac{k'_s}{k'_d[P_{inicial}]} - 1 \right] \cdot e^{-k'_d \cdot t} \quad (29.2)$$

El recambio proteico puede verse afectado, a nivel de k_s , de k_d o de las dos, por factores nutricionales y ambientales, en respuesta a señales hormonales, y durante periodos de diferenciación o desarrollo; en la ecuación 29.2, k'_s y k'_d representan los nuevos valores de k_s y k_d en respuesta a los factores nutricionales y ambientales. Precisamente, el significado biológico del mantenimiento de una dinámica de recambio de las proteínas estriba en esta capacidad potencial de adaptación a diversas situaciones, aun a pesar del elevado coste energético que supone. Se ha comprobado que este recambio proteico se hace más importante cuanto más larga es la vida del organismo, o lo que es igual, cuanto mayor sea la probabilidad de tener que desarrollar una respuesta adaptativa. Además, un elevado recambio proteico facilita la eliminación de proteínas enzimáticas alteradas por mutaciones somáticas puntuales. El recambio supone, pues, un mecanismo de seguridad frente a posibles errores en la síntesis proteica.

La síntesis de proteínas y su regulación se trata en otra parte de este libro

(cap. 35); en cuanto a su degradación es llevada a cabo mediante enzimas proteolíticas o proteasas, cuya acción puede ser ejercida en el interior de la célula, en el espacio intercelular o en los distintos fluidos biológicos. Las reacciones proteolíticas no sólo toman parte en la digestión y en el recambio proteico, sino también en procesos biológicos, tales como la translocación de proteínas, la maduración de ciertas hormonas, la respuesta inmune, la inflamación, la coagulación sanguínea, o la fertilización, entre otras. A pesar de que algunos de estos mecanismos son bien conocidos, existen aún grandes interrogantes.

Es significativo que la velocidad de degradación de las proteínas difiera de forma importante de unas a otras. Dicha velocidad se expresa en términos de vida media ($t_{1/2}$), que se define como el tiempo necesario para que se degrade la mitad de la concentración preexistente de una proteína, para lo cual no se tiene en cuenta la cantidad de proteína que haya podido ser sintetizada *de novo* ($k_s = 0$). Sustituyendo en la ecuación (29.1) e integrando, se obtiene:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (29.3)$$

Las proteínas enzimáticas difieren notablemente en cuanto a sus valores de vida media desde minutos hasta semanas; tal es el caso, por ejemplo, de la *ornitina descarboxilasa* hepática y de la *lactato deshidrogenasa* cardíaca, cuyas vidas medias respectivas son de once minutos y quince días. En general las proteínas de vida media muy corta son responsables del control de una vía metabólica y pueden ser inducidas por sustratos o reprimidas por productos finales.

Se han descrito unos cuantos ejemplos de proteasas altamente específicas que hidrolizarían tan sólo unos cuantos enlaces peptídicos de la proteína sustrato, mientras que la hidrólisis total de las cadenas polipeptídicas sería concluida por otras proteasas menos específicas. Sin embargo, ésta no es la explicación general a la diversidad de degradación. Si para cada proteína se sintetizara una proteasa específica, el mecanismo de control sería tremendamente costoso para la célula. Cabe pensar en otros mecanismos que justifiquen la degradación diferencial de las proteínas sobre la base de las características propias del sustrato (estructurales, conformacionales, etc.), más que de la especificidad de la enzima proteolítica. Además, se ha comprobado que una misma proteína puede hacerse más o menos sensible al ataque proteolítico mediante modificación covalente (glucosilación, fosforilación), cambios en la hidrofobicidad de la proteína, o interacción con efectores metabólicos (metabolitos, coenzimas, proteínas o efectores alostéricos). En cuanto a la localización de estas enzimas, en este apartado se abordarán fundamentalmente las proteasas endocelulares de tejidos animales, por ser las que tienen una mayor implicación en el recambio proteico tisular para la recuperación de aminoácidos. No obstante, existen otros ejemplos de proteasas animales que ejercen su acción en el espacio extracelular, como la *colagenasa* o la *elastasa*, que intervienen en la degradación del tejido conectivo (colágeno y elastina), con un importante papel en los procesos inflamatorios y en situaciones de daño tisular.

En el interior de las células animales se han descrito casos de proteasas asociadas a cromatina, a peroxisomas, a mitocondrias, a retículo endoplasmático y a membrana plasmática. Sin embargo, son los lisosomas las estructuras celulares mejor caracterizadas en los procesos de degradación proteolítica en la célula animal. Se denominan lisosomas a las vesículas intracelulares de tamaño variable, que mantienen un pH interno cercano a 5,5 y están rodeadas de una membrana simple, la cual engloba una gran variedad de proteasas y otras hidrolasas con actividad óptima a pH ácido. Entre estas proteasas se incluye un amplio espectro

de exo- y endopeptidasas. Algunas de ellas han sido purificadas y caracterizadas en cuanto a especificidad de sustrato, características moleculares y requerimientos cinéticos. En la tabla 29.2 se muestran algunos ejemplos de proteasas lisosómicas.

Tabla 29.2
ALGUNAS DE LAS PROTEASAS LISOSOMICAS MEJOR CARACTERIZADAS

Nombre y clasificación	Peso molecular relativo	pH óptimo aproximado	Características de la actividad
<i>Catepsina B</i> (cistein-proteasa)	25.000	5	Presenta actividad endopeptidasa o carboxipeptidasa, dependiendo del sustrato empleado. Se inhibe por agentes oxidantes de tioles
<i>Catepsina L</i> (cistein-proteasa)	24.000	5	Actividad endopeptidasa, preferencia por residuos hidrofóbicos. Se inhibe por reactivos de tioles
<i>Catepsina H</i> (cistein-proteasa)	28.000	5	Actividad endopeptidasa o aminopeptidasa, dependiendo del sustrato empleado. Se inhibe por reactivos de tioles
<i>Catepsina D</i> (aspartil-proteasa)	42.000	3,5	Mecanismo de acción similar a la <i>pepsina</i> . Se inhibe por pepstatina

En los lisosomas se digieren tanto proteínas intracelulares como procedentes del exterior celular, capturadas por procesos de endocitosis. En la actualidad se mantiene que la velocidad de degradación diferencial de una proteína podría venir definida en algunos casos por la capacidad de llegar al interior del lisosoma, lo cual estaría de acuerdo con el hecho de que mediante cambios conformacionales o modificaciones postraduccionales se modifique la velocidad de degradación de una proteína. Además, mediante procesos de autofagia, los lisosomas pueden digerir selectivamente porciones de citoplasma y estructuras celulares como retículo endoplasmático, mitocondrias o ribosomas. La degradación proteolítica y su regulación, tanto en sistemas lisosómicos (proteasas ácidas) como extralisosómicos (proteasas neutras o alcalinas), constituye un tema de amplia investigación actual.

Al igual que en los animales, en los otros seres vivos (plantas, hongos y bacterias) existen actividades proteolíticas que cumplen diversas funciones biológicas. Las plantas contienen una gran cantidad de proteasas, fundamentalmente incluidas en sus vacuolas, y que son útiles para la adaptación a cambios de nutrientes en el entorno, y durante las transiciones entre las distintas etapas del ciclo biológico (germinación, desarrollo, fructificación, senescencia). Dada la fragilidad de la vacuola, al obtener un extracto vegetal se liberan gran cantidad de actividades proteolíticas que pueden disminuir el rendimiento de la extracción de una determinada actividad enzimática de estos tejidos, por lo que suelen incluirse algunos inhibidores de proteasas en el medio de extracción. En bacterias, además de las proteasas que se requieren para las adaptaciones de los niveles enzimáticos a los nutrientes del entorno, y en procesos biológicos como la esporulación y la germinación de las esporas, las enzimas proteolíticas tienen también un importante papel en procesos como la morfogénesis de los fagos, y la invasividad de bacterias patógenas. Este es el caso, por ejemplo, de las *colagenasas* liberadas al exterior por *Clostridium histolyticum* y *Clostridium perfringens*, que hidrolizan el colágeno facilitando la extensión de la gangrena gaseosa.

Absorción intestinal y sistemas de transporte de aminoácidos

Los sistemas de transporte de aminoácidos a través de las membranas plasmáticas permiten que las dos fuentes de aminoácidos, proteínas de la dieta y proteínas endógenas, contribuyan al acervo circulante de aminoácidos, que será utilizado por los distintos tejidos en función de sus particularidades metabólicas. Aunque los aminoácidos presentes en la sangre constituyen una parte muy pequeña del nitrógeno total del organismo, su importancia en el metabolismo del nitrógeno es decisiva al ser el principal vehículo del nitrógeno entre los distintos tejidos.

Absorción intestinal

En el proceso por el cual las distintas especies nitrogenadas, una vez digeridas las proteínas de la dieta, pasan desde la luz del aparato digestivo hasta la circulación entérica se distinguen varias etapas:

1. Absorción de aminoácidos por las membranas luminaras de las células epiteliales del aparato digestivo.
2. Metabolismo nitrogenado de los enterocitos.
3. Transporte de los aminoácidos desde los enterocitos a la circulación entérica, a través de sus membranas basolaterales.

En general, puede decirse que los aminoácidos son absorbidos mediante la actividad de transportadores presentes, sobre todo en las microvellosidades de las células epiteliales del intestino delgado, más concretamente en yeyuno e íleon. La excepción está constituida por la histidina, que es absorbida de forma eficaz por las células epiteliales del estómago, ricas en *histidina descarboxilasa*. La absorción intestinal de aminoácidos se basa en sistemas de transporte activo secundario, que pueden actuar en contra de un gradiente de concentración: la entrada del aminoácido a través de la membrana plasmática de las microvellosidades (membrana luminal o de cepillo) de los enterocitos suele estar acoplada al cotransporte de un ion Na^+ que entra a favor de gradiente (fig. 29.6). La concentración intracelular de Na^+ se mantiene baja, ya que en la membrana basolateral de la célula epitelial se mantiene un gradiente de Na^+/K^+ por acción de una *ATPasa* Na^+/K^+ de membrana plasmática. En general, es posible afirmar que la absorción de aminoácidos se realiza de forma similar a la descrita para la absorción de azúcares. Existen otros sistemas de transporte de aminoácidos no dependientes de un gradiente de Na^+ , que pueden ser operativos en las membranas luminaras y basolaterales de las células del aparato digestivo.

Una vez analizada la absorción de los aminoácidos por las células intestinales, hay que tener en cuenta sus singularidades metabólicas en los propios enterocitos. Aunque gran parte del nitrógeno absorbido alcanza la circulación enterohepática, las especies nitrogenadas liberadas no se corresponden desde un punto de vista cualitativo con las que habían sido absorbidas. Las células del epitelio intestinal metabolizan rápidamente la glutamina, el glutamato, la asparagina y el aspartato, en gran medida con fines energéticos y plásticos, ya que estas células se dividen muy deprisa. Sólo un pequeño porcentaje de los aminoácidos mencionados presentes en el lumen alcanza el torrente sanguíneo. El destino de sus esqueletos carbonados y de su nitrógeno es principalmente la formación de CO_2 , de lactato, de NH_4^+ y de otros aminoácidos como la citrulina, la alanina y la prolina, que son liberados a la circulación enterohepática. El glutamato y el aspartato, que actúan también como neurotransmisores (cap. 51), podrían ser tóxicos al sistema nervioso

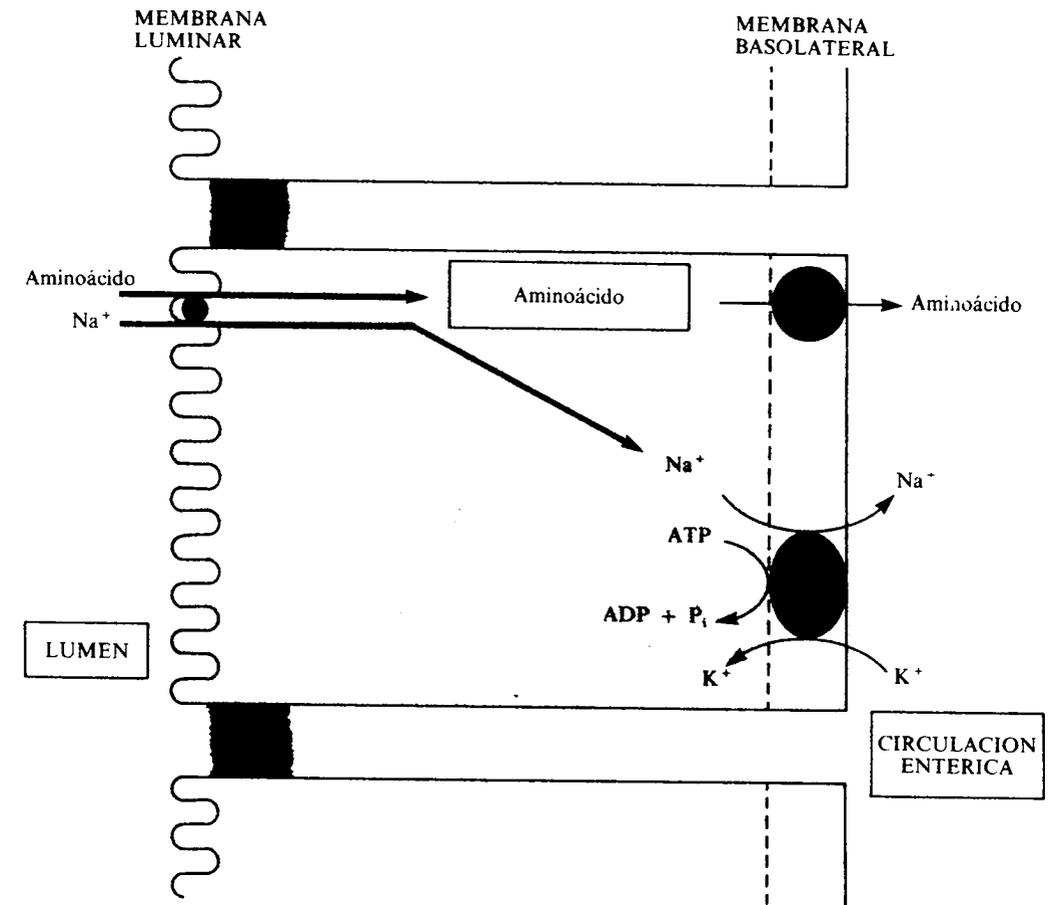


Figura 29.6. Absorción intestinal de aminoácidos, como mecanismo de transporte activo secundario acoplado a un gradiente de ion Na^+ . Las concentraciones de sodio intracelular se mantienen disminuidas por acción de una *ATPasa* Na^+/K^+ de la membrana basolateral, inhibible por ouabaina, cuya estequiometría de intercambio $\text{Na}^+:\text{K}^+$ es 3:2.

central en caso de ser liberados por el intestino al torrente circulatorio puesto que son mal absorbidos por el hígado. De hecho, hay individuos muy sensibles a la sobrecarga de glutamato, hipersensibilidad que se muestra en una extraña sensación de quemaduras, presión facial y dolor en el pecho, conocida como *síndrome del restaurante chino*.

Transporte de aminoácidos

Los distintos tipos celulares que componen un organismo difieren en cuanto a su capacidad de transportar los aminoácidos a través de sus membranas plasmáticas. Tal transporte diferencial, junto con la diversidad de operatividad y regulación de las vías metabólicas de aminoácidos, definen la contribución de un determinado tipo celular al mantenimiento o destrucción del balance de nitrógeno del organismo. Es difícil hablar de un patrón común de transporte de aminoácidos puesto que un mismo aminoácido puede ser transportado por varios sistemas,

incluso en un mismo tipo de célula, dependiendo de las condiciones metabólicas a las que se ve sometida.

Los distintos sistemas de transporte de aminoácidos a través de la membrana plasmática se caracterizan en cuanto a:

1. La diferente especificidad de sustratos.
2. La dependencia de su actividad de un gradiente iónico o la dependencia de la energía ligada a la hidrólisis del ATP.
3. La sensibilidad al pH.
4. Las constantes cinéticas.
5. La acción de inhibidores.
6. La capacidad de poder llevar a cabo, bien el transporte unidireccional de un determinado aminoácido, o bien un intercambio de aminoácidos a través de la membrana plasmática.

Se han descrito tres sistemas operativos para aminoácidos neutros denominados sistemas A, ASC y L. El *sistema A*, denominación procedente del aminoácido alanina, muestra preferencia por transportar aminoácidos de cadenas laterales cortas, polares o lineales, tales como la alanina, la prolina, la serina, la glicina y la metionina. El sistema A depende de un gradiente de Na^+ a través de la membrana, y es extremadamente sensible a disminuciones del pH extracelular y a inhibidores metabólicos. Lleva a cabo fundamentalmente un flujo unidireccional de los aminoácidos transportados, dando lugar a gradientes de concentración muy acusados entre el medio intracelular y el extracelular. Se ha observado que opera en células epiteliales y mesenquimatosas, y parece tener un origen molecular común con un sistema de transporte específico de glicina presente en eritrocitos.

El *sistema ASC* fue descrito como específico para la alanina, la serina y la cisteína, aunque puede transportar otros aminoácidos neutros. Muestra una mayor especificidad por los sustratos que el sistema A. Es estrictamente dependiente de Na^+ , pero se muestra más insensible a cambios en el pH extracelular o a la presencia de inhibidores del metabolismo energético. En algunos tipos celulares, como los eritrocitos, parece funcionar llevando a cabo un intercambio de aminoácidos a través de la membrana.

El *sistema L* es poco específico con respecto al sustrato, admitiendo preferentemente aminoácidos neutros cuyas cadenas laterales son ramificadas o cíclicas. Su diferencia principal respecto a los otros dos sistemas de transporte de aminoácidos neutros reside en su independencia respecto al Na^+ . Es preferentemente un sistema de transporte por intercambio, y cuando el pH del medio externo decrece, la selectividad del transportador L disminuye.

El transporte de aminoácidos aniónicos, como el glutamato y el aspartato, se ve favorecido al disminuir el pH extracelular, es decir, cuando disminuye la carga neta negativa de estos aminoácidos, lo que hace pensar que su transporte se lleva a cabo fundamentalmente a través de los sistemas característicos de aminoácidos neutros. Sin embargo, se han descrito transportadores específicos de estos aminoácidos en algunos tipos celulares especializados del sistema nervioso.

En células de animales superiores, los aminoácidos básicos son transportados por un sistema que requiere una carga positiva lateral (*sistema γ^+*), y que es independiente de Na^+ , insensible al pH, estereoselectivo, e inhibible por aminoácidos neutros en presencia de Na^+ . La presencia de altas concentraciones de un aminoácido catiónico en el interior celular favorece la entrada de otros aminoácidos con carga neta positiva por un mecanismo denominado transestimulación.

Además de estos sistemas, existen otros representados en ciertos tejidos especializados y con requerimientos y especificidades muy particulares, como el *siste-*

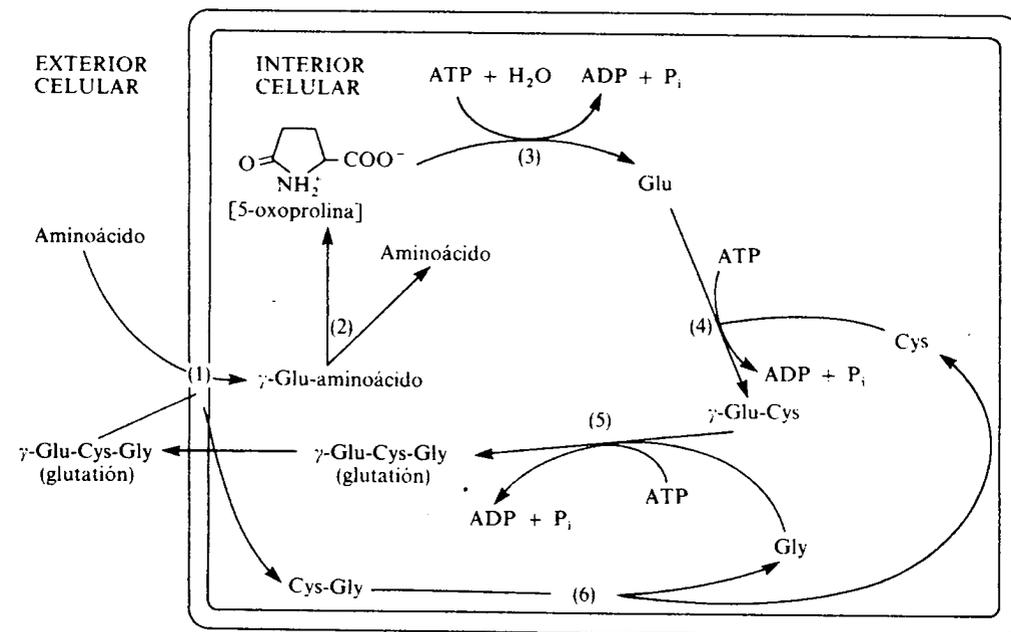


Figura 29.7. Ciclo del gamma-glutamilo o ciclo de Meister, que supone el transporte de un aminoácido desde el exterior al interior celular. Los números entre paréntesis indican las actividades que toman parte en el transporte y en la recuperación del glutatión. (1) γ -glutamyl transpeptidasa; (2) γ -glutamyl ciclotransferasa; (3) 5-oxoprolinasa; (4) γ -glutamylcisteína sintetasa; (5) glutatión sintetasa; (6) dipeptidasa.

ma N específico para glutamina y asparagina de células hepáticas, o el *sistema β* que transporta β -alanina y taurina, y que ha sido caracterizado en distintos tipos celulares.

En riñón, se ha estudiado en profundidad el transporte de aminoácidos mediado por la actividad γ -glutamyl transpeptidasa unida a la membrana plasmática, que intercambia un aminoácido del entorno extracelular por el dipéptido cisteína-glicina del glutatión interno (fig. 29.7). Una vez introducido el γ -glutamyl aminoácido en la célula, la acción de la γ -glutamyl ciclotransferasa libera 5-oxoprolina y el aminoácido. La 5-oxoprolina es reconvertida a glutamato por la actividad de la 5-oxoprolinasa, reacción que consume un mol de ATP por mol de glutamato formado. Este sistema de transporte interviene activamente en la reabsorción renal de aminoácidos y probablemente en su transporte al interior de otros tipos celulares.

COMPONENTE ENERGÉTICO DE LOS AMINOACIDOS. REACCIONES GENERALES DEL CATABOLISMO DE AMINOACIDOS

A diferencia de los organismos autótrofos, las plantas y bacterias, los aminoácidos constituyen la entrada esencial del nitrógeno orgánico (nitrógeno amínico) en los seres superiores heterótrofos, reino animal, para la síntesis de proteínas, de las bases de los ácidos nucleicos y de los demás compuestos nitrogenados (poliaminas, neurotransmisores, etc.) (fig. 29.1). El elevado número de aminoácidos y la variedad de sus esqueletos carbonados aumentan considerablemente las dificultades de su estudio. No es posible considerarlos un conjunto uniforme, ya que

siguen caminos muy diversos en su síntesis y en su degradación. La biosíntesis de los aminoácidos esenciales para el hombre y animales superiores es llevada a cabo en microorganismos y plantas. Por otra parte, la diversidad enzimática encargada del metabolismo de los aminoácidos muestra perfiles muy diferentes en un mismo organismo según sean los tejidos estudiados.

Se ha demostrado que la mayoría de las enzimas que degradan los aminoácidos son enzimas inducibles por factores nutricionales y hormonales. El cambio es particularmente notable en el caso de las enzimas que degradan los aminoácidos esenciales, cuyas actividades enzimáticas pueden verse afectadas por un factor mayor de diez. La razón de este comportamiento parece evidente, pues se trata de disminuir la pérdida de compuestos esenciales para el organismo. Si las enzimas fuesen siempre activas, se correría el riesgo de perder aminoácidos esenciales, que deben ser celosamente guardados y no permitir su pérdida.

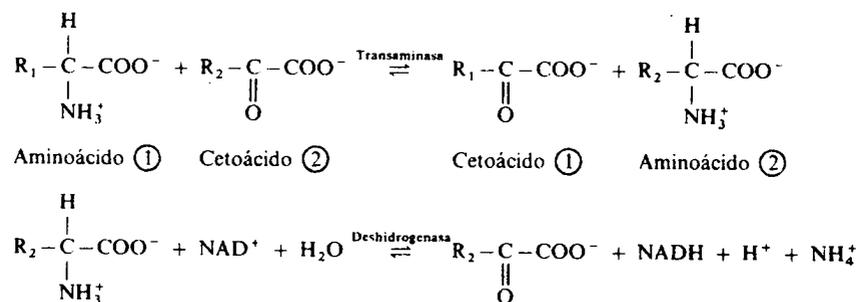
A pesar de estas dificultades, para hacer un estudio sistemático del metabolismo de los aminoácidos, es posible describir una serie de reacciones generales de su catabolismo: transaminación, desaminación oxidativa y α -descarboxilación. En este capítulo se indicará de una manera breve el destino final de los esqueletos carbonados de los aminoácidos, dejando para el capítulo 30 la descripción de la vía catabólica de cada uno de los aminoácidos, así como el estudio de las deficiencias genéticas de las enzimas degradativas, deficiencias que dan origen a una serie de enfermedades metabólicas.

Reacciones de transaminación

La primera etapa común en el catabolismo de todos los aminoácidos es la pérdida del grupo amino, o desaminación. Este proceso ocurre en dos etapas:

1. En la primera, el grupo amino es transferido a un α -cetoácido (2-oxoácido) por la acción de una amino transferasa específica (transaminasa) para cada aminoácido.

2. En segundo lugar, el grupo amino del aminoácido que se ha formado en la primera reacción, generalmente el glutámico, se pierde en un proceso llamado desaminación oxidativa, en el cual se vuelve a recuperar el cetoácido y se produce ion amonio (NH_4^+). El amonio es un fuerte tóxico para la célula y debe ser eliminado (cap. 31). La reacción general del proceso es:

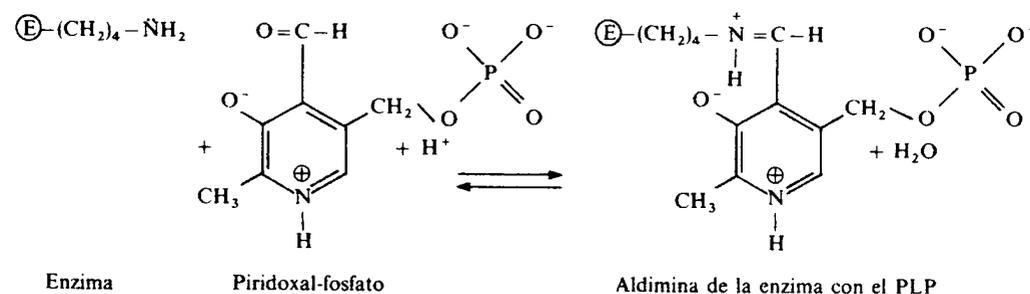


El aminoácido (1) cede su grupo amino al cetoácido (2) formando el aminoácido (2) correspondiente a este cetoácido y el cetoácido (1) correspondiente al aminoácido (1). En el catálogo de la Comisión de Enzimas de la IUB hay descritas alrededor de unas cincuenta transaminasas, todas ellas dependientes de piridoxal-fosfato (PLP).

Los cetoácidos aceptores son solamente el 2-oxoglutarato (C_5), el oxaloacetato (C_4), el piruvato (C_3) y el glioxilato (C_2). Sin embargo, todos los aminoácidos son potencialmente aminoácidos donadores. El α -cetoácido aceptor más común es el 2-oxoglutarato, metabolito intermediario del ciclo del ácido cítrico y, por tanto, el aminoácido que se forma con más frecuencia es el glutamato. Así pues, la familia de las transaminasas ligadas a dicho aminoácido proveen un lazo de unión entre el catabolismo de los aminoácidos y el ciclo del ácido cítrico. De lo dicho se deduce que la desaminación oxidativa más frecuente es la de la *glutamato deshidrogenasa*.

Otras de las características de las transaminasas es su relativa especificidad frente al sustrato y la participación del piridoxal-fosfato en el proceso catalítico de estas enzimas.

La reacción de transaminación tiene lugar a través de la formación de una aldimina y una cetimina. En todas las transaminasas conocidas el grupo ϵ -amino de una lisina de la proteína enzimática forma una aldimina por condensación de la amina con el grupo carbonilo del piridoxal-fosfato (base de Schiff), formándose la llamada *aldimina de la enzima*. Esta aldimina intercambia seguidamente el grupo amino de la lisina con el del aminoácido sustrato correspondiente en una reacción de trasaldiminación, teniendo lugar la formación de la *aldimina del aminoácido* sustrato (fig. 29.8), donador del grupo amino en la reacción de transaminación



La carga positiva del ion aldiminio se estabiliza por la carga negativa, que tiene a pH 7 el átomo de oxígeno situado en el C_3 del anillo de piridoxal-fosfato.

Seguidamente, de acuerdo con la figura 29.8, la aldimina del aminoácido (2) es transformada en un intermediario inestable desprotonizado (3), α -carbanión que es probablemente estabilizado por una base ($\text{B}:$) aceptora de protones, localizada en el sitio activo de la proteína enzimática. Químicamente, se define el carbanión como un carbono con una carga negativa. Sigue otro estado intermedio (4), también inestable, constituido por una de las formas resonantes del carbanión. La protonación de este último carbanión (5), por el protón anteriormente aceptado por la base del sitio activo de la enzima ($\text{B}:\text{H}^+$), lleva a la formación de una cetimina formada por el α -cetoácido correspondiente al aminoácido donador del grupo amino, y por el fosfato de piridoxamina. La cetimina es un compuesto análogo a la aldimina, formado por la condensación del grupo ceto y un grupo amino. Por último, la hidrólisis de la cetimina formada (6) da lugar al α -cetoácido correspondiente al aminoácido donador que deja el sitio activo, siendo éste el primer producto de la reacción, y la proteína enzimática queda en forma de complejo piridoxamina-fosfato-enzima. Merece observarse que, en esta primera serie de reacciones, el carbonilo original del coenzima piridoxal-fosfato es reducido, mientras que el carbono α del aminoácido sustrato es oxidado a carbonilo, siendo el balance redox total de la reacción nulo.

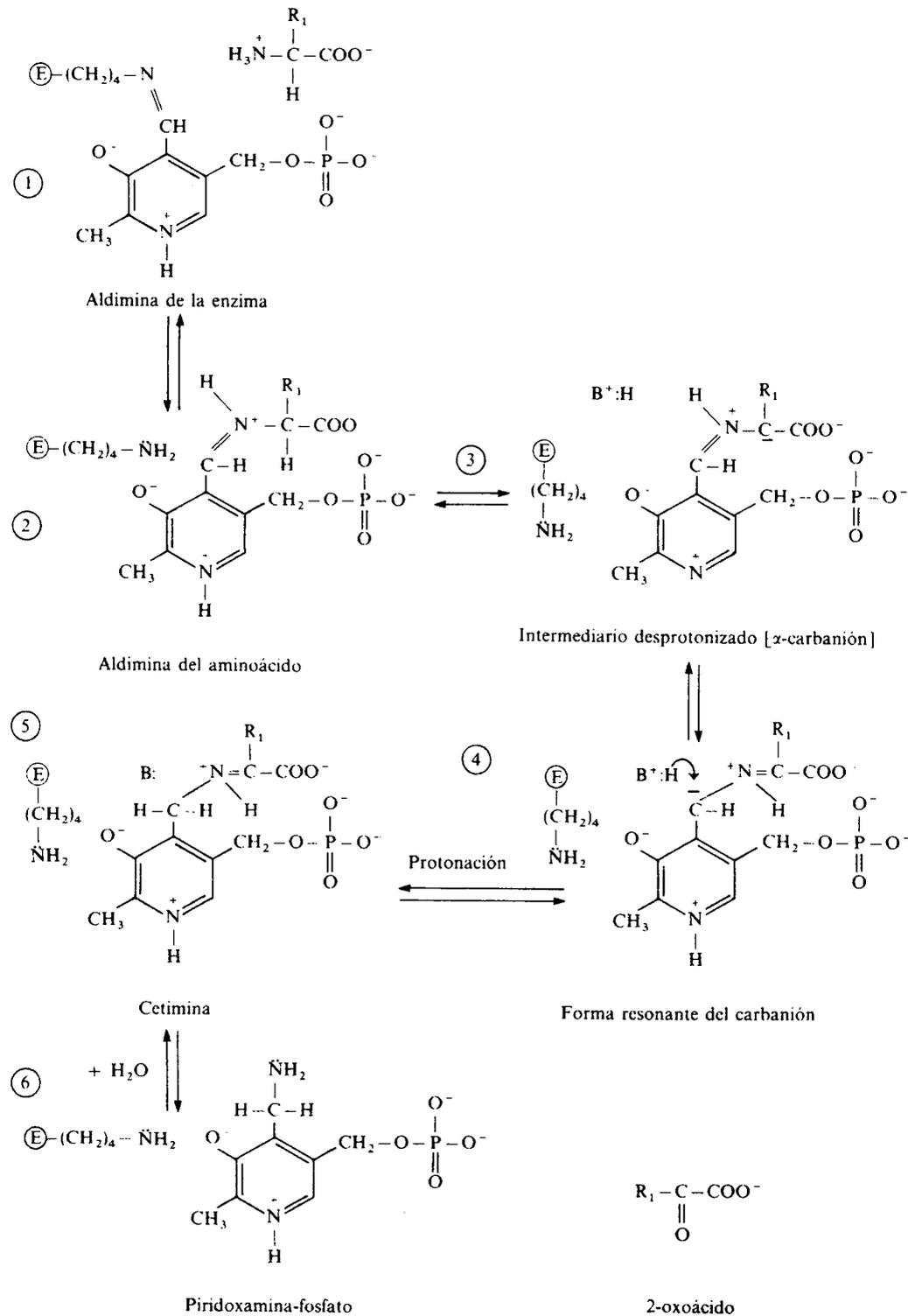


Figura 29.8. Mecanismo de acción de la reacción de transaminación catalizada mediante el piridoxal-fosfato. $\text{E}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$: lisina unida a la enzima.

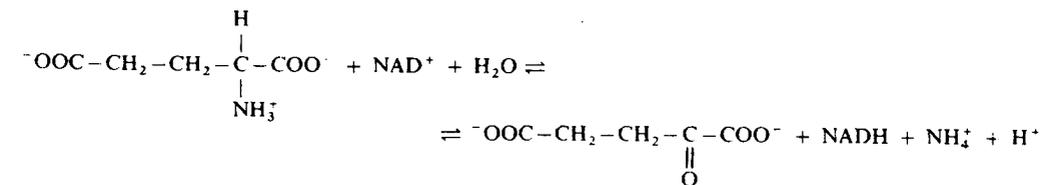
En la segunda parte de la reacción se sigue una secuencia inversa. El fosfato de piridoxamina, que permanece en el sitio catalítico de la proteína enzimática, reacciona con el α -cetoácido, sustrato aceptor del grupo amino, obteniéndose como productos finales el aminoácido correspondiente al α -cetoácido sustrato y el fosfato de piridoxal, que puede comenzar otro ciclo catalítico. La transaminación es una reacción bisustrato que sigue un mecanismo «ping-pong», en la que se forma un compuesto intermediario covalente, con la producción de la base de Schiff correspondiente, intermediario que ha podido ser cristalizado en algunas transaminasas.

Entre los estudios realizados con las transaminasas han merecido especial atención los llevados a cabo con la *glutamato/oxaloacetato transaminasa (GOT)* y la *glutamato/piruvato transaminasa (GPT)*, también conocidas como *aspartato/2-oxoglutarato* y *alanina/2-oxoglutarato amino transferasas*, respectivamente. Desde antiguo se conocen dos isoenzimas diferentes de la *aspartato/2-oxoglutarato* amino transferasa de localización citosólica y mitocondrial, implicadas en el paso de equivalentes reducidos desde el citosol a la mitocondria, conocido como el ciclo o lanzadera del malato-aspartato. Las transaminasas son inhibidas por el antibiótico D-cicloserina y por el aminooxiacetato.

Los niveles séricos aumentados de las transaminasas *GOT* y *GPT* se utilizan en el diagnóstico clínico del infarto de miocardio y de las enfermedades hepáticas, considerándose las enzimas marcadoras de un daño irreversible en estos tejidos. Tras la muerte celular dichas enzimas son vertidas al torrente circulatorio por lo cual sus niveles en el suero están sensiblemente aumentados. Son particularmente interesantes para el diagnóstico en el caso de daño del tejido muscular cardíaco y del parénquima hepático. El diagnóstico diferencial entre los dos tejidos se hace por el análisis paralelo de enzimas séricas marcadoras de la lesión cardíaca, como la *creatinquinasa*, o la isoenzima V de la *lactato deshidrogenasa*. Asimismo, en las lesiones hepáticas el cociente GOT/GPT está por debajo de 1,3 y en lesiones cardíacas por encima de 1,3.

Glutamato deshidrogenasa

Antes se ha comentado que la ruta más común del catabolismo de los aminoácidos es la transaminación con 2-oxoglutarato para dar glutamato y el α -cetoácido (2-oxoácido) correspondiente. Por tanto, la desaminación oxidativa del glutamato, presidida por la *glutamato deshidrogenasa* constituye el paso siguiente, de acuerdo con la reacción:



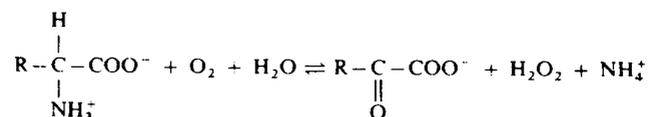
La *glutamato deshidrogenasa* ocupa un lugar preferente como punto de unión entre el metabolismo de carbohidratos y el metabolismo del nitrógeno. En hígado de mamíferos existe una *glutamato deshidrogenasa* localizada en la matriz mitocondrial, que es activada por ADP e inhibida por GTP. La enzima de hígado bovino ha sido muy estudiada, tiene un peso molecular de 330.000 daltons y está compuesta por seis subunidades idénticas. Este oligómero presenta *in vitro* la

propiedad de poder polimerizarse formando agregados de mayor peso molecular. La enzima puede actuar tanto con NAD^+ como con NADP^+ .

La reacción de la *glutamato deshidrogenasa* en sentido inverso, es decir en sentido aminante, puede servir también como una vía alternativa para la incorporación de amonio a compuestos orgánicos en levaduras y otros hongos, utilizando fundamentalmente NADPH como poder reductor.

Desaminación oxidativa

Los α -cetoácidos correspondientes a los aminoácidos también pueden obtenerse por la acción de la *L-aminoácido oxidasa* y de la *D-aminoácido oxidasa*. En los tejidos de mamíferos, la actividad *L-aminoácido oxidasa* es muy reducida y probablemente la contribución de esta enzima al metabolismo general de los L-aminoácidos proteinogénicos es bastante baja. La enzima es una flavoproteína, con un grupo FAD unido, que utiliza O_2 y produce H_2O_2 :



[L-aminoácido]

Sin embargo, la actividad de la enzima *D-aminoácido oxidasa* es muy alta en algunos tejidos de mamíferos, como el riñón. La enzima es también una flavoproteína, ligada en este caso al FMN. La misión fisiológica de esta enzima es la desintoxicación de D-aminoácidos, algunos de los cuales se encuentran en la naturaleza y son fuertemente tóxicos. Así, por ejemplo, el D-glutámico y la D-alanina son componentes de los péptidoglicanos de las paredes celulares de algunos microorganismos; la D-serina se encuentra en algunos insectos, como por ejemplo la larva del gusano de seda antes de la pupación; y la D-fenilalanina en el péptido lombricina, obtenido a partir de la lombriz de tierra. Los α -cetoácidos obtenidos siguen el mismo camino de degradación, que los obtenidos a partir de los L-enantiómeros. De esta manera el organismo se defiende de los aminoácidos isómeros de la serie D, que han podido ser ingeridos casualmente, y de los procedentes del recambio de la flora intestinal.

α -descarboxilación

Otras de las reacciones que sufren muchos aminoácidos siguiendo un mecanismo muy semejante para todos ellos es la α -descarboxilación. El piridoxal-fosfato (PLP) interviene también como coenzima activa en la descarboxilación de los aminoácidos por la acción de descarboxilasas específicas. Estas reacciones aunque fundamentalmente no proporcionan esqueletos carbonados que puedan servir como fuente de energía, producen, sin embargo, compuestos aminados que tienen importantes misiones fisiológicas. En la tabla 29.3 se reseñan algunas de las α -descarboxilasas más importantes, así como las aminas biógenas procedentes de la descarboxilación.

El mecanismo de la descarboxilación, esquematizado en la figura 29.9, es el siguiente: como en el caso de la transaminación se parte de una base de Schiff formada por la condensación entre el piridoxal-fosfato y el grupo amino del

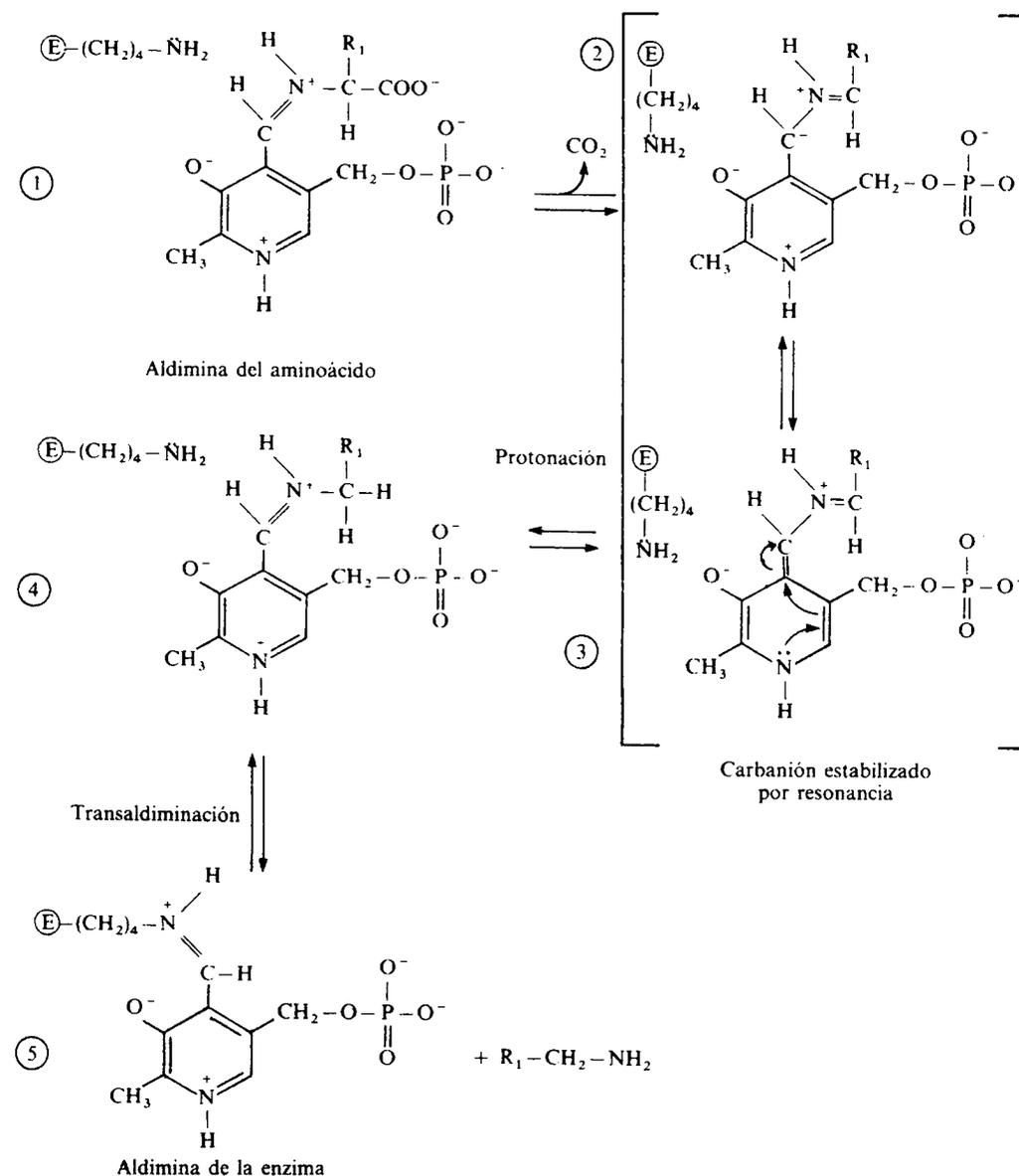


Figura 29.9. Mecanismo de acción de la reacción de α -descarboxilación catalizada mediante el piridoxal-fosfato. $\text{E}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$: lisina unida a la enzima.

aminoácido (aldimina del aminoácido). A continuación, se produce la descarboxilación desprendiéndose CO_2 y dando lugar a un carbanión (2) estabilizado por resonancia. En este estado intermediario el anillo heterocíclico del piridoxal-fosfato se comporta como un sumidero de electrones, mediante la formación de un compuesto quinoideo (3). A continuación tiene lugar la protonación del carbanión, dando lugar a una piridoxal-fosfato aldimina (4) de la amina formada al descarboxilarse el aminoácido. Por último, tiene lugar una transaldiminación (5) con un grupo ϵ -amino de un residuo de lisina que entra a formar parte del sitio

Tabla 29.3

DESCARBOXILASAS MAS IMPORTANTES: SUSTRATO, PRODUCTO Y FUNCION

α -descarboxilasas	Producto	Función
<i>Ornitina descarboxilasa</i>	Putrescina	Síntesis de poliaminas
<i>Lisina descarboxilasa</i>	Cadaverina	Poliamina: proliferación celular
<i>Histidina descarboxilasa</i>	Histamina	Reacciones alérgicas
<i>Tirosina descarboxilasa</i>	Tiramina	Neurotransmisor
<i>Descarboxilasas de aminoácidos aromáticos:</i>		
Triptófano	Triptamina	Neurotransmisor
DOPA	Dopamina	Síntesis de catecolaminas
<i>Arginina descarboxilasas</i>	Agmatina	Síntesis de poliaminas en plantas
<i>Valina descarboxilasa</i>	2-metilpropanamina	
<i>Otras descarboxilasas</i>		
<i>Aspartato descarboxilasa</i>	β -alanina	Precursor de coenzima A
<i>Glutamato descarboxilasa</i>	4-aminobutirato	Neurotransmisor
<i>Cisteína sulfinato descarboxilasa</i>	Hipotaurina	Síntesis de taurina. Ácidos biliares

activo de la enzima. La aldimina de la enzima está preparada para entrar a formar parte de otro ciclo catalítico.

La *ornitina descarboxilasa* es la enzima clave de la síntesis de las aminas biógenas putrescina, espermidina y espermina, involucradas en los procesos de división y diferenciación celular. Está descrita como el prototipo de enzima inducible por hormonas, aminoácidos o factores de crecimiento, entre otros, pudiendo inducirse su actividad hasta dos órdenes de magnitud de la actividad basal. La proteína tiene un recambio muy rápido siendo su vida media en algunos tejidos del orden de diez minutos.

Destino de los esqueletos carbonados de los aminoácidos

El primer paso del catabolismo de los aminoácidos es la transaminación con 2-oxoglutarato para dar glutamato y los α -cetoácidos correspondientes. Los esqueletos carbonados de estos α -cetoácidos son convertidos por una cadena de reacciones específicas para cada uno de ellos en piruvato, acetyl-CoA, e intermediarios del ciclo del ácido cítrico: 2-oxoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxaloacetato, según se describe en la figura 29.10. El catabolismo de los aminoácidos, en general, está controlado por la baja afinidad de las aminotransferasas. Los valores de las constantes de Michaelis para estas enzimas son del orden de 10^{-3} M o incluso mayores, superando ampliamente las concentraciones de los aminoácidos en plasma. En efecto, las mayores concentraciones en el estado postabsortivo corresponden, en rata, a la glutamina, 0,55 mM. Todos los demás aminoácidos están por debajo de este valor. En consecuencia, a la primera reacción de la degradación de aminoácidos, la transaminación, le corresponde una cinética de orden uno, es decir, la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración del aminoácido. Así pues, la degradación de los aminoácidos está regulada por la cantidad de los mismos que llega a la célula, ya que existe una correlación lineal entre el aporte de los aminoácidos a un tejido y la velocidad de su degradación.

Todos los aminoácidos, a excepción de la leucina y lisina, pueden ser teóricamente precursores de glucosa. Leucina y lisina producen acetyl-CoA en su degra-

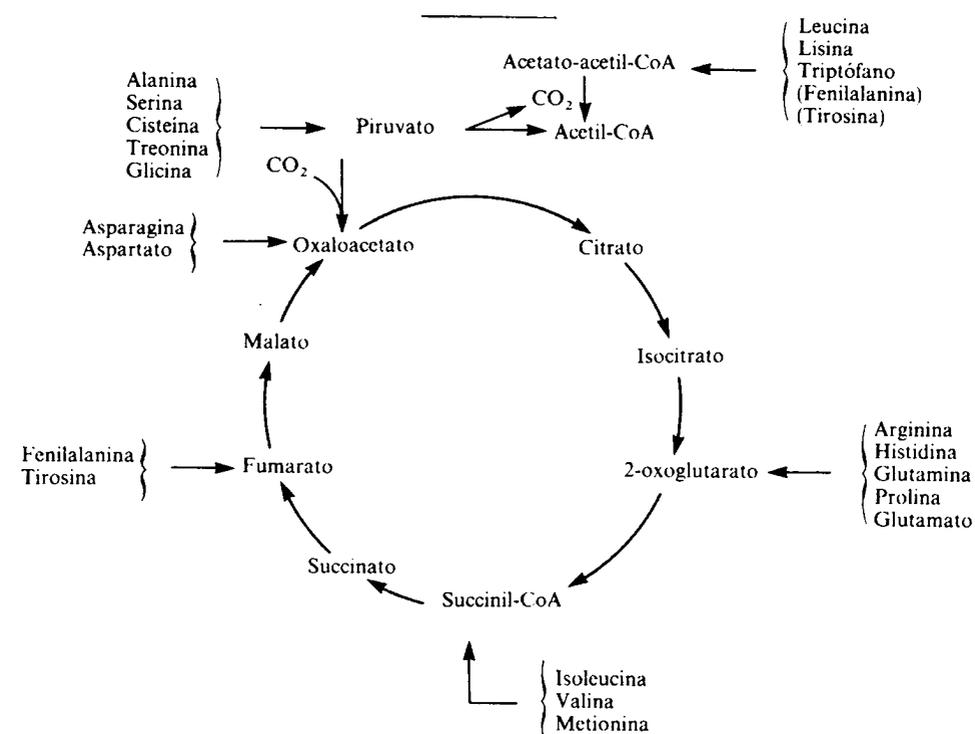


Figura 29.10. Rutas metabólicas de los esqueletos carbonados de los aminoácidos.

dación y, por tanto, son cetogénicos. A pesar de la teórica capacidad gluconeogénica de casi todos los aminoácidos, se ha podido demostrar experimentalmente con técnicas de perfusión hepática, que aun a elevadas concentraciones (10 mM), muchos de ellos no aumentan la síntesis de glucosa por el hígado. Los mejores sustratos gluconeogénicos son la alanina y la serina. La gluconeogénesis a partir de alanina tiene una importancia considerable en el ayuno, cuando el glucógeno se ha consumido para mantener la glucemia normal. El aumento de la gluconeogénesis va acompañado de una subida de la concentración de aminoácidos ramificados en el plasma.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bender, D. A.: *Amino Acid Metabolism*, 2.^a ed., John Wiley and Sons, Chichester, 1985.
- Bond, J. S., y Butler, P. E.: «Intracellular Proteases», *Ann. Rev. Biochem.*, 56:333-364, 1987.
- Boyer, P.: «Hydrolysis. Peptide Bonds», *The Enzymes*, 3.^a ed., vol. III, Academic Press, Nueva York, 1971.
- Braunstein, A. E.: «Amino Group Transfer», *The Enzymes*, 3.^a ed. (ed. P. Boyer), vol. IX:379-481, Academic Press, Nueva York, 1973.
- Collermi, E. J., y Oxender, D. L.: «Mechanisms of transport of Amino Acids across Membranes», *Ann. Rev. Nutr.*, 7:75-90, 1987.
- Guidotti, G. G.; Borghetti, A. F., y Gazzola, G. C.: «The Regulation of Amino Acid Transport in Animal Cells», *Biochim. Biophys. Acta*, 515:329-366, 1978.
- Häussinger, D., y Sies, H.: *Glutamine Metabolism in Mammalian Tissues*, Springer-Verlag, Berlín, 1984.
- Meister, A., y Anderson, M. E.: «Glutathione», *Ann. Rev. Biochem.*, 52:711-760, 1983.

- Price, N. C., y Stevens, L.: *Fundamentals of Enzymology*, Oxford University Press, Oxford, Second Edition, 1989.
- «Protein Degradation in Health and Disease», Ciba Foundation Symposium 75, *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1980.
- Shotwell, M. A.; Kilberg, M. S., y Oxender, D. L.: «The Regulation of Neutral Amino Acid Transport in Mammalian Cells», *Biochim. Biophys. Acta*, 737:267-284, 1983.
- Smith, E. L.; Austen, B. M.; Blumenthal, K. M., y Nyc, J. F.: «Glutamate Dehydrogenases», *The Enzymes*, 3.^a ed. (ed. P. Boyer), vol. XI:294-367, Academic Press, Nueva York, 1975.
- Yudilevich, D. L., y Bryd, C. A. R.: *Amino Acid Transport in Animal Cells*, Mandesler University Press, 1987.
- Walsh, C.: *Enzymatic Reaction Mechanisms*, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1979.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Biosíntesis y catabolismo de aminoácidos específicos

JOSÉ R. VIÑA y JUAN VIÑA

El metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos se encuentra en un continuo estado dinámico. El hombre ingiere los compuestos nitrogenados fundamentalmente en forma de proteínas, las cuales, para ser absorbidas, deben ser hidrolizadas a aminoácidos. Por otro lado, el organismo mantiene un continuo equilibrio entre la síntesis de proteínas y la proteólisis intracelular de éstas. Por último, elimina el nitrógeno sobrante sobre todo en forma de urea. En la figura 30.1 se muestra una visión general del metabolismo de aminoácidos.

RECAMBIO PROTEICO: ESTUDIO DE LA PROTEOLISIS INTRACELULAR

El hombre ingiere en condiciones normales entre 60 y 100 g de proteínas al día e hidroliza entre 300 y 400 g de proteínas tisulares, que son repuestas por la síntesis de nuevas proteínas. Esto supone que al menos tres cuartas partes de los aminoácidos procedentes de la proteólisis tisular son reutilizados para la síntesis de nuevas proteínas.

La incorporación de un aminoácido a una cadena polipeptídica que se está sintetizando supone un gasto de seis moléculas de ATP. En condiciones normales, se calcula que el recambio proteico corresponde a una cifra que oscila entre el 15 por 100 y el 20 por 100 del metabolismo basal.

Otro aspecto del recambio proteico es la gran variabilidad que existe en cuanto a la vida media de una proteína a otra. Así, mientras que la de la *ornitina descarboxilasa* es de doce minutos, la de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* es de cinco horas, y la de la *lactato deshidrogenasa* es de ciento cuarenta horas.

Esencialmente, se distinguen los siguientes mecanismos de proteólisis intracelular:

- Proteólisis lisosómica.
- Proteólisis no lisosómica: citoplasmática y mitocondrial.

Proteólisis lisosómica

La autofagia lisosómica es especialmente importante en casos de malnutrición y de estrés, y está regulada por el glucagón o las catecolaminas. Es importante

para degradar las proteínas de membranas y las que forman parte de glicoproteínas, tales como los receptores hormonales. En condiciones nutricionales pobres muchas proteínas solubles son también degradadas por los lisosomas.

En músculo e hígado la falta de insulina o de aminoácidos esenciales estimula la captación e hidrólisis por parte de los lisosomas de muchas proteínas citoplasmáticas, debido a lo cual dichos orgánulos reciben el nombre de *vacuolas autofágicas*.

Proteólisis citoplasmática

Se conocen tres tipos de proteólisis citoplasmática, que han sido estudiados en distintos modelos experimentales:

1. En homogenados musculares existe actividad proteolítica a pH neutro debido a la presencia de *proteasas dependientes de Ca²⁺*. Dos de estas enzimas llamadas *calpina-I* y *calpina-II* han sido identificadas y difieren en sus afinidades por el Ca²⁺.

2. Proteólisis catalizada por *proteasas no lisosómicas dependientes de ATP*. Algunas proteínas se unen de forma específica a un pequeño péptido, la ubiquitina, que «marca» así las proteínas que deben ser degradadas. El enlace covalente se establece entre el grupo carboxilo de la ubiquitina y el grupo α -amino de los residuos de L-lisina de la proteína que debe ser destruida. El conjunto de la ubiquitina y la proteína es degradado por un gran complejo enzimático llamado *enzima degradadora de la ubiquitina conjugada*. Por este sistema son eliminadas proteínas de estructura anormal y aquellas cuya vida media es corta, siendo además el sistema responsable de la proteólisis basal muscular.

3. En el citoplasma de las células musculares esqueléticas y de otras células se ha demostrado la presencia de un complejo proteolítico multifuncional (650.000 daltons) que ha recibido el nombre de *proteosoma*. Este complejo degrada las proteínas por un sistema dependiente de ATP no relacionado con la ubiquitina. Sin embargo, puede requerir una carboximetilación previa de la proteína que se va a degradar. Este proceso depende, para su normal funcionamiento, de la presencia de S-adenosil metionina y está catalizado por metiltransferasas específicas. La carboximetilación se realiza fundamentalmente en los grupos carboxilos laterales de los residuos de D-aspartato, el cual se produce por racemización espontánea de los restos de L-aspartato presentes en las proteínas normales.

Proteólisis mitocondrial

Se ha demostrado la presencia de actividad proteolítica dependiente de ATP en mitocondrias de hígado y de corteza suprarrenal.

SIGNIFICADO FISIOLÓGICO DEL RECAMBIO PROTEICO

Una de las razones que justifican la alta tasa de proteólisis es la necesidad de evitar la acumulación de proteínas defectuosas que se forman por un fallo en la síntesis o por la desnaturalización espontánea de una proteína normal.

Otra razón que justifica el elevado recambio proteico es que, gracias a este mecanismo, la concentración de una enzima, y en consecuencia su actividad, pueden ser modificadas por cambios en la velocidad de síntesis o de degradación

de dicha enzima. Debido a ello, no es sorprendente que aquellas enzimas cuyo papel en el control de las vías metabólicas es importante tengan vidas medias cortas. Así, cuando por algún cambio en el entorno, por ejemplo, cambios nutricionales, se requiera que la concentración de enzima disminuya rápidamente, esto podrá conseguirse ya sea activando su proteólisis o inhibiendo su síntesis. Un ejemplo de este tipo de mecanismo regulador lo constituye el control de la cantidad de *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* hepática, que es una de las enzimas reguladoras de la gluconeogénesis. Cuando el cociente glucagón/insulina aumenta, también lo hace la cantidad de dicha enzima en hígado. Sin embargo, cuando el cociente indicado está disminuido la concentración de la enzima también lo está.

DESTINO METABÓLICO DE LOS AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos pueden seguir tres grandes destinos metabólicos, que se detallan a continuación:

1. Síntesis de proteínas. Los aminoácidos son unidades básicas para la síntesis de proteínas en todos los tejidos. Como se ha comentado, la cantidad de proteínas sintetizadas a diario es de 300 a 400 g/día, lo cual representa un recambio proteico tres veces superior a las proteínas ingeridas en una dieta normal.

2. Precursores totales o parciales de moléculas de extraordinaria importancia en biología, tales como las bases púricas y pirimidínicas, la colina, la creatina, las porfirinas, ciertos neurotransmisores, la niacina, los ácidos biliares, ciertas hormonas, las poliaminas y pequeños péptidos como el glutatión. Algunas vías de síntesis de estas pequeñas moléculas, como la creatina, requieren de la interrelación de varios tejidos.

3. Degradación. Los aminoácidos sobrantes de los requerimientos celulares son degradados, y el nitrógeno transformado en urea a través de las reacciones del ciclo de la urea (cap. 31), sólo completo en el hígado. Hasta este órgano llega el nitrógeno formado en los diversos tejidos periféricos preferentemente en forma de L-glutamina y de L-alanina, aminoácidos que son degradados y cuyos esqueletos carbonados pueden seguir varios destinos (fig. 30.1). Durante el ayuno, el músculo oxida hasta CO₂ y H₂O los aminoácidos ramificados, que, por tanto, sirven como sustratos energéticos. Se ha estimado que en tales condiciones, casi un 15 por 100 del acetyl-CoA formado en el músculo puede proceder de los aminoácidos ramificados. En cambio, tras la ingesta, los aminoácidos que en su degradación dan lugar a acetyl-CoA pueden ser precursores lipídicos en tejidos que poseen esta vía metabólica.

De lo expuesto hasta ahora queda clara la interrelación tisular que supone el normal metabolismo intermediario de los aminoácidos y la naturaleza cooperativa de su regulación. La importancia biológica de esto radica en el hecho de que un fallo funcional de cualquier órgano tiene probables consecuencias en el metabolismo de varios tejidos y órganos del organismo.

PAPEL DE LA TRANSAMINACIÓN EN EL METABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS

Debido a un número pequeño de reacciones próximas al equilibrio, la mayoría de los aminoácidos mantienen un equilibrio químico con sus correspondientes oxoácidos (cetoácidos). En consecuencia, un aminoácido puede perder su grupo

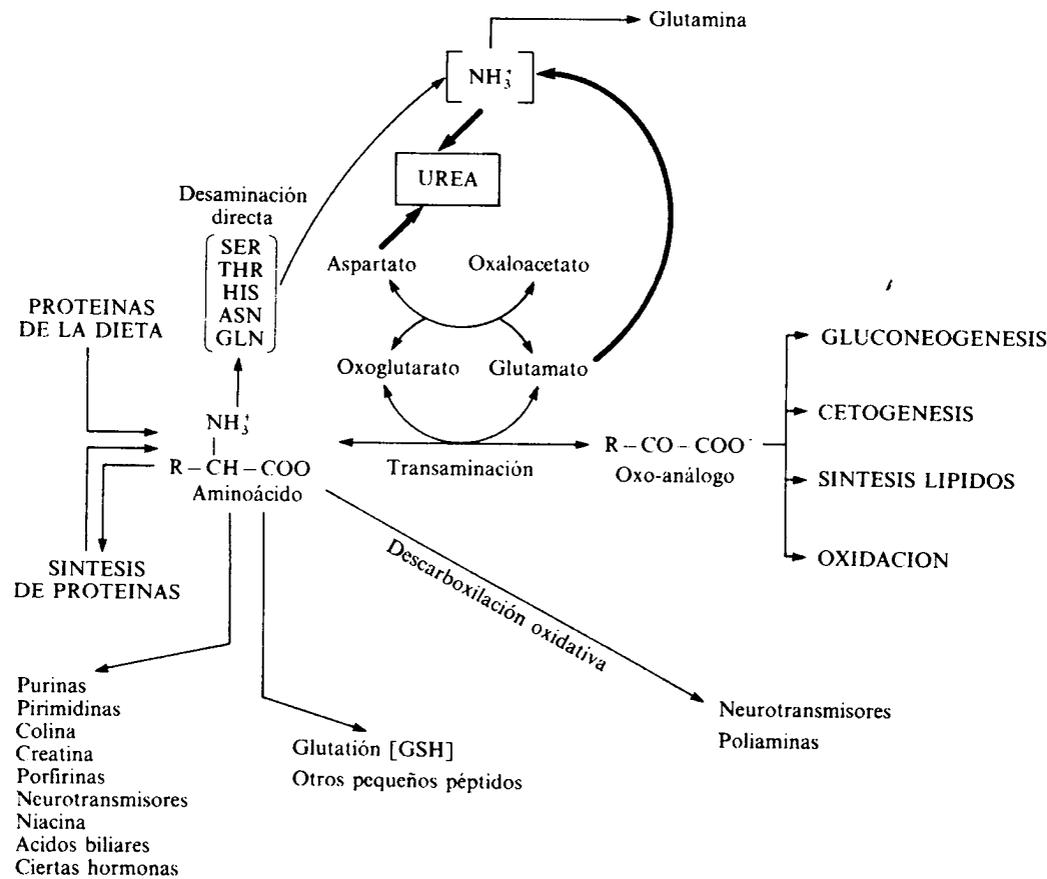


Figura 30.1. Visión general del metabolismo de aminoácidos.

amino, o un oxoácido puede aminarse dependiendo de la concentración de otros aminoácidos y oxoácidos (cap. 31). Si existe disponibilidad de un oxoácido, el correspondiente aminoácido se mantendrá a una concentración determinada, que depende de la concentración del oxoácido y de la de otros aminoácidos. Naturalmente, esto no sería posible si dichas reacciones no fueran reversibles, con una constante de equilibrio químico de aproximadamente la unidad. Además, gracias a un aminoácido común, el L-glutamato, con el que están relacionados por transaminación la mayoría de los aminoácidos, se requieren menos enzimas para los procesos de interconversión de unos aminoácidos en otros.

En la actualidad se sabe que tres oxoácidos (también llamados oxoanálogos de aminoácidos) diferentes, el 2-oxoglutarato, el piruvato y el oxaloacetato, participan en un gran número de reacciones de transaminación distintas. Tales reacciones son catalizadas por enzimas específicas llamadas aminotransferasas (antes conocidas como transaminasas). Se han descrito aminotransferasas específicas para casi todos los aminoácidos, y todas son dependientes de piridoxal fosfato. En la figura 30.1 se muestra un ejemplo de transaminaciones acopladas.

Otra característica común de las enzimas que inician la degradación de los aminoácidos es su elevado valor de K_m , el cual es superior a las concentraciones tisulares de aminoácidos. Por tanto, un aumento de la concentración de un determinado aminoácido en un tejido conlleva una mayor transaminación y una mayor disponibilidad de la estructura carbonada para su degradación.

La mayoría de las enzimas que inician la degradación de los aminoácidos son inducibles por factores nutricionales y hormonales, sobre todo en el caso de los aminoácidos esenciales. Como ejemplo de este fenómeno, cabe citar el caso de la *treonina deshidratasa*, cuya actividad puede desaparecer casi por completo cuando la disponibilidad de treonina es muy baja y resulta necesario preservar este aminoácido esencial. Una excepción a este fenómeno de inducción por factores nutricionales es la *aminotransferasa de aminoácidos ramificados*. Sin embargo, la distribución tisular de esta enzima es bastante particular, característica que constituye en sí misma un mecanismo de salvaguarda de los aminoácidos ramificados, que son los aminoácidos esenciales más abundantes en las proteínas.

