

BIOQUÍMICA

TEMA 6. RUTAS CENTRALES DEL METABOLISMO INTERMEDIARIO

D. Ph. Daniel Díaz Plascencia.

Contacto: dplascencia@uach.mx
www.lebasmx.com



INTRODUCCIÓN

- Las rutas centrales del metabolismo intermediario, ciclo de Krebs y cadena transportadora de electrones, están estrechamente relacionadas con el desarrollo evolutivo desde los organismos anaerobios a los organismos aerobios.



CONTINUACIÓN

- En las condiciones del caldo de cultivo primigenio, donde surgió la vida, la escasa presencia inicial de oxígeno determinó la aparición de una serie de organismos que realizaban sus reacciones vitales sin la presencia de este compuesto oxidante.



CONTINUACIÓN

- El incremento de determinados organismos que producían oxígeno como producto de desecho de sus actividades metabólicas, cambió estas condiciones, pasando a un medio en el cual la presencia del oxígeno fue relativamente importante.



CONTINUACIÓN

- En consecuencia, algunos organismos se adaptaron a la presencia del oxígeno, los llamados anaerobios facultativos que, posteriormente, evolucionaron dando origen a los organismos aerobios.



CONTINUACIÓN

- El oxígeno es un compuesto altamente oxidante que, de no ser aprovechado por los seres vivos adecuadamente, y de no tener éstos los mecanismos antioxidantes apropiados, pueden producir la muerte de un organismo o célula con relativa facilidad.



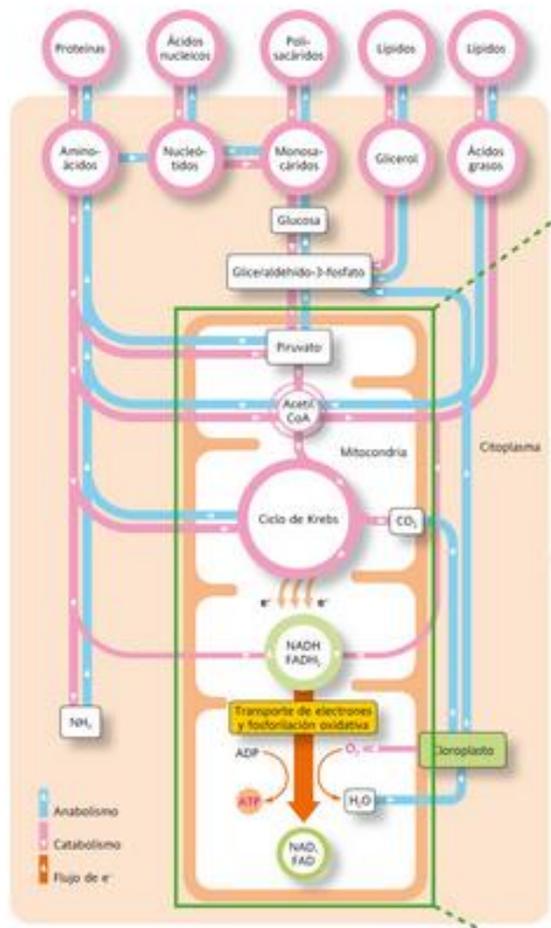
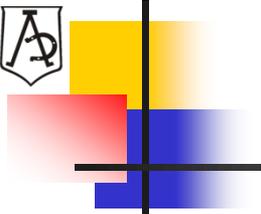
CONTINUACIÓN

- Simultáneamente, el hecho de poder utilizar el oxígeno como aceptor de electrones lleva a la oxidación de las biomoléculas hasta dar dióxido de carbono y agua, lo que permite producir mucha más energía a partir de cada átomo de carbono, con un mayor rendimiento energético, confiriendo una ventaja evolutiva importante a aquellas células capaces de aprovechar el oxígeno.

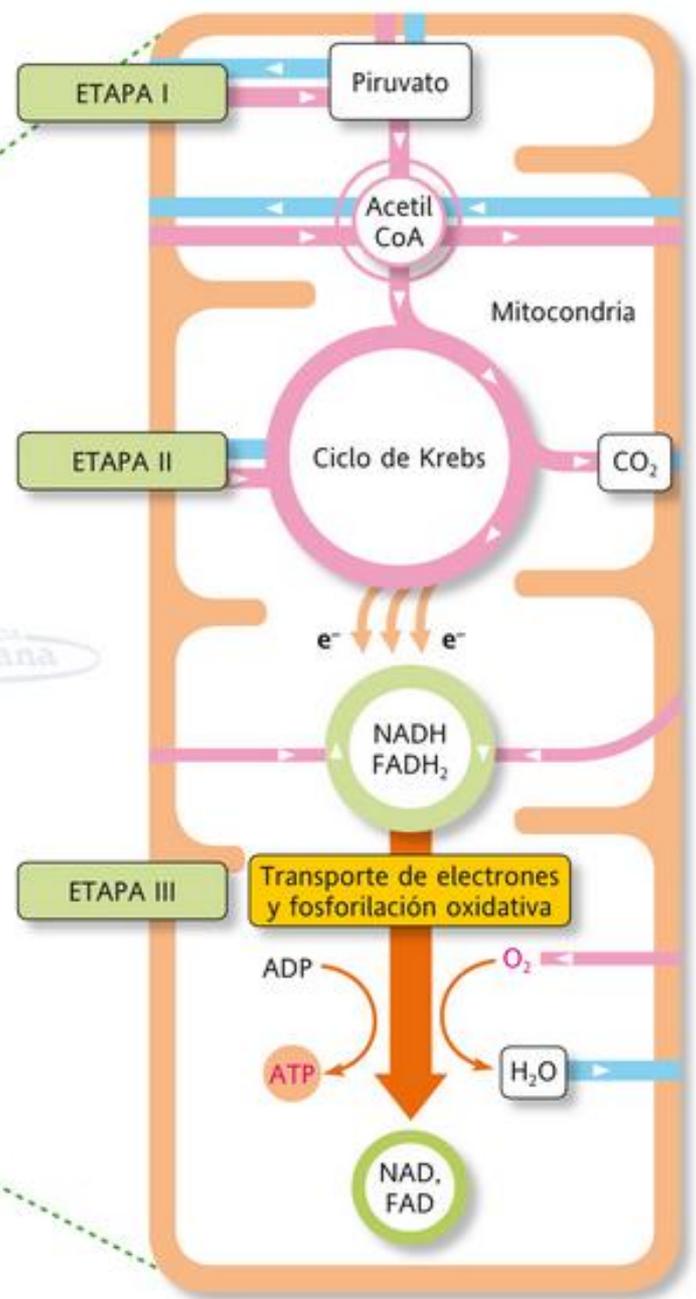


CONTINUACIÓN

- El metabolismo oxidativo de las principales biomoléculas hidratos de carbono, ácidos grasos y aminoácidos habitualmente se divide entres etapas.



EDITORIAL MEDICA panamericana



El ciclo de Krebs se considera anfibólico y tiene su lugar en la matriz mitocondrial



CONTINUACIÓN

I Etapa.

- Las macromoléculas son fragmentadas en moléculas más pequeñas, normalmente moléculas sillares que posteriormente, son degradadas a moléculas de acetil CoA, de dos carbonos.
- En esta fase se incluyen las vías catabólicas de aminoácidos (desaminación oxidativa), la β -oxidación de ácidos grasos y la glucólisis en el caso de los monosacáridos.



CONTINUACIÓN

II Etapa.

- Se encuentra el ciclo de Krebs, que implica la oxidación de los átomos de carbono del acetyl CoA hasta moléculas de CO_2 liberando energía en forma de nucleótidos trifosfato (GTP) y en forma de poder reductor (FADH_2 y $\text{NADH}+\text{H}^+$)



CONTINUACIÓN

III Etapa.

- Se ubica la cadena transportadora de electrones y la fosforilación oxidativa, en la cual el poder reductor generado en el ciclo de Krebs se emplea para la síntesis de ATP, moneda de intercambio energético de la célula.



CONTINUACIÓN

El ciclo de Krebs, la cadena transportadora de energía y la fosforilación oxidativa son rutas clave en la producción de energía dentro de una célula.



EL CICLO DE KREBS

- El ciclo de Krebs, llamado así gracias a su descubridor **Hans Adolf Krebs (1937)**, también se denomina **ciclo del ácido cítrico** o **ciclo de los ácidos tricarbónicos**.



CONTINUACIÓN

El ciclo de Krebs, como se ha comentado anteriormente, es parte de la vía catabólica que realiza la oxidación de las moléculas de acetil CoA proveniente de monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos hasta producir CO_2 , liberando gran cantidad de energía química, sobre todo en forma de poder reductor que, gracias a la cadena transportadora de electrones y de la fosforilación oxidativa, será utilizada en la síntesis de ATP.



CONTINUACIÓN

- **El acetil CoA** suele venir de la β -oxidación de los ácidos grasos o del piruvato, a través de la descarboxilación oxidativa.
- **El piruvato** suele originarse como producto de la glucólisis, o bien como consecuencia de la actuación de las transaminasas.



CONTINUACIÓN

- A parte de este papel catabólico, el ciclo de Krebs también presenta una parte anabólica, ya que proporciona precursores para muchas rutas biosintéticas de diferentes biomoléculas como, por ejemplo, la biosíntesis de aminoácidos, aunque también suministra intermediarios para la biosíntesis de ácidos grasos o azúcares.
- Por ello, se considera como una vía anfibólica, es decir, catabólica y anabólica al mismo tiempo.



CONTINUACIÓN

- El hecho de que varios intermediarios del ciclo de Krebs sean la base para formar diversas biomoléculas tiene un papel importantísimo a nivel celular, ya que permite interconectar las principales rutas metabólicas de los hidratos de carbono, de los lípidos y de los aminoácidos; de tal forma que un tipo de biomoléculas puede servir de precursor para otro tipo de biomoléculas.