DISTRIBUCION TISULAR DE LAS ENZIMAS DEGRADANTES

El papel de los aminoácidos como sustrato energético varía de un aminoácido a otro, aunque existen también importantes diferencias entre los tejidos.

Todos los tejidos poseen *glutamato-oxaloacetato aminotransferasa*, lo cual implica que tienen la capacidad de oxidar el L-glutamato y el L-aspartato. Sin embargo, dichos aminoácidos no constituyen un sustrato energético digno de consideración. Por otro lado, casi todos los tejidos, a excepción del bazo, tienen *L-alanina aminotransferasa*, en tanto que la *tirosina aminotransferasa* es activa fundamentalmente en el hígado y en el corazón. La actividad de la *aminotransferasa de los aminoácidos ramificados* es prácticamente nula en hígado e intestino, pero bastante elevada en los tejidos periféricos, sobre todo en músculo esquelético.

Esta distribución tisular supone un mecanismo de defensa contra la degradación excesiva de los aminoácidos ramificados. Si no fuera así, estos tres aminoácidos esenciales serían degradados antes de llegar a los tejidos periféricos, cerebro, músculo esquelético, diafragma y tejido adiposo blanco. Vemos, por tanto, que la diferente distribución de las enzimas de unos tejidos a otros puede tener gran importancia en el metabolismo de aminoácidos.

AMINOACIDOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES

Desde la perspectiva nutricional, la división entre aminoácidos esenciales y no esenciales está basada en la valoración de la cantidad mínima de un aminoácido determinado de la dieta que es necesario para mantener el peso y el balance de nitrógeno en el ser adulto; o un ritmo de crecimiento y ganancia de peso así como un balance de nitrógeno positivo en el niño o el animal inmaduro. Se consideran aminoácidos esenciales para el hombre adulto la L-lisina, la L-metionina, la L-fenilalanina, la L-treonina, el L-triptófano y los aminoácidos ramificados, aunque, como se comenta a continuación, existen algunas limitaciones.

Experiencias realizadas en las últimas décadas han demostrado que la separación entre aminoácidos esenciales y no esenciales puede variar según el estado metabólico. Por ejemplo, aminoácidos tales como la L-arginina y la L-histidina son esenciales para el niño; o como L-cisteína, que lo es en el neonato. Algunos, como la L-arginina, se convierten en esenciales tras un grave traumatismo o en el *síndrome de Reye*, o como la L-histidina, que se convierte en esencial en adultos con enfermedad renal crónica.

Los estudios clásicos de Rose y colaboradores sugieren que la esencialidad de un aminoácido se debe a la imposibilidad de sintetizar la estructura carbonada, mientras que la capacidad de aminación de dicha estructura carbonada no se

considera un factor limitante. Esto es cierto para los aminoácidos ramificados, cuyos requerimientos dietéticos son satisfechos con la administración de su estructura carbonada. Sin embargo, no ocurre así con la L-lisina y la L-treonina.

Por tanto, para determinar con precisión la esencialidad de un aminoácido debemos tener en cuenta la capacidad del organismo de sintetizar la estructura carbonada y la capacidad de aminación de dicha estructura. Estos criterios permiten establecer cuatro grupos:

1. *Aminoácidos no esenciales.* Tales como la L-alanina, la L-glutamina y el L-aspartato, ya que su estructura carbonada se puede formar en el organismo y se transamina con facilidad.

2. *Aminoácidos cuya estructura carbonada es esencial.* Tales como los aminoácidos ramificados, el L-triptófano, la L-fenilalanina y la L-metionina. Estos aminoácidos tienen la característica de poder ser transaminada su estructura carbonada con rapidez en el organismo.

3. *Aminoácidos esenciales.* Pues el organismo no es capaz de sintetizar la estructura carbonada ni de llevar a cabo la aminación de dicha estructura. En este grupo se encuentran la L-lisina y la L-treonina.

4. Aminoácidos cuyo esqueleto carbonado es fácilmente sintetizado, pero cuya aminación es inadecuada. En este último grupo cabe incluir la L-serina, la L-cisteína y glicina.

Por último, hay que distinguir entre el concepto de aminoácido esencial y el de aminoácido importante, dado que desde la perspectiva de la bioquímica celular todos los aminoácidos son importantes al ser todos necesarios para la síntesis de proteínas. Por tanto, el criterio de esencialidad de un aminoácido es un concepto estrictamente nutricional.

AMINOACIDOS GLUCOGENICOS Y CETOGENICOS

Atendiendo a la naturaleza de los productos finales de su degradación (fig. 30.2), los aminoácidos pueden clasificarse en glucogénicos, en cetogénicos y en aminoácidos que al degradarse son precursores tanto de glucosa como de cuerpos cetónicos.

Los *aminoácidos glucogénicos* son los siguientes: L-alanina, L-aspartato, L-asparagina, L-arginina, L-cisteína, L-glutamina, L-glutamato, glicina, L-prolina, L-serina, L-valina, L-treonina, L-metionina y la L-histidina.

El *aminoácido cetogénico* es la L-leucina, y los *aminoácidos glucogénicos y cetogénicos* son la L-fenilalanina, la L-isoleucina, la L-tirosina, el L-triptófano y la L-lisina.

Las rutas que permiten la formación de glucosa y de cuerpos cetónicos a partir de los aminoácidos comparten una serie de reacciones comunes, de ahí que se analice el catabolismo de éstos agrupados en función de su transformación o llegada a puntos comunes del metabolismo intermediario.

CATABOLISMO DEL ESQUELETO CARBONADO DE LOS AMINOACIDOS

Aminoácidos que forman oxaloacetato

Como se muestra en la figura 30.3, la L-asparagina es hidrolizada por la *asparaginasa* (o *asparaginasa*), produciendo amoníaco y L-aspartato. Este pierde,

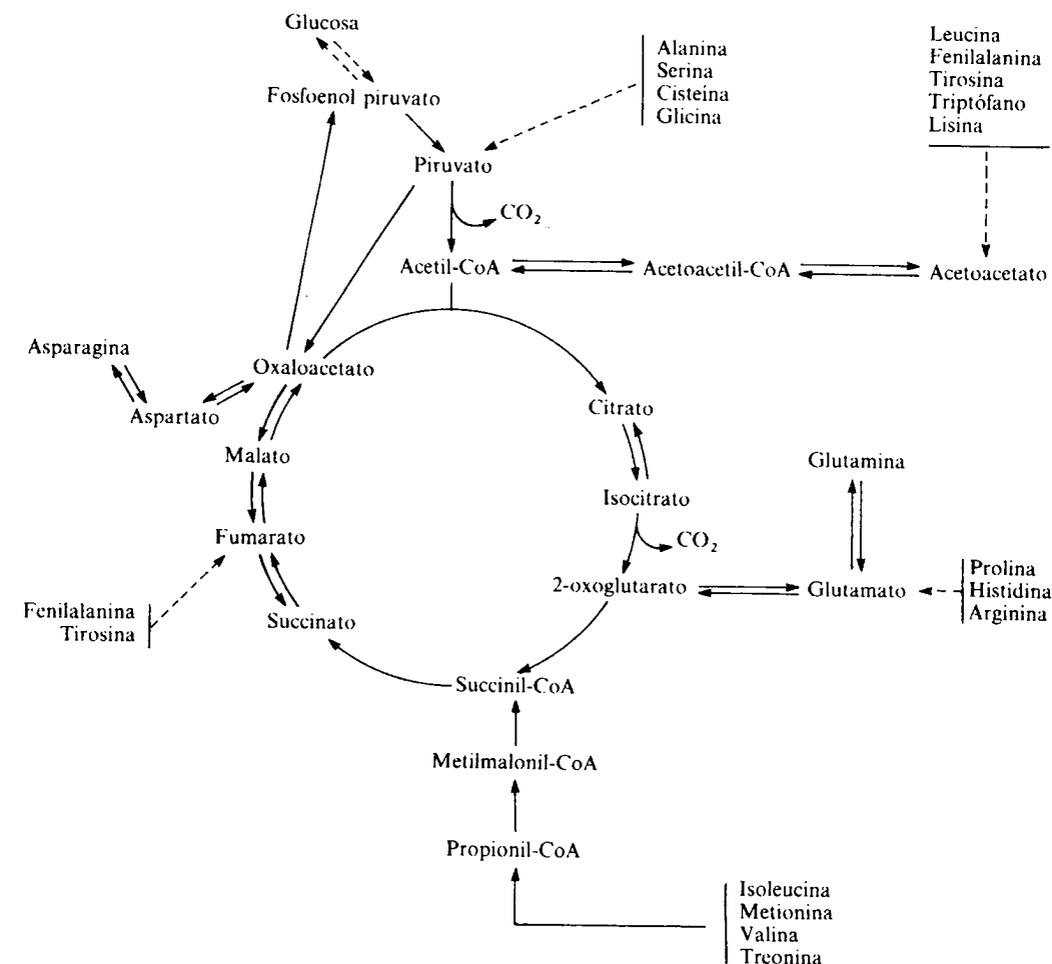


Figura 30.2. Visión general del destino del esqueleto carbonado de los aminoácidos.

a su vez, el grupo amino por transaminación catalizada por la *aspartato aminotransferasa* (*ASAT* o *GOT*), reacción en la que se forma oxaloacetato, el cual puede ser metabolizado por las vías que se esquematizan en la figura 30.2.

Aminoácidos que forman piruvato

Todo el esqueleto carbonado de la L-alanina, la L-cisteína, la glicina y la L-serina forman piruvato. Del esqueleto carbonado de la L-treonina sólo dos carbonos dan piruvato.

La L-alanina pierde su grupo amino por transaminación, para formar piruvato en una reacción catalizada por la *alanina aminotransferasa* (fig. 30.4).

La L-serina es degradada a piruvato por acción de la *serina deshidratasa*, una enzima que utiliza pirodoxal fosfato como cofactor (fig. 30.5). La L-serina también puede convertirse en glicina y N_5, N_{10} -metilentetrahidrofolato, siendo esta vía de degradación la más importante en el hombre (fig. 30.5). Esta reacción es reversible y permite la conversión de glicina en L-serina por la adición del grupo metileno del N_5, N_{10} -metilentetrahidrofolato (fig. 30.5).

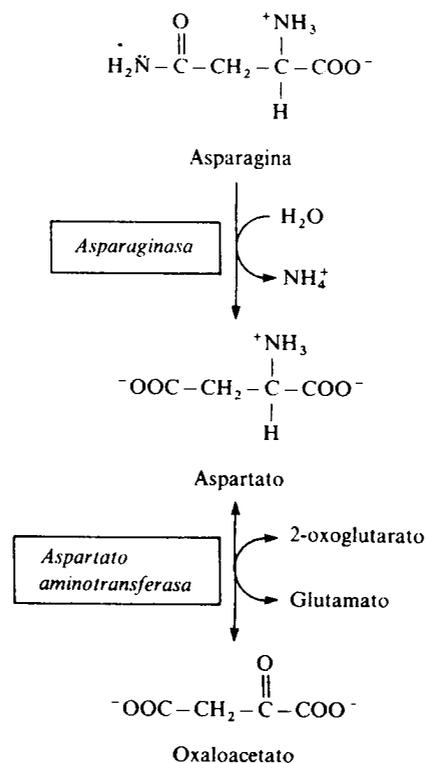


Figura 30.3. Conversión de la L-asparagina y el L-aspartato en oxaloacetato.

La L-cistina (aminoácido resultante de la unión de dos cisteínas por un puente disulfuro) se reduce a L-cisteína por medio de la *cisteína reductasa*, usando NADH-H^+ como agente reductor. La L-cisteína es catabolizada en los mamíferos por dos vías alternativas (fig. 30.6): la vía oxidativa directa y la de transaminación.

La L-treonina puede ser degradada de tres formas diferentes, dos de las cuales producen piruvato. Una de ellas consiste en el desdoblamiento de la L-treonina

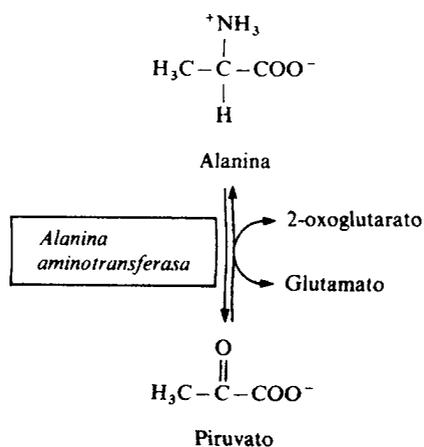


Figura 30.4. Conversión de la L-alanina en piruvato.

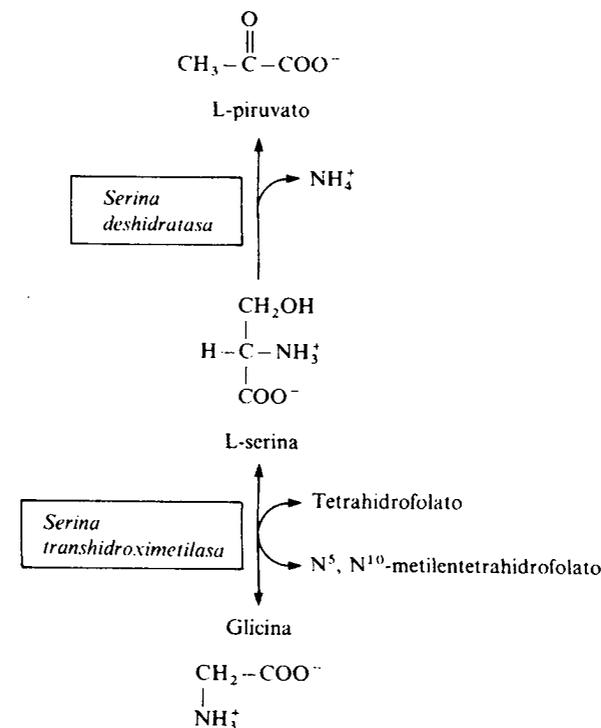


Figura 30.5. Metabolismo de la L-serina y de la glicina.

por medio de la *treonina aldolasa*, en acetaldehído y glicina. El acetaldehído puede ser oxidado a acetato, que se convierte en acetil-CoA. La glicina es transformada en L-serina por la enzima *serina hidroximetiltransferasa*, que requiere $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metilentetrahidrofolato como cofactor. La deshidratación de la L-serina producirá piruvato (fig. 30.5).

La otra vía que produce piruvato consiste en la oxidación del grupo hidroxilo de la treonina, produciendo 2-amino-3-oxobutirato, que se descarboxila para producir aminoacetato. La desaminación oxidativa del aminoacetato conduce a la formación de metilglioxal, el cual produce D-lactato por medio de la *glioxalasa dependiente de glutatión*. Por último, el D-lactato se convierte en piruvato por acción de la *D-lactato deshidrogenasa*.

Aminoácidos que forman 2-oxoglutarato

Tal como se verá con detalle más adelante, la L-glutamina se convierte en L-glutamato y amoníaco por acción de la *glutaminasa*. El L-glutamato se convierte en 2-oxoglutarato por medio de una transaminación o por una desaminación oxidativa catalizada por la *glutamato deshidrogenasa*.

Como se muestra en la figura 30.7, la L-histidina es desaminada a uruconato por medio de la *histidinasa* y dicho compuesto se convierte en 4-imidazolana-5-propionato por mediación de la *uroconasa*. La hidrólisis de este último da lugar al N-formiminoglutamato, el cual transfiere el grupo formimino del carbono α al tetrahidrofolato, formando formiminotetrahidrofolato (fig. 30.7). En humanos con déficit de ácido fólico, el formiminoglutamato es excretado en grandes cantidades

en la orina, sobre todo tras una ingesta elevada de L-histidina. Por tanto, el test de la excreción del formiminoglutamato es una prueba bioquímica en el diagnóstico de la deficiencia de ácido fólico.

La L-prolina es oxidada a deshidroprolina por acción de la *prolina deshidrogenasa*, la cual al incorporarle una molécula de agua da lugar al glutamato- γ -semialdehído (fig. 30.8). Por medio de la *glutamato semialdehído deshidrogenasa*, este compuesto da lugar al L-glutamato, que es transaminado a 2-oxoglutarato (fig. 30.8).

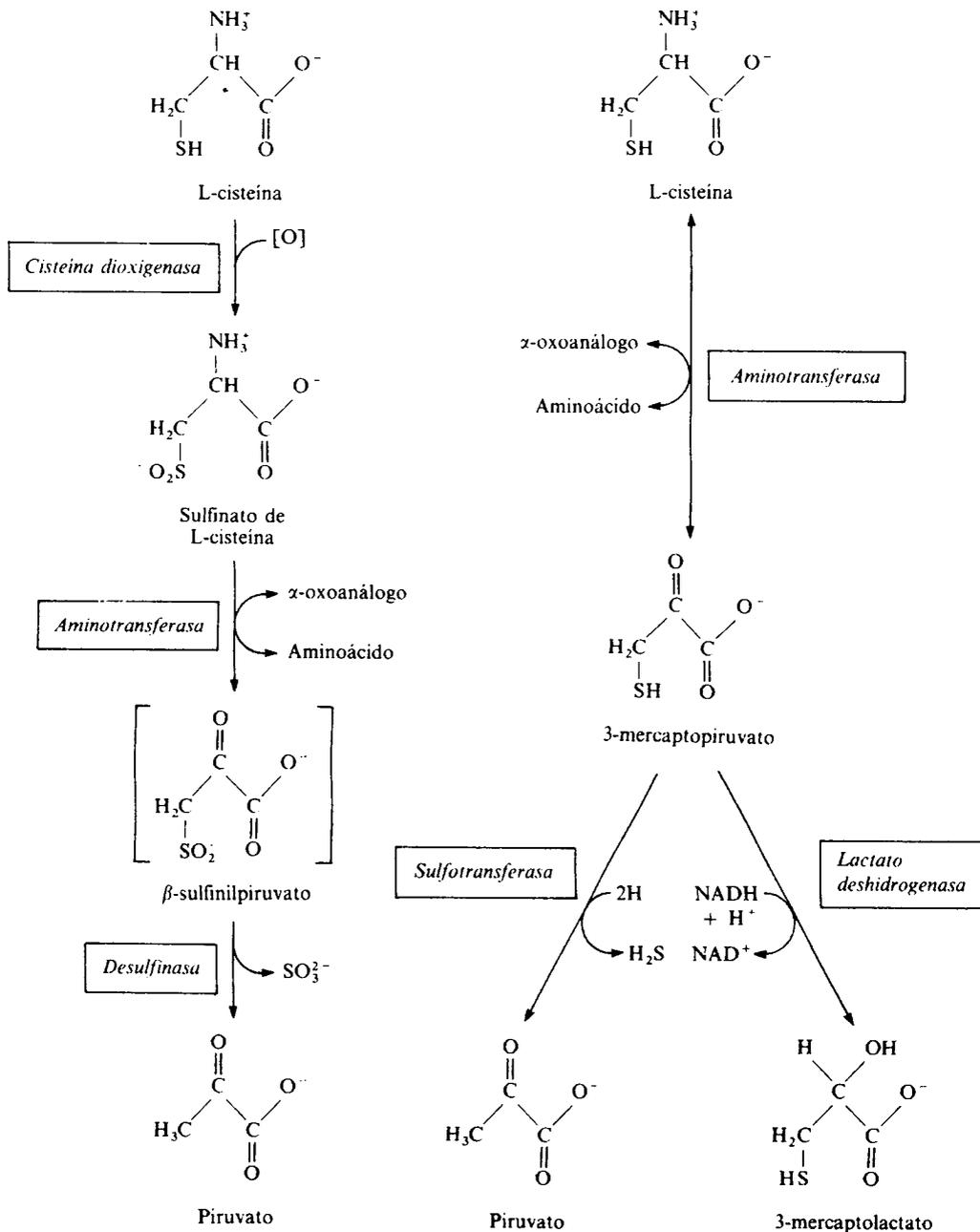


Figura 30.6. Degradación de la L-cisteína por la vía oxidativa y por la vía de la transaminación.

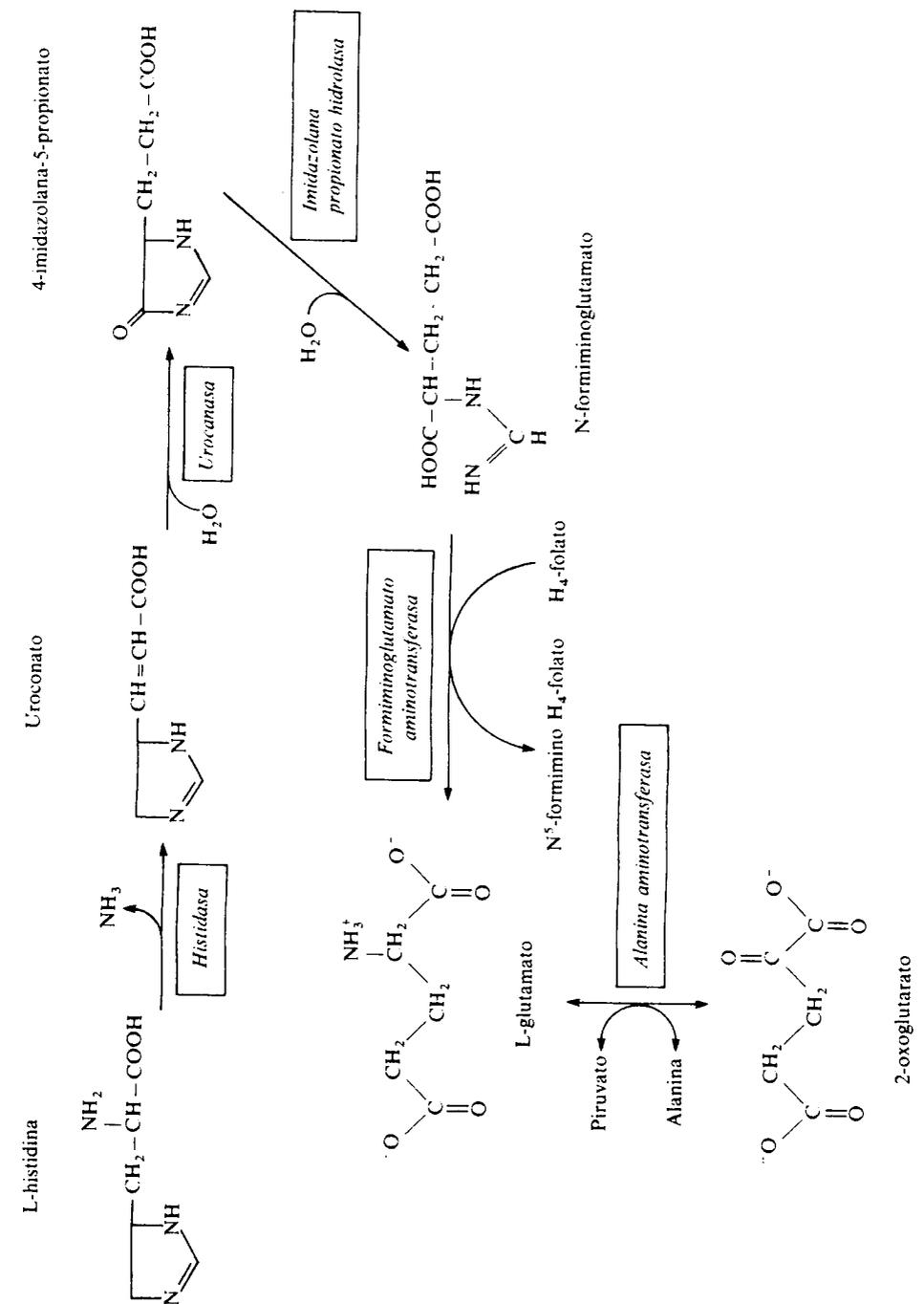


Figura 30.7. Degradación de la L-histidina.

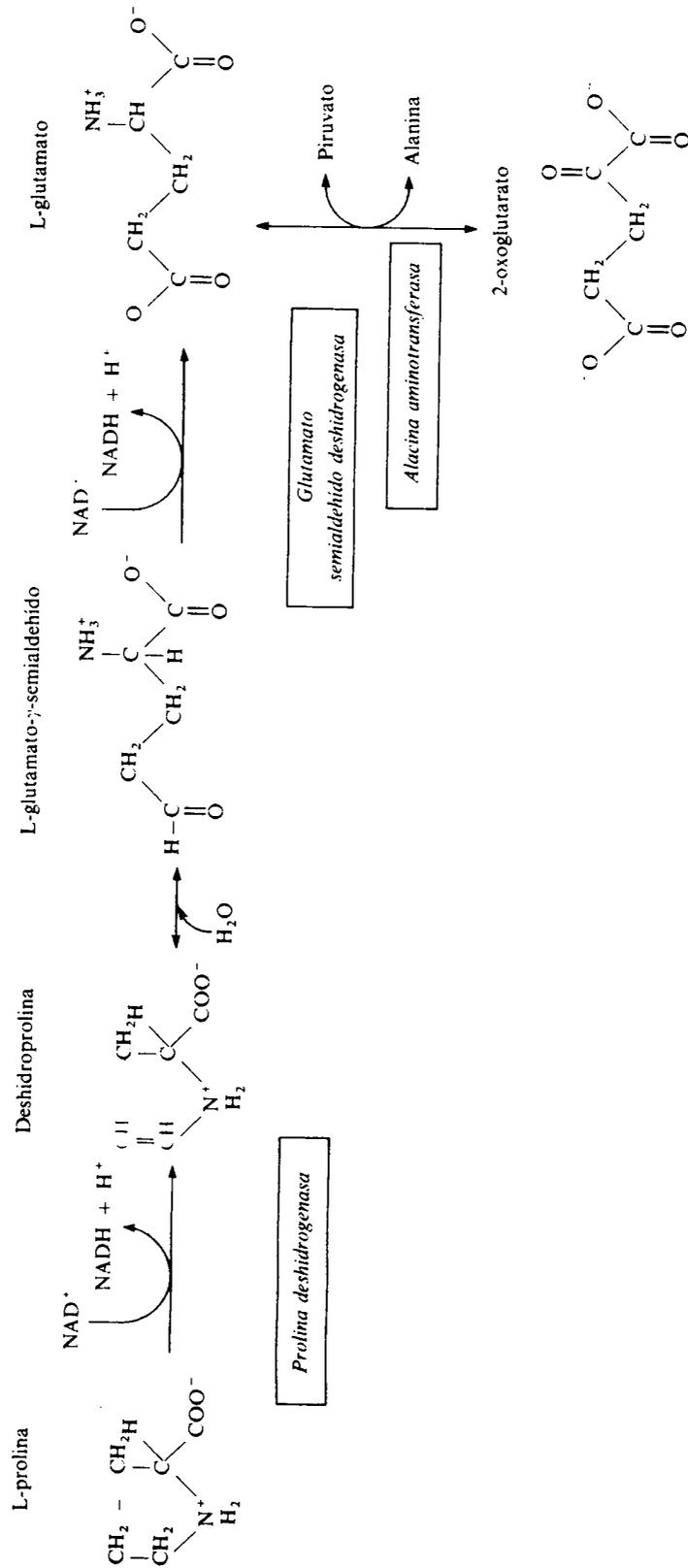


Figura 30.8. Degradación de la L-prolina.

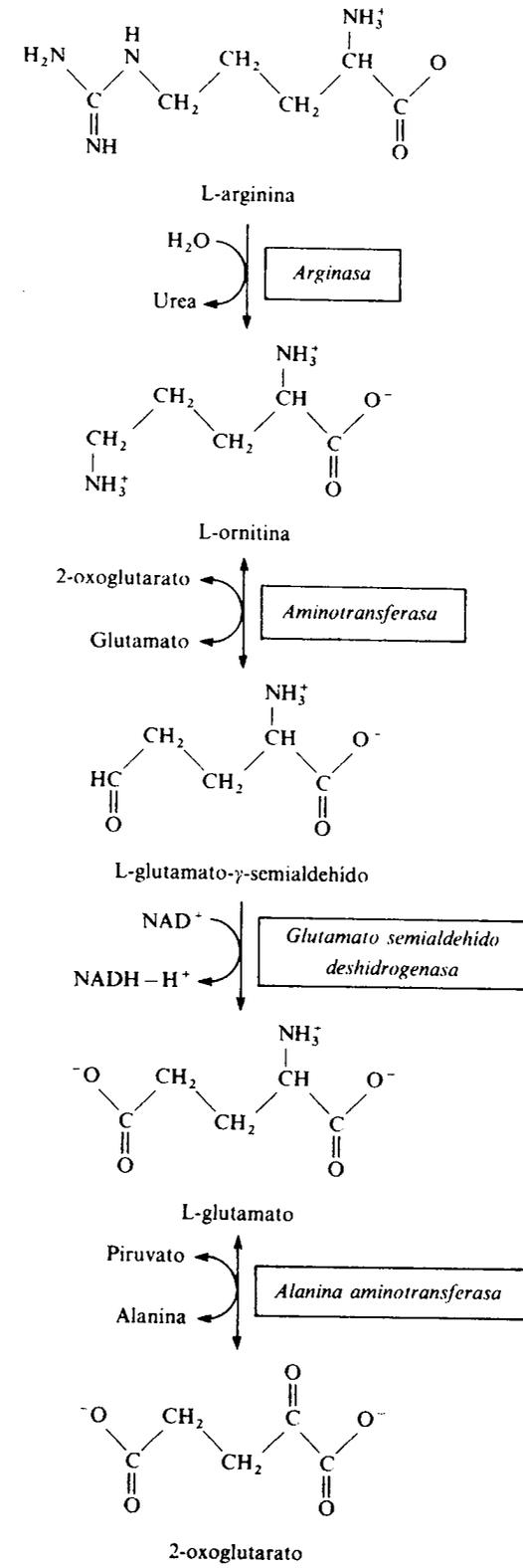


Figura 30.9. Degradación de la L-arginina.

La L-arginina produce ornitina por medio de la *arginasa* (fig. 30.9). Esta reacción ocurre en el hígado y forma parte del ciclo de la urea. La ornitina da lugar al glutamato- γ -semialdehído por transaminación, el cual se convierte en glutamato, que a su vez da lugar al 2-oxoglutarato por transaminación.

Aminoácidos que forman fumarato

Como se muestra en la figura 30.10, la hidroxilación de la L-fenilalanina por medio de la *fenilalanina-hidroxilasa* produce la L-tirosina. El complejo fenilalanina-hidroxilasa comprende la actividad *fenilalanina-4-monooxigenasa*, que ataca al anillo fenólico en posición 4 del aminoácido, y oxida la tetrahydrobiopterina a dihydrobiopterina, y la actividad *dihydrobiopterina reductasa*, que genera la tetrahydrobiopterina. El catabolismo de la L-fenilalanina y la L-tirosina da como productos finales fumarato y acetoacetato.

Aminoácidos que forman acetil-CoA o aceto-acetil-CoA

Todos los aminoácidos que forman piruvato son convertibles en acetil-CoA por medio del complejo de la *piruvato deshidrogenasa*. Además, la L-fenilalanina, la L-tirosina, el L-triptófano, la L-lisina, la L-leucina y la L-isoleucina forman acetil-CoA sin pasar primero por piruvato. De hecho, la fenilalanina y la tirosina, al producir acetoacetato, también pueden dar lugar a la formación de acetil-CoA (fig. 30.10).

Las etapas iniciales en la degradación de los aminoácidos ramificados son comunes y se comentarán más adelante. La L-leucina da lugar, como producto final de su degradación, acetil-CoA y acetoacetato (fig. 30.11), mientras que la L-isoleucina da acetil-CoA y propionil-CoA (fig. 30.12).

La L-lisina constituye una excepción dentro de los aminoácidos, ya que el primer paso de su catabolismo no es la eliminación del grupo amino por transaminación. Existen en los mamíferos varias rutas para su degradación que se resumen de forma esquemática en la figura 30.13.

El triptófano es degradado en mamíferos a acetil-CoA mediante la vía que se resume en la figura 30.14. La *quinureninasa* hepática es una de las enzimas de esta vía que requieren piridoxal fosfato como cofactor. Cuando hay un déficit de vitamina B₆, compuesto que sirve como precursor del piridoxal fosfato, la actividad de la *quinureninasa* decrece más deprisa que la de otras enzimas que requieren este compuesto como coenzima. Como consecuencia de ello el organismo elimina por la orina un exceso de 3-hidroxiquinurenina.

Aminoácidos que forman succinil-CoA

La L-valina y la L-isoleucina son dos de los aminoácidos ramificados que en su degradación dan lugar a succinil-CoA. Las reacciones implicadas en estas vías se resumen en las figuras 30.11 y 30.15.

La L-treonina se convierte, por medio de la *treonina deshidratasa*, en 2-oxobutirato y un ion amonio (fig. 30.16). El 2-oxobutirato es transformado en propionil-CoA a través de un proceso de descarboxilación oxidativa. El propionil-CoA se convierte, a su vez, en succinil-CoA por acción de una *2-oxoácido descarboxilasa*. Esta es la vía más importante de degradación de la L-treonina.

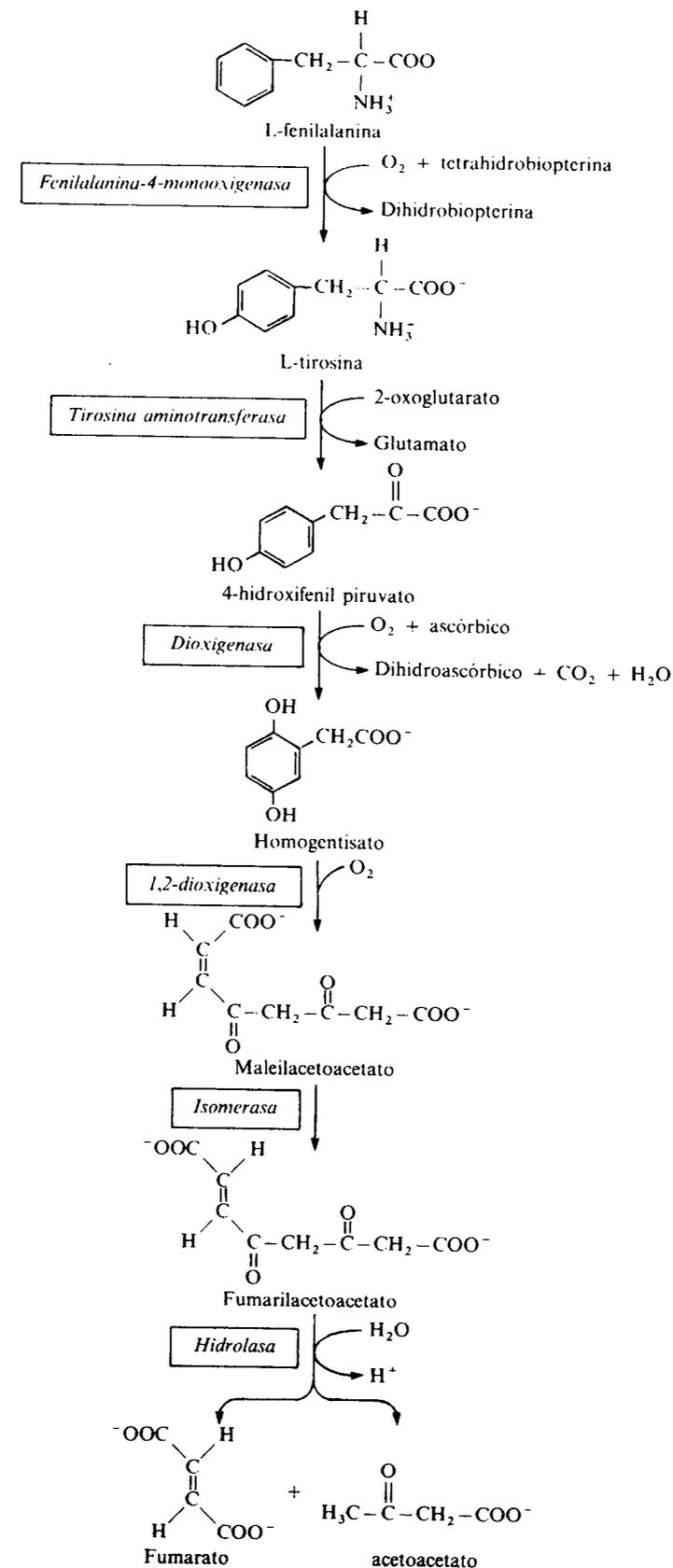


Figura 30.10. Degradación de la L-fenilalanina y de la L-tirosina.

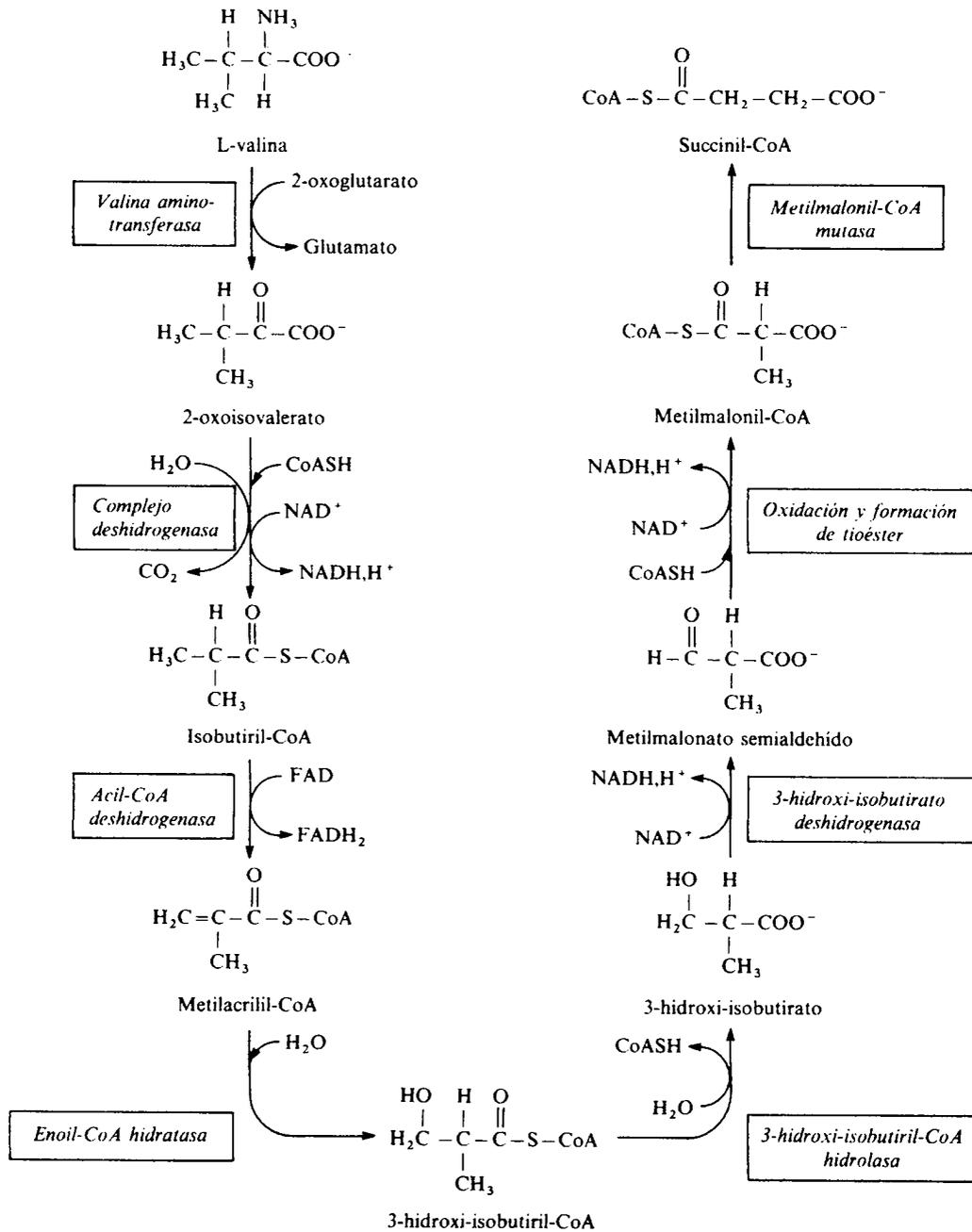


Figura 30.15. Degradación de la L-valina.

indica que los aminoácidos ramificados difieren del resto en el papel que los tejidos extrahepáticos y, sobre todo el músculo, desempeñan en el inicio de su metabolismo (fig. 30.17).

Esta diferencia se debe a la distribución tisular de las enzimas responsables de su degradación. Las actividades de *leucina aminotransferasa* (transamina la L-leucina y la L-isoleucina) y *valina aminotransferasa* son casi nulas en el hígado y

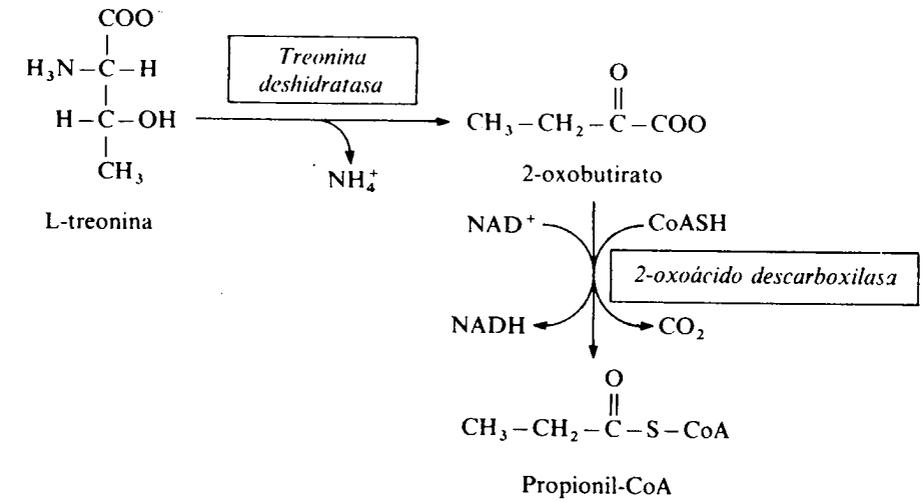


Figura 30.16. Conversión de la L-treonina en propionil-CoA.

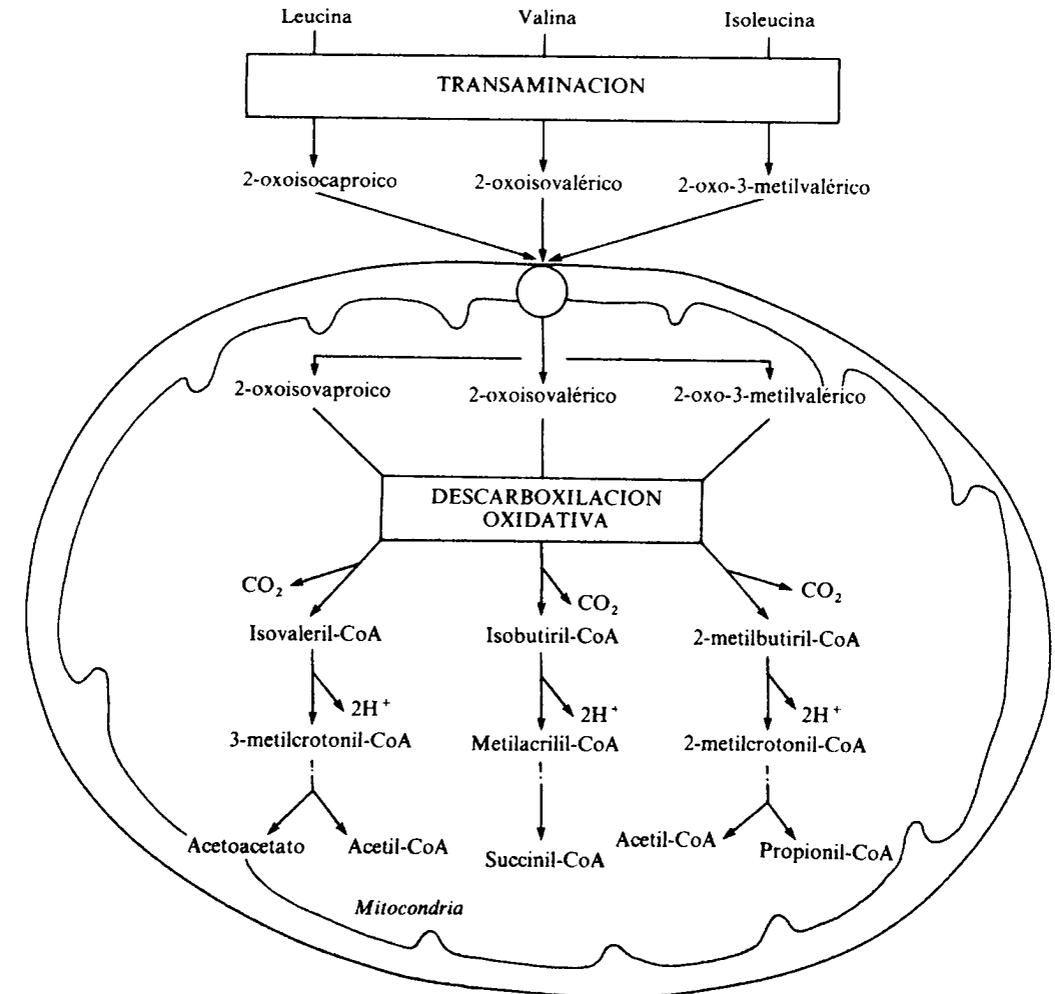


Figura 30.17. Visión general de la degradación de los aminoácidos ramificados.

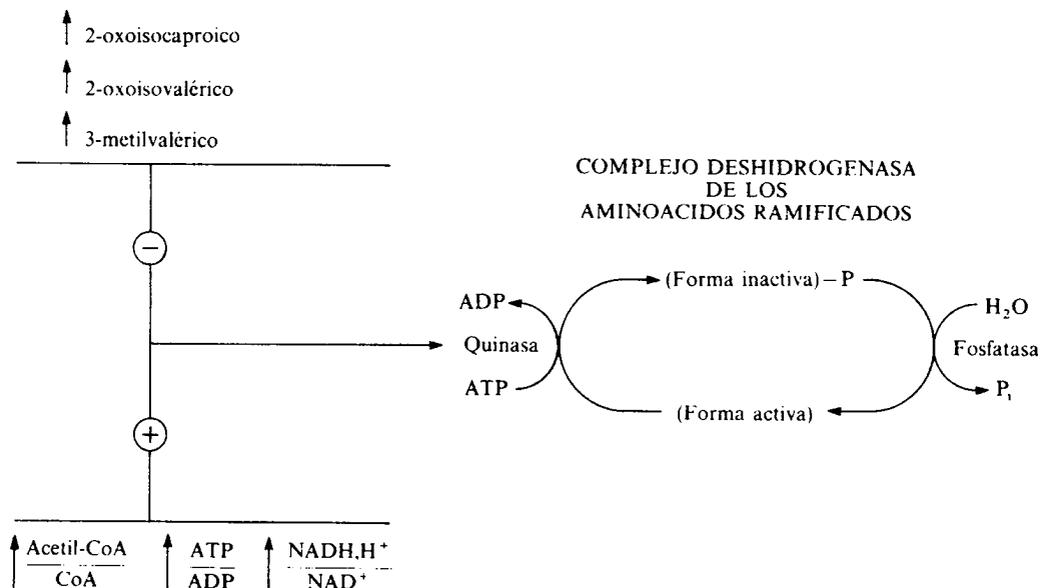


Figura 30.18. Regulación del complejo deshidrogenasa de los aminoácidos ramificados.

muy elevadas en los tejidos extrahepáticos, sobre todo en el músculo. El siguiente paso es la descarboxilación oxidativa de los oxoanálogos procedentes de la transaminación, la cual se lleva a cabo en la mitocondria, donde entran los oxoanálogos utilizando el mismo transportador que el piruvato.

La descarboxilación oxidativa de los tres oxoanálogos es realizada por el mismo complejo enzimático, muy similar al de la *piruvato deshidrogenasa*, que está regulado por fosforilación/desfosforilación y por el producto final de la reacción (fig. 30.18). Esta reacción es limitante en la degradación de los aminoácidos ramificados.

En el hombre, el cociente plasmático aminoácidos ramificados/oxoanálogos correspondientes se mantiene constante en diferentes situaciones. Dichos oxoanálogos se oxidan mayoritariamente en los tejidos extrahepáticos de los cuales se liberan muy pequeñas cantidades, por tanto, son captados también en pequeñas cantidades por el hígado (fig. 30.19). En la rata esto es muy diferente, es decir, la mayoría de los oxoanálogos de los aminoácidos ramificados son liberados por los tejidos periféricos y se dirigen al hígado, donde son metabolizados. Tales diferencias se deben a la distinta distribución del complejo deshidrogenasa. En el hombre, el 60 por 100 de la totalidad del complejo deshidrogenasa se encuentra en el músculo mientras que en la rata sólo existe un 30 por 100. Un esquema del metabolismo de estos aminoácidos se expone en la figura 30.19.

Los aminoácidos ramificados además de incorporarse a las proteínas tienen diferentes destinos y funciones fisiológicas. La estructura carbonada de la L-leucina actúa como precursor lipídico en el hígado, tejido adiposo, glándula mamaria y cerebro del neonato. Los aminoácidos ramificados son completamente degradados en el músculo aunque su oxidación completa sólo provee del 10 por 100 del ATP requerido por el músculo en condiciones de reposo. El grupo amino de estos aminoácidos es utilizado por el músculo para la formación de alanina, cuyo metabolismo se estudia a continuación.

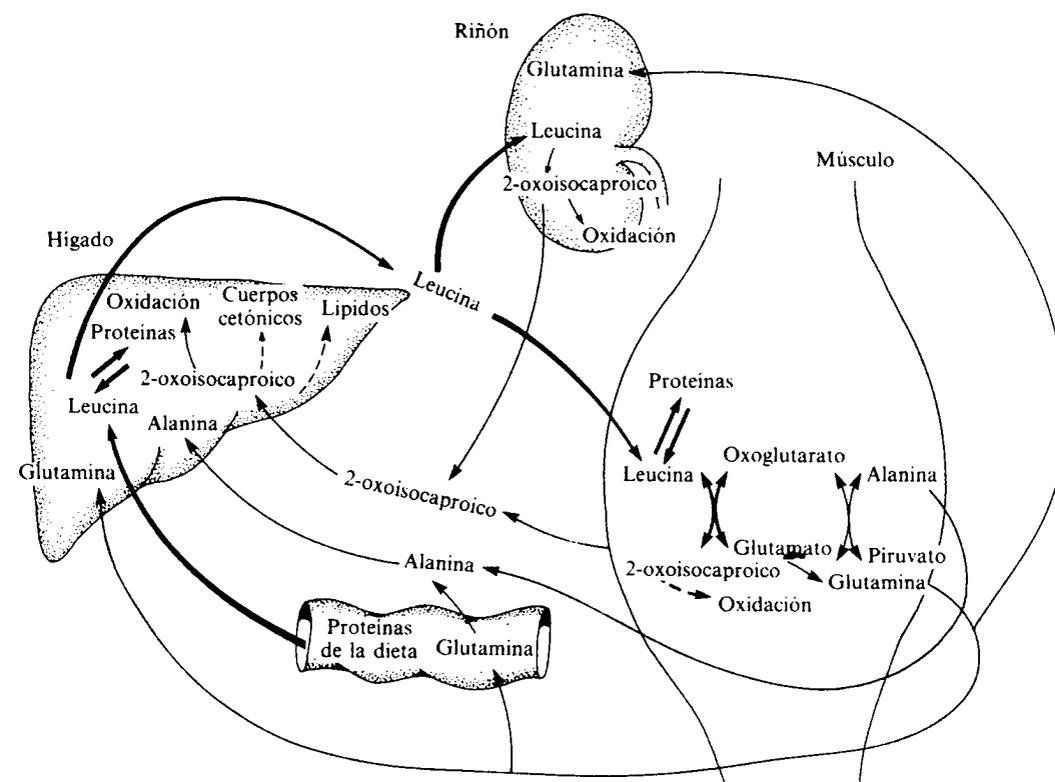


Figura 30.19. Relación intertisular en el metabolismo de la L-leucina.

Metabolismo de la L-alanina

Durante el ayuno, el músculo produce una liberación neta de aminoácidos. El 60 por 100 de los aminoácidos liberados está constituido por L-alanina y L-glutamina, aminoácidos que por sí solos representan el 10 por 100 de las proteínas contráctiles. Por tanto, la liberación de aminoácidos tras el ayuno se debe tanto a la degradación de las proteínas musculares como a la síntesis *de novo* de L-alanina y L-glutamina.

En el músculo, los aminoácidos ramificados se transaminan con el 2-oxoglutarato y forman L-glutamato, el cual transfiere el grupo amino al piruvato en la reacción catalizada por la *alanina aminotransferasa* (fig. 30.4). Una vez sintetizada, la L-alanina sale al torrente circulatorio y es captado por el hígado. En la actualidad, se considera el transporte de L-alanina como el paso limitante de su metabolización en el hígado. De esta manera, la L-alanina provee al organismo de una forma no tóxica de transporte del amoníaco para su conversión en urea (fig. 30.20).

El esqueleto carbonado de la L-alanina se transforma en glucosa a través de la gluconeogénesis en el hígado. De este modo parte de la glucosa consumida por el músculo vuelve al hígado en forma de L-alanina en un ciclo intertisular análogo al de Cori y conocido como el *ciclo glucosa-alanina*. Es interesante destacar que la captación de glucosa por el músculo durante el ayuno está reducida por la baja concentración de insulina plasmática. Por tanto, no toda la glucosa formada a

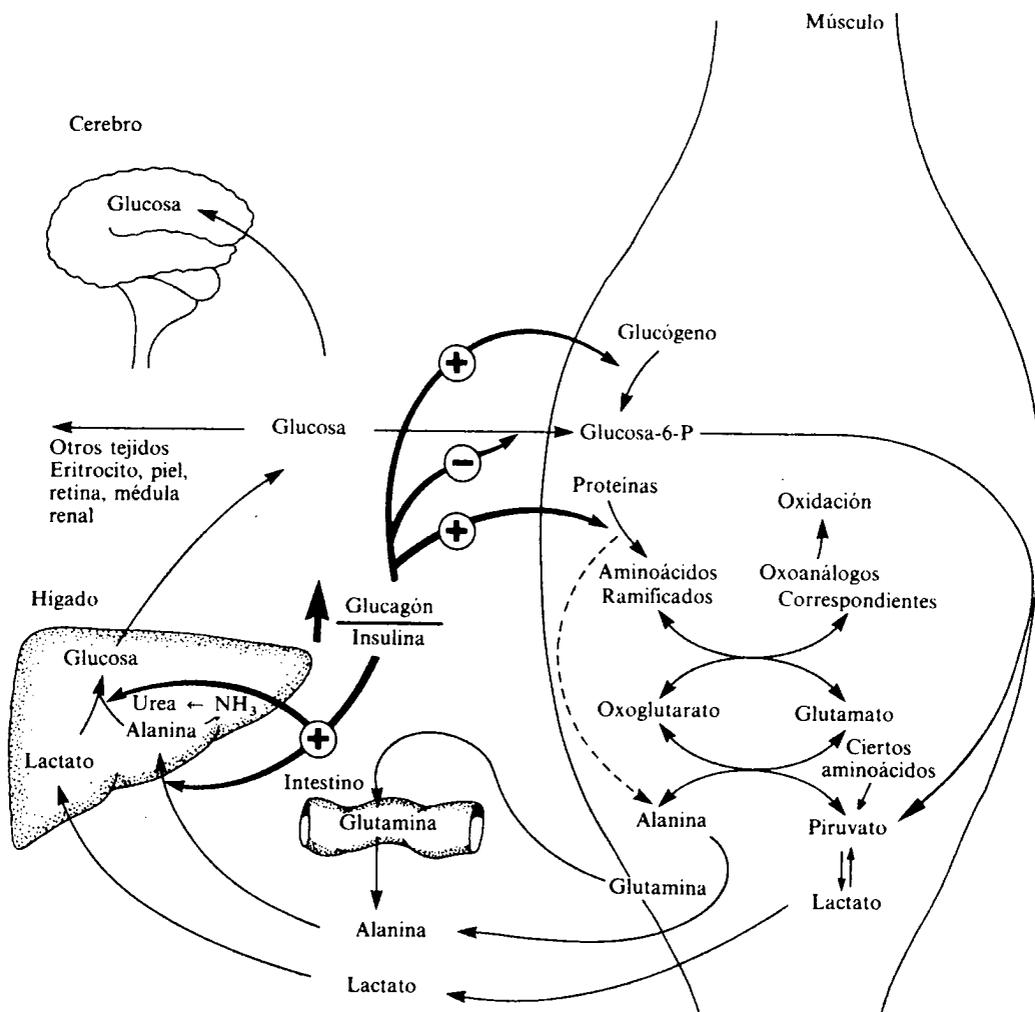


Figura 30.20. Regulación del metabolismo de la L-alanina tras el ayuno nocturno.

partir de L-alanina es captada por el músculo, sino que es utilizada también por el cerebro, el eritrocito, la piel, la retina y la médula renal.

Como ya se ha indicado, la formación de L-alanina viene determinada por la concentración de L-glutamato y de piruvato, y por las propiedades termodinámicas de la *alanina aminotransferasa*. Por tanto, la producción y liberación de L-alanina aumentará o disminuirá si la concentración de glutamato y de piruvato aumenta o disminuye.

Metabolismo de la L-glutamina

La L-glutamina no es un aminoácido esencial desde el punto de vista nutricional, ya que puede ser formada a partir de glutamato por acción de la *L-glutamina sintetasa* (fig. 30.21). Sin embargo, este aminoácido además de ser un precursor de la síntesis de proteínas tiene importantes funciones fisiológicas. Sirve como sustra-

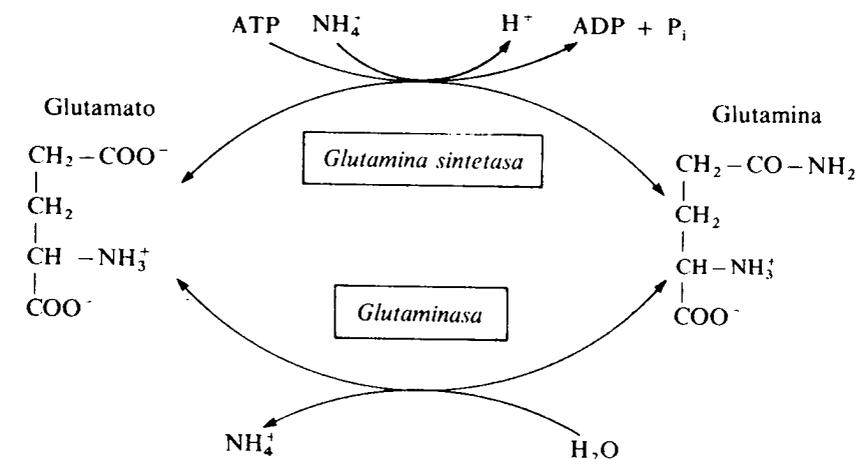


Figura 30.21. Síntesis y degradación de la glutamina.

to energético principal en células que se dividen rápidamente, como precursor en la biosíntesis de las bases púricas y pirimidínicas, como vehículo de transporte de aminoácidos y de nitrógeno desde los tejidos periféricos hacia el hígado y como donador de nitrógeno del grupo amida en el riñón.

La L-glutamina como sustrato energético

La L-glutamina es un sustrato energético prioritario en enterocitos, linfocitos, reticulocitos, fibroblastos y células tumorales.

La primera enzima que se necesita para la utilización de este aminoácido es la *glutaminasa* (fig. 30.21), enzima que se encuentra en la membrana interna de la mitocondria y que cataliza una reacción hidrolítica que no requiere energía y que es irreversible. La regulación de esta enzima es muy compleja. El fosfato es un potente activador, y también lo son ciertos intermediarios del ciclo del ácido cítrico, el acetyl-CoA y varios compuestos fosforilados.

La *glutaminasa* no es una enzima que dependa del fosfato, pero sí que se activa por él; por ello, se sigue utilizando el nombre de *glutaminasa activada por el fosfato*.

En el intestino delgado, la L-glutamina arterial es un sustrato energético más importante que la glucosa tanto en situación de alimentación como de ayuno. En condiciones de alimentación, la oxidación de la glucosa procedente de la arteria sólo es responsable del 10 por 100 del consumo de oxígeno.

La oxidación total de la L-glutamina en el enterocito, además de CO_2 y amoníaco, produce L-alanina, citrulina y L-prolina. La síntesis de citrulina a partir de L-glutamina es importante ya que a partir de ella se sintetiza arginina lo que explica que esta última no sea un aminoácido esencial en los adultos.

Regulación del metabolismo de la L-glutamina en el riñón

Aproximadamente dos tercios del NH_4^+ urinario proviene del grupo amida de la L-glutamina por la acción de la *glutaminasa* de las células tubulares. La mayoría del NH_4^+ producido aparece en la orina, aunque una pequeña cantidad pasa al torrente circulatorio. De hecho, la concentración de amoníaco en la vena renal es superior a la de la arteria renal.

La formación y la excreción del amoníaco ayudan a compensar los iones hidrógeno excretados en la orina. Por tanto, la L-glutamina desempeña un papel importante en la regulación renal del equilibrio ácido-base. Es interesante recordar que en el proceso de formación del amoníaco a partir de L-glutamina, el riñón genera bicarbonato que es liberado al torrente circulatorio.

Regulación del metabolismo de la L-glutamina en el hígado

La *glutaminasa* y las enzimas del ciclo de la urea (cap. 31) son más abundantes en los hepatocitos periportales que en los perivenosos, mientras que la *L-glutamina sintetasa* se localiza casi de forma exclusiva en los hepatocitos perivenosos. Esta compartimentación intercelular ayuda a la eliminación del amoníaco y a la neutralización del bicarbonato por la producción de iones de hidrógeno en el ciclo de la urea.

En pacientes cirróticos, el fallo de la síntesis de urea no sólo explica la hiperamonemia sino también la alcalosis que estos pacientes desarrollan durante su enfermedad. La alcalosis es consecuencia de la no neutralización del bicarbonato (HCO_3^-).

En este tejido el flujo hacia la *glutaminasa* está aumentado en presencia de NH_4^+ , HCO_3^- , glucagón y aminoácidos ramificados. La activación por el NH_4^+ o HCO_3^- es mayor en presencia de fosfato o ATP.

El estado nutricional afecta el papel de este tejido en el metabolismo de la L-glutamina. Durante el ayuno de veinticuatro horas o en dietas ricas en carbohidratos el hígado produce y libera L-glutamina, mientras que dietas ricas en proteínas aumentan su captación por este órgano.

Aminoácidos azufrados

Los principales aminoácidos azufrados son la L-metionina y la L-cisteína, la cual puede oxidarse y dar cisteína (cisteína-disulfuro).

En mamíferos, la L-metionina es un aminoácido esencial y, por tanto, debe tomarse con la dieta. La conversión de L-metionina en L-cisteína es muy interesante porque implica dos tipos de reacciones de gran importancia: la transmetilación (para la conversión de L-metionina en homocisteína), y la transulfuración (para la conversión de homocisteína en L-cisteína), procesos que van a ser analizados por separado.

La L-metionina da lugar a S-adenosilmetionina (ado-met), que contiene parte de una molécula de ATP, y liberación de P_i y de PP_i . La S-adenosilmetionina cede el grupo metilo y se convierte en S-adenosil homocisteína, la cual, a su vez da lugar a homocisteína. Aquí se produce un importante punto de ramificación, ya que la homocisteína puede volver a metilarse, dando lugar a L-metionina, o convertirse en L-cisteína.

La metilación de la homocisteína es una reacción de gran importancia ya que el gran número de metilaciones en las que está implicado el sistema metionina-ado-met supondría unos requerimientos dietéticos de L-metionina mucho mayores de los que realmente existen. Se necesita, pues, un mecanismo de resíntesis de L-metionina, por metilación a partir de la homocisteína.

Esta reacción está catalizada por la *homocisteína metiltransferasa*. Actúa como donante de metilos el metil-tetrahidrofolato que se convierte en tetrahidrofolato, el cual se vuelve a convertir de nuevo en metil-tetrahidrofolato a través de una serie de metabolitos intermedios, tales como el metiléntetrahidrofolato o el formil

tetrahidrofolato. Los grupos metilo proceden principalmente de la glicina y de la serina. Además del folato y sus derivados, la reacción de la *homocisteína metiltransferasa* requiere como coenzima la vitamina B_{12} (fig. 30.22).

Las reacciones que se acaban de comentar tienen un papel fundamental, además de en otros muchos procesos, en la síntesis de dTMP a partir de dUMP y, por tanto, son de la mayor importancia para la síntesis de DNA, y en consecuencia, en clínica y nutrición. En efecto, las deficiencias de vitamina B_{12} son raras, pero las de folatos no, incluso en países desarrollados. Las mujeres gestantes son especialmente vulnerables a los déficit de folatos porque el feto requiere un importante aporte de estos compuestos.

Tanto la deficiencia de folato como la de vitamina B_{12} cursan con anemias megaloblásticas, en las cuales se liberan a la sangre eritrocitos inmaduros. En algunos tratamientos anticancerosos se administran antimetabolitos contra el folato, tales como el *metrotexate*. El fundamento de este tratamiento es la inhibición de la síntesis de DNA por las células tumorales, las cuales tienen una alta tasa de proliferación. Sin embargo, un efecto colateral importante de este tipo de tratamiento es que también afecta a células normales con gran proliferación, como las células intestinales o las de los folículos pilosos.

Para la transformación de la L-metionina en L-cisteína, además de la transmetilación, tiene lugar la transulfuración (fig. 30.22). La parte de homocisteína que no se metila para dar L-metionina, tal y como se acaba de ver, se convierte en L-cisteína por la vía de la cistationina. Esta vía requiere la acción catalítica de dos enzimas: la *cistationina sintetasa* y la *cistationasa*. La primera cataliza la síntesis de cistationina a partir de homocisteína y de L-serina. La segunda cataliza la hidrólisis de la cistationina para dar homoserina y L-cisteína. Es importante observar que el esqueleto carbonado de la L-cisteína no procede de la homocisteína, sino de la serina. La homocisteína sólo aporta el grupo tiol a la molécula de L-cisteína. Así pues, el grupo tiol pasa de la homocisteína a la serina, de ahí el nombre de «transulfuración» con que se conoce a esta vía metabólica. La transulfuración es de gran importancia y, de hecho, en seres humanos en situaciones dietéticas normales, el 80 por 100 de la L-metionina ingerida con la dieta se convierte en L-cisteína. Recuérdese que la mayor parte de los grupos metilo cedidos por la vía de la L-metionina S-adenosil-metionina proceden de la metilación de la homocisteína a partir de metiltetrahidrofolato.