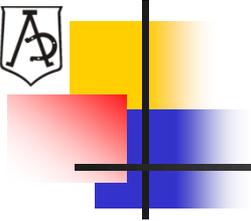
CONTINUACIÓN

- **El ciclo de Krebs tiene lugar en la matriz mitocondrial de las células eucariotas.**
- Por ello, determinados tipos celulares carentes de mitocondrias, como pueden ser los glóbulos rojos, no pueden realizar el ciclo de Krebs ni la cadena transportadora de electrones, y dependen, casi exclusivamente, de la energía formada en la glucólisis para cubrir sus necesidades energéticas, lo cual implica una mayor dependencia de los niveles de glucosa.



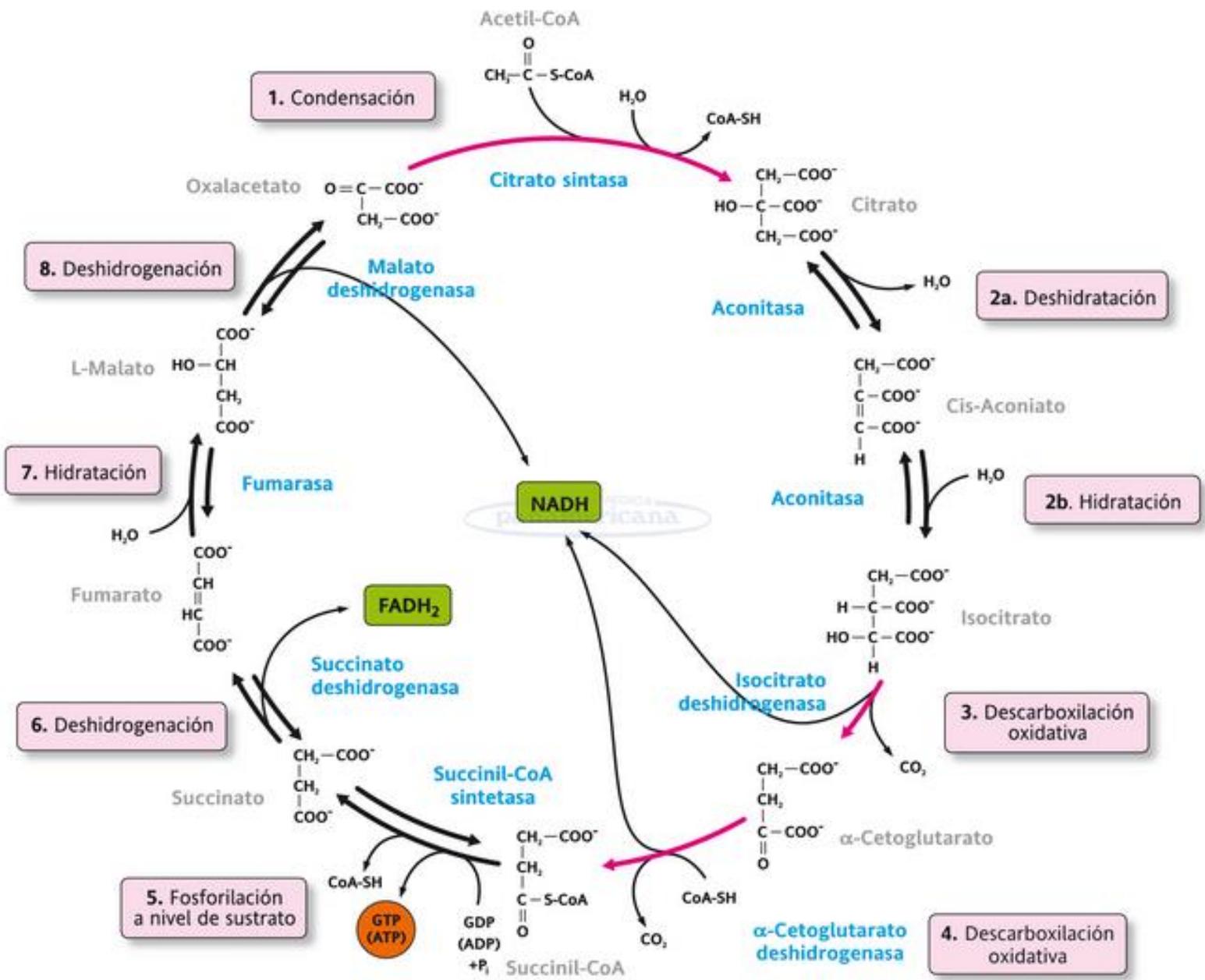
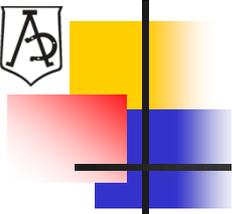
EN RESUMEN

- El ciclo de Krebs desempeña un papel crucial como nexo entre las distintas rutas metabólicas.
- El ciclo de Krebs, a través de sus intermediarios, proporciona precursores para muchas rutas biosintéticas.



REACCIONES DEL CICLO DE KREBS

- Una visión general del ciclo de Krebs muestra una secuencia de reacciones que oxidan los dos átomos de carbono de una molécula de acetil CoA hasta rendir CO_2 .
- El ciclo de Krebs, o ciclo del ácido cítrico, implica una serie de pasos enzimáticos que están representados detalladamente en la siguiente figura.





CONTINUACIÓN

1. Condensación.

- Entre una molécula de acetil CoA (de dos carbonos) y una molécula de oxalacetato (de cuatro carbonos).
- Esta reacción es una condensación aldólica a la que sigue una hidrólisis que libera la coenzima A libre.



CONTINUACIÓN

- Dicha reacción está catalizada por la citrato sintasa, dando como producto final el citrato (de seis carbonos), uno de los compuestos que da nombre al ciclo. Es un paso irreversible.



CONTINUACIÓN

2. Transformación del citrato en isocitrato.

- Con esta reacción que sucede en dos pasos, una deshidratación seguida de una hidratación, se pasa de un sustrato con un alcohol terciario a una molécula con un alcohol secundario que resulta más fácilmente oxidable.
- Esta reacción se lleva a cabo por la aconitasa formando un intermediario conocido como *cis*-aconinato.



CONTINUACIÓN

3. Primera descarboxilación oxidativa.

- Se produce la transformación del isocitrato (de seis carbonos) a α -cetoglutarato (de cinco carbonos) reacción que conlleva la reducción de una molécula de NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$ y la eliminación de un átomo de carbono en forma de CO_2 .



CONTINUACIÓN

- Esta reacción la cataliza la isocitrato deshidrogenasa y es la primera etapa en la que se produce $\text{NAD} + \text{H}^+$ y también la primera en la que se genera CO_2 . Es un paso irreversible.



CONTINUACIÓN

4. Segunda descarboxilación oxidativa.

Se produce la transformación del α -acetoglutarato (de cinco carbonos) a succinil CoA (de cuatro carbonos), reacción que conlleva igualmente la generación de $\text{NADH} + \text{H}^+$ y la eliminación de un átomo de carbono.



CONTINUACIÓN

- La reacción la efectúa el complejo multienzimático α -cetoglutarato deshidrogenasa, que es bastante similar en su composición y actuación al complejo enzimático de la piruvato deshidrogenasa.



CONTINUACIÓN

- Como resultado, se obtiene, además del succinil CoA, la reducción de una segunda molécula de NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$ y la generación de una segunda molécula de CO_2 , por lo que ha completado la oxidación neta del grupo acetilo. La reacción es un paso irreversible.



CONTINUACIÓN

5. Fosforilación a nivel de sustrato.

- En esta reacción se acopla la ruptura del enlace de alta energía del succinil CoA con la síntesis de una molécula GTP, a partir de GDP y P_i (en algunos organismos se fosforila el ADP) liberando succinato y coenzima A libre.
- Esta reacción la lleva a cabo la enzima succinil CoA sintetasa.



CONTINUACIÓN

6. Oxidación del succinato a fumarato.

- Por acción de la succinato deshidrogenasa. Es una reacción de deshidrogenación, en la cual se produce la oxidación del enlace sencillo situado en el centro de la molécula de succinato, dando lugar a un doble enlace *trans*.
- El hidrógeno eliminado se acopla a la síntesis de una molécula de FADH_2 , a partir de FAD.



CONTINUACIÓN

7. Hidratación del doble enlace del fumarato.

- Originando una molécula de L-malato. La enzima que cataliza esta reacción es la fumarasa.



CONTINUACIÓN

8. Oxidación del fumarato a oxalacetato.

- Gracias a la enzima malato deshidrogenasa que oxida el grupo alcohol secundario del malato a la correspondiente cetona.
- Esta reacción conlleva la reducción de una tercera molécula de NAD^+ a $\text{NAD} + \text{H}^+$, la tercera que se obtiene en el ciclo.



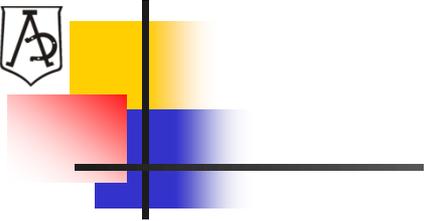
CONTINUACIÓN

- Con esta última reacción de oxigenación se regenera el oxalacetato que se utilizará, junto con el acetyl CoA, en la generación del citrato, al principio de un nuevo ciclo.