La L-cisteína, además de formar parte de las proteínas, puede dar lugar a varias moléculas de gran interés biológico. Dos de las más interesantes son la taurina y el glutatión.

La taurina se forma a partir de la L-cisteína por acción de la *L-cisteína oxidasa*, que da lugar al ácido cisteín sulfúrico, el cual se descarboxila y da lugar a la hipotaurina que, por oxidación, da lugar a la taurina. Esta da lugar en el hígado al ácido taurocólico que se excreta por la bilis. Además, parece que la taurina puede actuar como neurotransmisor en la retina y en algunas zonas del sistema nervioso central.

AMINOACIDOS COMO PRECURSORES DE SUSTANCIAS NITROGENADAS DE INTERES BIOLÓGICO

Síntesis de porfirinas

Las *porfirinas* son sustancias nitrogenadas que constan esencialmente de un núcleo tetrapirrólico, cuyos cuatro pirroles están unidos por enlaces metileno. Las

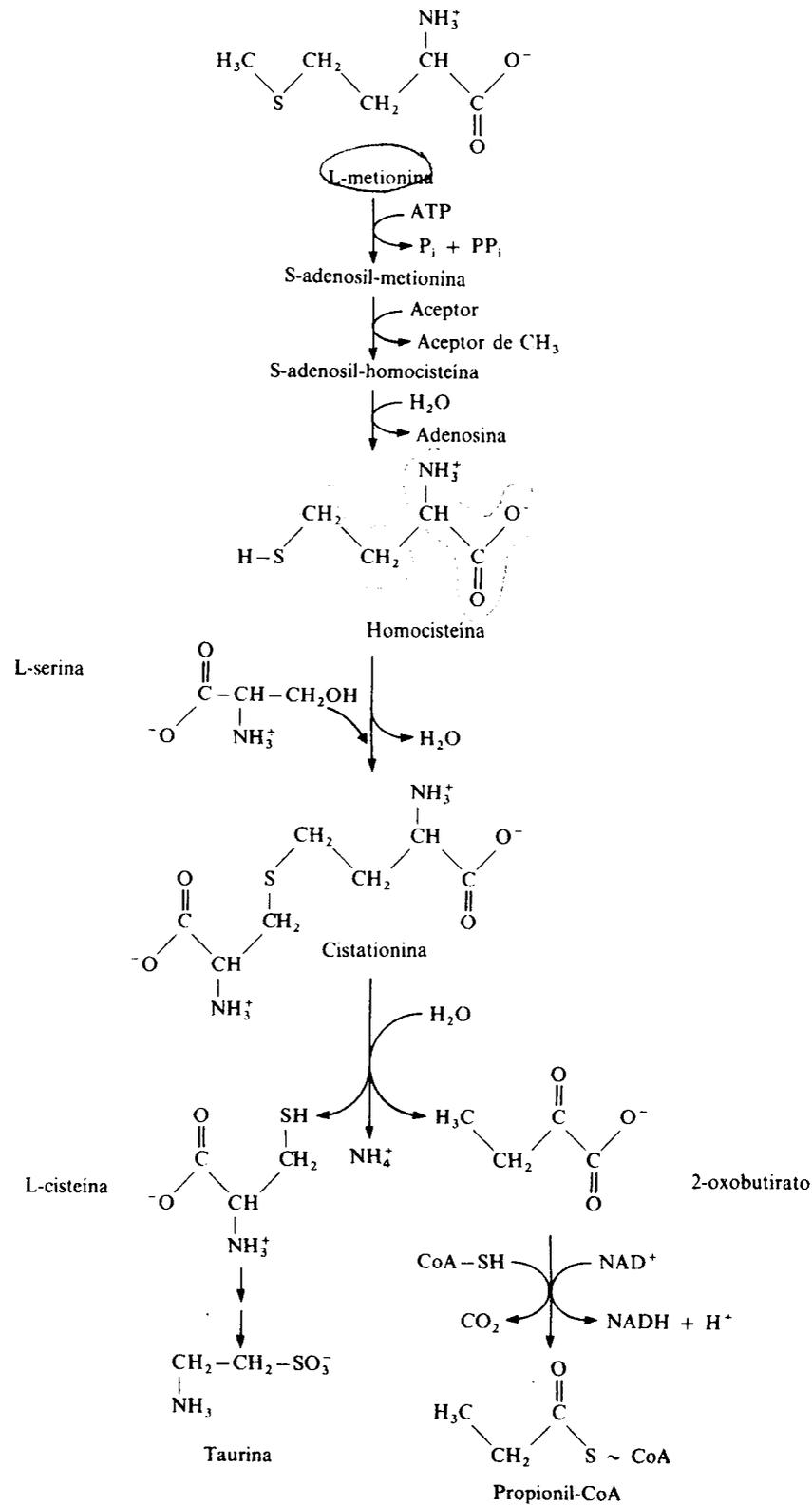


Figura 30.22. Síntesis de cisteina y taurina a partir de metionina.

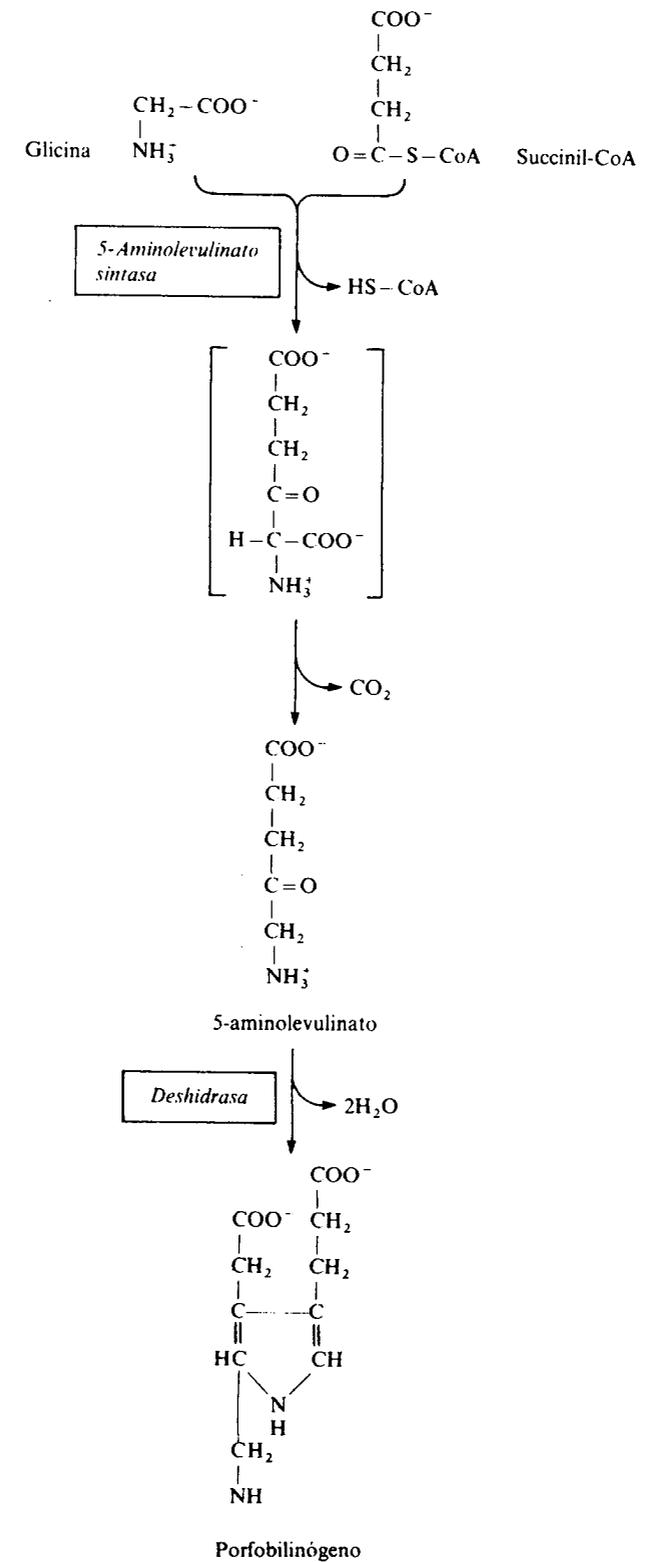


Figura 30.23. Síntesis de porfobilinógeno precursor de las porfirinas, a partir de glicina y succinil-CoA.

porfirinas se unen a metales pesados, especialmente hierro, en forma ferrosa o férrica. La metaloporfirina más abundante es el hemo que forma el grupo prostético de proteínas importantes tales como la hemoglobina, la mioglobina o los citocromos.

Las porfirinas se sintetizan en el organismo, preferentemente en el hígado, aunque también en células hematopoyéticas de la médula ósea. Sin embargo, en los eritrocitos maduros no hay síntesis de porfirinas.

La síntesis de estas moléculas se lleva a cabo a partir de glicina y de succinil-CoA, los cuales se condensan para dar lugar al 5-aminolevulinato. Dos moléculas de éste se condensan para dar lugar a porfobilinógeno en una reacción catalizada por la *5-aminolevulinato deshidratasa*, enzima muy sensible a la inhibición por metales pesados. Esto explica la anemia que ocurre en los casos de intoxicación por metales pesados (fig. 30.23). Por condensación de cuatro moléculas de porfobilinógeno, y catalizado por la *uroporfirinógeno sintasa*, se obtiene el uroporfirinógeno, tetrapirrol que es un precursor de la protoporfirina IX, la cual puede unirse al ion ferroso dando lugar al hemo. El metabolismo de las porfirinas se describe con detalle en el capítulo 47.

Síntesis de histamina

Esta sustancia de gran potencia vasodilatadora, se forma en los mastocitos por descarboxilación de la L-histidina, reacción catalizada por la *histidina descarboxilasa* (fig. 30.24).

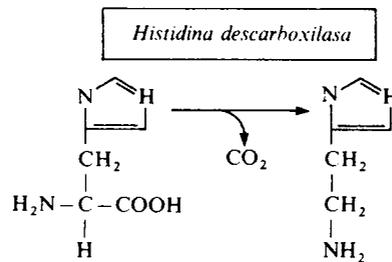


Figura 30.24. Síntesis de histamina a partir de L-histidina.

Síntesis de serotonina

La serotonina se encuentra distribuida en muchas células del organismo, tales como las de la mucosa intestinal, las plaquetas y muchas células del sistema nervioso donde actúa como neurotransmisor.

La serotonina se sintetiza a partir del L-triptófano en una reacción catalizada por la *triptófano hidroxilasa*. El producto de esta reacción, el 5-hidroxitriptófano, es a su vez descarboxilado y da lugar a la 5-hidroxitriptamina, esto es, a la serotonina (fig. 30.25).

Síntesis de catecolaminas

Las catecolaminas de más importancia biológica son la dopamina, la noradrenalina y la adrenalina, y se sintetizan a partir de la tirosina. Este aminoácido se

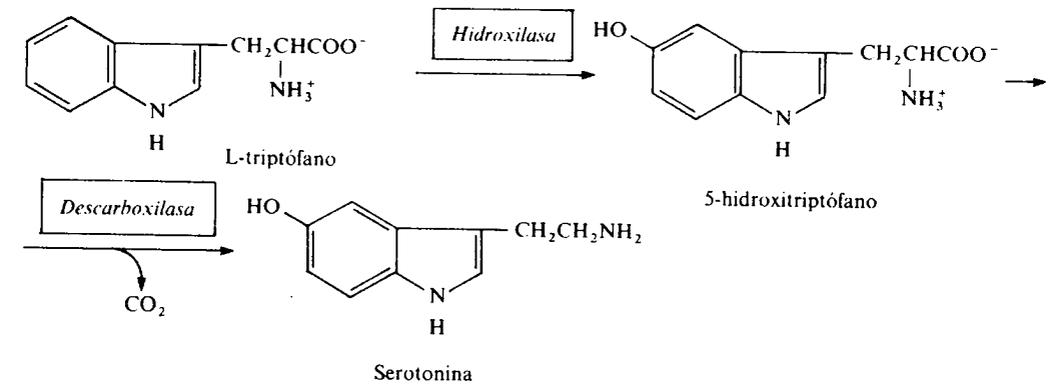


Figura 30.25. Síntesis de serotonina a partir de la L-triptófano.

hidroxila en una reacción parecida a la hidroxilación del triptófano y da lugar a la dihidroxifenil alanina (DOPA). La *tirosina hidroxilasa*, enzima hidroxilasa de función mixta, utiliza oxígeno y tetrahidrobiopterina. Esta se oxida durante la reacción y da lugar a la dihidrobiopterina, la cual, a su vez, se reduce hasta tetrahidrobiopterina, actuando como reductor el NADPH-H^+ .

La DOPA es descarboxilada en una reacción catalizada por la *DOPA descarboxilasa de aminoácidos aromáticos*, formándose dopamina, que puede actuar como neurotransmisor sin que se requieran posteriores transformaciones. Sin

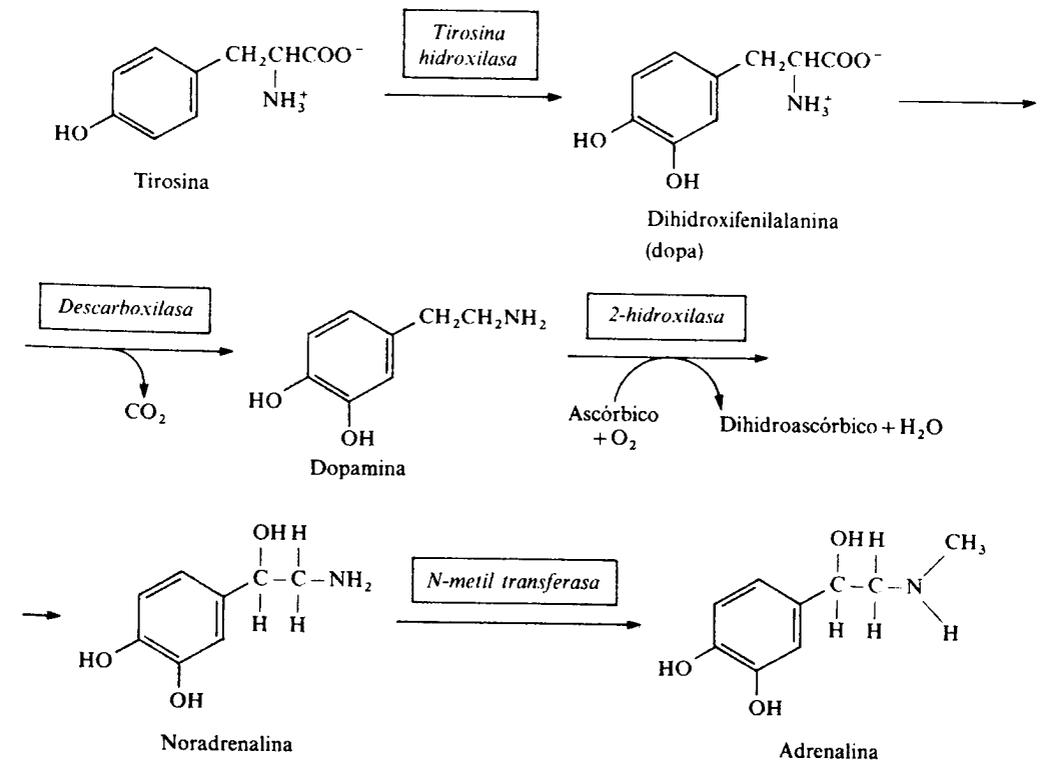


Figura 30.26. Síntesis de catecolaminas a partir de L-tirosina.

embargo, en otras neuronas, la dopamina es hidroxilasa en el C₃ de la cadena lateral y da lugar a la noradrenalina que es también capaz de actuar como neurotransmisor. En las neuronas adrenérgicas y en las células de la médula suprarrenal, la noradrenalina es metilada y da lugar a la adrenalina. El donante de metilos es la S-adenosil-metionina. Esta reacción está catalizada por la *N-metil transferasa* (fig. 30.26).

La síntesis de catecolaminas está regulada a nivel de la *tirosina-3-hidroxilasa*, la cual es una enzima dependiente de bipterina. Su actividad resulta inhibida por las catecolaminas, de modo que por mucha tirosina que se administre con la dieta, no aumenta la síntesis de catecolaminas. La *tirosina hidroxilasa* también es regulada por fosforilación/desfosforilación. La forma fosforilada es más activa. Estudios cinéticos han demostrado que esta forma tiene una K_m más baja con respecto a la tetrahydrobiopterina y una K_i más elevada con respecto a la dopamina, la cual actúa como inhibidor competitivo de la enzima.

Dado el papel regulador de esta enzima, un aumento en la concentración plasmática de tirosina no da lugar a un aumento en la concentración de catecolaminas.

La utilización de tirosina por el cerebro tiene otro punto de regulación importante en el mecanismo de transporte a través de la barrera hematoencefálica. Todos los aminoácidos neutros, excepto glicina y L-prolina, utilizan el mismo transportador, el cual se haya muy saturado a concentraciones fisiológicas de aminoácidos, por lo que se presentan fenómenos de competición entre los diferentes aminoácidos. En animales con una encefalopatía la capacidad máxima del transportador está aumentada.

Síntesis de creatinina

La creatinina se sintetiza a partir de glicina y de L-arginina, más un grupo metilo que proviene de la S-adenosilmetionina (fig. 30.27).

La primera etapa de esta vía consiste en la transferencia del grupo amidino de la L-arginina, que se convierte así en ornitina, en tanto que la glicina se transforma en guanidino acetato. Posteriormente el guanidino acetato es metilado en el nitrógeno situado en posición β y da lugar a la creatina. El donante de metilos es la S-adenosil-metionina.

La creatina puede fosforilarse dando lugar a la fosfocreatina, en una reacción catalizada por la *creatina quinasa*, en la que el donante de grupos fosfato es el ATP.

Tanto la creatina como la fosfocreatina pueden ciclarse para dar lugar a la *creatinina*. La velocidad de ciclación de la creatina es lenta y constante. La eliminación de creatinina se lleva a cabo por la orina y la cantidad eliminada es proporcional a la cantidad total de creatina más fosfocreatina presente en el músculo.

Síntesis de poliaminas

Las *poliaminas* más importantes son la *putrescina*, la *espermina* y la *espermidina*. El primer paso para la síntesis de poliaminas es la formación de putrescina por descarboxilación de L-ornitina. A continuación se condensa un grupo amino propilo a la putrescina, dando espermina, y posteriormente se le une otro grupo amino propilo para dar espermidina (fig. 30.28).

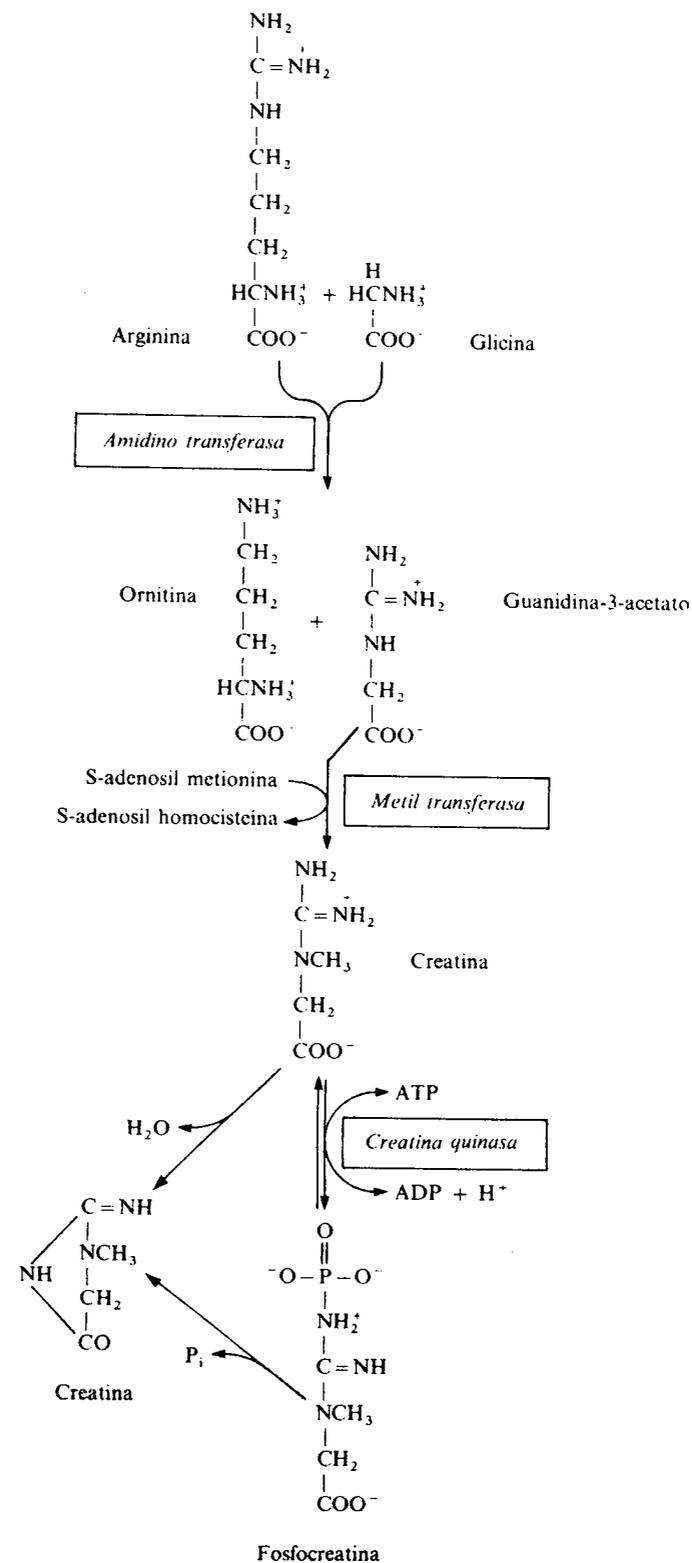


Figura 30.27. Síntesis de creatina a partir de L-arginina y glicina.

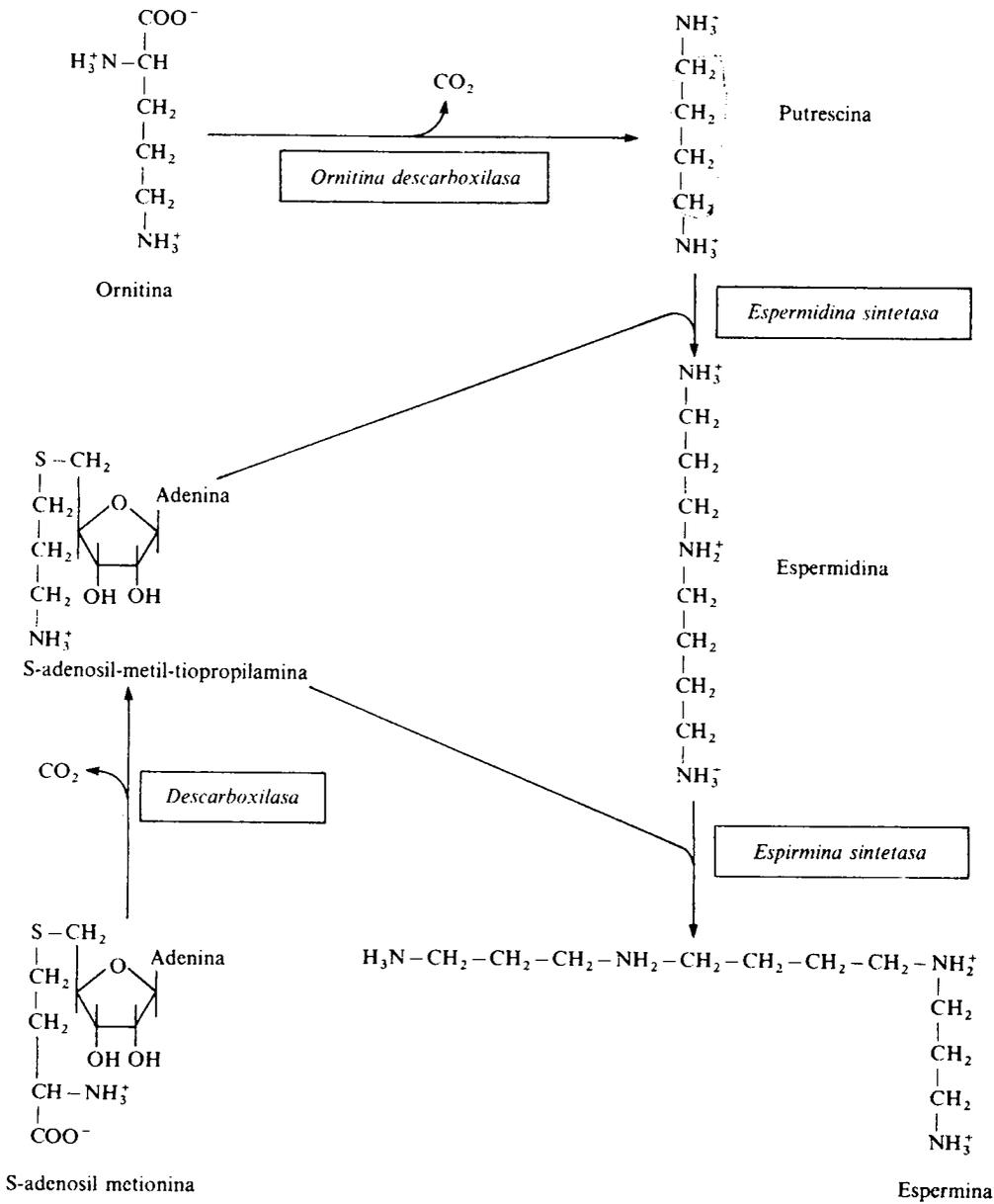


Figura 30.28. Síntesis de poliaminas a partir de L-ornitina.

Dado su carácter básico, las poliaminas se encuentran en las células en forma de policationes y se asocian a estructuras de gran importancia biológica, tales como el DNA.

Síntesis de glutatión

El glutatión es un tripéptido, el γ -glutamil-cisteinil-glicina, con dos peculiaridades estructurales que lo hacen interesante: presenta un enlace γ glutámico, en vez

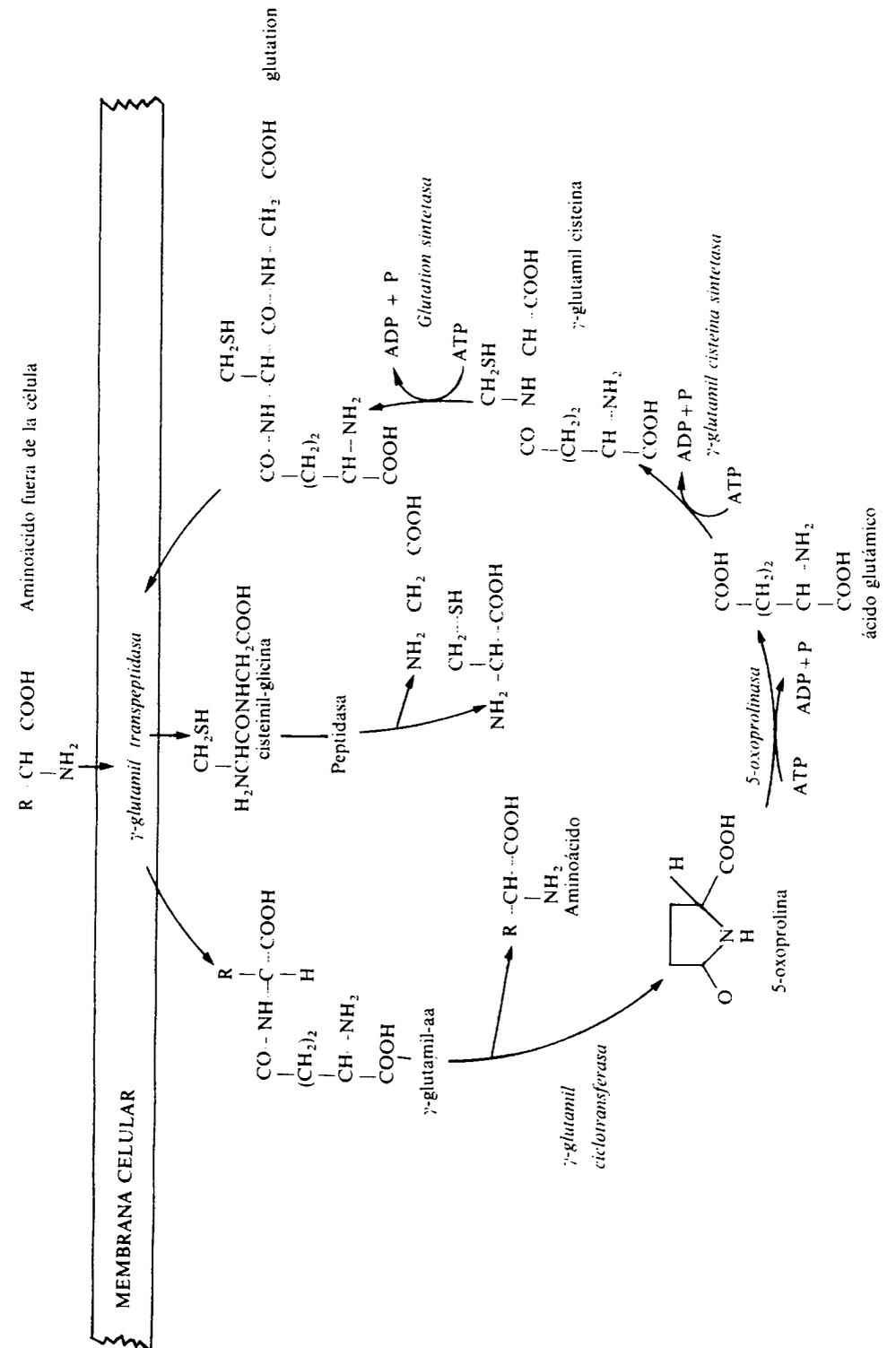


Figura 30.29. Ciclo del γ -glutamilo

de α que es el enlace peptídico habitual, y presenta también un grupo tiol, perteneciente a la L-cisteína. La L-cisteína es muy inestable y se oxida con gran facilidad para dar cistina y, por tanto, no puede acumularse en las células. El glutatión, sin embargo, puede acumularse en el interior de las células, permitiendo así que se mantengan reducidos tioles proteicos de gran importancia para el funcionamiento normal de proteínas que son esenciales para la fisiología celular.

El glutatión es sintetizado en las células a partir de sus aminoácidos constitutivos, en dos reacciones consecutivas: en la primera, se sintetiza γ -glutamil-cisteína a partir de L-glutamato y L-cisteína. En la segunda, se sintetiza glutatión a partir de γ -glutamil-cisteína y de glicina. La primera reacción está catalizada por la γ -glutamil-cisteína sintetasa y la segunda por la glutatión sintetasa. La γ -glutamil-cisteína sintetasa es inhibida por el glutatión, estableciéndose así un sistema de retroalimentación negativa que impide que los niveles de glutatión se eleven por encima de los valores fisiológicos. El glutatión es degradado por la acción secuencial de la γ -glutamil transpeptidasa, la γ -glutamil ciclo transferasa y la 5-oxoprolinasa. Las reacciones de síntesis y de degradación del glutatión constituyen el llamado ciclo del enlace γ -glutamilo (fig. 29). El glutatión desempeña una gran variedad de funciones, destacando entre ellas su capacidad de proteger a las células contra radicales libres y su papel en la detoxificación por fármacos y otros xenobióticos.

TEXTOS DE CONSULTA

- Bender, D. A.: *Amino acid metabolism*, 2.^a ed., John Wiley, 1985.
- Christensen, H. N.: «Role of amino acid transport and countertransport in nutrition and metabolism», *Physiol. Rev.*, 70:43-77, 1990.
- Cooper, A. J. L.; Nieves, E.; Rosenspire, K. C.; Filc-Ricco, S.; Gelbard, A. S., y Brusilow, S. W.: «Short-term metabolic fate of ¹³N-labelled glutamate, alanine and glutamine (amide) in rat liver», *J. Biol. Chem.*, 263:12268-12273, 1988.
- Evered, D. F.: «Advances in amino acid metabolism in mammals», *Biochem. Soc. Trans.*, 9:153-169, 1981.
- Finkelstein, J. D.: «Methionine metabolism in mammals: The biochemical basis for homocystinuria», *Metabolism*, 23:387-398, 1974.
- Jackson, A. A.: «Amino acids: Essential and non-essential?», *The Lancet*, mayo, 7:1034-1036, 1983.
- Kettelhut, I. C.; Wing, S. S., y Goldberg, A. L.: «Endocrine regulation of protein breakdown in skeletal muscle», *Diabetes/Metabolism*, 4(8):751-772, 1988.
- Krebs, H. A., y Lund, P.: «Aspects of the regulation of the metabolism of branched-chain amino acids», *Adv. Enz. Reg.*, 15:375-394, 1977.
- Lund, P., y Williamson, D. H.: «Inter-tissue nitrogen fluxes», *British Medical Bulletin*, 41:251-256, 1985.
- Nosadini, R.; McCulloch, A.; Del Prato, S.; Avogaro, A., y Alberti, K. G. M. M.: «The relationship between alanine and ketone body in vivo», *Metabolism*, 31:1175-1178, 1982.
- Palmer, T. N.; Caldecourt, M. A.; Snell, K., y Sudgen, M. C.: «Alanine and interorgan relationships in branched chain amino acid 2-oxo acid metabolism», *Biosci. Rep.*, 5:1015-1033, 1985.
- Rivett, A. J.: «High molecular mass intracellular proteases», *Biochem. J.*, 261:625-633, 1988.

Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Destino del ion amonio: ciclo de la urea y balance de nitrógeno

FRANCISCA SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, FRANCISCO CÁNOVAS
e IGNACIO NÚÑEZ DE CASTRO

Los aminoácidos son utilizados como fuente de carbono y de nitrógeno (material plástico) tanto por microorganismos como por animales superiores. En el capítulo anterior se han estudiado las rutas de confluencia de los esqueletos carbonados procedentes de los aminoácidos en las vías catabólicas, fundamentalmente en forma de acetil-CoA, de piruvato y de intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Se ha mencionado también de qué forma el grupo amino de los aminoácidos queda integrado en el glutamato mediante las diversas reacciones de transaminación. Dicho glutamato es oxidado a 2-oxoglutarato con liberación de NH_4^+ mediante una reacción catalizada por la *glutamato deshidrogenasa*. Desde el punto de vista cuantitativo, esta enzima representa la principal vía de amoniogénesis, produciendo alrededor de 20 g de amonio como consecuencia del catabolismo de 100 g de proteínas. Existen otras vías de liberación de amonio en animales superiores, entre las que debe destacarse el llamado ciclo de los purin nucleótidos, que será estudiado en el capítulo 32, y la acción de la *glutaminasa*, que se verá más adelante. A pesar de esta elevada producción de amonio, su concentración en sangre es muy baja (las cantidades toleradas oscilan entre 30-60 μM). Dado que el amonio es un metabolito de difícil determinación, los valores de la bibliografía suelen diferir unos de otros. En cualquier caso, el amonio liberado debe ser eliminado debido a su gran toxicidad celular, en particular para las células del sistema nervioso central. Los síntomas de intoxicación aparecen cuando las concentraciones de amonio en plasma se elevan unas diez veces.

Alrededor del 11 por 100 del amonio presente en la sangre arterial atraviesa la barrera hematoencefálica. Este amonio capta 2-oxoglutarato en las neuronas, pues la reacción de la *glutamato deshidrogenasa* es una reacción cercana al equilibrio y puede transcurrir en las dos direcciones en las células. Un descenso en el contenido mitocondrial de 2-oxoglutarato hace disminuir la velocidad del ciclo del ácido cítrico, con la consecuente pérdida energética. Además, el glutamato formado en la reacción de la *glutamato deshidrogenasa* puede ser retirado del equilibrio por acción de la *glutamina sintetasa*, muy activa en los astrocitos; en pacientes con encefalopatías de origen hepático se elevan las concentraciones de amonio, de glutamina y de 2-oxoglutarato. Otra hipótesis, muy sugerente, para explicar la toxicidad del amonio es que dicho compuesto interfiera en el transporte de equivalentes reducidos desde el citoplasma a la mitocondria por la lanzadera del

malato-aspartato. En efecto, el amonio puede retirar glutamato, aumentando la síntesis de glutamina, e impidiendo el intercambio glutamato-aspartato a través de la membrana mitocondrial interna. Por otra parte, al aumentar la síntesis de glutamina a expensas de glutamato y amonio, se verían disminuidos los niveles del primero, como neurotransmisor, y de su derivado el 4-aminobutirato.

En las plantas, el amonio tiene dos orígenes: uno es la reducción del nitrito por acción de la *nitrito reductasa*, y el otro la fotorrespiración, que produce hasta el 80 por 100 del amonio en los tejidos verdes. En los dos casos, el amonio es transportado en forma de glutamina. Las dos isoenzimas de la *glutamina sintetasa* (GS), localizadas en el citoplasma (GS I) y en los cloroplastos (GS II), tienen como misión fisiológica retirar el amonio producido en los procesos de fotorrespiración y de reducción del nitrito. El amonio es un fuerte desacoplador de la fotofosforilación, al ser capaz de destruir el gradiente de protones existente entre el interior y el exterior del tilacoide. Así pues, sea por uno u otro mecanismo, el amonio, tóxico celular muy activo, debe ser eliminado tanto de los tejidos vegetales como de los animales, y ello se lleva a cabo de diferentes formas, según de qué ser vivo se trate.

Los microorganismos, así como otros organismos acuáticos, tales como protozoos, nematodos, larvas de anfibios o peces teleósteos excretan el nitrógeno en forma de amonio, por lo que se denominan *amoniotélicos*, y *amoniotelismo* al tipo de excreción. En los mamíferos una parte pequeña del nitrógeno es expulsado en la orina en forma de amonio, obtenido como producto final de la reacción de la *glutaminasa*.

Otros animales, sin embargo, sintetizan urea para eliminar el nitrógeno. Son animales terrestres como las serpientes, los anfibios y los mamíferos, denominados *ureotélicos*, y al proceso *ureotelismo*. En los peces de esqueleto cartilaginoso (elasmobranquios), la síntesis de urea no tiene esta función, sino la de mantener el balance osmótico.

Por último, el resto de reptiles, a excepción de la tortuga y el aligador, así como las aves, excretan el nitrógeno en forma de ácido úrico. La tortuga excreta urea y el aligador amonio, a no ser que esté deshidratado. Entre los mamíferos, los perros dálmatas excretan también el nitrógeno en forma de ácido úrico. Todos son animales *uricotélicos* y el proceso es el *uricotelismo*. El nitrógeno procedente de la degradación de aminoácidos, excretado como ácido úrico debe ser incorporado a las purinas mediante el mecanismo complejo de su síntesis. En los demás mamíferos, el ácido úrico, proveniente del catabolismo de las purinas, es excretado como alantoina, mediante la intervención de la enzima *uricasa* o *urato oxidasa*, una metaloproteína que contiene cobre.

Cabe concluir, pues, que los diferentes procesos de eliminación del amonio constituyen una parte muy importante del catabolismo de las sustancias nitrogenadas. La síntesis de glutamina, de urea o de ácido úrico son procesos endoenergéticos; es decir, representan un coste energético que la célula debe pagar por la desintoxicación de un metabolito tan tóxico como el amonio.

CICLO DE LA UREA

La urea es el principal compuesto nitrogenado de la orina de los mamíferos, en la que llega a suponer, en condiciones normales de consumo de proteína, hasta un 80 por 100 del total de tales compuestos.

La historia del descubrimiento del proceso biológico de síntesis de la urea es prácticamente paralela a la de la propia Bioquímica. En 1773 Rouelle describió la presencia de un compuesto rico en nitrógeno en extractos alcohólicos de orina. En

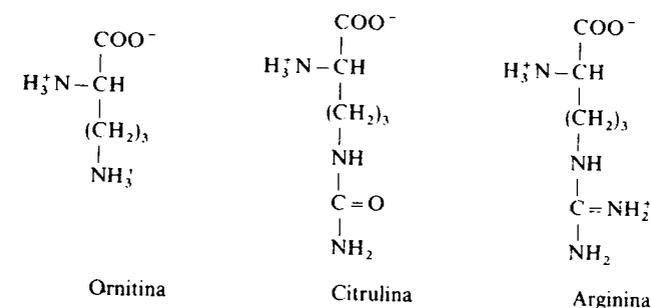
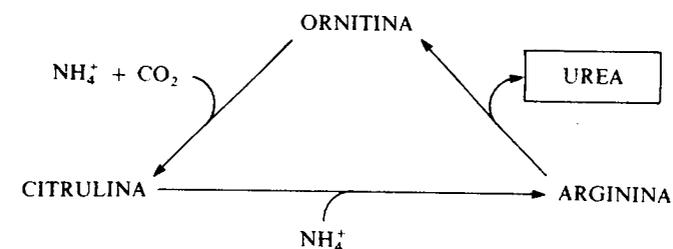


Figura 31.1. Estructura molecular de los aminoácidos que intervienen en la biosíntesis de urea.

1820 Prout consiguió la primera preparación de urea en estado puro, además de su fórmula empírica. Algunos años más tarde, Wöhler (1828) consiguió sintetizarla químicamente a partir de cianato amónico. Durante mucho tiempo después de esta fecha se consideró que la síntesis biológica se realizaba también a partir de cianato amónico o compuestos relacionados hasta que en 1932 Krebs y Henseleit propusieron el proceso cíclico de síntesis de la urea y su localización en el hígado. En otros tejidos, tales como el riñón y el cerebro, la función principal de algunas de las reacciones metabólicas implicadas en el ciclo de la urea es la síntesis de arginina.

A comienzos de los años treinta, Krebs observó que la adición de ornitina y amonio a las preparaciones de cortes de hígado aumentaba notablemente la producción de urea, incluso a concentraciones bajas del aminoácido. Se sabía ya que la *arginasa* catalizaba el paso de arginina a ornitina con la liberación de urea, por lo que Krebs pensó en una posible implicación de ambos aminoácidos, junto a algún otro intermediario de estructura molecular relacionada (fig. 31.1). Investigando la bibliografía científica de la época encontró un compuesto nitrogenado, la citrulina (aislado de *Citrullus*), que añadido en pequeñas cantidades a las preparaciones de hígado provocaba también aumento en la producción de urea. Krebs postuló entonces que la urea se sintetizaba según un proceso cíclico en el que intervenían como intermediarios la ornitina, la citrulina y la arginina. Más tarde, se determinaron el resto de intermediarios del ciclo. El trabajo de Krebs tuvo una importancia fundamental porque fue la primera vía metabólica cíclica descrita, y porque supuso el comienzo de la Bioquímica Metabólica.



Ureogénesis

La primera reacción que interviene en la síntesis de urea, aunque no forma parte propiamente del ciclo, es la síntesis mitocondrial de carbamil-fosfato a partir de amonio (NH_4^+) y de bicarbonato (HCO_3^-) con gasto de dos moléculas de ATP

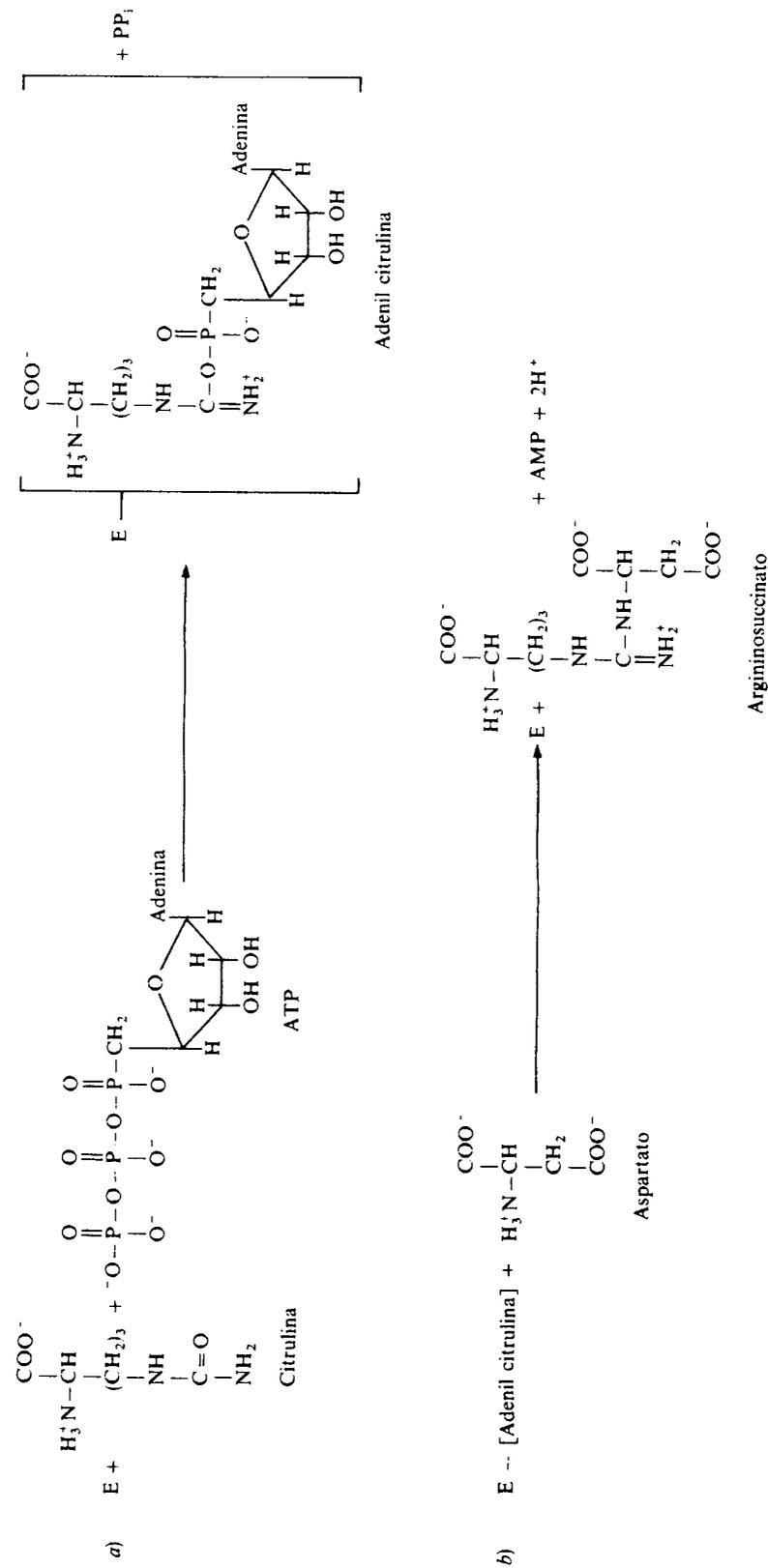
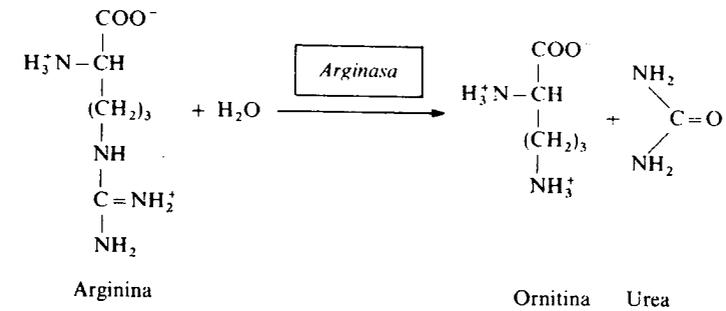


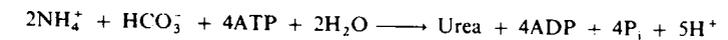
Figura 31.3. Etapas implicadas en el mecanismo de acción de la *argininosuccinato sintetasa* (E).

La arginina es hidrolizada por la *arginasa* liberando urea y regenerando la ornitina, la cual es transportada al interior mitocondrial, donde puede aceptar de nuevo carbamil-fosfato para iniciar otro ciclo.

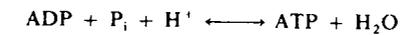


Conviene recordar aquí que los dos átomos de nitrógeno incorporados a la molécula de urea provienen en último término del nitrógeno amínico del glutamato. Uno de ellos se incorpora al ciclo de la urea en forma de NH_4^+ , producto de la desaminación de dicho aminoácido, y el otro en forma de aspartato, derivado también del glutamato por transaminación.

En resumen, y considerando la incorporación del grupo amino del aspartato como NH_4^+ , el ciclo de la urea puede expresarse mediante la siguiente reacción global:



Por tanto, la conversión de amonio y bicarbonato en urea es un proceso energéticamente costoso que utiliza cuatro moléculas de ATP, dos en la síntesis de carbamil-fosfato y otras dos en la síntesis de argininosuccinato (fig. 31.4). Hay que puntualizar además que durante el ciclo sólo tiene lugar la liberación neta de un protón, ya que los otros cuatro se utilizan en la fosforilación oxidativa mitocondrial del ADP generado de acuerdo con la siguiente reacción:



Regulación de la ureogénesis

De forma general, existen dos tipos de control de la síntesis de urea:

1. Un control a largo plazo sobre las actividades enzimáticas del ciclo. La síntesis de urea está muy influida por el contenido en proteínas de la dieta, de tal modo que las actividades enzimáticas disminuyen considerablemente en respuesta a una dieta pobre en proteínas, con lo cual se reduce la excreción de urea por la orina. Un aumento de la ingesta proteica provoca un incremento paralelo en los niveles de actividad de las enzimas.

2. Un control a corto plazo, ejercido sobre la *carbamil-fosfato sintetasa I*. Esta enzima, como se indicó antes, es activada alostéricamente por el N-acetil-glutamato, un compuesto que se sintetiza a partir de glutamato y acetyl-CoA en una reacción catalizada por la *acetyl-glutamato sintasa* mitocondrial:

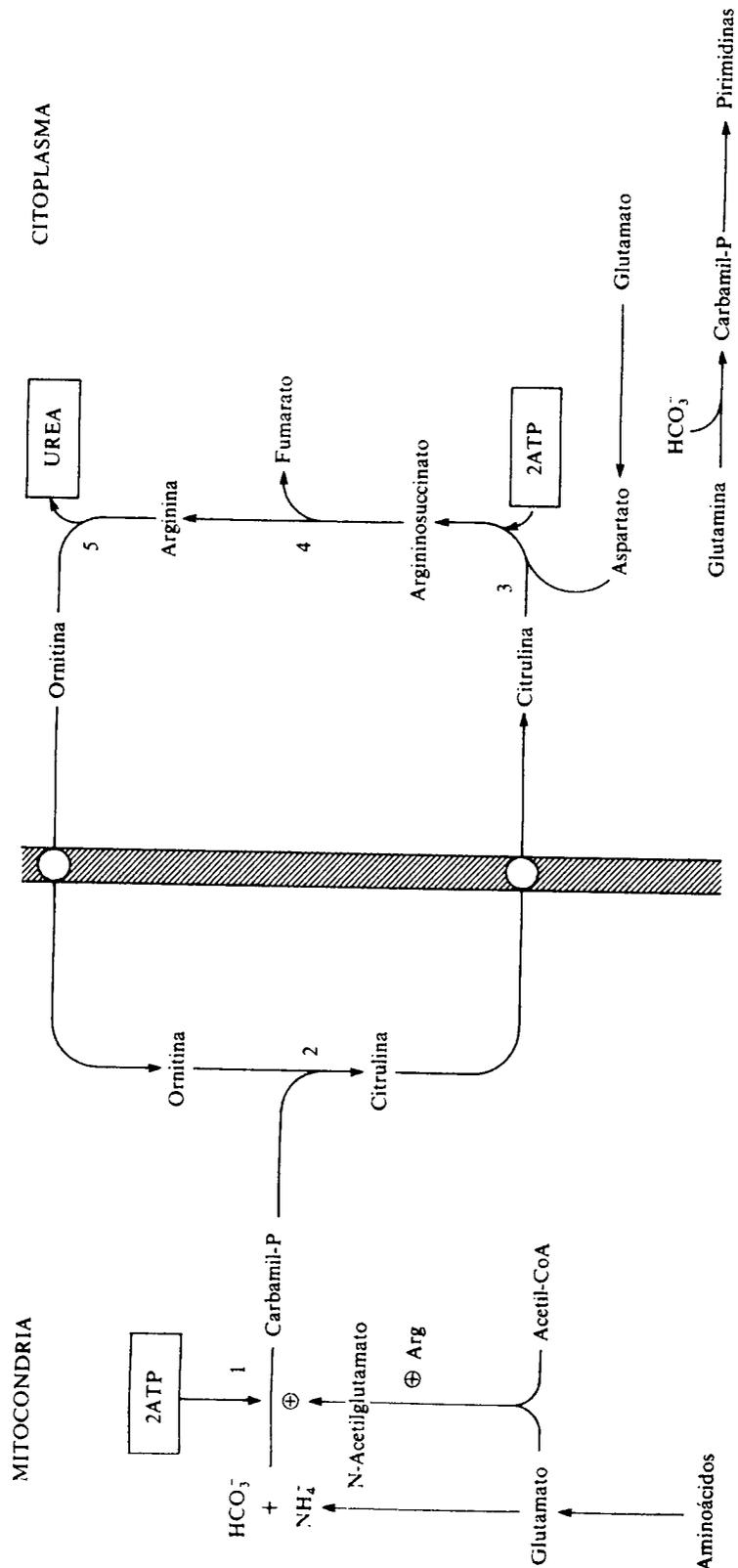
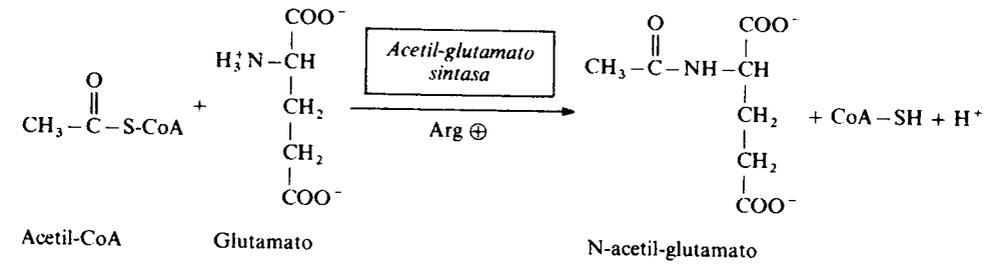


Figura 31.4. Representación esquemática del ciclo de la urea y su compartimentación celular. 1, Carbamil-fosfato sintetasa 1; 2, Ornitina transcarbamilasa; 3, Argininosuccinato sintetasa; 4, Argininosuccinato liasa; 5, Arginasa.



Esta enzima, a su vez, se activa en presencia de arginina. En consecuencia, la síntesis de carbamil-fosfato depende de las concentraciones mitocondriales de los aminoácidos arginina y glutamato. Elevados niveles de glutamato indican la presencia de un exceso de aminoácidos y, por tanto, la necesidad de eliminar amonio. Por otro lado, los niveles de arginina reflejan la existencia, o ausencia, de intermediarios del ciclo de la urea capaces de aceptar los grupos carbamilo generados en la reacción de la carbamil-fosfato sintetasa.

Evolución del ciclo de la urea

A la luz de los conocimientos actuales sobre el ciclo de la urea, cabe plantearse algunas cuestiones interesantes sobre aspectos poco claros de esta vía metabólica (tabla 31.1).

¿Por qué existe una compartimentación celular del ciclo, que hace necesario un transporte de citrulina y ornitina a través de la membrana mitocondrial interna?

¿Por qué la carbamil-fosfato sintetasa no está sometida a un control directo por parte de la arginina y el glutamato, en lugar de estar mediada por el N-acetilglutamato?

La respuesta a estas preguntas se encuentra en la historia evolutiva del ciclo de la urea. En efecto, todas las reacciones enzimáticas, incluida la catalizada por la arginasa, aparecen ya en el metabolismo de la arginina en los microorganismos. Este aminoácido es sintetizado a partir de glutamato por una ruta que incluye ornitina, citrulina y argininosuccinato como intermediarios. Sin embargo, las reacciones que participan en esta vía metabólica se han adaptado a las diferentes necesidades en las distintas especies, como se muestra a continuación utilizando dos ejemplos distintos (fig. 31.5).

Tabla 31.1
DISTRIBUCION INTRACELULAR DE LAS ENZIMAS DEL CICLO DE LA UREA Y METABOLITOS IMPLICADOS EN SU REGULACION

Localización intracelular de las enzimas	
Mitocondria	Carbamil-fosfato sintetasa 1 Ornitina transcarbamilasa
Citoplasma	Argininosuccinato sintetasa Argininosuccinato liasa Arginasa
Regulación enzimática	
N-acetil-glutamato	⊕ Carbamil-fosfato sintetasa 1
Arginina	⊕ Acetil-glutamato sintetasa

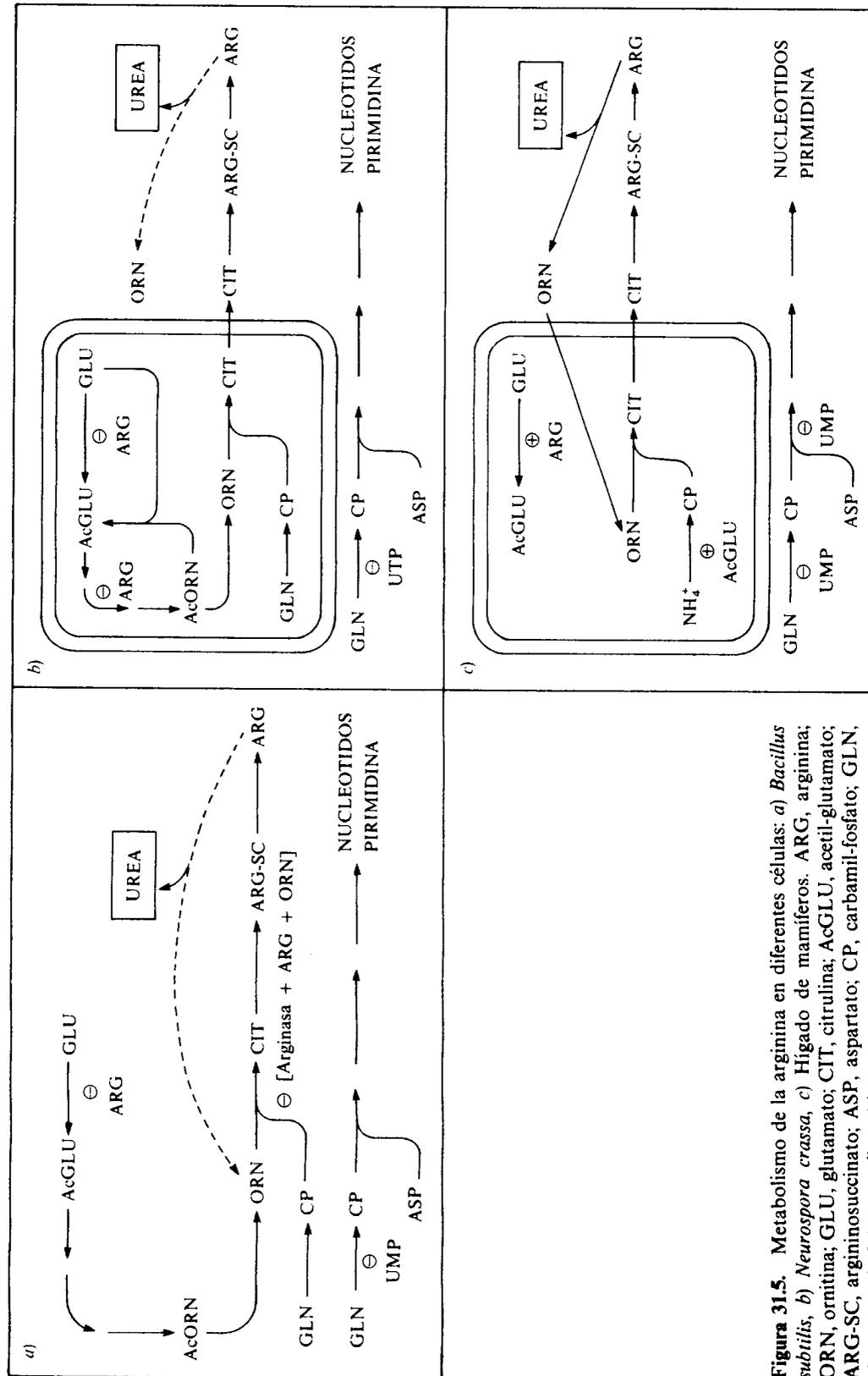


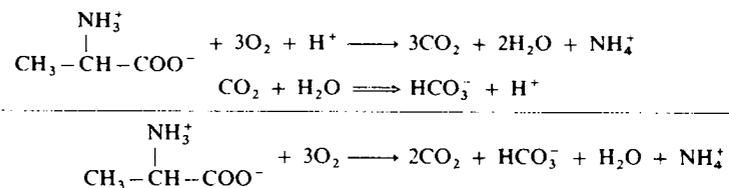
Figura 31.5. Metabolismo de la arginina en diferentes células: a) *Bacillus subtilis*, b) *Neurospora crassa*, c) Hígado de mamíferos. ARG, arginina; ORN, ornitina; GLU, glutamato; CIT, citrulina; AcGLU, acetil-glutamato; ARG-SC, argininosuccinato; ASP, aspartato; CP, carbamil-fosfato; GLN, glutamina; AcORN, acetil-ornitina.

En la bacteria *Bacillus subtilis* (fig. 31.5a) el control de la síntesis de arginina es realizado por el producto final, la arginina, sobre la primera enzima, la *acetilglutamato sintasa*. Existen dos *carbamil-fosfato sintetetas*, una que aporta el grupo carbamilo para la síntesis de arginina y otra que lo hace para la biosíntesis de pirimidinas, y que es sensible a inhibición por un producto final de la vía. Ambas enzimas son dependientes de glutamina como donador de nitrógeno. Se evita el funcionamiento simultáneo de las vías anabólica y catabólica de la arginina mediante un sistema de interacción proteica. Cuando aumentan los niveles de arginina en la célula, la *arginasa* y la *ornitina transcarbamilasa* forman un complejo molecular cuya actividad ornitina transcarbamilasa es inhibida por la ornitina, paralizándose así la formación de arginina.

En una célula eucariótica, por ejemplo, del hongo *Neurospora crassa* (fig. 31.5b), no existen notables diferencias en cuanto a la secuencia de las reacciones, pero sí en cuanto a su organización en el interior celular. La síntesis de ornitina se realiza en la mitocondria, mientras que la degradación de arginina se localiza en el citoplasma. Aparece una vía de transferencia del acetilo de la acetilornitina al glutamato para formar N-acetil-glutamato, aunque la arginina sigue regulando las primeras reacciones de la vía. Así pues, este organismo eucariota ha solucionado el funcionamiento simultáneo de la síntesis y degradación de la arginina separando las dos rutas en compartimentos celulares diferentes. De igual manera, se separan también ventajosamente las dos vías de utilización de carbamil-fosfato: las dos *carbamil-fosfato sintetetas* se localizan en compartimentos diferentes, y ambas son dependientes de glutamina. Si se realiza un análisis detenido de las secuencias metabólicas estudiadas, se observa que el ciclo de la urea en el hígado de mamíferos (fig. 31.5c) es bastante semejante al metabolismo de la arginina en *N. crassa* exceptuando que en los mamíferos se han eliminado las enzimas del ciclo del N-acetil-glutamato y han aparecido una serie de modificaciones enzimáticas, a saber:

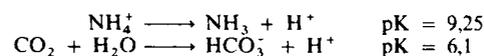
1. El comportamiento de la *acetil-glutamato sintasa*, que en lugar de inhibirse se activa por arginina.
2. La activación de la *carbamil-fosfato sintetasa* mitocondrial por N-acetil-glutamato, y la pérdida de su actividad glutamina dependiente. Hay que puntualizar que la enzima presente en microorganismos posee actividad glutaminasa endógena y que el nitrógeno para la síntesis de carbamil fosfato procede directamente del amonio.

En consecuencia, cabe interpretar la evolución desde el metabolismo de la arginina, en microorganismos, al ciclo de la urea, en el hígado de mamíferos, como resultado de la adaptación nutricional de los diferentes tipos de células. En tanto que los primeros presentan una gran dependencia de su medio, necesitando, por tanto, una elevada versatilidad metabólica, los animales superiores se han permitido perder algunas capacidades biosintéticas para compuestos que pueden incorporar en su dieta. Por otro lado, ha de tenerse en cuenta que la adaptación de los animales a una dieta rica en proteínas supone también la necesidad de tener que eliminar los productos finales originados en su degradación. En este sentido, debe señalarse que hasta hace poco tiempo se había asignado al ciclo de la urea la función primordial de convertir el amonio (NH_4^+), producto tóxico originado en el catabolismo de los aminoácidos, en urea, molécula nitrogenada inocua, muy soluble en agua y fácilmente eliminable por el organismo. Sin embargo, a pH fisiológico, la oxidación de una molécula de aminoácido (que contenga un grupo carboxilo y un grupo amino) produce, además de CO_2 como producto final, cantidades equimoleculares de NH_4^+ y HCO_3^- .

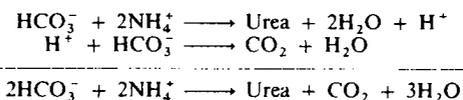


Debe recordarse a este respecto que el par $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ es el principal tampón de la sangre, responsable de la regulación del pH sanguíneo a un valor aproximado de 7,4. La homeostasis ácido-base se consigue mediante el mantenimiento de la relación entre las concentraciones de los dos miembros del par $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$, por el intercambio con el CO_2 que se desprende en la respiración pulmonar. Para un organismo que consume proteínas en su dieta, la cantidad de bicarbonato que se genera es lo suficientemente importante como para plantear también problemas de eliminación, ya que de no ser así, el resultado correspondiente sería una elevación del pH sanguíneo.

Las actividades metabólicas celulares no generan ácidos en cantidades importantes, si se exceptúa el NH_4^+ , que se produce en igual cantidad que el HCO_3^- . El amonio, sin embargo, es un ácido débil y no puede ceder directamente un protón al bicarbonato para su neutralización ya que el par $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ posee un valor de pK superior al del par $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$; realizar dicha transferencia requiere, pues, un aporte energético



En los mamíferos, la solución ha sido la síntesis de urea, por la cual se consiguen eliminar dos moles de HCO_3^- ; uno se incorpora directamente a la molécula nitrogenada y otro se protona para formar CO_2



De esta manera, el ciclo de la urea se convierte en un mecanismo metabólico de transferencia de protones desde el NH_4^+ al HCO_3^- , con gasto de cuatro moléculas de ATP.

Estudios realizados recientemente indican que el ciclo de la urea está implicado en la homeostasis ácido-base de los mamíferos mediante el mantenimiento de unos niveles constantes de bicarbonato, cuyo mecanismo de regulación en diferentes condiciones metabólicas, así como el papel de las enzimas hepáticas, *glutamina sintetasa* y *glutaminasa* se estudian en este mismo capítulo.