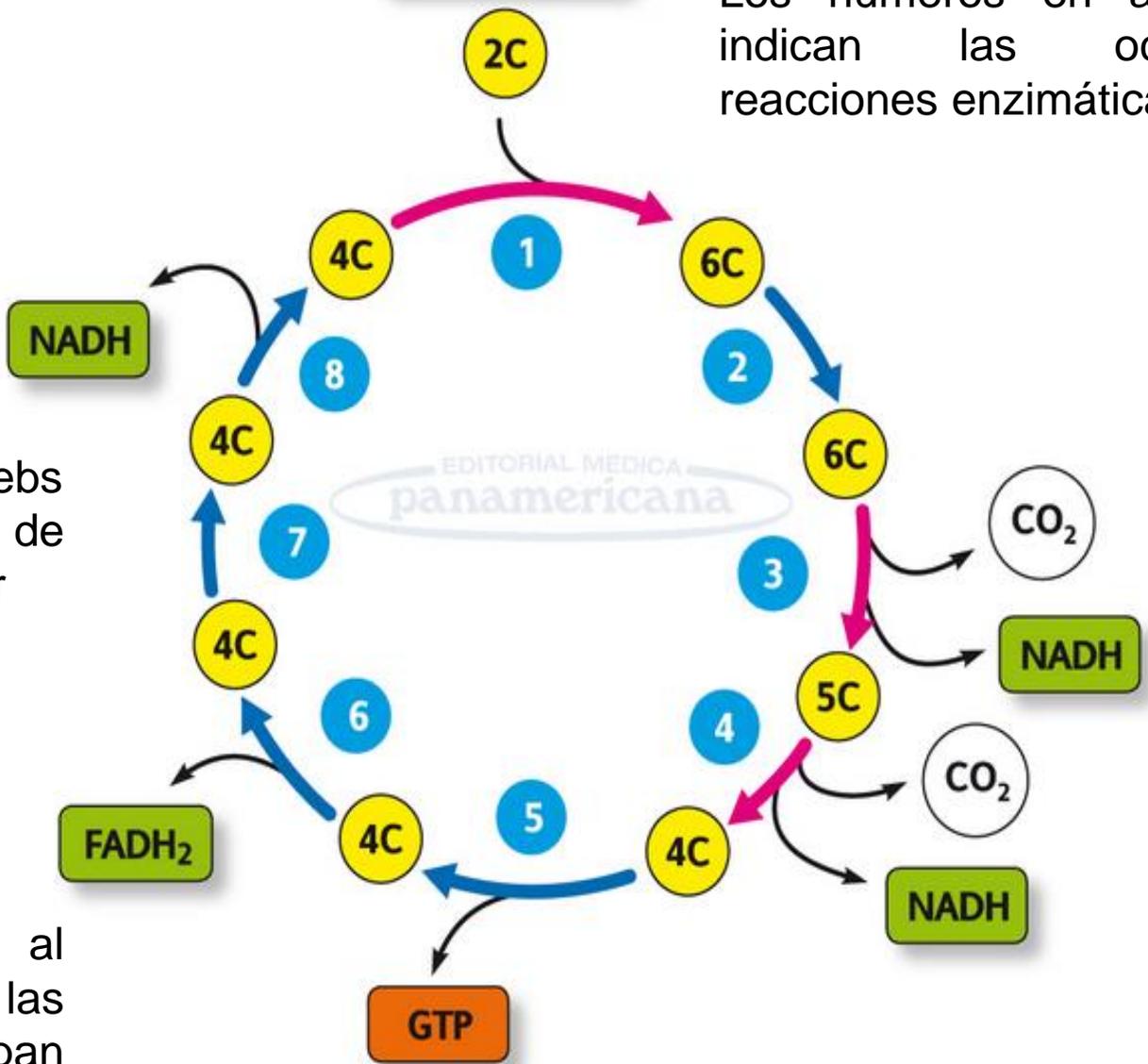
CONTINUACIÓN

- Las últimas reacciones a partir de la formación del succinato supone la preparación de otra vuelta del ciclo mediante la regeneración del oxalacetato necesario para la primera reacción.
- De esta forma se puede oxidar un número ilimitado de grupos acetilo con la mediación de una sola molécula de oxalacetato, ya que ésta se regenera en cada vuelta del ciclo.



Acetil-CoA

Los números en azul indican las ocho reacciones enzimáticas.



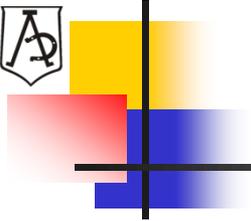
Esquema del ciclo de Krebs según el rendimiento de moléculas de CO_2 , poder reductor y energía.

Se hace referencia al número de carbonos de las moléculas que participan en el ciclo.



EN RESUMEN

- La degradación de una molécula de acetil CoA en el ciclo de Krebs origina tres moléculas de $\text{NADH} + \text{H}^+$, una molécula de FADH_2 y una molécula de GTP.
- En el ciclo de Krebs se realiza la oxidación de las moléculas de acetil CoA hasta producir CO_2 generando gran cantidad de energía.



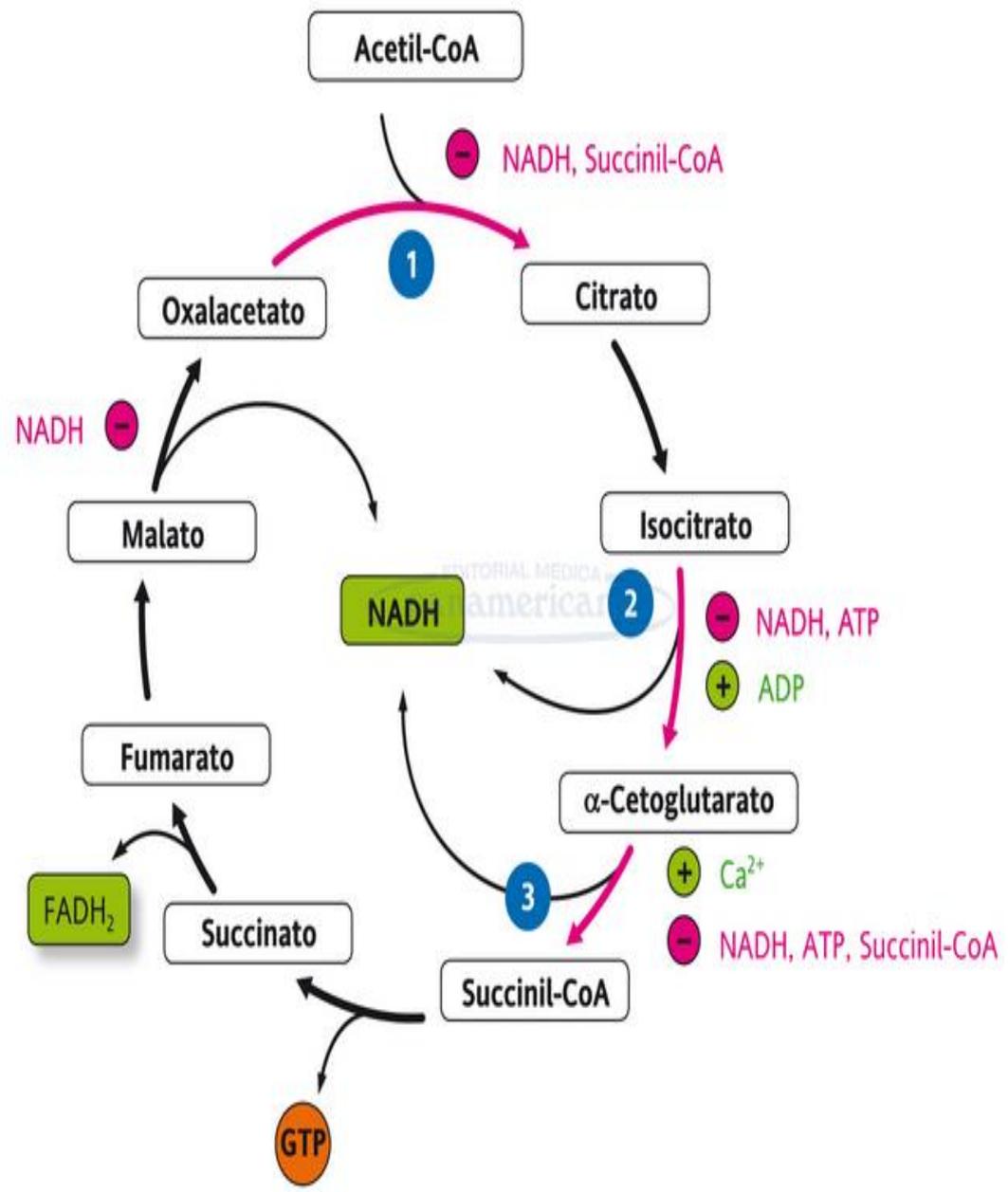
REGULACIÓN DEL CICLO DE KREBS

El ciclo de Krebs está fuertemente regulado en distintos pasos.

- Se debe a que, por un lado debe satisfacer con precisión las necesidades energéticas de la célula, ya que es la vía final para la degradación de las moléculas energéticas; y, por otro lado, como se estudiará en el siguiente apartado, el ciclo de Krebs es una fuente muy importante de precursores de gran cantidad de biomoléculas.



La regulación de Krebs se ejerce principalmente por la disponibilidad de sustratos, la relación NADH/NAD^+ mitocondrial y la regulación alostérica ejercida sobre las enzimas citrato sintasa (1) isocitrato deshidrogenasa (2) y α -cetoglutarato deshidrogenasa (3).





CONTINUACIÓN

- La regulación del ciclo de Krebs sucede principalmente a dos niveles:

1) Disponibilidad de sustrato.

Esto se debe a que la concentración de acetil CoA y oxalacetato es baja en la mitocondria con relación a la enzima que utiliza, la citrato sintasa.



CONTINUACIÓN

- El aumento de la disponibilidad de estos sustratos estimula fuertemente la síntesis de citrato y, por consiguiente, el ciclo de Krebs.
- La disponibilidad de acetyl CoA depende en gran medida de la actuación de la piruvato deshidrogenasa, mientras que la disponibilidad de oxalacetato depende sobre todo de la actuación de la piruvato carboxilasa.



CONTINUACIÓN

2) Modulación de enzimas clave.

- Diversas enzimas clave del ciclo de Krebs (principalmente aquellas que catalizan pasos irreversibles) están finamente reguladas mediante efectores alostéricos.
- Esta regulación afecta sobre todo a la citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa.



CONTINUACIÓN

- La citrato sintasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa se inhiben principalmente por succinil CoA y NADH + H⁺, mientras que la isocitrato deshidrogenasa se inhibe principalmente por ATP y NAD + H⁺.



EN RESUMEN

- Se podría decir que, en condiciones normales, las velocidades de la glucólisis y el ciclo de Krebs están integradas de forma que sólo se metaboliza a piruvato la cantidad de glucosa necesaria para abastecer al ciclo, y de esta forma cubrir las necesidades energéticas de la célula.