En resumen, es posible afirmar que el ciclo de la urea ha surgido por una presión evolutiva ejercida sobre la ruta biosintética de arginina, en respuesta a la necesidad de eliminar NH_4^+ y HCO_3^- , productos finales de la degradación de las proteínas, y que además se ha utilizado de forma ventajosa para la regulación del equilibrio ácido-base, de gran importancia para el ser vivo.

Enfermedades metabólicas del ciclo de la urea

Una serie de situaciones patológicas, como la hiperamonemia, la citrulinemia, la aciduria argininosuccínica o la hiperargininemia, son consecuencia directa de

deficiencias enzimáticas del ciclo de la urea. De forma general, los individuos que presentan tales deficiencias mueren en las primeras semanas de vida o manifiestan retraso mental debido a sus elevados niveles de amonio en sangre. Estas enfermedades pueden prevenirse, si se detectan precozmente, con una dieta pobre en proteínas y el uso de benzoato sódico para disminuir los niveles circulantes de amonio.

Deficiencia de carbamil-fosfato sintetasa. Se caracteriza por hiperamonemia e intolerancia a las proteínas. Además de los tratamientos generales antes indicados, se recomienda también la administración de arginina, activador de la *acetil-glutamato sintetasa*.

Deficiencia de ornitina transcarbamilasa. La deficiencia de esta enzima se conoce también como *hiperamonemia tipo II*, y se caracteriza además de por la elevación de la concentración sanguínea de amonio, por la eliminación de metabolitos intermediarios de la vía de las pirimidinas en la orina. Esto se debe a que el exceso de carbamil-fosfato mitocondrial sale al citoplasma celular, donde se incorpora a la reacción catalizada por la *carbamil-fosfato sintetasa II*. Estudios genéticos realizados con personas que presentaban esta deficiencia han permitido localizar el gen de la *ornitina transcarbamilasa* en el cromosoma X. La administración de ácido cítrico o aspártico se ha mostrado efectiva en su tratamiento.

Deficiencia de argininosuccinato sintetasa. La carencia de esta enzima provoca una marcada acumulación de citrulina en sangre y en orina, así como un aumento de la concentración de amonio en sangre. Las manifestaciones clínicas son variables, habiéndose descrito varios tipos en función de su gravedad.

Deficiencia de argininosuccinato liasa. Junto con la deficiencia de *ornitina transcarbamilasa*, este es uno de los desórdenes más comunes del ciclo de la urea. En él se acumulan grandes cantidades de argininosuccinato en sangre, y el individuo recién nacido muere o sufre retraso mental.

Deficiencia de arginasa. Su deficiencia se caracteriza por retraso mental y elevación de los niveles sanguíneos de arginina. Es una enfermedad bastante rara de la cual sólo se han descrito varios casos.

Además de las enfermedades relacionadas con las enzimas que catalizan reacciones del ciclo de la urea, la deficiencia de *acetil-glutamato sintetasa* provoca también aumento en la concentración circulante de amonio. En este caso, el tratamiento con fármacos análogos al N-acetil-glutamato ha demostrado resultados satisfactorios.

LA GLUTAMINA COMO VEHICULO DEL GRUPO AMONIO

La glutamina aparece en los distintos tejidos tanto como aminoácido libre como formando parte de la secuencia de las proteínas. Es uno de los aminoácidos más abundantes en el plasma de los mamíferos, siendo el tejido muscular el mayor productor de la glutamina circulante. Tejidos tales como el hígado, el cerebro y el corazón contienen también altas concentraciones intracelulares de este aminoácido. Su distribución se corresponde con su importante papel fisiológico. En la figura 31.6 se representan las principales vías metabólicas en las que la glutamina se ve implicada de forma más directa.

La síntesis de glutamina a partir de glutamato y amonio representa uno de los mecanismos más importantes de transporte de amonio entre los distintos órganos para su posterior utilización o excreción, ya que la glutamina es un vector inocuo del nitrógeno amoniaco. Por otra parte, la glutamina circulante, una vez transportada al interior celular, puede ser reconvertida a glutamato y amonio, produc-

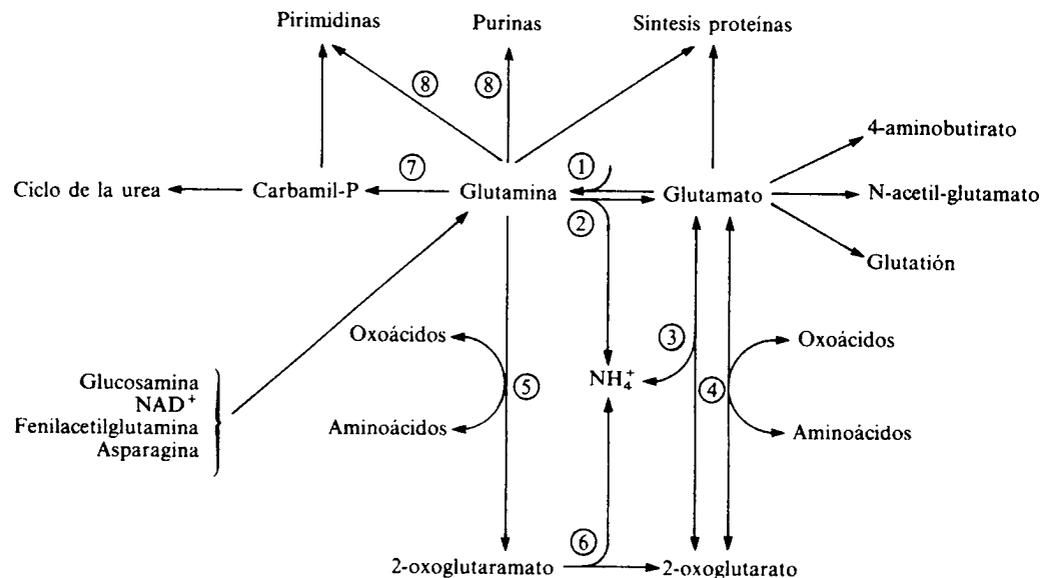
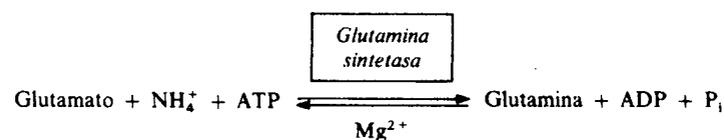


Figura 31.6. Principales vías metabólicas de la glutamina en células de mamíferos. Las enzimas implicadas en las reacciones que se numeran son: 1, *Glutamina sintetasa*; 2, *Glutaminasa*; 3, *Glutamato deshidrogenasa*; 4, *Glutamato transaminasa*; 5, *Glutamina transaminasa*; 6, *Amidasa*; 7, *Carbamil-fosfato sintetetasas I y II*; 8, *Amidotransferasas*.

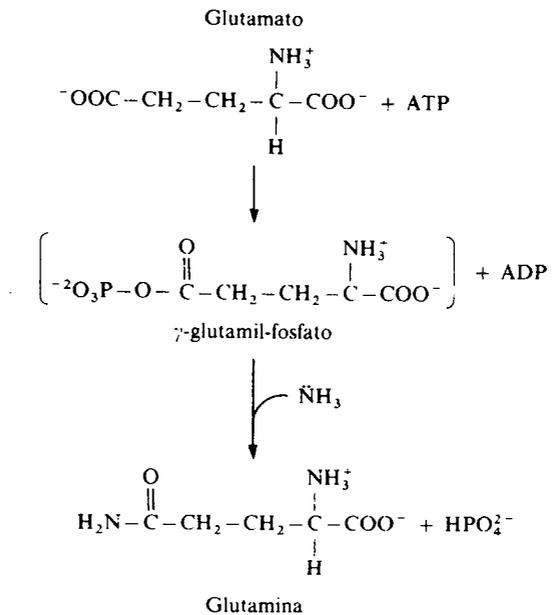
tos que la célula puede utilizar con distintos fines fisiológicos. Las dos actividades enzimáticas implicadas en la síntesis de glutamina y en la hidrólisis de su enlace amido se denominan *glutamina sintetasa* y *glutaminasa*, respectivamente.

Glutamina sintetasa

Determinados tejidos, tales como el muscular, el hepático, el renal o el nervioso presentan actividad *glutamina sintetasa* (GS) que cataliza la síntesis de glutamina a partir de glutamato y amonio con gasto de una molécula de ATP. La reacción requiere la presencia de un ion divalente, Mg^{2+} , Mn^{2+} o Co^{2+} , aunque el magnesio es el cofactor metálico fisiológico



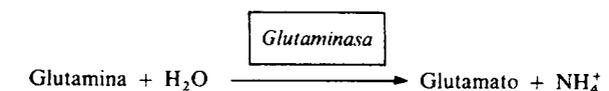
En primer lugar, la enzima une $\text{ATP} \cdot \text{Mg}^{2+}$ y luego, por reacciones parciales sucesivas, une glutamato, dando γ -glutamil fosfato, el ADP permanece unido a la enzima, y finalmente une amonio; liberando de forma secuencial P_i , glutamina y ADP como productos de la reacción:



El equilibrio de la reacción global está claramente desplazado hacia la síntesis de glutamina, siendo el valor de la constante de equilibrio de 1.200 a pH 7 y 37 °C. La enzima purificada de hígado de rata tiene un peso molecular relativo de 360.000 daltons. Al igual que otras *glutamina sintetetasas* de origen animal y de plantas superiores, se compone de ocho subunidades de entre 44.000 y 49.000 daltons de peso molecular. El octámero está formado por asociación de dos tetrameros, que presentan disposición cúbica al microscopio electrónico. La enzima es inhibida de forma irreversible por la metionina sulfoximina.

Glutaminasas

Bajo la denominación de L-glutaminasa se engloban una serie de proteínas que catalizan la siguiente reacción:



Las distintas proteínas de mamíferos con actividad glutaminasa se distribuyen fundamentalmente en los siguientes grupos:

1. *Glutaminasas fosfato-dependientes*, que requieren la presencia de fosfato para desarrollar su actividad catalítica. Dentro de este grupo se encuentran la *glutaminasa* hepática y la *glutaminasa* renal, presente también en intestino y cerebro. En general, las *glutaminasas fosfato-dependientes* presentan *in vitro* un pH óptimo alcalino entre 7,7 y 9, según la fuente natural de obtención. Su localización es mitocondrial y, al menos en hígado y riñón, parecen estar asociada a la membrana mitocondrial interna. Los dos tipos de *glutaminasas fosfato-dependientes*, la hepática y la renal, presentan grandes diferencias en cuanto a sus requerimientos de activador, a sus características cinéticas y a sus propiedades regulado-

Tabla 31.2

CARACTERISTICAS CINETICAS Y MOLECULARES MAS REPRESENTATIVAS DE LAS GLUTAMINASAS FOSFATO-DEPENDIENTES DE TIPO HEPATICO Y RENAL

<i>Glutaminasa renal</i>	<ul style="list-style-type: none"> - K_m para el fosfato = 20-30 mM. - Presente en su forma activa como dímero (PM = 330.000 daltons) o agregados de mayor masa molecular relativa. - Inhibida por glutamato y reactivos bloqueantes de grupos sulfhidrilos. - Activada por fosfato, borato, acetyl-CoA y algunos acil-CoA. <i>In vivo</i> se estimula en situación de acidosis metabólica.
<i>Glutaminasa hepática</i>	<ul style="list-style-type: none"> - K_m para el fosfato = 5 mM. - Tetrámero de 290.000 daltons. - Inhibida en acidosis. - Activada por fosfato y NH_4^+. Su actividad se estimula por glucagón, epinefrina y en situación de alcalosis metabólica.

ras. En la tabla 31.2 se resumen las características más significativas de ambos tipos de glutaminasas

2. Además, existe otra actividad glutaminasa en hígado y riñón, que es independiente de fosfato, y estimulada por maleato. Esta enzima es de localización extramitocondrial y su actividad representa tan sólo un pequeño porcentaje de la actividad glutaminasa total de dichos tejidos. Se duda de su importancia *in vivo* ya que parece corresponder a una actividad colateral de la γ -glutamyl transpeptidasa. El maleato se comporta como un inhibidor de la actividad transpeptidasa favoreciendo la actividad hidrolítica.

Ciclos de sustratos, glutamina sintetasa-glutaminasa

Los ciclos de sustratos están constituidos por una pareja de reacciones opuestas que, al operar simultáneamente con distinta intensidad, dan lugar a un flujo neto en uno u otro sentido y a un reciclaje mayor o menor de sustratos, denominado *grado de ciclo*. Con frecuencia, una de las reacciones está acoplada a la hidrólisis de ATP (fig. 31.7).

El funcionamiento de este ciclo supone, pues, un gasto extra de ATP. A esta disipación de energía, aparentemente inútil, se debe su nombre inicial de ciclo fútil, denominación que, sin embargo, se ha desechado al demostrarse que los ciclos de sustratos aumentan la capacidad de respuesta de una etapa metabólica a la acción de un determinado regulador. La respuesta efectiva de la etapa metabólica a un efector que sea capaz de activar la enzima E_1 e inhibir la E_2 , dependerá de la medida en que las dos enzimas sean activas de forma simultánea, es decir, del grado de ciclo. En resumen, cuanto mayor sea la relación grado de ciclo/flujo neto, mayor será la amplificación producida por el ciclo de sustrato a la acción de un efector. Por este potencial regulador la célula paga un precio: la energía disipada.

Existen ciclos de sustratos intracelulares, ejemplos de los cuales son las enzimas reguladoras de la glucólisis y la gluconeogénesis (caps. 16 y 17); y ciclos intercelulares, como los establecidos entre *glutamina sintetasa* y *glutaminasa* en hígado y riñón. Estos últimos, formados entre las dos actividades relacionadas con la glutamina, presentan la particularidad de que cada una de las enzimas está presente en diferentes tipos de células del mismo tejido. La *glutaminasa* hepática se encuentra sólo en hepatocitos periportales, en los cuales tiene lugar también la

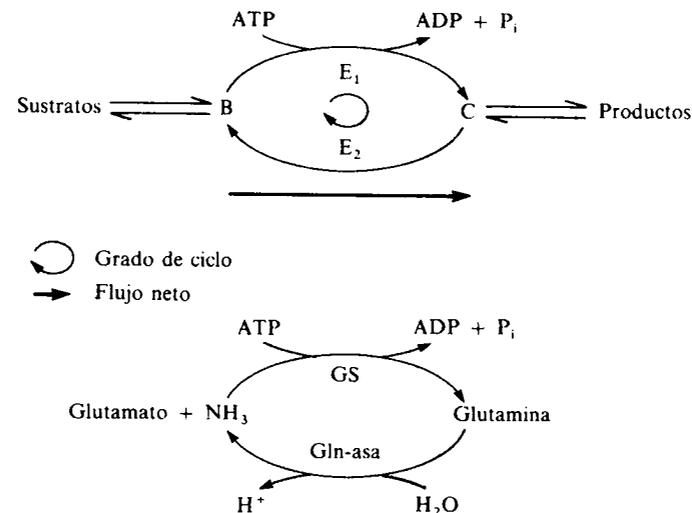


Figura 31.7. Representación esquemática de un ciclo de sustratos. Aplicación del modelo al ciclo *glutamina sintetasa/glutaminasa*. GS, *glutamina sintetasa*; Gln-asa, *glutaminasa*.

síntesis de urea; sin embargo, la *glutamina sintetasa* hepática se localiza en una pequeña subpoblación del parénquima pericentral, los hepatocitos perivenosos. En riñón, la *glutamina sintetasa* aparece en los tubos rectos proximales, mientras que la *glutaminasa* lo hace mayoritariamente en la porción distal de la nefrona y en los túbulos contorneados proximales.

Estos ciclos de sustratos desempeñan un papel fundamental en la regulación de la excreción del nitrógeno, amortiguando los efectos de estados patológicos tales como la acidosis o la hiperamonemia.

En la figura 31.8 se representa el papel del ciclo intercelular hepático de la glutamina durante la ureogénesis a partir del NH_4^+ portal. Puede observarse que

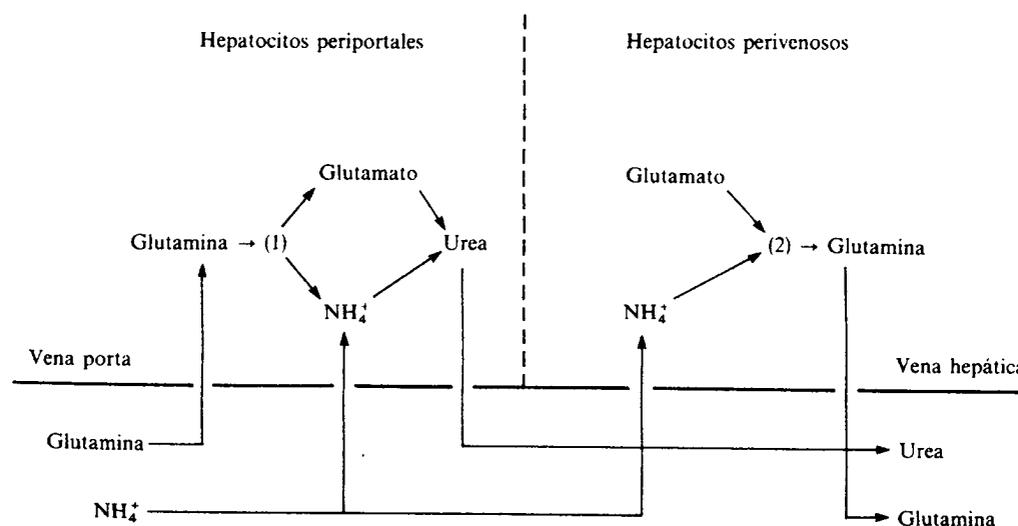


Figura 31.8. Ciclo intercelular hepático de la glutamina durante la ureogénesis a partir del NH_4^+ portal. (1), representa la reacción de la *glutaminasa*; (2) representa la reacción de la *glutamina sintetasa*.

el hígado presenta dos sistemas de utilización del amonio circulante, que son el ciclo de la urea y la biosíntesis de glutamina, la cual asegura, a su vez, la captura del NH_4^+ que no haya podido ser consumido en los hepatocitos periportales. Por otra parte, la reacción de la *glutaminasa* suministra sustratos, glutamato y amonio, para la biosíntesis de urea. Este reciclaje de glutamina hepática (consumo periportal, síntesis perivenosa) hace que a valores fisiológicos de pH no sea posible observar una producción neta de glutamina por el hígado.

La situación cambia en los estados de alcalosis y acidosis metabólica, ya que la reacción global de síntesis de urea consume cantidades equimoleculares de HCO_3^- y NH_4^+ . Sin embargo, la síntesis de glutamina a partir de amonio no requiere bicarbonato. Por tanto, mediante variaciones de intensidad en el funcionamiento de las dos vías de eliminación hepática de amonio, producción de urea y producción de glutamina, puede regularse la eliminación del anión bicarbonato. Como se muestra en la figura 31.9, durante la acidosis se ve aumentada la desintoxicación de iones amonio mediante la biosíntesis de glutamina, al mismo tiempo que se deprime la actividad del ciclo de la urea. Se ha observado un aumento en la actividad glutamina sintetasa y una disminución en la actividad glutaminasa hepática al disminuir el pH externo desde 7,9 a 7,2.

El riñón, que en condiciones normales es un buen consumidor de glutamina, responde también a las modificaciones del pH fisiológico. La extracción de glutamina, y su metabolismo renal, se elevan aún más en respuesta a la acidosis metabólica, lo cual supone un aumento de la excreción de nitrógeno en forma de ion amonio, mientras que disminuye la eliminación de bicarbonato incorporado en la urea. En estas circunstancias, el 2-oxoglutarato resultante del metabolismo del glutamato renal por acción de la *glutamato deshidrogenasa*, proporciona esqueletos carbonados que son necesarios para el mantenimiento de la gluconeogénesis renal, proceso que se ve aumentado durante la acidosis metabólica. Por otra

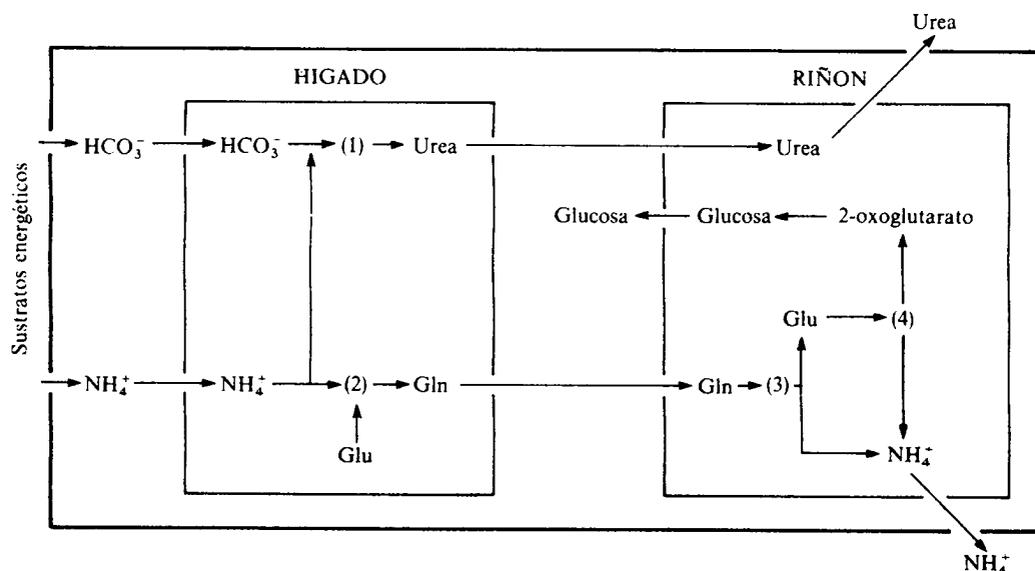


Figura 31.9. Representación esquemática de la respuesta a la acidosis metabólica de los mecanismos de eliminación de amonio: ciclo de la urea y ciclos *glutamina sintetasa*/*glutaminasa* de hígado y riñón. En trazo más grueso se representan los pasos metabólicos que se ven favorecidos en situación de acidosis. (1), ciclo de la urea; (2), *glutamina sintetasa* hepática; (3) *glutaminasa* renal; (4), *glutamato deshidrogenasa* de riñón; Gln, glutamina; Glu, glutamato.

parte, la *glutamina sintetasa* renal disminuye muy notablemente en situación de acidosis.

CIRCULACION DE AMINOACIDOS ENTRE TEJIDOS

Los aminoácidos circulantes no son sino el reflejo del metabolismo diferencial de cada uno de los aminoácidos en los distintos tipos celulares que componen el organismo. El aminograma plasmático humano, y el de dos de los mamíferos mejor estudiados en cuanto metabolismo integrado de aminoácidos, se muestra en la tabla 31.3.

Como puede observarse, la mayoría del nitrógeno circulante proviene de los aminoácidos no esenciales, alanina, glutamina y glicina. Este aminograma basal puede presentar ciertas modificaciones por distintas causas fisiológicas o patológicas, cuya interpretación suele ser un problema bastante complejo. No obstante, los esfuerzos realizados en investigación durante estos últimos años permiten comentar los aspectos fundamentales de la circulación de aminoácidos entre los diferentes tejidos y algunas de las causas que la modifican.

Situación basal postabsortiva

Mientras que la dinámica interna de un organismo, responsable de la homeostasis del mismo, es un proceso continuo, el aporte exógeno de nutrientes en animales superiores se lleva a cabo casi exclusivamente de manera discontinua. Estos hechos han obligado a desarrollar mecanismos reguladores que permiten mantener la homeostasis en los períodos de tiempo en los que no existe un aporte

Tabla 31.3
CONCENTRACIONES MEDIAS
DE AMINOACIDOS EN PLASMA (mM)

Aminoácidos	Rata	Ratón	Hombre
Alanina	0.323	0.289	0.348
Arginina	0.161	0.064	0.072
Aspartato	0.012	0.018	< 0.005
Glutamato	0.192	0.021	< 0.005
Glutamina	0.545	0.220	0.253
Glicina	0.447	0.197	0.253
Histidina	0.111	0.068	0.061
Isoleucina + fenilalanina	0.166	0.199	0.101
Leucina	0.155	0.153	0.099
Lisina	0.406	0.157	0.130
Metionina	0.091	0.036	0.020
Ornitina	0.046	0.028	0.045
Serina	0.231	0.101	0.138
Tirosina	0.092	0.055	0.041
Treonina	0.237	0.154	0.164
Triptófano	0.065	0.043	< 0.005
Valina	0.177	0.156	0.192

Estos valores pueden variar en un amplio margen, dependiendo del método analítico empleado y de las distintas condiciones fisiológicas de los organismos analizados.

exógeno de nutrientes. Atendiendo a esta discontinuidad en la alimentación, pueden distinguirse los siguientes períodos nutricionales:

1. Estado posprandial, o período que transcurre inmediatamente después de la ingesta de alimentos, en el cual se lleva a cabo la absorción y distribución de los nutrientes ingeridos a los distintos tejidos, así como la síntesis neta de sustancias de reserva.

2. Estado postabsortivo, o período prolongado de tiempo (8-14 horas) tras la última ingesta de alimentos, durante el cual se produce una degradación neta de sustancias de reserva, de manera que los niveles plasmáticos de los principales nutrientes se mantienen dentro de unos intervalos de concentración compatibles con el mantenimiento de las principales funciones vitales.

Al igual que ocurre con la glucosa sanguínea, los niveles de aminoácidos libres circulantes deben mantenerse dentro de unos márgenes de concentración durante los distintos períodos nutricionales y, de hecho, así ocurre en individuos sanos, en cuyos aminogramas sanguíneos se observan globalmente pocas variaciones inter o intraindividuales. En el caso de algunos aminoácidos, tales como la alanina, la serina, la treonina, la metionina, la leucina, la isoleucina y la tirosina, es preferible hablar de concentración sanguínea que de concentración plasmática, ya que pueden ser transportados en un cierto porcentaje en el interior de los elementos formes de la sangre, especialmente en los eritrocitos.

Cabe preguntarse entonces cuál es la principal fuente de nitrógeno circulante durante el estado postabsortivo, cuando no existe un aporte de nitrógeno exógeno. Las proteínas corporales constituyen la reserva mayoritaria de nitrógeno, y puesto que la mayoría de las proteínas constitutivas se localizan en el tejido muscular, resulta lógico que este tejido sea el mayor productor de aminoácidos en el estado postabsortivo. De hecho, la liberación muscular de aminoácidos libres constituye un alto porcentaje del total de los aminoácidos circulantes durante este período. Las especies moleculares que se liberan mayoritariamente son la alanina y la glutamina, aminoácidos que son consumidos con gran eficacia por otros tejidos, tales como el hígado, en el caso de la alanina, y el riñón y el intestino, en el caso de la glutamina. La tasa de liberación periférica y el consumo por parte de los tejidos del lecho esplácnico mantienen las concentraciones sanguíneas de estos aminoácidos en estado estacionario. Por otra parte, la alanina y la glutamina son exportados por el músculo en cantidad superior a la que cabría esperar de la composición relativa de las proteínas musculares.

A principios de los años setenta, Felig describió el denominado *ciclo glucosa-alanina*, establecido entre el hígado y el músculo en el estado postabsortivo. En este ciclo (fig. 31.10) la alanina liberada por el músculo es utilizada por el hígado como sustrato gluconeogénico; a su vez, la glucosa es convertida en piruvato en el interior del músculo por la vía glucolítica. El piruvato sirve de precursor en el músculo para la síntesis de alanina mediante transaminación con otros aminoácidos. Este ciclo explica la sobreproducción de alanina muscular a partir de piruvato y de amonio procedente de otros aminoácidos. Además, se sabe que los esqueletos carbonados de la alanina producida provienen en parte del piruvato de origen glucolítico, y en parte de otros aminoácidos catabolizados en el músculo, en particular de los ramificados. Con este doble aporte de carbono para la biosíntesis de alanina el ciclo glucosa-alanina no es un mero reciclaje de ambos sustratos, sino que contribuye a la producción neta de glucosa en el estado postabsortivo.

De igual forma, la glutamina liberada por el músculo parece tener un origen múltiple. No sólo se libera por proteólisis, sino que parece que se forma a partir de

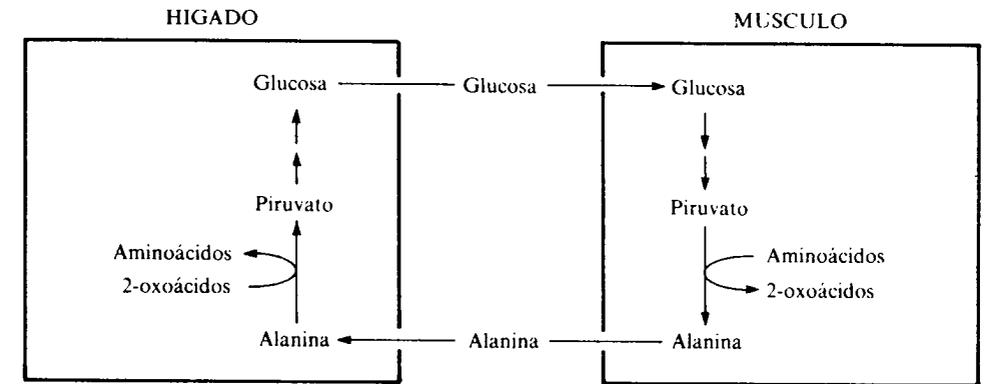


Figura 31.10. Ciclo glucosa-alanina establecido entre hígado y músculo durante el estado postabsortivo.

otros aminoácidos, tales como el aspártico y los aminoácidos ramificados, cuyos esqueletos carbonados y sus grupos amino contribuyen a la producción de glutamato y NH_4^+ y, por tanto, de glutamina. Una fuente adicional de amonio, operativa en el músculo de mamíferos, está constituida por el *ciclo de los purin nucleótidos*, que se estudia en el capítulo 32.

La utilización de otros aminoácidos esenciales en el músculo, como, por ejemplo, la tirosina, está controlada por la baja afinidad de las transaminasas que inician su catabolismo. Este hecho se interpreta como un mecanismo de adaptación que se opone al agotamiento de moléculas que el organismo no es capaz de volver a sintetizar.

Otros tejidos contribuyen a la biosíntesis neta de la glucosa necesaria durante el estado postabsortivo. Por ejemplo (cap. 29), el intestino metaboliza glutamina, liberando a la circulación enterohepática, entre otros productos, alanina y lactato, ambos considerados sustratos típicamente gluconeogénicos. En la figura 31.11 se representan las reacciones que llevan a la formación de estos productos en el epitelio intestinal. Por acción de la *glutaminasa* intestinal, la glutamina es convertida en glutamato, aminoácido que sufre una transaminación con piruvato, lo que explica la producción de alanina en los enterocitos. Además, los esqueletos carbonados de los que procede el piruvato utilizado en la transaminación pueden ser generados también a partir de glutamato, puesto que el cetoácido que ha resultado de la transaminación, el 2-oxoglutarato, se integra en el ciclo del ácido cítrico y produce piruvato a través de las siguientes alternativas:

a) A partir de malato, por acción de la *enzima málica* mitocondrial dependiente de NAD(P)^+ .

b) O bien a partir de oxaloacetato, a través de la reacción catalizada por la *oxaloacetato descarboxilasa*.

Ambas actividades enzimáticas han sido detectadas en extractos libres de células de mucosa intestinal. El piruvato producto de estas reacciones puede entonces convertirse en lactato (por la *lactato deshidrogenasa*) y alanina (mediante la transaminación).

Por otra parte, el riñón libera serina, alanina y glucosa, al tiempo que mantiene un consumo neto de glutamina. Por tanto, durante el estado postabsortivo puede hablarse de un ciclo glucosa/glutamina entre riñón y músculo, especialmente importante durante situaciones de acidosis metabólica.

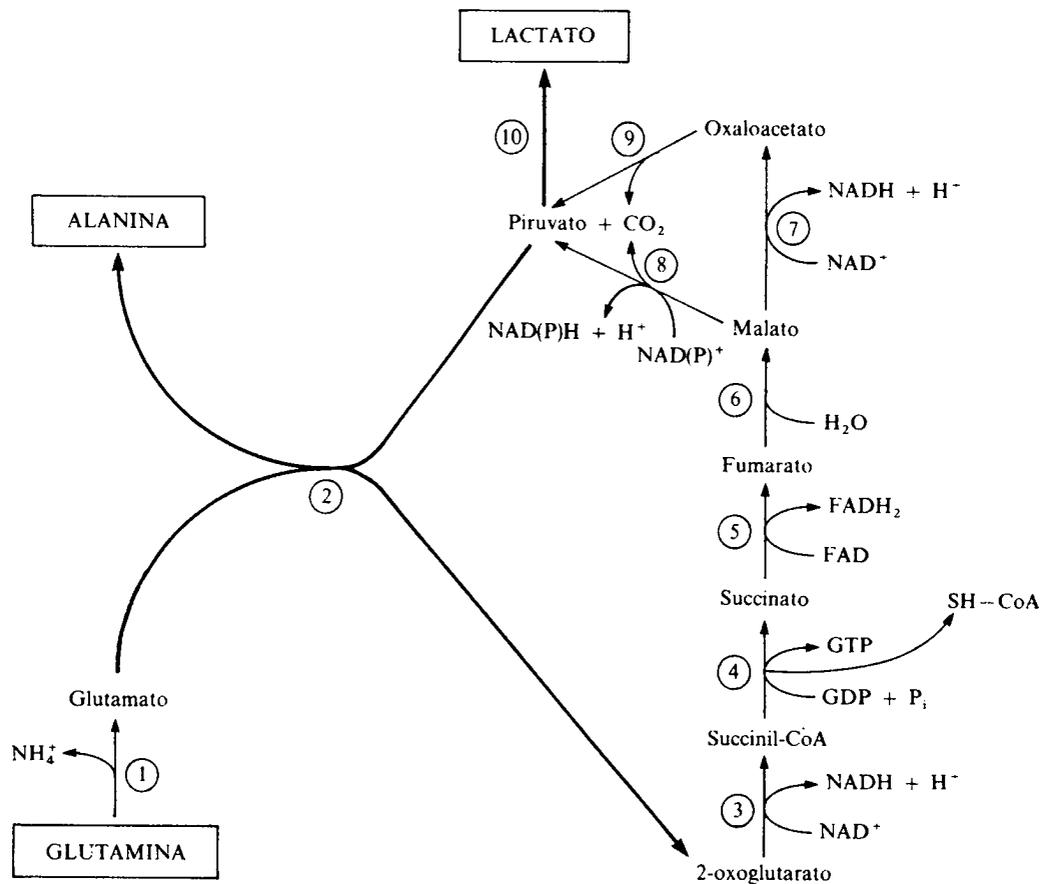


Figura 31.11. Representación de las vías que conducen a la formación de sustratos gluconeogénicos en enterocitos a partir de glutamina. (1), *glutaminasa*; (2), *alanina aminotransferasa*; (3, 4, 5, 6 y 7), reacciones del ciclo del ácido cítrico: *2-oxoglutarato deshidrogenasa*, *succinil-CoA sintetasa*, *succinato deshidrogenasa*, *fumarasa* y *malato deshidrogenasa*, respectivamente (véase cap. 12); (8), *enzima mállica* (NAD(P)^+); (9), *oxaloacetato descarboxilasa*; (10), *lactato deshidrogenasa*.

La figura 31.12 resume los flujos principales de aminoácidos entre los distintos tejidos, tomando como base el estado postabsortivo, e incluye una mención a la producción hepática de urea, para reflejar la necesidad de eliminar, en dicha situación, el exceso de nitrógeno procedente de los aminoácidos cuyos esqueletos carbonados se utilizan para la biosíntesis *de novo* de glucosa.

Situaciones patológicas

A veces se plantean situaciones que, a menos que existan mecanismos reguladores apropiados, pueden llegar a desequilibrar la homeostasis nitrogenada del organismo. A continuación se expondrán algunos ejemplos que ilustran la complejidad de la interrelación del metabolismo de aminoácidos, y muestran algunos mecanismos de respuesta con los que cuenta el organismo ante ciertas situaciones patológicas.

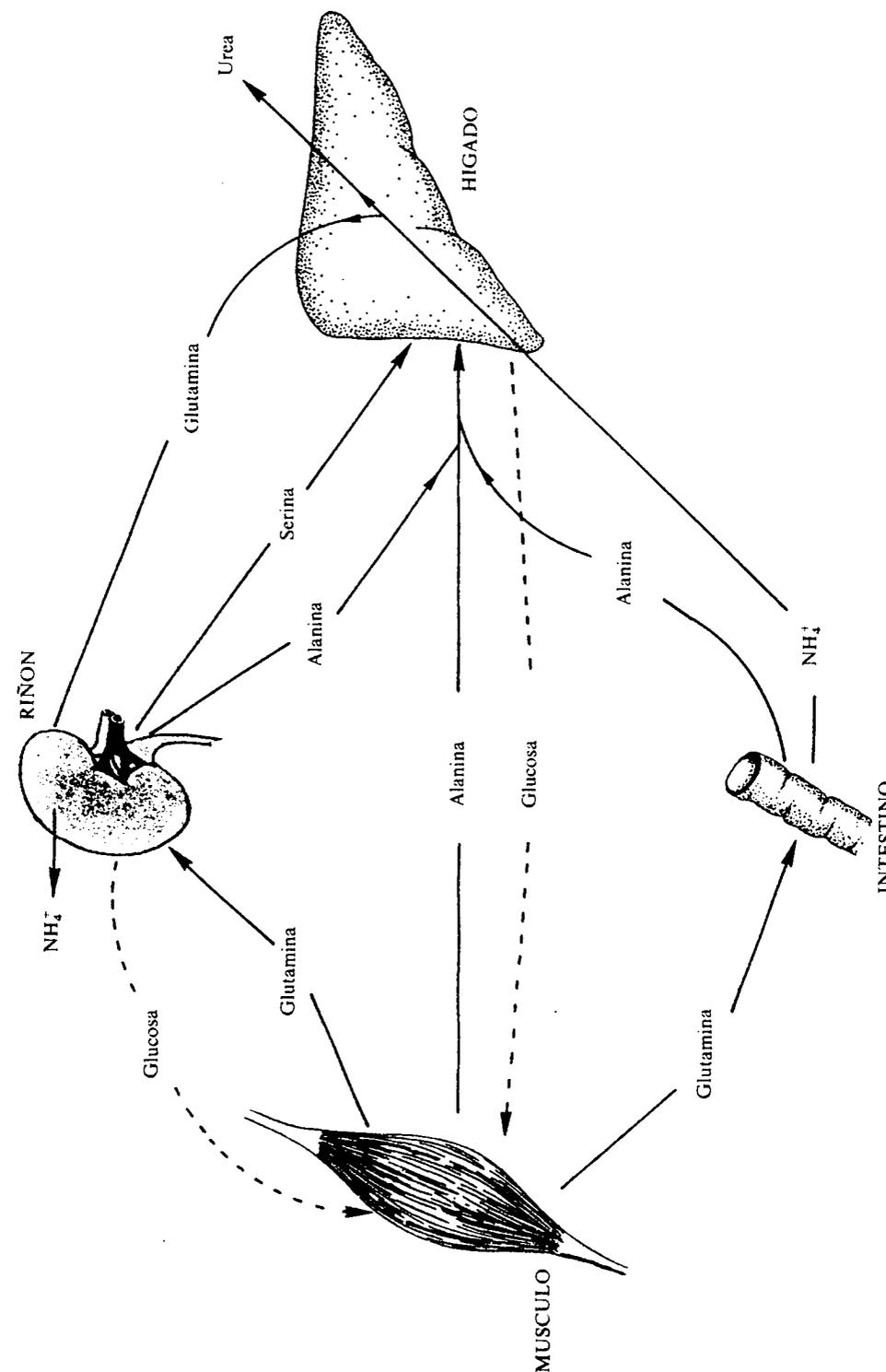


Figura 31.12. Principales flujos de aminoácidos durante el estado postabsortivo.

Ayuno prolongado

La gluconeogénesis hepática a partir de alanina muscular, que antes se mencionaba durante el estado postabsortivo, adquiere su máxima importancia para mantener la glucemia basal durante el ayuno prolongado, de más de veinticuatro horas, cuando el glucógeno se ha consumido. El aumento de la gluconeogénesis va acompañado de una elevación de los niveles plasmáticos de aminoácidos ramificados procedentes de la proteólisis tisular. Sin embargo, en periodos aún más prolongados de ayuno, esta destrucción de proteínas corporales debe tener un límite, puesto que la pérdida de entre un tercio y la mitad de las mismas tiene como consecuencia la muerte. De hecho, a medida que progresa el ayuno, ocurre una disminución progresiva del catabolismo proteico, lo que se refleja en una menor excreción de nitrógeno en la orina. Al mismo tiempo, disminuye la gluconeogénesis hepática y aumenta el consumo cerebral de cuerpos cetónicos en sustitución de la glucosa, que es el combustible normal. En esta situación de ayuno prolongado durante varios días, disminuyen los niveles de los aminoácidos en plasma, y sobre todo los de alanina, ya que el tejido muscular deja de sintetizarla.

En la figura 31.13 se resumen las causas bioquímicas de los distintos momentos metabólicos descritos. En un primer periodo de ayuno, las concentraciones circulantes de valina aumentan de forma progresiva como consecuencia de una proteólisis muscular activa. Además, la valina intramuscular es objeto de transaminación y su cetoácido, el ácido cetoisovaleriánico, es transformado en succinil-CoA mediante las reacciones propias de las vías degradativas de los aminoácidos ramificados (cap. 30). El succinil-CoA, a su vez es oxidado y convertido en oxaloacetato mediante reacciones características del ciclo del ácido cítrico. El oxaloacetato es transformado en piruvato por acción de la *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* y la *piruvato quinasa*. Dicho piruvato acepta finalmente un grupo amino mediante una nueva reacción de transaminación, y la alanina resultante es exportada al torrente sanguíneo (fig. 31.13a). En un segundo estadio (fig. 31.13b), como consecuencia de la activa proteólisis muscular que ha precedido, aumentan los niveles intracelulares de valina, hasta concentraciones que ejercen un efecto inhibitorio sobre la degradación neta de proteínas musculares y, por tanto, en la generación de valina en el interior celular. Simultáneamente, el organismo empieza a acumular cuerpos cetónicos como consecuencia de una activa degradación de lípidos. Estos cuerpos cetónicos son un segundo mecanismo de control, puesto que se ha comprobado que inhiben las vías degradativas de los aminoácidos ramificados (fig. 31.13b).

Lesión física

En algunos aspectos, los cambios bioquímicos producidos cuando el organismo sufre un trauma físico profundo, acompañado de graves heridas, bien sea por accidente o tras una intervención quirúrgica, son semejantes a los descritos en el primer ayuno, aunque difieren en la magnitud de los cambios hormonales. Las heridas aumentan la concentración de cortisol, glucagón y catecolaminas, siendo los niveles de insulina bastante bajos. En estas circunstancias, el catabolismo proteico está fuertemente favorecido, con el consiguiente aumento de la gluconeogénesis, la lipólisis y la proteólisis. La pérdida de nitrógeno es muy grande entre el segundo y el cuarto días después del traumatismo. Esta pérdida de nitrógeno muscular está causada por un equilibrio negativo entre la síntesis y la degradación

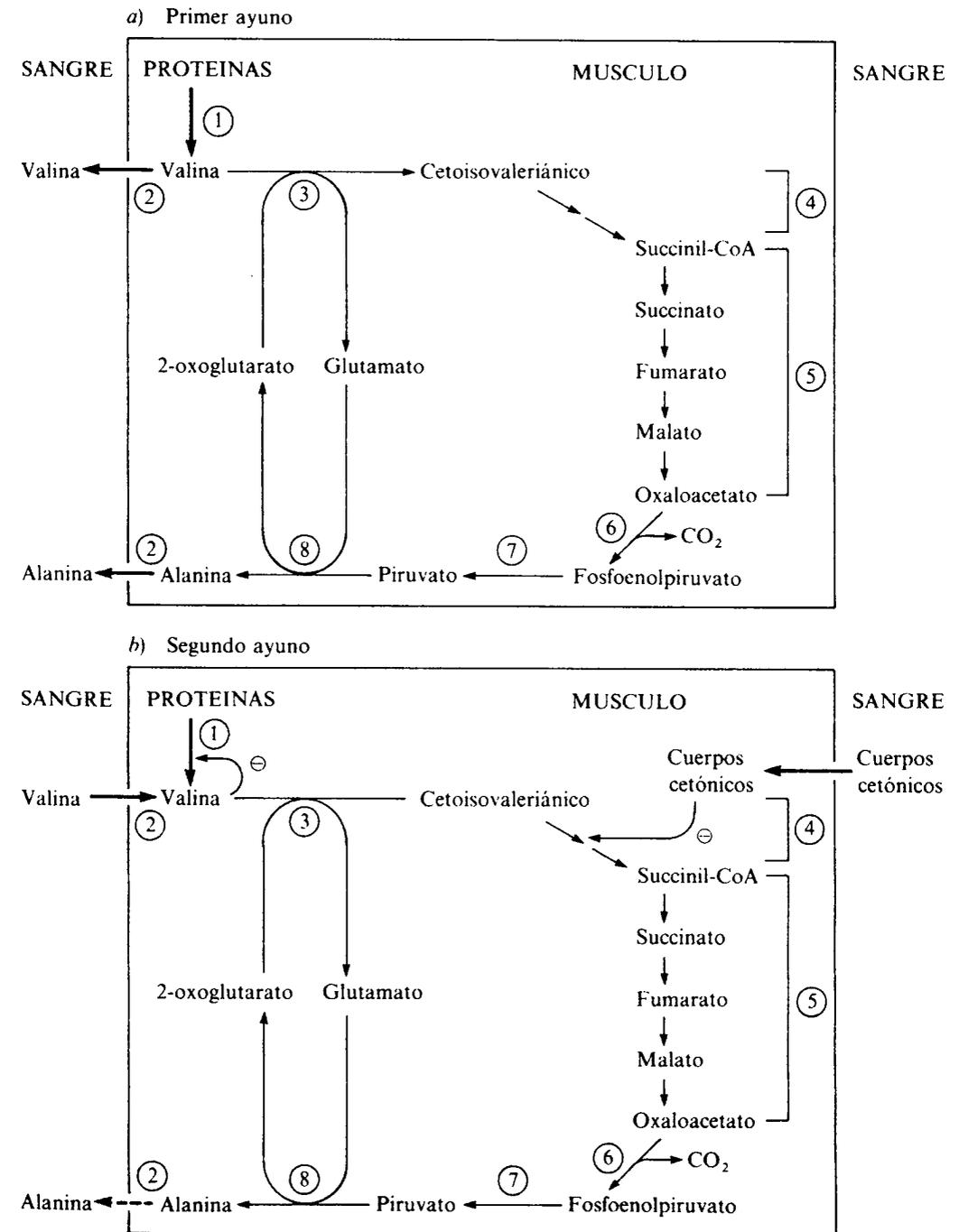


Figura 31.13. Regulación de la proteólisis muscular en los distintos estadios del ayuno. Los procesos enzimáticos implicados se expresan según la numeración siguiente: (1), procesos proteolíticos; (2), sistemas de transporte de aminoácidos; (3 y 8), *aminotransferasas*; (4), vía de la degradación de la valina; (5) reacciones del ciclo del ácido cítrico; (6) *fosfoenolpiruvato carboxiquinasa*, enzima gluconeogénica; (7) *piruvato quinasa*, enzima glucolítica. En beneficio de la claridad del esquema, se ha prescindido de representar los coenzimas, así como otros sustratos implicados en las distintas reacciones, por lo cual se aconseja que se consulten los capítulos correspondientes, en los cuales la descripción de estas reacciones sea completa (glucólisis, 16; gluconeogénesis, 17; vías de degradación de aminoácidos, 30, y ciclo del ácido cítrico, 12).

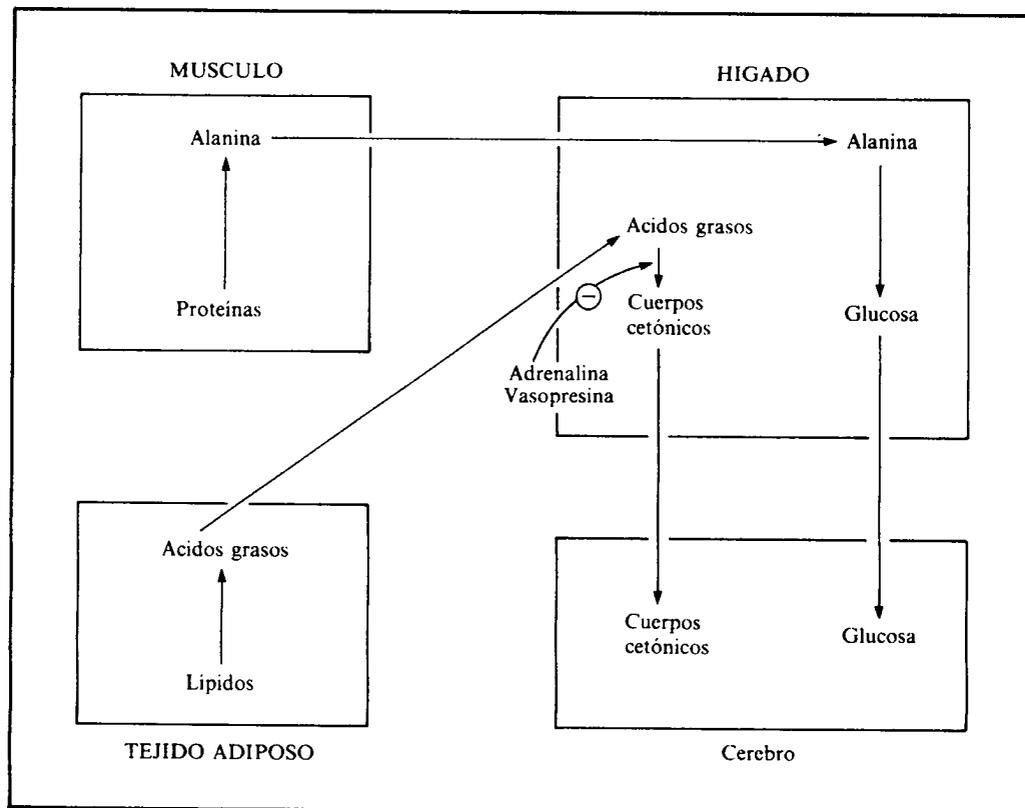


Figura 31.14. Representación esquemática de las fuentes de sustratos energéticos durante la lesión física y las consecuencias del estrés.

de proteínas después del trauma. En tales circunstancias la alimentación puede desempeñar un papel fundamental en el restablecimiento del equilibrio nitrogenado, puesto que si hay un aumento en la ingesta de alimentos, la biosíntesis proteica aumenta en consecuencia, tendiendo a igualar la tasa proteolítica. Sin embargo, los traumas físicos suelen estar asociados a un ayuno más o menos acusado, obligado a veces por las mismas circunstancias.

Al igual que en las situaciones de ayuno, durante situaciones de lesión física, una elevación de los niveles de cuerpos cetónicos circulantes podría detener la proteólisis. Sin embargo, a veces estos traumas suponen situaciones de estrés que aumentan la liberación de adrenalina y vasopresina, las cuales a su vez inhiben la síntesis hepática de cuerpos cetónicos. Esta circunstancia obliga a mantener una alta tasa proteolítica, puesto que la biosíntesis *de novo* de glucosa continúa siendo la principal fuente de combustible metabólico para mantener el funcionamiento de órganos tales como el cerebro. Estos hechos ponen en grave riesgo el balance nitrogenado y la vida del organismo.

Hepatopatías

Uno de los efectos más graves del daño hepático es la pérdida de la capacidad de transformación de amonio en urea o glutamina. El cerebro es muy sensible al efecto tóxico del amonio; de hecho, en la hiperamonemia hay una producción

anómala de los neurotransmisores sintetizados a partir de glutamina, glutamato y 4-aminobutirato. Además, a causa de una elevación en el amonio circulante, el cerebro intensifica la captura de otros aminoácidos, tales como fenilalanina y tirosina, precursores de neurotransmisores fisiológicos (epinefrina, dopamina y norepinefrina), y otros falsos neurotransmisores como la octopamina.

Por último, la flora intestinal libera una cierta cantidad de 4-aminobutirato, que en situación normal puede ser metabolizada por el hígado. Una hepatopatía dificulta esta vía de eliminación del 4-aminobutirato, lo que ocasiona un aumento de la cantidad del neurotransmisor circulante. En resumen, como consecuencia de la disfunción hepática, se producen una serie de alteraciones en el metabolismo nitrogenado que pueden dañar gravemente las funciones del sistema nervioso.

Cáncer y caquexia

La elevada síntesis proteica y de ácidos nucleicos en los tumores de rápido crecimiento exigen un aporte continuo de aminoácidos esenciales y no esenciales desde el organismo huésped. El tumor compite con el huésped por los aminoácidos del plasma, principal fuente de nitrógeno para el tumor, que llega a ser como una forma de vida parásita dentro del esquema metabólico general del huésped. De esta forma, el tumor induce una degradación proteica, fundamentalmente del tejido muscular, altera la síntesis de proteínas de los diferentes tejidos del huésped y se convierte en lo que tradicionalmente se ha llamado «una trampa de nitrógeno». Sin embargo, a pesar del crecimiento neto del tumor, el balance total de nitrógeno referido al sistema completo huésped-tumor es negativo, es decir, se libera más nitrógeno del que se ingiere produciéndose el síndrome de la *caquexia*, que va siempre acompañado de anorexia, astenia y pérdida de peso.

Aunque se desconocen los mecanismos moleculares que subyacen al fenómeno de la caquexia, existen algunos hechos bien establecidos. La pérdida de las proteínas del huésped puede ser el resultado de una disminución de la velocidad de síntesis, o la consecuencia de un aumento de la velocidad de degradación de las mismas. También puede ser debida a la acción simultánea de ambos procesos; de hecho, ha podido demostrarse una menor velocidad de síntesis proteica en animales de experimentación y en pacientes con tumores malignos. De la misma forma, se ha podido detectar una mayor actividad de las proteasas ácidas del tejido hepático, así como una variación en el perfil de los pesos moleculares de las catepsinas lisosomales en el hígado del animal portador.

En cuanto al estudio de los aminoácidos, no existe un aminograma plasmático característico de la condición neoplásica. Además del consumo de los aminoácidos esenciales proteinogénicos, la glutamina, y en algunos casos la asparagina, actúan como aminoácidos portadores del nitrógeno desde el huésped al tumor. La glutamina es un aminoácido esencial para las células de crecimiento rápido en cultivos celulares, lo que explica que el rápido aclaramiento de la sangre del huésped de glutamina, asparagina, o los dos aminoácidos, por la acción de las amidasas exógenas detenga el crecimiento tumoral. La *asparaginasa* es un agente antitumoral muy efectivo en algunas leucemias linfoblásticas agudas.

Los tumores apenas poseen capacidad para sintetizar glutamina, mostrando todos ellos una fuerte actividad *glutaminasa* dependiente de fosfato de localización mitocondrial. Esta enzima tiene una acción más allá de los requerimientos biosintéticos, lo que explica que los tumores sean una fuente de amonio, con la consiguiente toxicidad para el huésped. También es un aminoácido esencial para el tumor la arginina, una de las fuentes principales de ornitina, precursor de las

poliaminas necesarias para el crecimiento celular. Así, la *arginasa* presenta también actividad antitumoral en algunos hepatomas y linfomas.

LOS AMINOACIDOS COMO FUENTE DE ENERGIA Y NITROGENO EN LA NUTRICION PARENTERAL

A comienzos de siglo la literatura especializada reseña los primeros intentos de suministrar aminoácidos por vía parenteral a los pacientes. Uno de los puntos clave en el estudio de la alimentación endovenosa ha sido, desde siempre, la fuente más adecuada de nitrógeno que debía añadirse al aporte calórico. A pesar de los muchos trabajos realizados en este campo, aún no es posible recomendar una determinada mezcla de aminoácidos que sea capaz de romper el llamado ciclo catabólico, cuando la alimentación por vía enteral está sensiblemente disminuida, o es imposible. A primera vista, desde el punto de vista fisiológico, quizá lo más aconsejable sería intentar imitar en los preparados dados a los pacientes el aminograma del hombre sano en la situación postabsortiva. Sin embargo, no debemos olvidar que la alimentación parenteral evade no sólo el tracto gastrointestinal, sino también la función metabólica de los enterocitos, los cuales constituyen por sí mismos una barrera selectiva para algunos aminoácidos, en especial para los pares glutamina/glutamato y asparagina/aspartato.

Deberían suministrarse aminoácidos esenciales en las cantidades exigibles para asegurar un recambio proteico adecuado. Tales aminoácidos serían: isoleucina, leucina, valina, lisina, metionina, fenilalanina, triptófano y treonina, a los que convendría añadir histidina y arginina. La alanina es, además, una adecuada fuente de energía. Estos aminoácidos son, por otra parte, eficaces precursores de aminoácidos no esenciales. El glutamato y el aspartato, además de no ser bien absorbidos por el hígado, pueden ser tóxicos por su carácter neurotransmisor en el sistema nervioso central. A partir de glutamato, cuyo uso, como ya se ha comentado, está contraindicado, se obtiene, sin embargo, la prolina, que es precursor de la hidroxiprolina, aminoácido que representa del 9 por 100 al 12 por 100 del colágeno. Cabe, pues, esperar que una administración de prolina, junto con la de ascorbato, facilite la cicatrización.

Mención especial merecen los aminoácidos ramificados isoleucina, leucina y valina. La administración de estos aminoácidos después de un trauma operatorio tiene como consecuencia la disminución de la pérdida de nitrógeno, puesto que aumentan la síntesis de proteínas en músculo. El balance de nitrógeno se hace positivo y no hay pérdida de 3-metilhistidina, aminoácido cuya excreción es un índice del catabolismo proteico muscular. El uso de aminoácidos ramificados tiene un interés múltiple: sirven como fuente energética, reducen el catabolismo proteico y aumentan la síntesis de proteínas. Últimamente se ha indicado que los 2-oxoácidos (α -cetoácidos) correspondientes a los aminoácidos ramificados son aún más efectivos que éstos. El uso clínico de los 2-oxoácidos ramificados puede ser más eficaz modulando la proteólisis celular que el uso de los aminoácidos ramificados. Además tienen la ventaja de disminuir la carga de nitrógeno cuando se presentan complicaciones debidas a la acumulación de amonio.

A pesar de que la glutamina es el aminoácido cuya concentración en plasma es más elevada, su misión principal, como se ha visto a lo largo de este capítulo, es la de ser un transportador no tóxico de amonio hasta el riñón y el hígado, lugares donde actúa preferentemente la *glutaminasa fosfato dependiente*. En cualquier caso, un aporte endovenoso de glutamina no sería aconsejable, pues podría tener como resultado una elevada amonemia. Las células neoplásicas, y en general

todas las células de crecimiento rápido, son particularmente ávidas de glutamina, expulsando amonio y glutamato, lo que hace también aconsejable excluir la glutamina de la alimentación parenteral en situaciones de caquexia inducida por una neoplasia.

TEXTOS DE CONSULTA

- Atkinson, D. E.; Comien, M. N.: «The Role of Urea Synthesis in the Removal of Metabolic Bicarbonate and the Regulation of Blood pH», *Current Topics in Cellular Regulation* (eds., Horecker, B. L. y Stadtman, E. R.), vol. XXI, págs. 261-302, Academic Press, Nueva York, 1982.
- Bender, D. A.: *Amino Acid Metabolism*, 2.^a ed., John Wiley and Sons, Chichester, 1985.
- Corominas, A.; Rodríguez, F., y Lozano, J. A.: *Aminoácidos. Interés en Fisiología, Patología y Terapéutica*, Fargraf de España, S. A., Barcelona, 1975.
- Haüssinger, D.: *pH Homeostasis. Mechanism and Control*. Academic Press, Londres, 1988.
- Haüssinger, D., y Sies, H.: *Glutamine Metabolism in Mammalian Tissues*, Springer-Verlag, Berlin, 1984.
- Hue, L., y Van de Werve, G.: *Short-term Regulation of Liver Metabolism*, Elsevier, Amsterdam, 1981.
- Kovačević, Z., y McGivan, J. D.: «Mitochondrial Metabolism of Glutamine and Glutamate and its Physiological Significance», *Physiol. Rev.*, 63:547-605, 1983.
- Krebs, H.: *Reminiscences and Reflections*, Oxford University Press, Oxford, 1981.
- Lowenthal, A.; Mori, A., y Marescan, B.: *Urea Cycle Diseases*, Plenum Press, Nueva York, 1982.
- Matsuno, T.: «Bioenergetics of Tumor Cells: Glutamine Metabolism in Tumor Cell Mitochondria», *Int. J. Biochem.*, 19:303-307, 1989.
- Medina, M. A.; Núñez de Castro, I.: «Glutaminolysis and Glucolysis Interactions in Proliferant Cells», *Int. J. Biochem.*, 22:681-683, 1990.
- Mora, J., y Palacios, R.: *Glutamine: Metabolism, Enzymology and Regulation*, Academic Press, Nueva York, 1980.
- Odyssey, R.: *Problems and Potential of Branched-chain amino acids in Physiology and Medicine*, Elsevier, Amsterdam, 1986.
- Paulus, H.: «The Evolutionary History of the Ornithine Cycle as a Determinant of its Structure and Regulation», *Current Topics in Cellular Regulation* (eds. Horecker, B. L., y Stadtman, E. R.), vol. XXII, págs. 177-220, Academic Press, Nueva York, 1983.
- Waterlow, J. C., y Stephen, J. M. L.: *Nitrogen Metabolism in Man*, Applied Science Publishers, London, 1981.



Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de la Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 del T.R.L.P.I. (Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 12 abril 1996)

Biblioteca Digital

Fundación Universitaria San Pablo-CEU

Metabolismo de purinas y pirimidinas

JUAN CARLOS PRIETO

INTRODUCCION

Todas las clases de células, tanto eucarióticas como procarióticas, contienen un gran número de *nucleótidos* de extrema importancia en diversas funciones. Quizá una de las más significativas sea su papel estructural en los ácidos nucleicos, puesto que son las unidades monoméricas tanto del DNA como del RNA. Sin embargo, no es menos importante su intervención en el metabolismo energético, como ocurre sobre todo con el ATP como reserva energética de la célula y también con otros nucleótidos. Igualmente hay que resaltar la función mediadora sobre determinados procesos metabólicos ejercida por algunas de estas biomoléculas, como es el caso del AMPc, que actúa de segundo mensajero en los mecanismos de acción de hormonas y neurotransmisores, o el del ADP en la agregación plaquetaria y la coagulación sanguínea. Actúan también como portadores de intermediarios metabólicos activándolos, tal es el caso, por ejemplo, del CDP-diacilglicerol en el metabolismo de fosfolípidos o de la UDP-glucosa en la síntesis de glucógeno y glicoproteínas. De especial interés es su papel como componentes de diversas coenzimas tan destacadas como el NAD, el FAD o la coenzima A. Por último, no hay que olvidar su acción reguladora en muchas vías metabólicas como efectores alostéricos.

El ATP es sin duda el nucleótido más abundante en las células, oscilando las concentraciones del resto de nucleótidos desde mM para los ribonucleótidos (necesarios para la síntesis de RNA, entre otras cosas) hasta μM para los desoxirribonucleótidos (sustratos en la síntesis de DNA). La mayoría de las células pueden sintetizar *de novo* los nucleótidos necesarios para la producción de DNA y RNA, aunque por ser rutas con alto gasto de energía se siguen frecuentemente vías de recuperación de purinas y pirimidinas libres (bases presentes en los nucleótidos).

El presente capítulo aborda en primer lugar el conocimiento de la estructura química de estas biomoléculas por orden creciente de complejidad: bases púricas y pirimidínicas, nucleósidos y nucleótidos. Se estudian a continuación los correspondientes aspectos metabólicos: biosíntesis *de novo* de las dos clases de nucleótidos y su regulación, formación de desoxirribonucleótidos, vías de recuperación de las bases y, por último, vía de degradación. Se hace referencia a diversos síndro-

mes y enfermedades relacionados con alteraciones de estas vías metabólicas, tan frecuentes como la gota o tan raras como el *síndrome de Lesch-Nyhan*. Por último, se describe el ciclo del purín nucleótido como vía significativa de liberación de NH_3 por aminoácidos que implica a los nucleótidos AMP e IMP.

ESTRUCTURA DE PURINAS Y PIRIMIDINAS, NUCLEOSIDOS Y NUCLEOTIDOS

La hidrólisis total de los ácidos nucleicos da lugar a la liberación de sus distintas unidades estructurales, las bases púricas y pirimidínicas, la D-ribosa o la 2-desoxi-D-ribosa (según se trate de RNA o DNA) y el ácido fosfórico. Si la hidrólisis es incompleta se obtienen combinaciones de aquéllas, denominadas *nucleósidos* (base púrica o pirimidínica unida a una pentosa) y *nucleótidos* (base, pentosa y uno, dos o tres grupos fosfato).

Las bases púricas principales son la *adenina* y la *guanina*, presentes tanto en el DNA como en el RNA. Derivan de la *purina*, compuesto formado por la unión de un anillo de pirimidina y otro de imidazol, y pueden presentar tautomería ceto-enólica (fig. 32.1). Otras bases púricas naturales, que se forman en el metabolismo de las primeras son la hipoxantina, la xantina y el ácido úrico. Por otra parte, los RNA de transferencia (tRNA) contienen una pequeña proporción de purinas modificadas (generalmente con grupos metilo o hidroximetilo).

Las bases pirimidínicas más importantes son el *uracilo* (presente en el RNA), la *timina* (en el DNA) y la *citosa* (en DNA y RNA). Son derivados de la pirimidina y pueden presentar también tautomería ceto-enólica (fig. 32.2). Asimismo, existe una pequeña proporción de formas metiladas o hidroximetiladas, e incluso de tioderivados. Las bases raras llegan a constituir casi el 5 por 100 del total de bases de los tRNA.

En cuanto a la estructura de los nucleótidos, el C_1 de la pentosa (C_1 de la molécula del nucleósido) reacciona con el N_9 si la base es púrica o con el N_1 si es pirimidínica, quedando el enlace N-glicosídico en configuración β (fig. 32.3). Los ribonucleósidos principales son la *adenosina*, la *guanosina*, la *uridina* y la *citidina*, todos ellos derivados de la D-ribosa. Los desoxirribonucleósidos más importantes son la *desoxiadenosina*, la *desoxiguanosina*, la *desoxitimidina* y la *desoxicitidina*, procedentes de la 2-desoxi-D-ribosa.