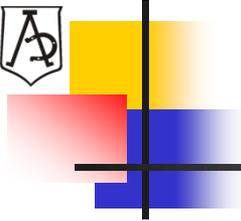
CONTINUACIÓN

- La velocidad de la glucólisis se acopla a la del ciclo del ácido cítrico no sólo a través de su inhibición por altos niveles de ATP y NADH, productos del ciclo, sino también por la inhibición por citrato, producto de la primera etapa del ciclo.



CONTINUACIÓN

- Diversos compuestos exógenos pueden bloquear el ciclo de Krebs produciendo graves daños e incluso la muerte.
- Uno de esos compuestos es el arsénico, motivo por el cual es un tóxico tan potente.



CONTINUACIÓN

Recuadro 13-1. Inhibidores del ciclo de Krebs

Uno de los más conocidos inhibidores del ciclo de Krebs es el **arsénico**, cuyo mecanismo tóxico se basa en que su forma trivalente interacciona con grupos sulfhidrilo ($-SH$), y su forma pentavalente sustituye a los fosfatos de las enzimas de la mitocondria. El arsénico inhibe la actuación, entre otras enzimas, de la dihidrolipoil transacetilasa, que utiliza como coenzima la lipoamida (grupos $-SH$). La dihidrolipoil transacetilasa forma parte de los complejos multienzimáticos piruvato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa, ambos estrechamente relacionados con el ciclo de Krebs, por lo que la presencia de arsénico bloquea el ciclo, interrumpiendo a su vez la fosforilación oxidativa. En consecuencia, se bloquea así toda la respiración celular y con ella la generación de energía, lo que desencadena un fallo multiorgánico. El arsénico también inhibe la transformación de la tiamina en acetil CoA y succinil CoA. La ingestión de grandes dosis lleva a problemas gastrointestinales, cardiovasculares, disfunciones del aparato nervioso y, finalmente, a la muerte. Hay que recordar que el arsénico ha sido uno de los venenos más utilizados en la historia de la humanidad, siendo Napoleón la víctima más famosa. Dosis bajas pero sostenidas pueden llevar al desarrollo de cánceres.

Otro compuesto que puede interferir con el ciclo de Krebs es el **fluoracetato de sodio** (FAS). La toxicidad de este compuesto es secundaria a una serie de transformaciones metabólicas que resultan en la formación de fluorocitrato en el ciclo de Krebs. Dicho sustrato no es reconocido por la enzima aconitasa, y produce la inhibición de esta enzima y, por consiguiente, la del ciclo completo. Este compuesto fue descubierto y utilizado, debido a su letalidad, durante la Segunda Guerra Mundial. Dentro de las manifestaciones clínicas asociadas a la intoxicación se encuentran: trastornos gastrointestinales, convulsiones, irritabilidad, fallo renal aguda, arritmias cardíacas, hipocalcemia e hipopotasemia.

LA CADENA TRANSPORTADORA DE ELECTRONES Y LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

Protones, electrones, y oxidación-reducción

- Los seres vivos consumen oxígeno y producen dióxido de carbono como parte de su metabolismo celular.
- En los seres vivos, los electrones involucrados en las oxidaciones celulares no pasan directamente al oxígeno, si no que se transfieren a través de diversas vías con múltiples etapas.



CONTINUACIÓN

- Los electrones de las oxidaciones se emplean en una primera etapa para reducir el NAD^+ y FAD a $\text{NADH} + \text{H}^+$ y FADH_2 , respectivamente.
- Los electrones fijados en estas coenzimas pasan entonces a la cadena transportadora de electrones, gracias a la reoxidación mitocondrial del $\text{NADH} + \text{H}^+$ y del FADH_2 a NAD^+ y FAD respectivamente.



CONTINUACIÓN

- Los electrones sufren un proceso de oxidación-reducción secuencial a través de determinados centros rédox (complejos mitocondriales) para finalmente reducir el oxígeno a agua.
- Este proceso, por el cual se transfieren los electrones desde las biomoléculas del alimento hasta el oxígeno, suele denominarse **respiración aerobia** o **respiración celular**.



CONTINUACIÓN

- En este proceso, una serie de protones se transfieren desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana de la mitocondria, de modo que se crea un gradiente de protones (gradiente electroquímico).
- Este gradiente resultante sirve para impulsar la síntesis de ATP, a partir de ADP y P_i , a través de la llamada fosforilación oxidativa.



CONTINUACIÓN

- La respiración celular (cadena transportadora de electrones) y la fosforilación oxidativa tiene lugar en las mitocondrias de los eucariotas, cuya membrana interna es impermeable a la mayoría de las pequeñas moléculas e iones, incluyendo los protones.
- En los procariotas, que carecen de mitocondrias, pueden realizar la respiración celular gracias a las proteínas de la cadena de transporte electrónico que se encuentran en la membrana plasmática.



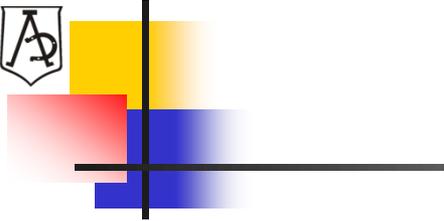
EN RESUMEN

- La respiración aerobia o respiración celular supone la transferencia de los electrones desde las biomoléculas hasta el oxígeno, proceso que está implicado en la producción de energía de la célula.



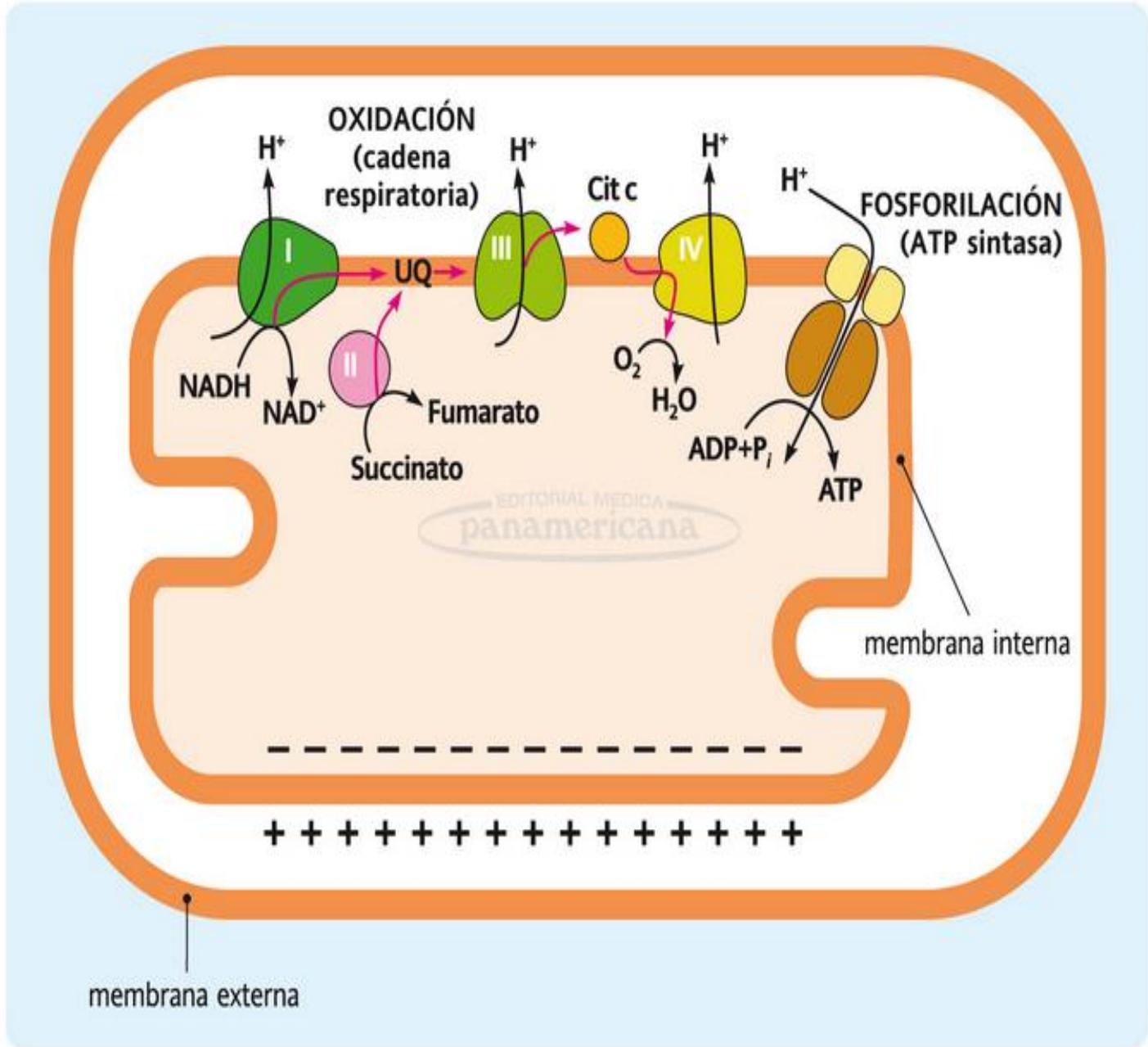
FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

- La síntesis de ATP a partir de ADP y Pi en las mitocondrias está catalizada por la ATP sintasa (o complejo V).
- Peter Mitchell propuso en 1961 el mecanismo conocido como **“Teoría quimiosmótica de acoplamiento”** que refiere que la síntesis de ATP está acoplada al transporte de electrones mitocondrial.



Hipótesis quimiosmótica.

La síntesis de ATP sintasa, utilizando la fuerza protón que se genera en la cadena transportadora de electrones.





CONTINUACIÓN

- Los complejos transportadores de electrones logran pasar protones al espacio intermembrana en contra de gradiente, creando así un gradiente eléctrico y un gradiente de protones a través de la membrana interna.
- A este gradiente electroquímico generado por el transporte de los electrones por los diversos complejos mitocondriales se le denomina fuerza protón-motriz.



CONTINUACIÓN

- El potencial electroquímico de este gradiente o fuerza protón motriz lo aprovecha la ATP sintasa para sintetizar ATP.
- La ATP sintasa transporta los protones a la matriz mitocondrial a favor de gradiente y acopla este proceso a la síntesis de ATP.



FIN...