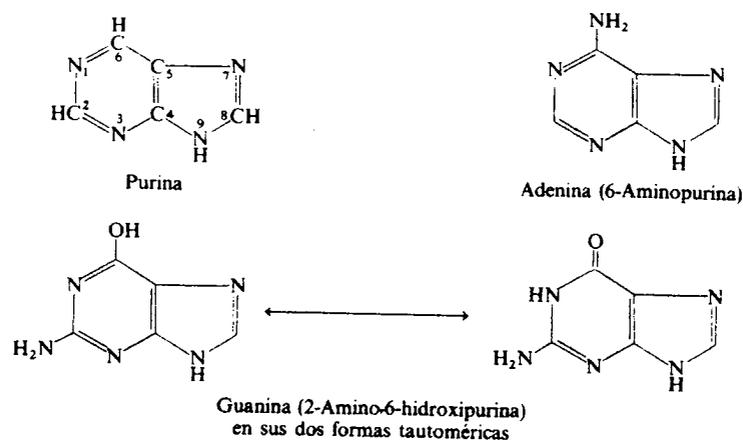


Figura 32.1. Estructura de las bases púricas. Se indica la numeración de los átomos. Obsérvese que en algún caso pueden presentar tautomería ceto-enólica.

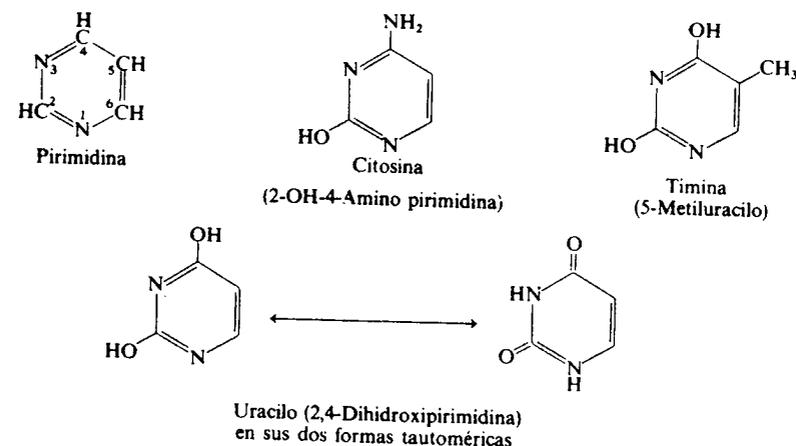


Figura 32.2. Estructura de las bases pirimidínicas. Se indica la numeración de los átomos. Obsérvese que en algún caso pueden presentar tautomería ceto-enólica.

La esterificación de los nucleósidos con ácido fosfórico da lugar a los nucleótidos (fig. 32.4). El punto de unión más frecuente para el fosfato es el C_5 de la pentosa; dependiendo de si se trata de D-ribosa o de 2-desoxi-ribosa se forman, respectivamente, 5'-ribonucleótidos (ribonucleósidos-5'-fosfato) tales como el AMP (adenilato o adenosina monofosfato), el GMP (guanilato o guanosina monofosfato), el UMP (uridilato o uridina monofosfato) y el CMP (citidilato o citidina monofosfato), o 5'-desoxirribonucleótidos (desoxirribonucleósidos-5'-fosfato), tales como el dAMP (desoxiadenilato), el dGMP (desoxiguanilato), el dTMP (desoxitimidilato) y el dCMP (desoxicitidilato). Los nucleósidos-5'-fosfato pueden fosforilarse adicionalmente en la misma posición 5', dando lugar a 5'-difosfatos y 5'-trifosfatos. Existen, por tanto, mono, di y trinucleótidos que, por ejemplo, en el caso de la adenina y cuando el azúcar es la D-ribosa, son el AMP, el ADP y el ATP.

Las pentosas poseen otros grupos hidroxilo libres además del 5' (2' y 3' en ribosa y 3' en desoxirribosa) susceptibles de fosforilación, por lo que, aunque con menos frecuencia, pueden formarse nucleótidos tales como adenosina-3'-fosfato o

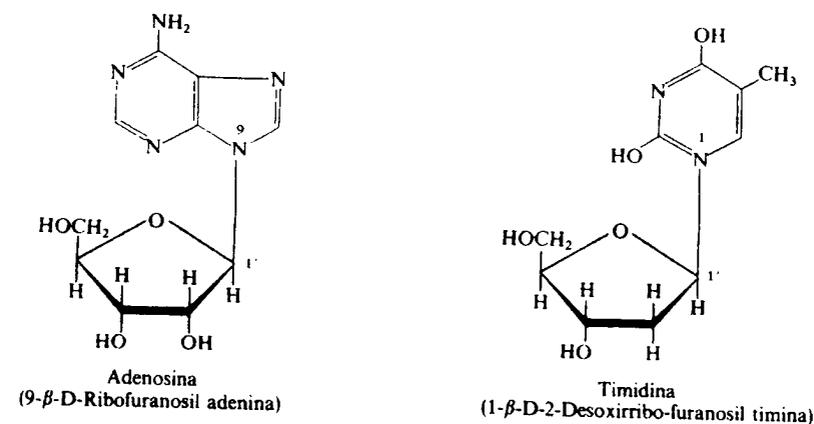


Figura 32.3. Estructura de algunos nucleósidos. Los átomos del anillo del azúcar se numeran como 1', 2', etc., para diferenciarlos de los de la base.

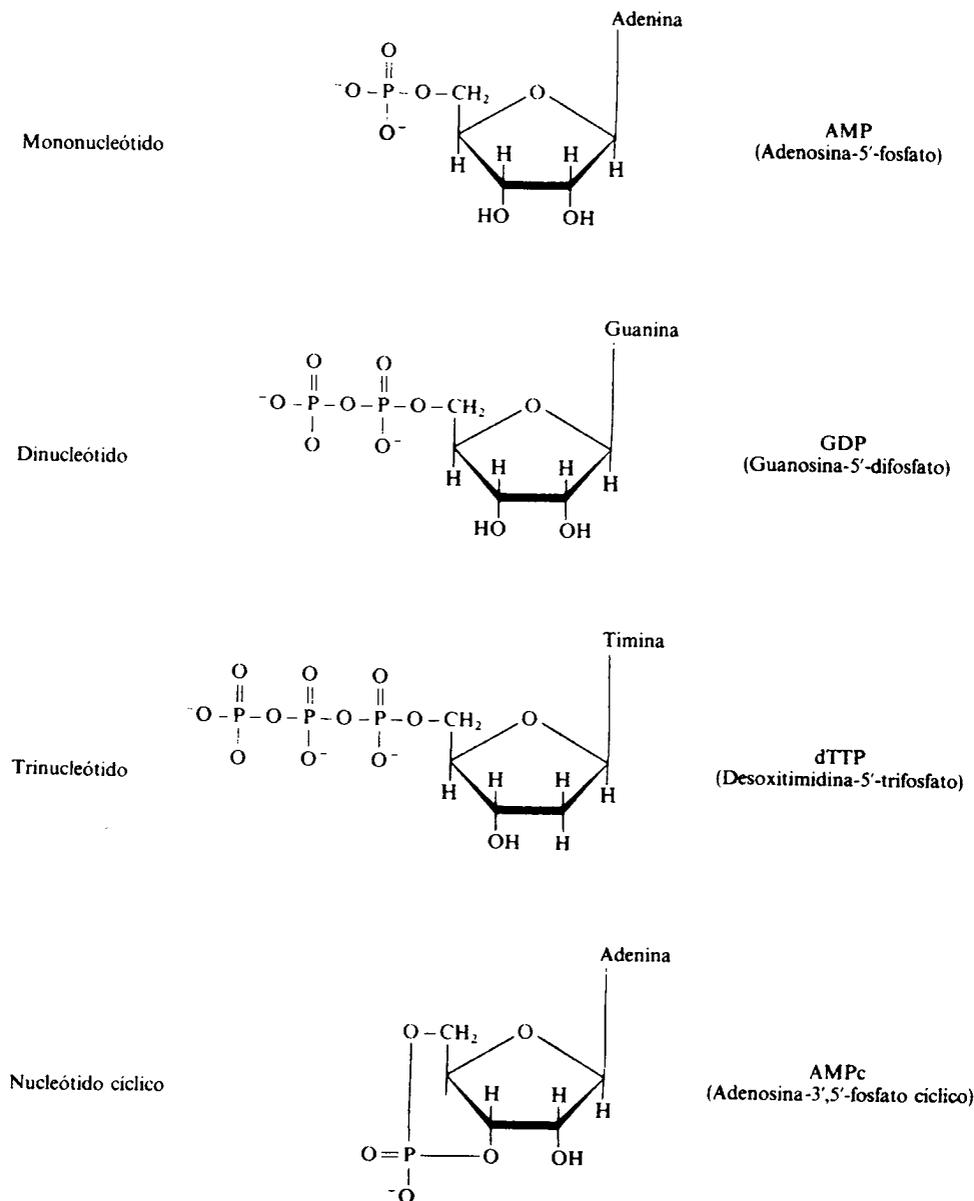


Figura 32.4. Estructura de algunos nucleótidos. La posición suele ser la 5', aunque también se conocen 2'- y 3'-fosfatos.

adenosina-2'-fosfato. También aparecen formas cíclicas tales como adenosina-3',5'-fosfato cíclico (AMPc).

BIOSINTESIS DE NUCLEOTIDOS: ORIGEN DEL FOSFORRIBOSIL PIROFOSFATO (PRPP)

La biosíntesis *de novo* de los nucleótidos púricos y pirimidínicos se realiza en casi todos los organismos, con excepción de algunas bacterias. Una de sus etapas

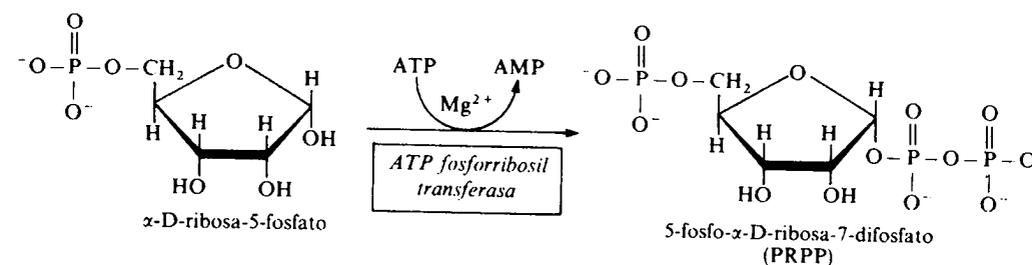


Figura 32.5. Síntesis de fosforribosil pirofosfato (PRPP).

consiste en la formación de un enlace β -N-glicosídico entre una ribosa y un átomo de N, utilizando para ello el compuesto activado 5-fosfo- α -D-ribosa difosfato, conocido comúnmente por *fosforribosil pirofosfato* o PRPP, intermediario en la ruta biosintética de los dos tipos de nucleótidos que se forman (fig. 32.5) a partir de ribosa-5-fosfato y un resto de pirofosfato procedente del ATP. La reacción es catalizada por la *ATP fosforribosil transferasa*, enzima que resulta activada por el fosfato inorgánico e inhibida por los nucleótidos.

La ribosa-5-fosfato utilizada procede de la vía de las pentosas fosfato e incorpora el grupo pirofosfato en el C₁. El PRPP participa también en la síntesis de triptófano e histidina.

BIOSINTESIS DE NUCLEOTIDOS PURICOS Y SU REGULACION

Mediante experimentos con isótopos radiactivos pudo determinarse que los átomos del anillo púrico proceden de precursores elementales, tales como aminoácidos, CO₂ y unidades de un átomo de C (fig. 32.6). El primer nucleótido púrico de la ruta biosintética, esclarecida en gran parte por Buchanan y Greenberg en 1950, es la inosina-5'-fosfato (IMP o ácido inosínico, cuya base es la hipoxantina), que formará después AMP y GMP.

El resto de ribosa-5-fosfato participa en la ruta biosintética desde el principio, cuando comienza a formarse el anillo púrico (fig. 32.7); entonces, el grupo γ -amino de la glutamina desplaza al grupo pirofosfato situado en el C₁ del PRPP, formándose 5-fosfo- β -D-ribosilamina en una reacción catalizada por la *amidofosforribosil transferasa*. La configuración del C₁ pasa de α a β , con lo que el enlace C-N glicosídico formado es de tipo β , como el de todos los nucleótidos naturales.

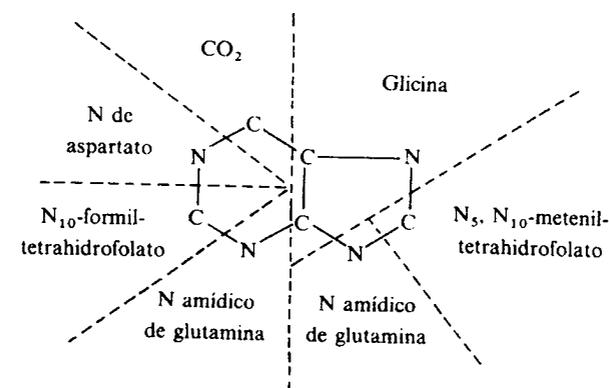


Figura 32.6. Procedencia de los átomos del anillo de las purinas.

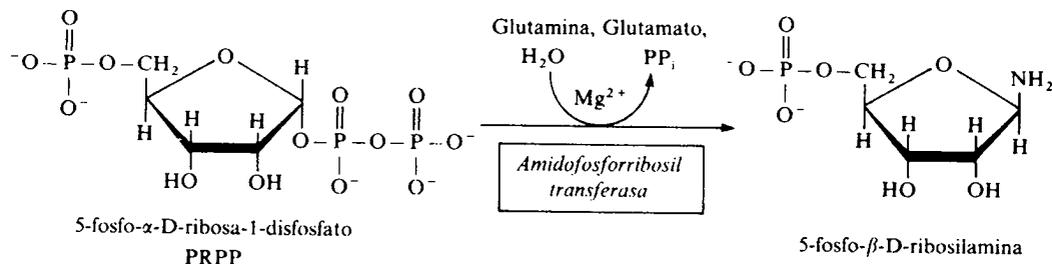


Figura 32.7. Síntesis de fosforribosilamina.

Es ahora cuando, a través de cuatro etapas, va a formarse el primer compuesto cíclico, de tan sólo cinco eslabones, derivado del imidazol (fig. 32.8). La glicina reacciona con una molécula de fosforribosilamina, en presencia de la correspondiente *sintetasa* y con la hidrólisis de una molécula de ATP, formando un ribonu-

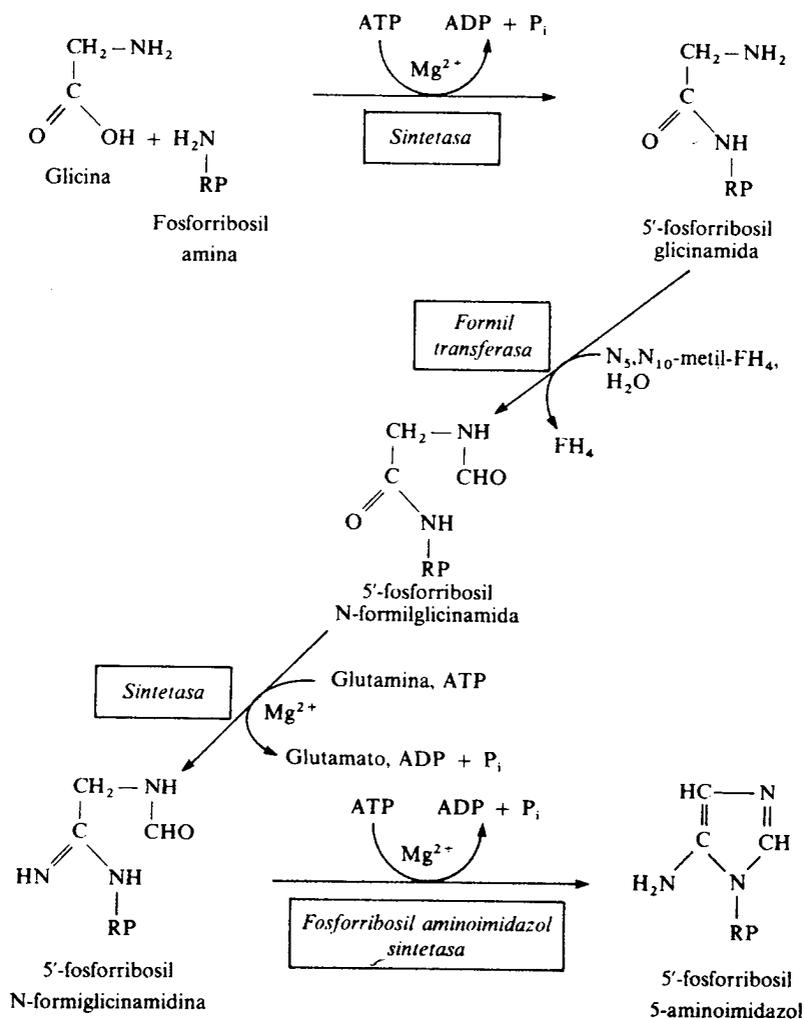


Figura 32.8. Síntesis del anillo imidazólico de las purinas. N_5,N_{10} -metil-FH₄ = N_5,N_{10} -metil-tetrahidrofolato.

cleótido de glicinamida que, a continuación, es formilada en una reacción en la que interviene el N_5,N_{10} -metenil-tetrahidrofolato como donador y la enzima *fosforribosil glicinamida formiltransferasa* como catalizador, y cuyo producto es un ribonucleótido de formilglicinamida. Este es entonces aminado por una molécula de glutamina (con hidrólisis de ATP) en presencia de la enzima *fosforribosil-N-formilglicinamida sintetasa*, originándose un ribonucleótido de formilglicinamida, que es susceptible de ciclarse. La reacción de ciclación es catalizada por la *fosforribosil aminoimidazol sintetasa* (con hidrólisis de ATP), y produce un ribonucleótido de 5-aminoimidazol. Así, queda formado el anillo de cinco eslabones del imidazol.

A continuación se emprende la formación del anillo púrico completo a través de cinco nuevas etapas (fig. 32.9). En la primera, la *fosforribosil aminoimidazol carboxilasa* cataliza la incorporación de CO₂, obteniéndose un ribonucleótido de 5-aminoimidazol-4-carboxilato. Este se une al grupo amino de un aspartato en presencia de una *sintetasa* (con hidrólisis de ATP), originando el ribonucleótido de 5-aminoimidazol-4-(N-succino)carboxamida. Mediante *adenilosuccinasa* se libera fumarato (que entra en el ciclo del ácido cítrico) quedando el ribonucleótido de 5-aminoimidazol-4-carboxamida. Tras estas dos últimas reacciones, muy similares a las que tienen lugar en el ciclo de la urea, el N_{10} -formil-tetrahidrofolato dona un grupo formilo en presencia de la enzima *fosforribosil aminoimidazol carboxamida formil transferasa*, quedando constituido el ribonucleótido de 5-formamidoimidazol-4-carboxamida. Este se cicla, con eliminación de una molécula de H₂O entre los grupos carboxamida y formilo, en una reacción catalizada por la

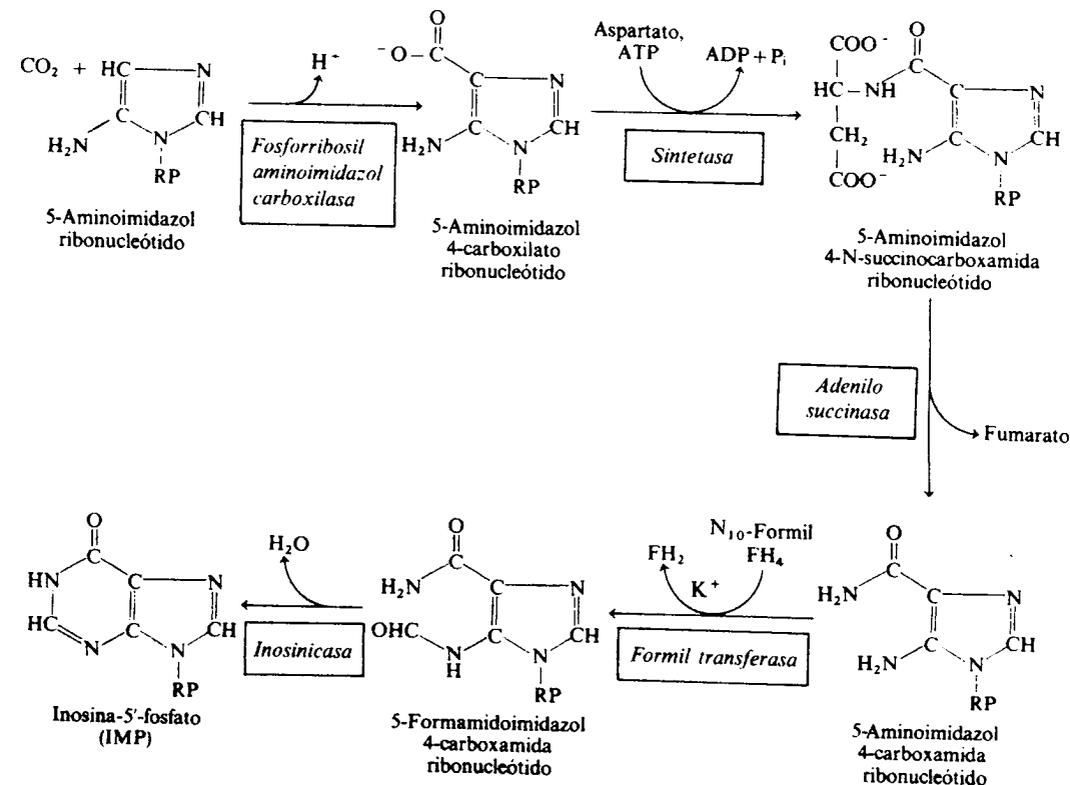


Figura 32.9. Síntesis de inosina-5'-fosfato (IMP) a partir de 5'-fosforribosil-5-aminoimidazol.

inosinicasa. El producto final es ya un nucleótido púrico, la inosina-5'-fosfato o IMP (ácido inosínico), cuya base púrica es la hipoxantina.

El IMP es el precursor del AMP y del GMP a través de dos vías diferentes (fig. 32.10). La síntesis de AMP comienza con la reacción de IMP con aspartato, dando lugar a adenilosuccinato, en presencia de la correspondiente *adenilosuccinato sintetasa*, y con la hidrólisis de GTP. La eliminación subsiguiente de fumarato por acción de la *adenilosuccinasa* proporciona AMP como producto. En cuanto a la síntesis de GMP, el IMP se oxida a xantosina fosfato (xantilato) mediante una reacción catalizada por la *inosina-5'-fosfato deshidrogenasa*, que es una enzima dependiente de NAD^+ . El xantilato se une a un grupo amino de glutamina en presencia de la *guanosina-5'-fosfato sintetasa*, hidrolizándose ATP y formándose finalmente GMP.

Los mononucleótidos AMP y GMP pueden ser fosforilados en etapas posteriores a difosfatos y, por último, a la trifosfatos ATP y GTP (fig. 32.11). La *adenilato quinasa* cataliza el paso de AMP a ADP mediante la hidrólisis de ATP, el ADP formado se fosforila a ATP a través de la glucólisis o de la cadena

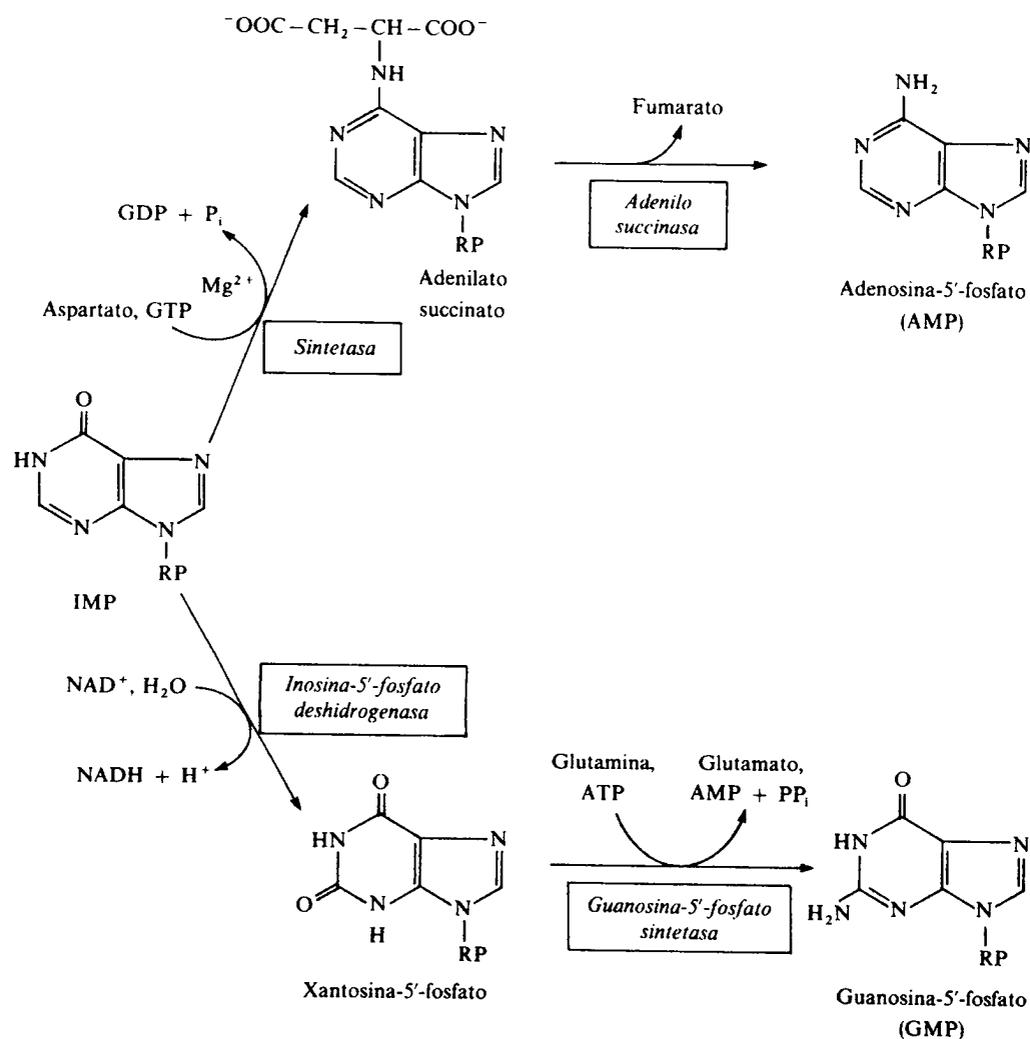


Figura 32.10. Síntesis de AMP y GMP a partir de IMP.

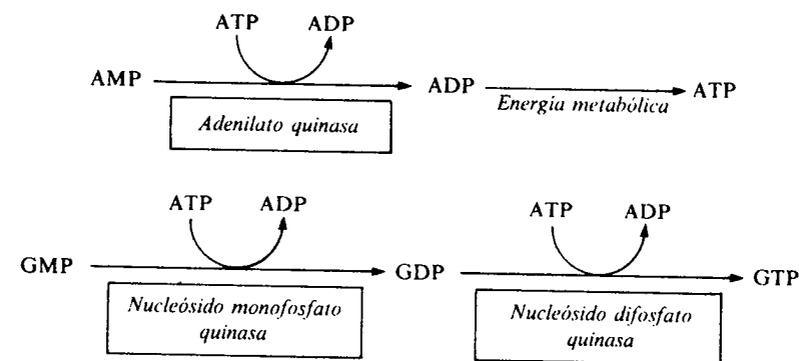


Figura 32.11. Síntesis de ATP y GTP a partir de AMP y GMP.

respiratoria. Por su parte, el GMP se fosforila sucesivamente a GDP y GTP en presencia de *nucleósido monofosfato y difosfato quinatas*, hidrolizándose una molécula de ATP en cada paso.

Repasando la secuencia de reacciones que lleva a la síntesis de nucleótidos púricos, puede observarse el importante papel que ejercen los derivados del ácido fólico como donadores de unidades de un átomo de carbono. Precisamente por ello, análogos del ácido fólico tales como la aminopterin y la ametopterina (metotrexato) se comportan como inhibidores de esta vía (así como de la biosíntesis de nucleótidos de timina), bloqueando la síntesis de ácidos nucleicos. Su papel consiste en inhibir de modo competitivo la reducción de dihidrofolato a tetrahidrofolato, con lo que se crea una deficiencia de este último. Son compuestos útiles en experimentos de hibridación y transformación celular, así como en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer. Del mismo modo, análogos de glutamina, tales como la azaserina y el 6-diazo-5-oxonorleucina inhiben las reacciones de aminación en las que dicho aminoácido interviene como donador. La 6-mercaptapurina (usada a veces en la terapia de leucemias agudas) inhibe la síntesis de fosforribosilamina a partir de PRPP, así como la conversión de IMP en AMP, siendo además capaz de incorporarse a los ácidos nucleicos en forma de tioguanosina. La estructura de algunas de estas drogas antineoplásicas aparece en la figura 32.12.

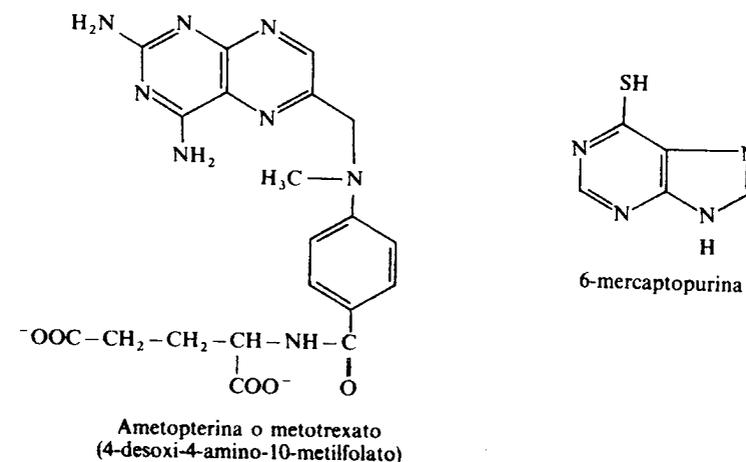


Figura 32.12. Estructura de algunas drogas antineoplásicas que actúan sobre la síntesis de nucleótidos púricos.

Regulación de la biosíntesis de nucleótidos púricos

Dado el papel fundamental de los nucleótidos púricos en la síntesis de ácidos nucleicos, es evidente que su producción debe estar sometida a una fina regulación que permita disponer de concentraciones adecuadas de ellos. Aunque existen variaciones entre los diferentes organismos, puede considerarse un esquema general de control de la vía como el que se representa en la figura 32.13. Los mononucleótidos IMP, AMP y GMP ejercen una retroinhibición (feed-back) sobre la *ATP fosforribosil transferasa* regulando los niveles de PRPP, así como sobre la *amido fosforribosil transferasa*, regulando los niveles de fosforribosilamina. La ramificación de la vía a partir de IMP es otra zona de inhibición feed-back, en la que actúa el AMP como inhibidor de la *adenilosuccinato sintetasa* y el GMP como inhibidor de la *inosina-5'-fosfato deshidrogenasa*. Por otra parte, dado que el ATP se requiere para la síntesis de GMP y que el GTP es necesario para la síntesis de AMP, existe una relación de reciprocidad entre ambas ramas de la vía biosintética, tendiendo a igualarse la producción de ambos tipos de nucleótidos púricos. Además de la inhibición feed-back, muchas enzimas de la vía son reprimidas por bases púricas, nucleósidos y nucleótidos.

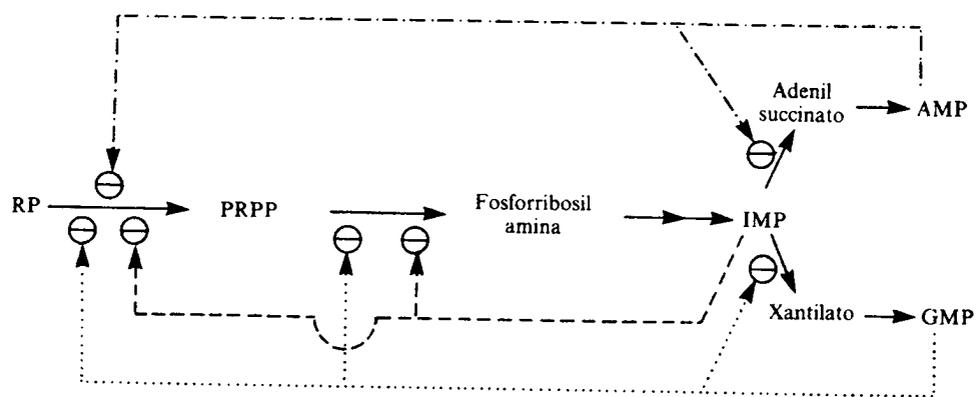


Figura 32.13. Regulación de la biosíntesis *de novo* de los nucleótidos púricos. Los nucleótidos pirimidínicos inhiben también la síntesis de PRPP.

DEGRADACION DE NUCLEOTIDOS PURICOS: RECUPERACION DE PURINAS

Los ácidos nucleicos pueden ser hidrolizados por *endonucleasas* y *exonucleasas* a oligonucleótidos y mononucleótidos que a su vez podrán degradarse a nucleósidos y bases. Diversos tipos de RNA de vida media corta se degradan muy deprisa, en tanto que el DNA lo hace en muy pequeña proporción por tener una gran capacidad de conservación. Por otra parte, los nucleótidos y los nucleósidos procedentes de la hidrólisis de los ácidos nucleicos son recuperados en gran medida para su reutilización, sin ser degradados.

En la recuperación de purinas libres tiene un papel fundamental el PRPP (fig. 32.14) como donador del grupo ribosa-5-fosfato. Cuando reacciona con adenina da lugar a adenilato (AMP) por acción de la *adenina fosforribosil transferasa*. La *hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa*, por su parte, tiene mayor importancia y cataliza dos reacciones en las que interviene también el PRPP, la transformación de guanina en guanilato (GMP) y la de hipoxantina en inosinato

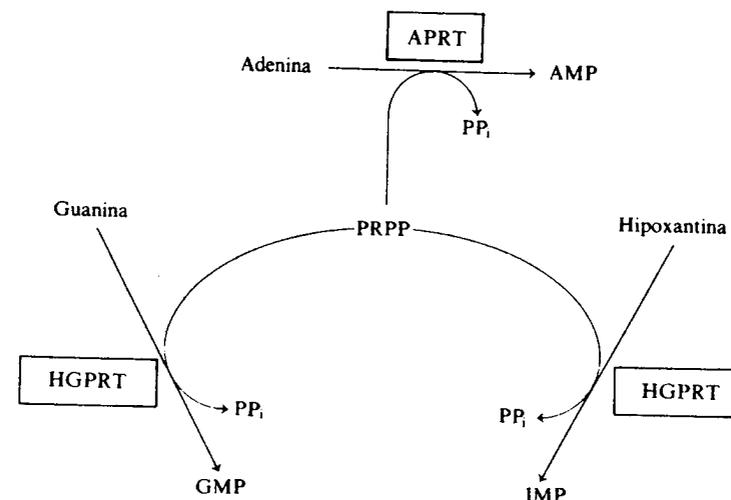


Figura 32.14. Recuperación de purinas. La actividad de la *hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa* (HGPRT) es muy superior a la de la *adenosina fosforribosiltransferasa* (APRT).

(IMP). Ambas enzimas se denominan fosforribosiltransferasas, y actúan especialmente en el sistema nervioso central, donde la capacidad para la biosíntesis *de novo* de purinas es baja.

Otra posibilidad mucho menos importante de recuperación de purinas es su transglicosilación con ribosa-1-fosfato para producir el nucleósido correspondiente (con liberación de P_i) en presencia de *nucleósido fosforilasas*. Así, por ejemplo, la hipoxantina da lugar a inosina. Este tipo de reacciones fue puesto ya de manifiesto por Kalckar en 1947.

La degradación de los nucleótidos púricos procedentes de los ácidos nucleicos endógenos o de la dieta exige su hidrólisis previa a nucleósidos y, por fin, a bases púricas libres (fig. 32.15). El AMP, la adenosina y la adenina pueden transformarse por acción de las correspondientes *desaminasas* en IMP, inosina e hipoxantina,

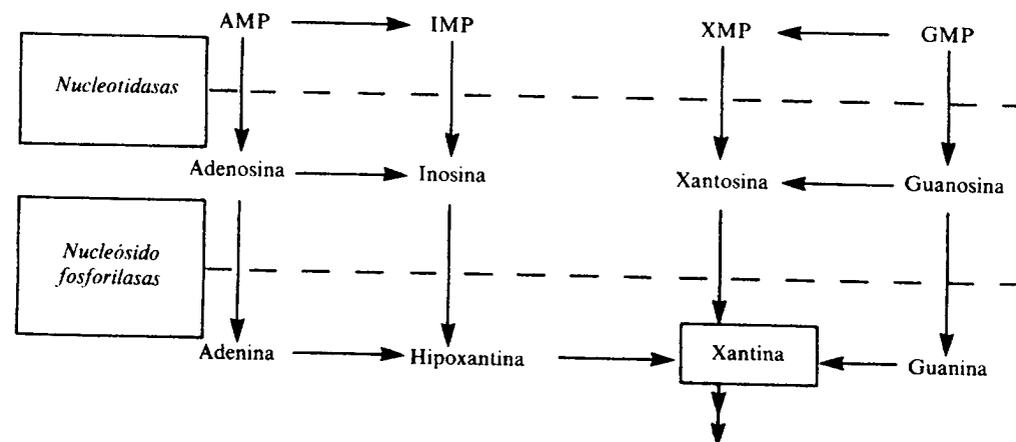


Figura 32.15. Degradación de nucleótidos púricos a sus bases correspondientes.

respectivamente; de modo similar, el GMP, la guanosina y la guanina dan lugar a XMP, xantosina y xantina. Por otra parte, la acción de *nucleotidasas* sobre los nucleótidos da lugar a nucleósidos que, a su vez, son atacados por *nucleósido fosforilasas* liberando las bases y la ribosa-1-fosfato (cuando se trata de ribonucleótidos) o la desoxirribosa-1-fosfato (en el caso de desoxirribonucleótidos).

Las bases púricas libres deben convertirse primero en xantina para ser degradadas (fig. 32.16). Para ello, la guanina es desaminada por la *guanasa* y la adenina por la *adenosina desaminasa* a hipoxantina que, a su vez, es oxidada a xantina por acción de la *xantina oxidasa* en una reacción que requiere oxígeno molecular. Esta enzima es una flavoproteína citoplasmática que contiene hierro no hemático y molibdeno, siendo también responsable de la oxidación subsiguiente de xantina a ácido úrico. El H_2O_2 obtenido en las dos reacciones se descompondrá después en H_2O y O_2 por acción de la *catalasa*.

El ácido úrico es el producto final de la degradación de las purinas en el hombre y en la mayoría de los primates (organismos uricotélicos) y es excretado como urato en la orina junto con pequeñas cantidades de hipoxantina y xantina. En la orina humana se eliminan a diario 0,4-0,8 g de urato, dependiendo de la dieta y de determinadas hormonas (aumenta la excreción tras la administración de ACTH o de 11-OH esteroides). Un caso particular lo constituye el perro dálmata que, aunque es capaz de degradar ácido úrico, lo elimina en gran parte por la orina debido a una falta de reabsorción en los túbulos renales. El alopurinol, un análogo sintético de la hipoxantina, inhibe competitivamente a la *xantina oxidasa*, impidiendo así la formación de ácido úrico; por ello se utiliza el alopurinol en el tratamiento de la gota, lográndose así que estos enfermos excreten hipoxantina y xantina. Esta enfermedad afecta fundamentalmente a los varones, con una frecuencia próxima al 1,5 por 100 a los cuarenta años, y cursa con acumulación de cristales de urato sódico en articulaciones y riñón. Estos cristales son fagocitados por leucocitos, originándose inflamaciones particularmente dolorosas que suelen iniciarse en la base del dedo pulgar del pie. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que una situación de hiperuricemia no lleva necesariamente a la aparición de gota.

Excluidos el hombre y algunos primates, el resto de los mamíferos poseen *uricasa*, por lo que oxidan el ácido úrico a alantoína, que es su producto de excreción. En peces teleósteos, la degradación prosigue hasta ácido alantoico, producto de hidratación de la alantoína por acción de la enzima *alantoinasa*. Los demás peces y los anfibios son animales ureotélicos, puesto que hidrolizan el ácido alantoico en presencia de *alantocasa*, originando ácido glioxílico y dos moléculas de urea, que es su producto de excreción.

Un caso particular lo constituyen las aves y los reptiles terrestres, todos ellos uricotélicos ya que eliminan una orina ácida en la que el ácido úrico es el principal producto nitrogenado de excreción. El nitrógeno amínico se elimina en estos animales preferentemente en forma de ácido úrico y no como urea, mediante la síntesis de purinas y su degradación posterior a urato. Es una manera de retener agua debido a la baja solubilidad del urato ($pK_a = 5,4$) en medio ácido, al que acompañará poca agua en su eliminación por orina, lo que no ocurriría si se excretara igual cantidad de urea, muy soluble en agua.

ALTERACIONES PATOLOGICAS DEL METABOLISMO DE LAS PURINAS

El metabolismo de las purinas ofrece un amplio cuadro de disfunciones enzimáticas que son causa de diversas enfermedades de carácter hereditario. Son nueve

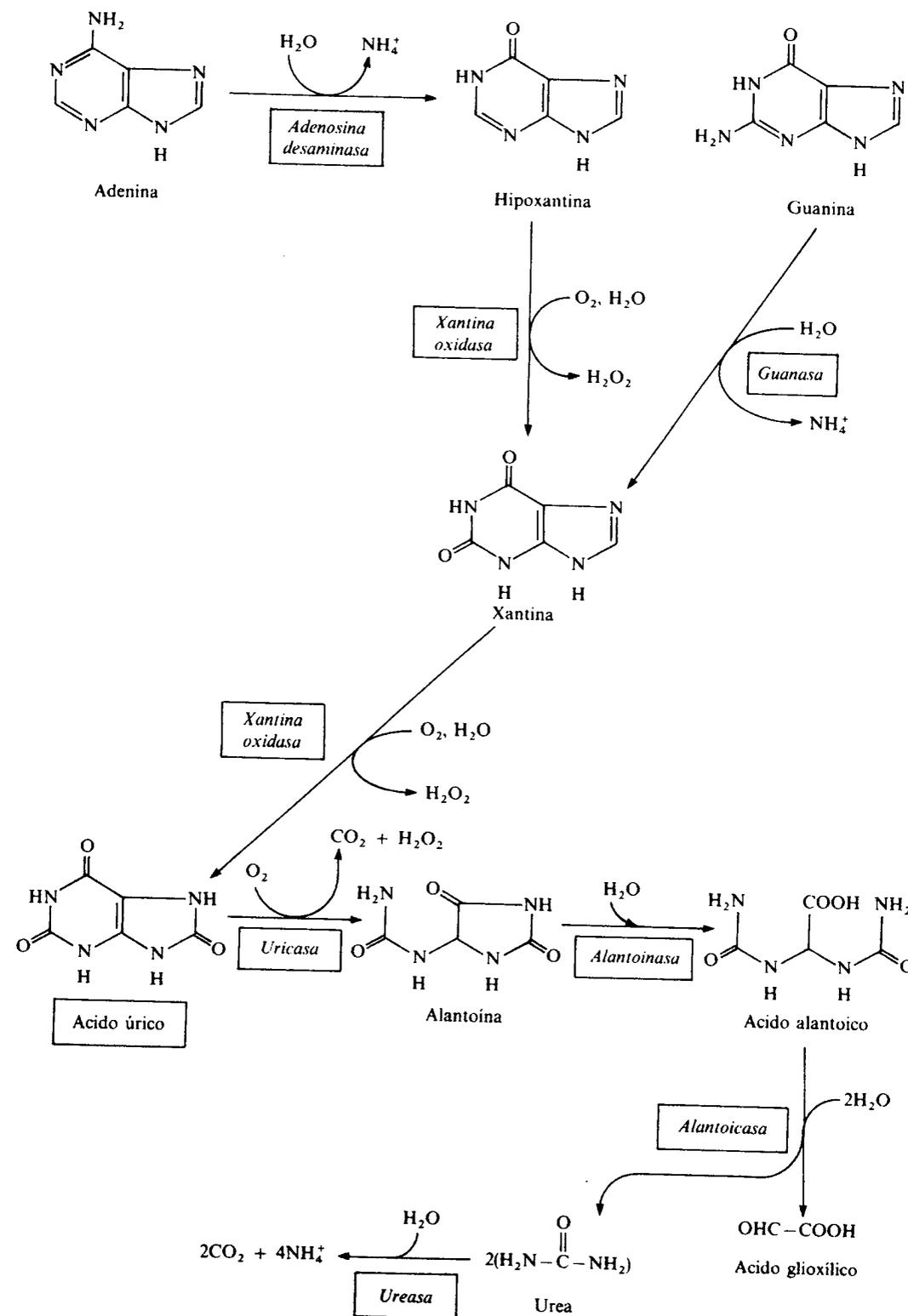


Figura 32.16. Degradación de bases púricas. El hombre y los demás primates finalizan la vía en ácido úrico, eliminándolo por orina como urato.

al menos los defectos enzimáticos conocidos hasta la fecha, encontrándose casi todos en las vías catabólicas o de recuperación de las purinas. En la figura 32.17 se recogen todos ellos, junto con una breve relación de sus principales características.

El *síndrome de Lesch-Nyhan* se transmite como un carácter recesivo que sólo aparece en niños varones. Se debe a una grave deficiencia de *hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa*, una enzima codificada por un gen situado en el cromosoma X e implicada en la recuperación de bases púricas antes de que sean convertidas a xantina y ácido úrico para su eliminación por la orina. Paradójicamente, estos pacientes sintetizan *de novo* un exceso de nucleótidos púricos, debido proba-

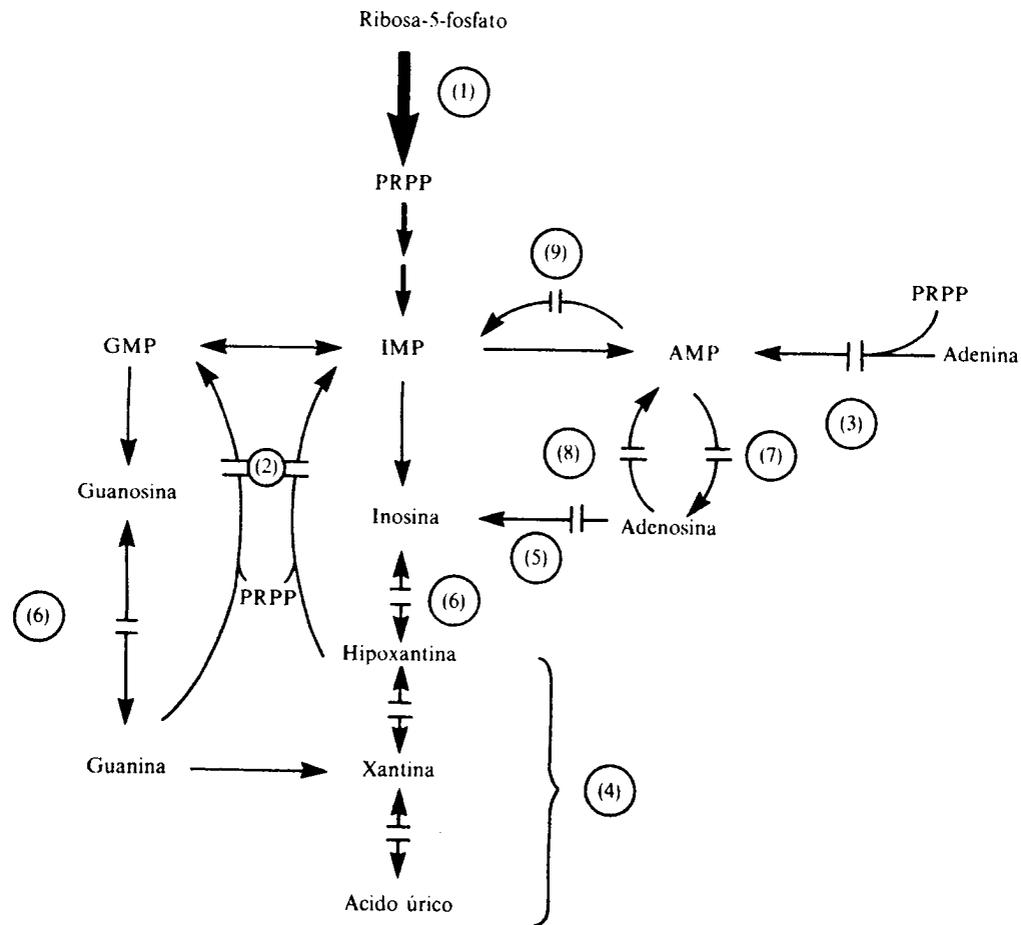


Figura 32.17. Defectos enzimáticos del metabolismo de las purinas en el hombre. (1), aumento de actividad de la *ATP fosforribosil transferasa* en pacientes con hiperuricemia y gota; (2) deficiencia severa de *hipoxantina guanina fosforribosil transferasa* en niños con síndrome de Lesch-Nyhan, y parcial en pacientes con hiperuricemia y gota; (3), deficiencia de *adenina fosforribosil transferasa* en pacientes con cálculos renales de 2,8-dihidroxiadenina; (4), deficiencia de *xantina oxidasa* en pacientes con xantínuria, que pueden presentar cálculos y cristales de xantina en el tracto urinario y el músculo, respectivamente; (5), deficiencia de *adenosina desaminasa* asociada con inmunodeficiencia combinada severa; (6), deficiencia de *purin-nucleósido fosforilasa* asociada con alteración de células T; (7), deficiencia de *purina-5'-nucleotidasa* en linfocitos de pacientes con agammaglobulinemia, que puede ser secundaria a pérdida de células B; (8), deficiencia de *adenosina quinasa* (caracterizada sólo en líneas cultivadas de linfoblastos humanos); (9), deficiencia de *mioadenilato desaminasa*, observada en algunos pacientes que presentan debilidad y calambres tras ejercicio intenso, pero no aumento de amoníaco en sangre venosa.

blemente a la acumulación de PRPP provocada por el defecto enzimático. Poco se puede hacer por estos enfermos, que a los dos o tres años de edad empiezan a mostrar una tendencia a la automutilación, mordiendo los dedos, labios y lengua, y comportándose agresivamente; presentan además graves alteraciones neurológicas y desarrollan cálculos renales de ácido úrico debido a una alta producción de éste, lo que puede conducirles eventualmente a padecer de gota. El tratamiento con alopurinol bloquea la actividad *xantina oxidasa*, consiguiéndose reducir los altos niveles de ácido úrico, pero no es efectivo sobre la elevada síntesis *de novo* de purinas, que es la responsable de los síntomas neurológicos. La severidad de la expresión clínica de este síndrome está relacionada con la cantidad residual de enzima presente en el paciente, habiéndose comprobado que tan sólo el 1 por 100 de la concentración normal de la enzima en eritrocitos es suficiente para que no haya retraso mental. Puede detectarse en las primeras etapas de la gestación y, recientemente, se han podido normalizar *in vitro* células cultivadas de estos pacientes mediante técnicas de ingeniería genética.

La *xantínuria* clásica es una enfermedad hereditaria de tipo autosómico recesivo causada por deficiencia de *xantina oxidasa*. Los pacientes no son capaces de formar ácido úrico, por lo que excretan de forma predominante hipoxantina y xantina por la orina. Dado que la xantina es menos soluble que el ácido úrico, estos enfermos desarrollan cálculos de xantina en el tracto urinario, lo que puede prevenirse aumentando la ingesta de líquidos y suministrando una dieta pobre en purinas. Algunos de estos pacientes presentan simultáneamente una deficiencia de *sulfito oxidasa*, que es la enzima responsable de convertir el sulfito inorgánico a sulfato antes de su excreción. Ambas enzimas requieren molibdeno como cofactor, el cual no existe en los individuos afectados. Por esta razón presentan trastornos neurológicos severos, hipouricemia, hipouricosuria, excreción urinaria elevada de sulfocisteína, taurina y tiosulfato, y baja de sulfato.

La deficiencia de *adenosina desaminasa* es una enfermedad rara (frecuencia inferior a 1/100.000) debida a una mutación en el cromosoma 20, y responsable de la tercera parte de los casos de inmunodeficiencia combinada severa no ligada al sexo. Los pacientes producen gran cantidad de adenosina y desoxiadenosina, que son transformadas rápidamente en ATP y dATP. Este último se comporta precisamente como inhibidor de la proliferación de células *in vitro*. Aparecen alteraciones neurológicas en algunos enfermos, y consecuencias del estado inmunodeficiente, tales como infecciones recurrentes por bacterias, virus, hongos y protozoos desde las primeras semanas de vida. Estas alteraciones llevan indefectiblemente a la muerte, a menos que estos pacientes severamente linfopénicos sean tratados con trasplante de médula ósea procedente de donantes histocompatibles o reciban, al menos, transfusiones repetidas de eritrocitos como fuente de *adenosina desaminasa*.

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PIRIMIDÍNICOS Y SU REGULACION

La biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos presenta una diferencia esencial con respecto a la de los púricos, en el sentido de que se forma primero el anillo de la base y después se incorpora el resto de ribosa fosfato a partir de PRPP. Los precursores de los nucleótidos pirimidínicos son también relativamente simples (fig. 32.18): aspartato, carbamil fosfato y PRPP.

La vía biosintética (fig. 32.19) comienza con la formación de carbamil fosfato, que es también precursor en el ciclo de la urea. Sin embargo, mientras que éste

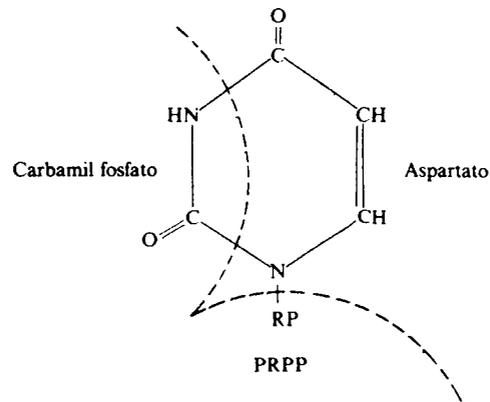


Figura 32.18. Procedencia de los átomos del UMP.

tiene lugar en las mitocondrias hepáticas, la biosíntesis de pirimidinas se realiza prácticamente en todos los tejidos en el citoplasma. Además, el carbamil fosfato que se utiliza en el ciclo de la urea se forma utilizando NH_4^+ como dador de nitrógeno, mientras que el de la biosíntesis de pirimidinas es captado del grupo $\gamma\text{-NH}_2$ de la glutamina, que interacciona con HCO_3^- en una reacción catalizada por la *carbamil fosfato sintetasa* en la que se consumen dos moléculas de ATP. Este parece ser el paso limitante en mamíferos, ejerciendo el producto, UTP, una

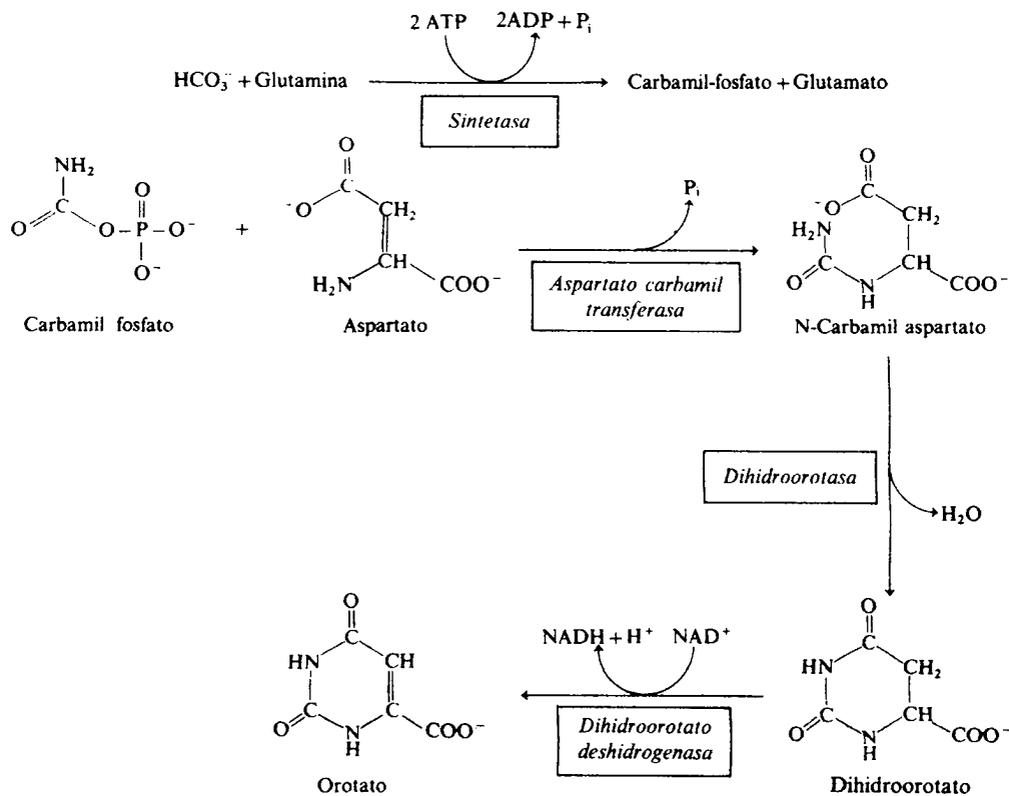


Figura 32.19. Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos: etapas hasta la formación de orotato.

inhibición feed-back sobre la enzima, mientras que el PRPP se comporta como activador. La reacción siguiente es la condensación de carbamil fosfato y aspartato, formándose N-carbamil aspartato en presencia de *aspartato carbamil transferasa* (antes denominada *aspartato transcarbamilasa*). Esta enzima ha sido bien estudiada en bacterias, en las que su acción catalítica es precisamente la etapa limitante de la vía. Está regulada alostéricamente por el producto final, el CTP, que se comporta como inhibidor feed-back, mientras que el ATP desempeña el papel de activador. Un segundo lugar de control en bacterias es la *carbamil fosfato sintetasa*, sobre la que el UMP ejerce también una retroinhibición.

Formado ya el N-carbamil aspartato, su ciclación da lugar al anillo pirimidínico al producirse dihidroorotato en presencia de la enzima *dihidroorotasa*. En mamíferos, las tres primeras enzimas de la vía (*carbamil fosfato sintetasa*, *aspartato transcarbamilasa* y *dihidroorotasa*) se encuentran unidas covalentemente en una sola proteína de 200.000 daltons, por lo que se trata de una enzima multifuncional. En cambio, las enzimas bacterianas responsables de la síntesis de pirimidinas se encuentran disociadas, actuando de modo individual. Finalmente, el dihidroorotato da lugar al orotato, en presencia de *dihidroorotato deshidrogenasa*, que es una metaloflavoproteína dependiente de NAD^+ .

Tras la constitución del anillo pirimidínico ocurren una serie de transformaciones tendentes a sintetizar los correspondientes nucleótidos (fig. 32.20). La *orotato fosforribosil transferasa* da lugar a orotidina-5'-fosfato a partir de orotato y PRPP, a lo que sigue una descarboxilación irreversible catalizada por la *orotidina-*

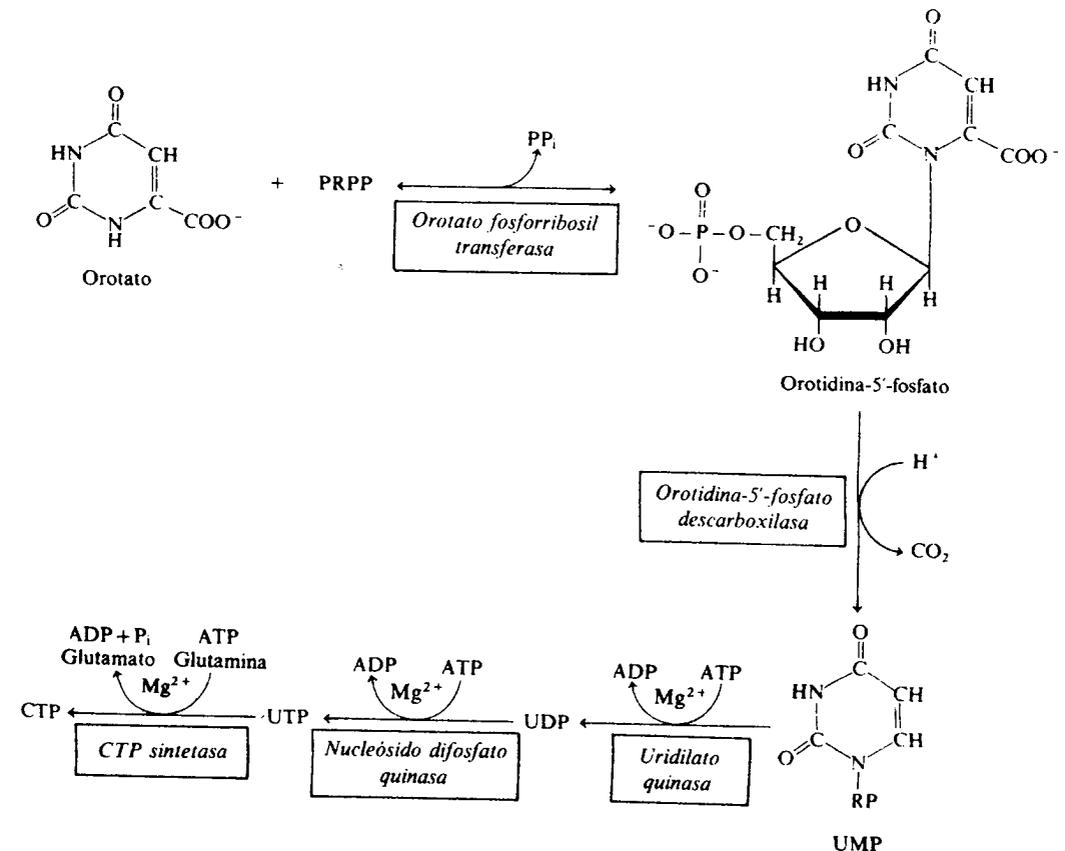


Figura 32.20. Biosíntesis de nucleótidos pirimidínicos: etapas a partir de orotato.

5'-fosfato descarboxilasa, que rinde finalmente UMP. Este sufre una fosforilación: a UDP a expensas del ATP por acción de la *uridilato quinasa*, para formar UTP mediante una nueva hidrólisis de ATP en presencia de *nucleósido difosfato quinasa*. Debe observarse que el paso de UMP a UDP está gobernado por una fosforilasa específica, al contrario que la transformación de UDP a UTP. Por último, se produce CTP por aminación de UTP a expensas de glutamina y en presencia de *CTP sintetasa*, con hidrólisis de ATP (el GTP se comporta como activador alostérico). En mamíferos la glutamina es la fuente de nitrógeno para esta reacción, mientras que en bacterias es el NH_4^+ .

DEGRADACION DE NUCLEOTIDOS PIRIMIDINICOS

Las vías catabólicas de los nucleótidos pirimidínicos no están aún totalmente definidas. Como en el caso de los nucleótidos púricos, incluyen reacciones de desfosforilación, desaminación e hidrólisis de enlaces glicosídicos; aún más, muchas fosfatasa actúan tanto sobre nucleótidos púricos como pirimidínicos. Del mismo modo, los nucleótidos de pirimidina deben ser hidrolizados liberando las bases correspondientes y el resto hidrocarbonado.

El catabolismo de citosina y de uracilo en mamíferos (fig. 32.21) comienza con la desaminación de citosina a uracilo por acción de la correspondiente *citocina desaminasa*. El uracilo es reducido entonces a dihidrouracilo mediante la *dihidropirimidina deshidrogenasa*, una enzima dependiente de NADP^+ , abriéndose después el anillo y formándose β -ureidopropionato en presencia de *dihidropirimidina ciclohrolasa*. La *ureido propionasa* proporciona finalmente β -alanina (componente de dipéptidos tales como la carnosina y la anserina) que puede ser transformada por transaminación en semialdehído malónico con la formación del correspondiente derivado de CoA.

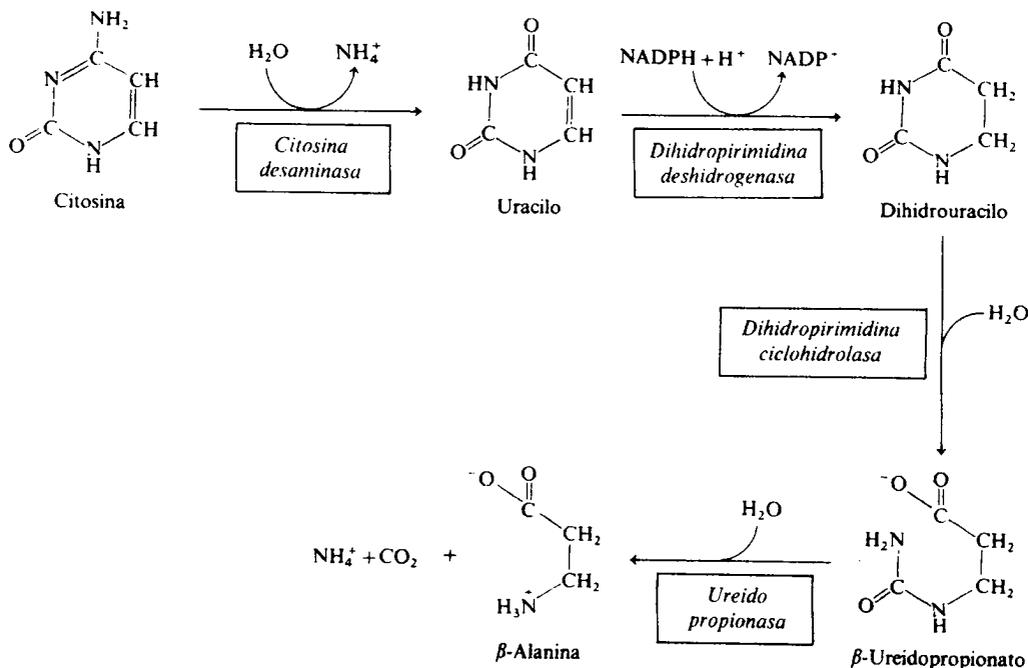


Figura 32.21. Degradación de citosina y uracilo.

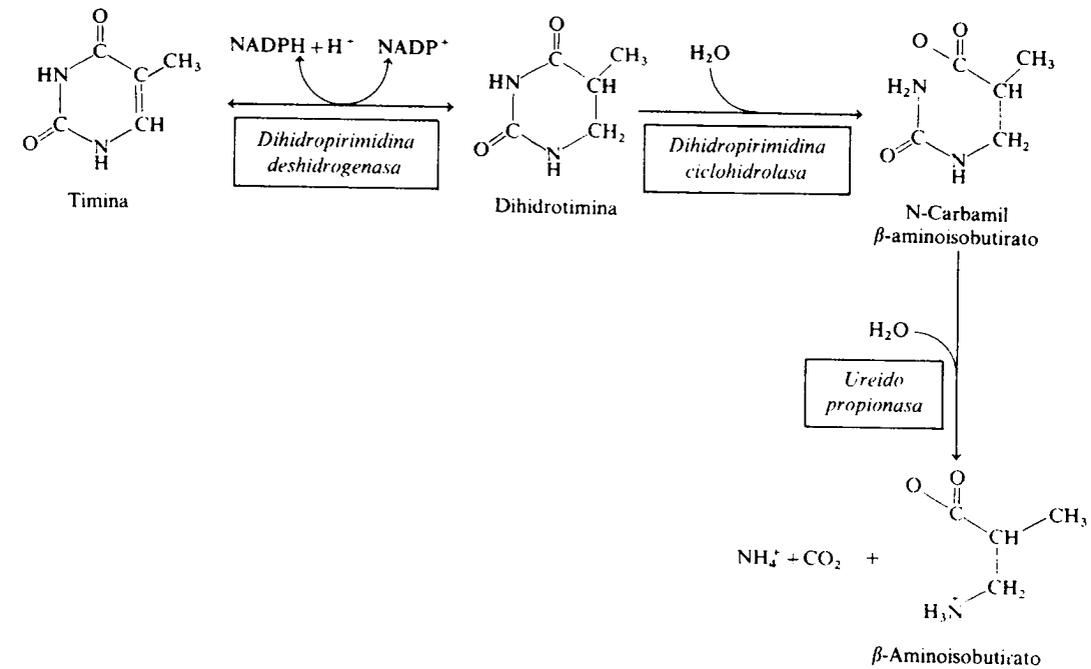


Figura 32.22. Degradación de timina.

La degradación de timina sigue una ruta similar (fig. 32.22) a la de las dos bases anteriores: reducción al dihidroderivado, apertura del anillo y eliminación de NH_4^+ y CO_2 , liberando β -aminoisobutirato que puede transformarse finalmente en semialdehído metilmalónico y metilmalónil CoA, precursor de succinil-CoA que es utilizable en el ciclo del ácido cítrico. De todos modos, la degradación de β -aminoisobutirato es tan lenta que dicho producto puede eliminarse por la orina. Este hecho es muy frecuente en humanos, especialmente en los orientales de los que alrededor del 90 por 100 lo excretan en cantidades relativamente altas sin consecuencias negativas.

ALTERACIONES PATOLOGICAS DEL METABOLISMO DE LAS PIRIMIDINAS

El conocimiento de las alteraciones del metabolismo de las pirimidinas en el hombre es mucho más limitado que el de las purinas. La única enfermedad bien descrita hasta la fecha es la *aciduria orótica*, un raro defecto del que aún no se han llegado a establecer con certeza más de una decena de casos. Es una alteración genética de tipo autosómico recesivo debida a una deficiencia severa de *orotato fosforribosiltransferasa* y *orotidina-5'-fosfato descarboxilasa*, por lo que los niños afectados no pueden sintetizar nucleótidos pirimidínicos y excretan grandes cantidades de orotato por orina, presentando anemia megaloblástica, leucopenia y retraso mental. Estos síntomas clínicos pueden revertirse a la normalidad instaurando en las primeras semanas de vida una administración suficiente de uridina. Por otra parte, aparece aciduria orótica en pacientes con hiperamonemia debida a alteraciones de las enzimas mitocondriales del ciclo de la urea; en estos casos, las altas concentraciones de carbamil fosfato mitocondrial hacen que salga al citoplasma y se transforme en nucleótidos primidínicos y en su precursor, el orotato.

Se han descrito también algunos casos de deficiencia de *pirimidina-5'-nucleotidasa*, un defecto genético recesivo que da lugar a anemia hemolítica y esplenomegalia, con acumulación de nucleótidos pirimidínicos especialmente en los eritrocitos.

BIOSINTESIS DE DESOXIRRIBONUCLEOTIDOS Y SU REGULACION

Para la síntesis de DNA son precisos desoxirribonucleótidos, los cuales se forman por reducción del resto de ribosa a desoxirribosa en los ribonucleósido difosfatos. La reducción del C₂ de la ribosa (fig. 32.23) es catalizada por la *ribonucleótido reductasa* o *nucleósido difosfato reductasa*, una enzima que contiene hierro no hemático y radicales bencilo libres, actuando el NADPH como fuente de átomos de H a través de tiorredoxina, un polipéptido de 11.700 daltons, que contiene un resto de cistina en su cadena de 108 aminoácidos. La *tiorredoxina reductasa* es una flavoproteína de 68.000 daltons que cataliza la reducción por NADPH de tiorredoxina. Luego, se oxidan de nuevo los grupos sulfhidrilo libres de la tiorredoxina oxidada en la reacción catalizada por la *ribonucleótido reductasa*. Se ha identificado otro sistema transportador de poder reductor desde el NADPH hasta la *ribonucleótido reductasa*, integrado por glutatión y glutarredoxina, en el que la transferencia se realiza también a través de grupos sulfhidrilo.

La *ribonucleótido reductasa* de *E. coli* tiene dos átomos de hierro y dos pares de subunidades no idénticas ($\alpha\alpha'\beta_2$); la subunidad α tiene un peso molecular de 80.000 daltons y grupos sulfhidrilo en el sitio activo que actúan como dadores intermediarios de electrones en la reducción de la ribosa; la subunidad α' tiene igual estructura que la α , excepto en el aminoácido N-terminal; la subunidad β tiene un peso molecular de 39.000 daltons y posee los sitios de enlace para los

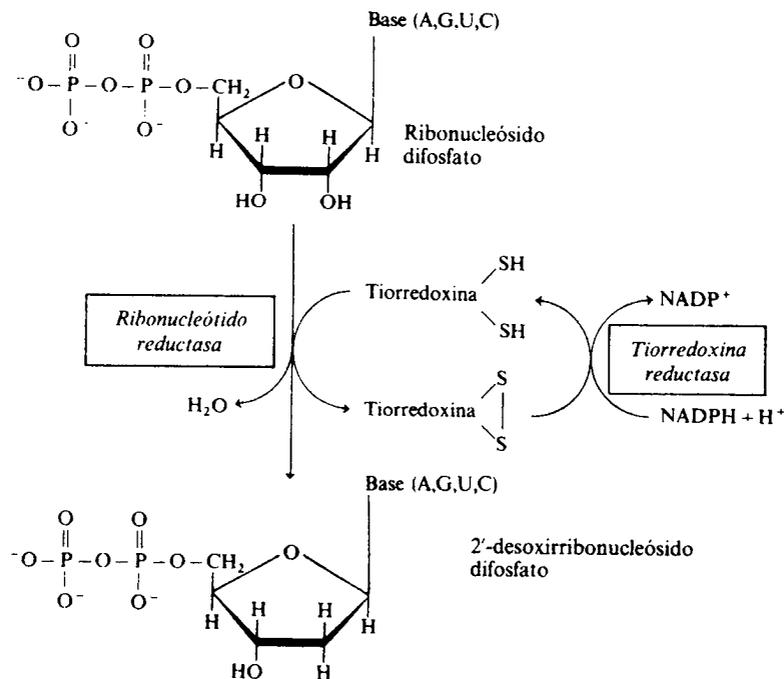


Figura 32.23. Biosíntesis de desoxirribonucleótidos.

ribonucleótidos y efectores alostéricos. La *ribonucleótido reductasa* de mamíferos tiene una estructura similar.

La *ribonucleótido reductasa* reduce los cuatro nucleótidos, ADP, GDP, CDP y UDP, a los desoxirribonucleótidos correspondientes, que son fosforilados por quinastas a trifosfatos. De ellos, el dATP, el dGTP y el dCTP son utilizados en la síntesis de DNA, mientras que el dUTP es hidrolizado a dUMP por acción de una *dUTPasa*, con lo que se evita que el dUTP participe en la síntesis de DNA.

El cuarto desoxirribonucleótido, el dTTP, necesario para dicho proceso, se obtiene a partir de dUMP, que procede no sólo del dUDP sino también de desaminación del dCMP (fig. 32.24). La *timidilato sintasa* cataliza la donación de un grupo metilo al dUMP, produciéndose dTMP que da lugar a dTTP por dos fosforilaciones sucesivas a expensas de ATP y en presencia de las correspondientes quinastas. Por su parte, el dihidrofolato se reduce nuevamente a tetrahydrofolato por acción de la *dihidrofolato reductasa*. Esta reacción es inhibida por los análogos del ácido fólico, aminopterina y ametopterina (metotrexato), como ya se comentó antes, mientras que el fluorouracilo y la fluorodesoxiuridina inhiben la actividad de la *timidilato sintasa*, por lo que estos fármacos interfieren la síntesis de DNA y son útiles en el tratamiento de diversos tipos de cáncer.

Existe un fino mecanismo de regulación de los niveles de desoxirribonucleósidos trifosfato necesarios para asegurar una correcta biosíntesis del DNA (fig. 32.25). Sin duda, la *ribonucleótido reductasa* ejerce un papel de máxima importancia a este respecto, exhibiendo una baja actividad en ausencia de efectores alostéricos y actuando en su presencia de modo que se establezca un acoplamiento entre las reducciones de nucleótidos púricos y pirimidínicos. Así, el ATP estimula la reducción de los nucleótidos pirimidínicos CDP y UDP a dCDP y dUDP; después, el dCDP da lugar a la síntesis de dTTP que, a su vez, estimula la

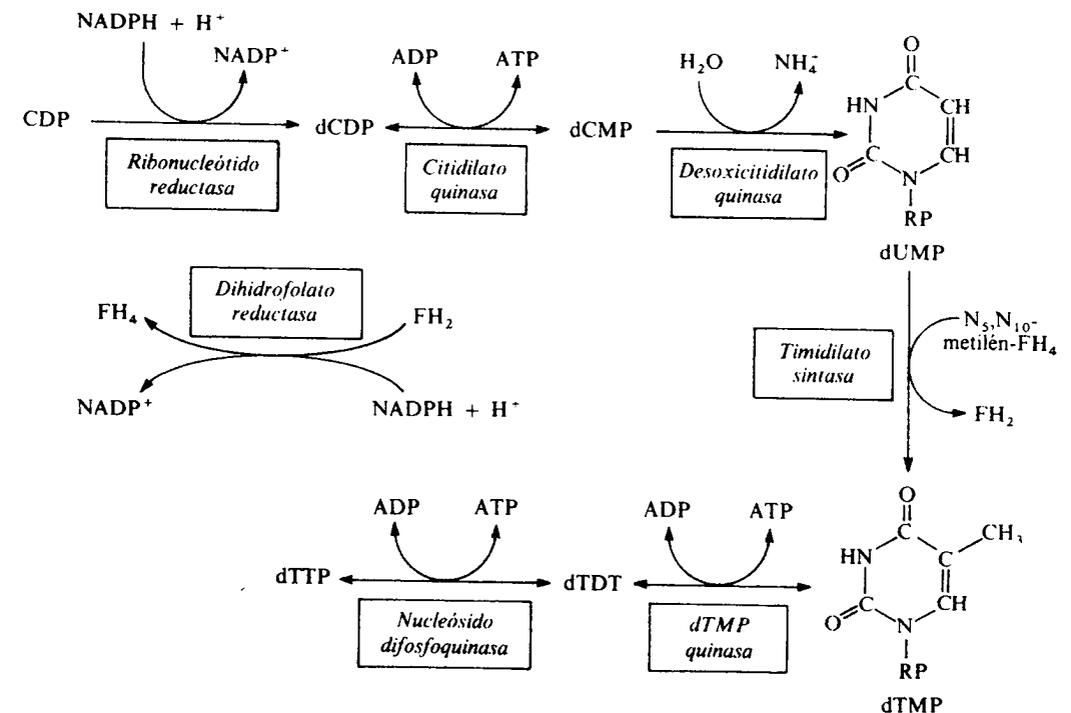


Figura 32.24. Biosíntesis de dTTP.

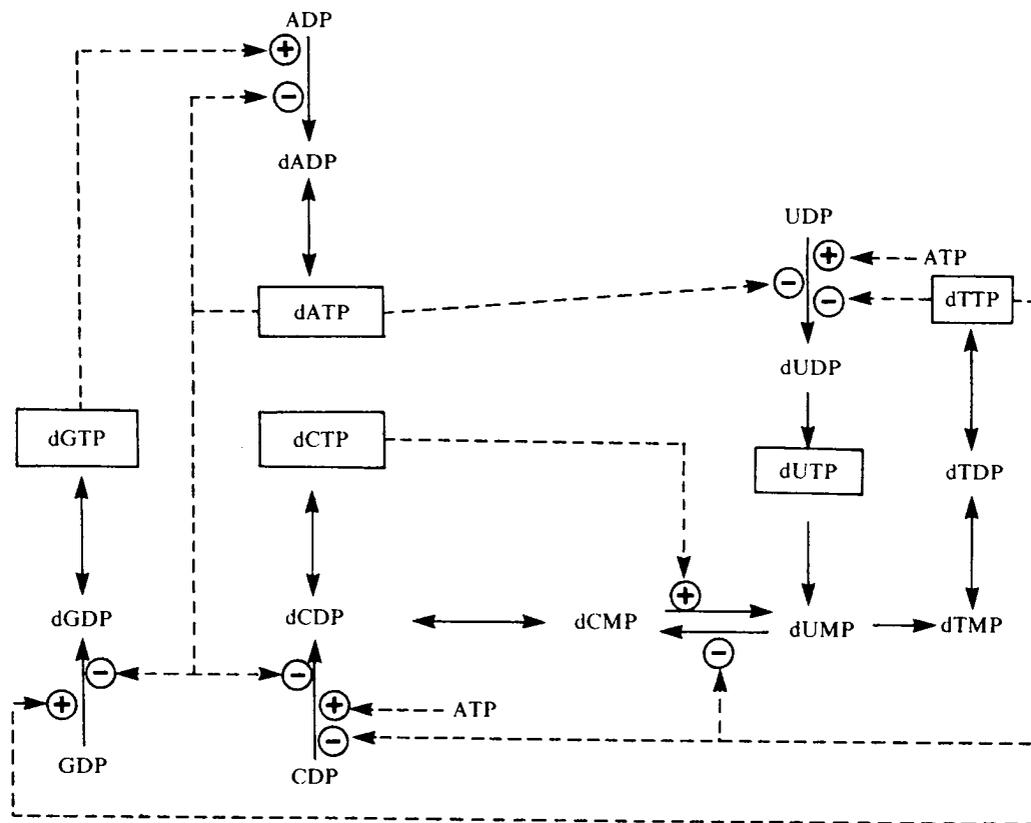
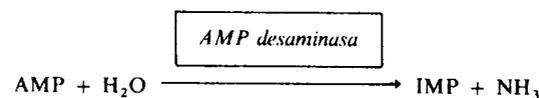


Figura 32.25. Regulación de la síntesis de desoxirribonucleótidos.

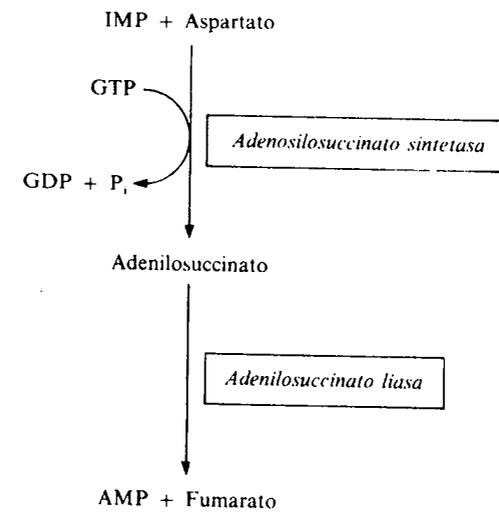
reducción de GDP a dGDP. El correspondiente dGTP estimula por su parte la reducción de ADP a dADP. A su vez, el dCTP estimula la desaminación de dCMP, aumentando la síntesis de dTTP. Por último, cuando los niveles de dATP aumentan, se inhibe la *ribonucleótido reductasa*, bloqueándose todos los procesos de reducción.

CICLO DEL PURIN NUCLEOTIDO

Es un hecho conocido desde hace casi setenta años que el trabajo muscular se acompaña de la producción de NH₃, fundamentalmente a través de la reacción:



Sin embargo, la cantidad de NH₃ que se produce en el músculo es proporcional al trabajo realizado, mientras que la desaminación del AMP no está directamente implicada en la contracción muscular. Estos hechos llevaron a Lowenstein en 1971 a proponer una vía para la regeneración de AMP a partir de IMP:



Este ciclo de sustratos en el que las concentraciones de AMP e IMP no varían se ha descrito posteriormente en diversos tejidos, recibiendo la denominación de *ciclo del purin nucleótido* (fig. 32.26). El resultado neto del ciclo es la desaminación del aspartato e, indirectamente, de otros aminoácidos por transaminación previa con oxaloacetato. En cuanto a su relevancia fisiológica, el ciclo parece tener importancia en músculo y cerebro, actuando el NH₃ producido como regulador de la glucólisis. Por el contrario, aunque el hígado posee las enzimas del ciclo, no parece que este órgano produzca niveles significativos de NH₃ por esta vía.

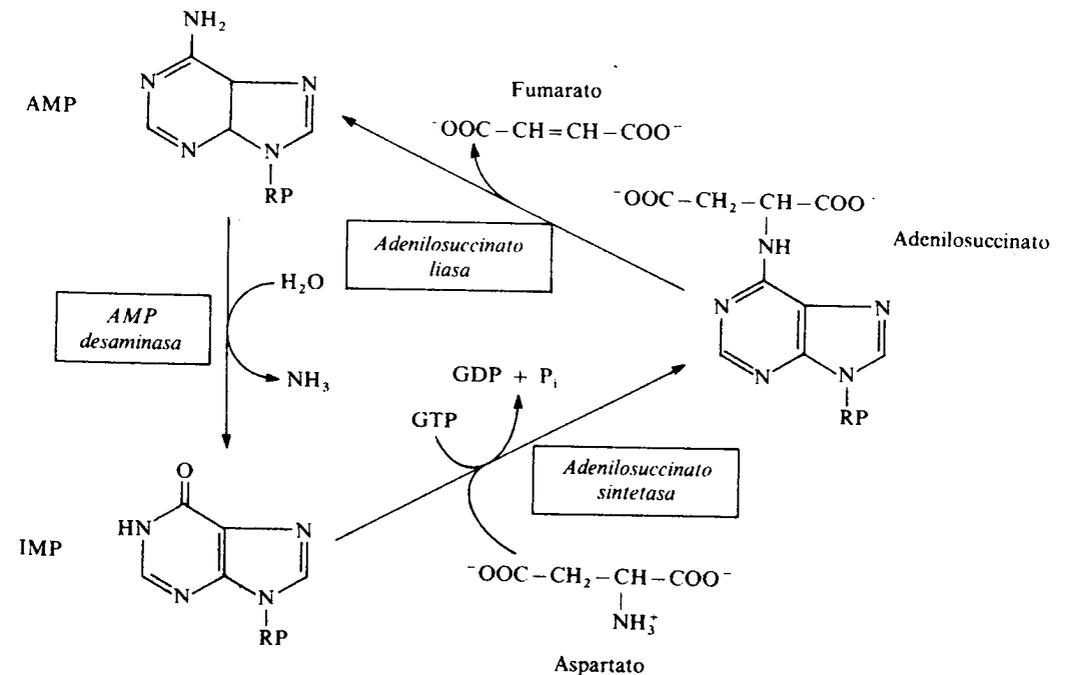


Figura 32.26. Ciclo del purin nucleótido. El fumarato podría reconvertirse en aspartato mediante el ciclo del ácido cítrico (a malato y oxalacetato) y una *aminotransferasa*.

TEXTOS DE CONSULTA

- Adams, R. L. P.; Burdon, R. H.; Campbell, A. M.; Leader, D. P., y Smellie, R. M. S.: *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, 9.^a ed., págs. 180-204, Chapman and Hall, Londres, 1981.
- Boss, G. R., y Seegmiller, J. E.: «Genetic defects in human purine and pyrimidine metabolism», *Ann. Rev. Genet.*, 16:297-328, 1982.
- Distefano, A.; Pizzichini, M.; Resconi, G.; Tabucchi, A.; Leoncini, R., y Marinello, E.: «The hormonal regulation of purine nucleotide turnover», *Ital. J. Biochem.*, 39:216-227, 1990.
- Gerlach, E., y Becker, B. F.: *Topics and Perspectives in Adenosine Research*, Springer Verlag, Berlín, 1987.
- Hirschhorn, R., y Ratech, H.: «Genetic deficiencies of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase and their implications for therapy of leukemias», en *Current Topics in hematology*, págs. 2-37, S. Piomelly y S. Yachmin, editores, Alan R. Liss, Nueva York, 1983.
- Hirschhorn, R.: «Prenatal diagnosis of adenosine desaminase deficiency, purine nucleoside phosphorylase deficiency, and severe combined immunodeficiency of unknown etiology», en *Genetic Disorders of the Fetus*, 2.^a ed., págs. 419-426, Milunsky, A., editor, Plenum Publishing Corp., Nueva York, 1986.
- Itakura, M.; Sabina, R. L.; Heald, P. W., y Holmes, E. W.: «Basis for control of purine biosynthesis by purine ribonucleotides», *J. Clin. Invest.*, 67:994-102, 1981.
- Mainwaring, W. I. P.; Paris, J. H.; Pickering, J. D., y Mann, N. H.: *Nucleic Acid Biochemistry and Molecular Biology*, págs. 48-59, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982.
- Mikanagi, K.; Nishioka, K., y Kelley, W. N.: *Purine and Pyrimidine Metabolism in Man*, Plenum Publishing Corporation, Nueva York, 1989.
- Nyhan, W. L.; Thompson, L. F., y Watts, R. W. E.: *Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, part A: Clinical Aspects Including Molecular Genetics*, Plenum Press, Nueva York, 1986.
- Seegmiller, J. E.: «Disorders of purine and pyrimidine metabolism. Basic and clinical considerations», en *Contemporary Metabolism*, vol. 2, págs. 343-407, N. Freinkel, editor, Plenum Medical Book Co., Nueva York, 1982.
- Shih, V. E.; Mendell, R., y Milunsky, A.: «Disorders of the metabolism of aminoacids and related compounds», en *Genetic Disorders and the Fetus*, 2.^a ed., págs. 271-318, Milunsky, A., editor, Plenum Publishing Corp., Nueva York, 1986.
- Stanbury, J. B.; Wyngaarden, J. B.; Fredrickson, D. S.; Goldstein, J. L., y Brown, M. S.: «Disorders of purine and pyrimidine metabolism», en *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 5.^a ed., págs. 1041-1248, McGraw-Hill, Nueva York, 1983.
- Taira, K.; Fierke, C. A.; Chen, J. T.; Johnson, K. A., y Benkovic, S. J.: «On interpreting the inhibition of and catalysis by dihydrofolate reductase», *Trends Biochem. Sci.*, 139:275-278, 1987.

Índice analítico

- Abel, 1177
Abetalipoproteinemia, 585, 589, 700
 recesiva, 700
Abrina, 1007, 1009
Acat, 686
Acción hormonal, 1128-1130
Acción de masas
 ley de, 18-23
 razón de
 aparente, 242
Acetil-CoA, 593-607
Acetil-CoA Acil transferasa, 627, 637
Acetil-CoA carboxilasa, 593, 596-598, 602-603
 efector alostérico de la, 596
 formas de la, 596
 regulación de la, 596-597
Acetil-CoA carnitina transferasa, 104, 593, 630-632
 transferasa I, 626
 transferasa II, 626-627
Acetil-CoA transacilasa, 598
Acetilcolina, 1434-1436
 canal activado por, 1115
 canal receptor de, 1114
 hidrólisis de, 1435
 receptor nicotínico de, 1147-114
 estructura del, 1115-1116
 topología del, 1115-1116
 síntesis de, 1435
Acetilcolinesterasa, 1050, 1435-1436
Acetil-fosfato, estructura del, 253
Acetilglutamato sintasa, 875, 879
 deficiencia de, 881
N-acetil heparina (véase Heparina sulfato)
N-acetilhexosamina, 733
 deficiencia de, 733
Acetil transferasa (véase Acetil-CoA transacilasa)
Acetoacetato, 636-641
Acetoacetil-CoA Tiolasa (véase Acetil-CoA Acil transferasa)
Acetona, 636-643
Acidez titulable, 1353-1354
Acido, 17-25
 Acido N-acetil murámico
 estructura del, 386
 papel biológico del, 386
 Acido N-acetilneuramínico (véase Acido siálico), 567
 Acido aldárico, 372-374
 Acido aldónico, 373, 375-376, 395
 Acido alginico, 380
 Acido paminobenzoico, 223
 Acido 2-aminobutanodioico, 35
 Acido γ -aminobutírico (véase Gaba)
 Acido 2-amino-4-carbamilbutanoico, 35
 Acido 2-amino-3-carbamilpropanoico, 35
 Acido aminodetanoico, 35
 Acido 2-amino-3-fenilpropanoico, 35
 Acido 2-amino-5-guanidinopentanoico, 35
 Acido 2-amino-3-hidroxi-butanoico, 35
 Acido 2-amino-3-(4-hidroxifenil) propanoico, 35
 Acido 2-amino-3-hidroxi-propanoico, 35
 Acido 2-amino-3-(1H-imidazol-4-il) propanoico, 35
 Acido 2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoico, 35
 Acido 2-amino-3-mercaptopropanoico, 35
 Acido 2-amino-3-metilbutanoico, 35
 Acido 2-amino-3-metilpentanoico, 35
 Acido 2-amino-4-metilpentanoico, 35
 Acido 2-amino-4-(metiltio) butanoico, 35
 Acido 2-aminopentanodioico, 35
 Acido 2-aminopropanoico, 35
 Acido arabónico, 375
 Acido araquidónico, 735-759
 metabolismo del, 741-756
 Acido ascórbico (véase Vitamina C), 214-215
 función bioquímica del, 169
 estructural del, 214
 Acido metabolismo hepático del, 215
 Acido L-ascórbico, 387
 estructura del, 387
 Acido aspártico, 35, 37, 43, 47, 810
 neurotransmisor, como, 1442-1443
 Acido biliar(es), 660-665
 estructura de, 660
 primarios, 660

secundario, 660
 síntesis de, 660
 regulación de la, 662-663
 Acido bongrécico, 1098
 Acido carbónico, 26-28
 Acido cisteico, 38
 Acido cobirínico, 189
 Acido colánico, 660
 Acido cólico, 660
 Acido concepto, 20
 Acido constante de disociación del, (ka), 21-24
 Acido deoxicólico, 660, 662-663
 Acido L-deshidroascórbico (*véase* Vitamina C), 214-215, 387
 Acido estructura del, 214, 387
 Acido desoxirribonucleico (*véase* DNA)
 Acido 2,6-diaminohexanoico, 35
 Acido 5,8,11,14,17-icosapentaéndico, 739
 Acido 5,8,11,14-icosatetraenoico (*véase* Acido araquidónico)
 Acido 8,11,14-icosatrienoico, 739
 Acido esteárico, 562-563, 565, 576
 Acido fenacetúrico, 623
 Acido fitánico, 636
 Acido fólico, 167
 antagonistas del, 201
 coenzima derivada del, 169
 derivados del, 200
 errores congénitos del metabolismo del, 202-203
 estructura del, 197
 formas activas de la, 168
 fuente natural de, 168
 función bioquímica del, 199-203
 preparado comercial de la, 168
 Acido folínico, 201
 Acido fosfatídico(s), 562-563, 714
 Acido fusídico, 1007, 1009
 Acido galactárico, 374
 Acido galactónico, 375
 Acido galacturónico, 380
 estructura lineal del, 380
 Acido glicocólico, 661-662
 Acido gluicoquenodeoxicólico, 661-662
 Acido glioxílico, ciclo de, 352, 354-355, 633
 Acido glucárico, 374
 Acido glucónico
 D-glucónico, 375
 formación del, 375
 lactosas del, 375
 Acido glucurónico, 380, 402-403
 estructura lineal del, 380
 en la heparina, 408
 papel biológico del, 380
 ruta del, 524-527
 Acido glutámico, 35, 37, 43, 47, 810, 841
 neurotransmisor, como, 1442-1443
 Acido grasos, 557-644
 biosíntesis de, 591-603, 615
 regulación de la, 602-603
 de cadena corta, 576
 significado nutricional, 576
 de cadena larga, 575
 significado nutricional, 576
 de cadena media, 576
 significado nutricional, 576
 captación de los, 584
 catabolismo de los (*véase* β -oxidación)
 contenido en, 575
 desaturación de la cadena de los 606-610
 elongación de la cadena de los,
 en mitocondrias, 606
 en el retículo endoplasmático, 606
 insaturados
 significado nutricional, 576
 oxidación de los, 633-634
 modificación de la cadena de los, 603-610
 oxidación de, 623-636
 regulación de la, 639-642
 α -oxidación, 634-636
 β -oxidación
 mitocondrial, 623-629
 en peroxisomas, 629-633
 w-oxidación de los, 636
 poliinsaturados, peroxidación de los, 636
 como reserva energética, 592
 saturados, significado nutricional, 576
 Acido graso: CoA ligasa, 587
 Acido graso sintasa, 593, 597-603
 estructura de la, 601-602
 funcionamiento de la, 598
 del hígado, dominios de la, 601-602
 de levaduras, 601
 subunidades, 601
 modelo de Lynen, 598
 organización de la, 597
 tipo I, 597
 Acido hexurónico (*véase* Vitamina C), 403
 Acido hialobiurónico, 403
 Acido hialurónico, 385, 403-404, 527
 cartilago en el, 418-424
 distribución, 404
 estructura, 403-404
 función, 407-408
 Acido inosítico (*véase* IMP)
 Acido hipúrico, 623
 Acido L-idúrico, 406
 Acido lignocérico, 565
 Acido linolénico, 605, 608
 Acido linoleico, 562, 575-576, 605, 608, 739
 β -oxidación del, 633, 635
 Acido lipoico, 218-219, 337-338
 Acido litocólico, 660, 662-663
 Acido manárico, 374
 Acido manónico, 375
 Acido manurónico, 380
 estructural lineal del, 380
 Acido mirístico, 576
 Acido múxico (*véase* Acido galactárico)
 Acido neuramínico, 386-387
 estructura del, 386
 Acido nicotínico (*véase* B₃ o vitamina PP), 203-209
 Acido(s) nucleico(s), 6, 926-963
 componentes de los, 926
 Acido oleico, 562, 575-576, 604
 β -oxidación del, 633-634
 Acido orótico, 224

Acido palmitico, 562-563, 566, 576, 603, 607
 Acido palmitoleico, 604-605, 607
 Acido pangámico, 224
 Acido pantoténico (*véase* Vitamina B₅), 172-177
 absorción del, 174
 características químicas del, 174
 Acido piridóxico (*véase* Vitamina B₆), 185
 Acido pirrolidin-2-carboxílico, 35
 Acido quenodeoxicólico, 660-665
 Acido retinoico, 766-771
 estructural del, 766
 metabolitos del
 en orina, 770
 en las heces, 770
 Acido ribonucleico (*véase* RNA)
 Acido(s) sacárico(s) (*véase* Acido aldárico)
 Acido(s) siálico(s)
 forma activa del, 730
 en gangliosidos, 567, 728-730
 glucoproteínas en los, 413-415
 papel biológico de los, 386-387
 Acido taurocólico, 661-662, 859
 Acido tauroquenodeoxicólico, 661-662
 Acido(s) teitoico(s), 411
 estructura del, 411
 Acido tetrahidrofólico, 197-203
 función bioquímica del, 169
 Acido úrico, 900, 910-913
 Acido(s) urónico(s), 373, 380-381
 Acido ursodeoxicólico, 660, 665
 Acidosis, 25, 1355-1360
 metabólica, 1356
 respiratoria, 1357-1358
 Aciduria argininosuccinica, 880
 Aciduria aórtica, 917
 Acil-carnitina transferasa, 642
 transferasa I, 626, 639, 643
 transferasa II, 626
 Acil-CoA, 593-607, 625-632, 638-641
 entrada en la mitocondria, 625-627
 Acil-CoA colesterol acil transferasa (*véase* ACAT)
 Acil-CoA deshidrogenasa, 627-630
 Acil-CoA oxidasa, 630-631
 peroxisomal, 632
 Acil-CoA sintetasa, 625-631
 peroxisomal, 629
 Acil-fosfatos, 253
 Acilglicérido(s), 561-562
 1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa, 612-613
 Acilcolina acilhidrolasa (*véase* Colinesterasa)
 Aciltransferasa, 104
 Acino hepático, 1404
 zonas del, 1404
 Acodamientos β , 50, 60, 66
 tipo I, 66-67
 tipo II, 66-67
 tipo III, 66
 Aconitasa, 336, 343
 Acoplamiento energético, 243-246
 ACP (*véase* Proteína transportadora de grupos acilo)
 Acrodinia, 184
 Acromegalia, 1151
 ACTH (*véase* Corticotropina)
 Actina, 1081, 1267, 1455, 1459, 1463-1466
 características de la, 1463
 G, 1463, 1469
 F, 1463-1464
 purificación de la, 1459-1461
 sistemas motrices dependientes de, 1469-1471
 α -Actinina, 1463, 1469
 Actinomicina D, 982
 Activador, 137
 Actividad, coeficiente de, (?), 21-22
 Actomiosina, 1464
 Actomiosin-ATPasa, 1463-1465
 Acuocobalamina (*véase* Vitamina B_{12b}), 190
 estructura de la, 190
 Addison, enfermedad de, 495, 1171
 Adenilato (*véase* AMP)
 Adenilato ciclasa
 cerebro en, 1450
 efecto de los factores de crecimiento en la, 1217
 papel en el metabolismo del glucógeno, 543, 546-549
 en el control de la lipólisis, 618-621
 en la respuesta hormonal, 1133, 1136-1138
 en la secreción hormonal, 1127
 Adenilato quinasa, 251
 Adenilosuccinasa, 905-906
 Adenilo succinato sintetasa, 906, 908
 Adenina, 910, 926
 estructura de la, 900
 Adenina fosforribosil transferasa, 908-909
 deficiencia de, 912
 Adenohipófisis, 1150
 Adenosilcobalamina (*véase* Vitamina B₆), 190
 S-Adenosilmetionina, 217, 858-860, 864-865
 en la síntesis de fosfatidilcolina, 707, 710
 energía libre de hidrólisis de la, 255
 síntesis de, 218
 S-adenosil-L-metionina metiltioadenosina liasa
 (*véase* 1-aminocidopropano-1-carboxilato sintasa)
 Adenosina, 800, 926
 estructura de la, 901
 Adenosín trifosfato (*véase* ATP)
 Adenosina desaminasa, 910
 deficiencia de, 913
 Adenosina monofosfato (*véase* AMP)
 Adermina (*véase* Vitamina B₆), 184
 ADH (*véase* Vasopresina)
 ADP, 919
 papel en el efecto Pasteur, 469
 Adrenalina, 1123
 papel en el metabolismo del glucógeno
 heático, 548-549
 muscular, 542-545
 Agar, 402
 distribución, 402
 estructura, 402
 utilidad, 402
 Aglucona, 377, 391
 Aglutinógeno(s), 567, 727
 Agmatina, 830
 Agua, 11-32

absorción del, 29
 calor específico del, 16
 calor latente de vaporización del, 16
 capa de agua inmóvil, 583-585
 conductividad térmica del, 16
 densidad del, 16-17
 disolvente de, 17
 distribución del, 29-31
 estado(s) físico(s) del, 13-17
 estructura macromolecular, 13-16
 estructura molecular, 11-13
 excreción del, 31
 fuentes de, 28
 líquida, 14-16
 metabólica, 28
 producto iónico del, 18
 propiedades coligativas del, 19
 propiedades físico-químicas del, 16-19
 representación molecular del, 11
 requerimientos de, 28-29
 significado biológico del, 16-19
 tensión superficial del, 17
 vapor de, 13, 16

Alanina, 35, 36, 43, 47, 810, 839-840
 metabolismo de la, 855-856
 regulación del, 856
 como sustrato gluconeogénico, 482-485

α -alanina, 38

Alanina aminotransferasa, 485, 827, 839, 855-856
 aplicación clínica, 161
 distribución tisular de la, 161, 837

Alantoica, 910

Alantoína, 910

Alantoína, 910

Albúmina, 1128
 características de la, 1289-1291
 funciones de la, 1290-1291
 transporte de hormonas tiroideas, 1160

Alcalosis, 25
 metabólica, 1357
 respiratoria, 1358-1360

Alcohol-azúcar (véase Polialcohol)

Alcohol deshidrogenasa, transporte a la mitocondria de la, 1039

Alcoholismo, daño hepático, 622-623

Aldehído glicólico, 381
 estructura del, 381
 interés metabólico del, 381

Aldimina
 aminoácido de la, 825-826, 829
 enzima de la, 825-826, 829

Aldolasa
 aplicación clínica, 161
 distribución tisular de la, 161

Aldosa(s), 357, 359-361, 381
 configuración de las, 361
 isómeros ópticos de las, 364

Aldosterona, 1162, 1165
 transporte de la, 1168

Aldoxima, 371

Alergeno, 1379

Allisina, 64

Almidón, 392, 396-399

Biosíntesis del, 318
 distribución del, 398
 estructura del, 397-398
 funciones del, 398

Alopurinol, 910, 913

Alosa, 361

Alotipo, 1371-1372

D-alotreonina, 40

L-alotreonina, 40

Altrosa, 361

α -amanitina, 975-976

Amadori, reordenación de, 370

Ametopterina, 201, 907

Amidofosforribosil transferasa, 903, 908

Amigdalina (véase Vitamina B₁₇), 392

α -Amilasa, 427-428
 acción de la, 398
 aplicación clínica, 161
 distribución tisular de la, 161
 pancreática, deficiencia de la, 438
 salivar, 398

α -amino(1 \rightarrow)glucosidasa (véase Isomaltasa)

Aminopectina, 396-399
 estructura de la, 399

α -amilosa, 396-398
 conformación helicoidal de la, 397
 estructura de la, 398
 en el glucógeno, 530-532

Aminoácido(s), 33-48, 809-831
 absorción intestinal de los, 820-821

α -aminoácidos, 34
 estructura de los 49-51
 azufrados, 858-859
 catabolismo de, 823-831
 cetogénicos, 838
 clasificación de los, 35-36
 concentraciones en plasma de, 887
 curva de titulación de los, 43
 desaminación oxidativa de los, 828
 α -descarboxilación de los, 828-830
 destino metabólico de los, 835
 esenciales, 810, 837
 esqueleto carbonado de los
 rutas metabólicas de los, 830-831
 esteroisomería en los, 36-41
 estructura de los, 34-41
 filtración glomerular de los, 48
 fuentes de, 811-823
 glucogénicos, 838
 grupos de, 51
 hidrofobicidad de los, 50-51, 75-77
 intraeritrocitarios, 46
 niveles de los, 46-48
 metabolismo de los
 visión general del, 836
 no esenciales, 810, 837
 del plasma sanguíneo, 46
 ramificados
 complejo deshidrogenasa de los, 854
 metabolismo de, 849-855
 reacciones químicas de los, 43-46
 secuencia de
 determinación de la, 59

semiesenciales, 810
 tisulares, 46
 transaminación de los, 824-828
 papel de la, 835-837
 transporte de los, 821-823
 sistema A de, 822
 sistema ASC, 822
 sistema β de, 823
 sistema L de, 822
 sistema N de, 822-823

D- α -aminoácido, 39

L- α -aminoácido, 39

D-aminoácido oxidasa, 827

L-aminoácido oxidasa, 828

Aminoacidemia, 46

Aminoacil-adenilato, estructura del, 253

Aminoacil-tRNA, 1003
 estructura del, 1008

Aminoacil-tRNA sintetasa, 249, 995-996

Aminoazúcar (véase Osamina)

4-aminobutirato (véase Gaba)

1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa, 105

Aminograma, 887

5-aminolevulinato hidrolasa (véase Porfobilinógeno sintasa), 1320

5-aminolevulinato sintasa, 1319, 1323-1324, 1326-1327

Aminoacetato, 827

Aminopeptidasa A, 104

Aminopterina, 201, 907

Aminotransferasa de aminoácidos ramificados, 837
 distribución tisular de la, 837

Amonio, 869-897
 asimilación del, 324-325
 destino del, 869-897
 zonación hepática de la detoxificación del, 1418

Amoniotelismo, 870

AMP, 900, 908, 910, 920-922
 estructura del, 902
 síntesis del, 906

AMP_c
 estructura del, 902
 en el control de la lipólisis, 618-621
 respuesta a los factores de crecimiento en la, 1217-1218

Androstano, 1161

Androstenodiona, 1162, 1166-1167

Anemia, 1277
 drepanocitaria, 1329
 falciforme, 1280
 tipos de, 1278-1282

Anfipática, 17

Anfótero, 18-20, 41

Anfolito (véase Anfótero)

Angiotensina, 1214

Anhidrasa carbónica, 27, 1346-1360

Anión, 20-30

Anodo, 20, 259

Anómero, 365
 α , 365
 β , 365

ANP (véase Péptido natriurético atrial)

Anillo porfirínico
 síntesis del, 1321-1322

Anquirina, 1073-1074, 1080-1081

Antibióticos
 aminoglicosídicos, 1008
 macrólidos, 1009

Anticodón, 979, 993-994

Anticuerpo(s), 1376

Anticuerpo monoclonal, 1376
 producción de, 1377

Anticuerpo quimera, 961-963

Antígeno, 1376
 células presentadoras del, 1386
 de histocompatibilidad
 moléculas de clase II, HLA-II, 1384-1385
 moléculas de clase I, HLA-I, 1383-1384
 codificación genética de los, 1385-1386
 receptor T para el (véase Receptor T)

Antimicina A, 271, 280

α_2 -antiplasmina, 1313, 1315

α_1 -antiquimotripsina, 1289, 1292, 1313

α_1 -antitripsina, 817, 1289, 1292, 1313

Antitrombina III, 1313

Antrona, 380

Apoenzima, 91

Apoproteínas, 671-672

APO(a), 672

APO A
 A-I, 671, 680, 687
 características de la, 671
 como cofactor de la LCAT, 677
 en HDL, 671
 en quilomicrones, 589
 milán, 700

A-II, 671
 características de la, 671
 en HDL, 687
 en quilomicrones, 589, 680

A-IV, 671
 características de la, 671
 en quilomicrones, 589
 como cofactor de la LCAT, 677

APO B, 671-672
 en quilomicrones, 589

B-48
 características de la, 671-672
 en la abetalipoproteinemia, 700
 en quilomicrones, 589

B-100, 672
 características de la, 671-672
 en LDL, 684-685
 en la abetalipoproteinemia, 700
 en la hiperlipoproteinemia IIB, 697-698
 receptor de (véase Receptor B/E)

APOC
 en quilomicrones, 589

C-I, características de la, 671-672

C-II
 características de la, 671-672
 como cofactor de la LPL, 672-674
 en las VLDL, 683-684
 deficiencia familiar de (véase Hiperlipoproteinemia tipo I)

- C-III
características de la, 671-672
C-III-O, 672
CIII-1, 672
C-III-2, 672
- APO D, 672
- APO E
características de la, 671-672
fenotipos de la, 672
en quilomicrones, 589, 681
en VLDL, 683-684
en HDL hepáticas, 687
APO E-2, 698
- APO F, 672
- Apo ferritina, 1244
- Apoproteína A (véase Apo A)
- Apoproteína B (véase Apo B)
- Apoproteína C (véase Apo C)
- Apoproteína E (véase Apo E)
- Apudoma, 1204
- Analbuminemia, 1291
- Andrógeno(s), 1123, 1161-1162
biosíntesis de, 1166-1177
función de los, 1171
metabolismo del hueso, papel en el, 1235
proteína transportadora de, 1168
transporte de, 1168-1169
- Arabinosa, 361
D-arabinosa, 371, 382
L-arabinosa, 371, 383
interés metabólico de la, 382-383
- Arginasa, 845-846, 871, 875, 896
deficiencia de, 881
- Arginina, 35, 37, 43, 47, 810, 857
ciclo de la urea, en el, 871-881
degradación de la, 845
- Arginina descarboxilasa, 830
- Arginina vasotocina, 1156
- Argininosuccinato liasa, 873, 876
deficiencia, 881
- Argininosuccinato sintetasa, 873, 876
deficiencia en, 881
mecanismo de acción de la, 874
- Arrestina, 1519
- Arrhenius, 3
- Arriboflavinosis, 213
- Artritis reumatoide, 1171
- L-ascórbico oxidasa, 387
- Aselli G, 577
- Asparagina, 34, 35, 37, 43, 47, 810, 837, 840
glicosilación de la, 1045-1047
- Asparaginasa, 838, 840, 895
- Aspartato, 913-914
- Aspartato aminotransferasa (AST, GOT), 827, 839-840, 1442
aplicación clínica, 161
distribución tisular de la, 161
- Aspartato carbamil transferasa, 914-915
- Aspartato descarboxilasa, 830
- Aspartato proteasa (véase Aspartil-proteasa)
- Aspartato racemasa, 105
- L- α -aspartil(L- α -glutamil)-péptido hidrolasa (véase Aminopeptidasa A)
- Aspatil-proteasa(s), 812
- Astaxantina, 765
- Aterosclerosis, 646, 662667-668, 693, 741
- Atkinson, 251
- Atmósfera iónica, 19
- ATP
energía libre de hidrólisis del, 248-250
productos de hidrólisis del
energía libre estándar de formación de los, 252
síntesis de, 907
según la hipótesis conformacional, 293-294
papel en efecto Pasteur, 469
- ATP_{asa} (véase ATP sintasa)
- ATP_{asa} Na⁺ - K⁺
mecanismo de acción de los factores de crecimiento, en el, 1216
- ATP_{asa} transportadoras de Ca²⁺, 1106-1108
- ATP_{asa} transportadora de H⁺ - K⁺, 1108-1109
funcionamiento, 1108
- ATP_{asa} transportadora de iones, 1098-1109
tipo F, 1098-1099
tipo P, 1098-1101
funcionamiento de, 1100
tipo V, 1098-1099
- ATP_{asa} transportadora de Na⁺ - K⁺ (véase Bomba de Na⁺ - K⁺)
- ATP citrato liasa, 595
- ATP fosforribosil transferasa, 903, 908
- ATP-D-hexosa 6-fosfortransferasa (véase Hexokinasa)
- ATP sintasa, 310-312
estructura de la, 294-295
subunidades, 294-295
- Atractilósido, 1098
- Autoanticuerpo, 1399
- Autoinmunidad, 1399
- Avery, 923
- Avidina, 180
- Avitaminosis, 167
- Axiomas, 1527
- Axón, 1422
- Axonema, estructura del, 1474-1476
- Azaserina, 907
- Azatocoferoles, 787
- Azufre, 1242-1243
asimilación del, 327-329
- Bacterio clorofila, 299
- Bacteriófago, 924, 944
- Bacteriorrodopsina, 78-79, 1070
estructura de la, 1071
- Balance hídrico, 28-32
alteraciones del, 31-32
- Banda 2.1 (véase Anquirina)
- Banda 3, 1068-1069, 1080-1081, 1096-1098, 1266-1277
estructura de la, 1069
transporte de CO₂, participación del, 1097
- Banda 4.1, 1074, 1081
- Banda 5 (véase Actina)
- Banting, 1175, 1193
- Barbitúrico, 1452

- Barrera hematoencefálica, 1423
- β -barril
estructura en, 65-66
- Base, 17-25
concepto de, 20
conjugada, 20
constante de disociación de la, (K_b), 20
- Base(s) pirimidínica(s), 900, 928
estructura de la(s), 901
- Base(s) púrica(s), 900, 928
estructura de la(s), 900
- Basófilo(s), 1258
- Bastones, 1503-1504
estructura de los, 1505
- Batorrodopsina, 1509
- Bayliss, 1119, 1198
- Beadle, 7
- Bencimidazoles, 373, 380
- Bendall, 306
- Benedict
solución de, 374
- Benzodiacepina, 1452
- Bergel, 180
- Berberi, 180
- Bernard, C., 577
- Berry, M. N., 1405
- Bertrand, G., 4
- Best, 1175, 1193
- Bicarbonato, 26-28, 1347, 1349
papel en el mantenimiento del pH, 1353
- Bichat, Marie, F. X., 3
- Bilirrubina, 1337-1343
formación hepática de la, 1338
- Biotatálisis, 33
- Biocitina, 177-178
función bioquímica de la, 169
- Biología molecular
indicios de la, 6-7
- Bioquímica
concepto de, 1-2
desarrollo de la, 2-8
nacimiento de la, 2-3
perspectivas de la, 8-9
teórica, 1527-1567
- Bios 11 (véase Biotina)
- Bios 11B (véase Biotina)
- Biología, 9
- Biotina, 167, 177-180, 476
(véase Vitamina B₉)
(véase Vitamina H)
antagonistas de la, 180
características químicas de la, 178
coenzima derivada de la, 169
deficiencia de, 179-180
encimas dependientes de, 179
forma activa de la, 168
fuente natural de, 168, 178
función bioquímica de la, 178-179
isómeros de la, 180
preparado comercial de la, 168
- Biotina sulfóxido, 180
- Biotinil-lisina, 178
- Biotín sulfona, 180
- 1,3-bisfosfoglicerato, 451-454
en el ciclo de Calvin, 314
energía libre de hidrólisis del, 253
estructura del, 253
- Bishop, 787
- Blodel, 1031
- Bollman, 577
- Boltzmann, 1532
ecuación de, 235, 252
- Bomba calorimétrica, 230, 246
- Bomba de Ca²⁺, 1107-1108
membrana plasmática, de la, 1108
retículo sarcoplásmico, del, 1107-1108
conformaciones de la, 1107
disposición en la membrana de la, 1107
funcionamiento de la, 1107
- Bomba de Na⁺ (véase Bomba de Na⁺-K⁺)
- Bomba de Na⁺-K⁺, 1101-1106
conformaciones de la, 1104-1105
esquema de la, 1103
estructura de la, 104
funcionamiento de la, 1102-1103, 1105
funciones de la, 1102
neurona, en la, 1424-1425, 1427
- Bomba de protones, 290
- Bombesina, 1124, 1199, 1204
- Boyer, 291-293
- Bragg, 923
- Braunstein, 5
- Brenner, 924
- Breslow, R., 181
- Briggs, 4, 121, 1527
- Brown, 4, 685
- Buchanan, 903
- Buchner, Eduard, 3, 445
- Buffer (véase Tampón)
- Burnet
selección clonal de, 1392
- Cadena respiratoria, 265-295
componentes de la, 266-269
cambios en el estado redox de los, 268-269
secuencia de los, 267-268
esquema de los, 271
topología de los, 274-275
esquema general de la, 268
sitios de fosforilación de la, 270-272
- Cadaverina, 830
- Capeina, 224
- Caja CAAT, 976
- Caja GC, 976
- Caja Hog Ness (véase Caja Tata), 976
- Caja Pribnow, 970
- Caja Tata, 976
- Calbindina, 782-784
- Calcineurina, 1450
- Calcio, 1127-1130
distribución en el organismo del, 1128
funciones del, 1129
homeostasis del, 781-785
metabolismo del

- alteraciones del, 1236
regulación del, 1232-1235
- Calcio (*véase* Vitamina D₃)
- Calcitonina, 1123, 1157, 1233-1234
- Cálculos biliares, 646, 665
- Calicreína, 1301-1302
- Calmodulina, 658-659, 1228, 1108
liberación de neurotransmisores, papel en la, 1433
- Calmodulina quinasa, 658-659
- Calor, 230
- Calor específico, 16
- Calor latente de vaporización, 16
- Calorímetro adiabático (*véase* Bomba de calorimetría)
- Calorímetro de flujo, 233
- Calpina-I, 834
- Calpina-II, 834
- Canales iónicos, 1113-1117
dependientes de voltaje, 1113, 1116-1117
independientes de voltaje, 1113
neuronales, 1429-1430
registro unitario, de, 1113
- Canales de Ca²⁺, 1117
liberación de neurotransmisores, papel en la, 1433
potencial de acción, papel en el, 1430
- Canales de Na⁺, 1116-1117
papel en el potencial de acción, 1429, 1430
- Canal de K⁺ dependiente de voltaje, 1429
papel en el potencial de acción, 1429-1430
- Capacidad amortiguadora (*véase* Tampón)
- Carmamil fosfato, 872, 875-876, 879
precursor de los nucleótidos pirimidínicos, 913-915
- Carbamil-fosfato sintetasa, 878-879, 914-915
I, 872, 875
mecanismo de acción de la
II, 872
deficiencia de, 881
- Carbamino hemoglobina, 1346
- Carbanión, 825-826, 829
- Carbohidrato(s), 357-440
absorción de
aspectos patológicos de la, 438-442
actividad óptica de los, 363-364
clasificación de los, 357
concepto de, 357
dieta de la, 427-442
destino de los, 432-436
digestión de los, 427-430
funciones de los, 358
no digeribles, 430
origen de los, 357
- Carbono
asimilación fotosintética del, 313-319
modulación de la, 318-319
- Carbono asimétrico, 359, 363
- Carboxil-éster hidrolasa (*véase* Colesterol esterasa)
- Carboxipeptidasa A, 812-813
mecanismo catalítico de la, 816
- Carboxipeptidasa B, 812
- Carcinógeno, 1221
- Cardiolipina(s), 564
biosíntesis de, 715-716
membrana, en la, 1055-1060
- Cardiolipina sintasa, 715-716
- Carga energética, 251
- Carnitina, 625
deficiencia en, 642-643
- Carotenemia, 772
- Carotonoides, 300, 570
- Caroteno(s), 300, 570
acción antioxidante de los, 770
 α -caroteno, 764
 γ -caroteno, 764
 β -caroteno (*véase* Provitamina A), 305, 762
espectro de absorción del, 300
estructura del, 301, 570
biosíntesis del, 768
 ξ -caroteno, 768
- Carrier (*véase* Transportador)
- Cartilago
elasticidad del, 423
envejecimiento del, 423-424
esquema del, 420
organización molecular del, 417-418
proteoglicanos del, 417-424
- Castoprenol, 805-806
- Catalasa, 630
en procesos de desintoxicación hepática, 633
- Catalisis enzimática, 94-102
mecanismo de la, 96-98
ventajas de la, 97-98
- Catalizador, 89
- Catecolaminas, 1437-1441
degradación de, 1440
papel en la gluconeogénesis, 493
síntesis de, 862-864
en el cerebro, 1437-1439
- Catepsina
B, 819
D, 819
H, 819
L, 819
- Catión, 19-30
- Cátodo, 20, 259
- CCK (*véase* Colecistoquinina)
- CDNA, 949-950
- CDP-colina sintasa, 707, 709
- CDP, 919
- CDP-Diacilglicerol, 707, 715
en bacterias, 704-705
síntesis de, 713-714
- CDP-diacilglicerol sintasa, 713-714
- CDP-etanolamina, 707
- CDP-etanolamina sintasa, 707-708
- Cefalina (*véase* Fosfatidiletanolamina), 564
- Ceguera nocturna, 771
- Celobiosa, 392-393, 401
distribución, 392
estructura, 393
- Célula cebada (*véase* Mastocito)
- Célula madre hematopoyética, 1257, 1258
- Célula madre linfopoyética, 1258
- Célula oxítica, 1108-1109

- Célula de Shwann, 1422
- Células almacenadoras de grasa, 1405, 1408
- Células amacrinas, 1503-1504
- Células bipolares, 1503-1504
- Células espumosas, 684
- Células establecidas, 1208, 1221
- Células estrelladas (*véase* Células almacenadas de grasa)
- Células ganglionares, 1503-1504
- Células hematopoyéticas
compartimento
células en fase de especialización, de, 1257, 1261-1263
células pluripotenciales, de, 1257-1260
células unipotenciales, de, 1257, 1260-1261
- Células horizontales, 1503-1504
- Células ITO (*véase* Células almacenadoras de grasa)
- Células K, 1393-1394
- Células de Kupffer, 1405, 1408
- Células NK, 1389
- Células Pit, 1405-1408
- Células primarias, 1207
- Células quiescentes, 1209
- Células transformadas
características, 1221-1222
- Células secundarias, 1207
- Celulosa, 358, 401-402
distribución, 402
estructura, 401
funciones, 402
- Centro quirral, 38, 40
- Centros de reacción, 304
componentes de un, 304
- Ceramida(s), 565, 567-568, 724-725, 730
formación de, 725-727
- Ceramidasa, 730-732
deficiencia de, 731
- Ceras, 568-569
- Cerebro
metabolismo energético del, 1423-1426
- Cerebrogalactósido(s), 566, 731
estructura de un, 566
- Cerebrósido(s), 566-567, 724-725
acumulación de, 731
biosíntesis de, 727-729
degradación de, 732
- Ceruloplasmina, 1294
- Cetimina, 825-826
- β -cetoacil-ACP reductasa, 599-605
- β -cetoacil-ACP sintasa, 599-605
- Cetoacidosis diabética, 643-644
- 3-cetodihidroesfingosina sintasa, 725-726
- 3-cetodihidroesfingosina reductasa, 725-726
- Δ^5 -Cetoesteroide isomerasa, 1163-1164
- Cetogénesis, 637-639
regulación de la, 639-642
- Cetosaf(s), 357, 360
configuración de las, 362
isómeros ópticos de las, 364
- β -cetioliase (*véase* Acetil-CoA acil transferasa)
- C-fos, 1221
- C G (*véase* Gonadotropina coriónica)
- Chance
complejos de, 272-293
teorema de, 269, 270-272
- Changeux, 151
- Chargaff, 924-925, 929
- Charlson y Perlin
método de, 395
- Cianhidrina(s)
formación de, 369
- Ciano cobalamina (*véase* Vitamina B₁₂), 190-191
- Ciclitoles, (*véase* Inositoles)
- Ciclo del ácido cítrico, 5
antecedentes históricos del, 335-336
conexión con la glucólisis, 336-337
localización celular del, 336
reacciones del, 341-342
reacciones anapleróticas del, 348-349
regulación del, 348
rendimiento energético del, 346
- Ciclo del ácido glioxílico, 354-355
reacciones del, 354-355
- Ciclo C₄, 320-322
- Ciclo de Calvin (*véase* Ciclo de los pentosas-fosfato)
- Ciclo celular, 1207-1210
etapas del, 1208-1209
duración del, 1208
- Ciclo de Cori, 481-482
- Ciclo de fructuosa-1,6-bisfosfato/fructosa-6-fosfato, 498
- Ciclo fútil (*véase* Ciclo de sustratos), 141
- Ciclo glucosa/ácidos grasos, 471-472
- Ciclo de glucosa alanina, 482-485, 855, 888
- Ciclo glucosa/glutamina, 889
- Ciclo de glucosa-lactato (*véase* Ciclo de Cori)
- Ciclo glucosa-6-fosfato/glucosa, 498
- Ciclo glutamina sintetasa-glutaminasa, 884-886
- Ciclo del γ -glutamilo, 823
- Ciclo heximida, 1007, 1009
- Ciclo-isomerasa(s)
- Ciclo de Krebs (*véase* Ciclo del ácido cítrico), 5
- Ciclo de Meister (*véase* Ciclo de γ -glutamilo)
- Ciclo de la ornitina, 5
- Ciclo de las pentosas-fosfato
ciclo reductivo, 313-314, 317
- Ciclo piruvato/fofoenolpiruvato, 497
- Ciclo de la PRS, 1035
- Ciclo del purín nucleótido, 889, 920-921
- D-Cicloserina, 827
- Ciclo de sustratos, 141, 884
en la regulación de glucólisis y gluconeogénesis, 495-498
- Ciclo de la urea, 870-881
enfermedades metabólicas del, 880-881
evolución del, 877-880
- Ciclo del yodo, 1158
- Ciclopentanoperhidrofenantreno, 1161
- Cilios
axonema de los, 1473
movimiento de los, 1473-1474
- Cinética enzimática, 4, 109-138
- Cinética sigmoide, 135-137
linearización de la, 136

- Cirrosis hepática, 623
 Cistionasa, 859
 Cistionina sintética, 859
 Cisteína, 35, 37, 43, 47, 810, 858
 degradación de la, 842
 síntesis de, 860
 Cisteína proteasa (*véase* Asteina-proteasa)
 Cisteína sulfonato descarboxilasa, 830
 Cisteína-proteasa(s), 812
 Cistina, 36, 38
 catabolismo de la, 840, 842
 Cistinuria, 43
 Cis-trans-isomerasa (*véase* Isomerasa), 105
 Citidilato (*véase* CMP)
 Citidina, 900, 926
 Citidina monofosfato, (*véase* CMP)
 Citidindifosfato de etanolamina (*véase* CDP-etanolamina)
 Citiofosfatodiacilglicerol (*véase* CDP-diacilglicerol)
 Citocalasina B, 446, 1096
 Citocinesis, 1208
 Citocromo aa₃, 282
 Citocromo B₅₅₇, 324
 Citocromo B₅₆₂, 72
 Citocromo C, 71, 273-274, 276, 282
 Citocromo C₁
 transporte a la mitocondria del, 1039
 Citocromo C₃, 72
 Citocromo F, 308-310
 Citocromo oxidasa, 274, 276
 Citocromo P₄₅₀, 662-663
 Citocromo Q, 282
 Citosina, 900, 926
 degradación de la, 916
 estructura de la, 901
 Citosina desaminasa, 916
 Citrato
 isomerización del, 342-343
 formación de, 342
 Citrato sintasa, 341-342
 Citrulina, 38, 811, 857
 ciclo de la urea, en el, 871-881
 Citrulinemia, 880
 Clancy y Whelan
 método de, 395
 Clark, 1130
 Clatrina
 fosas recubiertas de, 685, 1134, 1178-1179
 Claude, 5
 Clonación, 8
 Cloramfenicol, 1007, 1009
 Clorhidrato de tiamina, 168, 181
 Cloro, 1238-1239
 desplazamiento del, 1238
 Clorofila(s), 299
 clorofila A, 299-306
 espectro de absorción de la, 300
 estructura de la, 301
 clorofila B, 299-306
 espectro de absorción de la, 300
 estructura de la, 301
 clorofila C, 299
 clorofila D, 299
 estados excitados de la(s), 303-304
 tipos de, 299
 Cloroplasto
 estructura del, 298-299
 Cloroquina, 1215
 Cloruro de Dansilo, 45-46
 Clostridium histolyticum, 819
 Clostridium perfringens, 819
 CMP, 901
 C-MYC, 1220
 Coagulación sanguínea
 bioquímica de la, 1295-1316
 fase común de la, 1305-1312
 mecanismo de la, 1296-1312
 regulación de la, 1312-1314
 sistema extrínseco de la, 1303-1304
 sistema intrínseco de la, 1301-1303
 Coágulo, 1296
 blando, 1311
 duro (*véase* Red de fibrina)
 Cobalamina, 189
 I, 190
 II, 190
 III (*véase* Acuocobalamina), 190
 Cobalto, 1247
 en la cobalamina, 190-191
 Cobamida, 189
 Cobre, 1247-1249
 Cocositol (*véase* Escillinositol)
 Código genético, 985-991
 características del, 988-991
 interpretación del, 986-988
 mitocondrial, 990-991
 Codón, 993-994
 operativo, 987
 terminación de, 988, 1003
 sinónimos, 989
 Coenzima(s), 4, 91-92
 bacterianas, 220-222
 clasificación estructural de las, 170-171
 clasificación funcional de las, 171-172, 174
 no-vitaminica, 216-222
 de transporte electrónico, 219-222
 de transporte de grupos, 216-219
 vitamínicas, 170-216
 de transporte electrónico, 203-216
 de transporte de grupo, 172-203
 Coenzima A (CoA)
 estructura de la, 175
 función bioquímica de la, 169
 síntesis de la, 176
 Coenzima M, 220-221
 estructura de la, 221
 Coenzima Q₁₀
 estructura del, 570
 Cofactor, 91
 Colágeno
 cartilago, en el, 422-423
 interacción con proteoglicanos, 422-423
 Colagenasa
 clostridium histolyticum, de, 819
 clostridium perfringens, de, 819

- Colchicina, 1210
 Colecalciferol (*véase* Vitamina D₃), 168
 Colecistoquinina, 579, 1123, 1200-1201
 formas de la, 1201
 Colesterol, 572, 579, 582, 645-665
 absorción intestinal de, 584-585, 648-651
 balance en el organismo de, 647-648
 circulación enterohepática del, 663-665
 dieta, de la, 648
 esteroides de, 572-573, 646
 excreción del, 663-665
 fluidez de la membrana, papel en la, 1078
 en las lipoproteínas, 667-701
 membrana, en la, 1055-1060
 precursor de hormonas esteroideas, 1161-1165
 síntesis del, 651-660
 control de la, 656
 transporte inverso del, 680, 682, 689, 692
 Colesterol esterasa (*véase* Colesterol éster hidrolasa)
 Colesterol éster hidrolasa, 648
 lisosómica, 650
 metabolismo del ácido araquidónico, en el, 742
 Colesterol-7 α -hidroxilasa, 660-665
 Colina, 222-223, 1435
 fuentes de, 222-223
 Colina acetil-transferasa, 1435
 características de la, 1436
 Colina fosfatocitidiltransferasa (*véase* CDP-colina sintasa)
 Colina quinasa, 707, 709
 Colipasa, 580
 Colinesterasa, 104
 aplicación clínica, 161
 distribución tisular de la, 161
 Compartimentación
 enzimática, 145
 Compartimento(s)
 extracelular, 29-31
 intracelular, 29-31
 Complejo enzima-inhibidor, 129
 Complejo encima-sustrato, 92-102
 asimetría del, 93-94
 Complejo enzima-sustrato-inhibidor, 131-132
 Complejo mayor de histocompatibilidad, 1385-1386
 Complejo multienzimático, 146
 Complemento, 1363, 1366
 activación del, 1394-1396
 vía alternativa de, 1395-1396
 vía clásica de, 1396
 características del, 1395
 Compuestos ricos en energía
 características químicas de los, 247-248
 como marcadores metabólicos, 257
 energía libre estándar de los, 248
 papel fisiológico de los, 255-257
 transferidores de grupos fosfato, 248-255
 transferidores de grupos acilo, 255
 energía de hidrólisis de los, 255
 transferidores de grupos metilo, 255
 energía de hidrólisis de los, 255
 Comunicación
 intercelular
 sistemas de, 1120-1121
 C-ONC (*véase* Oncogén celular)
 Condrocito, 423-424
 Condroitina, 385, 404-405
 distribución, 405
 estructura, 404-405
 Condroitina sulfato A (*véase* Condroitina-4-sulfato)
 Condroitina sulfato C (*véase* Condroitina-6-sulfato)
 Condroitina-6-sulfato
 distribución, 405
 estructura, 405-406
 función, 407
 Condroitina-4-sulfato
 estructura, 405
 distribución, 405
 función, 407
 Condroitin sulfato (*véase* Condroitina-4-sulfato y Condroitina-6-sulfato)
 proteoglicanos, en los, 419-424
 Condroproteínas, 385
 Condrosamina (*véase* Galactosamina)
 Condrosina, 405
 Conducta
 mecanismo bioquímico de la, 8
 Conexina, 1091
 Conexón, 1091
 modelo de, 1092
 Conjetura, 1528
 Conjugados multienzimáticos (*véase* Encima(s) multifuncional(es))
 Conklin, 787
 Conos, 1503-1504
 Constante dieléctrica, 17
 Constante de equilibrio (K_{eq}), 115, 119-120, 240
 fisiológica (K_{eq}), 242, 246
 Constante de los gases
 Constante de inhibición (K_i), 130-135
 Constante de Michaelis-Menten (K_m), 123-137, 154
 aparente (K_{ap}), 130, 154
 significado de la, 124-125
 Constante de Planck, 302
 Contracción tetánica, 1456
 Contratransporte, 1093
 Cotransporte, 1094, 1109-1110
 DE Na⁺, 1110-1111
 con iones inorgánicos, 1111
 con sustratos orgánicos, 1110-1111
 Na⁺-glucosa, 1110
 Cooperatividad, 12, 135, 150-157
 cinética de la, 153-156
 heterotrópica, 154-156
 homotrópica, 153
 consecuencias fisiológicas de la, 156-157
 modelos de, 151-156
 modelo concentrado de, 151
 suposiciones del, 151
 modelo secuencial asimétrico de, 151-152
 suposiciones del, 151-152
 negativa, 151-153
 positiva, 151-153
 Copropofiria hereditaria, 1323-1324

Coproporfirina, 1318-1319
 Coproporfirinógeno
 III, 1321
 Coproporfirinógeno oxidorreductasa, 1321
 Cori
 ciclo de (*véase* Ciclo de Cori), 481-482
 enfermedad de, 553-555
 éster de (*véase* Glucosa-1-fosfato)
 Corolario(s), 1528
 Corrina
 núcleo de (*véase* Núcleo de corrina)
 Corte y empalme
 proceso de, 978
 Corticoliberina, 1122, 1148
 Corticosteroides, 1161-1162, 1165-1166
 Costicosterona, 1162, 1165
 Corticotropina, 1122, 1152-1154
 funciones de la, 1153
 niveles en sangre de, 1153
 Cortisol, 1164, 1165-1166, 1168
 metabolismo del, 1170
 Cortisona, 1170
 Cortol, 1170
 Cortolona, 1170
 Cosustrato (*véase* Coenzima)
 Crasuláceas
 metabolismo ácido de las, 322-323
 Creatina quinasa
 aplicación clínica de la, 161-162
 distribución tisular de la, 161
 Creatinina
 síntesis de, 864-865
 CRH (*véase* Corticoliberina)
 Crick, F. H. C., 7, 923, 929-930, 933, 986, 994
 hipótesis del balanceo de, 995
 Criofractura, 1064
 Criptoxantina, 764
 Cristalografía de difracción de rayos X, 80
 Cromatografía de intercambio iónico, 44
 Cromatina, 924, 939-942
 proteínas de la, 940-942
 histonas, 940-942
 no histonas, 940
 Cromo, 1249
 Cromóforo
 regeneración del, 1519-1522
 Cromosoma, 939-942
 politénico, 932
 Crotonasa, (*véase* Δ^2 enoil-CoA hidratasa)
 CS (*véase* Somatomotropina coriónica)
 Cuerpos cetónicos
 metabolismo de los, 636-639
 en el cerebro, 1423-1424
 Curva de titulación, 24-25
 Cushing
 síndrome de, 1153, 1171
 Daltonismo, 1523
 DAM, 794
 dAMP, 901
 Dansil-aminoácido, 46
 Darwin, Charles, 6
 dATP, 919
 Davenport, diagrama de, 1359
 dCMP, 901
 dCTP, 919
 DEBYE, P, 19
 Debye-Hückel, ecuación de, 22
 Dehidroepiandrosterona, 1162, 1166-1167
 Dendrita(s), 1421-1422
 Dermatán sulfato
 distribución, 406
 estructura, 406
 Desensibilización, 1130
 α -deshirotina, 180
 7-desidrocampesterol, 773
 3-desidro- β -caroteno, 764
 7-desidrocolesterol, 773-778
 estructura del, 774
 Deshidrogenasas (*véase* Oxido-reductasas), 102-103
 subclases de, 103
 3-Desidrorretinol (*véase* Vitamina A₂), 762-763
 Deshidrosterol, 773
 7-desidrostigmasterol, 773
 Des-iodasa, 1160
 20.22-desmolasa, 1162-1163
 Desmosterol, 655-656
 Desoxiadenuclato (*véase* dAMP)
 5-Desoxiadenuclilcobalamina (*véase* Vitamina B₁₂), 189-191
 Desoxiadenuclina, 900
 Desoxiazúcares, 387-388
 Desoxicidilato (*véase* dCMP)
 Desoxicitidina, 900
 6-desoxi-L-galactosa (*véase* L-fucosa)
 Desoxiguanilato (*véase* dGMP)
 Desoxiguanosina, 900
 6-Desoxi-L-manosa (*véase* L-ramnosa)
 2-desoxi-D-ribosa, 925
 estructura de la, 382
 papel biológico de la, 387-388
 Desoxirribosa, 501, 925-926
 conformaciones de la, 928
 β -D-desoxirribofuranosa, 382
 Desoxirribonucleasa (*véase* Enzima de restricción)
 5'-desoxirribonucleótido, 901
 biosíntesis de, 918-920
 Desoxirribonucleósido-5'-fosfato (*véase* 5'-desoxirribonucleótido)
 Desoxitimilato (*véase* dTMP)
 Desoxitimidina, 900
 Destiobiotina, 180
 Dextranos, 400
 estructura, 400
 funciones, 400
 Dextreina(s), 398
 límite, 535
 α -dextrinasa, 428-429
 Dextrinosis límite (*véase* Cori, enfermedad de)
 Dextrógiro (+), 39, 363-364
 dGMP, 901
 dGTP, 919
 Diabetes
 cambios metabólicos en la, 1189-1191
 insípida central, 1156

Diacilglicérido, 561
 Diacilglicerol, 1137-1139
 Diacilglicerolcolina fosfotransferasa, 707, 709
 Diacilglicerol etanolamina fosfotransferasa, 707-708, 713
 1,2-diacil-sn-glicerol-3-fosfato, 563, 612-613
 Diagnóstico
 enzimas utilizadas en, 161
 selección del ensayo enzimático para el, 160-163
 Diastasa, 3
 Dicumarol(es), 799-800
 Diesteroisómero(s), 40
 Difenilamina, 380
 Difusión
 canales, por, 1091
 facilitada, 1088, 1095-1098
 no iónica, 1091
 simple, 1088-1092
 coeficiente de difusión, 1089
 cinética de la, 1090
 Difusión de electrones, 81
 Difusión lateral
 lípidos de membrana, de los, 1078-1080
 proteínas de membrana, de las, 1078-1080
 Difusión de luz, 81
 Difusión de rayos X, 81
 Digitonina, 1405-1406
 Dihidroergocalciferón (*véase* Vitamina D₃)
 Dihidroergosterol, 773
 estructura del, 774
 Dihidroorotasa, 915
 Dihidroorotato, 914-915
 Dihidroorotato deshidrogenasa, 915
 Dihidropirimidina ciclohidrolasa, 916
 Dihidropirimidina deshidrogenasa, 916
 Dihidrotestosterona, 1170
 Dihidrouridina, 992
 Dihidroxiacetona, reducción de la, 362
 Dihidroxiacetona-fosfato, 381, 450-451, 611-613
 estructura de, 381
 interés metabólico de la, 381
 Dihidroxiacetona-fosfato acil transferasa, 612-613, 717-718
 24,25-dihidroxicolecalciferol, 775
 25,26-dihidroxicolecalciferol, 775
 Dihidroxifenil alanina (*véase* DOPA)
 1,25-dihidroxivitamina D₃, 1124, 1228, 1230, 1232, 1234
 Di-iodotirosina, (DIT, 1157-1160)
 5,6-dimetilbenzimidazol, 189
 Dineina, 1476-1479
 brazos de, 1476
 ciliar, 1479
 citoplasmática, 1479
 flajelar, 1479
 2,4-dinitrofenilaminoácido, 46
 Dinitrogensasa, 325
 Dinitrogenasa reductasa, 325
 Dióxido de carbono, 26-28
 disuelto, 26
 gaseoso, 26
 Dipolo eléctrico, 11
 Disacárido(s), 382-393, 395
 reductores, 392-393, 395
 distribución, 392
 estructura, 382-393
 formación de los, 382
 no reductores, 392-393, 395
 distribución, 393
 estructura, 392-393
 formación de los, 392
 Dische, 148
 Disociación
 constante de, 20
 equilibrio de, 18
 grado de, 22
 Disolución, 18-22
 ácida, 18
 actividad de la, 21-22
 alcalina, 18
 amortiguadora (*véase* Tampón)
 fuerza iónica de la, (μ), 22
 neutra, 19
 tampón (*véase* tampón)
 Disee
 espacio de, 683, 1402-1405
 Diterpeno forskolina, 1137, 1218
 DNA, 7-9, 909, 919
 bacterias, de, 940
 de banda simple, proteínas de unión a, 936
 bioquímica del, 925-929
 composición química del, 925-929
 copia (*véase* cDNA)
 desnaturalización del, 932
 doble hélice del, 929-932
 hendidura mayor de la, 930-931
 hendidura menor de la, 930-931
 estructura del, 929-932
 hélice tipo A, 931-932
 hélice tipo B, 930-932
 hélice tipo C, 928-931
 recombinante, 9
 renaturalización del, 932-933
 replicación del, 933-939
 bioquímica de la, 934-937
 hipótesis de la, 933-935
 origen de la, 936-937, 939
 tenedor de la, 936-937, 939
 secuenciación del, 946-949
 método enzimático de, 948-949
 método químico, 946-947
 síntesis de, 949
 DNA B (*véase* DNA, hélice tipo B)
 DNA ligasa, 939
 DNA polimerasa
 I, 937, 949
 III, 937
 DNZ (*véase* DNA, hélice tipo Z)
 Dobbsstein, 1031
 hipótesis de la señal de, 1031
 Dolicol, 1045
 Donath, 180
 Dopa, 38, 863
 Dopa descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, 863
 Dopamina, 863-1149

- biosíntesis de la, 1437
 degradación de la, 1440
 Drepanocitosis, 1329
 dTMP, 901
 dTTP, 919
 biosíntesis del, 919
 estructura del, 902
 Dulcitol (*véase* Galactitol)
 Duplicación génica, 82
 Du Vigneaud, 177
- Eco RI, 943-944
 Ecuación(es) de
 Debye-Hückel, 22
 Henderson-Hasselbalch, 23, 25
 Hill (*véase* Hill), 136-137
 Hofstee (*véase* Hofstee), 125-127
 Lineweaver y Burk (*véase* Lineweaver y Burk), 125-126
 Michaelis-Menten (*véase* Michaelis-Menten), 121-128
 Nernst, 260-263
 Woolf (*véase* Woolf), 125, 127-128
 Edman, degradación de, 45, 59
 Edsall, 1459
 Efecto Bohr, 1348
 Efecto isohídrico, 1350
 Efecto alostérico, 136-137, 154
 heterotrópico, 155
 negativo, (*véase* Inhibidor feed-back), 148
 Ehrlich, 1130
 Eicosanoides, 735-759
 biosíntesis de los, 741
 via cíclica, 743-750
 via lineal, 750-753
 catabolismo de los, 754-756
 estructura de los, 735-739
 mecanismo de acción de los, 756-759
 metabolismo de los, 741-756
 precursores de los, 739-741
 Eijkman C., 180
 Ejercicio
 adaptaciones bioquímicas provocadas por el entrenamiento, 1498-1501
 intenso de corta duración, 1492
 metabolismo de aminoácidos en el, 1490
 metabolismo de carbohidratos en el, 1486-1489
 metabolismo después del, 1494-1498
 metabolismo de lípidos en el, 1489-1490
 moderado de larga duración, 1492-1494
 modificaciones hormonales durante el, 1490-1492
 relaciones metabólicas interórganos en el, 1492-1494
 Elastasa, 812-813, 1305
 sitios de unión de la, estructura de los, 102
 Electroforesis, 44
 Electrolito, 16-31
 concepto, 19-20
 Electrones, transporte de, 271-274
 Elson y Morgan, reacción de, 385
 Embden, 5, 445
 Embriología, 1
 Empirismo, 1530
 Emulsina, 395
 Enanismo, 1151
 Enantiómero(s), 36, 39, 363
 Enantiomorfo (*véase* Enantiómero)
 Encefalina(s), 1204
 Leu-encefalina, 1204
 Met-encefalina, 1204
 β -end (*véase* β -endomorfinina)
 Endocrinología, 1119
 Endopeptidasa, 812-813
 α -endorfina, 1152-1153
 β -endorfina, 1122, 1152-1153
 γ -endorfina, 1152-1153
 Energía
 ley de conservación de la, 230
 Energía de activación, 96, 246
 Energía de Gibbs (*véase* Energía libre)
 Energía interna, 229-232
 cambio de, (ΔU), 229-232
 Energía libre (G), 233-263
 cambios de, 97, 115-116
 de hidrólisis del ATP, 249
 estándar (ΔG°), 237-239, 246
 fisiológica (ΔG°), 241
 Enfermedad
 Adisson, de, 495
 Andersen, de, 554-555
 enzima deficiente, 554
 Cori, de, 553-555
 enzima deficiente de la, 554
 Faber, de, 731-732
 Gaucher, de, 732
 Günter, de (*véase* Porfiria eritropoyética)
 Hers, de, 554-555
 enzima deficiente, 554
 Hirschsprung, 1205
 del jarabe de arce en la orina, 495
 McArdle, 553-555
 enzima deficiente, 554
 membranas hialinas, de las, 711
 Niemann-Pock, 731-732
 Parkinson, de, 1452
 Pompe, de, 554-555
 enzima deficiente, 636
 Refsum, de, 636
 Tay-Sachs, 568, 733
 tres D, de las, 209
 Von Gierke, 495, 554-555
 enzima deficiente, 554
 Wilson, de, 1249
 Enfermedad carencial (*véase* Avitaminosis)
 Enfisema pulmonar, 817
 Enlace rico en energía, 247
 Enlace glicosídico (*véase* Glucosídico)
 Enlace glucosídico, 377, 391, 394-395
 determinación del, 395
 β -glucosídico, 401
 N-glucosídico, 416
 glucosídico-éster, 416
 Enlace peptídico, 51-54
 ángulos diédricos del, 52-55

- biosíntesis del, 51
 configuración trans del, 54
 dimensiones del, 51-53
 estructuras resonantes del, 51-52
 I, 52
 II, 52
 Enodiol, sal de, 372-373
 1-2-enodiol, 372
 Enoil hidratasa (*véase* Δ^2 endil-CoA hidratasa)
 Δ^2 enoil-CoA hidratasa, 627, 630, 633
 Enoil reductasa, 600, 602
 Enolasa, 454
 Enol-fosfatos, 254
 Entalpimetría, 232-233
 Entalpiómetro, 238
 Entalpia, 231-233
 estándar, 238
 molar, 232
 estándar, 238
 de reacción, 232
 Enteroglucagón, 1199, 1203
 Enteropeptidasa, 812
 Entner-Doudoroff, ruta de, 524
 Entropatía(s), 228-237, 252
 absoluta estándar, 238
 Enzima(s), 3, 89-166
 acción catalítica de la(s), 89, 96-102
 ejemplo de la, 98-102
 aclaramiento de la circulación de la, 160
 activada por metal, 113
 actividad de la(s), 117-118, 139-159
 control de la, 139-159
 factores que afectan a la, 159-160
 actividad específica de la(s), 117
 actividad molecular de la(s), 117
 alostérica(s), 135, 149-159
 cinética de saturación de, 136-137
 clasificación de las, 102-106
 con cooperatividad positiva, características cinéticas de las, 154
 con cooperatividad negativa, características cinéticas de las, 154
 sin cooperatividad, características cinéticas de las, 154
 conocimiento de la(s), 3-4
 constante catalítica de la(s), 117
 en diagnóstico clínico, 159
 especificidad de las, 92-94
 grupos catalíticos de la(s), 95
 interconvertible(s), 157-159
 control en cascada de la(s), 158
 regulación de la(s), 157-159
 liberación a la circulación de la, 160
 multifuncional(es), 146
 nomenclatura de la(s), 102-106
 número de recambio de la(s), 117
 producción de, cambios en la, 160
 como reactivos en el laboratorio, 163-166
 regulación de la eficiencia catalítica de la(s), 144-159
 sitio activo de la(s), 90
 sitio alostérico de la, 91, 148, 154
 sitio catalítico de la(s), 90, 92-95, 144, 148
 sitio regulador de la(s), 148
 sitio de unión al sustrato de la(s), 89-90
 Enzima condensante, (*véase* β -cetoacil ACP sintasa)
 Enzima degradadora de la ubiquitina conjugada, 834
 Enzima desramificante $\alpha(1 \rightarrow 6)$ glucosidasa, 398, 535
 defectos en la, 553-555
 Enzima málica [(*véase* Malato deshidrogenasa (NADP⁺))]
 Enzima ramificante, 530, 532-533
 deficiencia en la, 553-555
 Enzima(s) de restricción, 8, 925, 943-946, 951
 Hind III, 954
 tipo I, 943
 tipo II, 943
 tipo III, 943-944
 Enzima de transcripción revertida (*véase* Transcripción inversa)
 Enzimología clínica, 159-166
 Eosinófilo(s), 1258
 Epimerasa (*véase* Isomerasa), 105
 Epimero, 363
 Epitopo, 1363
 Equilibrio
 constante de (*véase* Constante de equilibrio), 115, 240
 de una reacción, 111
 químico, 239-243
 termodinámico, 227
 Equilibrio ácido-base, 27
 sangre en la, 1345-1355
 Equilibrio de Donnan, 30
 Erlemeyer, 3
 Ergocalciferol (*véase* Vitamina D₂)
 Ergosterol, 772-774
 estructural del, 774
 Eritroblasto basófilo, 1262
 Eritroblasto ortocromático, 1262-1263
 Eritroblasto policromático, 1261-1263
 Eritrocito(s), 1255, 1258
 aspectos bioquímicos del, 1265-1276
 ciclo de las pentosas en el, 1272-1273
 glucólisis en el, 1267-1270
 membrana del, 1266-1267
 metabolismo del glutatión en el, 1274
 trastornos patológicos que afectan a los, 1277-1282
 vías metabólicas en el, 1268
 Eritromicina, 1007, 1009
 Eritropoietina, 1124
 Eritropoyesis
 megaloblástica, 1256
 regulación de la, 1263-1265
 Eritropoyetina, 1263-1265
 células sensibles a, 1261
 mecanismo de acción de la, 1264-1265
 producción de, 1264
 Eritrosa, 361
 Eritrosa-4-fosfato, 517-518, 523
 D-eritrosa-4-fosfato, 381-382
 estructura de la, 382

- interés metabólico de la, 381
 Eritrulosa, 362
 Esciclitol (*véase* Esciloimositol)
 Esciloimosito, 389
 Escorbuto, 216, 526
 Escualeno, 645-646, 650-653, 655
 Escualeno oxidoclasa, 654-655
 Escualeno sintasa, 653-654
 Esfingena (*véase* Esfingosina)
 Esfingofosfatidicolina, 566
 Esfingoglicolípidos, 566-568
 Esfingolípidos, 565-568
 biosíntesis de, 724-729
 degradación de, 730-733
 interrelaciones entre los, 725
 membrana de, 1055-1058
 Espingomielina, 566, 724
 biosíntesis de, 727-728
 degradación de, 730-732
 Esfingomielinasa, 730
 deficiencia de, 732
 Esfingosina, 565-566, 724-727, 730
 biosíntesis de, 726
 Esfingosina fosforilcolina, 727
 Especificidad
 enzimática, 92
 de función, 93
 Espectrina, 1081, 1267, 1469
 Espectroscopia de polarización de fluorescencia, 82
 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear, 81
 Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica, 81
 Espermidina, 830
 síntesis de, 866
 Espermina, 830
 síntesis de, 866
 Esquizofrenia, 1452
 Estado estacionario, 139-140, 237
 Estado quiescente, 1207
 Estanoles, 573
 Estaquitosa, 394
 distribución, 394
 estructura, 394
 Ester
 Cori, de (*véase* Glucosa-1-fosfato)
 Harden-Young, de (*véase* Fructosa-1,6-bifosfato)
 Neuberg, de (*véase* Fructosa-6-fosfato)
 Robinson, de (*véase* Glucosa-6-fosfato)
 Esterano, anillo de, 570-571
 Estercobilina, 1340
 Estereoespecificidad, 33
 Estereoisomería, 39
 Estereoisómero(s), 39-40
 Estéridos, 573
 Esteroides, 570-573
 estereoisomería de los, 571
 naturales, 571
 Esterol(es), 572-573
 Estradiol, 1162, 1167
 17- β -estradiol (*véase* Estradiol)
 Estreptomina, 1007-1008
 estructura de la, 1008
 Estreptoquinasa, 1314-1315
 Estrógeno(s), 1123, 1161-1162
 biosíntesis de, 1167-1168
 función de los, 1171-1172
 metabolismo del calcio, papel en los, de los, 1235
 metabolismo óseo, papel en el, 1235
 Estroma, 297-299
 Etanolamina quinasa, 707-708
 Eucromatina, 940
 Euphrussi, 7
 Exon, 978
 Exopeptidasa, 8112-813
 Evans, 787
 F₄₂₀, 211, 220
 estructura del, 212
 Factor ρ , 972, 1016
 Factor V, 1306
 características del, 1298
 Factor VII, 1303
 características del, 1298
 Factor VIII, 1305
 características del, 1298
 Factor IX, 1302-1303
 características del, 1299
 mecanismo de activación del, 1304
 Factor X, 1296, 1301, 1303, 1306
 características del, 1299
 mecanismo de activación del, 1304
 Factor XI, 1301-1302
 características del, 1299
 Factor XII, 1301
 características del, 1299
 Factor XII, 1306, 1311-1312
 características del, 1299
 Factor antiacrodinia (*véase* Vitamina B₆), 184
 Factor antianemia perniciosa (*véase* Vitamina B₁₂)
 Factores de crecimiento, 1210-1219
 estructura de los, 1211-1214
 función de los, 1211-1214
 mecanismo de acción de los, 1215-1219
 receptores de los, 1214-1215
 Factor de crecimiento celular hematopoyético (*véase* Interleucina 3)
 Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), 1210-1211
 propiedades del, 1211
 Factor de crecimiento epidérmico (EGF), 1210-1212
 propiedades del, 1211
 receptor del, 1214-1215
 Factor de crecimiento implicado en la transformación (TGF- β), 1214, 1222
 Factor de crecimiento nervioso (NGF), 1210, 1213
 propiedades del, 1211
 Factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF),
 tipo I, 1193
 tipo II, 1192-1193, 1211-1213
 Factor Christmas (*véase* Factor IX)
 Factor de elongación
 eucariotas, 1005

- eEF1 α , 1005
 eEF1 β , 1005
 eEF1 γ , 1005
 eEF2, 1005
 procariota, 1000-1003
 EFTs, 1001
 EFT μ , 1000
 Factor extrínseco (*véase* Vitamina B₁₂)
 Factor F₄₃₀, 220-221
 estructura del, 221
 Factor Fitzgerald (*véase* Quinínogeno de alto peso molecular)
 Factor Fletcher (*véase* Precalicerina)
 Factor Hageman (*véase* Factor XII)
 Factor de iniciación
 eucariotas, en
 factor eIF3, 1004
 procariotas, en
 IF1, 1000
 IF2, 1000
 IF3, 1000
 Factor de necrosis tumoral, 1259
 Factor de liberación
 procariota, 1003
 RF1, 1003
 RF2, 1003
 RF3, 1003
 Factor proteico animal (*véase* Vitamina B₁₂)
 Factor Stuart (*véase* Factor X)
 Factor de translocación, 1003
 procariota (EFG), 1003
 Factor de Von Willebrand, 1297, 1305
 Factor X (*véase* Biotina)
 FAD
 función bioquímica del, 169, 211-213
 estructura de, 210
 estados de oxidación, 211
 FADH₂, energía libre estándar de oxidación 262
 Faraday (F), 260
 Farnesil-difosfato (*véase* Farnesil-pirofosfato)
 Farnesil-difosfato sintasa, 653-654
 Farnesil-pirofosfato, 650-653
 Fehling, solución de, 373
 Felig, 888
 Fenilalanina, 35, 36, 43, 47, 810, 837
 catabolismo de la, 846-847
 Fenilhidracina, 369
 Fenilhidrazona, 370
 Fenilosarona, 370
 Feniltiohidantoína, 44-45
 Fenobarbital, inducción de la hipocalcemia por, 787
 Feofitina, 306
 Fermentación, 2-5
 alcohólica, 2-5, 457
 láctica, 456-457
 tipos de, 458
 Fermento, 3
 Feromonas, 1119
 Ferredoxina, 271, 305
 Ferritina, 1244
 Ferrosulfoproteínas
 asociadas a los citocromos b y c, 271
 asociadas al canal NAD, 271
 asociadas al canal del succinato, 271
 α 1-fetoglobulina, 1289, 1292
 α -fetoproteína, 1168
 Fibrin(s) muscular(es)
 clasificación de las, 1457
 lenta, 1456
 rápida, 1456
 Fibrina, 1310-1316
 red de, 1296, 1311
 formación de la, 1306
 Fibrinógeno, 1306
 estructura del, 1310
 Fibrinólisis, 1314-1316
 Fibroína, 65
 Ficobilinas, 300-302
 Ficobiliproteína, 300
 Ficocianobilina, 300
 estructura de la, 301
 Ficoeritrobilina, 300
 Filamina, 1469
 Filmer, 151
 Filoquinona (*véase* Vitamina K₁), 168, 794
 Fimbrina, 1469-1470
 Fischer, emil, 3-4, 1319
 modelo de, 94
 representación de, 561
 Fischer-Rosanoff, convención de, 38
 Fisiología, 1
 Fiske, 5
 Fitoesfingosina, 724
 Fitoeno, 768
 Fitoflueno, 768
 Flajelos
 axonema de, 1473
 movimiento de, 1473-1474
 Flavínadenin dinucleótido (*véase* FAD)
 Flavín mononucleótido (*véase* FMN)
 Floretina, 1096, 1110
 estructura de, 1111
 Floricina, 1110-1111
 estructura de la, 1111
 Flujo de absorción intestinal, 583-584
 Flúor, 1249-1250
 1-flúor-2,4-dinitrobenceno, 45-46
 Fluoruro de metil-fenil sulfonilo (*véase* PMSF)
 fMet-tRNA, 989-990, 1000, 1004
 FMN, 210
 estados de oxidación, 211
 función bioquímica del, 169, 211-213
 estructura de, 210
 Fodrina, 1469-1470
 Folitropina, 1122, 1154-1155
 Folkers, 184, 189
 Formilmetionina, 1000, 1004
 Formilmetionina deformilasa, 1003
 Fosfágenos (*véase* Fosfoguanidinas)
 Fosfatasa ácida, 160
 aplicación clínica de la, 161
 distribución tisular de la, 161
 Fosfatasa alcalina
 aplicación clínica de la, 161
 distribución tisular de la, 161

- inducción de la síntesis de la, 160
 Fosfatidato fosfohidrolasa, 612-613
 Fosfatidilcolina, 563-564
 biosíntesis de, 707, 709-711
 Fosfatidiletanolamina, 564, 704-711
 biosíntesis de, 707
 Fosfatidiletanolamina metiltransferasa, 707-708
 Fosfatidilglicerol(es), 563-564, 703-705
 biosíntesis de, 715-716
 Fosfatidilglicerol fosfatasa, 715-716
 Fosfatidilglicerol fosfato sintasa, 715-716
 Fosfatidilinositol, 1136-1140
 Fosfatidilinositoles, 563-564
 biosíntesis, 714
 Fosfatidilinositol bisfosfato, 1137
 Fosfatidilinositol fosfodiesterasa, 1137-1138
 Fosfatidilinositol sintasa, 715
 Fosfatidilserina, 564, 713
 biosíntesis de, 713
 en bacterias, 704
 Fosfatidilserina descarboxilasa, 711
 Fosfatidilserina sintasa, en bacterias, 705
 Fosfato de piridoxal (PLP), 185, 824-825
 α -descarboxilación, en la, 829
 enzimas dependientes de, 186
 función bioquímica del, 169
 mecanismo de acción del, 186
 papel en la biosíntesis de neurotransmisores,
 187-189
 transaminación, en la, 826
 Fosfoacilglicérido (véase Fosfoglicérido)
 Fosfoanhidridos, 248-253
 Fosfodiesterasa
 en el control de la lipólisis, 619-621
 efecto de los factores de crecimiento sobre la,
 1217
 GMP_c, papel en la respuesta hormonal de la,
 1133
 Fosfoenolpiruvato, 466, 475-476, 502
 energía libre de hidrólisis del, 254
 estructura del, 254
 síntesis del, en la glucólisis, 454-455
 Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, 476-478, 490,
 497
 Fosfoetanolamina citidiltransferasa (véase CDP-
 etanolamina sintasa)
 Fosfofructoquinasa, 449, 463-466
 efectores alostéricos de la, 464
 6-Fosfofructoquinasa, 140
 3-fosfo-D-gliceraldehído, 381
 estructura del, 381
 interés metabólico del, 381
 2-Fosfoglicerato, 453-454
 3-Fosfoglicerato, 313-314, 453-454
 Fosfoglicerato quinasa, dominio II, 71-72
 Fosfoglicérido(s), 562-565
 biosíntesis de
 en tejidos animales, 706-717
 en bacterias, 703-706
 degradación de los, 717-722
 estructura de los, 562-563
 membrana de, 1055-1058
 metabolismo de, regulación del, 724
 β -fosfoglucomutasa, 105
 Fosfogluconato
 vía del (véase Vía de las pentosas-fosfato), 501
 6-Fosfogluconato deshidratasa, 524
 Fosfoguanidinas, 254-255
 energía libre de hidrólisis de las, 254
 Fosfolamban, 1108
 Fosfolipasa, 717-722
 A₁, 717-719
 A₂, 563, 580, 717-722
 dominios estructurales en la, 72
 B, 563, 717-721
 C, 717-721
 papel en la respuesta a factores de crecimiento
 de la, 1218
 papel en la respuesta hormonal de la, 1133
 D, 717-722, 723
 L₁, 717-720
 L₂, 717-720
 metabolismo del ácido araquidónico, en el, 742
 Fosfolípidos, 579
 4'-Fosfopantoteína, 597, 602
 estructura de la, 597
 Fosfoproteína fosfatasa-1, 550
 Fosfoproteína fosfatasa-2, 550
 Fosforilación
 oxidativa, 266
 hipótesis de la, 278
 unida al sustrato, 265
 Fósforo, 1230-1231
 funciones del, 1231
 metabolismo del
 alteraciones del, 1236
 regulación del, 1232-1235
 Fosforriboflavina (véase Vitamina B₂)
 Fosforribosilamina, 903-904
 síntesis de la, 904
 Fosforribosil aminoimidazol carboxamida formil
 transferasa, 905
 Fosforribosil aminoimidazol carboxilasa, 905
 Fosforribosil aminoimidazol sintetasa, 905
 Fosforribosil-N-formil-glicinamida sintetasa, 905
 Fosforribosil pirofosfato (PRPP), 903-910, 912-915
 síntesis del, 903
 Fotofosforilación, 310-313
 cíclica, 310
 estequiometría de la, 312-313
 mecanismo de la, 310-312
 no cíclica, 310
 Fotorrespiración, 329-333
 Fotosíntesis, 297-313
 esquema global de la, 298
 flujo de electrones
 cíclico, 309
 entre los dos fotosistema, 308-309
 no cíclico, 309
 reacciones fotoquímicas de la, 302-306
 reacciones primarias de la (véase Reacciones fo-
 toquímicas)
 Fotosistema I (PSI), 304-306
 complejo central del, 305
 complejo periférico colector de luz del, 305
 componentes del, 305

- Fotosistema II (PSII), 304-306
 complejo central del, 305
 complejo periférico colector de luz del, 305
 componentes del, 305
 reacciones asociadas al, 306-308
 Fotorrecepción, 1512-1519
 cascada de la, 1517
 Fotorreceptores, estructura de los, 1503-1506
 Fourier, transformada de, 80-81
 Fóvea, 1522
 Frank, H., 14
 Franklin, 923
 Frazer, 577
 Friend D. S., 1405
 α -D-fructofurano, 367
 β -D-fructofurano, 367
 β -D-fructofuranosidasa, 395
 Fructoquinasa, deficiencia de, 439, 431
 Fructosa
 absorción de la, 430-431
 en alimentación intravenosa, 441
 D-fructosa, 363, 370-373
 forma enólica de la, 373-373
 papel biológico de la, 383-384
 intolerancia a la, 439-441
 L-fructosa, 372
 metabolismo de la, 432-435
 Fructosa-bisfosfatasa, 140
 Fructosa-1,6-bisfosfatasa, 463-466, 479, 491, 495, 498
 Fructosa-2,6-bisfosfatasa, 464-465
 Fructosa-1,6-bisfosfato, 479-480
 estructura de la, 384
 Fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa, 433, 440, 449-450,
 514-518
 en el ciclo de las pentosas-fosfato, 506, 509
 deficiencia en, 439
 mecanismo de acción de la, 510-511
 Fructosa-6-fosfato, 448-449
 estructura de la, 384
 Fructosa-1-fosfato aldolasa, 433, 440
 inhibición en la, 441
 FSH (véase Folitropina)
 L-fucosa
 estructura de, 388
 papel biológico de la, 388
 Fucoxantina, 765
 Fuerzas(s)
 covalentes, estructura de proteínas en, 58
 electrostática(s), 56
 entrópicas, 57-58
 Van der Waals, de (véase Van der Waals, fuerzas
 de)
 Fuerza electromotriz (véase Potencial redox)
 Fuerza electrostática, 19
 Fuerza protonmotriz, 311
 Fuerza vital, 3
 Fumarasa, 105, 346
 Fumarato hidratasa (véase Fumarasa)
 Funk, C., 167, 180
 Furano, 366
 Furanosa, estructura de, 365
 Furfural, 379
 Furosemia, 1111
 Gaba, 811, 1149
 degradación de, 1444
 neurotransmisor, como, 1444-1445
 receptor de, 1115
 síntesis de, 1444
 Galactitol, 376
 papel biológico del, 377
 α -D-galactopiranosil (1-6) D-glucopiranososa (véase
 Melibiosa)
 α -D-galactopiranosil (1-4) D-glucopiranososa (véase
 Lactosa)
 Galactosa
 absorción de la, 430
 D-galactosa, 361, 363, 406
 papel biológico de la, 383
 intolerancia a la, 442
 L-galactosa, 361
 metabolismo de la, 436
 reducción de la, 376
 Galactosamina
 estructura de la, 385
 N-acetil-D-galactosamina, 404-404
 N-acetil-D-galactosamina-4-sulfato, 405
 estructura, 405
 N-acetil-D-galactosamina-6-sulfato, 406
 estructura, 406
 papel biológico de la, 385
 Galactosa quinasa, 435-436
 deficiencia de, 442
 Galactosemia, 442
 α -D-galactosidasa, 395
 β -D-galactosidasa, 395, 732
 Gangliósido(s), 566-568, 724-725
 biosíntesis de, 728-730, 731
 degradación de, 733
 GM₁, 731
 GM₂, 731
 GM₃, 731
 Gangrena gaseosa, 819
 Gap junctions, 1091
 Gastrina, 1124, 1198-1199
 grande: G-34, 1198
 minigrastrina, 1198
 pequeña: G-17, 1198
 GDP, 919
 estructura del, 902
 Gelsolina, 1469
 Gen(es), 6-8
 clonaje de un, 944-945
 Gen V-src, 1223
 Genética, 1
 molecular, 924-963
 del desarrollo, 924
 Gentiana, 392
 Gentibiosa, 392-393
 distribución, 392
 estructura, 393
 Geranil-difosfato, 653
 Geranil difosfato sintasa, 653
 Gerhart, 148
 GH (véase Hormona del crecimiento)
 Gibson, 592
 Gigantismo, 1151

- Gilbert W., 946
 Glándula endocrina, 1119-1125
 Glucano (*véase* Polisacárido)
 Glicentina, 1203
 Gliceraldehído, 350-363
 estructura espacial del, 359
 estructura lineal del, 359
 reducción del, 376
 D-gliceraldehído, 39
 L-gliceraldehído, 39
 Gliceraldehído-3-fosfato, 449-452
 oxidación del, 451-453
 Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, 451-452
 estructura de la, 90
 Glicérido(s)
 de ácidos grasos, 585
 de cadena media (MCT), 585
 Glicerol, 376, 561-563
 como sustrato gluconeogénico, 485-488
 Glicerol deshidrogenasa, 103
 L-glicerol-3-fosfato, 93, 611-613, 615, 622
 Sn-glicerol-3-fosfato, 562-563
 Glicerol-3-fosfato acil transferasa, 612-613
 α -glicerol-3-fosfato dishidrogenasa, 487
 Glicerol: NAD⁺ óxido-reductasa (*véase* Glicerol deshidrogenasa)
 Glicerolquinasa, 93, 487, 611-612, 622
 reacción catalizada por la, 94
 en tejido adiposo, 622
 Glicina, 35, 36, 43, 47, 810
 en ácidos biliares, 661-662
 degradación de la, 1444
 equilibrio de ionización de la, 41
 hélice de colágeno, en la, 63
 neurotransmisor, como, 1444-1445
 síntesis de, 1444
 Glicoforina A, 78-79, 1067-1068, 1070, 1266-1267
 Glicogenina, 534
 Glicoproteínas, 413-417
 distribución, 417-418
 enlaces, 416-417
 estructura, 413
 fracción glucídica de las, 413-415
 determinación de la, 415
 fracción proteica de las, 415-416
 α_1 -Glicoproteína ácida, 1289, 1291-1292
 α_1 B-glicoproteína, 1295
 β_1 -glicoproteína específica del embarazo, 1295
 α_1 -T-glicoproteína, 1295
 Glicosaminoglucano(s), 385, 403-410
 clasificación, 403-404
 biológica, 403
 química, 404
 de secreción, 408-410
 estructurales, 403-408
 funciones de los, 407-408
 Glicosaminoglucuronoglucanos (*véase* Glicosaminoglucano)
 Glicosidasas, 104, 428-429
 Glicósido(s) (*véase* Glucósido)
 Glioxilasa, 841
 Globulina enlazante de corticosteroides (CBG) (*véase* Transcortina)
 Globulina enlazante de hormonas tiroideas, 1160, 1289, 1290
 Globulina GC, 1295
 Globulina ligadora de esteroides; (SHBG), 1168, 1289, 1294
 Glomset, 689
 Glucagón, 1123, 1193-1196
 efectos del, 1194-1196
 mecanismo de acción del, 1194-1196
 papel en el metabolismo hepático del glucógeno, 547-549
 papel en la gluconeogénesis, 492-493
 papel en la síntesis del colesterol, 657-658
 síntesis del, 1194
 tejidos diana del, 1196
 Glúcido(s) (*véase* Carbohidrato)
 Glucocorticoides, 1123
 biosíntesis de, 1165-1166
 función de los, 1171
 papel en la gluconeogénesis, 493-494
 metabolismo del calcio, papel en el, 1235
 metabolismo del fósforo, papel en el, 1235
 receptor de los, 1132
 Glucógeno, 392, 399-400
 degradación del, 534-535
 distribución del, 400
 estructura del, 399-400
 función del, 400
 metabolismo del, 530-550
 regulación del, 535-542
 regulación hormonal en el músculo del, 542-546
 regulación en el hígado del, 546-550
 muscular, 1484, 1488, 1493, 1497
 utilización del, 1486
 reserva de, 529-530
 síntesis del, 530-534
 Glucógeno fosforilasa, 400, 534-540, 550, 551
 activa
 estructura de la, 538
 déficit de, 553-555
 efectores alostéricos de la, 539
 muscular, 537, 1486
 Glucógeno fosfarilasa quinasa, 540, 543-545, 549-550
 Glucogenogénesis (*véase* Síntesis de glucógeno)
 balance energético de la, 550-552
 Glucogenolisis
 muscular, 1492
 Glucogenopatías, 553-555
 Glucógeno sintasa, 400, 532-534, 537, 541-542
 regulación de la
 por adrenalina, 543-545
 por fosforilación, 541-542
 por insulina, 545-546
 por metabolitos, 542
 Glucogenosis tipo I (*véase* Von Gierke, enfermedad de), 495
 Glucólisis, 445-472
 balance energético de la, 461-462
 cerebro, en el, 1423

- control de la, 467-472
 enzimas de la,
 regulación de las, 462-467
 estequiometría de la, 461-462
 etapas de la, 446-455
 Gluconeogénesis, 473-500
 alteraciones de la, 494-495
 balance energético de la, 480
 control hormonal de la, 492-492
 enzimas de la
 regulación de las, 488-492
 estequiometría de la, 480
 etapas de la, 473-480
 metabolitos intermediarios de la, 475
 sustratos principales de la, 480-488
 D-gluconitrilo, 371
 Gluconolactona, 375
 δ -gluconolactona, 375
 γ -gluconolactona, 375
 α -D-glucopiranososa, 367
 β -D-glucopiranososa, 367
 α -D-glucopiranosil (1-2) β -D-fictofuranosa (*véase* Sacarosa)
 α -D-glucopiranosil (1-4) D-glucopiranososa (*véase* Maltosa)
 α -D-glucopiranosil (1-1) α -D-glucopiranososa (*véase* Trehalosa)
 β -D-glucopiranosil (1-4) D-glucopiranososa (*véase* Celobiosa)
 β -D-glucopiranosil (1-6) D-glucopiranososa (*véase* Gentibiosa)
 Glucoquinasa, 448-449, 463, 498, 1409
 Glucosa, 427-442, 445-498
 absorción de la
 activa, 431-432
 pasiva, 430-431
 α -glucosa, 364
 β -glucosa, 365
 D-glucosa, 361-363, 370-375, 396-402
 formas enólicas de la, 372-373
 oxina de la, 371
 papel biológico de la, 383
 polisacáridos ramificados de la, 396-401
 L-glucosa, 361-362
 homeostasis de la, 552-553
 metabolismo de la
 en las células intestinales, 432
 papel en el metabolismo de la, 436-438
 paradoja de la, 550
 reducción de la, 376
 transportadores de, 445-446
 Glucosa-6-fosfatasa, 491
 Glucosa-1-fosfato
 estructura de la, 384
 Glucosa-6-fosfato, 503-505, 515-516
 estructura de la, 384
 en la gluconeogénesis, 530, 539, 542, 549-553
 Glucosa fosfato isomerasa, 479
 β -L-glucosa-1,6-fosfomutasa (*véase* β -fosfoglucomutasa)
 Glucosamina
 N-acetil-D-glucosamina, 386, 402-404
 en mucosil sulfatos, 409
 en perptidoglicanos, 410
 N-acetil-D-glucosamina-6-sulfato, 406-407
 D-glucosamina-6-sulfato
 D-glucosamina-N-sulfato, 408
 estructura de la, 385
 papel biológico de la, 385
 Glucosaminoglucano (*véase* Glicosaminoglucano)
 Glucosa oxidasa, 93, 375
 Glucosidasas (*véase* Glicosidasas)
 α -D-glucosidasa, 395
 β -D-glucosidasa, 395
 Glucósido(s), 377-378
 Glucosiltransferasas, 104
 Glumitocina, 1156
 L-glutamato: amonio ligasa, 106
 Glutamato descarboxilasa, 830, 1444
 Glutamato deshidrogenasa, 103, 325, 825, 827, 828, 841
 aplicación clínica, 161
 distribución tisular de la, 161
 Glutamato/oxaloacetato transaminasa (GOT) (*véase* Aspartato aminotransferasa)
 L-glutamato: NAD óxidoreductasa (*véase* Glutamato deshidrogenasa)
 Glutamato/piruvato transaminasa (GPT) (*véase* Alamina aminotransferasa)
 Glutamato semialdehído deshidrogenasa, 842, 844
 Glutamato sintasa, 324
 γ -glutamil-cisteinillicina (*véase* Glutathion)
 γ -glutamil transferasa, 823
 aplicaciones clínicas de la, 161
 distribución tisular de la, 161
 γ -glutamil transpeptidasa (*véase* γ -glutamil transferasa)
 Gramicidina S, 1006
 Glutamina, 35, 37, 43, 47, 324, 810, 841, 881-886
 metabolismo de la, 856-858
 en hígado, 858
 en riñón, 857
 vías metabólicas de la, 882
 Glutaminasa, 857-858, 882, 883-884
 hepática, 884
 renal, 884
 Glutamina sintetasa, 324, 856-858, 869, 882-883
 características de la, 883
 isoenzimas de la, 870
 localización de la, 858
 Glutaminasa activada por el fosfato (*véase* Glutaminasa)
 Glutathion
 síntesis de, 866-867
 Glutathion reductasa
 representación esquemática de la, 70
 Glutathion sintetasa, 823, 868
 GMP, 901, 908, 910
 síntesis del, 906
 GMPc, 1515-1517
 como mensajero de la función luminica, 1518-1519
 GMPc fosfodiesterasa, 1515-1517, 1522
 Goma arábica, 402
 distribución, 402
 estructura, 402

- utilidad, 402
 Goldman, 593
 Goldstein, 685
 Gonadoliberina, 1122, 1147
 estructura de la, 1147
 Gonadotropina(s), 1154-1155
 Gonadotropina coriónica, 1123, 1154
 Gota, 900, 910
 Gorter, 1061-1062
 Granulocito(s), 1258
 Green
 complejos de, 271, 292
 Greenberg, 903
 Grendel, 1061-1062
 GRH (véase Somatoliberina)
 Grinjs, 180
 Gn RH, (véase Gonadoliberina)
 Grupos catalíticos, 95-96
 Grupo prostético, 91, 170
 GTP
 síntesis del, 907
 Guanasa, 910
 Guanina, 910, 926
 estructura de la, 900
 Guanitato (véase GMP)
 Guanosina, 900, 910, 926
 Guanosina-5-fosfato sintetasa, 906
 Guanosina monofosfato (véase GMP)
 Guillemin, 1148
 Gulonolactona oxidasa, 524-527
 ausencia de, 527
 Gulosa, 361
 György, 177, 184
- Haldane, 4, 121, 1527
 aproximación de, 247
 Hapteno, 1378
 Haptoglobina, 1289, 1293
 Harden, 445
 Harden-Young
 éster de (véase Fructasa-1,6-bisfosfato)
 Harris, 177, 184
 Hawor T. H.
 método de, 397, 399
 proyección de, 365-367
 HDL, 669-701
 HDL_{2a}, 687-689
 HDL_{2E}, 687-688
 HDL₃, 687-688
 características de las, 670
 metabolismo de las, 687-689
 nacientes(s), 589, 687
 pequeñas, 687
 Heinz
 cuerpos de, 1279
 Helicasa, 934
 α -hélice, 60-61, 68, 71
 doble espiral de, 67-68
 en proteínas transmembrana, 75
 Hélice 3₁₀, 60, 62, 66
 Hélice de colágeno, 60, 62-64
 Helmont, Jan Baptista van, 2
- Hematopoyesis, 1255-1263
 adultos, en, 1257-1263
 fases de la, 1255-1256
 prenatal, 1256
 periodos de las, 1256
 Hemicelulosa(s), 402-403
 distribución, 403
 estructura, 402
 utilidad, 403
 Hemler, 746
 Hemofilia
 A, 1298
 B, 1299
 Hemoglobina, 27
 A (Hb A), 1325
 B (Hb B), 1330
 C (Hb C), 1330
 E (Hb E), 1330
 biosíntesis de, 1325-1327
 Hb constant-spring, 1333
 dominios estructurales en la, 72
 drepanocitaria (véase Hb S), 1329
 embrionaria, 1256
 fetal, 1256
 metabolismo de la, 1317-1322
 métodos de detección de las, 1329
 Portland, 1325
 Hb Gower 1, 1325
 Hb Gower 2, 1325
 Hb Gunhill, 1333
 Hb Hiroshima, 1333
 Hb Hopkins, 1331
 Hb Kenya, 1333
 Hb Lepore, 1333
 M (Hb M), 1280, 1331
 Boston, 1331
 Hyde-Park, 1331
 Iwake, 1331
 Milwauke, 1331
 Saskatoon, 1331
 S (Hb S), 1280, 1328, 1330
 Hb Wayne, 1333-1334
 Hemoglobinopatías, 85, 1279, 1327-1334
 clasificación de las, 1329-1333
 origen genético de las, 1333-1334
 Hemopexina, 1289, 1294
 Hemosiderina, 1245
 Hemosiderosis, 1246
 Hemostasia, 1295
 Hemostasis sanguínea
 regulación de la
 por los cicosanoides, 757-759
 Henderson-Hasselbalch
 ecuación de, 23, 25, 1349, 1359
 Hendrick, 180
 Henry, 4, 121
 Henseleit, 871
 Heparina, 385, 408-409, 527, 1313-1314
 distribución, 408
 estructura, 408, 409
 funciones, 408
 heparina(s) hipersulfatada(s), 408
 heparina sulfato, 408

- Hepatocito(s), 1401-1420
 aislamiento de, 1405-1407
 Hepatitis B
 terapia génica de la, 955, 957
 Hers
 enfermedad de, 554-555
 Hesperidina, 222, 224
 Hess
 ley de, 233, 238
 Heterocromatina, 940
 Heteroglicano(s) (véase Heteropolisacáridos)
 Heteropolisacárido(s), 402-410
 no nitrogenados, 402-403
 nitrogenados (véase Glicosaminoglucano), 403-410
 estructurales, 403-408
 de secreción, 408-410
 Heterosacárido (véase Heterósido(s))
 Heterósido(s), 377, 410-425
 Hexoquinasa, 104-433, 448-449
 hexoquinasa IV (véase Glucoquinasa)
 isoenzimas de la, 448, 463
 Hialuronidasa, 404
 Hibridación
 Northens, 933
 Southern, 933-934, 954
 Western, 933
 Hibridoma, 1377
 Hidracina, 946
 Hidrazona(s), 369-370, 395
 Hidrofóbica
 interacción, 17
 Hidrofobicidad, 50-51, 75-77, 1070-1073
 aminoácidos, de los, 1072
 Hidrógeno
 axial, 368
 DNA, en el, 932
 ecuatorial, 368
 puentes de, 12-17, 56-57
 Hidroliasa(s)
 subclases de, 104
 L(+)- β -hidroxiacil-CoA (véase L(+)-3-hidroxiacil-CoA)
 L(+)- β -hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, 630-631
 D(-)- β -hidroxiacil-CoA epimerasa (véase D(+)-3-hidroxiacil-CoA epimerasa)
 β -hidroxiacil deshidrasa, 599, 600, 605
 3-Hidroxiacil-CoA epimerasa, 636-643
 D(-)-3-hidroxiacil-CoA epimerasa (véase hidroxibutirato)
 D(-)- β -hidroxibutirato (véase hidroxibutirato)
 Hidroxicabalamina (véase Vitamina B_{12a}), 190-191
 estructura de la, 190
 25-hidroxicolecalciferol, 775
 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, 1162-1163
 1-hidroxilasa, 779, 781, 785
 11 β -hidroxilasa, 1162-1163
 21-hidroxilasa, 1162-1163
 24-hidroxilasa, 777, 785
 25-hidroxilasa, 777
 microsómica, 777
 mitocondrial, 777
 5-hidroxilisina, 36, 38, 63
 Hidroximetilfurfural, 379
- β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (véase HMG-CoA)
 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (véase HMG-CoA)
 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa (véase HMG-CoA liasa)
 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (véase HMG-CoA reductasa)
 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa (véase HMG-CoA sintasa)
 4-hidroxiprolina, 36, 38, 63
 Hidroxiurea, 1210
 Hielo, 13-14
 cristal de, 13-14
 Hierro, 1244-1246
 Hígado, 1401-1420
 células parenquimatosas del (véase Hepatocito)
 células no parenquimatosas del, 1405
 funciones de las, 1409
 estructura microvascular del, 1402-1405
 zonación metabólica del, 1414-1420
 Hill
 ecuación de, 136-137
 representación gráfica de la, 136
 coeficiente de, 137
 Hiperalfalipoproteinemia, 695
 Hiperamonemia, 880-881
 Hiperargininemia, 880
 Hipercolesterolemia, 692
 familiar (véase Hiperlipoproteinemia tipo IIa), 697
 Hiper Cromicidad, 932
 Hiperlipemia, 692
 Hiperlipemia familiar combinada, 697-698, 699
 Hiperlipoproteinemia, 692-699
 gestacional, 693
 primaria, 693, 694-699
 clasificación de las, 695
 secundaria, 693
 causas de, 692
 tipo I, 694-695
 tipo IIa, 695-697
 tipo IIb, 697-698
 tipo III, 698
 tipo IV, 698-699
 tipo V, 699
 Hipertrigliceridemia, 692
 Hipervitaminosis, 169
 Hipoalbuminemia, 1291
 Hipobetalipoproteinemia, 700
 Hipótesis, 1150
 Hipotaurina, 859
 Hipótesis, 1527
 de la simplicidad, 514
 Hipótesis de las aminos biógenas, 1452
 Hipótesis del balanceo, 989, 993-995
 Hipótesis conformacional, 291-295
 ATP_{asa}
 estructura y función según la, 294-295
 síntesis de ATP según la, 293-294
 transporte de protones según la, 292-293
 funcionamiento de la cadena respiratoria según la, 292
 Hipótesis química, 278-281
 Hipótesis quimiosmótica, 278, 281-291

- modificación de Skulachev, 289-290
 modificación de Williams de la, 288-289
 primera formulación de la, 281-286
 postulados de la, 281-283
 comprobación de los postulados de la, 283-286
 segunda formulación de la, 286-287
 tercera formulación de la, 287-288
 Hipótesis de la señal, 1031
 Hipoxantina, 900, 903, 906, 909
 Hipoxantina guanina fosforribosil transferasa, 908
 deficiencia en, 912
 Histamina, 1378
 liberación de, 1379
 síntesis de, 862
 Histidina, 35, 37, 43, 47, 810, 841, 662
 catabolismo de la, 841, 843
 Histidina descarboxilasa, 820, 830, 862
 Histidinasa, 841, 843
 Histona(s), 940-942
 H1, 940-942
 H2A, 940-942
 H2B, 940-942
 H3, 940-942
 H4, 940-942
 HMG-CoA, 637-638
 HMG-CoA liasa, 637-638
 HMG-CoA reductasa, 652, 654, 686, 664
 control de la, 657-660
 HMG-CoA sintasa, 637-638, 652
 Hn RNA, 977
 Hodgkin, 189
 Hofstee
 ecuación de, 125-127
 representación gráfica de la, 127
 en la inhibición no competitiva
 Holocarboxilasa sintetasa, 180
 Holoenzima, 91
 Holosacaridos (véase Holósido(s))
 Holósidos(s), 377, 391-410
 Homeostasis, 139
 Homobiotina, 180
 Homocisteína, 38, 858-859
 Homoglicano(s) (véase Homopolisacárido(s))
 Homopolisacárido(s), 396-402
 de reserva, 396-401
 estructurales, 401-402
 Hopano, 645-646
 Hopanoides, 645
 Hoppe-Seyller, Felix, 1
 Hormona(s) aminoácida(s), 1121
 antipolítica(s), 618-620
 biosíntesis de la(s), 1124-1127
 clasificación de las, 1121-1124
 concepto de, 1119-1121
 degradación de la(s), 1127-1128
 esteroideas, 1161-1172, 1121
 biosíntesis de las, 1162-1163
 metabolismo de las, 1168-1169
 mecanismos de acción de las, 1169-1172
 tipos de, 1162
 transporte de las, 1168-1169
 gastrointestinales(s), 1198-1204
 metabolismo del calcio, papel en el, 1235
 glicoproteicas, 1154-1155
 mecanismo de acción de las, 1154
 hipofisarias, 1150-1156
 hipotalámicas, 1145-1150
 metabolismo de las, 1149-1150
 precursores de, 1149
 lipolítica(s), 618-620
 pancreática(s), 1173-1198
 peptídica(s), 1121
 secreción de la(s), 1127-1128
 tiroideas, 1157-1161
 biosíntesis de las, 1158-1160
 mecanismos de acción de las, 1160-1161
 metabolismo del fósforo, papel en el, 1235
 secreción de las, 1160
 transporte de las, 1160
 transporte de la(s), 1127-1128
 vida media de las, 1128
 Hormona antiurética (véase Vasopresina)
 Hormona del crecimiento, 1122, 1150-1151
 concentración en plasma, 1151
 deficiencia de, 1151
 función de la, 1151
 metabolismo del fosforopapel de la, 1235
 Hormona estimuladora de las células intersticiales (véase Luteotropina)
 Hormona inhibidora de la liberación de melanotropina (véase Melanostatina)
 Hormona inhibidora de la liberación de prolactina (véase Prolactostatina)
 Hormona inhibidora de la liberación de somatotropa (véase Somatostatina)
 Hormona liberadora de corticotropina (véase Corticoliberina)
 Hormona liberadora de gonadotropina(s) (véase Gonadoliberina)
 Hormona liberadora de luteotropina (véase Gonadoliberina)
 Hormona liberadora de melanotropina (véase Melanoliberina)
 Hormona liberadora de somatotropa (véase Somatoliberina)
 Hormona liberadora de tiotropina (véase Tiroliberina)
 α_2 -HS-glicoproteína, 1295
 5-HT (véase Serotonina)
 Hunter
 síndrome de, 410
 Huntington
 Corea de, 1205, 952
 terapia genética de, 953-954
 Huso acromático, 1473
 Huxley A. F., 1466
 Huxley H. E., 1466
 Ictericias, 1337-1343
 Idiopático, 1371-1372
 L-itol, 376
 IDL, 667-701
 características de las, 670
 Imidazol
 anillo de, 900

- Iminoácido, 35
 IMP, 903, 906, 908-909, 920-922
 síntesis del, 905
 Impulso nervioso
 conducción de, 1426-1430
 Índice de yodo, 560
 Indometacina, 747
 Ingeniería genética, 943-963
 aplicaciones clínicas de la, 952-963
 cáncer E, 959-963
 Ingram, 85
 Inhibición enzimática, 128-135
 acompetitiva, 132-134
 representación gráfica de los dobles recíprocos, 134
 representación gráfica de Lineweaver y Burk, 134
 competitiva, 128-131
 esquema de la, 129
 representación de Lineweaver y Burk, 131
 Feed-Back, 148-149
 características de la, 149
 concertada, 149
 sistema acumulativo de, 149
 sistema sinérgico de, 149
 no competitiva, 131-132
 esquema de la, 129
 representación de Lineweaver y Burk, 133
 por sustrato, 134-135
 representación de la cinética de la, 135
 representación de los dobles recíprocos, 135
 Inhibidor, 128-135, 137
 Feed-Back, 148
 Inhibina, 1123, 1154-1155
 Inmunoglobulina, 1363-1380
 cadenas de las, 1364
 cadena alfa (α), 1364
 cadena delta (δ), 1364
 cadena épsilon (ϵ), 1364
 cadena gamma (γ), 1364
 cadena kappa (κ), 1364
 cadena lambda (λ), 1364
 cadena mu (μ), 1364
 clases de
 Ig A, 1367-1371
 Ig D, 1367-1371
 Ig E, 1367-1371
 Ig G, 1367-1371
 Ig M, 1367-1371
 región constante de la, 1365
 propiedades de las, 1376-1380
 región de soporte de la, 1365
 región variable de la, 1365
 segmentos génicos de las, 1373-1376
 segmentos hipervariables de las, 1365
 síntesis de las, 1372-1376
 V_L
 dominios estructurales en la, 72
 Inmunología, 1361
 Inmunoterapia
 génica, 961-963
 Inosina, 989, 994
 estructura de la, 992
 Inosina-5'-fosfato deshidrogenasa, 906, 908
 Inosinicasa, 906
 Inositol(es), 388-389
 D-inositol, 389
 L-inositol, 389
 estructura de los, 389
 papel biológico de los, 389
 como vitamina, 222-223
 Inositolfosfátidos, 389
 Inositol-1, 3, 4, 5-Tetrakisfosfato, 1139
 Inositol trifosfato, 1137-1138
 α , β -insaturado-acil reductasa (véase Enoil reductasa)
 Insulina, 1123, 1173-1193
 biosíntesis de la, 1177-1180
 dominios estructurales de la, 72
 efecto antipolítico de la, 618-621
 efectos de la, 1185-1189
 sobre el metabolismo de la glucosa
 sobre el metabolismo de lípidos, 1186-1187
 estructura primaria de la, 1176
 estructura terciaria de la, 1177
 gen de la
 clonaje del, 952-953
 mecanismo de acción de la, 1191-1192
 papel en la glucólisis, 470
 papel en la gluconeogénesis, 490, 493
 papel en el metabolismo de la vitamina D, 779
 papel en la síntesis del colesterol, 657-658
 receptor de la, 1191-1192
 regulación del metabolismo muscular del glucógeno por, 545-546
 secreción de la, 1179, 1180-1185
 control de la, 1184
 Intercambiador de aniones (véase Banda 3)
 de los eritrocitos
 Intercambiador Cl^- - HCO_3^-
 dependiente de Na^+ , 1111-1113
 regulación del, 1113
 independiente de Na^+ , 1112-1113
 regulación del, 1113
 Intercambiador Na^+ - Ca^{2+} , 1106, 1111
 Intercambiador Na^+ - H^+ , 1111-1112
 Interfase, 1208-1209
 Interferón, γ , 1214
 Inter- α_1 -Inhibidor de la tripsina, 1289, 1293, 1313
 Interleucina-1, 1259, 1386-1388
 Interleucina-2 (IL-2), 1211-1214, 1389-1390
 Interleucina-3, 1259
 mecanismo de proliferación de la, 1259-1260
 Interleucina-4, 1360
 Interleucina-5, 1389-1360
 Interleucina-6, 1389-1360
 Interneuronas, 1421
 Intolerancia hereditaria a la fructosa, 495
 Intron, 949, 978, 980
 eliminación de, 979
 Inulina, 400-401
 distribución, 401
 estructura, 400-401
 funciones, 401

- Invertasa, 395
 Ion(es), 11-32
 hidrógeno (H⁺), 17-28
 hidronio (H₃O⁺), 18-19
 hidroxilo (OH⁻), 17-28
 pares de, 19
 Islotes de Langerhans
 células α , de los 1174, 1184
 células β , de los 1174-1181
 células δ , de los 1174, 1197
 células A (véase Células α)
 células B (véase Células β)
 células D (véase Células δ)
 células F (véase células PP)
 células PP, de los 1174, 1197
 Isomaltasa, 398
 Isocitrato
 oxidación del, 343-344
 Isocitrato deshidrogenasa, 343-344
 aplicación clínica de la, 162
 fuente de NADPH citoplasmático, 594
 Isoenzimas, 106-107, 149
 Isolucina, 35, 36, 43, 47, 810, 846
 degradación de la, 849
 Isomaltasa (véase α -dextrinasa), 428
 Isomerasa(s)
 subclases, 105
 Isomería espacial, 360
 forma L⁻, 360
 forma D⁻, 360
 Isomería óptica, 363-364
 Isómero L, 360
 N⁶-Isopenteniladenosina, 992
 Isopentenil-difosfato (véase Isopentenil-pirofosfato)
 Isopentenil-difosfato isomerasa, 653-654
 Isopentenil-pirofosfato, 650-654
 Isopreno, 569
 Isoprenoides (véase Terpenoides)
 Isotiocianato de fenilo, 44-45
 Isotipo, 1364
 Isotocina, 1156
 Isovitamina D₂, 776
 Isozimas (véase Isoenzimas)
 Itano, 1329
- Jabones, 560
 Jacob, 924, 1013
 Jansen, 180
 Juego de las pentosas fosfato, 1545-1552
 Juego pancreático, 579, 581
 Julio (J), 260
 Jungermann, K., 1414
- Kalcar, 5
 Kanamicina, 1009
 Karrer, 787
 Kasugamicina, 1009
 Katal (Kat), 118
 Kekulé, 3
 Kendrew, 7
 Khorana, G., 987
- Kimball, 1193
 Knnoop, F., 5-6, 623
 Kögl, 177
 Koshland, 94, 151
 modelo de (véase Modelo del ajuste inducido)
 Kostytschew, S., 4
 Krebs, 3, 335, 871
 ciclo de, (véase ciclo del ácido cítrico), 333-353
 Kritzmann, 5
 Kühn, 5, 184
 Kühne, W., 3
- Lactasa
 deficiencia de, 438
 Lactato
 síntesis de
 en la glucólisis, 456-457
 Lactato deshidrogenasa, 91, 94, 481, 827
 aplicación clínica de la, 161-162
 características funcionales de las, 107
 distribución de tejidos de la, 107, 161
 dominios estructurales en la, 72
 isoenzimas de la, 106-107, 456
 subunidades de la, 107
 Lactógeno placentario (véase Somatomotropina coriónica)
 Lactona gamma, 375
 Lactosa, 392
 distribución, 392
 estructura, 393
 Lámina β , 64-66
 antiparalela, 64-66, 69, 71
 paralela, 64-66, 68-69, 71
 en proteínas transmembrana, 75
 Land, 746
 Landsteiner, 3
 Lanosterol, 654-656
 Lanosterol ciclasa, 654-655
 Langerhans, P., 1173
 islotes de, 1173
 Langly, 1130
 Lanzadera
 3-fosfoglicerato/dihidroxiacetona-fosfato, 324, 459-460, 462
 malato-aspartato, 460-462, 485
 de oxaloacetato, 482-485
 Lastre redox, 272-273
 LCAT, 563, 677-679, 689, 691
 actividad catalítica de la, 677-678
 características, 677-678
 deficiencia en, 700
 sitios activos, 677
 LDL, 667-701
 características de las, 670
 metabolismo de, 684-687
 receptor de (véase Receptor B/E)
 Lecitina (véase Fosfatidilcolina), 563-564
 Lecitina-colesterol acil transferasa (véase LCAT)
 Leghemoglobina, 327
 Lek (véase Leu-encefalina)
 Leucina, 35, 36, 43, 47, 810, 846, 855
 degradación de la, 848

- Leucina aminotransferasa, 848, 852
 Leucocitos, 1255
 Leucodistrofia metacromática (véase Sulfatidosis), 732-733
 Leucotricenos (LT), 735, 737-739
 acciones biológicas de los, 754
 biosíntesis de, 752-754
 degradación de los, 756
 LTA, 738-739
 A₄, 738
 A₅, 738
 LTB, 738-739
 LTB₄, 756
 LTC, 738-739
 LTD, 738-739
 LTE, 738-739
 LTF, 738-739
 papel en los procesos alérgicos de los, 739
 Leucotrieno A hidrolasa, 752
 Leu-encefalina, 1122
 Levógiro (-), 39, 363-364
 Levulosa (véase D-fructosa)
 Lewis, 3
 Leydig
 células de, 116
 LH (véase Luteotropina)
 Liasa(s), 104-105
 subclases de, 105
 Librería(s) genómica(s), 949-952
 Licopeno, 570, 764, 768
 Liebig, Justus von, 3
 Ligando, 151
 Ligasa(s), 105-106
 subclases de, 106
 Lignina, 402
 Linoneno, 569
 estructura del, 569
 Línea celular, 1208
 propiedades de las, 1208
 Lineweaver y Burk
 ecuación de, 125-126
 representación gráfica de, 125
 en la inhibición competitiva, 131
 en inhibición no competitiva, 132-133
 en inhibición acompetitiva, 133-134
 representación de los dobles inversos de, 126
 Linfocina(s), 1388
 Linfocito B, 1258, 1361-1363
 activación de los, 1389-1392
 Linfocito T, 1258, 1361-1363, 1382, 1392
 citotóxico, 1361, 1390, 1397
 colaborador, 1361
 activación de los, 1388-1389
 Helper (véase Colaborador)
 supresor, 1361
 Linolenil-CoA, 608
 Linsenmayer, 423
 Lipasa
 estimulada por sales biliares, 583
 gástrica, 579
 hepática, 623, 675-677, 690-691, 1408
 características funcionales, 676
 intestinal, 617
- lingual, 577-578
 pancreática, 578, 580-581, 617, 648
 de la saliva (véase Lipasa lingual)
 sensible a las hormonas
 acción catalítica de la, 621
 metabolismo del ácido araquidónico, en el 742
 Lípidos, 557-701
 biliares, 579-580
 clasificación de los, 557
 compuestos, 561-569
 definición de los, 557
 de la dieta, 575-590
 absorción intestinal de los, 583-585
 digestión en el estómago de los, 577-579
 digestión en el intestino de los, 579-582
 metabolismo en el enterocito de los, 585-587
 función de los, 557
 en las heces, 590
 de interés nutricional, 803-806
 membrana de, (véase membrana, lípidos de)
 no saponificables, 562
 saponificables, 562
 simples, 569-573
 Lipidosis, 703
 Lipmann, 3, 5, 172, 335
 Lipogénesis (véase Ácidos grasos, biosíntesis de)
 Lipólisis, 617-623
 control de la, 618-622
 destino de los productos de la, 622-623
 en el tejido adiposo, 617
 Lipomodulinas, 743
 Lipoproteínas
 composición de las, 668-671
 estructura de las, 668-672
 metabolismo de las, 667-701
 enzimas del, 672
 esquema global del, 689-692
 nomenclatura de las, 668-671
 Lipoproteínas α (véase HDL)
 Lipoproteínas β (véase LDL)
 Lipoproteínas PRE- β (véase VLDL)
 Liposoma, 580, 582-583, 1061
 β -lipotropina, 1122, 1152-1153
 5-lipoxigenasa, 738, 750-753
 Lipoproteína lipasa, 408, 671, 673-677, 679, 684, 689-692
 acción de la, 675
 activador de la, 673
 características de la, 673-674
 deficiencia familiar de (véase Hiperlipoproteinemias tipo I)
 formación de la, 674
 en el metabolismo del ácido araquidónico, 742
 postheparínica, 675
 sitios funcionales de la, 675-676
 sustrato de la, 673
 12-lipoxigenasa, 750-752
 15-lipoxigenasa, 750-752
 Lisil hidroxilasa, 63
 Lisil oxidasa, 64
 Lisina, 35, 37, 43, 47, 810, 837
 Lisina descarboxilasa, 830

- Lisofosfatidato, 611-613
 Lisofosfatidato-acil transferasa (*véase* 1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa)
 Lisofosfatidilcolina, 563, 565
 1-lisofosfoglicérido(s), 563
 2-lisofosfoglicérido(s), 563
 Lisofosfolipasa (*véase* fosfolipasa L), 717
 Lisozima, 412
 Litio, 1243
 Lixosa, 361
 Lobulillo hepático, 1402
 Lowther, 422
 β -LPH (*véase* β -lipotropina)
 LTP, 679-680, 688-692
 LTP-I, 680
 LTP-II, 680
 participación en el transporte del colesterol, 679
 Luminorrodopsina, 1511
 Lumisterol, 772, 777, 780
 estructura del, 776
 Luteina, 300, 765
 estructura de la, 301
 Luteotropina, 1122, 1154-1155
 Luz
 fotón de, 302
 energía de un, 302
 propiedades de las, 302-303
 quanto de, 302
 velocidad de la, 302
 Lynen, 598
 Lynen, F., 3, 5
- Macrófagos, 1361, 1376
 papel en el metabolismo de las, 684
 α_2 -macroglobulina, 415, 1289, 1294, 1313
 Malato, 346-354
 Magnesio, 1240-1242
 Major, 172
 Malato deshidrogenasa, 346-348, 354, 594
 isoenzimas de la, 347
 Malato deshidrogenasa (NADP⁺), 349-350, 5194-595
 Malato hidrolasa (*véase* Fumarasa)
 Malato sintasa, 354
 Maleato cis-transiomerasa (*véase* Maleato isomerasa)
 Maleato isomerasa, 105
 Malonil-CoA, 593, 596, 610, 626
 Malonil-CoA ACP transacilasa, 598, 602
 Malonil transferasa (*véase* Malonil-CoA ACP transacilasa)
 Maltosa
 distribución, 392
 estructura, 393
 Manganeso, 1251
 Manitol, 376
 Manosa
 absorción de la, 431, 435-436
 D-manosa, 361
 formas enodiel de, 373
 papel biológico de la, 383
 L-manosa, 361
- reducción de la, 376
 Marcoumar, 800
 Martius, C., 6
 Mastocito, 1376, 1378
 Matthill, 787
 Maxam A., 946
 Maxwell, 1532
 McArdle, enfermedad de, 553-555
 McCarty, 823
 McDougall, 577
 McLeod, 923
 Meandros- β , 68-69
 Megacariocito (*véase* Plaqueta)
 Mek (*véase* Met-enkefalina)
 Melanostatina, 1148
 Melanotropina, 1122, 1152-1154
 α -melanotropina, 1152
 β -melanotropina, 1152
 Melatonina, 1122, 1148
 Melibiosa
 distribución, 392
 estructura, 393
- Membrana(s) celular(es)
 asimetría de la(s), 11075
 bicapa líidica como modelo de la(s), 1059-1062
 bioquímica de la(s), 1053-1083
 características de la(s), 1053-1054
 estructura de la(s), 1062-1063
 fluidez de la(s), 1075-1078
 funciones de la(s), 1053-1054
 interacciones lipídoproteína en la(s), 1081-1082
 lípidos de la(s), 1054-1062
 distribución de los, 1054-1056
 movilidad de los, 1078-1081
 temperatura de transición de los, 1076-1077
 tipos de, 1054-1056
 modelos de, 1059-1062
 proteínas de, 74-82, 1063-1074
 características de la(s), 1063-1073
 integrales, 74, 78-80, 1064-1073
 movilidad de las, 1078-1081
 periféricas, 74, 1063
 tipos, 1063-1064
 transporte a través de la(s), 1085-1117
- Membrana mitocondrial
 aislamiento y purificación, 274-275
 externa, enzimas de la, 275
 interna, enzimas de la, 275
- Menadiona (*véase* Vitamina K₃)
 Menaquinona (*véase* Vitamina K₂), 168
 tipos de, 794-795
 Mendel, Gregor, 6
 Menten (*véase* Michaelis-Menten), 4
 6-mercaptopurina, 907
- Meromiosina
 ligera, 1461
 pesada, 1461
 Meselson, 934-935
 Mesoinositol (*véase* mioinositol)
 Mesotocina, 1156
- Metabolismo
 control del, 1552-1565
 estructura lógica del, 1544-1550

- Metahemoglobina (*véase* Hemoglobina M)
 Metaloenzima, 113
 Metaloproteasa(s), 812
 Metalotioneína, 1246
 Metanógenos, 220-221
 Metarrodopsina, 1511-1512
 Met-enkefalina, 1122, 1152-1153
 Metilcobalamina (*véase* Vitamina B₁₂), 189
 función bioquímica de la, 169
 N₅,N₁₀-metilentetrahidrofolato, 839
 cofactor de la serina hidroximetiltransferasa, 841
 síntesis de purinas, en la, 904
 Metilglioxal, 841
 Metil- α -D-glucopiranosido, 377
 Metil- β -D-glucopiranosido, 377
 N¹-metilhistidina, 47
 N³-metilhistidina, 47
 G-N-metil-lisana, 38
 Metil-malonil-CoA carboxilasa, 488
 5-metiluracilo (*véase* Timina)
 Metionina, 35, 36, 43, 47, 810, 837, 858
 Método de
 Charlson y Perlin, 395
 Clancy y Whelan, 395
 del ácido per-iódico, 397-398, 399
 Haworth, 397, 399
 Willstatter y Schudel, 375
 Zemlem, 395
- Metrotexate, 859
 Mevalonato, 652-654
 formación de, 652-654
 Meyerhof, 3, 5, 445
 Mezcla racémica, 40, 364
 Miastemia gravis, 1449
 Micela, 1057
 Michaelis (*véase* Michaelis-Menten), 4
 Michaelis-Menten, 1527
 constante de (km) (*véase* Constante de Michaelis-Menten), 123-137
 ecuación de, 121-128
 en inhibición competitiva, 130
 en inhibición no competitiva, 132
 linearización de la, 125-128
 transporte mediado, en el, 1093
- Microbiología, 1
 β_2 -microglobulina, 1289, 1294
 Microscopia electrónica analizada por síntesis de Fourier, 81
- Microtúbulos, 1473
 sistemas matrices dependientes de, 1474-1478
- Mielina, vainas de, 566, 1055, 1422
 Miescher, 6, 923
 MIH (*véase* Melanostatina)
 Mineralocorticoides, 1123
 función de los, 1171
 biosíntesis de, 1165
- Minimiosina, 1470
 Minkowski, 1173
 Minor, 189
 Mioblasto, 1456
 Miofibrilla, 1458
 Mioglobina, 1456
 Miohemeritina, 72
- Mioinositol
 distribución del, 222-223
 estructura del, 389
 como vitamina, 222-223
- Miomiesina, 1463
 Mioquinasa (*véase* Adanilato quinasa)
 Miosina, 1457, 1459, 1463-1466, 1479
 cabeza globular de la, 1461-1462
 cadena ligera de la, 1461-1462
 cadena pesada de la, 1461-1462
 isomorfos de la, 1463
 organización de la, 1461-1463
 purificación de la, 1459-1461
- Mitocondria
 aislamiento de, 274-275
 estados metabólicos de la, 270
 espacio intermembranal de la, enzimas del, 275
 membranas de la, 274
- Mitógeno, 1210
 Mitosis, 1208-1210
 Modelo, 1530
 Modelo del ajuste inducido, 94-95
 representación del, 95
 Modelo llave-cerradura, 94
 representación del, 94
 Modelo del mosaico fluido, 1062-1063
 Molécula de adhesión intercelular, 1381
 Moléculas de adherencia, 1381
 Molibdeno, 1250
 Molish, reacción de, 379
 Momento hidrofóbico, 76-77
 representación gráfica del, 77
- Monoacilglicérido, 561
 Monoacilglicerol lipasa, 617, 621
 Monocito(s), 1258
 Monod, 151, 924, 1014
 Mono-iodotirosina (MIT), 1157-1160
 Mononitrato de tiamina, 168, 181
 Monosacárido(s), 357-390
 absorción de los, 430-432
 acción reductora de los, 373-375
 ciclación de los, 364-369
 derivados de interés biológico de, 385-389
 determinación de los, 373-374
 estructura cíclica de los, 364-369
 estructura lineal de los, 358-364
 interés biológico, de, 381-384
 nomenclatura de los, 358-359
 reacciones de los, 369-380
 de adición, 369-371
 deshidratación interna, 379-380
 enolización, 371-373
 formación de éteres óxidos, 379
 formación de ésteres, 378-379
 oxidación de, 373-376
 oxidación del alcohol primario, 380
 reducción de, 376-377
 de sustitución en el carbono anomérico, 377-378
- Motilina, 1123, 1201, 1199
 mRNA, 966-967
 MSH (*Véase* Melanotropina)

- Mucoitín sulfatos
distribución, 410
estructura, 409
función, 410
- Mucopolisacáridos (*véase* Glicosaminoglucano)
- Mucopolisacaridosis, 409-410
clasificación, 409
mucopolisacaridosis tipo I
H, 409
H₂S, 409
S, 409
mucopolisacaridosis tipo II, 409-410
deficiencia enzimática, 409
producto almacenado, 409
mucopolisacaridosis tipo III
A, 409
B, 409
C, 409
mucopolisacaridosis tipo IV, 409
A, 409
B, 409
mucopolisacaridosis tipo VI, 409
- Munk E., teoría particular, 577
- Muralt, 1459
- Murlin, 1193
- Murphy, 189
- Músculo, 1455-1501
blanco, 1456
cardíaco, 1456
esquelético, 1456
organización del, 1457-1459
estriado (*véase* Músculo esquelético), 1456
liso, 1456
actividad contráctil en el, 1471-1472
metabolismo del, 1481-1501
rojo, 1456
- Mutarrotación, 365
- NAD⁺
espectro de absorción, 208
estructura del, 204
función bioquímica del, 169, 206-209
- NADH (H⁺)
energía libre estándar de oxidación del, 262
- NADP⁺
espectro de absorción, 208
estructura del, 204
función bioquímica del, 169, 206-209
síntesis de, 205
- NADPH, fuente de, 594-595
- α -naftol, 379
- Naftoquinona, 794
- Nebulina, 1463, 1469
- Negro de platino, 376
- Nemethy, 151
- Neomicina, 1009
- Neoxantina, 765
- Nernst, 3
ecuación de, 260-263, 1427
- Neuberg, 5
éster de (*véase* Fructosa-6-fosfato)
- Neuraminidasa, 387
- Neuraminidil-lactosa, 387
- Neurofisinas, 1155
neurofisina I, 1156
neurofisina II, 1156
- Neuroglia, 1422
- Neurohipófisis, 1150
hormonas de la, 1155-1156
- Neurona, 1421-1453
estructura de la, 1421-1422
motora, 1421
sensorial, 1421
- Neuropéptido(s), 1445, 1452
gastrointestinal(es), 1204-1205
- Neurosporeno, 768
- Neurotensina, 1124, 1203
- Neurotransmisor, 1120, 1430-1431
liberación de los, 1431-1433
receptores de los, 1446-1450
postsinápticos, 1446
sistemas de transporte de los, 1434
- Neutrófilo, 1376
- Nexina, 1476
- Nexus (*véase* Gap Junctions)
- Nicolson, 1062
- Nicotinamida (*véase* Vitamina PP o Vitamina B₃), 203-209
- Nicotinamida adenindinucleótido (NAD⁺) (*véase* NAD⁺)
- Nicotinamida adenindinucleótido fosfato (*véase* NADP⁺)
- Nictalopia (*véase* Ceguera nocturna)
- Ninhidrina, 44-45
- Niquel raney, 376
- Niremberg M., 986-987
- Nitrato reductasa, 323-324
grupos prostéticos de la, 324
- Nitrito reductasa, 323-324, 870
- Nitrogenasa, 325-327
componente I (*véase* Dinitrogenasa)
componente II (*véase* Dinitrogenasa reductasa)
- Nitrógeno
asimilación del, 323-327
balance del, 810, 817-818
en ayuno prolongado, 892-893
cáncer, en el, 895-896
en una lesión física, 892-894
hepatopatías, en, 894-894
molecular, fijación del, 325-327
- Noradrenalina, 1123
biosíntesis de la, 1437
degradación de la, 1440
- Nucleasa micrococcal, 942
- Nucleasa S1, 949
- Nucleósido(s), 928
esterificación de los, 901-902
estructura de los, 900-902
- Nucleósido bisfosfatoquinasa, 1519
- Nucleosoma, 940-942
- 5-Nucleotidasa
aplicaciones clínicas de la, 161
distribución tisular de la, 161
- Nucleótido(s), 928

- estructura de los, 900-902
- pirámidos
biosíntesis, 913-916
degradación, 916-917
- púricos
biosíntesis de los, 903-908
degradación de, 908-910
- Nucleótidos de flavina, estructura de los, 213
- Nitrito cobalamina (*véase* Vitamina B_{12c}), 190
estructura de la, 190
- Norbiotina, 180
- Núcleo de corrina, 189
estructura del, 189
- Nucleoplasmina, 1040-1041
- Ochoa, Severo, 5, 986
enzima condensante de, 342
- Octanoil-CoA carnitina transferasa, 630-632
- Okazaki, fragmentos de, 937-939
- Oligodendrocito, 1422
- Oligoelementos(s), 12277, 1244-1252
aparentemente no esenciales, 1252
posiblemente esenciales, 1252
- Oligomicina, 294
- Oligosacaridasa, 428-429
- Oligosacárido, 391-395
métodos de estudio de los, 394-395
- Oligósido (*véase* Oligosacárido)
- Oncogén(es), 959, 1221-1226
proteínas codificadas por, 1223-1226
clase I, de la, 1225
clase II, de la, 1225
clase III, de la, 1225
clase IV, de la, 1225-1226
- Oncogén celular (*véase* Protooncogén)
- Oncogén erb-A, 1225
- Oncogén erb-B, 959, 1224
- Oncogén fms, 1224
- Oncogén fos, 1225
- Oncogén ras, 959
- Oncogén k-ras, 1225
- Oncogén H-ras, 1225
- Oncogén mos, 1225
- Oncogén neu, 1225
- Oncogén raf, 1225
- Oncogén ros, 1225
- Oncogén viral, 1223
- Oncogén v-myc, 1225
- Oncogén v-sis, 959, 1225
- Oncogénesis, 1221-1226
- Operón, 972, 1012
arabiosa, 1024
galactosa, 1024-1025
lactosa, 1012, 1018-1021
triptófano, 1012, 1021-1024
- Opsina, 769, 771, 1506, 1512, 1522
- Opsonina, 1393
- Opsonización, 1393
- Orbital
enlazante, 303
antienlazante, 303
- Orcinol, 380
- Organismo
artrópodo, 265
fotótrofo, 265
heteroquimiorganótrofo, 265
heterótrofo, 265
quimiolitótrofo, 265
quimiorganótrofo, 265
quimiótrofo, 265
- Ornitina, 38, 811, 864-866
ciclo de la urea en el, 871-881
- Ornitina descarboxilasa, 830
- Ornitina transcarbamilasa, 872, 879
deficiencia de, 881
- Orotato, síntesis de, 914
- Orotato fosforribosil transferasa, 915
deficiencia severa de, 917
- Orotidina-S'-fosfato descarboxilasa, 916
deficiencia de, 917
- Ortodianisidina, 375
- Ortotofluidina, 375-376
- Oryzamina (*véase* Vitamina B₁), 180
- Osaminas, 385-386
derivados de las, 386
- Osazona(s), 369-370, 395
- Osido(s), 377-378, 391-425
clasificación de los, 391
concepto de, 391
- Osmolalidad, 28-31
- Osona(s), 370-371
- Osteoartritis, 424
- Osteoblasto, 781, 785
- Osteoclasto(s), 1233-1234
factor activador de los, 1235
- Osteomalacia, 785-786
- Osteoporosis, 1233
- Ouabaina, 821-1101
estructura de la, 1103
- Overton, 1061
- Ovoalbúmina, 42-44
- Oxalosis, 216
- Oxibiotina, 180
- Oxidación, 257
biológica, 265-295
- β -oxidación, 5
- Oxidante, 257-259
- Oxidorreducción
potencial de (*véase* Potencial redox), 258-263
reacción de, 257-263
energía libre de una, 260-263
- Oxido-reductasas (*véase* Deshidrogenasas), 102-103
- Oxihemoglobina, 27, 1347, 1350-1352, 1360
disociación de la, 1348
- Oxima(s), 370-371
- Oxitiamina, 181
- Oxitocina, 1122, 1155-1156
- Oxitocinasa, 1156
- 2-oxo-3-desoxi-6-fosfato gluconato aldolasa, 524
- 2-oxoglutarato, descarboxilación oxidativa del, 344-345
- 5-oxoprolina, 823
- 5-oxoprolinasa, 823

- Páncreas, estructura del, 1173, 1174
 Pancreostatina, 1197-1198
 Pancreozimina (*véase* Colecistoquinina)
 Panteteína, 176
 Papaina, 72, 1462
 Paracelso, 2
 Par ácido-base, 20
 Parathormona, 1122, 1232-1233
 biosíntesis de la, 1232
 mecanismo de acción de la, 1232
 papel en el metabolismo de la vitamina D, 779, 783
 Pardee, 148
 Parénquima hepático
 actividades enzimáticas del, 144
 características morfológicas del, 1411
 zonación del, 1409-1414
 Partícula reconocedora de la señal (PRS), 1031
 receptor de la, 1033
 Patología molecular, 9
 Parnas, 5, 445
 Pasteur L., 3, 468
 efecto, 468-470
 Pauling, 51, 923
 Payen A., 3
 Pectinas, 403
 Pelagra, 209
 Penicilina, 413
 Penicilinas, 413
 Pentaglicina, 410-411
 Pentosas fosfato
 ciclo de, 503, 514
 juego de las, 514
 via de (*véase* Via de las pentosas-fosfato)
 Pentosuria esencial, 527
 Pentosuria idiopática, 527
 Pepsina, 144, 812-813
 Pepsinógeno, 812-813
 Pepstalina, 819
 Peptidasa de la señal, 1035
 Peptidil transferasa, 1003
 Péptido C, 1043
 Peptidoglicanos
 estructura, 410-412
 funciones, 412
 peptidoglicano tipo A, 412
 peptidoglicano tipo B, 412
 peptidoglicano tipo C, 412
 tipos, 412
 Péptido señal, 1031
 receptor del, 1034
 Peptidoglicano hidrolasas, 412-413
 Péptido insulínico dependiente de glucosa
 (*véase* Péptido inhibidor gástrico)
 Péptido intestinal vasoactivo, 1124, 1204
 Péptido natriurético atrial, 1124
 Péptido YY, 1199, 1202-1203
 Peroxidasa, 375-376
 Persoz J. F., 3
 Perutz, 86
 Peter, 422
 Pelüger, 577
 teoría lipolítica de, 577
 15-PGDH (*véase* Prostablandina-15-OH-deshidrogenasa)
 PG- Δ_{13} -reductasa (*véase* Prostaglandina- Δ_{13} -reductasa)
 pH, 17-28
 concepto de, 17-19
 sangre arterial, de la, 25
 sangre venosa, de la, 25
 Phe-tRNA, plegamiento del, 994
 pI, 41-44
 PIF (*véase* Prolactostatina)
 PIG (*véase* Polipéptido inhibidor gástrico)
 Pigmentos fotosintéticos, 299-302
 pigmentos antena, 300, 303
 Pila galvánica, 258-259
 Pila voltaica (*véase* Pila galvánica)
 Piperidina, 946
 Pirano, 366
 Piranosas
 configuración espacial de la, 367-368
 estructura de, 365
 Piridoxal (*véase* Vitamina B₆), 184
 Piridoxal-5'-fosfato (*véase* Fosfato de piridoxal)
 Piridoxamina (*véase* Vitamina B₆), 184, 825
 Piridoxina (*véase* Vitamina B₆), 184
 Piridoxol (*véase* Piridoxina)
 Pirimidina(s), 899-921
 estructura de las, 900
 metabolismo de las, 913-918
 alteraciones del, 917-918
 Piritiamina, 181
 Pirofosfato de tiamina, 507
 estructura del, 181
 función bioquímica del, 169
 reacciones catalizadas por, 182
 síntesis hepática del, 183
 Piruvato, 469-470, 473-476
 aminoácidos que forman, 839-841
 como sustrato de la gluconeogénesis, 481-482
 destinos metabólicos del, 455-459
 en la fermentación bacteriana, 458
 formas tantoméricas del, 455
 síntesis de, en la glucólisis, 455
 Piruvato carboxilasa, 106, 489-490, 497
 Piruvato deshidrogenasa, 337-340, 456, 593, 595
 Piruvato: dióxido de carbono ligasa (*véase* Piruvato carboxilasa)
 Piruvato quinasa, 466-467
 dominios estructurales de la, 72
 isoenzimas de la, 455, 466
 regulación de la, 466-467
 Pituitaria (*véase* Hipófisis)
 pK_a, 21-25
 pK_b, 21
 PL (*véase* Lactógeno placentario o Somatomamotropina coriónica)
 Placa de aterosclerosis, 684
 Planck, constante de, 302
 Plano de polarización, 363
 p21^{ras}, 1225
 p28^{sis}, 1225
 P₆₈₀, 305-310
 P₇₀₀

- Palade, 1029
 Palmitil-CoA, 609
 Palmitil deacilasa, 600
 Plaqueta(s), 1255, 1258
 Plasma, 1255
 Plasmalógenos, 563-565
 biosíntesis de, 717-718
 Plásmido, 944, 951
 Plasmina, 1301, 1309, 1314
 Plasminógeno, 1301, 1314
 activación del, 1315
 Plastocianina, 306, 308-309
 Plastocromenol, 804
 Plastoquinona(s), 306, 308, 310, 796, 801
 lanzadera de las, 312
 Plastoquinona-9, 803
 PMSF, 812
 Poder rotatorio, 363
 pOH, 18
 Poli-A polimerasa, 977
 Polialcohol, 376
 Poliaminas, síntesis de, 864-866
 Policitemia, 1278
 Polidipsia, 1156
 Polinucleótido quinasa, 946-947
 Poliholósidos (*véase* Polisacárido)
 Poliósido (*véase* Polisacárido)
 Polipéptido inhibidor gástrico, 1123, 1199, 1202
 Polipéptido pancreático, 1123, 1197, 1199
 Poliprenoles, 805-806
 Polisacárido, 395-410
 clasificación de, 396
 heterogéneos (*véase* Heteropolisacárido)
 homogéneos (*véase* Homopolisacárido)
 Polisoma, 999
 Porina, 80
 Porfiria, 1322-1324
 cutánea tardía, 1323-1324
 eritropoyética, 1323-1324
 hereditaria, 1323-1324
 intermitente aguda, 1323-1324
 variegata, 1323-1324
 Porfirina(s), síntesis de, 859-862
 Porfirinurias, 1322
 Porfobilinógeno, 1321-1321
 síntesis de, 861
 Porfobilinógeno aminoliasa (*véase* Uroporfirinógeno I sintasa), 1321
 Porfobilinógeno sintasa, 1320-1321, 1324
 Potasio, 1239-1240
 Potencial de acción, 1427-1430
 Potencial excitador postsináptico (PEPS), 1447
 Potencial inhibidor postsináptico (PIPS), 1447
 Potencial de membrana, 1424, 1427-1430
 Potencial Redox, 258-263
 estándar, 267-271
 Potencial sináptico
 excitador (*véase* Potencial excitador postsináptico)
 inhibidor (*véase* Potencial inhibidor postsináptico)
 pp (*véase* Polipéptido pancreático)
 pp60^{src}, 1223
 Prealbúmina enlazante de hormonas tiroideas (*véase* Prealbúmina ligadora de hormonas tiroideas), 1160, 1289, 1290
 Prealbúmina ligadora de hormonas tiroideas, 1160, 1289, 1290
 Precalicerina, 1301
 características de la, 1299
 Pregnenolona, biosíntesis, 1164
 PreproGnRH, 1147-1149
 estructura de la, 1148
 Preprohormona, 1126
 Preproinsulina, 1042-1043, 1178-1180
 molécula de, 1042
 Prepropiocortina, 1043
 Preprovip, 1127
 Presión hidrostática, 30
 Presión oncótica, 30
 PRF (*véase* Prolactoliberina)
 Principio isohídrico, 28
 PRL (*véase* Prolactina)
 Procarboxipeptidasa A, 813
 Procarboxipeptidasa B, 813
 Proceso
 energético, 243-246
 espontáneo (*véase* Irreversible)
 exergónico, 243-246
 irreversible, 233-248
 reversible, 233-248
 Producto, 89
 formación del, 118-120
 Proelastasa, 813
 Proenzima, 144
 Proeritroblasto, 1262
 Profilina, 1469
 Progéstágeno(s), 1123, 1161-1162
 Progesterona, 1162
 biosíntesis de, 1164-1165
 función fisiológica de la, 1172
 metabolismo, 1168-1169
 transporte de la, 1168
 Prohormona, 1126
 Proinsulina, 1177-1178, 1180
 estructura primaria de la, 1178
 Prolactina, 1122, 1151-1152
 funciones de la, 1152
 Prolactoliberina, 1122
 Prolactostatina, 1122, 1149
 Prolil hidroxilasa, 63
 Prolina, 35, 36, 43, 47, 810
 catabolismo de la, 842, 844
 Prolina deshidrogenasa, 842, 844
 Promotor(es)
 eucariotas, 976-977
 inserción del, 1226
 procariotas, 970-971
 Pro-opiocortina, 1152-1153
 Propionato, como sustrato gluconeogénico, 488-489
 Propionil-CoA carboxilasa, 488
 Proproteínas, 1042
 Prostaciclina, 736
 biosíntesis de, 749
 Prostaciclina sintasa, 749, 759

- Prostaglandinas (PG), 735-736
 biosíntesis de, 749-750
 PG₁, 736-737
 PG₂, 736-737
 PG₃, 736-737
 PGD₂, 749
 biosíntesis de la, 749
 PGE₂, 749
 biosíntesis de la, 749
 PGF, 736-737
 PGF_{2α}, 736-737
 PGF_{2β}, 737-737
 PGG₂, 736-737
 PGI₂ (véase Prostaciclina)
 series de, 736
 Prostaglandina-15-OH-deshidrogenasa, 754-755
 Prostaglandina-Δ¹³-reductasa, 754-755
 Prostaglandina sintasa, 743-747
 actividad ciclooxygenasa, de la, 743-747
 actividad hidropoxidasa, de la, 743
 mecanismos catalítico de la, 746
 Proteasa(s)
 aparato digestivo del, 812-820
 dependientes de Ca²⁺, 834
 lisosómicas, 818-819
 no lisosómicas dependientes de ATP, 834
 Proteína(s)
 acilación de, 1050-1052
 biosíntesis de, 985-1009
 características de la, 998-999
 en eucariotas, 1004-1006
 en procariotas, 998-1003
 etapas de la, 999-1004
 inhibidores de la, 1007-1009
 concepto, 33
 contráctiles, 1459-1465
 dieta, de la, 811M813
 digestión de las, 811-820
 dominios estructurales de las, 69-71
 categorías de, 71
 dominios funcionales de las, 69
 estado D, en, 57
 estado N, en, 57
 estructura de las, 49-87
 metodología para la determinación de la, 80-82
 estructura primaria, 58-59
 estructura secundaria de las, 58-66
 estructura supersecundaria de las, 58, 66-69
 estructura terciaria de las, 68, 71-73
 estructura cuaternaria de las, 58, 73-74
 glicosilación de, 1044-1048
 globulares, 69-74
 agregados de (véase Cuaternaria)
 inserción en membrana, 1035-1037
 maduración de las, 1042-1052
 membrana, de (véase Membrana, proteínas de), 74-82
 integrales, 74, 78-80
 periféricas, 74
 papel funcional, 33
 plasmáticas, 1285-1295
 características de las, 1289
 fraccionamiento de las, 1286-1287
 funciones de las, 1286, 1288-1289
 transporte de, 1031-1041
 cloroplasto, al, 1040
 mitocondria, a la, 1037-1040
 núcleo, al, 1040-1041
 retículo endoplásmico, a través del, 1031-1035
 vida media de la(s), 818
 Proteína 48k (véase Arrestina)
 Proteína C, 1463
 Proteína CAP Z, 1463
 Proteína C reactiva, 1295
 Proteína fosfatasa, en el control de la lipólisis, 619-621
 Proteínas G, 1135-1136
 G_i, 1135-1136
 G_s, 1135-1136
 características de las, 1136
 Proteína inhibidor-1, 550
 Proteína ligadora del retinol, 1289, 1293, 1507
 Proteína(s) quinasa(s)
 en el control de la respuesta hormonal, 1140-1142
 Δ, dependiente de AMPc, 1140-1142
 isoenzimas, 1141
 sustratos fisiológicos, 1141
 C, dependiente de diacilglicerol, 1140-1142
 Ca²⁺/calmodulina, 1140-1142
 G, dependiente de GMPc, 1140-1142
 Proteína quinasa C, papel en la respuesta a factores de crecimiento de la, 1218-1219
 Proteína quinasa dependiente de AMPc, 543, 550
 en el metabolismo del glucógeno, 541-53, 550
 en el control de la lipólisis, 618-621
 Proteínas transferidoras de lípidos plasmáticos (véase LTP)
 Proteína transportadora de acilo (ACP), 175, 597-602, 610
 Proteína transportadora de esteroides (SPC), 656
 Proteoglicanos, 403, 417-424
 clasificación de los, 421-422
 estructura del, 419
 extraíbles, 421
 que forman agregados, 421
 que no forman agregados, 421
 interacción con el colágeno de los, 422-423
 proteína central del, 419
 regiones de la, 419
 proteína de unión del, 419
 proteína de unión del, 419
 resistentes a la extracción, 421-422
 Proeólisis, 833-834
 citoplasmática, 834
 lisosómica, 833-834
 Proteosoma, 834
 Protooncogén, 1222-1223
 Protones (véase Ion hidrógeno)
 gradiente electroquímico de, 282-292, 310-312
 Protoporfirina, 1318-1319
 III, 1321
 Protrombina, 1296, 1305, 1307
 activación de la, 1309
 características de la, 1298

- conversión de la, 1308
 Provitamina A, 168, 763
 conversión de la, 769
 forma activa de la, 168
 fuente natural de, 168
 preparado comercial de la, 168
 Proyección de, Haworth, 365-367
 PRPP (véase Fosforribosil pirofosfato)
 PRS (véase Partícula reconocedora de la señal)
 Pseudouridina, 992
 Pseudovitaminas B₁₂, 191
 Psicosa, 362
 PTH (véase Parathormona)
 Puente
 disulfuro, 58
 hidrógeno, de, (véase Hidrógeno, puente de)
 Punto isoelectrónico, 41
 Purina(s), 899-910
 estructura de la(s), 900
 metabolismo de las, 902-913
 alteraciones del, 910-913
 recuperación de, 908-910
 Puromicina, 1007
 estructura de la, 1008
 Putrescina, 830
 síntesis de, 866

- Queratán sulfato,
 estructura, 406-407
 distribución, 406
 proteoglicanos, en los, 419
 α-queratinas, 61, 67
 β-queratina, 65
 Quercina (véase Esciloinositol)
 Quilomicrones, 615, 669-672, 690-694
 características de los, 670
 composición de los, 587
 formación de, 587-590
 metabolismo de los, 680-681
 partículas nacientes de, 680
 pequeños (véase VLDL intestinales)
 Quimotripsina, 413, 812-813, 1305
 estructura primaria de la, 814
 hidrólisis por la, 814
 sitios de unión de la, estructura de los, 101
 Quimotripsinógeno, 813
 Quinasa de la cadena ligera de la miosina, 1471-1472
 Quinesina, 1478-1479
 Quineureninasa, 846, 851
 Quinógeno de alto peso molecular, 1301
 características del, 1299
 Quinolínato fosforribosiltransferasa, 209
 Quinona(s), 801-803
 distribución de la(s), 801
 estructura de la(s), 803
 productos de degradación de las, 804
 Quitina, 385, 402
 Quitosamina (véase Glucosamina)
 Racemasa (véase Isomerasa), 105
 Racemato, 40

- Racimos parpadeantes, 14-15, 19
 Racker, 294
 Rafinosa, 394
 distribución, 394
 estructura, 394
 Ramachandran, representación de, 54-55
 Ramnosa
 estructura de la, 388
 D-ramnosa, 361
 L-ramnosa, 362
 papel biológico de la, 388
 Ranvier, 1456
 PTH (véase Parathormona)
 nódulos de, 1422
 Raquitismo, 785
 Rayos X, difracción de, 7
 Reacción
 de Dische, 380
 de Elson y Morgan, 385
 de orden cero, 116-177
 de primer orden, 116-117
 de segundo orden, 116-117
 de Seliwanoff, 379
 de tercer orden, 116-117
 de velocidad, 80, 109-138
 efecto de la temperatura en la, 111-112
 efecto del pH en la, 112-113
 factores que afectan a la, 110-116
 papel de iones metálicos en la, 113-114
 espontánea, 115
 limitante, 142-143
 Molish de, 379
 orden de una, 116-117
 reversibilidad de una, 114
 velocidad inicial de la, 110, 118-120
 efecto de la concentración de sustrato en la, 120
 velocidad máxima de la, 117-137
 Reacción anafiláctica, 1380
 Reacción endógena, 89
 Reacción enzimática, etapas de una, 97
 Reacción exógena, 89
 Reacción Red-ox (véase Oxidoreducción, reacción de)
 Receptor
 hormonal, 1130-1135
 de membrana, 1132-1135
 intracelular, 1131-1132
 Receptor β-adrenérgico, estructura del, 1134
 Receptor B/E, 682-686, 698, 690-691, 696
 características estructurales del, 685
 en la hipercolesterolemia familiar, 697
 papel en el metabolismo de LDL, 684
 ruta del, 686
 Receptor citosólico del retinol, 1508-1509
 Receptor T
 codificación genética del, 1381-1382
 estructura del, 1380-1381
 Recombinación, intracromosómica, 1373
 Red cristalina, 20
 Reducción, 257
 Reductasas (véase Oxido-reductasas)
 Reductor, 257-259
 Regulación enzimática

- por cambio en el núm. de moléculas, 143-144
 por interacción de subunidades (*véase* Cooperatividad), 149-157
 feed-back, 148-149
 concentrada, 149-150
 lineal simple, 149-150
 secuencial, 149-150
 Relaxina, 1123
 Reordenación de amadori, 370
 Replicación (*véase* DNA, replicación del)
 hipótesis conservativa de la, 933-935
 hipótesis semiconservativa de la, 933-935
 Resorcinol, 379
 Reticulocito, 1262-1263
 Reticulo sarcoplásmico, 1459
 Retina, 1503-1504
 Retinal (*véase* Vitamina A), 764
 isomerización del, 771
 todo trans-retinal, estructura del, 766
 visión, en la, 769
 11-cis-retinal, 1506-1508
 Todo-trans-retinal, 1509
 Retinol (*véase* Vitamina A), 763-771, 1507
 estructura del, 766
 Todo-trans-retinol (*véase* Vitamina A₁)
 formación del, 1508
 Retinol deshidrogenasa, 1507, 1522
 Retrotranscripción, 980-981
 Retrovirus, 1222-1223
 de la eritroblastosis de aves, 959, 1224
 ingeniería genética, en, 955, 958
 no defectivos, 1226
 transcripción inversa en, 980-981
 transformantes, 1226
 Ribitol, 376-377
 pepel biológico del, 377
 Riboflavina (*véase* Vitamina B₂), 209-212
 β-D-ribofuranosa, 382
 Ribonucleasa, 408
 Ribonucleasa III, 974
 Ribonucleasa D, 973
 Ribonucleasa P, 973, 975
 Ribonucleasa pancreática
 estructura de la, 98
 mecanismo de acción, 98-100
 Ribonucleósido-5'-fosfato (*véase* 5'-ribonucleótido)
 5'-ribonucleótidos, 901
 Ribonucleótido reductasa, 918-920
 Ribosa, 501, 925-926, 965
 conformaciones de la, 928
 degradación de la, 517
 D-ribosa, 361
 interés metabólico de la, 382
 L-ribosa, 361
 reducción de la, 376
 RibosaK-5'-fosfato, 502-523, 903
 biosíntesis de la, 517
 Ribosoma(s), 1030
 estructura de los, 996-999
 eucariotas, 998
 lugar A del, 1000
 lugar P del, 1000
 procariota(s), 998
 Ribotimidina, 992
 Ribozima, 974
 Ribulosa, 362
 D-ribulosa, 362
 L-ribulosa, 362
 Ribulosa-1,5-bifosfato, 313
 estructura de la, 383
 interés metabólico de la, 383
 regeneración de la, 314-315
 Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa, 313
 Ribulosa-5-fosfato
 en el ciclo de las pentosas fosfato, 501-516
 estructura de la, 383
 interés metabólico de la, 383
 Ricina, 1007, 1009
 Ricks, 189
 Rifamicina B, 981-982
 Rifampicina, 981-982
 Ritmo circadiano, 1127
 RNA, 924-927
 biosíntesis del, 967-982
 cebador, 929
 estructura del, 965-966
 síntesis del DNA, papel en la, 939, 949
 tipos de, 966-967
 RNA mensajero (*véase* mRNA)
 RNA nuclear heterogéneo (*véase* hnRNA)
 RNA polimerasa, 939
 I, 968, 976
 II, 968, 976, 981
 III, 976
 E. coli, de, estructura de la, 969-970
 procariotas, de, 968, 971
 reacción catalizada por la, 969
 RNA ribosómico (*véase* rRNA)
 RNA transferente (*véase* tRNA)
 rRNA, 966-967
 eucariota
 caperuza del, 977
 modificaciones postranscripcionales del, 977-979
 procesamiento del, 980
 tipos de, 967
 procariota
 procesamiento del, 974-975
 tipos, 967
 Robinson
 éster de (*véase* Glucosa-6-fosfato)
 Rochelle, sal de, 374
 Rodopsina, 771, 1134, 1506
 estructura de la, 1506
 fotoexcitación de la, 1509-1512
 fotólisis de la, 1521
 Roentgen, W. K., 14
 Rossman, 83
 dominios de, 73, 83
 plegamiento de, 69
 Rotación específica, 39
 Rotenona, 271
 Rouille, 870

- Ruta CAM (*véase* Metabolismo ácido de las crasuláceas)
 Rutina, 224
 Sacarosa
 biosíntesis de, 318
 distribución, 392
 estructura, 393
 Sal(es), 20-25
 Sales biliares, 577, 660-665
 acción emulsionante de las, 579-581, 585
 Sanger E., 4, 925, 949, 1177
 reactivo de, 45-46
 Saponificación, 562
 Saponinas, 378
 Sarcolema, 1457
 Sarcoma de Rous de aves, 1223
 Sarcómero, 1457, 1465
 banda A del, 1457-1459
 banda I del, 1458-1459
 distribución de los filamentos en el, 1459
 línea M del, 1456-1457, 1465
 línea Z del, 1457-1459, 1466
 zona H del, 1457-1459
 Sarcoplasma, 1459, 1466
 Sauvagina, 1148
 Scherer, 389
 Schmidt, 3
 scRNA, 967
 Secretagogos, 579
 Secretina, 1123, 1199-1200
 Secuencias Shine-Dalgarno, 1000, 1005
 Sedoheptulosa
 estructura de la, 384
 papel biológico de la, 384
 Sedoheptulosa-7-fosfato, 384
 Segundos mensajeros, en la respuesta hormonal, 1136-1137
 Selenio, 1251-1252
 Self-splicing, 980
 Seliwanoff, reacción de, 379
 Serina, 35, 37, 43, 47, 810
 Serina deshidratasa, 839, 841
 Serina hidroximetil-transferasa, 841
 Serina proteasa, 812
 acción catalítica de una, 100-102
 Serin proteasa(s) (*véase* Serina proteasa)
 Serotonina, 1122, 1441-1442
 degradación de la, 1441
 síntesis de, 862-863
 en el cerebro, 1441
 Seudohermafroditismo masculino, 1171
 Shwann, célula de, 1422
 Sialidasa (*véase* Neuraminidasa)
 SIDA, 1399
 Sikimato, 796-797
 Silberberg, 422
 Silla de montar, estructura en, 65-66
 Sinopsis
 química, 1430-1451
 estructuras de la, 1430
 Síndrome
 de Dumping, 1203
 de Hunter (*véase* Mucopolisacaridosis tipo II), 409-410
 de Hurler (*véase* Mucopolisacaridosis tipo I-H)
 de inmunodeficiencia adquirida (*véase* SIDA)
 de Lesch-Nyham, 900, 912-913
 de Maroteaux-Lamy (*véase* Mucopolisacaridosis tipo VI)
 de Menkes, 1249
 de Morquio (*véase* Mucopolisacaridosis tipo IV A)
 re Reye, 837
 de San Filippo (*véase* Mucopolisacaridosis tipo III)
 de Scheie (*véase* Mucopolisacaridosis tipo I-S)
 de Verner-Morrison, 1204
 de Williams, 786
 del restaurante chino, 821
 Sinexina, 1433
 Singer, 1062
 Sintetasa(s) (*véase* Ligasa(s))
 Sistema(s)
 abierto, 228
 aislado, 228
 bioquímicos
 características de los, 1531-1532
 teoría cinético-molecular en los, 1532-1544
 cerrado, 228
 simulación de, 1530-1531
 Sistema APUD, 1124
 Sistema autocrino, 1120-1121
 Sistema endocrino, 1120-1121
 difuso, 1125
 células endocrinas del, 1125
 Sistema inmune, bioquímica del, 1361-1399
 Sistema de intercambio, 1094, 1110-1113
 Sistema de lanzadera, 145-146
 Sistema nervioso
 bioquímica del, 1421-1453
 patología del, 1451-1452
 Sistema neuroendocrino, 1120-1121
 Sistema neuroparacrino, 1120-1121
 Sistema paracrino, 1120-1121
 Sistema RS, 40
 Sistema sarcotubular, 459
 representación del, 1460
 Sistema tubular transverso, 1459-1460, 1466
 Skou, 1102
 Skulachev, 289-290
 Smith, 189
 Snell, 184
 snRNA, 967
 Sodio, 1236-1238
 Solución de Benedict, 374
 Solución de Fehling, 373
 Sólido, 17-19
 Somatocrina (*véase* Somatoliberina)
 Somatoliberina, 1122, 1148
 Somatomamotropina coriónica, 1123, 1150
 Somatomedinas, 1151
 A, 1151
 B, 1151

- Somatomedina C (*véase* Factor de crecimiento tipo insulínico IGF-I)
- Somatostatina, 1122, 1147-1149, 1197, 199, 1201-1202
SS-14, 1149, 1201-1202
SS-28, 1201-1202
- Somatotropina (*véase* Hormona del crecimiento)
- Somogyi-Nelson, filtrado de, 376
- Sorbitol, 376-377
papel biológico del, 376
utilización del, 377
- Sorbitol deshidrogenasa
aplicaciones clínicas de la, 161
distribución tisular de la, 161
- Sorbosa
D-sorbosa, 362
L-sorbosa, 362
reducción de la, 376
- Southern E., 933
- Splicing (*véase* Corte y empalme, proceso de)
- SS (*véase* Somatostatina)
- Stahl, 934-935
- Starling, 1119, 1198
- Staub, 1193
- Steiner, 1177
- Stiller, 172
- Subbarow, 5
- Succinato-CoA ligasa (*véase* Succinil-CoA sintetasa)
- Succinato deshidrogenasa, 276-278, 345-346, 352
- Succinato tioquinasa, 345
- Succinil-CoA, 341, 345
- Succinil-CoA sintetasa, 345
- Sulfatasa, 732-733
- Sulfátido(s), 566-567, 724-725
biosíntesis de, 728-729
degradación de, 732-733
estructura de un, 567
- Sulfatidosis, 732-733
- Summer, J. B., 4
- Supercompensación, 1495
- Sustancia P, 1204-1205
- Sustancias de reactividad lenta, 739
- Sustrato, 89, 110-135
concentración efectiva de, 148
- Surfactante pulmonar, 710
- Sustancia P, 1124
- Szent-Györgyi, A., 6, 335, 387, 526, 1459
- T₃ (*véase* Tri-iodotironina)
- T₃ reversa, 1157, 1160
- T₄ (*véase* Tiroxina)
- Tagatosa, 362
- Talosa, 361
- Talasemias, 1334-1335
 β -talasemia, 1334
 α -talasemia, 1335
- Tampón(es), 16, 23-28
bicarbonato, 25-26
capacidad, 24-25
fisiológico, 25-28
fosfato, 25-27
- hemoglobina, 27-28
pH del, 23-24
- Tampón bicarbonato/Ácido carbónico, 1349-1351
- Tampón fosfato monobásico/fosfato dibásico, 1349
- Tampones sanguíneos, 1349-1352
- Tangier, enfermedad del, 700
- Taquifilaxia (*véase* Desensibilización)
- Taquersterol, 772
estructura del, 775-776, 780
- Tatum, 7
- Taurina, 811, 859, 1442
en ácidos biliares, 661-662
síntesis de, 860
- Tautomerasa(s) (*véase* Isomerasa), 105
- Tautomeria
cetoenólica, 372
bases pirimidínicas, 901
bases púricas, 900
- TBG (*véase* Globulina enlazante de hormonas tiroideas)
- TBPA (*véase* Prealbúmina enlazante de hormonas tiroideas)
- Tejido adiposo
blanco, 615
marrón, 615
metabolismo del, 615-622
- Temperatura
coeficiente de, 111
óptima, 112
- Teorema, 1528
- Teoría, 1527
aplicación de la, 1528-1529
desarrollo de la, 1528-1529
formulación de la, 1527
- Teoría de los filamentos deslizantes, 1465-1466
- Teoría lipolítica, 577
- Teoría particulada, 577
- Terapia génica, 952
- Terminador, 972
 ρ -independiente, 972
 ρ -dependiente, 973
- Termodinámica, 227-263
primera ley de la, 229-233
segunda ley de la, 115-116, 228, 233-237
- Termorregulación, 16
- Terpenoides, 569-570
- Testosterona, 1164, 1166-1167, 1170
función de la, 1171-1172
- Tetraciclina, 1007
- Tetrahidrobiopterina, 219-220
- Tetrahidrofolato (FH₄) (*véase* Ácido tetrahidrofólico)
- Tetrahidrometanopterina, 220-221
estructura de la, 221
- Tetrodotoxina, 1430
- Theorell, 3
- Tiamina (*véase* Vitamina B₁)
- Tiamina pirofosfoquinasa, 183
- Tilacoide, 297-299
- Timidilato sintasa, 919
- Timidina, 926
estructura de la, 901
- Timina, 900, 926

- degradación de la, 917
estructura de la, 901
- Tioesterasa (*véase* Palmitil Deacilasa)
- Tioquinasa, 488, 611
- Tiorredoxina reductasa, 918
- Tiroglobulina, 1157, 1159-1160
- Tiroides, 1160
células C del, 1157
foliculos del, 1157
- Tiroliberina, 1122, 1147
estructura, 1147
metabolismo de la, 1150
- Tirosina, 35-38, 43, 47, 810, 846, 862-864
degradación de la, 847
- Tirosina aminotransferasa, 837, 847
- Tirosina avinasa, respuesta a los factores de crecimiento en la, 1216-1217
- Tirotropina, 1122, 1154
actividad fisiológica de la, 1155
- Tiroxina, 1123, 1157-1161
biosíntesis de la, 1158-1160
estructura de la, 1157
mecanismo de acción de la, 1160-1161
- Titchener, 593
- Titina, 1463
- Tococromenol, 787
- Tocoferaminas, 787
- Tocoferol(es) (*véase* Vitamina E)
 α -tocoferol, 168, 787
 β -tocoferol, 168, 787
 δ -tocoferol, 168, 787
 γ -tocoferol, 168, 787
estructura química de los, 788
sintético(s), 787
- Tocoferolquinona, 796, 801
- α -tocoferolquinona, 803
- Tocoferonolactona, 790
- Tocotrienol(es), 787
estructura química de los, 788
- Todd, 180
- Tomografía de emisión de positrones, 1424
- Tonegawa, 1372-1373
- Tönnis, 177
- Toole, 422-423
- Topoisomerasa, 934
- Torularodina, 764
- Toxina
colérica, 1135
diférica, 1007, 1009
pertúsica, 1135
- Toxopirimidina, 187
- TPP-ATP fosforil-transferasa, 184
- Trabajo, 230
eléctrico, 260
- Transaceleración, 1093-1094
- Transaldiminación, 829
- Transaldolasa, 506, 514-521
mecanismo de acción de la, 509-511
- Transcetolasa, 506, 514-518
mecanismo de acción de la, 507-509
- Transcortina, 1168, 1289, 1292-1293
- Transcripción, 968-977
control de la, 1013-1017
- eucariotas, en, 975-977
- inhibidores de la, 981-982
- procariotas, en, 968-976
etapas de la, 969
- Transcriptasa inversa, 949, 981
- Transducina, 1512, 1514, 1523
características de la, 1515-1516
- Transferasas, 103-104
subclases de, 103-104
- Transferrina, 1244
- Trans-3-metilglutaconatil-CoA, 654
- Transmisión celular, 1219-1221
- Transmodulación, 1215
- Transportador, 1092-1113
glucosa de, 1095-1097
topología del, 1096
nucleótidos de adenina, de, 1098
- Transporte
activo
primario, 1088, 1098-1109
secundario, 1088, 1109-1113
mediado, 1088, 1092-1113
características del, 1092-1095
cinética del, 1090, 1093
pasivo (*véase* Difusión facilitada)
tipos de, 1094
tipo antiporte (*véase* Sistema de intercambio), 1094
tipo sinporte (*véase* Cotransporte), 1094
tipo uniporte, 1094
de membrana, energética del, 1086-1089
- Trehalosa, 392-393, 429
distribución, 392
estructura, 393
- Treonina, 34, 35, 37, 40, 43, 47, 810, 837, 846, 853
degradación de la, 840-841
- D-treonina, 40
- L-treonina, 40-41
- Treonina aldolasa, 841
- Treonina deshidratasa, 853
- Treosa, 361
- TRH (*véase* Tiroliberina)
- Triacilglicérido(s), 557, 561-562
biosíntesis de, 611-613
en la dieta, 575-577
en las lipoproteínas, 667-701
formación de, 610-613
hidrólisis de los, 583
- Triacilglicérido lipasa (*véase* Lipasa sensible a las hormonas)
- Triacilglicérido lipasa hepática (*véase* Lipasa hepática)
- Triacilglicérido (*véase* Triacilglicérido)
- 1,24,25-trihidroxicolecalciferol, 775
- Tri-iodotironina, 1122
biosíntesis de la, 1158-1160
estructura de la, 1157
mecanismo de acción de la, 1160-1161
- Triosa-fosfato isomerasa, 71
- Tripsina, 144, 413, 812-813, 816, 1305
aplicaciones clínicas de la, 161
distribución tisular de la, 161

- Triptófano, 35, 36, 43, 47, 810, 837, 846, 862-863, 1441
degradación del, 851
Triptófano hidroxilasa, 862-863, 1441
Tripsinógeno, 812-813
Trisacárido(s), 394
Tromboplastina, 1303
características de la, 1298
tRNA, 966-978
del brazo aceptor, 992-993
del brazo anticodón, 992-993
del brazo D, 992-993
del brazo extra, 992-993
del brazo TψC, 992-993
del brazo variable (véase Brazo extra)
estructura de los, 991-993
procariota, procesamiento del, 973-974
tRNA hidrolasa de iniciación, 1004
tRNA deacilasa, 1003
tRNA-nucleotidil transferasa, 973
Trombina, 1296, 1305, 1311-1314
Tromboquinasa (véase Factor X)
Tromboxano(s) (TX), 736
biosíntesis de, 747-749
degradación de, 754
estructura, 738
TXA, 736-754
TXA₂, 1295-1297
TXB, 736-754
Tromboxano sintasa, 747-748
inhibidores de la, 747
Tromexano, 800
Tropomiosina, 1463, 1466-1468, 1469
Troponina, 1463, 1466-1468
Troponina C, 1229
TSH (véase Tirotopina)
Tuberculostático isoniazida, 187
Tubulina, 1134, 1473
Tumor, 1221
- Ubicromanol, 804
Ubiquinona, 801-803
biosíntesis de, 802
ubiquinona-9, 801
ubiquinona-10
estructura de la, 803
UDP, 919
UDP-glucosa, 530-532, 537, 551
UDP-glucuronato, 524-525
Ultracentrifugación, 82
UMP, 901, 916
biosíntesis de, 915
Unidad β ξ β, 68-69
Unidad formadora de colonias
basófilas, 1258, 1261
de eosinófilos, 1258, 1260
eritrocitarias que estallan, 1258, 1261
eritrocitarias normales, 1258, 1261
para granulocitos-monocitos, 1258, 1260
para plaquetas, 1258, 1260
Unión en horquilla, 69
- Unión internacional de bioquímica (IUB)
comité de nomenclatura de la, 102
Uracilo, 900, 926, 965
degradación del, 916
estructura del, 901
Ureasa, 4
Ureido propionasa, 916
Ureogénesis, 871-877
regulación de la, 875-877
Urea
ciclo de la (véase Ciclo de la Urea), 870-881
Ureogénesis
zonación hepática de la, 1417
Uricasa, 910
Uricotelismo, 870
Uridilato (véase UMP)
Uridilato quinasa, 916
Uridina, 900, 926
Uridina monofosfato, (véase UMP)
Urobilina, 1340
Uroconasa, 841, 843
Urofosina, 1148
Uroporfirina, 1318-1319
I, 1319, 1321
II, 1319
Uroporfirina III consintasa, 1321-1323
Uroporfirinógeno
I, 1321-1322
III, 1321-1322
Uroporfirinógeno I sintasa, 1321-1323
Uroquinasa, 1314
Urotelismo, 870
UTP, 916
- Vacuola autofágica (véase Lisosoma)
Vagelos, 593
Valina, 35-36, 43, 47, 810
degradación de la, 852
Valina aminotransferasa, 852
Valina descarboxilasa, 830
Vanadato, 1099, 1103
Van der Waals
fuerzas de,
en proteínas, 54, 56, 63, 74
Van't Hoft
Vasopresina, 1122, 1148, 1155-1156
Vena
hepática, 1402-1405
porta, 1402
Verzar, 577
Vesículas sinápticas, 1432-1433
Vía anabólica
Vía catabólica
Vía de Embden-Meyerhoff-parnas (véase Glucólisis), 445
Vía(s) metabólica(s)
descubrimiento de la(s), 4-6
Vía de las pentosas-fosfato, 501-528
fase no oxidativa, 505-520
organización de las reacciones de la
fase oxidativa, 503-505
regulación de la, 521

- relación con otras rutas metabólicas, 516
tipo L de la, 521-524
Villina, 1469-1470
Vinculina, 1223, 1463, 1469
Violaxantina, 765
Vip (véase Péptido intestinal vasoactivo)
Virus DNA, 1222
Virus de la mielocitomatosis de aves, 1225
Virus RNA (véase Retrovirus)
Virus del sarcoma de Kirsten, 1225
Virus del sarcoma de Harvey, 1225
Virus del sarcoma óseo de ratas, 1225
Virus del sarcoma de simios, 1225
Virus transductor, 1222
propiedades del, 1222
Virus tumorales, 1222
Vircosimetría, 82
Visión
bioquímica de la, 1503-1524
Vitalismo, 3
Vitámeros, 184
Vitamina(s)
formas activas de las, 168
hidrosolubles, 167-224
coenzimas derivadas de la, 169
liposolubles, 167, 761-806
propiedades físico-químicas de las, 763
preparados comerciales de las, 168
Vitamina A
A₁ (véase Retinol), 569-570
estructura de la, 570
A₂ (véase Deshidrorrelinol), 168, 569
deficiencia en, 762, 771-772
forma activa de la, 168, 762
fuente natural de, 168, 762
función fisiológica de la, 762, 761-771
metabolismo de la, 764-767
preparado comercial de la, 168
toxicidad, 772, 762
Vitamina antiberiberi (véase Vitamina B₁), 180
Vitamina B₁ (véase Tiamina), 167
antagonistas de la, 183
coenzima derivada de la, 169
deficiencia en, 183-184
descomposición de la, 181-182
estructura de la, 180-181
formas activas de la, 168
fuente natural de, 168, 181
función bioquímica de la, 180-183
preparado comercial de la, 168
transporte intestinal de la, 181
Vitamina B₂, 167
coenzima derivada de la, 169
formas activas de la, 168
fuente natural de, 168
función bioquímica de la, 211-213
preparado comercial de la, 168
Vitamina B₃ (véase Vitamina PP), 167-168
encima derivada de la, 169
deficiencia de, 209
formas activas de las, 168
fuente natural de, 168
- función bioquímica de la, 206-209
preparado comercial de la, 168
Vitamina B₅ (véase Acido pantoténico), 167
coenzima derivada de la, 169
forma activa de la, 168
fuente natural de, 168
preparado comercial de la, 168
Vitamina B₆, 167
antagonistas de la, 187
coenzima derivada de la, 169
deficiencia en, 187-189
formas activas de la, 168
fuente natural de, 168
función bioquímica de la, 185-187
hipervitaminosis de, 188-189
preparado comercial de la, 168
vitámeros de la, 184-185
interconversiones de los, 185
Vitamina B₈ (véase Biotina), 168
Vitamina B₁₂, 167
B₁₂ a (véase Hidroxicobalamina)
B₁₂ b (véase Acuocobalamina)
B₁₂ c (véase Metilcobalamina)
B₁₂ r (véase Cobalamina II)
B₁₂ s (véase Cobalamina I)
coenzima derivada de la, 169
deficiencia en, 196-197
derivados coenzimáticos de la, 190
estructura de la, 189-190
formas activas de la, 168
fuente natural de, 168, 191
preparado comercial de la, 168
Vitamina B₁₇, 224
Vitamina B_c (véase Acido fólico)
Vitamina C, 167, 524-525
coenzima derivada de la, 169
deficiencia de, 216
formas activas de la, 168
fuente natural de, 168, 214
hipervitaminosis de, 216
preparado comercial de la, 168
Vitamina D, 167-168, 772-787
biosíntesis de la, 772-780
D₂ (véase Ergocalciferol), 168
estructura de la, 774
provitamina de la, 773
compuestos relacionados con la, 776
D₃ (véase Colecalciferol)
estructura de la, 774
provitamina de la, 773
compuestos relacionados con la, 775
isómeros estereoquímico de la, 777
biosíntesis de la, 778
D₄
provitamina de la, 773
estructura de la, 774
D₅
provitamina de la, 773
D₆
provitamina de la, 773
D₇
provitamina de la, 773
deficiencia de, 762, 785-787

- forma activa de la, 168, 762
 fuente natural de, 168, 762
 función de la, 762, 781-785
 hidroxilación de la, 777-779
 inducción de la, 779
 metabolismo de la, 772-779
 metabolismo del calcio, sobre el, 1234
 metabolismo del fósforo, sobre el, 1235
 precursores naturales de la, 774
 preparado comercial de la, 168
 toxicidad de la, 762, 787
 5,6-cis-vitamina D₂, 776
 5,6-trans-vitamina D₂, 776
 Vitamina E, 167-168, 787-794
 absorción de la, 790
 biosíntesis de la, 788-790
 deficiencia en, 762, 793-794
 forma activa de la, 168, 762
 fuente natural de, 168, 762
 metabolismo de la, 788-790
 preparado comercial de la, 168
 función de la, 762, 790-793
 toxicidad de la, 762, 794
 Vitamina F, 803
 Vitamina H (*véase* Biotina), 167
 fuente natural de, 168
 Vitamina K, 167-168, 569, 761, 794
 agonistas de la, 800
 biosíntesis de la, 795-796
 deficiencia en, 762, 799-801
 forma activa de la, 168, 762
 fuente natural de, 168, 762
 función de la, 762, 792-799
 K₁, 168, 761
 estructura de la, 795
 K₂, 168, 761, 803
 estructura de la, 795
 K₃, 794
 estructura de la, 795
 metabolismo de la, 795-796
 preparado comercial de la, 168
 toxicidad de la, 762, 801
 Vitamina K epóxido reductasa, 796
 Vitamina K quinona reductasa, 796
 Vitamina PP (*véase* Vitamina B₃), 167
 coenzima derivada de la, 169
 formas activas de la, 168
 fuente natural de, 168
 preparado comercial de la, 168
 Vitamina R (*véase* Biotina)
 VLDL, 669-701, 615, 623
 formación de, 683
 intestinales, 589, 680
 metabolismo de las, 682-684
 Vogel, 422
 Volhard, 3
 V-onc (*véase* Oncogén viral)
 Von Gierke
 enfermedad de, 495, 554-555
 Von Mering, 1173
 Von Miller, 3
 Wakil, 593
 Warburg, 3, 5
 Warfarina, 796
 Wartson, M. D., 7, 923, 929-930, 933
 Wells, 422
 Wellstein, 422
 Weygand, 370
 Wharton
 gelatina de, 404
 Wieland, 3
 Wilkins, 923
 Williams, 172, 180
 Willstätter, R., 3-4
 Wilstatter y Shudel
 método de, 375
 Wohl, 370
 método de, 371
 Wöhler, Friedrich, 3, 871
 Woolf
 evacuación de, 125, 127-128
 representación gráfica de la, 128
 Wyman, 151

 Xantilato (*véase* Xantosina fosfato)
 Xantina, 990, 910
 cálculos de, 913
 Xantina oxidasa, 910
 deficiencia de, 912-913
 Xantinuria, 913
 Xantosina, 910
 Xantosina fosfato (*véase* XMP), 906
 Xantófilas, 300, 305, 570
 D-xilanos, 402
 Xilosa, 361, 402
 Xilosil transferasa, 421
 Xilulosa, 362
 Xenobióticos
 toxicidad de los
 zonación hepática de la, 1417-1420
 Xilulasa-5-fosfato, 501-516
 en el ciclo de las pentosas-fosfato, 502-507, 516
 XMP, 910

 Yanofski, C., 986
 Yodo, 1247
 índice de, 560
 Young, 445

 Zeaxantina, 765
 Zemplén
 método de, 395
 Zimasa, 3
 Zimógeno, 812-813
 Zimosterol, 655-656
 Zinc, 1246-1247
 Zoferina (*véase* Vitamina B₁₂)
 Zwiterión, 41